



***Ricinus communis* L.**

Sementes, envelhecimento e estresse oxidativo

**Luzimar Gonzaga Fernandez
Thamires Soares Ricardo Jesus
Patrícia Campos Santos**
Organizadoras



Ricinus communis L., ou mamona, é uma planta oleaginosa nativa da África tropical e cultivada em regiões temperadas, tropicais e subtropicais, disseminada por quase todo o mundo, devido à capacidade de crescer em ambientes onde há poucas alternativas agrícolas, sendo cultivada de Norte a Sul do Brasil. É de grande importância socioeconômica para a região semiárida brasileira, onde seu cultivo serve como alternativa de trabalho e renda, principalmente para o pequeno agricultor, pela aplicabilidade do óleo de rícino, extraído de suas sementes. O livro *Ricinus communis* L.: sementes, envelhecimento e estresse oxidativo é fruto de pesquisas envolvendo projetos de mestrado e doutorado desenvolvidos no Laboratório de Bioquímica, Biotecnologia e Bioprodutos (LBBB/ICS/UFBA). Possui informações atuais, com uma linguagem clara e didática sobre esta planta e aborda sobre a caracterização da espécie; cultivo, produção e importância socioeconômica no Brasil, óleo de rícino e aplicabilidades; envelhecimento natural e artificial de sementes; metabolismo e estresse oxidativo; antioxidantes não enzimáticos e enzimas antioxidantes, biomarcadores de qualidade e do envelhecimento de sementes; técnicas utilizadas para análises bioquímicas, fisiológicas e moleculares de espécies vegetais.

Ricinus communis L.:
sementes, envelhecimento
e estresse oxidativo

UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA

Reitor

João Carlos Salles Pires da Silva

Vice-reitor

Paulo Cesar Miguez de Oliveira



E D U F B A

EDITORA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA

Diretora

Flávia Goulart Mota Garcia Rosa

Conselho Editorial

Alberto Brum Novaes

Angelo Szaniecki Perret Serpa

Caiuby Alves da Costa

Charbel Niño El-Hani

Cleise Furtado Mendes

Evelina de Carvalho Sá Hoisel

Maria do Carmo Soares de Freitas

Maria Vidal de Negreiros Camargo



C A P E S



Conselho Nacional de Desenvolvimento
Científico e Tecnológico



INOVAÇÃO E PESQUISA



Fundação de Amparo
à Pesquisa do Estado da Bahia

Luzimar Gonzaga Fernandez
Thamires Soares Ricardo Jesus
Patrícia Campos Santos
Organizadoras

Ricinus communis L.:
sementes, envelhecimento
e estresse oxidativo

Salvador
UFBA
2021

2021, autoras.

Direitos para esta edição cedidos à [Edufba](#).

Feito o Depósito Legal.

Grafia atualizada conforme o Acordo Ortográfico da Língua Portuguesa de 1990, em vigor no Brasil desde 2009.

Coordenação editorial	Projeto Gráfico
Susane Santos Barros	Thamires Soares Ricardo Jesus e
Coordenação gráfica	Luzimar Gonzaga Fernandez
Edson Sales	Foto da capa
Coordenação de produção	As organizadoras
Gabriela Nascimento	Revisão e normalização
Editoração e capa	TIKINET
J. Nascimento	

Sistema Universitário de Bibliotecas – UFBA

R538 Ricinus communis L.: sementes, envelhecimento e estresse oxidativo / Luzimar Gonzaga Fernandez, Thamires Soares Ricardo Jesus, Patrícia Campos Santos, Organizadoras. - Salvador: EDUFBA, 2021.
E-book (138 p.) : il. color. ; PDF

Modo de acesso:
ISBN: 978-65-5630-234-8 (E-book)

1. Mamona. 2. Sementes - Qualidade. 3. Tecnologia de sementes. I. Fernandez, Luzimar Gonzaga. II. Jesus, Thamires Soares Ricardo. III. Santos, Patrícia Campos. IV. Título: sementes, envelhecimento e estresse oxidativo.

CDU: 581.48

Elaborada por Geovana Soares Lira CRB-5: BA-001975/O

Editora afiliada à



EDUFBA

Rua Barão de Jeremoabo, s/n, Campus de Ondina,
40170-115, Salvador-BA, Brasil

Tel: +55 (71) 3283-6164

www.edufba.ufba.br | edufba@ufba.br

Agradecimentos

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Financiadora de Estudos e Projetos (Finep), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (Fapesb), pelo apoio financeiro aos pesquisadores que participaram da pesquisa, e à Universidade Federal da Bahia (UFBA) pelo apoio científico.

Prefácio

O livro *Ricinus communis L.: sementes, envelhecimento e estresse oxidativo* trata-se de uma compilação de publicações científicas com foco nos mais diversos mecanismos biológicos, fisiológicos e moleculares envolvidos em processos; estudados, mas nunca esgotados, principalmente em sementes de culturas agrícolas como a mamona.

O envelhecimento (de sementes) é um processo gradativo e inexorável, no entanto, a ciência tem contribuído sobre maneira para o entendimento de todos os eventos envolvidos neste processo. Para a maioria das culturas agrícolas, este conhecimento encontra-se disperso e facetado em diferentes publicações, o que, na maioria das vezes, dificulta o entendimento e o objetivo maior do conhecimento, que é o de ampliar os horizontes para os mais diversos temas científicos, principalmente aqueles que envolvem a produção de sementes.

Neste livro, as autoras trazem à luz e reúnem conhecimentos sobre qualidade de sementes, os estresses oxidativos aos quais estas estão sujeitas e mecanismos de desintoxicação, bem como metabólitos e enzimas diretamente envolvidas nos processos, que vão desde a formação até o seu desligamento da planta-mãe. E, finalmente, exploram o armazenamento e as condições ambientais que podem contribuir para o inevitável estresse oxidativo, o envelhecimento de sementes.

O leitor e a leitora poderão acessar, neste livro, conhecimento atual e apresentado de forma clara e com detalhamento e rigor científico, que é reflexo da dedicação e formação das autoras, que ao longo de 20 anos têm dedicado estudos para a espécie. A leitura permite uma reflexão da necessidade de novas pesquisas voltadas para superação e mitigação de processos deteriorativos em sementes.

O conhecimento apresentado tem como ápice a apresentação de moléculas e metabólitos que poderão ser estudados como indicadores de processos deteriorativos, não só em *Ricinus*, mas nos mais diversos gêneros de plantas.

É um livro para ser lido e revisitado no dia a dia da pesquisa. Bom estudo!

Renata Silva Mann

Apresentação

Esta obra, sobre “*Ricinus communis* L.: sementes, envelhecimento e estresse oxidativo”, foi concebido com o objetivo de apresentar um conteúdo de qualidade versando sobre as sementes de *R. communis* (mamona) em caráter científico e acessível para interessados nesta cultura e aos diversos integrantes da cadeia produtiva do agronegócio de mamona, bem como instituições de ensino, pesquisa e extensão. Pretende-se reunir neste livro informações atualizadas, considerando o crescimento da produção nacional dessa oleaginosa, na maioria das vezes, não acessíveis aos usuários.

Este livro foi resultado de pesquisas realizadas durante o mestrado e doutorado pelo Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Bioquímica e Biologia Molecular (PMBqBM). Docentes, discentes e pesquisadores que contribuíram para a construção desta obra atuam ou atuaram na Universidade Federal da Bahia (UFBA) e na Universidade de Wageningen, Holanda.

Ricinus communis L., pertencente à família das Euphorbiaceae, espécie de grande importância econômica devido às diferentes aplicações industriais do óleo de rícino extraído de suas sementes. Além de ser uma espécie cultivada em todo o Brasil, destaca-se devido a sua produtividade no semiárido nordestino, por causa da viabilidade de produção em locais com baixos índices pluviométricos. E, por ser uma espécie de impacto socioeconômico, principalmente em regiões semiáridas que apresentam características peculiares, gera empregos com fixação de mão de obra, produção de matéria-prima para a ricinoquímica, entre outras aplicações, além de promover qualidade de vida para pequenos agricultores, favorecendo o desenvolvimento da agricultura familiar.

Esta é uma espécie antiga no Brasil, que foi trazida na época da colonização pelos portugueses, devido ao grande interesse em seu óleo para ser usado nas lamparinas, entretanto ainda há muito a se investigar. Problemas relacionados com a identificação da qualidade das sementes, a fim de se evitar gastos com o cultivo, além da definição de cultivares mais adequadas às condições de plantio do semiárido nordestino são

discutidos. São abordados temas como qualidade das sementes, envelhecimento, estresse oxidativo e marcadores de qualidade para a avaliação do uso potencial das sementes. Além disso, a fisiologia, a bioquímica e os aspectos moleculares de sementes e plantas são descritas ao longo de diferentes capítulos.

Os temas selecionados e sistematizados nesta obra, juntamente com os aspectos agronômicos de *R. communis*, são foco de muitos trabalhos científicos em resposta às demandas em pesquisa. Ademais, atrelados às novas tecnologias, vêm possibilitando a ampliação do conhecimento dessa cultura em diferentes áreas e avanços significativos no estudo das sementes da espécie e seu uso. Por fim, este livro apresenta uma abordagem multidisciplinar sobre os avanços científicos no estudo de temas que servem de base para futuros estudos de sementes de *R. communis*, mas também para outras espécies vegetais multiusos e adaptadas a regiões submetidas a diferentes tipos de estresses abióticos.

Boa leitura!

As organizadoras

Sumário

Ricinus communis L. e sua importância socioeconômica	15
Origem da espécie, características e cultivo	15
Óleo de rícino e aplicabilidades	17
Produção de <i>R. communis</i> no Brasil	19
Cultivares BRS Nordeste e BRS Paraguaçu	22
Sementes e qualidade fisiológica	25
Sementes de <i>R. communis</i>	25
Desenvolvimento de sementes ortodoxas	27
Qualidade de sementes e influências externas	28
Reativação do metabolismo	31
Biomoléculas de reserva	35
Envelhecimento de sementes: natural e artificial	39
Envelhecimento e deterioração de sementes	39
Testes de envelhecimento	41
Estresse oxidativo e mecanismos de desintoxicação	47
Espécies reativas de oxigênio	47
Danos oxidativos mais frequentes	50
Antioxidantes não enzimáticos presentes nos vegetais	55
Principais mecanismos de defesa	55
Antioxidantes não enzimáticos	55
Ácido ascórbico	56
Glutationa	57
Tocoferol	59
Compostos fenólicos	60
Alcaloides	62
Carotenoides	62
Peptídeos e aminoácidos	64

Enzimas antioxidantes	65
Superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1)	65
Catalase (CAT, EC 1.11.7.6)	67
Enzimas do Ciclo Ascorbato-Glutationa (AsA-GSH)	68
Ascorbato peroxidase (APX, EC 1.1.11.1)	69
Monodehidroascorbato redutase (MDHAR, EC 1.6.5.4)	70
Dehidroascorbato redutase (DHAR, EC 1.8.5.1)	72
Glutationa redutase (GR, EC 1.6.4.2)	72
Glutationa peroxidase (GPX, EC 1.11.1.9)	74
Glutationa S-transferase (GST, EC 2.5.1.18)	74
Biomarcadores de qualidade e do envelhecimento	77
Métodos utilizados para análise de qualidade e envelhecimento de sementes	83
Caracterização inicial de sementes	83
Análises morfométricas	84
Determinação do peso de mil sementes	84
Grau de umidade das sementes	85
Teste de germinação	86
Curva de embebição	87
Condutividade elétrica e pH do exsudado de sementes	88
Teste de tetrazólio	89
Envelhecimento acelerado	90
Análises transcriptômicas	92
Análises metabolômicas	94
Peroxidação lipídica	98
Avaliação de enzimas antioxidantes	98
Superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1)	99
Catalase (CAT, EC 1.11.7.6)	99
Ascorbato peroxidase (APX, EC 1.1.11.1)	100
Monodehidroascorbato redutase (MDHAR, EC 1.6.5.4)	100
Glutationa redutase (GR, EC 1.6.4.2)	101
Dehidroascorbato redutase (DHAR, EC 1.8.5.1)	101
Glutationa peroxidase (GPX, EC 1.11.1.9)	101
Glutationa S-transferase (GST, EC 2.5.1.18)	101

Referências	103
Sobre os autores	137

Ricinus communis L. e sua importância socioeconômica

*Thamires Soares Ricardo Jesus, Patrícia Campos Santos,
Renato Delmondez de Castro, Henk Hilhorst, Wilco Ligterink e
Luzimar Gonzaga Fernandez*

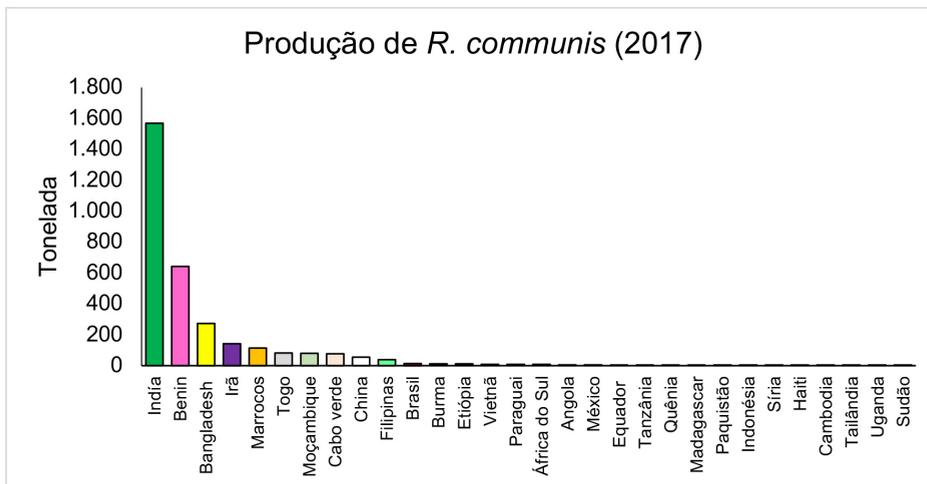
Origem da espécie, características e cultivo

Ricinus communis Liné, oleaginosa pertencente à família Euphorbiaceae, conhecida como mamona, teve sua origem apontada entre a África e Ásia, e atualmente está difundida e bem adaptada em regiões temperadas, subtropicais e tropicais (POLITO et al., 2019; SINGH et al., 2018, 2015). É cultivada atualmente em mais de quinze países, tais como Brasil, Índia e China (ALLAN et al., 2008; MORAES et al., 2015). Segundo os dados da Food and Agriculture Organization of *the United Nations* (2020), os maiores produtores em tonelada no mundo são: Índia, Benin, Bangladesh, Irã, Marrocos, Togo, Moçambique, Cabo Verde, China, Filipinas e Brasil, sendo a Índia responsável por mais de 90% das exportações de óleo de mamona (Figura 1).

R. communis é uma planta perene, que apresenta grande variabilidade genética. Suas folhas e seus caules podem variar em coloração de verde de diversas tonalidades ou avermelhada, lobadas de formas e de tamanhos variados. O fruto pode possuir espinhos ou ser liso. A semente carunculada, varia em formato, tamanho, peso e coloração. É observada também variabilidade na altura das plantas, no teor de óleo, na tolerância a pragas, doenças e estresse ambiental (AMARAL, 2003; FIGUEIREDO NETO et al., 2004; SILVA et al., 2012) Além disso, apresenta autopolinização ou polinização cruzada pelo vento e tolerância a baixa pluviometria. No entanto tanto a ausência como o excesso de chuvas no período da floração podem diminuir a produtividade da planta

e comprometer a formação de frutos (MORAES et al., 2015; SOUZA et al., 2007).

Figura 1 - Produção de *R. communis* no mundo



Fonte: Food and Agriculture Organization of the United Nations (2020).

As características dessa espécie permitem que a cultura seja economicamente viável em ambientes semiáridos, onde há escassez de água. No Brasil, *R. communis*, além de ser de grande importância econômica, apresenta relevância social no semiárido nordestino devido a suas características, principalmente por ser relativamente bem adaptada em condições de baixa precipitação pluviométrica, apresentar baixo custo de produção, fácil manejo e um bom mercado consumidor. Também pode ser consorciada com outras culturas, tornando-se uma excelente opção para a agricultura familiar dessa região brasileira (BELTRÃO et al., 2003; CÉSAR; BATALHA, 2010; VASCONCELLOS, 2012), principalmente pela necessidade de matéria-prima para a indústria riciquímica (CHECHETTO et al., 2010). Assim, a cultura da mamona tornou-se propícia para a inclusão do pequeno agricultor, principalmente no Nordeste brasileiro, no arranjo produtivo para atender a demanda industrial (CHECHETTO; SIQUEIRA; GAMERO, 2010; QUEIROGA; SANTOS; QUEIROGA, 2011).

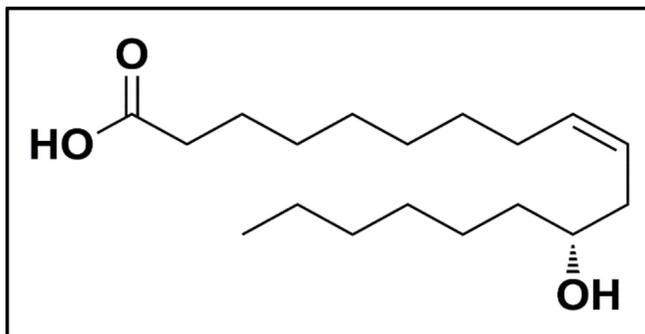
Óleo de rícino e aplicabilidades

A vasta produção de *R. communis* está relacionada diretamente ao seu óleo, que não é apenas um recurso natural barato e ecológico, é também um destaque econômico devido à diversidade em aplicações industriais, sendo utilizado como insumo na fabricação de tintas e vernizes, lubrificantes para aeronaves, fluidos hidráulicos, plásticos, vidro à prova de balas, entre outras aplicações (HAJRAH et al., 2019; OGUNNIYI, 2006; SUJATHA; REDDY; MAHASI, 2008). Comumente usado também como aditivo em alimentos, na produção de medicamentos, próteses ósseas, produtos para a pele, cosméticos, laxante e como lubrificante industrial (KIM et al., 2015; OGUNNIYI, 2006).

O óleo obtido pelas sementes é um líquido espesso, viscoso, com variação de cheiro, sabor e na coloração (incolor ao amarelo escuro), exibindo principalmente o óleo de rícino. Estes índices físicos e químicos que caracterizam o óleo variam de acordo com o cultivar, a localização, o plantio, entre outros (HAO et al., 2020; MESSETTI et al., 2010; MISHRA; PATEL, 2020; RAMAIAH et al., 2020; RIOS et al., 2019; SCHNEIDER et al., 2007) O óleo de rícino é constituído de triglicerídeo rico em 84.2-94.9% de ácido ricinoleico (12-hidroxi-cis-9-octadecenóico), e o restante é composto pelos ácidos linoleico (4,1 – 4,7%), oleico (2,2 – 3,3%), esteárico (0,7 – 1%) e menos de 1% do ácido linolênico (MUTLU; MEIER, 2010; PATEL et al., 2016).

O ácido ricinoleico (C18:1 – 1OH) apresenta, na sua constituição, insaturação entre os carbonos 9 e 10, e a presença de hidroxila, tornando-o um poliol natural (Figura 2), que confere propriedades incomuns ao óleo de mamona, como alta estabilidade, viscosidade elevada, alta densidade e solubilidade em álcool, o que fornece estabilidade oxidativa ao óleo, impedindo a formação de peróxidos (ARMENDÁRIZ et al., 2015; MESSETTI et al., 2010; RIBEIRO et al., 2015; SALIMON et al., 2010; SOUZA et al., 2010). Sua composição também detém propriedades únicas, como alto valor calorífico, número de cetanos elevados, com baixo teor de fósforo e resíduos de carbono (ARMENDÁRIZ et al., 2015; RIBEIRO et al., 2015).

Figura 2 - Estrutura química do ácido ricinoleico



A composição do óleo de rícino e localização funcional da hidroxila do ácido ricinoleico e seus derivados favorece a realização de várias reações químicas, incluindo halogenação, desidratação, alcoxilação, esterificação e sulfatação, que permitem que este possa ser submetido a diversos processos químicos para a obtenção de subprodutos utilizados em aplicações industriais nas áreas farmacêutica, cosmética, de lubrificantes, polímeros e ricinoquímica (BAFOR et al., 1991; BALDONI et al., 2011; MESSETTI et al., 2010; PATEL et al., 2016).

A composição dos ácidos graxos, que constituem os triacilgliceróis, é uma das características mais importantes reconhecidas para a boa qualidade dos óleos das culturas oleaginosas, pois os óleos vegetais são importantes para aplicação nutricional, industrial e farmacêutica. Seu emprego é determinado pela composição dos ácidos graxos, que é bastante variável dependendo da espécie vegetal ou até mesmo da variedade. Os ácidos graxos mais abundantes comumente encontrados em sementes oleaginosas são o ácido palmítico (C16:0), ácido esteárico (C18:0), ácido oleico (C18:1) e ácido linoleico (C18:2). Segundo Salimon e demais autores (2010), o óleo de mamona do genótipo da Malásia é constituído por: ácido linoleico (7,3%), ácido oleico (5,5%), ácido palmítico (1,3%), ácido esteárico (1,2%) e ácido linolênico (0,5%), diferindo dos valores encontrados em genótipos do Brasil e da Índia. O teor de ácidos graxos insaturados foi de 97,5% da composição total de ácidos graxos, conforme apresentado na Tabela 1 (ALENCAR, 2014; SALIMON et al., 2010).

Tabela 1 - Composição do óleo de genótipos de *Ricinus communis* produzidos na Malásia, no Brasil e na Índia

Ácidos graxos			
	Malásia	Brasil	Índia
Palmítico; C16:0	1.3	0.7	–
Esteárico; C18:0	1.2	0.9	1.0
Oleico; C18:1 ω 9c	5.5	2.8	–
Linoleico; C18:2 ω 6	7.3	4.4	4.3
Linolênico; C18:3 ω 3	0.5	0.2	–
Ricinoleico; C18:1 ω OH	84.2	90.2	94.0
Ácidos graxos saturados (AGS)	2.5	1.6	1.0
Ácidos graxos insaturados (AGPI)	97.5	97.6	98.3

Fonte: Salimon e demais autores (2010).

Apesar da grande aplicabilidade do óleo de rícino, a planta *R. communis* apresenta alta toxicidade devido à presença de ricina, uma proteína pertencente à família das proteínas inativadoras de ribossomos (PIR) encontrada exclusivamente no endosperma de sementes de mamona, de ricinina, um alcaloide neurotóxico, e da albumina 2S, uma proteína alergênica (AUDI et al., 2005; CONCEIÇÃO, 2017; SINGH et al., 2018). No entanto, o óleo de rícino não apresenta toxicidade, porque os componentes tóxicos não são extraídos juntamente com o óleo durante o processo, permanecem no restante do material (torta) (SINGH; PAROHA; MISHRA, 2017).

Produção de *R. communis* no Brasil

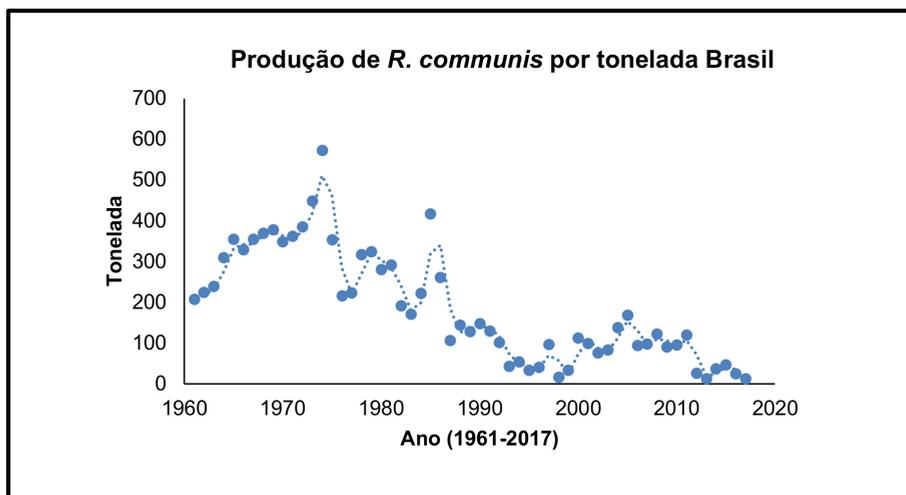
A *R. communis* foi introduzida no Brasil pelos portugueses, devido à necessidade do uso do óleo dessa espécie para iluminação por lamparinas e para a lubrificação de eixos de carroça. O clima tropical facilitou sua disseminação e, assim, a mamoneira se desenvolveu espontaneamente no país, por se aclimatar facilmente, em especial no Norte e Nordeste do Brasil. Entretanto a produção de *R. communis* não se resume apenas a estas regiões, com plantações em todas as outras regiões do país: Centro-Oeste, Sul e Sudeste (CANGEMI; SANTOS; CLARO NETO, 2010; FIGUEIREDO NETO et al., 2004).

As políticas energéticas brasileiras implementadas a partir de meados da década de 1970, com o objetivo de fomentar o uso dos biocombustíveis como fontes de energia limpa e renovável, representaram um grande avanço no que se refere à inserção, num primeiro momento, do álcool e, décadas depois, do biodiesel na matriz energética brasileira (MELO; SILVA; PEREIRA JUNIOR, 2008; ZUCHI *et al.*, 2010).

A produção de mamona no semiárido brasileiro foi apoiada pelo mercado energético do Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel (PNPB). Em 2003, o Governo Federal implantou o PNPB com o objetivo de incluir, a partir do ano de 2006, cerca de 2% do biodiesel no combustível diesel mineral, já que os valores de viscosidade, densidade, condutividade térmica e ponto de fluidez do óleo de mamona foram maiores que os valores de um lubrificante padrão (PATEL *et al.*, 2016), além do investimento governamental e da iniciativa privada, que também incentivou a produção em razão de sua extraordinária importância sob os pontos de vista econômico, social e ambiental. O cultivo desta espécie no semiárido foi escolhido como alternativa na geração de renda para a agricultura familiar e a possibilidade da criação de empregos nos vários setores de produção (BELTRÃO *et al.*, 2003; QUEIROGA; SANTOS, 2008; QUEIROGA; SANTOS; QUEIROGA, 2011).

O intuito de inserir o biodiesel na matriz energética brasileira aconteceu também de forma a atender às políticas internacionais de redução de emissão de gases de efeito estufa (GEE). O PNPB teve, dentre seus objetivos, a inclusão da agricultura familiar e da diversificação regional com matérias-primas para a produção do biocombustível. No entanto, devido à ausência de investimentos em tecnologia, da baixa qualificação, entre outros fatores, a capacidade de produção familiar foi prejudicada, comprometendo a produção de matéria-prima em grandes escalas. Fatores como a queda nos preços recebidos pelos produtores juntamente com a falta de ação do governo também foram determinantes para a redução na produção nacional de mamona. (ALVES; SOBRINHO; CARVALHO, 2004; FERREIRA *et al.*, 2006; FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 2020; SOUZA *et al.*, 2015). Na Figura 3 está representada a produção brasileira desde 1960 até 2017.

Figura 3 - Produção em toneladas de *Ricinus communis* L. no Brasil



Fonte: Food and Agriculture Organization of the United Nations (2020).

O semiárido brasileiro apresenta altas temperaturas, que variam, em média, entre 15-45°C, alta umidade relativa que apresenta média de 50% e abrange o total de 969.589,4 km², ocupando os estados de Alagoas, Bahia, Ceará, Minas Gerais, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte e Sergipe (AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS; MINISTÉRIO DA INTEGRAÇÃO, 2014; ARAÚJO, 2011; MOURA et al., 2005). Para o semiárido nordestino, a cultura da *R. communis* possui grande importância para a economia, por ser uma cultura alternativa de reconhecida tolerância à seca, como fator fixador de mão de obra, gerador de empregos e matéria-prima, cultivada por pequenos e médios produtores, sendo essencial ao progresso da região (FIGUEIREDO NETO et al., 2004), além de ser uma cultura que pode ser cultivada em consórcio com culturas alimentícias e de fácil manejo.

Há no Brasil basicamente dois sistemas de cultivo de mamona: o tradicional e o tecnológico. No tradicional, a colheita é manual, com cultivares de porte médio e alto, e, em sistemas de produção com uso de tecnologias modernas, é cultivada em grandes áreas, com colheita mecanizada (MORAES et al., 2015; SOUZA et al., 2007). No entanto, para o pequeno agricultor, predomina o sistema tradicional, com uso de baixo nível tecnológico, consequentemente havendo degeneração

generalizada dos materiais cultivados, com predominância de variedades locais pouco produtivas, deiscentes, de porte alto, tardias, com baixo teor de óleo e suscetíveis às principais doenças que ocorrem na região (CHECHETTO; SIQUEIRA; GAMERO, 2010; QUEIROGA et al., 2011).

Cultivares BRS 149 Nordestina e BRS 188 Paraguaçu

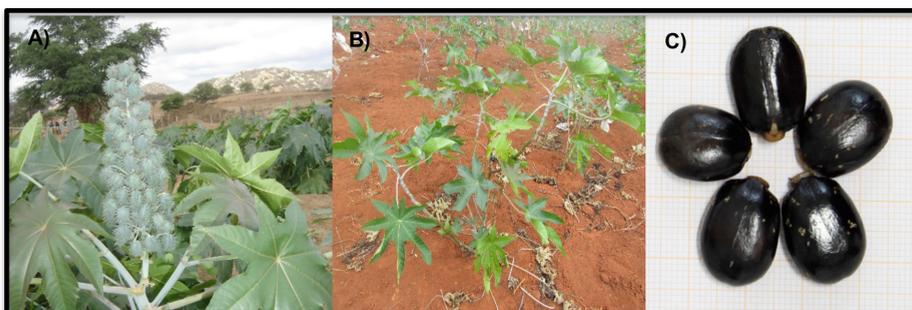
R. communis é considerada um arbusto silvestre, capaz de crescer em grande variedade de solos, sendo adequada para se desenvolver em local com baixa precipitação pluviométrica, além de vegetar em quase todos os países do mundo (FIGUEIREDO NETO et al, 2004; SEVERINO et al., 2006). Apresenta grande variabilidade genética, suas folhas podem ser verdes de diversas tonalidades ou avermelhadas, de formas e tamanhos diversos, a coloração do caule varia, apresenta sementes de diferentes tamanhos e tegumento com múltiplas colorações (FIGUEIREDO NETO et al., 2004). Há várias cultivares de *R. communis*, o que pode ser justificado por se tratar de uma espécie politípica, isto é, subespécies são geradas em função de diferenças de origens morfológica, genética e ecológica (RODRIGUES et al., 2010).

São várias as cultivares de *R. communis* produzidas no Brasil. Para garantir maior produtividade e maior retorno econômico, tornou-se necessário o uso de tecnologias e desenvolvimento de cultivares com características agronômicas desejáveis, maior produtividade, porte da planta, resistência climática, ajustando o cultivar ao ambiente de cultivo (AMARAL, 2003; SILVA et al., 2012) No entanto a maior dificuldade racional da exploração de mamona no semiárido se deve à baixa disponibilidade de sementes de cultivares adaptadas (COSTA et al., 2006; FIGUEIREDO NETO et al., 2004).

Na Embrapa, foram criadas duas cultivares para o semiárido, ambas de porte médio, frutos semi-indeiscentes e sementes grandes, com teor de óleo mínimo de 47%, são elas: BRS 149 Nordestina e BRS 188 Paraguaçu. Devido aos aspectos de irregularidade das chuvas na região do semiárido nordestino, a Embrapa recomenda a utilização dessas cultivares, que são de porte médio, pois possuem melhor adaptação às condições do semiárido, por apresentarem um sistema radicular mais

profundo e desenvolvido, cujas características lhes conferem maior tolerância aos efeitos de estiagem (QUEIROGA; SANTOS, 2008). A cultivar BRS 149 Nordestina (Figura 4) é originária de seleção individual com testes de progênie na cultivar Baianita. As plantas em condições de sequeiro no Nordeste têm altura média de 1,90 m, caule de coloração verde e ceroso, racemo (cacho) de forma cônica e sementes de coloração preta, com peso médio de 0,68 g/unidade (BELTRÃO et al., 2003). A floração ocorre em torno de 50 dias da emergência das plântulas e o teor de óleo nas sementes é em torno de 49%, sendo o ciclo anual por volta de 250 dias. Produz, em média, 1.500 kg/ha de sementes (bagas), tendo cerca de cinco a sete cachos por planta, com tamanho médio de 32 cm com em torno de 37 frutos/cacho (BELTRÃO et al., 2003).

Figura 4 - Cultivar BRS 149 Nordestina de *Ricinus communis*, caracterizada pelo caule verde e racemo cônico. A. racemo cônico; B. porte médio da cultivar; C. sementes.

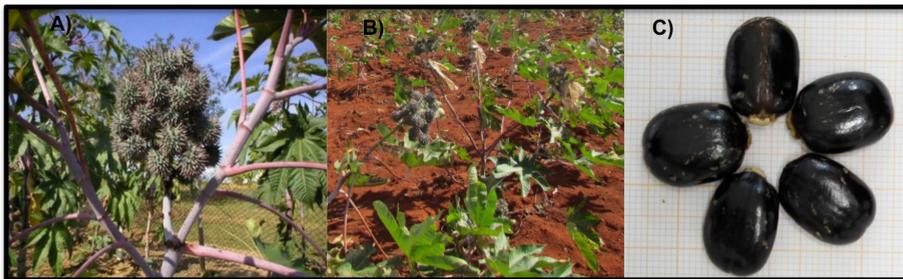


Fonte: A. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (2019); B. e C. Acervo próprio.

A cultivar BRS 188 Paraguaçu (Figura 5) foi obtida pela seleção massal na cultivar local sangue-de-boi, sendo em condições ecofisiológicas, de sequeiro, no Nordeste brasileiro, de porte baixo, com média de 1,60 m de altura. Apresenta caule de coloração roxa e ceroso, com racemo de forma oval, sementes pretas com algumas manchas vermelhas, com peso médio de 0,71 g/unidade, tendo em média 48% de óleo. Os frutos e a folha têm coloração arroxeadada. Produz cerca de 1.500 kg/ha em condições de sequeiro no Nordeste brasileiro, com componentes de produção semelhantes à BRS 149-Nordestina. Ambas, em condições de irrigação, podem chegar a produtividades acima de 5.000kg/ha de bagas (BELTRÃO et al., 2003).

Ricinus communis L.: Sementes, envelhecimento e estresse oxidativo

Figura 5 - Cultivar BRS 188 Paraguaçu de *Ricinus communis*, caracterizada pelo caule roxo e racemo oval. A. racemo oval; B. planta de porte médio; C. sementes.



Fonte: A. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (2019); B. e C. Acervo próprio.

Sementes e qualidade fisiológica

*Thamires Soares Ricardo Jesus, Patrícia Campos Santos,
Henk Hilhorst, Wilco Ligterink, Renato Delmondez de Castro e
Luzimar Gonzaga Fernandez*

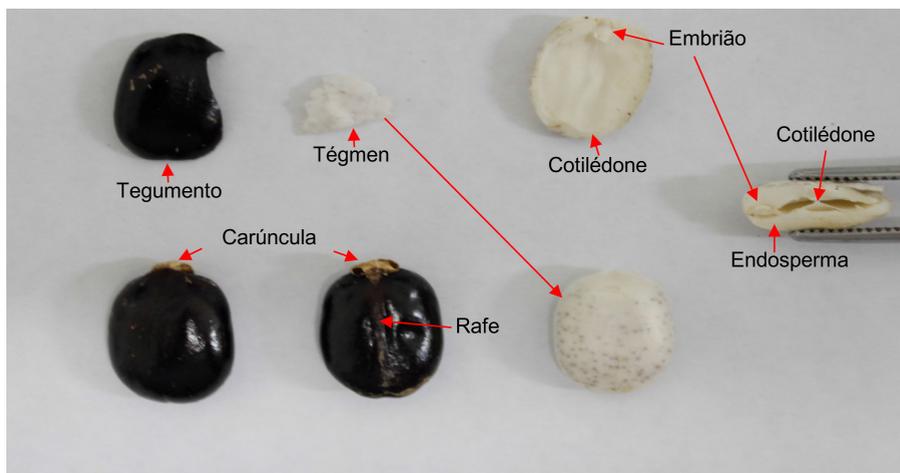
Sementes de *R. communis*

As sementes são estruturas vegetais que fazem parte da vida do homem desde o início das civilizações e possuem diversas importâncias: podem servir como alimento, na dispersão de plantas superiores e de insumos para a produção de produtos diversos (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000; MARCOS FILHO, 2005). Além disso, a semente é essencial para o plantio, sendo que a produtividade e a qualidade do produto dependem primordialmente da qualidade da semente (QUEIROGA et al., 2011).

As sementes da mamoneira são formadas a partir do óvulo da flor fertilizado, que apresentam grande variabilidade no tamanho, na forma, nas cores e no peso (Figura 6). São compostas por tegumento, rafe, micrópila, carúncula, endosperma, cotilédone e embrião (BAHIA, 2007; BELTRÃO et al., 2001; LUZ, 2012). Além disso, ressalta-se que a semente de mamona é o principal elemento para a extração do óleo de rícino.

O tegumento é uma estrutura de proteção de origem materna que envolve e protege o óvulo, este pode ser externo e interno. O externo é representado pela casca, dura e quebradiça, e o interno é o tégmen, uma película fina envolvendo o endosperma. Geralmente, esses envoltórios tornam-se secos e duros, protegendo o embrião das radiações solares que podem causar danos ao material genético, das oscilações térmicas e da ação de organismos decompositores. (BAHIA, 2007; BRASIL, 2009; LUZ, 2012; RIBEIRO FILHO, 1966).

Figura 6 - Estruturas das sementes da cultivar BRS 188 Paraguaçu de *R. communis*



O rafe é uma cicatriz alongada, acima do hilo, em oposição à micrópila, deixada pelo funículo nos óvulos curvados. A micrópila é uma pequena abertura presente no tegumento, indica sempre abaixo a posição da radícula do embrião, marcada por uma saliência no tegumento. A carúncula é uma excrescência carnosa sobre o tegumento das sementes e se forma próximo da micrópila (BAHIA, 2007; BELTRÃO et al., 2001; BRASIL, 2009; LUZ, 2012).

O endosperma é um tecido de reserva das sementes rico em óleo. Este tecido serve para proteger e nutrir o embrião durante a germinação e o desenvolvimento da plântula. O cotilédone, primeiro par de folhas embrionárias, e não uma folha verdadeira, pode se tornar o primeiro órgão fotossintetizante. O embrião está presente no interior da semente e dará origem à futura plântula, formada a partir da fecundação da oosfera, isto é, da fusão dos núcleos dos gametas femininos e masculinos da planta. Geralmente formado por um eixo mais ou menos diferenciado (eixo hipocótilo-radícula) e pela inserção dos cotilédones (BAHIA, 2007; BRASIL, 2009).

O endosperma passa por três estágios distintos no metabolismo durante sua existência. No desenvolvimento da semente, o metabolismo do endosperma é primariamente caracterizado pela rápida síntese de proteína e óleo (BROWN; CANVIN; ZILKEY, 1970). O passo inicial é a acumulação de óleo e da síntese de ácido oleico a partir da acetil-CoA,

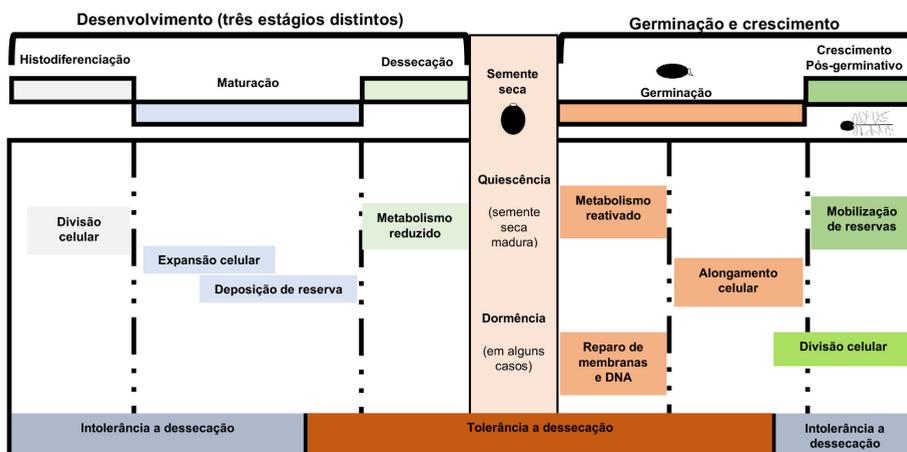
ocorrendo no proplastídeo. A síntese de óleo termina com a desidratação e maturação da semente; no momento da maturação, a semente entra em um estágio de repouso – quando a atividade metabólica é mínima (BROWN; CANVIN; SILKEY, 1970; EASTMOND; GRAHAM, 2001; GRAHAM, 2008). Sob condições adequadas, as sementes germinam e, após dois dias, o metabolismo do endosperma está agora principalmente direcionado ao rápido catabolismo das reservas de óleo. Neste processo, as reservas de óleo são convertidas em sacarose, e um componente importante desse mecanismo é o ciclo do glioxilato, que ocorre no glioxissomo. O glioxissomo, no entanto, não persiste, desaparece com a completa degradação e absorção do endosperma pelos cotilédones em rápida expansão (BROW et al., 1970; GRAHAM, 2008).

Desenvolvimento de sementes ortodoxas

É possível descrever o desenvolvimento de sementes ortodoxas em três estágios distintos (Figura 7). A primeira fase da embriogênese é caracterizada pela formação de tecidos e partes embrionárias (histodiferenciação). Esta fase é marcada por uma atividade inicial intensa de síntese de DNA e abundante rede de citoesqueleto (microtubular cortical e mitótico), resultando na multiplicação celular (CASTRO, 1998; CASTRO; BRADFOD; HILHORST, 2004).

A maturação é considerada a segunda fase, em que há um depósito de nutrientes e reservas no endosperma e no embrião, acompanhando as mudanças relacionadas à forma, ao tamanho e ao peso fresco e seco da semente e do embrião. Esta é caracterizada pela detecção apenas do citoesqueleto microtubular cortical abundante, o qual, na ausência de síntese de DNA e divisões celulares, leva ao crescimento imediato do embrião por expansão celular (CASTRO, 1998; CASTRO; BRADFOD; HILHORST, 2004; VASCONCELOS, 2015). Nesta fase, o embrião atinge sua forma final, coincidindo com os valores máximos de peso seco e aquisição da maturidade fisiológica. A terceira é denominada como dessecação, há redução gradual no metabolismo da semente e do embrião, passando para um estado de metabolismo mínimo ou estado quiescente (CASTRO, 1998; CASTRO; BRADFOD; HILHORST, 2004; VASCONCELOS, 2015).

Figura 7 - Desenvolvimento e germinação de sementes.



Nota: Um esquema geral de eventos associados com as diferentes fases de desenvolvimento, germinação e crescimento pós-germinativo de sementes, incluindo ciclo celular, eventos metabólicos e de reparo, e períodos em que a semente (embrião) é intolerante ou tolerante à dessecação. Fonte: adaptado de Castro, Bradford e Hilhorst (2004).

Qualidade de sementes e influências externas

Para o agricultor familiar, a qualidade da semente é de fundamental importância, pois o elevado vigor e viabilidade das sementes proporciona maior produtividade. A longevidade das sementes é um fator-chave complexo, de importância ecológica, agrônômica, econômica e científica vital, relacionada à resistência das sementes e a uma série de fatores internos – genéticos, estruturais e fisiológicos – e externos (BAILLY, 2004; HUANG et al., 2015; KUREK; PLITTA-MICHALAK; RATAJCZAK, 2019; MIRA et al., 2020). As sementes passam por processos de envelhecimento que limitam sua viabilidade e acabam causando danos ao DNA, acúmulo de espécies reativas de oxigênio e peroxidação lipídica. Estes, em geral, são considerados os maiores contribuidores para a deterioração de sementes, sendo capaz de causar perda da propriedade básica da semente, ou seja, a capacidade de germinar.

As sementes de mamona são o principal insumo para a extração de óleo de rícino. Desse modo, saber como garantir a qualidade dessas sementes é muito importante para uma boa produção, considerando fatores intrínsecos e extrínsecos. A qualidade pode ser influenciada por

vários fatores (internos e externos), que influenciam no desempenho de determinado lote de sementes e na produção de plantas vigorosas. Fatores internos como genética, pureza, saúde, capacidade de germinação, fatores externos como tempo de colheita, processo de manipulação, local e época de cultivo, condições de armazenamento, temperatura, umidade, entre outros são responsáveis pela manutenção ou perda da viabilidade e do vigor das sementes (HUANG et al., 2015; RAHMAN; CHO, 2016; MEDEIROS et al., 2020). Outro fator que leva à redução da qualidade das sementes é a interrupção da transferência de matéria seca da planta para as sementes, ocorrendo deterioração influenciada pelos fatores ambientais, especialmente aqueles predominantes na fase final de maturação (FIGUEIREDO, 2006; OLIVEIRA, 2012; SINGH; PAROHA; MISHRA, 2017; VASCONCELOS, 2015).

A manutenção da qualidade das sementes no decorrer do tempo depende diretamente da longevidade inerente à espécie, da qualidade inicial do lote e do ambiente de armazenamento. O teor de umidade, os danos mecânicos, as pesticidas, embalagens, o envelhecimento, a temperatura e a umidade relativa (UR) do ambiente são responsáveis pelo declínio da qualidade de sementes durante o armazenamento (CARVALHO et al., 2016; DRUMOND et al., 2019; FIGUEIREDO, 2006; QUEIROGA; BELTRÃO, 2004; SINGH; PAROHA; MISHRA, 2017; SINGH et al., 2015; TRZECIAK, 2012).

Condições adequadas de armazenamento são importantes para garantir a qualidade nos aspectos físicos, fisiológicos e sanitários, e permitem manter a viabilidade da semente por um maior período (DRUMOND et al., 2020; MARCOS-FILHO, 2015b; SINGH; PAROHA; MISHRA, 2017; SINGH et al., 2015). Condições adequadas de armazenamento são importantes para garantir a qualidade da semente quanto aos aspectos físicos, fisiológicos e sanitários. Um bom armazenamento permitirá manter a qualidade e a viabilidade da semente por maior período (SINGH et al., 2015).

Altas temperaturas e elevada umidade relativa causam rápida deterioração nas sementes, principalmente em oleaginosas, por apresentarem altos teores de lipídeos e serem mais susceptíveis à deterioração. Isso porque esses fatores levam a alterações bioquímicas, tais como: aumento da atividade hidrolítica, aumento da respiração, danos à

membrana celular, peroxidação lipídica e, conseqüentemente, à geração de subprodutos tóxicos, causando redução da viabilidade e do vigor. Acontecem também alterações enzimáticas, como degradação e inativação de enzimas importantes para diferentes processos metabólicos (ABREU et al., 2013; MARCOS FILHO, 2015; SHARMA et al., 2012; TRZECIAK, 2012).

A temperatura pode agir de forma diferente na semente: temperatura ótima atua de forma favorável durante o armazenamento e para as reações metabólicas durante a germinação. No entanto temperaturas extremas trazem ação danosa, de forma que a germinação raramente ocorre, porque altas temperaturas alteram a estrutura tridimensional de proteínas, muda a fluidez da membrana e aumenta a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO). Baixas temperaturas inativam enzimas, geram mudança de fase da membrana e redução da taxa metabólica (BEWLEY; BLACK, 1994; CASTRO; BRADFOD; HILHORST, 2004; TOZZI, 2010).

A umidade relativa elevada aumenta a taxa de deterioração das sementes, provoca menor integridade do sistema de membranas das sementes e/ou menor seletividade, permitindo, assim, a entrada de água mais rapidamente nas células e a elevação da umidade da semente. A ação de alta umidade relativa e temperatura resulta em maior perda de constituintes celulares, causada pela perda da integridade das membranas celulares (BINOTTI et al, 2008; SANTOS; MENEZES; VILLELA, 2004) A semente é um material higroscópico, então a viabilidade da semente irá diminuir a depender da alta umidade relativa e temperatura do ambiente em que as sementes são armazenadas (JESUS, 2016).

A perda de viabilidade e do vigor devido ao envelhecimento das sementes representa um grande desafio para o armazenamento, principalmente quando envolve armazenamento em bancos de sementes, visando proteção da variabilidade do material genético. Portanto é preciso avaliar os mecanismos que regulam o envelhecimento das sementes para identificar possíveis marcadores bioquímicos, fisiológicos, moleculares e genéticos associados à qualidade das sementes e monitorar, de maneira rápida e confiável, o grau de envelhecimento e a viabilidade das sementes durante o armazenamento a curto e longo prazo (BIRTIC et

al., 2011; CORBINEAU et al., 2002; HU et al., 2012; KRANNER et al., 2006; NAGEL et al., 2014; WALTERS et al., 1998; YAO et al., 2012).

A umidade relativa e a temperatura são fatores determinantes para o armazenamento adequado, segundo Jesus (2016), que estudou as condições de armazenamento de sementes das cultivares Nordeste e Paraguaçu de *R. communis*. Utilizou quatro diferentes condições: 1. com a umidade relativa e a temperatura controlada – URTC; 2. com o controle da umidade relativa – URC; 3. com o controle da temperatura – TC; 4. com umidade relativa e temperatura do ambiente de laboratório – URTAL. Concluiu que as sementes mantidas nas condições sem controle de umidade relativa apresentam redução significativa na qualidade, sofrendo grandes influências do ambiente de armazenamento. Já Santos, Parwata e Jaia (2015), ao armazenar sementes usando diferentes embalagens (saco plástico de polipropileno, juta e tecido), verificaram que a viabilidade e o teor de óleo reduziram durante o período de armazenamento em todas as condições. A melhor embalagem para estas sementes foi a plástica de polipropileno, pois conseguiu manter a viabilidade acima de 80%. Isso porque as embalagens de juta e tecido foram afetadas pela umidade relativa do ambiente, alterando a umidade da semente e reduzindo a viabilidade. O baixo teor de umidade reduz a respiração e a deterioração, melhorando a qualidade das sementes armazenadas (CHEEMA et al., 2010).

Reativação do metabolismo

Em geral, a maioria das variedades de mamona, quando selecionadas para o cultivo, apresentam sementes com germinação desuniforme e lenta. Dessa forma, as sementes ficam expostas a fatores bióticos e abióticos. Isso tem sido atribuído à dificuldade na absorção de água pelas sementes devido à espessura e rigidez do tegumento ou a uma possível dormência (LAGO et al., 1979; MENDES et al., 2009; NOBRE et al., 2014) Do ponto de vista agrônomo, o ideal seria uma emergência rápida e uniforme, o que é importante, pois plantas bem desenvolvidas facilitam o manejo durante a colheita e o processamento, permitindo um reflexo positivo na produtividade da lavoura e no rendimento do óleo (MENDES et al., 2009).

A água é um dos componentes mais importantes para o processo de germinação, sendo responsável pela hidratação inicial dos tecidos das sementes. Em paralelo, ela intensifica a respiração e todos os processos metabólicos necessários para a digestão e mobilização de reservas, reativação morfo genética da semente (processos de expansão e divisão celular), que resultam na retomada do crescimento do eixo embrionário e na formação da plântula (BEWLEY; BLACK, 1994; MENDES et al., 2009; VASCONCELOS, 2015).

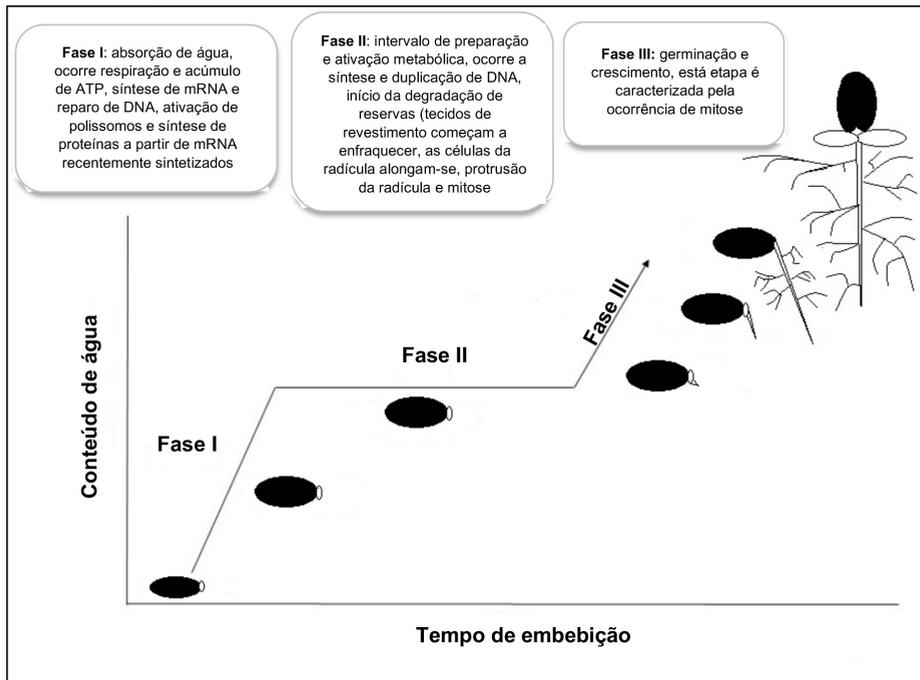
Fatores como a temperatura e o potencial fisiológico das sementes também podem influenciar o processo de absorção de água, temperaturas mais altas aumentam a taxa de respiração celular, assim como também aumentam a velocidade de reações metabólicas. Sementes com potencial fisiológico inferior apresentam deficiências no processo de reparo e/ou proteção ao sistema de membrana durante a fase de embebição (ATAÍDE et al., 2014; COSTA; HUANG, 2007).

A germinação é um processo fisiológico complexo que se inicia com a entrada de água na semente e termina com a ruptura do tegumento pela radícula e emergência de parte do eixo embrionário de dentro dos envoltórios seminais (BEWLEY, 1997; NOLETO; PEREIRA; AMARAL, 2010). Um fator importante para a germinação está diretamente associado à água presente nas células. Para que uma semente germine, é necessário que o meio forneça água suficiente para ativação das reações químicas e, durante este processo, há concomitantemente a reativação de mecanismos bioquímicos, fisiológicos e moleculares para a desenvolvimento do embrião (ALBUQUERQUE et al., 2009; ATAÍDE et al., 2014; BEWLEY; BLACK, 1994; MARCOS FILHO, 2005). Esse processo, na maioria dos casos, ocorre em um padrão trifásico (Figura 8).

Na fase I, ocorre o início do processo de embebição por parte da semente. É uma fase caracterizada pelo aumento rápido do potencial hídrico do embrião. Nesta fase, ocorre rápido aumento da respiração e de absorção de água de maneira física. Devido a um gradiente de potencial hídrico, a água é transportada para o interior da semente. Na fase II, os potenciais hídricos estão bem próximos, por isso há acentuada redução na absorção de água. Dessa forma, é estabelecido um platô, onde se inicia a reativação do metabolismo. Fase caracterizada por síntese e duplicação do DNA, degradação de reservas, protrusão

da radícula e o alongamento das estruturas (BEWLEY; BLACK 1994; CASTRO; HILHORST, 2004; TOZZI, 2010; VASCONCELOS, 2015). Por fim, na fase III, a absorção de água é retomada, aumentando consideravelmente a curva de embebição (CASTRO; HILHORST, 2004; VASCONCELOS, 2015).

Figura 8 - Representação esquemática do padrão trifásico de absorção de água durante a embebição de sementes, em relação aos conteúdos aproximados de água, em que os diferentes eventos do processo germinativo são iniciados.



A sacarose, os oligossacarídeos da série rafínosica, o amido e os polissacarídeos de parede celular, são considerados os principais compostos derivados de carboidratos que desempenham a função de reserva nas sementes. Há quatro grandes grupos de proteínas que atuam na reserva: albuminas, globulinas, prolaminas e as glutelinas. Os triacilgliceróis (TAG) são a forma de armazenamento dos lipídeos de reserva (ALENCAR, 2014; VASCONCELOS, 2017). É importante ressaltar que os carboidratos e os lipídeos servem como fonte de energia e carbono para a germinação das sementes e o desenvolvimento de plântulas. Já as proteínas são importantes para o fornecimento de

enxofre e nitrogênio na síntese de novas proteínas, de ácido nucleico e de compostos secundários significativos no desenvolvimento das plântulas (ALENCAR, 2014; CORTE et al., 2006; RAHOUI et al., 2015; VASCONCELOS, 2017).

Iniciada a embebição, a atividade respiratória é aumentada, juntamente com o metabolismo celular, em que esta reativação metabólica provoca uma série de mudanças fisiológicas, levando ao consumo das reservas energéticas existentes no endosperma ou nos cotilédones, tais como carboidratos, lipídios e proteínas, principais compostos de reserva estocados durante os estados tardios de desenvolvimento das sementes (ALENCAR, 2014; SUDA; GIORGINI, 2000). Nesse momento, há a hidrólise dos triacilgliceróis e degradação de ácidos graxos por β -oxidação, produção de açúcares, fitormônios e diversas enzimas hidrolíticas (proteases, β -galactosidases, α -amilases, β -glucanases, nucleases). Ocorre também a utilização de amido ou outros polissacarídeos de reserva, proteínas e aminoácidos em parte na respiração, cuja taxa elevada se deve ao crescimento do eixo embrionário (ALENCAR, 2014; BUCHANAN; GRUISSEM; JONES, 2000).

Biomoléculas de reserva

*Thamires Soares Ricardo Jesus, Patrícia Campos Santos,
Paulo Roberto Ribeiro de Jesus, Henk Hilhorst, Wilco Ligterink e
Luzimar Gonzaga Fernandez*

As sementes apresentam biomoléculas, como reservas nutritivas, que são importantes para a retomada do desenvolvimento. As reservas podem ser armazenadas na forma de carboidrato, proteína e lipídeo. Durante a germinação, as biomoléculas são consumidas para o desenvolvimento do embrião até a formação de plântula. Os carboidratos e lipídeos são as principais fontes de energia química e carbono. Já as proteínas são fontes de nitrogênio e enxofre, indispensáveis para a síntese de novas proteínas, enzimas, ácidos nucleicos e compostos do metabolismo secundário para o desenvolvimento das plântulas (BUCKERIDGE et al., 2004; DIAS; OLIVEIRA; ROCHA, 2018; HENNING et al., 2010; MAGALHÃES; BORGES; BERGER, 2010; MELLO, 2008). Além disso, os carboidratos pré-formados na semente podem ser utilizados como substrato da respiração durante o período germinativo (DIAS; OLIVEIRA; ROCHA, 2018).

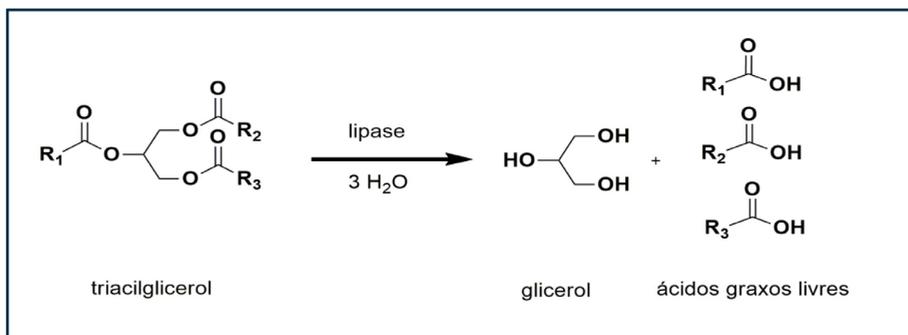
A composição química das reservas das sementes tem sido estudada não apenas pelo teor nutritivo, mas pelo fato de as reservas serem úteis na confecção de produtos industrializados para diversos fins. Além disso, tanto o vigor quanto o potencial de armazenamento das sementes são influenciados pelos teores dos compostos presentes (CORTE et al., 2006). *R. communis* é uma semente oleaginosa, o óleo de mamona é composto por triglicerídeos constituídos por ácido ricinoleico, ácido palmítico, esteárico, oleico, linoleico e outros. O ácido ricinoleico é uma molécula longa de 18 carbonos monoinsaturados (Figura 2), dominante na composição total do óleo (NGUEDAP et al., 2020; YEBOAH et al., 2020).

As biomoléculas de reservas das sementes podem estar presentes no eixo embrionário ou, mais raramente, no perisperma, ou em uma

combinação dessas partes das sementes. No entanto os principais órgãos com função de reserva são o endosperma e os cotilédones, apesar de alguns endospermas sejam principalmente reservas de lipídeos e proteína. Quando a reserva é de carboidrato, o amido é encontrado, em geral, nos endospermas de cereais, enquanto os galactomananos são característicos nas leguminosas. Já os cotilédones possuem uma variedade relativamente maior de compostos de reserva, armazenando carboidratos, que podem ser amido e polissacarídeos de reserva de parede celular, juntamente com proteínas e lipídeos (SASAKI, 2008; HENNING et al., 2010)

Os triacilgliceróis (TAG) são substâncias nas quais os três grupos hidroxila do glicerol são esterificados com ácidos graxos (Figura 9). É a principal forma de estocagem de lipídeos nas sementes oleaginosas, sendo armazenados na organela denominada oleossomo ou corpo lipídico. A matriz de um corpo lipídico é envolvida por uma monocamada de fosfolipídios, na qual está inserida a proteína chamada de oleosina, responsável por regular o tamanho e formato do corpo lipídico. O tamanho do corpo lipídico está diretamente correlacionado com a velocidade de degradação durante a germinação (ALENCAR, 2014; JOLIVET et al., 2004; NELSON; COX, 2014).

Figura 9 - Esquema mostrando a reação de hidrólise catalisada pela lipase.

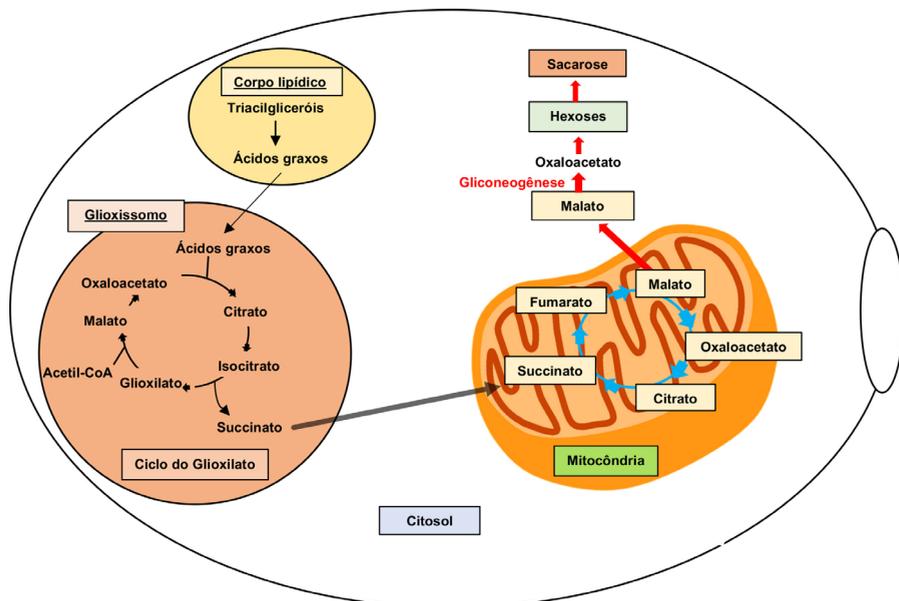


O metabolismo dos TAG nos corpos lipídicos se inicia com a ação das lipases (E.C.3.1.1.3). Inicialmente, o TAG é hidrolisado pela enzima triacilglicerol lipase (Figura 9), liberando ácido graxo livre (AGL) e 1,2-diacilglicerol (DAG). Em seguida, o DAG é hidrolisado

pela DAG lipase, liberando AGL e 2-monoacilglicerol (MAG). Por fim, o MAG é hidrolisado pela MAG lipase liberando AGL e glicerol (GRAHAM, 2008; LASO; OGONOWSKI, 2010; MELO, 2013; TOZZI, 2010; VASCONCELOS, 2017).

O glicerol é usado como fonte de carbono para a síntese de glicose, e os ácidos graxos liberados entram nos glioxissomos, onde serão β -oxidados para a produção de acetil-CoA. A acetil-CoA é convertida em citrato ao reagir com o oxaloacetato, sob ação da citrato sintase, no ciclo do glioxalato (Figura 10). A aconitase promove a conversão do citrato em isocitrato, que é então convertido em glioxalato e succinato pela isocitrato liase. O glioxalato reage com outra molécula de acetil-CoA, catalisada pela malato sintase, formando o malato que, sob a atividade da malato desidrogenase, forma oxaloacetato. O succinato é transportado do glioxissomo para a mitocôndria, entra no ciclo do ácido cítrico, onde é convertido primeiro em malato. O processo termina no citosol, com a conversão do malato em oxaloacetato, que é utilizado para produzir glicose via glicogênese e, assim, produzindo a sacarose (EASTMOND; GRAHAM, 2001; GRAHAM, 2008; NELSON; COX, 2014).

Figura 10 - Metabolismo dos lipídios e o ciclo do glioxilato



Fonte: Adaptado de Nelson e Cox (2014).

A sacarose, produzida a partir dos órgãos de reserva das sementes (Figura 10), é transportada para o eixo embrionário e serve de energia química para o crescimento e desenvolvimento da plântula (MELO, 2013; GRAHAM, 2008; TOZZI, 2010; VASCONCELOS, 2017).

Assim, as sementes em germinação podem converter os lipídeos dos tecidos de reserva (endosperma e cotilédone) em acetil-CoA e, posteriormente, por gliconeogênese em glicose e outros carboidratos (Figura 10) para fornecer energia química para a germinação e crescimento das plântulas antes que a planta se torne fotossinteticamente ativa (BELTRÃO; OLIVEIRA, 2007. No entanto, condições de estresse retardam a mobilização de reserva. Condições desfavoráveis ao abastecimento de água e condições extremas de umidade e temperatura podem alterar ou interromper a mobilização de reservas, prejudicando a germinação e o desenvolvimento de plântulas (MENGARDA et al., 2015; VASCONCELOS, 2017).

Envelhecimento de sementes: natural e artificial

*Thamires Soares Ricardo Jesus, Cristiane Dantas de Brito,
Patrícia Campos Santos, Renato Delmondez de Castro,
Henk Hilhorst, Wilco Ligterink e Luzimar Gonzaga Fernandez*

Envelhecimento e deterioração de sementes

O envelhecimento é um processo natural para todos os organismos. Nas sementes, inicia-se imediatamente após a maturidade fisiológica e prossegue enquanto as sementes permanecem no campo, durante a colheita e o armazenamento. Os processos de deterioração são comuns durante o envelhecimento, em que a soma de mecanismos bioquímicos, fisiológicos e moleculares eventualmente levam à morte da semente. Para fins práticos, uma semente é considerada morta quando está em condição adequada para a germinação (água, umidade, luz e temperatura) e na ausência de dormência, mas não germina (DELOUCHE; BASKIN, 1973; MATTHEWS, 1985).

O envelhecimento pode ser detectado no nível da população, em sementes individuais, em tecidos e nas células. Quando as sementes se deterioram, perdem vigor, tornam-se mais sensíveis ao estresse durante a germinação e podem se tornar incapazes de germinar. A taxa de envelhecimento é fortemente influenciada por fatores genéticos, pela qualidade da semente e por fatores ambientais, tais como temperatura, teor de umidade e condições de armazenamento, que podem ser controlados para aumentar a longevidade da semente (CORTE et al., 2010; SANTOS, 2018; SATHISH et al., 2015).

A deterioração é um processo irreversível nas sementes, relacionando-se a um processo multifatorial combinado associado a várias alterações celulares, metabólicas e químicas, que leva ao declínio na germinação. A rápida deterioração pode estar diretamente ligada a danos causados na

membrana, nos níveis de lipídeos e proteínas e ácidos nucleicos. Devido à degradação de lipídeos de membrana e mudança na composição de ácidos graxos insaturados, ocorre a perda da integridade dos sistemas de membranas da célula que leva a um aumento da permeabilidade, gerando lixiviação de eletrólitos e uma maior condutividade elétrica. Tudo isso ocasiona a perda de vigor, tornando as sementes mais sensíveis a estresse ambientais e, eventualmente, fazendo que elas percam a capacidade de germinar. (CHHABRA; SINGH, 2019; CORTE et al., 2010; SANTOS, 2018; SATHISH et al., 2015).

A peroxidação de ácidos graxos insaturados é considerada uma das principais razões para a perda de vigor, longevidade e viabilidade das sementes. A oxidação de lipídios aumenta o conteúdo de ácidos graxos livres, há a produção de hidroperóxidos, resultantes da oxidação de cadeias de hidrocarbonetos insaturados. Isso afeta a natureza da bicamada lipídica das membranas celulares e aumenta a permeabilidade das membranas por inativação de proteínas de membranas (CHHABRA; SINGH, 2019; MAHJABIN; ABIDI, 2015; SILVA et al., 2016). Além disso, acontecem também alterações degenerativas como a desestabilização nas atividades de enzimas, mudanças na respiração das sementes, acúmulo de substâncias tóxicas, danos às proteínas e ácidos nucleicos, que resultam em deterioração das organelas celulares e, conseqüentemente, no envelhecimento das sementes. Quando as mitocôndrias se tornam não funcionais, é esperado o início da respiração anaeróbica para fornecer energia para processos metabólicos (ABDUL-BAKI; ANDERSON, 1972; CHHABRA; SINGH, 2019; PERTEL, 2004; WALTERS, 1998).

Dessa forma, há uma relação entre produção de etanol oriundo da respiração anaeróbica e deterioração de sementes, pois acredita-se que a principal mudança fisiológica causada pelo envelhecimento das sementes seja danos à membrana celular e o dano ao interior da membrana mitocondrial, resultando no comprometimento da geração de energia pela via aeróbica e fosforilação oxidativa reduzida, proporcionando maior participação na geração de energia pela via anaeróbica, produção de energia metabólica por fermentação anaeróbica, da qual os produtos finais são etanol e ácido láctico (BENAMAR; TALLON; MACHEREL, 2003; BEWLEY; BLACK, 1994; BORGES, 2018; BUCKLEY;

HUANG, 2011; DAMRONGVUDHI et al., 2019; KENNEDY et al., 1992; MCDONALD, 1999; ORNELLASA et al., 2019).

Sementes deterioradas apresentam alteração degenerativa na sua qualidade. Desempenho reduzido durante a germinação, menor produtividade, menor uniformidade na germinação, redução na tolerância às condições ambientais adversas, redução no potencial de conservação, adiamento na emergência de plântulas, menor crescimento de raiz e parte aérea, aumento de plântulas anormais e deterioradas, redução no vigor, perda da capacidade de germinar, mudança na coloração do tegumento de sementes submetidas a alta temperatura e condições de estresse (devido a reações oxidativas) podem ser observados (ABDULBAKI; ANDERSON, 1972; CHHABRA; SINGH, 2019; PERTEL, 2004; WALTERS, 1998).

Testes de envelhecimento

O envelhecimento nas sementes pode ser natural e potencializado por fatores ambientais. Entretanto existem testes para avaliar o vigor das sementes baseando-se na submissão de sementes a temperatura e umidade relativa elevadas, com o objetivo de aumentar a deterioração. Estes são considerados os principais fatores ambientais que influenciam na intensidade e na velocidade de deterioração das sementes. O teste de envelhecimento acelerado (TEA), desenvolvido por Delouche em 1965, é um exemplo. O princípio deste teste estabelece que a taxa de deterioração é acelerada consideravelmente quando as sementes são expostas a temperatura (entre 40 e 45°C) e umidade relativa elevadas. Como resultado, verifica-se que as amostras com baixo vigor apresentam queda mais acentuada da viabilidade, quando submetidas às condições do teste, enquanto as mais vigorosas geralmente são menos afetadas em sua capacidade de produzir plântulas normais (BRAGA JÚNIOR, 2009; ROSSETTO; MARCOS FILHO, 1995; MARCOS FILHO; NOVEMBRE; CHAMMA, 2000; LOPES et al., 2008).

O TEA é indicado para a avaliação do vigor de sementes submetidas a condições de temperatura e umidade relativa elevadas, entretanto pode apresentar limitações para a maioria das oleaginosas. Nestas espécies, pode ocorrer desuniformidade de absorção de água entre as amostras,

o que pode resultar em deterioração diferenciada, comprometendo os resultados pós-envelhecimento. Por isso, Jianhua e McDonald (1997) sugeriram a substituição de água por soluções saturadas de sais durante a condução do teste, método chamado de envelhecimento acelerado com o uso de soluções saturadas de sal. A utilização do sal permite a redução da umidade relativa do ambiente, já que o sal é um composto higroscópico, retardando assim a absorção de água pelas sementes. De acordo com a solução utilizada, são obtidos níveis específicos de umidade relativa do ar, por exemplo, ao usar cloreto de sódio (NaCl), pode-se obter 76%UR; com cloreto de potássio (KCl), 87%UR; e 55%UR ao usar brometo de sódio (NaBr). Os níveis específicos de UR permitem reduzir a taxa de absorção de água, a velocidade e a intensidade de deterioração das sementes sem reduzir a sensibilidade do teste (BRAGA JÚNIOR, 2009; CARVALHO et al., 2019; EBONE et al., 2020; JIANHUA; MCDONALD, 1997; MARCOS FILHO et al., 2000; SILVA et al., 2019).

Outro teste de vigor é o teste de deterioração controlada (TDC), no entanto este apresenta um controle mais preciso da temperatura e umidade durante o período de envelhecimento. Neste teste, as sementes são submetidas a condições idênticas de deterioração, resultando em maior precisão e eficiência na distinção do potencial fisiológico dos lotes de sementes. O que diferencia o TEA do TDC é que neste último, o teor de água das sementes de todos os lotes é uniformizado antes da exposição das sementes a temperatura e UR elevadas. Dessa forma, o teor de água permanece constante durante o período de deterioração, fato não verificado no teste de envelhecimento acelerado (FENOLLOSA; JENÉ; MUNNÉ-BOSCH, 2020; HAMPTON; TEKRONY, 1995; MA et al., 2020; SILVEIRA, 2006; ZUCARELI et al., 2011).

A uniformização antecipada do teor de água inicial das sementes no TDC é importante porque permite que as sementes atinjam, antecipadamente, o ponto de equilíbrio, sendo submetidas a um estresse mais rigoroso que no TEA, onde o teor de água aumenta descontroladamente entre as sementes, até atingirem o equilíbrio. O teste de envelhecimento acelerado avalia a resposta das sementes às condições de temperatura e umidade relativa elevada, enquanto o de deterioração controlada utiliza sementes com elevado conteúdo de água, de forma que neste teste o efeito da umidade é direto. No entanto os testes de

TDC e o de TEA têm como princípio acelerar o processo de deterioração em função da exposição da semente a temperatura e umidade elevadas por determinado período. Esses testes não têm revelado claramente as diferenças entre lotes de vigor médio, mas apenas entre lotes de vigor baixo e alto (FLORES et al., 2019; KRZYZANOWSKI; WEST; FRANÇA NETO, 2001; MARCOS FILHO et al., 2000; ROSSETTO; MARCOS FILHO, 1995; ZUCARELI, 2002; ZUCARELI et al., 2011).

O teste de vigor para a detecção da deterioração de sementes pode ser entendido como um componente importante na avaliação da qualidade fisiológica, contribuindo diretamente para as indústrias de sementes que apresentam dificuldade com o armazenamento. O principal desafio das pesquisas sobre teste de vigor está na identificação de parâmetros relacionados à deterioração das sementes que precedam a perda da capacidade germinativa, ocasionados por processos degenerativos que causam alterações física, fisiológica ou bioquímica que caracterizem a deterioração (GUPTA; PUNIA; DHAIYA, 2017; SPINOLA; CÍCERO; MELO, 2000). O envelhecimento diminui a viabilidade das sementes durante o armazenamento e é um grande problema para o sucesso do crescimento e produtividade da planta, pois leva à deterioração das sementes. Na produção agrícola, sementes envelhecidas causam perdas comerciais e genéticas.

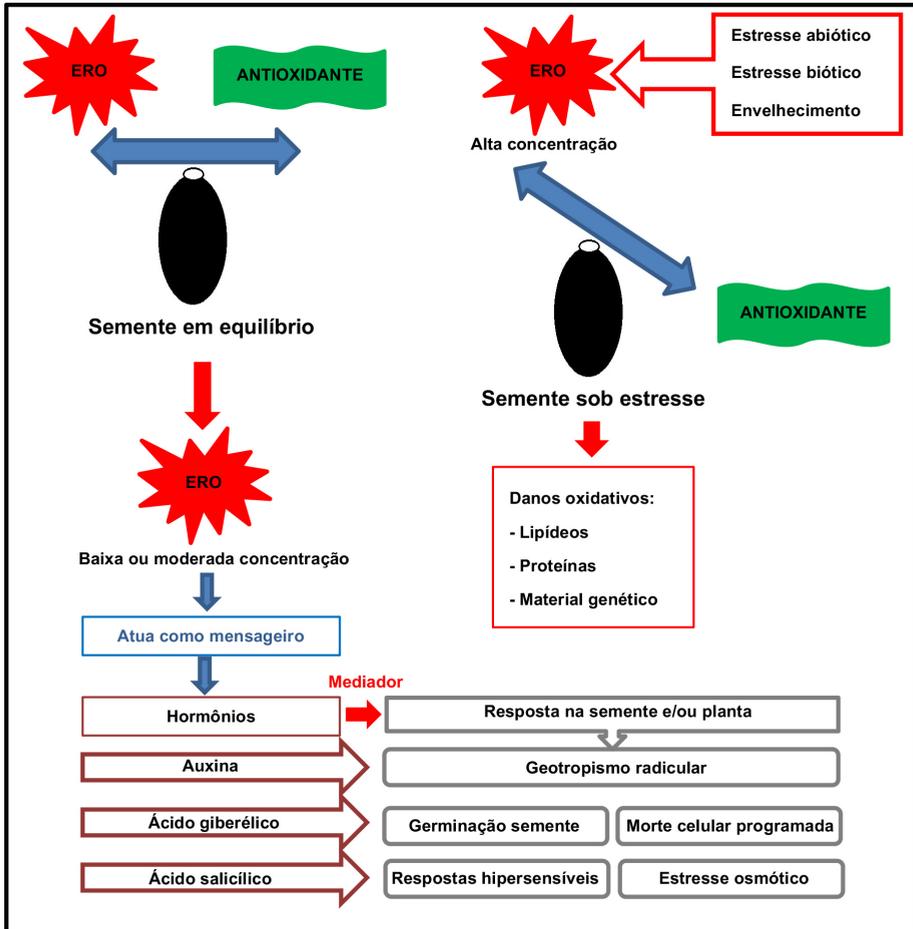
Embora os mecanismos do envelhecimento das sementes ainda estejam em estudo, a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) é considerada como fator que contribui para o envelhecimento das sementes e pode estar relacionada com fatores bióticos e/ou abióticos. O oxigênio também contribui para o envelhecimento da semente, já que ocasiona diretamente um desequilíbrio na produção excessiva de ERO (Figura 11). O acúmulo de ERO leva a dano de lipídios, proteínas, material genético e, conseqüentemente, contribui para a diminuição da germinação e a perda de vigor das sementes (BAILLY; EL-MAAROUF-BOUTEAU; CORBINEAU, 2008; HASANUZZAMAN et al., 2012; RATAJCZAK et al., 2015, 2019; YAO et al., 2012).

ERO estão diretamente relacionadas ao desenvolvimento, germinação, dormência, envelhecimento, sendo um fator-chave no desenvolvimento e na qualidade da semente (BAILLY, 2004, 2019; SHARMA et al., 2012). Portanto espécies reativas de oxigênio não possuem apenas

uma função deletéria, em baixa ou moderada concentração podem atuar nas respostas celulares mediadas por hormônios em vários processos nas sementes e/ou plantas, gerando uma cascata de sinalização, presente no fechamento de estômatos, morte celular programada, geotropismo, aquisição de tolerância a estresse biótico ou abiótico (Figura 11). As plantas e/ou sementes podem detectar, traduzir e converter o sinal de ERO em respostas celulares com ajuda de algumas proteínas sensíveis a redução, mobilização de cálcio, fosforilação de proteínas e expressão de genes. No entanto a reatividade, o tempo de vida e a sinalização através de ERO depende do equilíbrio entre produção de oxidantes e remoção destas pelos antioxidantes (BAILLY, 2004, 2019; JASPERS; KANGASJÄRVI, 2010; SHARMA et al., 2012).

A exposição de sementes a altas umidades e temperaturas causa redução no vigor. Mendes e demais autores (2010), ao avaliar a eficiência de métodos para determinar o potencial fisiológico de sementes de mamona, incluindo o envelhecimento acelerado a 41°C e 45°C e 100% e UR, por 48, 72 e 96 horas, verificaram que o envelhecimento acelerado foi eficiente para avaliação do potencial fisiológico de sementes de mamona, permitindo classificação de lotes quanto ao vigor semelhante à emergência de plântulas em solo. Lopes *et al.*, (2008) submetem sementes de mamona ao envelhecimento acelerado e verificaram que os genótipos de mamona apresentaram, de forma geral, comportamento diferenciado entre as plantas originadas de sementes não tratadas e tratadas, com superioridade para as sementes não envelhecidas. O envelhecimento das sementes reduziu em até 16% a altura e 8% o diâmetro caulinar das plantas dos genótipos estudados e ainda causou retardo no crescimento da área foliar. Drumond *et al.*, (2019), ao avaliar sementes de *R. communis* após envelhecimento acelerado, verificaram redução na qualidade fisiológica após o envelhecimento acelerado.

Figura 11 - Representação esquemática sobre ação de espécies reativas de oxigênio (ERO).



Nota: Equilíbrio e desequilíbrio entre produção de ERO e antioxidantes; ERO em quantidade moderada ou baixa atuam na sinalização e, quando em grande concentração, causam vários danos celulares.

Estresse oxidativo e mecanismos de desintoxicação

*Thamires Soares Ricardo Jesus, Patrícia Campos Santos,
Henk Hilhorst, Wilco Ligterink e Luzimar Gonzaga Fernandez*

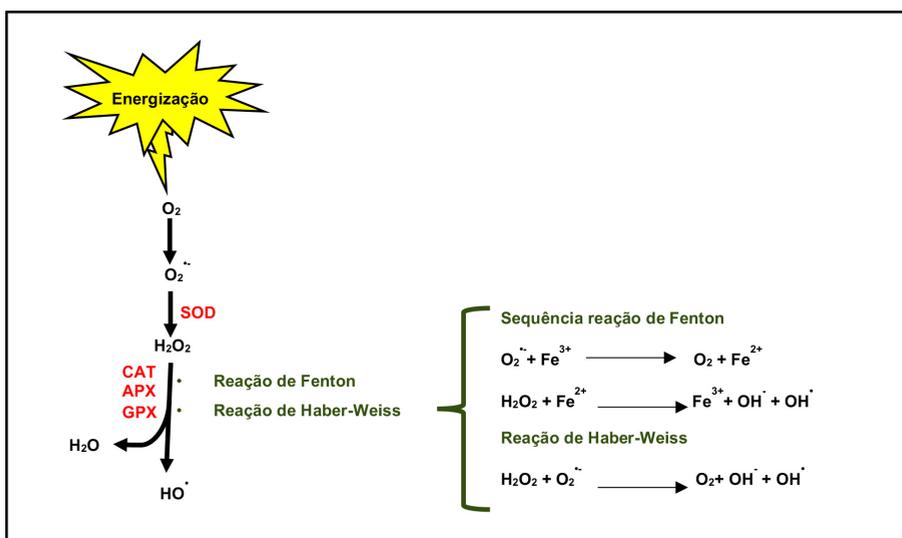
Espécies reativas de oxigênio

Todos os organismos aeróbicos produzem ERO em condições fisiológicas do metabolismo celular aeróbico. Espécies reativas de oxigênio podem ser definidas como átomos, moléculas ou radicais que são formados através da desestabilização eletrônica, tornando-se átomos ou moléculas altamente reativas. Estas espécies contêm número ímpar de elétrons em sua última camada eletrônica, e o não emparelhamento de elétrons é que confere alta reatividade a esses átomos, moléculas ou radicais (FERREIRA; MATSUBARA, 1997; MITTLER et al., 2004; SHARMA et al., 2012). No entanto há ERO que não apresentam elétrons desemparelhados em sua última camada. ANGELI, 2011; MITTLER et al., 2004; SHARMA et al., 2012).

Os radicais livres são formados em um cenário de reações de óxido-redução, em que é cedido o elétron solitário, onde a molécula oxida-se ou recebe outro elétron, reduzindo-se. Portanto os radicais livres provocam ou resultam dessas reações de óxido-redução (ANGELI, 2011; MITTLER et al., 2014; SHARMA et al., 2012). Dentre as ERO radicalares derivadas do oxigênio (Figura 12) há o radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$); radical perhidroxila (HOO^{\bullet}); radical hidroxil (HO^{\bullet}); hidroxila (OH^-); hidroperoxila (HO_2^{\bullet}); radical alcóxila (RO^{\bullet}); radical peroxila (ROO^{\bullet}); radical ânion carbonato ($CO_3^{\bullet-}$); e, também, espécies não radicalares, como peróxido de hidrogênio (H_2O_2); ácido hipocloroso ($HOCl$); oxigênio singlete (1O_2); hidroperóxidos orgânicos ($ROOH$); e ozônio (O_3) (ANGELI, 2011; ARAUJO et al., 2018; FERREIRA; MATSUBARA, 1997).

As ERO podem ser produzidas a partir de fonte endógena ou exógena. Dentre as fontes endógenas mais comuns em sementes estão a mitocôndria, através da cadeia de transporte de elétrons, e os peroxissomos, produtores de peróxido de hidrogênio. As fontes exógenas mais comuns são: temperaturas e umidade altas, salinidade, seca, radiação UV, metais tóxicos, déficits de nutrientes, excesso de água e contaminação por microrganismo (FERREIRA; MATSUBARA, 1997; HASANUZZAMAN et al., 2012; SILVA; GONÇALVES, 2010).

Figura 12 - Processo de redução sequencial de oxigênio molecular (O_2).

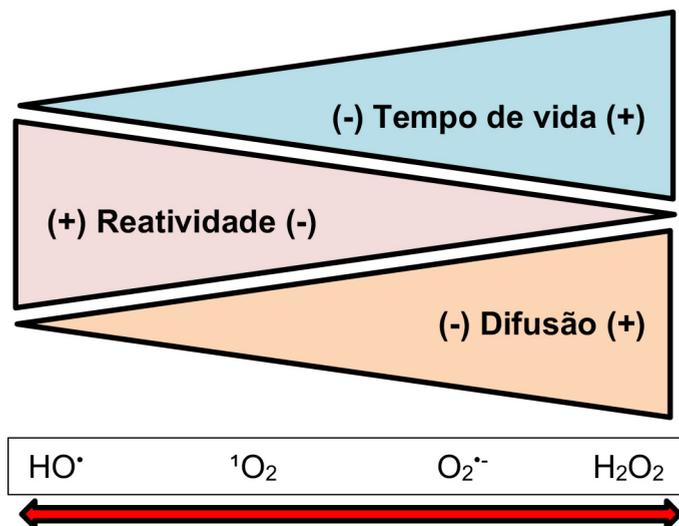


Nota: formação dos intermediários reativos como radicais superóxido ($O_2^{\bullet -}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radical hidroxil (HO^{\bullet}). A formação do radical hidroxil pode ocorrer pela reação de Fenton ou reação de Haber-Weiss.

A reatividade, o tempo de vida e a difusão das ERO são diretamente relacionadas com a velocidade com que estas espécies reagem com a molécula (alvo) presente no ambiente, além da concentração do substrato oxidante (Figura 13). Por exemplo, o tempo de vida, a reatividade e a difusão de radical hidroxil (HO^{\bullet}), oxigênio singlete (1O_2), superóxido ($O_2^{\bullet -}$) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) varia muito (BARBOSA et al, 2010; BARREIROS; DAVID, 2006; FERREIRA; MATSUBARA, 1997; GARCIA, 2005; SILVA; GONÇALVES, 2010).

O radical hidroxil é o mais reativo que se conhece nos sistemas biológicos, com meia-vida curta (aproximadamente 10^{-9} segundos), por isso, quando produzido, este causa danos em região próxima ao local onde foi sintetizado (Pastor, et al., 2000). Devido à alta reatividade deste radical, participa de reações rápidas e inespecíficas com distintos substratos, reagindo, portanto, com diferentes tipos de moléculas biológicas (AGUIAR; FERRAZ, 2007; BARBOSA et al., 2014; MYLONA; POLIDOROS, 2010). O radical HO^\bullet reage amplamente com aminoácidos, ácidos nucleicos (DNA e RNA) e oxida ácidos graxos poli-insaturados dos lipídeos das membranas celulares. O oxigênio singleto é um potente oxidante diante de compostos com alta densidade eletrônica, sendo capaz de reagir com proteínas, ácido nucléico e sistema organizado de membrana. Além disso, apresenta tempo de vida maior que HO^\bullet , por isso se difunde mais, no entanto é menos reativo que o radical hidroxila (BARBOSA et al., 2010; BARREIROS; DAVID, 2006; GARCIA, 2005; SILVA; GONÇALVES, 2010).

Figura 13 - Relação entre tempo de vida, reatividade e difusão de ERO



Fonte: adaptado de Angeli (2011).

O $\text{O}_2^{\bullet-}$ é instável, com vida média de milissegundos, e dificilmente atravessa as membranas. No entanto apresenta meia-vida mais longa

que o radical hidroxil, sendo capaz de reagir com as moléculas por mais tempo. É instável em meio aquoso e pode sofrer dismutação espontânea ou enzimática para produzir peróxido de hidrogênio e oxigênio molecular. É um agente oxidante fraco, que causa danos aos aminoácidos ou perda da função proteica. Além disso, é capaz de produzir outros radicais livres mais citotóxicos e reativos que ele (BARBOSA et al, 2010; BARREIROS; DAVID, 2006; SILVA; GONÇALVES, 2010).

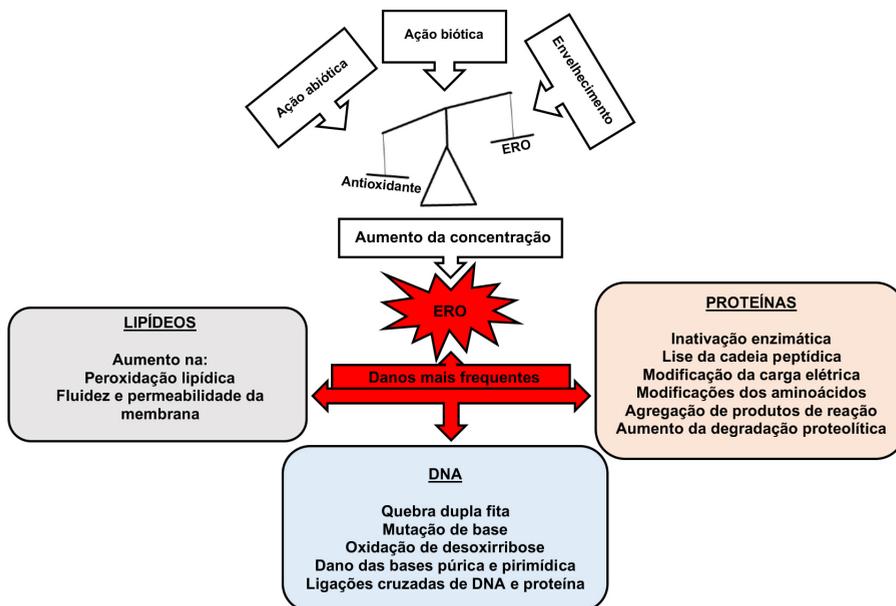
O peróxido de hidrogênio é moderadamente reativo, possui meia-vida longa e tem capacidade de difundir-se livremente através das membranas e reagir com metais de transição e algumas hemoproteínas. Pode induzir alterações cromossômicas, romper a cadeia de DNA e oxidar compostos sulfidril (-SH). É uma ERO extremamente deletéria, pois participa de reações que produzem o HO[•], através da reação de Fenton (ANGELI, 2011; BARBOSA et al., 2010; SILVA; GONÇALVES, 2010).

O radical hidroxil é formado pela fissão homóloga da ligação O-O da molécula de H₂O₂, pela reação do H₂O₂ com o íon ferroso (Fe²⁺), conhecida como reação de Fenton (Figura 12), ou pela interação do H₂O₂ com o radical superóxido (O₂^{•-}), pela reação de Haber-Weiss (ANDRADE, 2013; ANDRADE JUNIOR et al., 2005; BARBOSA et al., 2010; BARREIROS; DAVID, 2006; SILVA; GONÇALVES, 2010).

Danos oxidativos mais frequentes

Todos os organismos aeróbicos produzem espécies reativas de oxigênio, e estas atuam como sinalizadoras e em vários processos celulares, entretanto são tóxicas para as células quando há aumento na concentração e as ERO superam a quantidade de moléculas de proteção celular, antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos (DAS; ROYCHOUDHURY, 2014; GILL; TUTEJA, 2010). Em geral, o estresse gerado pode ser ocasionado por um fator abiótico, biótico e o próprio envelhecimento celular. Estes são responsáveis pelo desequilíbrio e aumento na produção de ERO (Figura 14). O desequilíbrio entre a quantidade de moléculas antioxidantes e ERO é ocasionado por várias condições estressantes, como salinidade, seca, luz alta, toxidades, metais pesados, patógenos, entre outros (DAS; ROYCHOUDHURY, 2014; GILL; TUTEJA, 2010; SHARMA et al., 2012)

Figura 14 - Esquema representando o aumento e a atuação de espécies reativas de oxigênio



Nota: A ação abiótica, biótica e o envelhecimento celular são responsáveis por gerar o desequilíbrio entre a produção de ERO e ação antioxidante. O aumento da concentração de ERO causa danos mais frequentes em lipídeos, proteínas e DNA.

O aumento na produção de ERO pode causar danos diretamente nos lipídeos, nas proteínas e no material genético. Nos lipídeos, essas alterações podem gerar aumento da fluidez e permeabilidade da membrana, peroxidarão lipídica. Nas proteínas, pode ocorrer modificações dos aminoácidos, quebra de cadeia peptídica, aumento da degradação proteolítica e inativação enzimática. E no DNA pode ocorrer lise da dupla fita, danos às bases púricas e pirimídicas, mutação de base, ligações cruzadas de DNA e proteína, oxidação de desoxirribose e remoção de nucleotídeo, conforme observado na Figura 14 (DAS; ROYCHOUDHURY, 2014; GILL; TUTEJA, 2010; SHARMA et al., 2012).

Os lipídios formam a maior parte da membrana plasmática, envolvendo as células e ajudando-as a se adaptar às mudanças ambientais, além de desempenharem diversas funções celulares. As membranas das células e organelas contêm grandes quantidades de lipídeos ricos

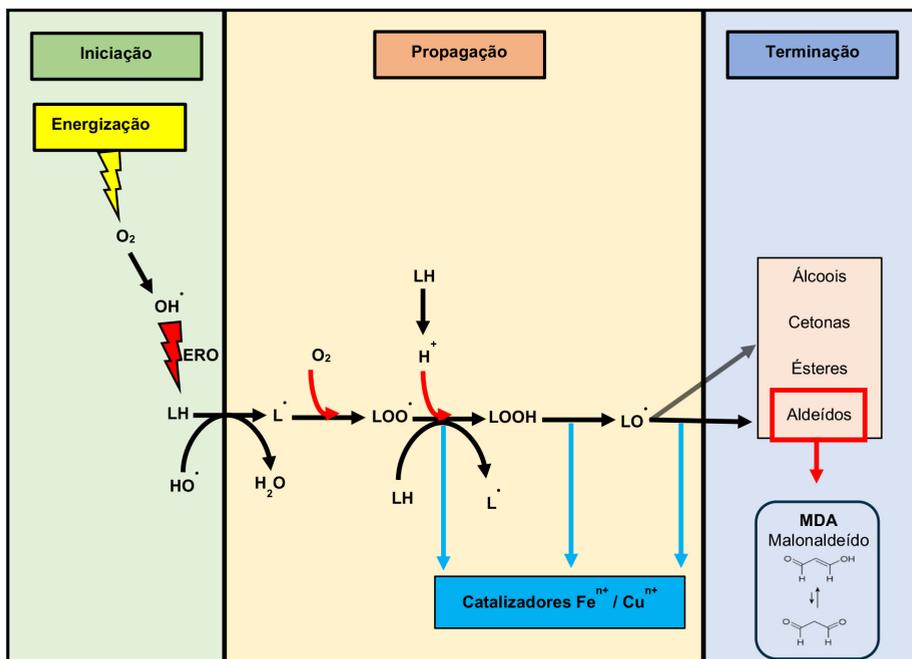
em ácidos graxos poli-insaturados. A fluidez da membrana depende da existência de cadeias insaturadas dos fosfolipídios e do colesterol, e danos nessas estruturas tendem a aumentar a fluidez da membrana. No geral, a peroxidação lipídica aumenta a fluidez e altera a permeabilidade da membrana, causando o vazamento de substâncias que normalmente passariam por canais ou proteínas específicas, alterando o fluxo iônico e o de outras substâncias, o que resulta na perda da seletividade para entrada e/ou saída de nutrientes e substâncias tóxicas, oxidação do colesterol e comprometimento dos componentes da matriz extracelular e morte celular (DAS; ROYCHOUDHURY, 2014; MAFRA et al., 1999).

A peroxidação lipídica por ERO é um tipo de degradação oxidativa de biomoléculas, em que o peróxido é formado de um substrato lipídico. Lipídeos são especialmente propensos a peroxidação, principalmente os ácidos graxos poli-insaturados (AGPI), seja na forma de triacilglicerol ou ácidos graxos livres, como também fosfolipídios polares contendo AGPI (glicolipídios, glicerofosfolipídios e esfingolipídios) e colesterol, devido à presença de grupos metileno adjacentes a ligações duplas (FÉLIX et al., 2020; LIMA; ABDALLA, 2001).

A peroxidação lipídica é tão prejudicial à célula, que se torna o principal parâmetro para avaliar os danos aos lipídeos da célula. Os dois principais alvos das ERO nos fosfolipídios da membrana são a dupla ligação entre os átomos carbono (C=C) e a ligação éster entre o glicerol e os ácidos graxos. Os ácidos graxos poli-insaturados, como o ácido linoleico e linolênico, componentes importantes da membrana plasmática, são os pontos críticos para os danos de ERO, e são especificamente propensos ao ataque por ERO como 1O_2 e OH^{\bullet} (DAS; ROYCHOUDHURY, 2014; FÉLIX et al., 2020; MAFRA; ABDALLA; COZZOLINO, 1999; GILL; TUJETA, 2010; SHARMA et al., 2012).

O processo de peroxidação lipídica pode ser dividido em três fases distintas (Figura 15): iniciação, propagação e terminação (DAS; ROYCHOUDHURY, 2014; FÉLIX et al., 2020; GILL; TUJETA, 2010; MAFRA; ABDALLA; COZZOLINO, 1999; SHARMA et al., 2012).

Figura 15 - Etapas da peroxidação lipídica.



Nota: A etapa de iniciação envolve o processo de energização do oxigênio (O_2) e formação de espécie reativa de oxigênio (ERO), por exemplo, o radical hidroxila (OH^\bullet). Nesta fase inicial da peroxidação, o OH^\bullet abstrai um hidrogênio da cadeia lateral do ácido graxo (LH), ocorrendo a formação do radical alquila (L^\bullet). Na propagação, o L^\bullet formado se combina com o oxigênio, formando o radical peroxila (LOO^\bullet), o qual abstrai o hidrogênio do LH formando o hidroperóxido lipídico (LOOH). Seguindo a formação de alcoxila (LO^\bullet), as etapas da propagação podem ser catalisadas por Fe^{n+}/Cu^{n+} . Por fim, na etapa de terminação, ocorre a neutralização dos radicais e formação de álcoois, cetonas, ésteres e aldeídos. E um dos marcadores mais utilizados para avaliar peroxidação lipídica é o subproduto formado, o malonaldeído (MDA).

Na etapa de terminação, ocorre a neutralização dos radicais formados originando produtos não radicais. Os radicais alcoxila (LO^\bullet) e o peroxila (LOO^\bullet) podem sofrer dismutação ou clivagem formando aldeídos; formar uma ligação covalente com resíduos de aminoácidos e sofrer um rearranjo originando produtos secundários (álcoois, cetonas, ésteres) da peroxidação lipídica (DAS; ROYCHOUDHURY, 2014; FÉLIX et al., 2020; LIMA; ABDALLA, 2001; SANTOS et al., 2007).

Um dos principais produtos da peroxidação lipídica é o malonaldeído (MDA), um aldeído de cadeia curta, formado como produto secundário durante a oxidação de ácidos graxos poli-insaturados por cisão beta dos AGPI peroxidados, principalmente o ácido araquidônico. O MDA é utilizado como um biomarcador para peroxidação lipídica, por

ser facilmente detectado pela reação com o ácido tiobarbitúrico (TBA) (FÉLIX et al., 2020; LIMA; ABDALLA, 2001; MAFRA; ABDALLA; COZZOLINO, 1999).

As ERO podem e gerar diversos danos às proteínas. A oxidação de proteínas ocorre principalmente devido à ação do $O_2^{\cdot-}$ e OH^{\cdot} . Os danos nas proteínas podem ser gerados devido à oxidação dos resíduos de aminoácido das cadeias laterais, formação de ligações cruzadas proteína-proteína, oxidação do molde da sequência da proteína e quebra da cadeia polipeptídica, oxidação do sítio catalítico, mudanças conformacionais, alteração da carga elétrica, aumento da susceptibilidade a proteólise e inativação enzimática (ANSCHAU, 2011; BERLETT; STADTMAN, 1997; CECARINI et al., 2007; ROTTA, 2007; SHACTER, 2000). A oxidação de proteína pode rapidamente contribuir para o estresse oxidativo, afetando a sinalização e a estrutura celular, e processos enzimáticos no metabolismo. Outra consequência da oxidação é a geração de proteína carbonilada. Esta pode reagir com produtos da peroxidação lipídica, metabólitos oxidados ou açúcares redutores. O grupamento carbonila pode promover ligações intra ou intermoleculares e formar os agregados proteicos, portanto as proteínas carboniladas podem ser utilizadas como um biomarcador do estresse oxidativo de proteínas enzimática. (ANSCHAU, 2011; BERLETT; STADTMAN, 1997; CECARINI et al., 2007; ROTTA, 2007; SHACTER, 2000).

As ERO também causam danos diretamente aos ácidos nucleicos, incluindo rompimento da dupla fita do DNA, modificações nas bases purínicas e pirimídicas e no açúcar desoxirribose, geração de danos sem reparo, mutação, alterações na expressão e apoptose celular. A principal ERO que causa danos ao DNA é a OH^{\cdot} , sendo capaz de danificar as bases nitrogenadas purínicas e pirimídicas, como também na estrutura da desoxirribose, reage também com os aminoácidos e RNA. Quando o radical OH^{\cdot} ataca a desoxirribose, este ataque ao açúcar pode ser realizado por abstração de um átomo de hidrogênio, podendo ocasionar ligação cruzada de DNA com proteínas, bases modificadas, defeitos no processo de replicação. E o H_2O_2 é capaz de romper a fita de DNA, além de induzir alterações cromossômicas (ANDRADE JÚNIOR et al., 2005; ANSCHAU, 2011; SILVA; GONÇALVES, 2010; VALKO et al., 2007).

Antioxidantes não enzimáticos presentes nos vegetais

*Thamires Soares Ricardo Jesus, Patrícia Campos Santos,
Paulo Roberto Ribeiro de Jesus, Henk Hilhorst, Wilco Ligterink e
Luzimar Gonzaga Fernandez*

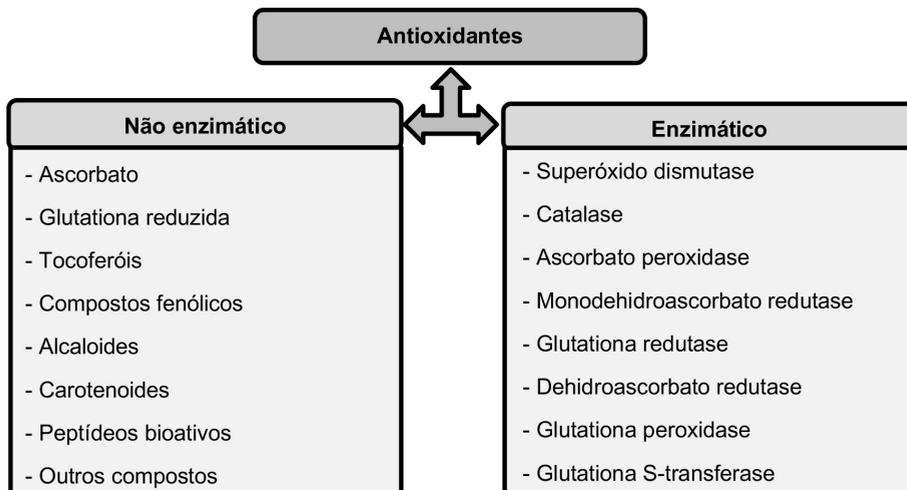
Principais mecanismos de defesa

As espécies reativas de oxigênio têm influência direta ou indireta na deterioração das sementes, afetando vários processos metabólicos, podendo levar a alterações oxidativas nas células, aumentando a taxa de mutação. No entanto há um complexo de defesa para proteger contra os danos causados durante o processo de deterioração das sementes. O mecanismo de defesa é composto por componentes não enzimáticos e enzimáticos (Figura 16) que neutralizam as espécies reativas de oxigênio (CAVERZAN et al., 2019; HASANUZZAMAN et al., 2012; SHARMA et al., 2012).

Antioxidantes não enzimáticos

Os componentes não enzimáticos são: vitamina E, A e C, dentre elas ascorbato (AsA) e tocoferol; glutatona reduzida (GSH); terpenos; compostos fenólicos, alcaloides, carotenoides; ácido úrico; ubiquinona ou coenzima Q10; melatonina; bilirrubina; poliaminas e aminoácidos não proteicos (BARREIROS; DAVID, 2006; BIRBEN et al., 2012; FERREIRA; ABREU, 2007; HASANUZZAMAN et al., 2020; JEVAS, 2016; MIRONCZUK-CHODAKOWSKA; WITKOWSKA; ZUJKO, 2018; RESENDE; SALGADO; CHAVES, 2003; SHARMA et al., 2012).

Figura 16 - Biomoléculas antioxidantes de defesa em plantas, sistemas não enzimático e enzimático



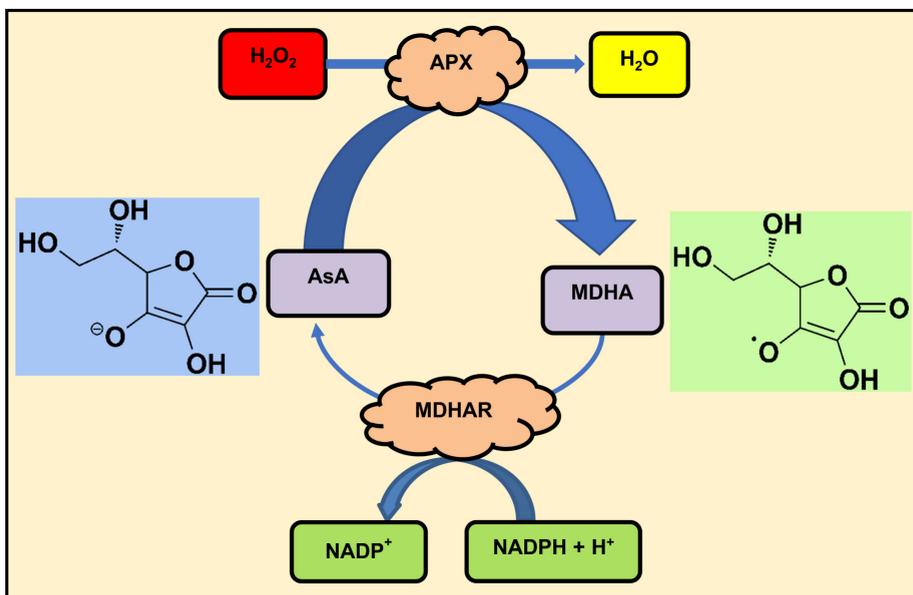
Ácido ascórbico

A vitamina C, ou ácido ascórbico (ácido 2,3-enediol-L-gulônico), ou ascorbato (AsA) é um antioxidante importante nos tecidos vegetais, sintetizado no citosol de plantas superiores, principalmente a partir da conversão de D-glicose em AsA. O ascorbato reage com ERO, tais como: H_2O_2 , $O_2^{\bullet-}$ e 1O_2 , que são a base da sua ação antioxidante. O AsA é o doador terminal de elétrons nesses processos, elimina radicais livres nos ambientes hidrofílicos das células vegetais e OH^{\bullet} em taxas controladas por difusão. AsA possui papel importante no ciclo do ascorbato-glutaciona (AsA-GSH); duas moléculas de ascorbato são utilizadas pela ascorbato peroxidase (APX) para reduzir o peróxido de hidrogênio em água com a geração simultânea de monodehidroascorbato (MDHA). É um radical de vida útil curta que pode ser desproporcional ao dehidro (DHA) e ascorbato (Figura 17). O doador de elétrons geralmente é o $NADPH + H^+$, e a reação é catalisada por monodehidroascorbato redutase (MDHAR) (HASANUZZAMAN et al., 2012; SHARMA et al., 2012; SMERILLI et al., 2019).

Quando o ascorbato é oxidado por um ou dois elétrons, ele produz o radical ascorbila e o ácido desidroascórbico/dehidroascorbato. O radical ascorbila é considerado um radical relativamente não reativo,

quando comparado a outros radicais livres. Isso é importante porque esta propriedade torna o ácido ascórbico um eficiente antioxidante, eficaz para eliminar espécies altamente reativas, produzindo um radical com baixa reatividade. Já o radical ascorbilo pode ser convertido novamente em ácido ascórbico por redutase dependente de nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD), ou por dismutação de duas moléculas do radical em uma de ascorbato e uma de ácido desidroascórbico. No entanto o ácido desidroascórbico é uma molécula pouco estável em pH fisiológico, geralmente reduzido a ascorbato ou hidrolisado irreversivelmente (BEYER, 1994; CERQUEIRA; MEDEIROS; AUGUSTO, 2007).

Figura 17 - O ascorbato faz parte do ciclo do ascorbato – glutatona.



Nota: Componente importante para que a ascorbato peroxidase (APX) seja capaz de decompor o peróxido de hidrogênio em água (H₂O). O AsA é restabelecido no ciclo pela ação da monodehidroascorbato redutase, que oxida o NADPH + H⁺ e disponibiliza um elétron para a formação de AsA a partir de MDHA.

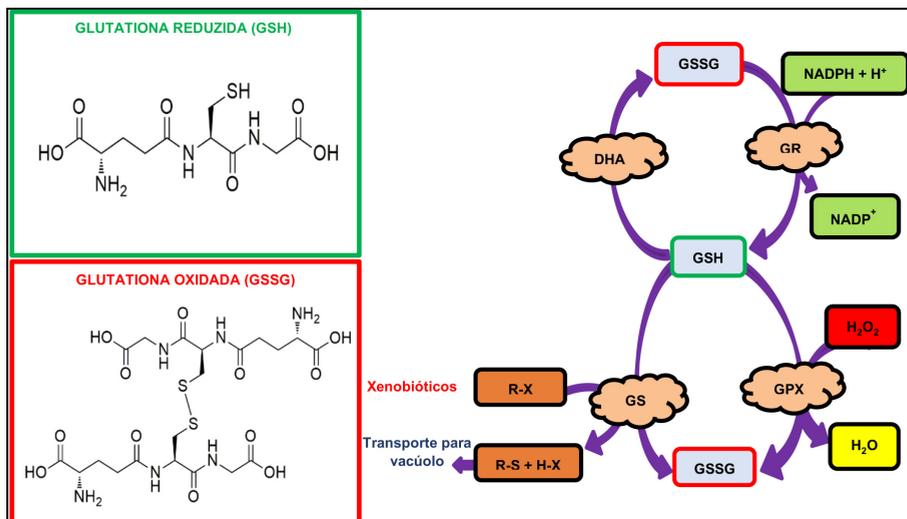
Glutationa

A glutatona reduzida (GSH) é um antioxidante que está diretamente relacionado à redução de espécie reativa de oxigênio. Além disso, o GSH desempenha um papel fundamental na ação antioxidante no sistema de defesa que regenera outros potenciais antioxidantes solúveis

em água, como AsA, através do ciclo ascorbato-glutationa (AsA-GSH). A GSH desempenha papel indireto na proteção das membranas, mantendo tocoferol e zeaxantina em estado reduzido, e é responsável por evitar a desnaturação de proteínas, causada pela oxidação dos grupos tiol das proteínas sob estresse. A glutatona reduzida também é substrato para glutatona peroxidase (GPX) e glutatona S-transferase (GST), que também estão envolvidos na remoção de ERO. Outra função importante da GSH é a participação na desintoxicação de xenobióticos, atuando no armazenamento e transporte de enxofre reduzido e outras moléculas (HASANUZZAMAN et al., 2012; SHARMA et al., 2012; SMERILLI et al., 2019; TIWARI; YADAV, 2019)

Três grupos de enzimas podem ser identificados no ciclo catalítico da glutatona (Figura 18): glutatona peroxidase (GPX), glutatona S-transferase (GST) e glutatona redutase (GR), considerando que esta última é responsável pela regeneração da glutatona reduzida (GSH) a partir da glutatona oxidada (GSSG) em um processo dependente de nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reduzido (NADPH + H⁺). Além disso, a enzima glutatona redutase faz parte do ciclo do ascorbato-glutationa (HASANUZZAMAN et al., 2012; NIMSE; PAL, 2015).

Figura 18 - Conversão da glutatona reduzida para sua forma oxidada pelas enzimas GST e GPX, e da sua forma oxidada em sua forma reduzida pela enzima GR.



Nota: Enzimas do ciclo do ascorbato-glutationa (AsA-GSH). Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reduzida (NADPH + H⁺), nicotinamida adenina dinucleótido fosfato oxidada (NADP⁺), dehidroascorbato redutase (DHAR), glutatona oxidada (GSSG), glutatona reduzida (GSH), glutatona redutase (GR), glutatona S-transferase (GST), glutatona peroxidase (GPX); seta vermelha significa conversão não enzimática; R pode ser grupos alifáticos, aromáticos ou heterocíclico; X pode ser sulfato, nitrito ou haletos.

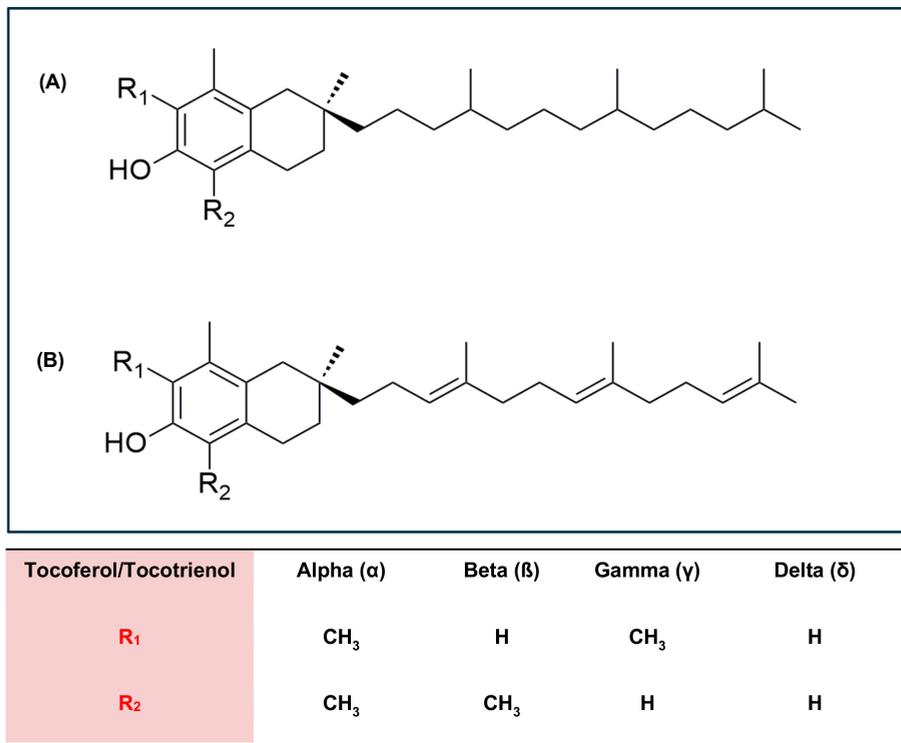
Tocoferol

Os tocoferóis são compostos que possuem grupamentos metil-substituintes e cadeia lateral saturada. Estes são derivados do tocol e apresentam cadeia lateral saturada com 16 átomos de carbono. Existem quatro estruturas isoméricas dos tocoferóis: o α -tocoferol, β -tocoferol, γ -tocoferol e o δ -tocoferol (Figura 19). E há os isômeros tocotrienol (α , β , γ , δ), que apresentam estrutura idêntica, exceto pela presença de três duplas ligações na cadeia carbônica. Além disso, possuem uma cadeia lateral insaturada contendo 16 átomos de carbono (Figura 19). (CERQUEIRA; MEDEIROS; AUGUSTO, 2007; LUZ, 2011; NIKI; ABE, 2019).

Os tocoferóis são muito abundantes nas membranas dos tilacoides que contêm ácidos graxos poli-insaturados e estão próximos das ERO produzidas durante a fotossíntese. Os tocoferóis contribuem para reduzir os níveis de ERO (principalmente ¹O₂ e OH[•]) nas membranas fotossintéticas e limitam a extensão da peroxidação lipídica

reduzindo os radicais peroxila (LOO^\bullet) aos hidroperóxidos correspondentes (FERREIRA; MATSUBARA, 1997; HASANUZZAMAN *et al.*, 2012; MISHRA; CHANDC; SANGWANA, 2019).

Figura 19 - Estrutura química do tocoferol A. e tocotrienol B.



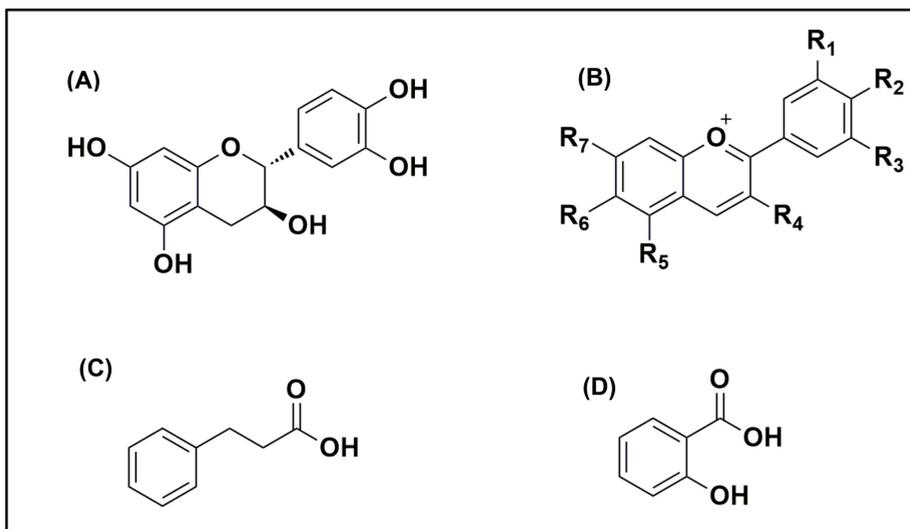
Nota: Os tocoferóis são compostos que possuem grupamentos metil-substituintes e cadeia lateral saturada. Já os tocotrienóis apresentam estrutura idêntica, exceto pela presença de três duplas ligações na cadeia carbônica. R1 e R2 representam os radicais orgânicos

Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são substâncias amplamente distribuídas na natureza, compondo um grande grupo sintetizado por plantas sob diferentes condições ambientais e de estresse. Podem ser pigmentos que dão a aparência colorida aos alimentos ou produtos do metabolismo secundário (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004; SILVA *et al.*, 2010). Os compostos fenólicos são formados por dois grupos diversificados, podendo ser classificados em simples e complexos. Dentre os compostos fenólicos produzidos no metabolismo secundário de plantas

há estruturas diversas, desde polifenóis tipo flavonoides, sendo que catequinas e antocianinas são os mais comumente encontrados, e não flavonoides (fenóis simples ou ácidos), a exemplo dos derivados do ácido hidroxicinâmico e do ácido hidroxibenzoico (Figura 20), como também as ligninas e os taninos. Além desses compostos, estruturas fenólicas são encontradas fazendo parte de proteínas, alcaloides e terpenoides (MELO; GUERRA, 2002; SILVA et al., 2010).

Figura 20 - Estrutura de diferentes compostos fenólicos. A. catequina; B. antocianinas; C. ácido hidroxicinâmico; e D. ácido hidroxibenzoico.



Os compostos fenólicos agem como antioxidantes não somente pela sua habilidade em doar hidrogênio ou elétrons, mas também funcionam como sequestradores de radicais e, em alguns momentos, como quelantes de metais. Podem agir tanto durante a etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo, em virtude de seus radicais intermediários estáveis, que impedem a oxidação de vários ingredientes do alimento, particularmente de lipídios (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004; SILVA et al., 2010).

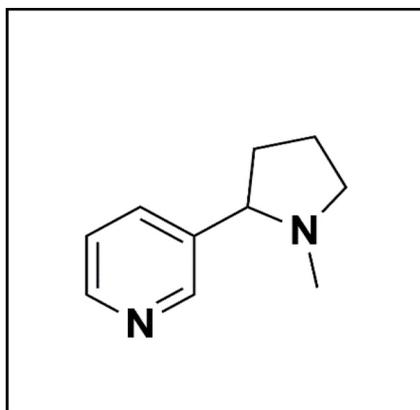
Os produtos intermediários formados pela ação dos compostos fenólicos são relativamente estáveis devido à ressonância do anel aromático apresentada por estas substâncias. A atividade antioxidante destes está relacionada com a posição dos grupos hidroxilas, e a proximidade

do grupo (COOH) em relação ao grupo fenil. A capacidade antioxidante do grupo hidroxila na posição meta é maior quanto mais próximo o grupo (CO₂H) estiver do fenil (CHOUGUI et al., 2013; DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004; HRAZDINA; BORZEL; ROBINSON, 1970; SILVA et al., 2010; SOARES, 2002).

Alcaloides

Os alcaloides em geral são derivados de uma rota biosintética de um aminoácido. Além disso, são metabólitos secundários, heterocíclicos, que possuem pelo menos um átomo de nitrogênio no seu anel carbônico, a exemplo da nicotina (Figura 21), e são solúveis em água.

Figura 21 - Estrutura da nicotina



Em relação às suas propriedades, em sua maioria, os alcalóides apresentam caráter básico e são cristalinos, entretanto alguns formam precipitados amorfos, uns são líquidos a temperatura ambiente, outros não possuem cheiro, são amargos e, em geral, incolor. Os alcaloides apresentam função importante na proteção contra radiação UV, ação antimicrobiana, ação antioxidante e antimutagênica (GARCÍA; CARRIL, 2009; HENNING, 2013; MAGEDANS, 2017; SACHAN et al., 2010; SOARES; MACHADO, 2007).

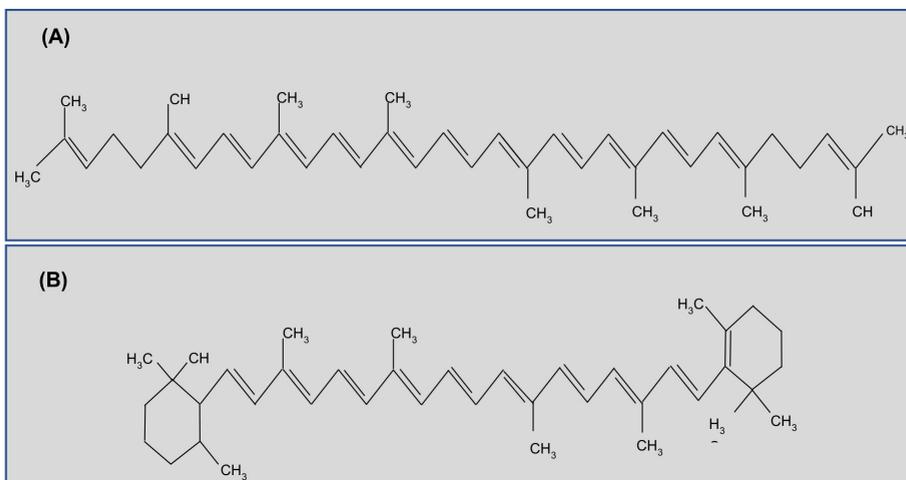
Carotenoides

Os carotenoides são responsáveis por muitos dos tons vermelho, laranja e amarelo das folhas, frutas e flores das plantas, além das cores de alguns pássaros, insetos, peixes e crustáceos. Os carotenoides só

podem ser sintetizados em plantas, bactérias, fungos e algas, mas muitos animais os incorporam a partir de sua dieta e, assim, os carotenoides servem como antioxidantes nos animais. Uma alimentação rica em carotenoide está associada com sua atividade antioxidante, protegendo as células e tecidos contra danos oxidativos (OLIVEIRA, 2010; STAHL; SIES, 2003; UENOJO et al., 2007).

Os carotenoides, geralmente, são constituídos por oito unidades de isoprenos, formando uma longa cadeia de polieno, este pode conter de duas a quinze duplas ligações conjugadas, permitindo muitas configurações *CIS* e *TRAS* (Figura 22).

Figura 22 - Estrutura de carotenoides. A. licopeno; B. β -caroteno



A propriedade antioxidante está relacionada à estrutura destes compostos, especialmente o sistema de dupla ligações conjugadas, permitindo a possível captação de radicais livres, principalmente os radicais alquilperoxila (ROO^{\bullet}). Além da captação de radicais livres, os carotenoides captam energia do oxigênio singleto, que volta ao estado fundamental (CERQUEIRA *et al.*, 2007; FRASER; BRAMLEY, 2004; OLIVEIRA, 2010; STAHL; SIES, 2003; UENOJO et al., 2007).

Em plantas, estes antioxidantes estão presentes em membrana plasmática, em membranas dos cloroplastos e vacúolos, mas podem estar presentes em outras organelas. Sua principal função está relacionada à proteção da membrana plasmática, não permitindo que ocorra

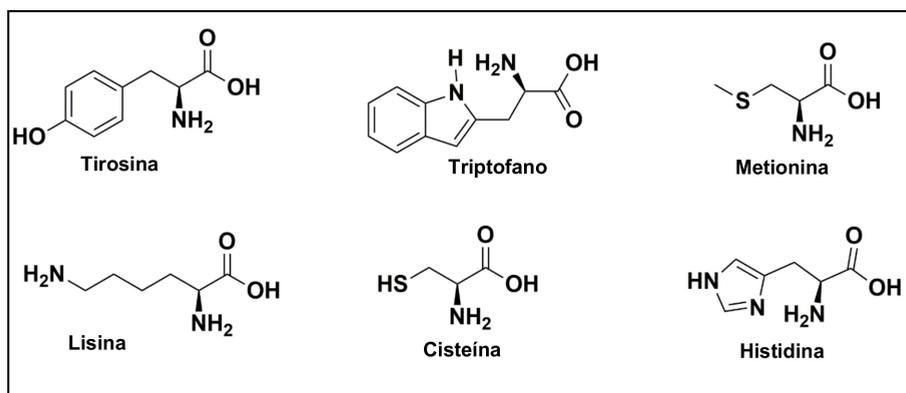
a perda da integridade da membrana através da peroxidação lipídica, fotoproteção e combate ao oxigênio singlete (OLIVEIRA, 2010; STAHL; SIES, 2003; UENOJO et al., 2007)

Peptídeos e aminoácidos

Os peptídeos bioativos apresentam utilidade na saúde do indivíduo e como antioxidantes naturais, constituídos de cadeias de aminoácidos de pequeno tamanho, entre dois a quinze resíduos inativos quando ligados à estrutura primária da proteína. Podem ser liberados através da hidrólise, desempenhando efeitos benéficos para o organismo, mas sua atividade irá depender da composição de aminoácidos e do peso molecular (DU et al., 2020; OLIVEIRA, 2016; PIOTROWICZ, 2016).

Existem aminoácidos que apresentam função antioxidante, por exemplo: tirosina, triptofano, metionina, lisina, cisteína e histidina (Figura 23). Aminoácidos com resíduos aromáticos podem doar prótons para radicais deficientes em elétrons. Peptídeos que contêm resíduos de histidina possuem função antioxidante, através da doação de hidrogênio. Além de possuir a capacidade de reter radicais peróxido e/ou a habilidade quelante de metais, apresentada pelo grupo imidazol. O grupo -SH da cisteína tem ação antioxidante importante devido a sua interação direta com radicais (CENTENARO, 2011; NELSON; COX, 2014; OLIVEIRA, 2016; PIOTROWICZ, 2016).

Figura 23 - Estruturas dos aminoácidos tirosina, triptofano, metionina, lisina, cisteína e histidina, que são antioxidantes



Enzimas antioxidantes

*Thamires Soares Ricardo Jesus, Thales Guimarães Bezerra,
Patrícia Campos Santos, Henk Hilhorst, Wilco Ligterink e
Luzimar Gonzaga Fernandez*

O outro sistema de limpeza das espécies reativas de oxigênio são as enzimas antioxidantes, que estão localizadas em diferentes compartimentos nas células e trabalham juntas na desintoxicação de ERO. As principais enzimas antioxidantes (Figura 24) são: superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutatona peroxidase (GPX) e glutatona S-transferase (GST), e as enzimas do ciclo do ascorbato-glutatona (AsA-GSH) (HASANUZZAMAN et al., 2012).

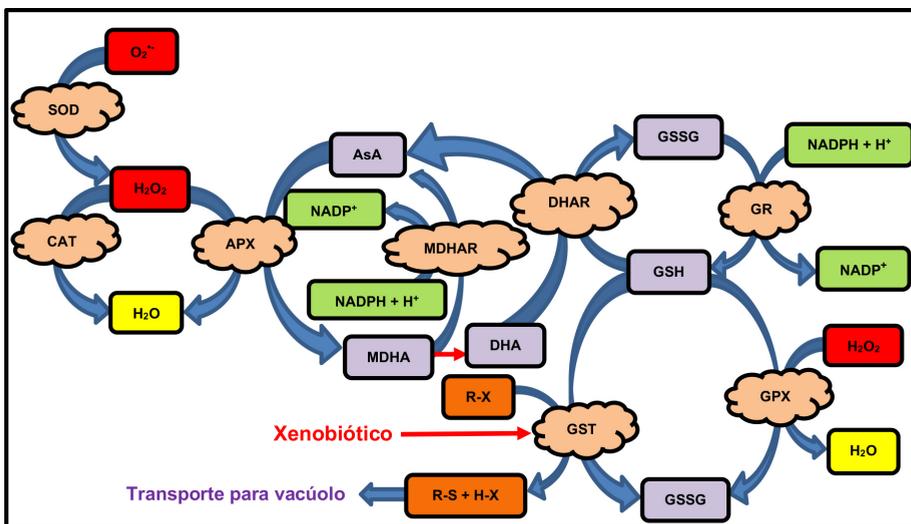
O ciclo AsA-GSH envolve quatro enzimas (Figura 24): ascorbato peroxidase (APX), monodehidroascorbato redutase (MDHAR), dehidroascorbato redutase (DHAR) e glutatona redutase (GR). Juntamente com os antioxidantes não enzimáticos AsA, GSH e nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reduzida ($\text{NADPH} + \text{H}^+$), promovem a desintoxicação do peróxido de hidrogênio em uma série de reações cíclicas, além de regenerar o AsA e GSH (HASANUZZAMAN et al., 2012; HO; MURTHY; PARK, 2020; LI; LIU; ZHANG, 2010; MA et al., 2019)

Superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1)

A superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1) é uma enzima muito importante para o sistema antioxidante enzimático. É a primeira enzima a ser ativada e capaz de realizar a detoxificação do radical superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$) do sistema, presente no citosol, mitocôndrias e cloroplasto de plantas (Tabela 2). A atividade da SOD é realizada através da dismutação de duas moléculas de superóxido em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e oxigênio molecular (O_2). A dismutação é um tipo especial de reação, em que duas meias reações opostas ocorrem em duas moléculas separadas (AHMAD; SARWAT; SHARMA, 2008; BAILLY, 2004; HU et

al., 2019; IGHODARO; AKINLOYE, 2018; KIM et al., 2015; MILLER, 2012; WOLFE-SIMON; GRZEBYK; SCHOFIELD, 2005)

Figura 24 - Mecanismo de desintoxicação de Espécies Reativas de Oxigênio por diferentes enzimas antioxidantes.



Nota: Seta vermelha significa indica conversão não enzimática; R representa grupos alifáticos, aromáticos ou heterocíclico; X representa sulfato, nitrito, haletos. Superóxido ($O_2^{\cdot-}$); superóxido dismutase (SOD); peróxido de hidrogênio (H_2O_2); catalase (CAT); água (H_2O); ascorbato peroxidase (APX); ascorbato (AsA); nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reduzida ($NADPH + H^+$); nicotinamida adenina dinucleótido fosfato oxidada ($NADP^+$); monodehidroascorbato (MDHA); deidroascorbato (DHA); monodehidroascorbato redutase (MDHAR); deidroascorbato redutase (DHAR); glutatona oxidada (GSSG); glutatona reduzida (GSH); glutatona redutase (GR); glutatona S-transferase (GST); glutatona peroxidase (GPX). **Fonte:** adaptado de Hasanuzzaman e demais autores (2012).

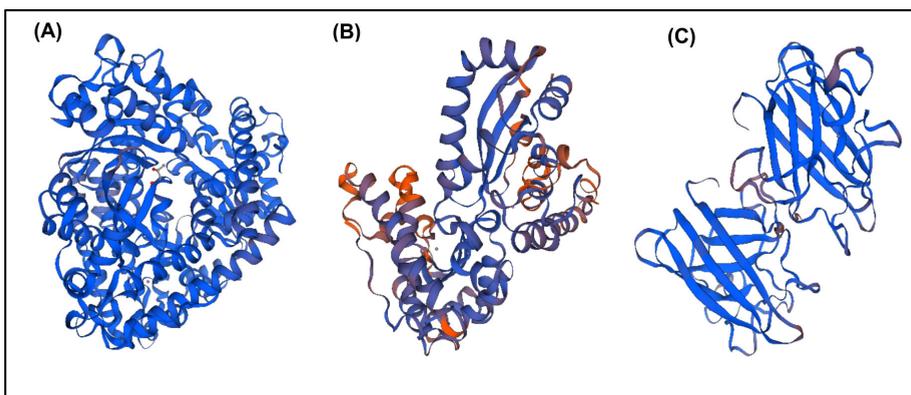
Tabela 2 - Reação catalisada pela SOD e locais de atuação em plantas

Enzima	Reação	Locais de reação
SOD	$2O_2^{\cdot-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$	Cloroplasto, citosol, mitocôndria
Fe-SOD		Cloroplasto
Mn-SOD		Mitocôndria
Cu/Zn-SOD		Cloroplasto e citosol
Ni-SOD		Algas, cianobactérias e bactérias.

A superóxido dismutase corresponde a uma família de proteínas do tipo metaloenzima, assim a SOD requer um metal como cofator, sendo classificadas com base no íon metálico em seu sítio ativo

(HASANUZZAMAN et al., 2012; MILLER, 2012; MORAES et al., 2015; WOLFE-SIMON; GRZEBYK; SCHOFIELD, 2005). Os íons metálicos normalmente ligados à SOD são: ferro (Fe), zinco (Zn), cobre (Cu) e manganês (Mn). Nesse sentido, a SOD pode ser classificada em Fe-SOD, comumente encontrada em procariontes e cloroplasto de algumas plantas; Mn-SOD, presente em procariontes e mitocôndrias de eucariotos; Cu/Zn-SOD é predominante em eucariotos e mais distribuída no citosol, mas também encontrada em cloroplastos (Figura 25). Há também SOD ligada a níquel (Ni), mas só há evidências de sua existência até o momento em algas, cianobactérias e bactérias. Nenhuma evidência para Ni-SOD foi encontrada em plantas (AHMAD; SARWAT; SHARMA, 2008; BAILLY, 2004; HU et al., 2019; IGHODARO; AKINLOYE, 2018; KIM et al., 2015; MILLER, 2012; WOLFE-SIMON et al., 2005).

Figura 25 - Estrutura tridimensional de superóxido dismutase de *Ricinus communis* L.: A. Mn-SOD mitocondrial; B. Fe-SOD cloroplasto; C. Cu/Zn-SOD cloroplasto.



Fonte: Programa para delineamento de estrutura tridimensional SWISS-MODEL¹. Sequência da proteína obtidas no NCBI².

Catalase (CAT, EC 1.11.7.6)

Catalases (CAT, EC 1.11.7.6) são as principais enzimas que eliminam diretamente o H₂O₂ e são indispensáveis para a desintoxicação de ERO durante o estresse oxidativo. A Catalase é capaz de realizar a dismutação de duas moléculas de peróxido de hidrogênio em água e

1 Disponível em: <https://swissmodel.expasy.org/>. Acesso em: 20 mar. 2020.

2 Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>. Acesso em: 20 mar. 2020. NCBI Referência das sequências: A. XP_015575765.1; B. XP_015575802.1; e C. XP_002523728.1.

oxigênio (Tabela 3). Apesar de possuir alta especificidade para H_2O_2 , tem fraca atividade contra peróxido orgânico. As plantas contêm vários tipos de enzimas capazes de degradar o H_2O_2 , no entanto as CAT são as únicas que não requerem redução equivalente (AHMAD; SARWAT; SHARMA, 2008; BAILLY et al., 2004; HASANUZZAMAN et al., 2012; KURAMA et al., 2002; SHARMA et al., 2012).

Tabela 3 - Reação catalisada pela catalase e locais de atuação em plantas

Enzima	Reação	Locais de reação
CAT	$H_2O_2 \rightarrow H_2O + \frac{1}{2}O_2$	Peroxisomo, cloroplasto, mitocôndria
CAT I		Peroxisomos e cloroplasto
CAT II		Peroxisomos
CATIII		mitocôndria.

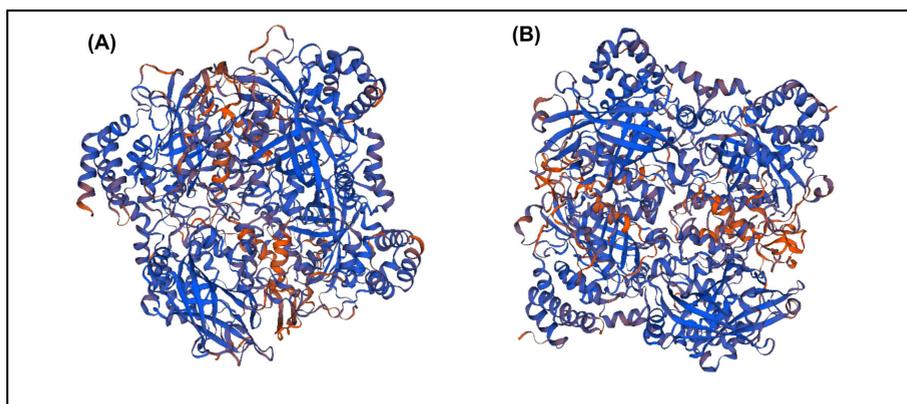
A catalase apresenta menor afinidade pelo peróxido que a APX. Os peroxissomos são os principais locais de produção de peróxido de hidrogênio, a catalase elimina os H_2O_2 formados nessa organela durante a oxidação fotorrespiratória, β -oxidação de ácidos graxos e outros sistemas enzimáticos como o produto da ação da SOD. Até o momento, todas as espécies de angiospermas estudadas contêm três genes CAT. São classificadas em CAT I, isoformas expressas em tecidos fotossintéticos; CAT II são expressas em altos níveis nos tecidos vasculares; enquanto a CAT III é altamente abundante em sementes e mudas jovens. No entanto, em *Ricinus communis* L., são expressas apenas as isoformas CAT I e II (Figura 26) (AHMAD; SARWAT; SHARMA et al, 2008; BAILLY et al., 2004; HASANUZZAMAN et al., 2012; SHARMA et al., 2012).

Enzimas do Ciclo Ascorbato-Glutationa (AsA-GSH)

O Ciclo do AsA-GSH é o maior sistema de defesa contra as ERO no cloroplasto, no citosol, na mitocôndria, no peroxissomo e no aploplasto (Figura 24). O ciclo da AsA-GSH envolve enzimas (APX, MDHAR, DHAR e GR), bem como o AsA, GSH e $NADPH + H^+$ trabalhando juntos na detoxificação do H_2O_2 em séries de reações cíclicas e de regeneração do AsA e GSH. Neste ciclo, a APX catalisa a redução do H_2O_2 para água (H_2O) com simultâneas gerações de monodehidroascorbato

(MDHA), que é convertido para AsA com a ação de NAP-dependente de MDHAR ou desproporcionalmente não enzimaticamente ao AsA e ao dehidroascorbato (DHA). O DHA sofre hidrólise irreversível em ácido 2,3-dicetogulônico ou é reciclado para AsA pela DHAR, que usa o GSH como agente redutor. Isso resulta na geração de GSSG, que é regenerada em GSH pela GR (HASANUZZAMAN et al., 2012; LI; LIU; ZHANG, 2010; MA et al., 2019; SHARMA et al., 2012; TIWARI; YADAV, 2019).

Figura 26 - Estrutura tridimensional da catalase de *Ricinus communis* L.: A. CAT I; B. CAT II



Fonte: Programa para delimitação de estrutura tridimensional SWISS-MODEL³. Sequências da proteína obtida no NCBI⁴.

Ascorbato peroxidase (APX, EC 1.1.11.1)

A ascorbato peroxidase (APX, EC1.1.11.1) faz parte do primeiro passo do ciclo do AsA-GSH para desintoxicação do H₂O₂. A APX desempenha papel essencial na eliminação de ERO e na proteção das células das plantas (Tabela 4). Esta enzima está envolvida na transformação de peróxido de hidrogênio em água no ciclo do ascorbato glutationa. A APX usa duas moléculas de AsA para a redução de H₂O₂ em água e a geração concomitante de duas moléculas de MDHA (HASANUZZAMAN et al., 2012; KARYOTOU; DONALDSON, 2004; SHARMA et al., 2012).

3 Disponível em: <https://swissmodel.expasy.org/>. Acesso em: 20 mar. 2020.

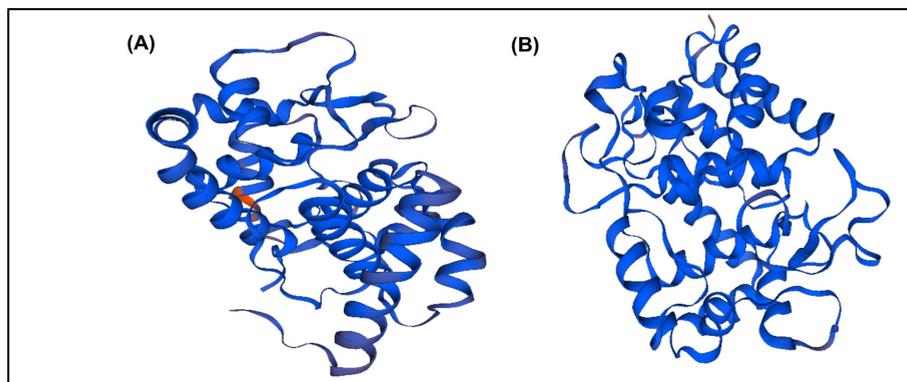
4 Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>. Acesso em: 20 mar. 2020. NCBI Referência das sequências: A. BAA04697.1; B. BAA04698.1.

Tabela 4 - Reação catalisada pela Ascorbato peroxidase e locais de atuação em plantas

Enzima	Reação	Locais de reação
APX	$H_2O_2 + 2AsA \rightarrow 2H_2O + 2MDHA$	Cloroplasto, citosol, mitocôndria, peroxissomo, apoplasto

A APX é membro da classe I de superfamília de heme peroxidase. Além de consistir em diferentes isoformas presentes em compartimentos distintos, foram identificadas cinco isoenzimas (Figura 27): mitocondrial (mAPX), tilacoide (tAPX), membrana glioxissomos (gmAPX), estroma cloroplasto (sAPX) e citosólica (cAPX). A atividade da APX em plantas é alterada em resposta para diferentes condições de estresses (HASANUZZAMAN et al., 2012; KARYOTOU; DONALDSON, 2004; SHARMA et al., 2012).

Figura 27 - Estrutura tridimensional da ascorbato peroxidase de *Ricinus communis* L.: A. APX citosólica; B. APX cloroplasto/mitocôndria.



Fonte: Programa para delimitação de estrutura tridimensional SWISS-MODEL⁵. Sequência da proteína obtida no NCBI⁶.

Monodehidroascorbato redutase (MDHAR, EC 1.6.5.4)

Monodehidroascorbato redutase (MDHAR, EC 1.6.5.4), no ciclo AsA-GSH, a oxidação do AsA leva a formação de monodehidroascorbato (MDHA) se o MDHA não for reduzido novamente para ascorbato pela MDHAR, que será espontaneamente transformado em AsA e DHA.

5 Disponível em: <https://swissmodel.expasy.org/>, Acesso em: 20 mar. 2020.

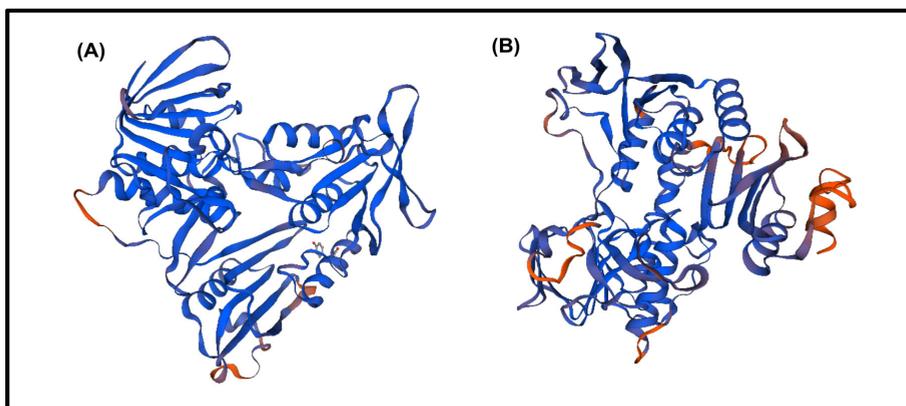
6 Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>. Acesso em: 20 mar. 2020. NCBI Referência das sequências: A. EEF31563.1; B. XP_015575410.

Monodehidroascorbato redutase é uma enzima FAD dependente que catalisa a regeneração de AsA do radical MDHA usando NAD(P)H + H⁺ como doador de elétrons (Tabela 5). Atividade de MDHAR é generalizada em plantas. As isoenzimas da MDHAR estão presentes em vários compartimentos celulares, como cloroplastos, citosol, mitocôndrias e peroxissomo (Figura 28). Nos cloroplastos, a MDHAR possui duas funções fisiológicas: a regeneração de AsA por MDHA e a mediação da fotorredução de oxigênio para O₂^{•-} quando o substrato MDHA está ausente (HASANUZZAMAN et al., 2012; PARK et al., 2019; SHARMA et al., 2012).

Tabela 5 - Reação catalisada pelo monodehidroascorbato redutase e locais de atuação em plantas

Enzima	Reação	Locais de reação
MDHAR	$\text{NADPH} + \text{H}^+ + 2\text{MDHA} \rightarrow 2\text{AsA} + \text{NADP}^+$	Cloroplasto, citosol, mitocôndria, peroxissomo

Figura 28 - Estrutura tridimensional da Monodehidroascorbato redutase de *Ricinus communis* L.: A. MDHAR peroxissomo; B. MDHAR cloroplasto/mitocôndria



Fonte: Programa para delineamento de estrutura tridimensional SWISS-MODEL⁷. Sequência da proteína obtida no NCBI⁸.

7 Disponível em: <https://swissmodel.expasy.org/>. Acesso em: 20 mar. 2020.

8 Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>. Acesso em: 20 mar. 2020. NCBI Referência das sequências: A. XP_002521454.1; B. XP_002509856.

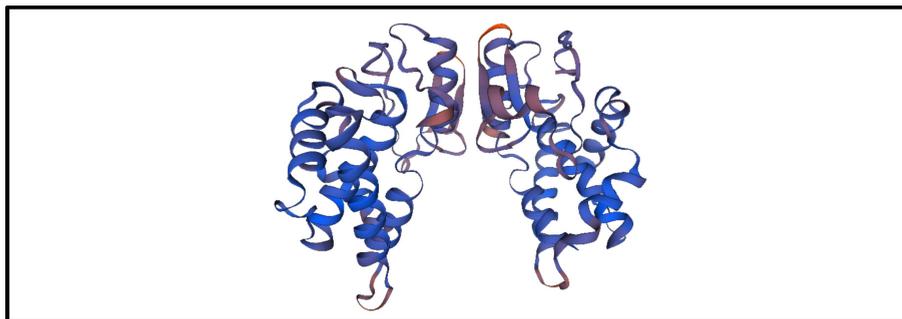
Dehidroascorbato redutase (DHAR, EC 1.8.5.1)

A dehidroascorbato redutase (DHAR, EC 1.8.5.1) catalisa a redução de DHA para AsA usando como substrato redutor GSH; a DHAR desempenha papel importante na regeneração do AsA (Tabela 6). Apesar da possibilidade da regeneração de AsA diretamente do MDHA, alguns DHA são produzidos quando o AsA é oxidado em folhas e outros tecidos. O DHA é um produto químico de vida curta, pode ser hidrolisado irreversivelmente em ácido 2,3-dicetogulônico ou reciclado para AsA pela DHAR. As DHAR (Figura 29) podem ser encontradas no cloroplasto, citosol e mitocôndria de vegetais (Figura 29) (HASANUZZAMAN *et al.*, 2012; ROHMAN *et al.*, 2019; SHARMA *et al.*, 2012).

Tabela 6 - Reação catalisada pela dehidroascorbato redutase e locais de atuação em plantas

Enzima	Principal reação catalisada	Locais de reação
DHAR	$DHA + 2GSH \rightarrow AsA + GSSG$	Cloroplasto, citosol, mitocôndria

Figura 29 - Estrutura tridimensional da dehidroascorbato redutase de *Ricinus communis* L.



Fonte: Programa para delineamento de estrutura tridimensional SWISS-MODEL⁹. Sequência da proteína obtida no NCBI¹⁰.

Glutationa redutase (GR, EC 1.6.4.2)

Glutationa redutase (GR, EC 1.6.4.2) é essencial na desintoxicação de ERO pelo ciclo do AsA-GSH. O aumento da atividade da GR confere tolerância ao estresse, e essa enzima reduz o GSH, envolvida em

9 Disponível em: <https://swissmodel.expasy.org/>. Acesso em: 20 mar. 2020.

10 Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>. Acesso em: 20 mar. 2020. NCBI Referência das sequências: QCQ84564.1.

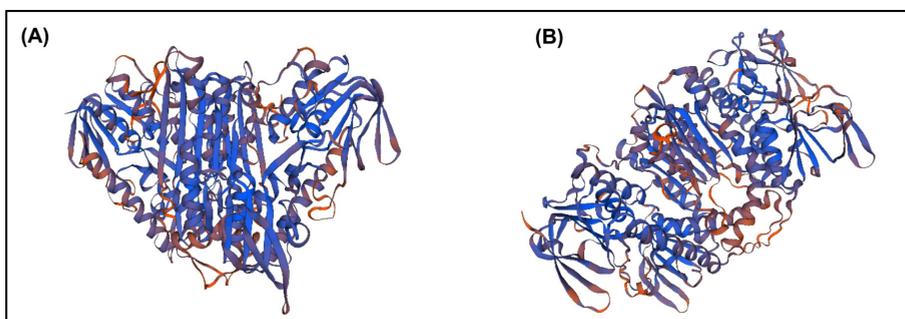
algumas regulações metabólicas e processos antioxidantes de plantas. A GR é uma enzima NAD(P)H dependente que catalisa a redução de glutathiona oxidada (GSSG) para GSH (Tabela 7) (HASANUZZAMAN et al., 2012; LOGAN et al., 2006; SHARMA et al., 2012).

Tabela 7 - Reação catalisada pela glutathiona redutase e locais de atuação em plantas

Enzima	Principal reação catalisada	Locais de reação
GR	$\text{NADPH} + \text{H}^+ + \text{H}^+ + \text{GSSG} \rightarrow 2\text{GSH} + \text{NADP}^+$	Cloroplasto, citosol, mitocôndria

A GR também mantém a alta proporção de GSH/GSSG nas células vegetais, necessária para acelerar a via de eliminação do H_2O_2 , particularmente em condição de estresse. A GR desempenha papel crucial na determinação da tolerância de uma planta sob vários estresses, mantendo a maquinaria antioxidante da célula e conferindo tolerância ao estresse. A glutathiona redutase atua no cloroplasto, no citosol e na mitocôndria, e pertence a um grupo de flavoenzimas, contendo um grupo dissulfeto essencial, conforme se observa na Tabela 7 e na Figura 30 (HASANUZZAMAN et al., 2012; LOGAN et al., 2006; SHARMA et al., 2012).

Figura 30 - Estrutura tridimensional da glutathiona redutase de *Ricinus communis* L.: A. GR cloroplasto; B. GR citosol.



Fonte: Programa para delimitação de estrutura tridimensional SWISS-MODEL¹¹. Sequência da proteína obtida no NCBI¹².

11 Disponível em: <https://swissmodel.expasy.org/>. Acesso em 20 mar. 2020.

12 Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>. Acesso em: 20 mar. 2020. NCBI Referência das sequências: A. XP_002520986.1; B. XP_00251818.1.

Glutationa peroxidase (GPX, EC 1.11.1.9)

Glutationa peroxidase (GPX, EC 1.11.1.9) faz parte de uma grande família com diversas isoformas envolvidas na eliminação de ERO, e apenas recentemente essa enzima foi descrita em plantas. A GPX utiliza o GSH para reduzir H_2O_2 , hidroperóxidos orgânicos e lipídeos (Tabela 8). Esta enzima é importante para combater a peroxidação lipídica e um importante protetor da membrana contra danos. Seus principais locais de atuação são citosol e mitocôndria. Além de atuar na degradação de H_2O_2 , a GPX funciona como um transdutor de sinal oxidativo (ESH DAT et al., 1997; HUBER; ALMEIDA, 2008; GUPTA et al., 2010; HASANUZZAMAN et al., 2012).

Tabela 8 - Reação catalisada pela glutationa peroxidase e locais de atuação em plantas

Enzima	Reação	Locais de Reação
GPX	$2GSH + ROOH (H_2O_2) \rightarrow GSSG + ROH + H_2O ({}_2H_2O)$	Citosol, mitocôndria

Glutationa S-transferase (GST, EC 2.5.1.18)

A glutationa S-transferase (GST, EC 2.5.1.18) em plantas pertence à superfamília de enzimas multifuncionais, que catalisa a conjugação de GSH com centros eletrofílicos de diversos substratos exógenos, como xenobióticos. Atua principalmente no cloroplasto, no citosol e na mitocôndria (Tabela 9). Entre as enzimas relacionadas ao metabolismo do GSH, as isoenzimas da GST representam aproximadamente 1% da proteína solúvel total da planta. A GST catalisa a ligação de vários xenobióticos (incluindo numerosos pesticidas) e seus centros eletrofílicos com a GSH para produzir conjugados menos tóxicos e mais solúveis em água. Além de catalisar a conjugação de compostos eletrofílicos para GSH, as isoenzimas GST também exibem atividade peroxidase (POX). Vários estresses abióticos são poderosos indutores da atividade GST nas plantas. Essas enzimas em plantas também estão associadas a respostas de várias formas de estresses abióticos e conferem

tolerância às plantas (GALLÉ et al., 2019; HASANUZZAMAN et al., 2012; SHARMA et al., 2012).

Tabela 9 - Reação catalisada pela glutathione S-transferase e locais de atuação em plantas

Enzima	Principal reação catalisada	Locais de reação
GST	$H_2O_2 + 2GSH \rightarrow 2H_2O + GSSGRX + GSH \rightarrow HX + GS-R$	cloroplasto, citosol, mitocôndria

Biomarcadores de qualidade e do envelhecimento

*Thamires Soares Ricardo Jesus, Patrícia Campos Santos,
Henk Hilhorst, Wilco Ligterink e Luzimar Gonzaga Fernandez*

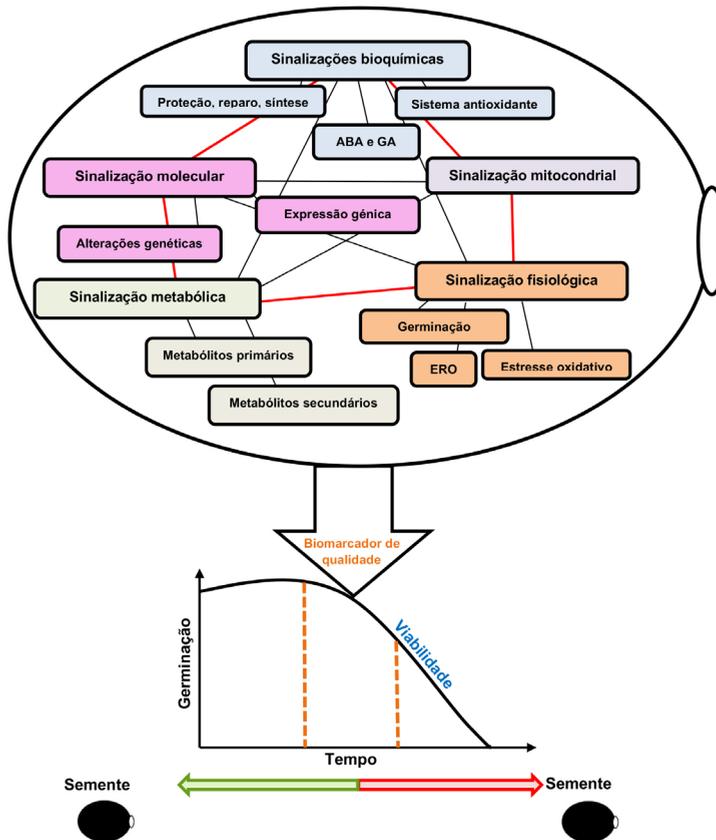
Na agricultura, os parâmetros de germinação das sementes e a emergência de plântulas são influenciados por diferentes fatores ambientais (estresses biótico e abiótico), deterioração das sementes e pela redução da qualidade das sementes. Estes fatores geram respostas nas sementes que ocasionam o declínio na germinação, no índice de vigor e na qualidade das sementes, resultando no atraso da emergência das plântulas, da floração e da maturidade, seguido de um declínio da taxa de crescimento (BAILLY, 2004; CHHABRA; SINGH, 2019; FU; AHMED; DIEDERICHSEN, 2015; SANO et al., 2016).

O envelhecimento das sementes é uma característica biológica complexa que envolve uma rede de processos moleculares, bioquímicos, fisiológicos, metabólicos e mitocondriais (Figura 31). Portanto entender estes processos, aliados ao comportamento da semente, fornece dados que serão de grande utilidade para melhor entendimento sobre a qualidade e viabilidade das sementes e sua futura aplicação na indústria ou no plantio (CAVERZAN et al., 2019; BAILLY, 2004; FU; AHMED; DIEDERICHSEN, 2015; SANO et al., 2016).

Durante o processo de germinação das sementes, estão envolvidas a atividade de várias enzimas e reações metabólicas relacionadas à síntese e à degradação de moléculas, assim essas enzimas podem ser utilizadas como marcadores moleculares para elucidar eventos que ocorrem durante os processos da germinação, mas não apenas isso. Por exemplo, as enzimas antioxidantes removedoras de ERO podem ser utilizadas como biomarcadores para avaliar a qualidade de sementes, pois os radicais livres também podem causar alterações na estrutura proteica. Proteínas solúveis são mais suscetíveis a radicais do que proteínas da membrana.

Certos aminoácidos, como cisteína, histidina, triptofano, metionina e fenilalanina, são mais sensíveis e suscetíveis a dano oxidativo (BAILLY, 2004; CAVERZAN et al., 2019; FU; AHMED; DIEDERICHSEN, 2015; SANO et al., 2016). Os sistemas antioxidantes não enzimático e enzimático apresentam grande importância em sementes e plantas, pois têm a função de inibir e/ou reduzir os danos causados pela ação deletéria das ERO, portanto podem ser bons biomarcadores.

Figura 31 - Sinalizações envolvidas no processo de envelhecimento.



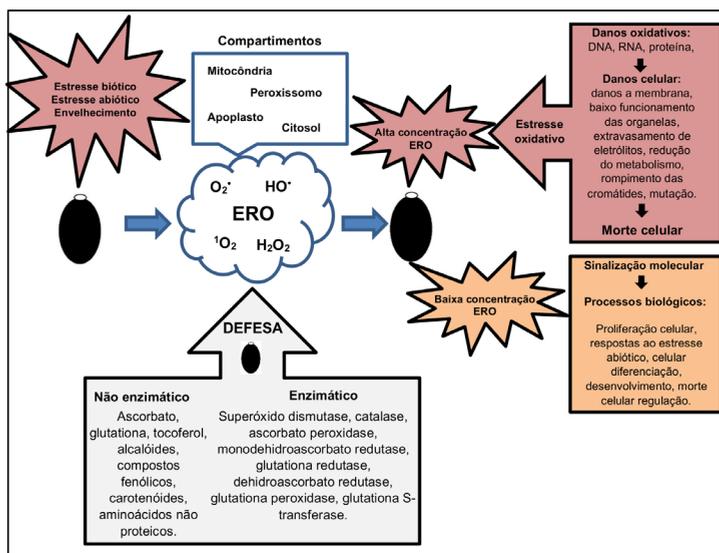
Nota: Interconectadas por linhas vermelhas, em seu potencial uso como marcadores de viabilidade para a previsão precoce da perda de viabilidade de sementes ao longo do tempo; linhas pretas contínuas: conexões entre as sinalizações e acontecimentos relacionados; linhas pontilhadas laranjas: melhor local para a predição de biomarcadores; ácido abscísico (ABA); ácido giberélico (GA); espécies reativas de oxigênio (ERO).

Fonte: adaptada de Fu, Ahmed e Diederichsen (2015).

O sistema de defesa antioxidante trabalha em conjunto para controlar as cascatas de oxidação descontrolada e proteger a célula vegetal dos danos oxidativos das ERO, além de permitir o desenvolvimento da semente ou planta de forma adequada. Por muito tempo acreditava-se que as ERO causavam apenas danos às células, no entanto, em baixas concentrações, as ERO fazem parte da sinalização celular. Elas estão envolvidas no processo de crescimento que ocorre na embriogênese inicial durante o desenvolvimento da semente e participam do mecanismo adjacente de protrusão de raiz durante a germinação (BAILLY, 2004, 2019 CAVERZAN et al., 2019).

As ERO também podem ter função reguladora nas mudanças na expressão gênica durante o desenvolvimento, a dormência e a germinação da semente. Por isso, sugere-se que as ERO sejam consideradas como componentes-chave de uma rede de sinalização integrada (Figura 32) em muitos aspectos da fisiologia da semente, sendo identificados como biomarcadores (BAILLY, 2004, 2019; CAVERZAN et al., 2019).

Figura 32 - Espécies reativas de oxigênio e antioxidantes como biomarcadores de estresses oxidativos e envelhecimento.



Nota: Fatores que podem levar ao aumento da geração de espécies reativas de oxigênio em diferentes compartimentos celulares e as consequências biológicas. A produção de ERO em alto nível resulta em estresse oxidativo, danos oxidativos e celulares e até morte celular, além, dos principais antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos que atuam para eliminar as moléculas tóxicas e restaurar o equilíbrio redox, identificados como biomarcadores.

O estresse oxidativo causa um aumento da peroxidação lipídica e diminuição das atividades de enzimas antioxidantes, sendo considerado crítico no envelhecimento de sementes em várias espécies de plantas. Além disso, as novas metodologias utilizadas na genômica funcional podem ser importantes no desenvolvimento de biomarcadores do vigor das sementes e no desenvolvimento de muitos biomarcadores baseados em sinais bioquímicos que podem ser desenvolvidos (BAILLY, 2004; FU; AHMED; DIEDERICHSEN, 2015; MITTLER et al., 2004).

Identificar biomarcadores para a avaliação da qualidade de sementes é importante para avaliar e identificar componentes relacionados ao envelhecimento, desenvolvimento, metabolismo e à resposta filológica. Além da avaliação de alterações bioquímicas associadas ao envelhecimento das sementes, a busca de identificação de biomarcadores inclui a avaliação do comprometimento da síntese e inativação proteica, de alterações nas atividades enzimáticas, hidrólise de proteínas e modificações pós-tradução. Ademais, a identificação de como a inativação de proteínas diminui a capacidade metabólica e reduz a capacidade dos sistemas biológicos para reparar danos celulares (ALBUQUERQUE et al., 2009; BAILLY, 2004, 2019; FU; AHMED; DIEDERICHSEN, 2015).

O desenvolvimento de marcadores moleculares é importante para detectar a expressão de genes que codificam proteínas específicas, transcrição de mRNA, danos ao DNA, eventos de mutação, mudanças no material genético, alteração no comprimento dos telômeros, metilação do DNA, aberrações cromossômicas, fragmentação do material genético e outras, informações importantes que podem ser utilizadas para detectar envelhecimento e deterioração. Essas informações são importantes, pois podem ajudar a entender a longevidade e qualidade das sementes (FU; AHMED; DIEDERICHSEN, 2015; SANO et al., 2016).

Sinais fisiológicos são importantes para entender o envelhecimento das sementes. Os processos fisiológicos são significativamente influenciados nas sementes pelo teor de umidade, pela temperatura, peroxidação lipídica e ruptura de membranas celulares, pelo aumento de ERO, desequilíbrio na regulação do crescimento, comprometimento no metabolismo, desequilíbrio hormonais e pela perda do estado vítreo citoplasmático. Os processos fisiológicos são interdependentes e, uma vez iniciado o mau funcionamento de um processo, desencadeia outros

eventos. O citoplasma de uma semente, por exemplo, entra em um estado vítreo, como uma proteção. Durante este estado, o citoplasma é tão viscoso que o movimento difusional e muitas reações de deterioração são detidos. A aquisição de um estado vítreo depende de teor de umidade, temperatura e quantidade de vários açúcares, como sacarose, rafinose, estaquiose e verbascose, metabólitos que podem funcionar como biomarcadores. Qualquer mudança fisiológica que afete o estado vítreo das sementes levará à deterioração das sementes (CHHABRA; SINGH, 2019; FU; AHMED; DIEDERICHSEN, 2015; SANO et al., 2016; HO; MURTHY; PARK, 2020).

Sinais metabólicos são importantes para determinar o papel do metabolismo no desenvolvimento e na germinação das sementes. Analisar alterações metabólicas nas sementes é importante para desenvolver biomarcadores, principalmente as alterações durante o envelhecimento das sementes. O metabolismo é o conjunto de reações químicas que continuamente ocorre nas células vegetais, sendo que no metabolismo há várias rotas metabólicas, com diversas enzimas. São basicamente reações de catabolismo ou anabolismo que acontecem continuamente. Os vegetais possuem o metabolismo primário, onde há processos essenciais à vida e desenvolvimento; e o metabolismo secundário, que se distingue pela biossíntese de biomoléculas com diversidade e complexidade estrutural, produção em pequena escala, distribuição restrita e especificidade, tendo papel adaptativo ao meio, defesa contra o estresse ambiental biótico e abiótico, atração de polinizadores e atração de animais dispersores de sementes. É possível caracterizar grandes mudanças metabólicas durante o desenvolvimento e nas sementes, que podem identificar biomarcadores úteis (CAVERZAN et al., 2019; CHHABRA; SINGH, 2019; FU; AHMED; DIEDERICHSEN, 2015).

As sementes permitem a sobrevivência das plantas em condições ambientais adversas, e, via sementes, as informações genéticas são transferidas para a nova geração. Entretanto a viabilidade das sementes diminui a longo prazo, devido às condições de armazenamento e ao envelhecimento. Portanto é importante compreender as reduções na viabilidade das sementes não apenas o processo de envelhecimento iniciado nas sementes, mas também a sequência de eventos desse processo. As mitocôndrias são a principal fonte de produção de espécies reativas

de oxigênio (ERO) e esta organela é exposta mais rápida e fortemente a agentes oxidativos e danos do que outras organelas. O sistema antioxidante mitocondrial também é menos ativo que os antioxidantes de outras organelas, portanto essas 'deficiências' mitocondriais podem afetar fortemente vários processos celulares, incluindo o envelhecimento das sementes (BAILLY, 2004; CAVERZAN et al., 2019; FU; AHMED; DIEDERICHSEN, 2015).

Nas sementes, a mitocôndria é a principal organela de suprimento de energia. Sua função está fortemente acoplada a muitos outros processos celulares associados à germinação de sementes, como sinalização, diferenciação celular, morte celular e proliferação celular. As mitocôndrias são um dos principais alvos de danos gerados pelo estresse oxidativo, portanto as espécies reativas de oxigênio têm muitos efeitos deletérios nas membranas mitocondriais, levando à liberação do citocromo c no citosol para ativar a morte celular apoptótica. O DNA mitocondrial é mais suscetível aos danos das ERO, porque carece de membrana protetora e não tem proteínas histonas associadas a ele. O dano ao DNA mitocondrial pode levar à disfunção das mitocôndrias, que é considerado um componente importante do envelhecimento das sementes (FU; AHMED; DIEDERICHSEN, 2015; KUREK; PLITTA-MICHALAK; RATAJCZAK, 2019; SANO et al., 2016).

Com base nesses sinais, muitos biomarcadores podem ser desenvolvidos para avaliar o desenvolvimento, o vigor, a viabilidade e a germinação das sementes. Contudo poucos estudos foram realizados para avaliar e comparar a eficácia desses biomarcadores na detecção de sinais de envelhecimento em espécies diferentes e, por conseguinte, raramente são aplicadas a avaliar o envelhecimento das sementes. Muitas ferramentas estão disponíveis para avaliar a deterioração das sementes, no entanto é necessário realizar uma pesquisa abrangente para avaliar a eficácia e aplicabilidade dos sistemas existentes. Há vários sinais interessantes de envelhecimento: são as mudanças refletidas nas ERO, morte celular programada, mitocondriais, expressão de genes, antioxidantes, reparo de DNA, proteínas e comprimento dos telômeros. Embora existam desafios e os sinais do envelhecimento não tenham sido totalmente elucidados, há informações importantes que podem ser exploradas e usadas como biomarcadores para desempenhar um papel no monitoramento da viabilidade e na conservação de sementes.

Métodos utilizados para análise de qualidade e envelhecimento de sementes

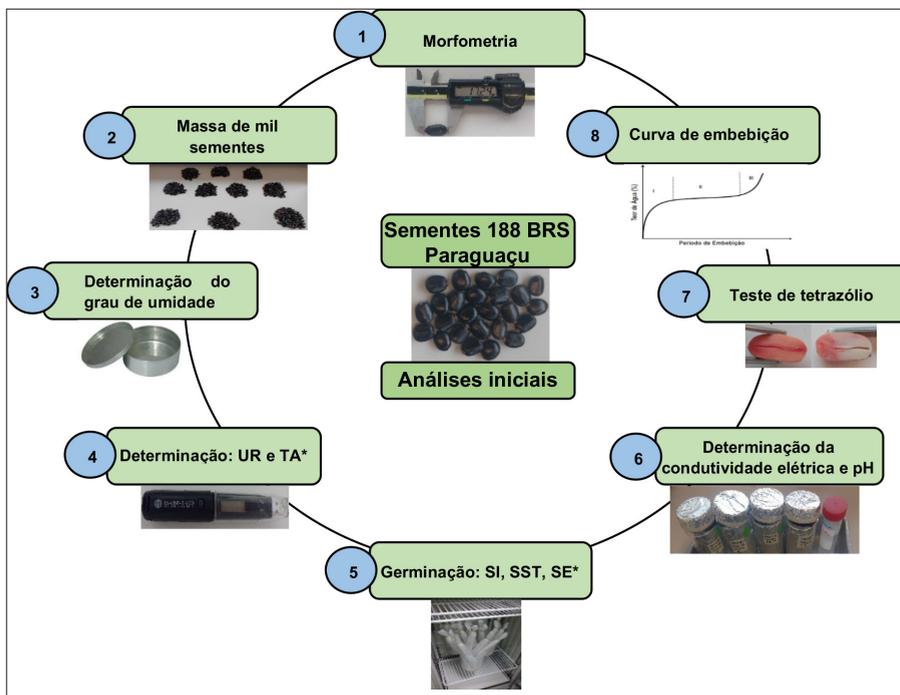
*Thamires Soares Ricardo Jesus, Patrícia Campos Santos,
Thales Guimarães Bezerra, Henk Hilhorst, Wilco Ligterink e
Luzimar Gonzaga Fernandez*

Caracterização inicial de sementes

A caracterização das sementes permite um conhecimento prévio sobre como está o lote adquirido. Estes dados associados à germinação são parâmetros importantes para a identificação e diferenciação de espécies, lotes, variedades, genótipos e identificação da variabilidade genética dentro de uma população de uma mesma espécie, além de fornecer elementos que podem auxiliar no entendimento sobre vigor, armazenamento, viabilidade e métodos de propagação da espécie (AQUINO; BARNOSA, 2009; BORGES; RENA, 1993; MATHEUS; LOPES, 2007; SCHULZ et al., 2014; SOUZA; SOUZA; PANOBIANCO, 2018).

As sementes a serem utilizadas devem ser coletadas de acordo com as Regras de Análise de Sementes – RAS (BRASIL, 2009). O local de coleta deve ser georreferenciado e caracterizado, as amostras devidamente identificadas e transportadas ao laboratório, seguindo protocolos específicos para as análises posteriores a serem realizadas. A caracterização inicial das sementes pode ser realizada através das análises morfométricas, massa de mil sementes, determinação do grau de umidade das sementes, análises de germinação, curva de embebição, teste de tetrazólio, dentre outras análises, considerando os experimentos a serem conduzidos (Figura 33).

Figura 33 - Fluxograma de análises iniciais com as sementes da cultivar Paraguaçu de *Ricinus communis*.



Nota: 1. Determinação da morfometria das sementes; 2. massa de mil sementes; 3. do grau de umidade das sementes; 4. da umidade relativa (UR) e temperatura do ambiente (TA)*; 5. realização da padronização do teste de germinação: semente inteira com tegumento, mas sem carúncula (SI), semente sem tegumento (SST), semente escarificada (SE); 6. determinação da condutividade elétrica e pH exsudado; 7. teste de tetrazólio; 8. curva de embebição: semente inteira com tegumento (SI), semente sem tegumento (SST), semente escarificada (SE).

Análises morfométricas

As análises morfométricas consistem na determinação da altura, largura e espessura com o auxílio de paquímetro, de acordo com a RAS (BRASIL, 2009). Em geral, são selecionadas aleatoriamente cem sementes para constituir quatro grupos de 25 sementes (replicatas).

Determinação do peso de mil sementes

O peso de mil sementes é importante para calcular a densidade de sementeira, o número de sementes por embalagem e o peso da amostra de trabalho para análise de pureza quando não especificado

nas RAS (BRASIL, 2009). É uma informação que dá ideia do tamanho das sementes, assim como do estado de maturidade e de sanidade. O peso de mil sementes normalmente é realizado utilizando dez repetições de cem sementes, para determinar a massa média, que pode ser expresso em gramas (g) ou outras unidades. A partir do peso médio, é calculado o peso de mil sementes utilizando a seguinte fórmula: **Peso de mil sementes (g) = Y × 10**, em que Y é a média das dez repetições das cem sementes. O valor de Y é multiplicado por 10, obtendo-se o resultado do teste (BRASIL, 2009).

Grau de umidade das sementes

A umidade da semente é um fator de grande importância para a qualidade da semente, assim como a variação da temperatura e a umidade relativa do ambiente. As sementes tendem a entrar em equilíbrio higroscópico com o ambiente, e quanto maior a umidade do ambiente, maior a umidade das sementes. A determinação do grau de umidade das sementes pode ser realizada por gravimetria (BRASIL, 2009). As sementes são colocadas em recipientes de alumínio, por exemplo, e cortadas antes da pesagem (sementes frescas e recipientes juntos (**P**)). Os recipientes com sementes são colocados na estufa de secagem a 105°C por 24 horas. Após as 24 horas, os recipientes com as sementes são colocados em dessecador por tempo necessário para esfriar os recipientes. Posteriormente, realiza-se a pesagem final e a anotação dos valores obtidos (sementes secas juntamente com os recipientes (**p**)). Por fim, a porcentagem de umidade é calculada utilizando a seguinte fórmula:

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

Onde:

P = Peso Inicial (Peso do recipiente e sua tampa adicionado ao peso da semente

fresca (g));

p = Peso Final (Peso do recipiente e sua tampa adicionado ao peso da semente seca (g));

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

Teste de germinação

A germinação das sementes é um processo crítico de desenvolvimento do ciclo de vida de espermatófitos. Uma germinação bem-sucedida e o desenvolvimento de plântulas normais são fatores decisivos para o desenvolvimento da planta e boa produção. As atividades metabólicas do eixo embrionário são retomadas durante a germinação, após a embebição de água. Essa é uma etapa crítica para o biociclo vegetal pelo fato de o processo estar associado a vários fatores de natureza extrínseca (fatores do ambiente físico) e intrínseca, ou seja, a processos fisiometabólicos (BARBOSA, 2020; FAGUNDES; CAMARGOS; COSTA, 2011; NERY et al., 2007; SANTOS, 1999), que devem ser considerados durante a realização do experimento.

Parâmetros da germinação de sementes são de grande importância para avaliar a qualidade das sementes e assim determinar o vigor do lote. A germinação máxima (Gmax) serve para avaliar a qualidade das sementes quanto à germinação; através do T50 (tempo para alcançar 50% da germinação), analisa-se a viabilidade e o vigor das sementes; o índice de uniformidade (U8416) corresponde ao tempo que as sementes de determinado lote germinam dentro do espaço de tempo específico, permitindo avaliar o quanto uniforme é a germinação; a área abaixo da curva de germinação (AAC) é um parâmetro que permite avaliar o vigor das sementes a partir do Gmax e T50. Para a avaliação da germinabilidade e dos parâmetros de germinação (Gmax, T50, U8416, AAC), pode ser utilizado o software Germinator (JOOSEN et al., 2010).

O teste de germinação deve ser realizado com sementes desinfestadas utilizando, por exemplo, solução de hipoclorito 0,5% e *tween* 20. Para isso, as sementes são submersas na solução de hipoclorito por vinte minutos sob agitação constante. Em seguida, as sementes são lavadas com água destilada para a remoção do hipoclorito e do *tween* 20. Posteriormente, as sementes são colocadas para secar em cima de papel toalha. Inicialmente, é necessário realizar diferentes testes de germinação para verificar a melhor forma, considerando o tipo de semente, para continuidade dos experimentos.

O tegumento funciona como um protetor das sementes e sua remoção facilita o processo de penetração da água e nutrientes para

dentro da semente. Além do fato de acelerar a embebição, pode existir alguma substância química presente no tegumento que iniba a germinação. No entanto sua parcial ou total ausência faz que os processos metabólitos das sementes aumente de forma muito rápida. Para facilitar o processo e garantir maior uniformidade da embebição, são removidas as carúnculas das sementes ou realiza-se teste com sementes inteiras (incluindo o tegumento), com sementes sem tegumento e sementes escarificadas. Entretanto a remoção do tegumento pode facilitar a contaminação por fungos e bactérias, e a ocorrência de danos ao embrião (FOGAÇA, 2000; MORAES, 2007; OLIVEIRA; SCHLEDER; FAVERO, 2006; SOETISNA et al., 1985).

Após a germinação e produção de plântulas, os seguintes parâmetros são avaliados: plântulas normais (%), plântulas anormais deformadas (%), plântulas anormais deterioradas (%), sementes mortas (confirmadas pelo teste de tetrazólio), sementes não germinadas, biometria das plântulas normais (mm) e massa seca das plântulas normais (g). Importante salientar que, após a contagem e medição das plântulas normais, estas são colocadas para secar na estufa a 80°C até peso constante, para se obter o valor da massa seca.

Curva de embebição

As células dos tecidos embrionários e demais tecidos das sementes apresentam potencial hídrico que pode ser específico a cada tecido, célula ou até mesmo a cada compartimento celular e espécie analisada. A embebição das sementes constitui um importante procedimento técnico para auxiliar na identificação da especificidade de dormência, sobretudo quando associado à dureza e à impermeabilidade de tegumento. Ocorrem diferenças no padrão de absorção de água na mesma cultivar em função da presença ou não do tegumento, do teor de água inicial dos tecidos e do lote de sementes avaliado. Assim, o processo e curva de embebição, além de ser uma característica do genótipo/lote avaliado, também é influenciado por variáveis ambientais. Portanto o estudo da embebição de água nas sementes, mesmo sendo da mesma espécie e cultivar, é importante em pesquisas científicas, pois o conhecimento desse processo permite o entendimento das etapas iniciais do processo germinativo e

possibilita o desenvolvimento de técnicas que visam avaliar e melhorar a qualidade das sementes, utilizando diferentes tratamentos (CASTRO; HILHORST, 2004; LUZ, 2012; PINHO; CARVALHO; DELACHIAVE, 2004; TELES, 2013). O procedimento para determinação da curva de embebição de sementes é padronizado em função da espécie, e várias adaptações são realizadas a partir do método-padrão.

Condutividade elétrica e pH do exsudado de sementes

O teste de condutividade elétrica é uma forma simples de avaliar o vigor das sementes, baseando-se na integridade das membranas celulares, possibilitando que o processo de deterioração seja detectado. Tem como princípio o aumento da permeabilidade da membrana, à medida que a semente se deteriora e causa desorganização na estrutura das membranas, proporcionando aumento na quantidade de lixiviados que são exsudados pelas células, resultando em uma maior perda biomoléculas e, principalmente, íons inorgânicos, tais como K^+ , Ca^{++} , Mg^{++} e Na^+ (ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS, 1983; DOIJODE, 1988; MORAES 2007). Para a determinação da condutividade elétrica do exsudado das sementes, há várias indicações a partir do método básico (FOGAÇA et al., 2017; LIMA; ABDALLA, 2001; ZUCHI et al., 2012). Os resultados são expressos em $\mu S.cm^{-1}.g^{-1}$.

A avaliação do pH do exsudato da água, durante o mesmo período de análise da condutividade elétrica, é realizada para avaliar se ocorreu alterações no pH (ARALDI; COELHO, 2015; SANTOS *et al.*, 2011). O teste é baseado na permeabilidade de membranas, envolvendo a lixiviação de solutos e a integridade do tegumento. O método se baseia no mesmo princípio da condutividade elétrica. Durante a embebição das sementes em água, ocorre a liberação de metabólitos como açúcares, ácidos orgânicos e íons H^+ , os quais acidificam o meio e provocam a diminuição do pH do exsudato das sementes. Isso ocorre com as sementes com danos de membrana, principalmente as deterioradas, que liberam maior quantidade de íons, resultando em menores valores de pH (ARALDI; COELHO, 2015; CARVALHO; SILVA; DAVIDE, 2006; SANTOS et al., 2011).

Teste de tetrazólio

O teste de tetrazólio é utilizado para avaliar o vigor e a viabilidade das sementes. Baseia-se na atividade das desidrogenases nos tecidos vivos, enzimas que catalisam reações nas mitocôndrias durante a glicólise e o ciclo de Krebs. A liberação de íons de hidrogênio (H^+) ocorre durante o processo de respiração celular dos tecidos vivos e são transferidos por um grupo de enzimas desidrogenases, particularmente a desidrogenase do ácido málico. Nesse teste, os íons de hidrogênio são transferidos para o sal 2,3,5-trifenil cloreto de tetrazólio, substância de coloração incolor, solúvel e difusível que atua como receptor. Ao reagir com os íons de hidrogênio, o tetrazólio forma uma substância estável, de coloração vermelha e insolúvel, denominada de trifenilformazam não difusível. A formação de produto indica que as desidrogenases estão ativas e, conseqüentemente, que há atividade respiratória nas mitocôndrias, portanto há viabilidade celular e do tecido. Esta reação se processa no interior das células vivas e o composto se difunde, portanto há nítida separação dos tecidos vivos e coloridos que respiram daqueles mortos e que não colorem (DELOUCHE; BASKIN, 1973; GARLET; SOUZA; DELAZERI, 2015; GASPAR-OLIVEIRA; MARTINS; NAKAGAWA, 2009, 2010, 2011; MORAES, 2007).

Nas sementes deterioradas ou danificadas mecanicamente, as enzimas desidrogenases estão inativadas e por isso não ocorre a reação com o sal de tetrazólio, conseqüentemente, não desenvolvem uma coloração, enquanto as vigorosas apresentam coloração rósea a vermelha brilhante. Segundo Gaspar-Oliveira, Martins e Nakagawa (2010) e as RAS (BRASIL, 2009), um fator de extrema importância é a identificação de alterações nos tecidos das sementes e a identificação das sementes viáveis ou inviáveis pelo manipulador do teste, considerando o padrão de coloração para a seleção das sementes. Sementes com 50% do endosperma e 100% do embrião corado de vermelho são consideradas viáveis e sementes com menor proporção de coloração são consideradas inviáveis (Figura 34).

Figura 34 - Teste de tetrazólio em sementes da cultivar 188 BRS Paraguaçu de *Ricinus communis* L., padrões de sementes inviáveis (com menos de 50% do endosperma corado e menos de 100% do embrião corado) e viáveis (com mais de 50% do endosperma corado e 100% do embrião corado). A e B. sementes inviáveis; C. semente viável.



Envelhecimento acelerado

Existem alguns testes para análise do envelhecimento de sementes. Aqui será tratado sobre o teste de envelhecimento acelerado (TEA). Esse teste consiste em submeter as sementes a altas condições de umidade e temperatura, e baseia-se no fato de que a taxa de deterioração das sementes é aumentada consideravelmente através de sua exposição a níveis elevados de temperatura e umidade relativa. Devido a isso, sementes de menor qualidade deterioram-se mais rapidamente do que as mais vigorosas, com reflexos na germinação após o TEA. Além disso, é reconhecido como um teste para a avaliação de vigor que é capaz de proporcionar informações com alto grau de consistência (MORAES, 2007; SILVEIRA, 2006; TESNIER, 2002).

É importante ressaltar que, ao realizar o TEA, há dois estresses submetidos sob a semente, que é o térmico e o outro por umidade, levando em consideração a umidade da semente e a alta UR à qual foi submetida durante o TEA. A umidade desencadeia deterioração causando alterações físicas, por exemplo, sucessivas expansões e contrações do volume das sementes ocasionam a formação de enrugamento. Além de acontecer o cansaço físico dos tecidos, que pode resultar em ruptura do tegumento e dos tecidos embrionários, comprometendo o desempenho das membranas aos níveis celular e subcelular. A deterioração causada por umidade também é capaz de deixar a semente vulnerável a impacto mecânico e contaminação por microorganismo (FRANÇA

NETO; HENNING, 1984; FRANÇA NETO; KRYZANOWSKI; SILVA, 2005; HUTH, 2015).

O estresse térmico causa grandes lesões na semente devido à submissão a altas temperaturas, gerando agregação e desnaturação de proteínas, aumento na fluidez dos lipídeos de membrana, indiretas ou baixas lesões que incluem a inativação de enzimas no cloroplasto e mitocôndrias, inibição da síntese proteica, degradação e perda da integridade da membrana, afeta na organização de microtúbulos e na divisão e/ou alongamento do eixo e formação de microtúbulos. Essas lesões acabam levando à inibição no crescimento, redução do fluxo iônico, produção de compostos tóxicos e síntese de erro (HOWARTH, 2005; SMERTENKO et al., 1997; WAHID et al., 2007).

A deficiência de água impede a ativação de processos bioquímicos, físicos e fisiológicos, que define a retomada do crescimento do embrião. Contudo a umidade da semente não pode ser demasiada, porque pode limitar a aeração e prejudicar a germinação. Ao longo da realização do teste de germinação, restrições de oxigênio podem provocar atraso ou paralisação no desenvolvimento das plântulas, ou a ocorrência de anormalidades, como a presença de plântulas anormais deformadas e deterioradas, associadas a acontecimentos citados anteriormente e que também normalmente são avaliados. O estresse térmico também afeta diretamente o tamanho e desenvolvimento da plântula, reduzindo significativamente a massa seca das plântulas (COIMBRA et al., 2007; INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION, 2004; PHANEENDRANATH, 1980), por isso esses parâmetros devem ser analisados.

Para padronização do teste de envelhecimento acelerado as sementes devem ser submetidas a diversas análises, dentre elas: teste de germinação; determinação do grau de umidade das sementes; determinação UR e TA; condutividade elétrica e pH do exsudato das sementes; teste de tetrazólio, entre outras. Após a padronização e realização do TEA, é necessário verificar como o estresse ao qual a semente foi submetida afeta as sementes e plântulas produzidas. Há uma série de análises que podem ser realizadas, entre elas indicamos análises morfofisiológicas, avaliar os parâmetros de germinação, determinar o grau de umidade das sementes, a condutividade elétrica e pH do exsudato das sementes,

e realizar o teste de tetrazólio. Também, a análise de RNA-seq, da peroxidação lipídica, determinação da atividade antioxidante e de enzimas antioxidantes, determinação dos metabólitos e identificação de biomarcadores de envelhecimento, como representado na Figura 35.

Para a realização dessas análises, deve-se determinar o tecido a ser analisado, as condições experimentais, a exemplo do tempo de embebição e fase do crescimento a ser verificado. Os estudos realizados por Jianhua e McDonald (1997), Marcos Filho e demais autores (2000), Braga Júnior (2009) e Garza-Caligaris e demais autores (2012) demonstram diferentes adaptações que devem ser feitas para condução do TEA, considerando a espécie estudada. Durante o experimento de TEA, é muito importante monitorar a umidade nas sementes, da temperatura e umidade relativa do ambiente.

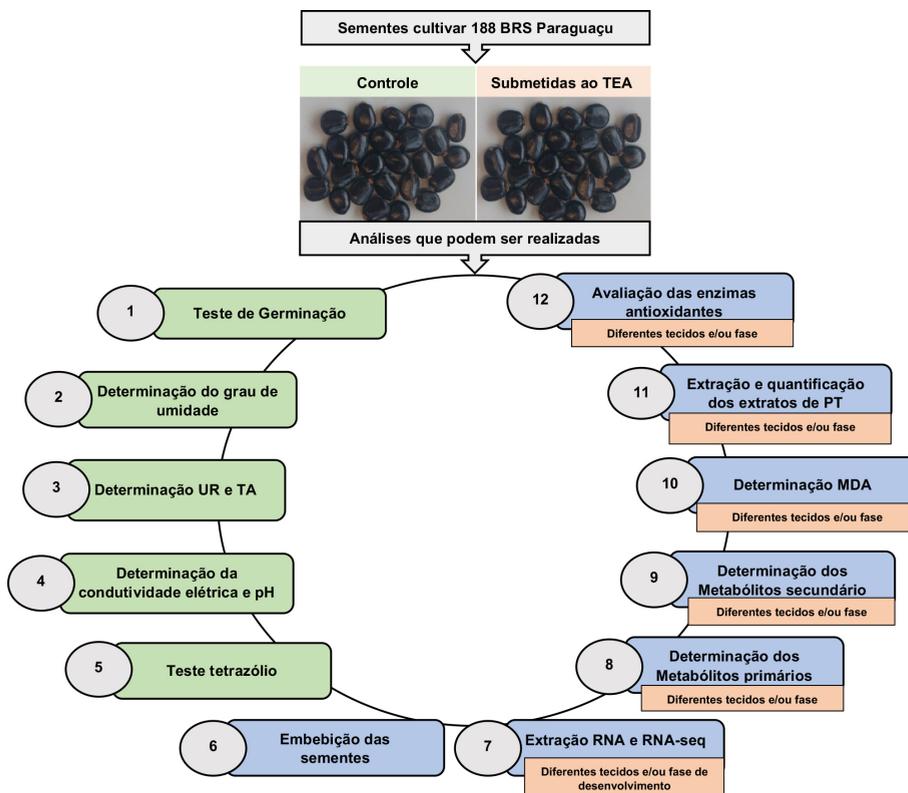
Análises transcriptômicas

As tecnologias ômicas, como a genômica, proteômica, transcriptômica, fenômica e metabolômica, proporcionaram grande progresso na análise e compreensão dos mecanismos bioquímicos e moleculares dos processos biológicos e de respostas a estresses bióticos e abióticos que os organismos, em especial as plantas, são submetidas ao longo do ciclo de vida. As plataformas ômicas permitem a análise completa de sistemas biológicos, caracterizando, identificando e quantificando produtos de determinada classe, como os genes (genoma), mRNA (transcriptoma), proteínas (proteoma) e metabólitos (metaboloma).

Quando as sementes são expostas a diferentes fatores estressores, ocorre percepção dos sinais e mudanças no nível molecular, alterando a expressão de genes e acúmulo de transcritos. Assim, há aumento ou diminuição da síntese de proteínas relacionadas ao estresse e a tolerância. A percepção do estresse e transmissão de sinais associados a uma resposta adaptativa desencadeiam mecanismos-chaves para a tolerância ao estresse que podem ser avaliados e correlacionados com outras análises complementares. Geralmente, a resposta ao estresse envolve sinalização via sistema redox, sinalização através de ERO, cálcio (Ca^{2+}), ativação de hormônios e reprogramação genômica via cascata

de sinalização envolvendo vias metabólicas que afetam a fisiologia da semente e da planta.

Figura 35 - Análises das sementes da cultivar 188 BRS Paraguaçu de *Ricinus communis* L. Sementes do teste controle e submetidas ao TEA



Nota: Determinação do grau de umidade, umidade relativa (UR) e temperatura do ambiente (TA); teste de germinação, determinação da condutividade elétrica e pH do exsudato da semente; teste de tetrazólio. Embebição das sementes em água, seguida da extração de RNA das sementes; realização da análise de RNA-seq; determinação dos metabólitos primários (8) e secundários das sementes (9); peroxidação lipídica (10) através da determinação de malonaldeído (MDA); extração e quantificação (11) de proteínas totais (PT); determinação da atividade das enzimas antioxidantes (12): superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX), monodehidroascorbato redutase (MDHAR), glutatona redutase (GR), dehidroascorbato redutase (DHAR), glutatona peroxidase (GPX), glutatona S-transferase (GST).

O transcriptoma é considerado como o conjunto completo de transcritos em uma célula. Entender o transcriptoma é essencial para interpretar os elementos funcionais do genoma e revelar os constituintes moleculares de células e tecidos, e para entender o desenvolvimento e a resposta a diversos fatores. Os principais objetivos de transcriptômica

são: catalogar todas as espécies de transcritos, incluindo os mRNA (RNA mensageiro), ncRNA (RNA não codificante), miRNA (RNA de interferência). Além de determinar a estrutura transcricional dos genes, em termo de seus locais de partida (extremidade 5'-3'), avaliam-se padrões de *splicing* e outras modificações pós-transcricionais; mudança nos níveis de expressão de cada transcrição durante o desenvolvimento e sob diferentes condições (WANG; GERSTEIN; SNYDER, 2009). Estudos utilizando esta abordagem alteraram a visão sobre a extensão e complexidade de transcriptomas.

O sequenciamento é a principal ferramenta nas avaliações transcriptômicas, sendo necessário para, por exemplo, a análise de RNA-Seq, técnica desenvolvida para perfis de transcriptoma. O RNA-Seq é uma ferramenta poderosa, com variedade notavelmente diversificada de aplicações em estudos de plantas, que utiliza tecnologia de sequenciamento de segunda geração para formar o perfil de RNA mensageiro, originando milhões de fragmentos de sequências curtas. É indicada para a análise quantitativa de níveis de expressão de transcritos, fornecendo uma medição muito mais precisa, em uma ou mais condições, e de suas isoformas, em comparação a outros métodos, além de possuir elevada sensibilidade, que permite a detecção em mais de determinado tipo celular (FAGUNDES; CAGLIARI, 2019; GONÇALVES, 2015; MARGUERAT; BÄHLER, 2010; TRAPNELL; PACHTER; SALZBERG, 2009; WANG; GERSTEIN; SNYDER, 2009).

Análises metabolômicas

A análise dos metabólitos tem sido parte da ciência da vida por várias décadas, constituindo um papel muito importante no desenvolvimento dos métodos para diagnósticos de doenças, de caracterização fenotípica, linhagens e cultivares, controle de qualidade de produtos alimentares e para estudar o estado fisiológico de diferentes organismos (HALL, 2006).

As plantas são organismos que apresentam grande disseminação, além de rotas metabólicas com produção de uma variedade de metabólitos primários e secundários. Portanto o estudo desses organismos proporciona uma importância significativa para o avanço tecnológico

através da elucidação de seus metabólitos, principalmente quando relacionados a respostas das plantas a diferentes estresses bióticos e abióticos, como também para a identificação e o isolamento de biomoléculas importantes para o desenvolvimento humano, podendo ser a base para novas descobertas (ABDELNUR, 2011).

Os metabólitos apresentam um conjunto de diversos arranjos atômicos, proporcionando uma ampla variação nas propriedades físicas e químicas. As análises de metabólitos primários e secundários com baixo peso molecular, polares, não polares e voláteis é indicado por grau de diversidade (ABDELNUR, 2011; DUNN; ELLIS, 2005). Os metabólitos primários são produzidos pelos processos essenciais à vida, que se caracterizam por grande produção e distribuição universal, e com funções essenciais, sendo comum a todos os organismos (LEHNINGER; COX; NELSON, 2011).

O metabolismo secundário caracteriza-se pela biossíntese de biomoléculas com grande diversidade e complexidade estrutural, produção de pequena escala, distribuição restrita e especificidade, tendo papel adaptativo ao meio, defesa contra herbívoro e microrganismos, proteção contra raios UV, atrações de polinizadores e atrações de animais dispersores de sementes (TAIZ; ZEIGER, 2004). Os metabólitos secundários têm sido alvo de interesse de muitos estudos por apresentar atividade biológica interessantes, sendo de grande interesse principalmente para as áreas farmacêutica, alimentícia, agrônômica e na indústria de cosméticos. Para realizar a caracterização e quantificação destes compostos, é necessário utilizar metodologias e equipamentos específicos, de acordo com os metabólitos e a via metabólica de interesse ou a pergunta biológica que se tem (ABDELNUR, 2011).

A tecnologia voltada para fornecimento de uma visão geral compreensiva qualitativa e quantitativa dos metabólitos presentes em um organismo é chamada de metabolômica Rolim *et al.*, (2015). A metabolômica pode ser definida como uma plataforma de análise orientada de forma não imparcial de metabólitos celulares em amostras biológicas, e pode ser considerada um paradigma no campo da bioquímica analítica, que teve seu início na era genômica. É utilizada para identificar origem de grãos de diferentes espécies, identificação de populações de determinadas plantas, de diferentes genótipos e cultivares, para avaliar

variação de metabólitos de uma mesma espécie em diferentes regiões, para avaliar resistência de plantas a herbicidas e tolerância à seca, entre outras avaliações (BRUNETTI et al., 2013).

Abordagens metabolômicas oferecem oportunidades únicas para examinar o fenótipo funcional dos organismos, por fazer uma percepção tão poderosa em respostas das plantas a variações abióticas ou bióticas, a nível individual ou na população e, portanto, contribuir significativamente para avaliação de questões ecológicas, principalmente relacionadas ao habitat ambiental. Isso é possível através do estudo do metaboloma e multivariadas, e subsequentes análises estatísticas de espécies dentro de um gênero, distribuídos em muitas populações locais. O uso de perfis metabólitos em diagnósticos é uma ferramenta fundamental quando aliada à estatística, para esclarecer as principais alterações metabólicas causadas por qualquer perturbação (BRUNETTI et al., 2013; SCHAUER; FERNIE, 2006).

A metabolômica tem sido muito utilizada, no entanto ainda é algo complexo que apresenta muitas limitações. Contudo, com os avanços de tecnologias aplicadas à análise química, combinada com a revolução genômica e identificação do genoma de diferentes sistemas biológicos, ficou muito mais fácil a identificação e quantificação dos metabólitos e o estudo do metaboloma (VILLAS-BÔAS et al., 2005). A análise de metabólitos pode ser realizada por meio de vários métodos usados para detecção, tais como a espectrometria de massa (MS), ressonância magnética nuclear (RMN), interferometria de polarização dupla (IPD), espectroscopia de fluorescência, entre outras técnicas analíticas (GIOVANE; BALESTRIERI; NAPOLI, 2008; HAM, 2009; LI et al., 2014; VIANT; SOMMER, 2013). A espectrometria de massas e NMR são métodos poderosos para a identificação de diferentes classes de metabólitos, com alta sensibilidade e abordagens de alto rendimento. Contudo é necessário o uso de métodos de separação antes da detecção, assim várias técnicas cromatográficas são utilizadas, tais como cromatografia gasosa (GC) e cromatografia líquida (LC) (GIOVANE; BALESTRIERI; NAPOLI, 2008; HAM, 2009; LI; YANG; BAI, 2014; VIANT; SOMMER, 2013).

As cromatografias CG e LC acopladas à espectrometria de massa são bastante utilizadas em estudos metabolômicos por apresentar

robustez, alta sensibilidade, seletividade e repetibilidade (GIOVANE; BALESTRIERI; NAPOLI, 2008; GOODACRE et al., 2004; NAVAS-IGLESIAS et al., 2009; VAN DER GREEF et al., 2004). A associação de várias plataformas analíticas é necessária para aumentar a cobertura do metaboloma e frequentemente usada na análise dos subconjuntos de classes químicas para caracterizar, identificar e quantificar muitos compostos em uma mesma amostra biológica (FIEHN, 2008; GIOVANE; BALESTRIERI; NAPOLI, 2008; KADDURAH-DAOUK; KRISHNAN, 2009; KATAJAMAA; ORESIC, 2005).

O uso de GC-MS apresenta grande vantagem e resulta da construção de bibliotecas de espectros, conferindo alta confiabilidade na identificação dos metabólitos, que acorda a informação de tempo de retenção e o padrão de fragmentação obtido, em decorrência da ionização por elétrons. Grande parte dos metabólitos requer derivatização, para que se tornem voláteis a baixas temperaturas para serem analisados por CG. A derivatização é um procedimento que pode introduzir erros por perdas por volatilização durante o processo e limita o número de amostras a serem trabalhadas em conjunto (CANUTO et al., 2018). Outro fator importante é a escolha do gás de arraste ao usar o GC-MS. Isso acontece porque o MS é muito sensível a impurezas. Devido a isso, podem ocorrer danos significativos e elevação dos ruídos, além de reduzir a sensibilidade da técnica (CANUTO et al., 2018, ROLIM et al., 2015; VILLAS-BÔAS; GOMBERT, 2006).

Cada vez mais o uso da cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa (LC-MS) vem sendo aplicada nos estudos envolvendo análises metabolômicas. Esta é uma técnica analítica que apresenta alta robustez, sensibilidade e seletividade, além de ser de fácil operação. A LC-MS é considerada uma técnica abrangente no que se refere à classe de compostos a ser analisada, devido à grande variedade de fases estacionárias disponíveis, além dos diferentes modos de separação, como a eluição em fase reversa (fundamentalmente partição), com ou sem pareamento iônico, interação hidrofílica e troca iônica. Através dos dados de LC-MS, é possível compreender os processos metabólicos que promovem danos em diferentes tecidos nas sementes (CANUTO et al., 2018; ROLIM et al., 2015).

Peroxidação lipídica

Quando os níveis de ERO aumentam e ficam acima do limite considerado adequado, ocorre um aumento da peroxidação lipídica tanto nas membranas das células quanto nas membranas das organelas, que afeta o funcionamento normal da célula. Quando a semente é envelhecida, ocorre maior peroxidação dos lipídeos e, a depender o nível de dano, há uma diminuição na atividade enzimática removedora de peróxidos, contribuindo para a perda da viabilidade (ATAÍDE et al., 2012; JOOSEN et al., 2010; SHARMA et al., 2012). A peroxidação lipídica agrava a oxidação e o estresse através do aumento de radicais derivados dos lipídeos que podem agir danificando proteínas, ácidos nucleicos e lipídeos (CORTE et al., 2010; SHARMA; DUBEY, 2005; SHARMA et al., 2012).

A análise da peroxidação lipídica tem sido utilizada como marcador para lesões em membranas ocasionadas por ERO sob condições estressantes. O aumento da peroxidação lipídica aumenta a produção de malonaldeído (MDA). Este é um dos produtos da peroxidação de ácidos graxos insaturados e poli-insaturados de fosfolipídios, e é responsável pelos danos de membrana, sendo utilizado como indicativo de estresse oxidativo (ATAÍDE et al., 2012; BAILLY, 2004; LIMA; ABDALLA, 2001). Um dos métodos mais utilizados para a avaliação da peroxidação lipídica através da análise do MDA é o método descrito por Heath e Packer (1968). A quantidade de MDA é calculada usando o coeficiente de extinção molar $155 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ e os resultados são expressos em $\mu\text{M MDA g}^{-1}$ de massa seca.

Avaliação de enzimas antioxidantes

A manutenção do sistema enzimático é importante para remover ou reduzir a ação das ERO que causam danos e afetam negativamente o potencial da semente. Há enzimas que agem diretamente na remoção das ERO, no entanto há outras que agem conjuntamente com outras enzimas, a exemplo da glutathione redutase (ROVER JÚNIOR et al., 2001). Há vários métodos para avaliação da atividade das enzimas, sendo a espectrofotometria a técnica mais utilizada para esta análise.

Os métodos são específicos para cada enzima e serão indicados os espectrofotométricos UV/V para análise de algumas dessas enzimas.

Superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1)

A atividade da enzima superóxido dismutase pode ser determinada através da detecção espectrofotométrica do formazan (produto de redução do azul de nitrotetrazólio – NBT) a 560 nm, mediado pelos radicais superóxidos, que são formados quando a riboflavina é submetida à luz (BEAUCHAMP; FRIDOVICH, 1971; GIANOPOLITIS; RIES, 1977; OMAR et al., 2012; DONAHUE et al., 1997; SILVA et al., 2012). A luz causa uma fotólise na riboflavina, que providencia um elétron para o oxigênio do ambiente (O_2), resultando no íon superóxido ($O_2^{\cdot-}$). O superóxido atua reduzindo o NBT a formazan (produto de coloração roxa). Na presença de SOD (Figura 36), a reação é inibida e não ocorre produção de formazan, e esta inibição é utilizada para determinar atividade enzimática da SOD (ALFENAS, 2006), considerada como a quantidade de enzima (SOD) necessária para inibir em 50% a fotorredução do NBT. A atividade é calculada pela reação específica e expressa em Unidade SOD. μg^{-1} de Proteína. O cálculo é realizado segundo a fórmula a seguir:

SOD (Unidade / μL) = $[(V/v) - 1] \times F / [PT]$, onde:

V corresponde à taxa de reação na ausência da SOD;

v corresponde à taxa de reação na presença da enzima;

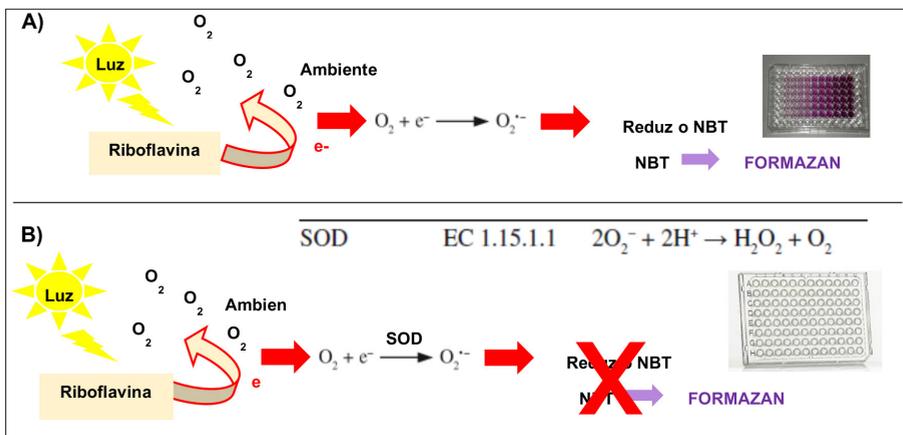
F é o fator de diluição da amostra;

PT corresponde à concentração de proteínas totais do extrato bruto.

Catalase (CAT, EC 1.11.7.6)

A atividade da CAT é determinada pela decomposição enzimática do peróxido de hidrogênio (H_2O_2), sendo esse decaimento medido através da leitura da absorbância em espectrofotômetro a 240 nm (BERGMEYER, 1970). A atividade da enzima é calculada com base no coeficiente de extinção molar do peróxido de hidrogênio ($0,0436 \text{ M cm}^{-1}$). Uma unidade de atividade (U) é definida como a quantidade necessária de enzima para converter 1 mmol de substrato em produto por minuto, por μL , nas condições do ensaio. O resultado é expresso em UCAT ($H_2O_2 \text{ min}^{-1} \cdot \mu g^{-1}$ proteína).

Figura 36 - Esquema da determinação da atividade da SOD.



Nota: A luz causa fotólise na riboflavina, que transfere um elétron para o oxigênio do ambiente (O₂), resultando no íon superóxido (O₂⁻). A. O superóxido atua reduzindo o NBT (cloreto de tetrazólio-nitrozul) a formazan, de coloração roxa; B. na presença de SOD, a reação é inibida e não ocorre produção de formazan. Esta inibição é utilizada para determinar atividade enzimática da SOD.

Ascorbato peroxidase (APX, EC 1.1.11.1)

A atividade da APX normalmente é realizada pelo monitoramento da oxidação do ascorbato (ASA), sendo acompanhada pela leitura da absorbância a 290 nm durante certo período, segundo Nakano e Asada (1981). A taxa de oxidação do ascorbato é determinada pelo decréscimo na absorbância, e a atividade da APX expressa como mmol ASA consumido min⁻¹μg⁻¹proteínas.

Monodehidroascorbato redutase (MDHAR, EC 1.6.5.4)

Esta enzima faz parte do ciclo da ascorbato glutationa. A MDHAR está envolvida na regeneração do ascorbato, através do poder redutor do NADPH + H⁺, com geração de monodehidroascorbato e monitoramento através da redução da absorbância a 340 nm durante certo intervalo de tempo (MIYAKE; ASADA, 1992; MURSHED et al., 2008). A atividade específica deve ser calculada usando o coeficiente de extinção molar de 6.22 mM⁻¹cm⁻¹, e o resultado expresso em MDHAR (μmol min⁻¹μg⁻¹proteína).

Glutationa redutase (GR, EC 1.6.4.2)

O método para determinar a atividade da glutationa redutase pode ser baseado no aumento na absorbância quando ocorre a oxidação do 5,5'ditiobis (ácido 2-nitrobenzóico) (DTNB) ao receber um grupo tiol liberado pela glutationa liberando o ânion colorido denominado ácido tionitrobenzóico (TNB). A formação de TNB é medida espectrofotometricamente em 412 nm. Neste comprimento de onda há absorção máxima do TNB e o resultado da GR é expresso em $\mu\text{mol min}^{-1}\mu\text{g}^{-1}$ proteína usando o coeficiente de extinção molar ($\epsilon = 13.600 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) (SMITH, et al., 1998).

Dehidroascorbato redutase (DHAR, EC 1.8.5.1)

A dehidroascorbato redutase faz parte do conjunto de enzimas que compõem o ciclo da glutationa. A DHAR regenera o dehidroascorbato (DHA) a ascorbato e sua atividade é determinada pelo monitoramento da redução do dehidroascorbato dependente de glutationa a 265 nm (MURSHED et al., 2008). A atividade específica é calculada usando o coeficiente de extinção molar de $14 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$. O cálculo pode ser realizado utilizando o coeficiente de extinção molar da glutationa oxidada ($0,18 \text{ mM}\cdot\text{cm}^{-1}$) e os resultados expressos em DHAR ($\mu\text{mol min}^{-1}\mu\text{g}^{-1}$ proteína).

Glutationa peroxidase (GPX, EC 1.11.1.9)

Faz parte de uma grande família de enzimas com várias isoenzimas que utilizam o GSH para reduzir o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), hidroperóxidos orgânicos e lipídicos (LOOH), e mensurada através da oxidação do NADPH + H^+ a 340 nm (LEE et al., 2003; PAGLIA; VALENTINE, 1967). O resultado é expresso em GPX ($\mu\text{molmin}^{-1}\mu\text{g}^{-1}$ proteína).

Glutationa S-transferase (GST, EC 2.5.1.18)

O ensaio da glutationa transferase pode ser realizado usando o 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB) como substrato e mensurando o aumento da absorbância no comprimento de onda de 340 nm, até a formação de glutationa conjugada (DROTAR; PHELPS; FALL, 1985). O resultado é expresso em GST ($\mu\text{molmin}^{-1}\mu\text{g}^{-1}$ proteína).

Referências

- ABDELNUR, P. V. *Imageamento químico por espectrometria de massas utilizando MALDI (MALDI Imaging Mass Spectrometry) aplicado a tecidos vegetais*. Brasília, DF: Embrapa Agroenergia, 2011. 6 p, Embrapa Agroenergia. Circular técnica, 006).
- ABDUL-BAKI, A. A.; ANDERSON, J. D. Physiological and biochemical deterioration of seeds. *Seed Biology*, [s. l.], v. 2, p. 283-315, 1972.
- ABREU, L. A. S.; CARVALHO, M. L. M.; GOMES PINTO, C. A.; KATAOKA, V. Y.; SILVA, T. T. A. Deterioration of sunflower seeds during storage. *Journal of Seed Science*, São Paulo, v. 35, n. 2, p. 240-247, 2013.
- AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS; MINISTÉRIO DA INTEGRAÇÃO. Semiárido brasileiro. *Educação no Semiárido*, [s. l.], 2014. Disponível em: <https://bit.ly/35yguHJ>. Acesso em: 2 jan. 2020.
- AGUIAR, A.; FERRAZ, A. Mecanismo e aplicações da reação de Fenton assistida por compostos fenólicos redutores de ferro. *Química Nova*, São Paulo, v. 30, p. 623-628, 2007.
- AHMAD, P.; SARWAT, M.; SHARMA, S. Reactive oxygen species, antioxidants and signaling in plants. *Journal of Plant Biology*, [s. l.], v. 51, n. 3, p. 167-173, 2008.
- ALBUQUERQUE, K. S.; GUIMARÃES, R. M.; ALMEIDA, I. F.; CLEMENTE, A. C. S. Alterações fisiológicas e bioquímicas durante a embebição de sementes de sucupira-preta (*Bowdichia virgilioides* Kunth. *Revista Brasileira de Sementes*, Londrina, v. 31, n. 1, p. 12-19, 2009.
- ALENCAR, N. L. M. *Mobilização de reservas endospermicas de pinhão-mansão durante a germinação e desenvolvimento da plântula sob condições de estresse salino*. 2014. 114 f. Tese (Doutorado em Bioquímica) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2014.
- ALFENAS, A. C. *Eletroforese e marcadores bioquímicos em plantas e microorganismos*. 2. ed. Viçosa: Ed. UFV, 2006.
- ALLAN, G.; WILLIAMS, A.; RABINOWICZ, P. D.; CHAN, A. P.; RAVEL, J.; KEIM, P. Worldwide genotyping of castor bean germplasm, (*Ricinus communis* L. using AFLPs and SSRs. *Genetic Resources and Crop Evolution*, New York, v. 55, p. 365-378, 2008.

ALVES, M. O.; SOBRINHO, J. N.; CARVALHO, M. M. *Possibilidades da mamona como fonte de matéria-prima para a produção de biodiesel no Nordeste Brasileiro*. Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil, 2004.

AMARAL, J. G. Ca. *Variabilidade genética para características agronômicas entre progênies autofecundadas de mamona (Ricinus communis L. cv. Al Guarany 2002)*. 2003. 72 f. Tese (Doutorado em Ciências Agronômicas) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2003.

ANDRADE, C. A. *O papel do peróxido de hidrogênio na tolerância de soja (Glicine max) ao alagamento*. 2013. 59 f. Dissertação (Mestrado em Economia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

ANDRADE, F. P.; MILANI, M. *Cultivar nordestina e Paraguaçu*. Brasília, DF: Embrapa, 2019. Disponível em: <https://bit.ly/2UmMv3l>. Acesso em: 2 jan.2019.

ANDRADE JÚNIOR, D. R.; SOUZA, R. B.; SANTOS, S. A.; ANDRADE, D. R. Oxygen free radicals and pulmonary disease. *Jornal Brasileiro de Pneumologia*, Brasília, DF, v. 31, n. 1, p. 60-68, 2005.

ANGELI, J. P. F. *Hidroperóxidos de lipídios como fontes de oxigênio molecular singlete ($O_2[{}^1\Delta_g]$), detecção e danos em biomoléculas*. 2011. 234 f. Tese (Doutorado em Bioquímica) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

ANSCHAU, V. *Estresse oxidativo e parâmetros hematológicos como biomarcadores da infecção experimental com Trypanosoma evansi em ratos wistar*. 2011. 94 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2011.

AQUINO, C.; BARBOSA, L. M. Classes sucessionais e síndromes de dispersão de espécies arbóreas e arbustivas existentes em vegetação ciliar remanescente (Conchal, SP), como subsídio para avaliar o potencial do fragmento como fonte de propágulos para enriquecimento de áreas revegetadas no Rio Mogi-Guaçu, SP. *Revista Árvore*, Viçosa, v. 33, n. 2, p. 349-358, 2009.

ARALDI C. G., COELHO, C. M. M. PH do exsudato na avaliação da viabilidade de sementes de Araucaria angustifólia. *Floresta e Ambiente*, Seropédica, v. 22, n. 3, p. 426-433, 2015.

ARAÚJO, R. F.; ABUD, H. F.; SILVA, L. J.; ARAUJO, E. F. PINTO, C. M. F.; SILVA, F. W. S. Physiological changes and antioxidant enzymes activity

in Biquinho and Malagueta pepper seeds during the maturation process. *Revista Ceres*, Viçosa, v. 65, n. 6, 2018.

ARAÚJO, S. M. S. A Região semiárida do Nordeste do Brasil: questões ambientais e possibilidades de uso sustentável dos recursos. *Rios Eletrônica: Revista Científica da Fasete*, Paulo Afonso, n. 5, p. 89-98, 2011.

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

ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS. *Seed vigour testing hand book*. East Lansing: AOSA, 1983.

ATAÍDE, G. M.; BORGES, E. E. L.; FLORES, A. V.; CASTRO, R. V. O. Avaliação preliminar da embebição de sementes de jacarandá-da-bahia. *Brazilian Journal of Forestry Research*, London, v. 34, n. 78, p. 133-139, 2014.

AUDI, J.; BELSON, M.; MANISH, P.; SCHIER, J.; OSTERLOH, M. D. Ricin Poisoning. *Clinician's Corner*, [s. l.], v. 294, n. 18, p. 2342-2351, 2005.

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

BAHIA, H. F. *Avaliação e seleção de genótipos de mamoneira (Ricinus communis L.) para fins de melhoramento genético no recôncavo baiano*. 2007. 68 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2007.

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

BAILLY, C. The signalling role of ROS in the regulation of seed germination and dormancy. *Biochemical Journal*, London, v. 476, p. 3019-3032, 2019.

BAILLY, C.; EL-MAAROUF-BOUTEAU, H.; CORBINEAU, F. From intracellular signaling networks to cell death: the dual role of reactive oxygen species in seed physiology. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences Biologies*, Paris, v. 331, p. 806-814, 2008.

BALDONI, A. B.; CARVALHO, M. H.; SOUSA, N. L.; NÓBREGA, M. B. M.; MILANI, M.; ARAGÃO, F. J. L. Variability of ricin content in mature

Ricinus communis L.: Sementes, envelhecimento e estresse oxidativo

seeds of castor bean. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, DF, v. 46, n. 7, p. 776-779, 2011.

BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. M. B.; ALFENAS, R. C. G.; DE PAULA, S. O.; MINIM, V. P. R.; BRESSAN, J. Oxidative stress: concept, implications and modulating factors. *Revista de Nutrição*, Campinas, v. 23, n. 4, p. 629-643, 2010.

BARBOSA, M. R.; SILVA, M. M. A.; WILLADINO, L.; ULISSES, C.; CAMARA, T. R. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 44, n. 3, p. 453-460, 2014.

BARBOSA, R. D. *Socoró (Mouriri guianensis Aubl.): germinação, desenvolvimento da plântula e classificação das sementes para fins de armazenamento*. 2020. 56 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura no Trópico Úmido) – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, 2020.

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

BEAUCHAMP, C.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry*, Amsterdam, v. 44, n. 1, p. 276-287, 1971.

BELTRÃO, N. E. M.; MELO, F. B.; CARDOSO, G. D.; SEVERINO, L. S. *Mamona: árvore do conhecimento e sistemas de produção para o semiárido Brasileiro*. Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2003).Circular Técnico n. 70).

BELTRÃO, N. E. M.; OLIVEIRA, M. I. P. *Biossíntese e degradação de lipídios, carboidratos e proteínas em oleaginosas*. Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2007).Circular Técnico nº 178).

BELTRÃO, N. E. M.; SILVA, L. C.; VASCONCELOS, O. L.; AZEVEDO, D. M. P.; VIEIRA, D. J. Fitologia. In: AZEVÊDO, D. M. P.; LIMA, E. F).ed.). *O agronegócio da mamona no Brasil*. Brasília, DF: Embrapa Algodão, 2001. p. 37-61,.

BENAMAR, A.; TALLON, C.; MACHEREL, D. Membrane integrity and oxidative properties of mitochondria isolated from imbibing pea seeds after priming or accelerated ageing. *Seed Science Research*, Cambridge, v. 13, p. 35-45, 2003.

- BERGMEYER, N. Methoden der enzymatischen analyse. *Akademie-Verlag*, Berlin, v. 1, p. 636-647, 1970.
- BERLETT, B. S.; STADTMAN, E. R. Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress. *Journal of Biological Chemistry*, Rockville, v. 272, n. 33, p. 20313–20316, 1997.
- BEWLEY, J. D. Seed germination and dormancy. *The Plant Cell*, Oxford, v. 9, n. 7, p. 1055-1066, 1997.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. *Seeds: physiology of development and germination*. 2. ed. New York: Plenum Press, 1994.
- BEYER, R. E. The role of ascorbate in antioxidant protection of biomembranes: interaction with vitamin E and coenzyme Q. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, New York, v. 26, n. 4, p. 349-358, 1994.
- BINOTTI, F. F. S.; HAGA, K. I.; CARDOSO, E. D.; ALVES, C. Z.; SÁ, M. E.; ARE, O. Efeito do período de envelhecimento acelerado no teste de condutividade elétrica e na qualidade fisiológica de sementes de feijão. *Acta Scientiarum Agronomy*, Maringá, v. 30, n. 2, p. 247-254, 2008.
- BIRBEN, E.; SAHINER, U. M.; SACKESEN, C.; ERZURUM, S.; KALAYCI, O. Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organization*, Atlanta, v. 5, n. 1, p. 9-19, 2012.
- BIRTIC', S.; COLVILLE, L.; PRITCHARD, H. W.; PEARCE, S. R.; KRANNER, I. Mathematically combined half-cell reduction potentials of low-molecular-weight thiols as markers of seed ageing. *Free Radical Research*, London, v. 45, n. 9, p. 1093-1102, 2011.
- BORGES, E. E. L.; RENA, A. B. Germinação de sementes. In: AGUIAR, I. B.; PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLIA, M. B).ed.). *Sementes florestais tropicais*. Brasília, ABRATES, p. 83-135. 1993.
- BORGES, S. R. S. *Alterações fisiológicas, bioquímicas e morfológicas durante a maturação de sementes híbridas de tomate*. 2018. 143 f. Tese (Doutorado em Agronomia e Medicina Veterinária) – Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2018.
- BRAGA JÚNIOR, J. M. *Maturação, qualidade fisiológica e testes de vigor em sementes de mamona*. 2009. 138 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2009.

Ricinus communis L.: Sementes, envelhecimento e estresse oxidativo

BRASIL. *Glossário ilustrado de morfologia*. Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2009.

BROWN, D. J.; CANVIN, D. T.; ZILKEY, B. F. Growth and metabolism of *Ricinus communis* endosperm in tissue culture. *Canadian Journal of Botany*, Ontario, v. 48, p. 2323-2331, 1970.

BRUNETTI, C.; GEORGE, R. M.; TATTINI, M.; FIELD, K.; DAVEY, M. P. Metabolomics in plant environmental physiology. *Journal of Experimental Botany*, Oxford, v. 64, n. 13, p. 4011-4020, 2013.

BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. *Biochemistry and molecular biology of plants*. 2. ed. Hoboken: Wiley, 2000. p. 696-705.

BUCKERIDGE, M. D.; AIDAR, M. P. M.; SANTOS, H. P.; TINÉ, M. A. S. Acúmulo de reservas. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F).ed.). *Germinação: do básico ao aplicado*. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 31-50.

BUCKLEY, W. T.; HUANG, J. An ethanol-based seed vigour assay for canola. *Seed Science and Technology*, [s. l.], v. 39, p. 510-526, 2011.

CANGEMI, J. M.; SANTOS, A. M.; CLARO NETO, S. A revolução verde da mamona. *Química Nova*, São Paulo, v. 32, n. 1, p. 1-6, 2010.

CANUTO, G. A. B; COSTA, J. L.; CRUZA, P. L. R.; SOUZA, A. R. L.; FACCIO, A. T.; KLASSENC, A.; RODRIGUESA, K. T.; TAVARESA, M. F. M. Metabolômica: definições, estado-da-arte e aplicações representativas. *Química Nova*, São Paulo, v. 41, n. 1, p. 75-91, 2018.

CARVALHO, A. C; AGUIAR, E. A.; TEXEIRA, D. L.; DELFINO, J. S.; NASCIMENTO, M. M.; FERREIRA, R. F.; ANDRADE, R. A.; BRITO, R. S. Teste de envelhecimento acelerado para analisar o vigor de sementes de orelhinha de macaco (*Enterolobium schomburgkii* Benth). *Revista Thema*, Pelotas, v. 17, n. 2, p. 346-353, 2019.

CARVALHO, E. R.; OLIVEIRA, J. A, M.; DENILSON, P. D.; SILVA, H. W. L.; CASSIANO G. M. Pre-packing cooling and types of packages in maintaining physiological quality of soybean seeds during storage. *Journal of Seed Science*, Londrina, v. 38, n. 2, p. 129-139, 2016.

CARVALHO, L. R., SILVA, E. A. A., DAVIDE, A. C. Classificação de sementes florestais quanto ao comportamento no armazenamento. *Revista Brasileira de Sementes*, Londrina, v. 28, n. 2, p. 15-25, 2006.

- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. *Sementes: ciência tecnologia e produção*. 4. ed. Jaboticabal: Funep, 2000.
- CASTRO, R. D. *A functional analysis of cell cycle events in developing and germinating tomato seeds*. 1998. 110 f. Tese (Doutorado em Fisiologia Molecular Vegetal) – Wageningen University and Research, Wageningen, 1998.
- CASTRO, R. D.; BRADFOD, K. J.; HILHORST, H. W. M. Desenvolvimento de sementes e conteúdo de água. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F).org.). *Germinação: do básico ao aplicado*. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 51-67.
- CASTRO, R. D.; HILHORST, H. W. M. Embebição e reativação do metabolismo. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F).org.). *Germinação: do básico ao aplicado*. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 149-162.
- CAVERZAN, A.; PIASECKI, C.; CHAVARRI, G.; STEWART JÚNIOR, C. N.; VARGAS, L. Defenses against ROS in crops and weeds: the effects of interference and herbicides. *International Journal of Molecular Sciences*, Basel, v. 20, n. 1086, p. 1-20, 2019.
- CECARINI, V.; GEEB, J.; FIORETTI, E.; AMICI, M.; ANGELETTI, M.; ELEUTERI, A. M.; KELLER, J. N. Protein oxidation and cellular homeostasis: emphasis on metabolismo. *Biochimica et Biophysica Acta*, Amsterdam, v. 1773, p. 93-104, 2007.
- CENTENARO, G. S. *Obtenção de biopeptídeos com atividade antioxidante a partir de proteínas de origem animal*. 2011. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2011.
- CERQUEIRA, F. M.; MEDEIROS, M. H. G.; AUGUSTO, O. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. *Química Nova*, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 441-449, 2007.
- CÉSAR, A. S.; BATALHA, M. O. Biodiesel production from castor oil in Brazil: a difficult reality, *Energy Policy*, Amsterdam, v. 38, p. 4031-4039, 2010.
- CHECHETTO, R. G.; SIQUEIRA, R.; GAMERO, C. A. Energy balance for biodiesel production by the castor bean crop (*Ricinus communis* L.), *Revista Ciência Agronômica*, Ceará, v. 41, n. 4, p. 546-553, 2010.

CHEEMA, N. M.; MALIK, M. A.; QADIR, G.; RAFIQUE, M. Z.; NAWAZ, N. Influence of temperature and osmotic stress on germination induction of different Castor Bean cultivars. *Pakistan Journal of Botany*, Karachi, v. 42, n. 6, p. 4035-4041, 2010.

CHHABRA, R.; SINGH, S. T. Seed aging, storage and deterioration: an irresistible physiological phenomenon. *Agricultural Reviews*, New Delhi, v. 40, n. 3, p. 234-239, 2019.

CHOUGUI, N.; TAMENDJARI, A.; HAMIDJ, W.; HALLAL, S.; BARRAS, A.; RICHARD, T.; LARBAT, R. Oil composition and characterisation of phenolic compounds of *Opuntia ficus-indica* seeds. *Food Chemistry*, Amsterdam, v. 139, p. 795-803, 2013.

COIMBRA, R. A.; TOMAZ, C. A.; MARTINS, C. C.; NAKAGAWA, J. Teste de germinação com acondicionamento dos rolos de papel em sacos plásticos. *Revista Brasileira de Sementes*, Londrina, v. 29, n. 1, p. 92-97, 2007.

CONCEIÇÃO, N. H. *Propriedades biológicas de extratos de Ricinus communis L. e Jatropha curcas L.: cardiotoxicidade e citotoxicidade*. 2017. 118 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Biologia Molecular) – Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2017.

CORBINEAU, F.; GAY-MATHIEU, C.; VINEL, D. Decrease in sunflower (*Helianthus annuus*) seed viability caused by high temperature as related to energy metabolism, membrane damage and lipid composition. *Physiologia Plantarum*, New York, v. 116, p. 489-496, 2002.

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

CORTE, V. B.; BORGES, E. E. L.; PONTES, C. A.; LEITE, I. T. A.; VENTRELLA, M. C.; MATHIAS, A. A. Mobilização de reservas durante a germinação das sementes e crescimento das plântulas de *Caesalpinia peltophoroides* Benth (Leguminosae-Caesalpinoideae). *Revista Árvore*, Viçosa, v. 30 n. 6, p. 941-949, 2006.

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

- COSTA, M. N.; PEREIRA, W. E.; BRUNO, R. L. A.; FREIRE, E. C.; NÓBREGA, M. B. M.; MILANI, M.; OLIVEIRA, A. P. Divergência genética entre acessos e cultivares de mamoneira por meio de estatística multivariada. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, DF, v. 41, n. 11, p. 1617-1622, 2006.
- DAMRONGVUDHI, O.; THUNYAPUK, R.; PITIPONG, T.; TANAPON, C.; WANCHAI, C. Optimization and sensitivity analysis of fast ethanol assay in maize seeds. *Journal of Seed Science*, Londrina, v. 41, n. 1, p. 97-107, 2019.
- DAS, K.; ROYCHOUDHURY, A. Reactiveoxy genspecies (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. *Frontiers in Environmental Science*, London, v. 2, n. 53, p. 1-13, 2014.
- DAS, P.; NUTAN, K. K.; SINGLA-PAREEK, S. L.; PAREEK, A. Oxidative environment and redox homeostasis in plants: dissecting out significant contribution of major cellular organelles. *Frontiers Environmental Science*, London, v. 2, n. 70, p. 1-11, 2015.
- DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos antioxidants properties of phenolic compounds. *Visão Acadêmica*, Curitiba, v. 5, n. 1, p. 33-40, 2004.
- DELOUCHE, J. C., BASKIN, C. C. Accelerated ageing techniques for predicting the relative storability of seed lots. *Seed Science and Technology*, [s. l.], v. 1, n. 3, p. 427-452, 1973.
- DIAS, R. A. R.; OLIVEIRA, L. M.; ROCHA, E. C. Composição química e mobilização de reservas em sementes de *Psidium cattleianum sabine* (Myrtaceae). *Revista Evidência*, Gravataí, v. 18, n. 2, p. 199-211, 2018.
- DOIJODE, S. D. Solute leakage in relation to loss seed viability in chilli cultivars. *Indian Journal of Plant Physiology*, New Delhi, v. 31, n. 3, p. 285-287, 1988.
- DONAHUE, J. L.; OKPODU, C. M.; CRAMER, C. L.; GRABAU, E. A.; ALSCHER, R. G. Responses of antioxidants to paraquat in pea leaves (relationships to resistance). *Plant Physiology*, Oxford, v. 113, n. 1, p. 249-257, 1997.
- DROTAR, A.; PHELPS, P.; FALL, R. Evidence for glutathione peroxidase activities in cultured plant cells. *Plant Science*, Amsterdam, v. 42, n. 1, p. 35-40, 1985.

DRUMOND, A. A. L.; SALES, J. F.; ZUCHI, J.; CAMELO, G. N.; SOUZA, M. M. V. Physiological quality of castor seeds (*Ricinus communis* L.) after processing. *Journal of Seed Science*, Londrina, v. 41, n. 2, p. 224-232, 2019.

DRUMOND, A. A. L.; SALES, J. F.; ZUCHI, J.; RESENDE, O.; CAMELO, G. N.; SOUZA, M. M. V. Physiological quality of castor bean seed genotypes stored at two temperatures. *Acta Scientiarum*, Maringá, v. 42, p. 1-10, 2020.

DU, R.; LIU, K.; ZHAO, S.; CHEN, F. Changes in antioxidant activity of peptides identified from brown rice hydrolysates under different conditions and their protective effects against AAPH-induced oxidative stress in human erythrocytes. *ACS Omega*, [s. l.], v. 5, n. 22, p. 12751-12759, 2020.

DUNN, W. B., ELLIS, D. I. Metabolomics: current analytical platforms and methodologies. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, Amsterdam, v. 24, n. 4, p. 285-294, 2005.

EASTMOND, P. J.; GRAHAM, I. A. Re-examining the role of the glyoxylate cycle in oilseeds. *Trends in Plant Science*, Cambridge, v. 6, n. 2, p. 72-77, 2001.

EBONE, L. A.; CAVERZAN, A.; SILVEIRA, D. C.; SIQUEIRA, L. O.; LÂNGARO, N. C.; CHIOMENTO, J. L. T.; CHAVARRIA, G. Biochemical profile of the soybean seed embryonic axis and its changes during accelerated aging. *Biology*, Basel, v. 9, n. 186, p. 1-17, 2020.

ESHDAT, Y.; HOLLAND, D.; FALTIN, Z.; BEN-HAYYIM, G. Plant glutathione peroxidases. *Physiologia Plantarum*, New York, v. 100, p. 234-240, 1997.

FAGUNDES, D. G. S.; CAGLIARI, A. Sequenciamento de RNA em larga escala como ferramenta para identificação e caracterização de genes em culturas de importância agrônômica. *Revista Eletrônica Científica da UERGS*, Porto Alegre, v. 5, n. 3, p. 271-279, 2019.

FAGUNDES, M.; CAMARGOS, M. G.; COSTA, F. V. A qualidade do solo afeta a germinação das sementes e o desenvolvimento das plântulas de *Dimorphandra mollis* Benth). Leguminosae: Mimosoideae). *Acta Botanica Brasílica*, Belo Horizonte, v. 25, n. 4, p. 908-915, 2011.

FÉLIX, R.; VALENTÃO, P.; ANDRADE, P. B.; FÉLIX, C. NOVAIS, S. C.; LEMOS, M. F. L. Evaluating the in vitro potential of natural extracts to protect lipids from oxidative damage. *Antioxidants*, [s. l.], v. 9, n. 231, 2020.

- FENOLLOSA, E.; JENÉ, L.; MUNNÉ-BOSCH, S. A rapid and sensitive method to assess seed longevity through accelerated aging in an invasive plant species. *Plant Methods*, [s. l.], v. 16, n. 64, 2020.
- FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *Revista da Associação Médica Brasileira*, São Paulo, v. 43, n. 1, p. 61-68, 1997.
- FERREIRA, G. B.; BELTRÃO, N. E. M.; SEVERINO, L. S.; GONDIM, T. M. S. V.; PEDROSA, M. B. *A cultura da mamona no cerrado: riscos e oportunidades*. Brasília, DF: Embrapa Algodão. 2006.
- FERREIRA, I. C. F. R.; ABREU, R. M. V. Stress oxidativo, antioxidantes e fitoquímicos. *Bioanálise*, [s. l.], n. 2, p. 32-39, 2007.
- FIEHN, O. Extending the breadth of metabolite profiling by gas chromatography coupled to mass spectrometry. *Trends in Analytical Chemistry*, Amsterdam, v. 27, p. 261-269, 2008.
- FIGUEIREDO, S. M. *Qualidade fisiológica de sementes de mamona em função da embalagem, condições e períodos de armazenagem*. 2006. 61 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2006.
- FIGUEIREDO NETO, A.; ALMEIDA, F. A.; GOUVEIA, J. P. G.; NÓBREGA, M. B. M.; CARNEIRO, R. M.; PEDROZA, J. P. Divergência genética em acessos de mamona (*Ricinus communis* L.) baseada nas características das sementes. *Revista de Biologia e Ciências da Terra*, Campina Grande, v. 4, n. 2, p. 1-8, 2004.
- FLORES, P.; POGGI, D.; GARIGLIO, N.; CATRARO, M. Accelerated aging test to assess vigor of *Juglans Nigra* Seeds. *International Journal of Fruit Science*, Abingdon, v. 20, n. 2, p. 1-13, 2019.
- FOGAÇA, C. A. Padronização e adequação de metodologias para avaliação da qualidade física e fisiológica de sementes de *Gleditschia amorphoides* Taub. Caesalpinaceae. 95 p. Monografia (Trabalho de Graduação em Agronomia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2000.
- FOGAÇA, J. J. N. L.; SILVA, R. A.; SANTOS, J. L.; NUNES, R. T. C.; FERREIRA, L. L.; OTONIEL, M. M. Qualidade fisiológica de sementes de mamona crioula var. Carrapatinho em função da posição do ráculo. *Revista de Ciências Agrárias*, Belém, v. 40, n. 1, p. 87-93, 2017.

- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. *Germany: Castor oil seed, production quantity (tons)*. Rome, 2020. Disponível em: <https://bit.ly/3gHbFBe>. Acesso em: 8 jan. 2020.
- FRANÇA NETO, J. B.; HENNING, A. A. *Qualidades fisiológica e sanitária de sementes de soja*. Londrina: Embrapa, 1984.
- FRANÇA NETO, J. B.; KRYZANOWSKI, F. C.; SILVA, W. R. *Tecnologia da produção de sementes de soja de alta qualidade*. Brasília, DF: Embrapa, 2005). Circular Técnica n° 40).
- FRASER, P. D.; BRAMLEY, P. M. The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids. *Progress in Lipid Research*, Amsterdam, n. 43, p. 228-265, 2004.
- FU, Y. B.; AHMED, Z.; DIEDERICHSEN, A. Towards a better monitoring of seed ageing under ex situ seed conservation. *Conservation Physiology*, Oxford, v. 3, p. 1-16, 2015.
- GALLÉ, A.; CZÉKUS, Z.; BELA, K.; HORVÁTH, E.; ÖRDÖG, A.; CSISZÁR, J.; POÓR, P. P. Plant glutathione transferases and light. *Frontiers in Plant Science*, v. 9, n. 1944, San Diego, p 1-12, 2019.
- GARCÍA, A. Á; CARRIL, E. P.-U. Metabolismo secundário de plantas. *Reduca (Biología)*, [s. l.], v. 2, n. 3, p. 119-145, 2009. Série Fisiologia Vegetal.
- GARCIA, F. *Formação de oxigênio singlete $O_2(^1\Delta_g)$ por fagócitos*. 2005, 101 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.
- GARLET, J., SOUZA, G. F.; DELAZERI, P. Teste de tetrazólio em sementes de *Cassia leptophylla*. *Enciclopédia Biosfera*, Goiânia, v. 11, n. 21, p. 1800-1808, 2015.
- GARZA-CALIGARIS, L. E.; AVENDAÑO-VÁZQUEZ, A. O.; ALVARADO-LÓPEZ, S.; ZÚÑIGA-SÁNCHEZ, A.; OROZCO-SEGOVIA, A.; PÉREZ-RUIZ, R. V.; GAMBOA-DEBUEN, A. At3g08030 transcript: a molecular marker of seed ageing. *Annals of Botany*, Oxford, v. 110, p. 1253-1260, 2012.
- GASPAR-OLIVEIRA, C. M.; MARTINS, C. C.; NAKAGAWA, J. Concentração da solução de tetrazólio e período de coloração do teste para sementes de mamoneira. *Revista Brasileira de Sementes*, Londrina, v. 31, n. 3, p. 38-47, 2009.
- GASPAR-OLIVEIRA, C. M.; MARTINS, C. C.; NAKAGAWA, J. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de mamoneira (*Ricinus communis* L.)

- pelo teste de tetrazólio. *Revista Brasileira de Sementes*, Londrina, v. 32, n. 1, p. 186-196, 2010.
- GASPAR-OLIVEIRA, C. M.; MARTINS, C. C.; NAKAGAWA, J. Pré-condicionamento das sementes de mamoneira para o teste de tetrazólio. *Acta Scientiarum. Agronomy*, Maringá, v. 33, n. 2, p. 303-311, 2011.
- GIANOPOLITIS, C.N.; RIES, S.K. Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiology*, Oxford, v. 59, 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*, Amsterdam, v. 48, p. 909-930, 2010.
- GIOVANE, A.; BALESTRIERI, A.; NAPOLI, C. New insights into cardiovascular and lipid metabolomics. *Journal of Cellular Biochemistry*, New York, v. 105, n. 3, p. 648-654, 2008.
- GONÇALVES, K. C. B. *Estudo de bioinformática aplicado à análise de expressão gênica utilizando dados oriundos de sequenciamento por tecnologia de “next-generation” em animais controle e em modelos de epilepsia do lobo temporal mesial*. 2015. 126 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2015.
- GOODACRE, R.; VAIDYANATHAN, S.; DUNN, W. B.; HARRIGAN, G. G.; KELL, D. B. Metabolomics by numbers: acquiring and understanding global metabolite data. *Trends Biotechnology*, Cambridge, v. 22, p. 245-252, 2004.
- GRAHAM, I. A. Seed storage oil mobilization. *Annual Review of Plant Biology*, Palo Alto, v. 59, p. 115-142, 2008.
- GUPTA, A.; PUNIA, R. C.; DHAIYA, O. S. Seed ageing and deterioration during storage of pearl millet hybrid along with their parental line. *Research in Environment and Life Sciences*, [s. l.], v. 10, n. 6, p. 554-556, 2017.
- GUPTA, S.; SAHA, S.; ROY, P.; BASU, P.; GANGULI, S. Structural and Functional analysis of glutathione peroxidase from *Ricinus communis* L.: a computational approach. *International Journal of Bioinformatics Research*, Chhattisgarh, v. 2, n. 1, p. 20-30, 2010.
- HAJRAH, N. H; ABDUL, W. M; AL-GARNI, S. M.; SHEIKH, A.; AHMED, M. M. M.; HALL, N.; SAINI, K. S.; SABIR, J. S. M.; BORA, R. S. Gene expression profiling to elucidate the pharmacological and toxicological effects of *Ricinus communis* L. leaf extract in mammalian cells. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, Abingdon, v. 33, n. 1, p. 397-407, 2019.

HALL, R. D. Plant metabolomics: from holistic hope, to hype, to hot topic. *New Phytologist*, New York, v. 169, p. 453-468, 2006.

HAM, X. Lipidomics: developments and applications. *Journal of Chromatography. B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, v. 877, n. 26, p. 2663, 2009.

HAMPTON, J. G.; TEKRONY, D. M. Controlled deterioration test. In: HAMPTON, J. G., TEKRONY, D. M. *Handbook of vigour test methods*. Zurich: International Seed, Testing Association, 1995. p. 70-78.

HAO, P.; SUN, B.; CHU, X.; SUN, Y.; XING, X.; LIU, S.; TANG, E.; XU, X. Effect of castor oil based urethane oligomer on properties of UV-curable pressure sensitive adhesive for peelable wafer dicing tape. *Journal of Adhesion Science and Technology*, Abingdon, v. 34, n. 23, p. 1-12, 2020.

HASANUZZAMAN, M.; BHUYAN, M. H. M. B.; ZULFIGAR, F.; RAZA, A.; MOHSIN, S. M.; AL MAHMUD, J.; FUJITA, M.; FOTOPOULOS, V. Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: revisiting the crucial role of a universal defense regulator. *Antioxidants*, Basel, v. 9, n. 8, p. 1-52, 2020.

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

HENNING, C. P. Compuestos secundarios nitrogenados: alcaloides. In: RINGUELET, J.; VINÁ, S. *Productos naturales vegetales*. La Plata: Universidad Nacional de La Plata, 2013. p. 18-61.

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

HO, T.-T.; MURTHY, H. N.; PARK, S.-Y. Methyl jasmonate induced oxidative stress and accumulation of secondary metabolites in plant cell and organ cultures. *International Journal of Molecular Sciences*, [s. l.], v. 21, n. 716, p. 1-18, 2020.

HOWARTH, C. J. Genetic improvements of tolerance to high temperature. In: ASHRAF, M., HARRIS, P. J. C).ed.). *Abiotic stresses: plant resistance*

- through breeding and molecular approaches. New York: Howarth Press, 2005.
- HOWARTH, C. J. Melhorias genéticas de tolerância a alta temperatura. In: ASHRAF, M.; HARRIS, P. J. C. (ed.). *Abiotic stresses: plant resistance through breeding and molecular approaches*. London: Routledge, 2005.
- HRAZDINA, G.; BORZEL, A. J.; ROBINSON, W. B. Studies on the stability of the anthocyanidin-3,5-diglucosides. *American Journal of Enology and Viticulture*, [s. l.], v. 21, n. 4, p. 201-204, 1970.
- HU, X.; HAO, C.; CHENG, Z-M.; ZHONG, Y. Genome-wide identification, characterization, and expression analysis of the grapevine superoxide dismutase (SOD) family. *International Journal of Genomics*, [s. l.], p. 1-13, 2019.
- HUANG, M.; WANG, Q. G.; ZHU, Q. B.; QIN, J. W.; HUANG, G. Review of seed quality and safety tests using optical sensing technologies. *Seed Science & Technology*, Cambridge, v. 43, p. 337-366, 2015.
- HUBER, P. C.; ALMEIDA, W. P. Glutaciona e enzimas relacionadas: papel biológico e importância em processos patológicos. *Química Nova*, São Paulo, v. 31, n. 5, p. 1170-1179, 2008.
- HUTH, C. *Lignina no tegumento de semente de soja: deterioração por umidade e dano mecânico e tamanho de amostra para o teste de tetrazólio*. 2015. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2015.
- IGHODARO, O. M.; AKINLOYE, O. A. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*, Abindgdon, v. 54, p. 287-293, 2018.
- INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. Germination. In: ISTA. *International rules for seed testing*. Bassersdorf: ISTA, 2004. p. 5.1-5.5; 5A.1-5A.50.
- JASPERS, P.; KANGASJÄRVI, J. Reactive oxygen species in abiotic stress signaling. *Physiologia Plantarum*, New York, v. 138, p. 405-413, 2010.
- JESUS, T. S. R. *Marcadores fisiológicos e bioquímicos da qualidade de sementes de Ricinus communis L. submetidas a diferentes condições de armazenamento*. 2016. 143 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Biologia Molecular) – Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2016.

- JEVAS, O. The role of reactive oxygen species and antioxidants in oxidative stress. *International Journal of Research in Pharmacy and Biosciences*, Chhattisgarh, v. 3, n. 6, p. 01-08, 2016.
- JIANHUA, Z.; MCDONALD, M. B. The saturated salt accelerated aging for smallseeded crops. *Seed Science and Technology*, Bassersdorf, v. 25, n. 1, p. 123-131, 1997.
- JOLIVET, P.; ROUX, E.; D'ANDREA, S.; DAVANTURE, M.; NEGRONI, L., ZIVY, M.; CHARDOT, T. Protein composition of oil bodies in *Arabidopsis thaliana* ecotype WS. *Plant Physiology and Biochemistry*, Amsterdam, v. 42, p. 501-509, 2004.
- 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 sp.* seed germination. *The Plant Journal*, New York, v. 62, p. 148-159, 2010.
- KADDURAH-DAOUK, R., KRISHNAN, R. R. K. Metabolomics: a global biochemical approach to the study of central nervous system diseases. *Neuropsychopharmacology*, London, v. 34, n. 1, p. 173-186, 2009.
- KARYOTOU, K; DONALDSON, R. P. Ascorbate peroxidase, a scavenger of hydrogen peroxide in glyoxysomal membranes. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, Amsterdam, v. 434, p. 248-257, 2004.
- KATAJAMAA, M.; ORESIC, M. Processing methods for differential analysis of LC/MS profile data. *BMC Bioinformatics*, London, v. 6, 179-190, 2005.
- KENNEDY, R. A.; RUMPHO, M. E.; FOX, T. C. Anaerobic metabolism in plants. *Plant Physiology*, Oxford, v. 100, p. 1-6, 1992.
- KIM, S.-H.; KIM, S.-H.; LEE, J.-H.; LEE, B.-H.; YOON, H. J.; SHIN, D. H.; PARK, S. S.; JANG, S. B.; PARK, J.-S.; JEE, Y.-K. Superoxide dismutase gene (SOD1, SOD2, and SOD3) polymorphisms and antituberculosis drug-induced hepatitis. *Allergy Asthma Immunology Research*, Seoul, v. 7, n. 1, p. 88-91, 2015.
- KRANNER, I.; BIRTIĆ, S; ANDERSON, K. M.; PRITCHARD, H. W. Glutathione half-cell reduction potential: a universal stress marker and modulator of programmed cell death? *Free Radical Biology & Medicine*, Amsterdam, v. 40, p. 2155-2165, 2006.

- KRZYZANOWSKI, F. C.; WEST, S. H.; FRANÇA NETO, J. B. O teste de deterioração controlada para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de soja. *Informativo Abrates*, Londrina, v. 11, n. 2, p. 185, 2001.
- KURAMA, E. E.; FENILLE, R. C.; ROSA JR, V. E.; ROSA, D. D.; ULIAN, E. C. Mining the enzymes involved in the detoxification of reactive oxygen species (ROS) in sugarcane. *Molecular Plant Pathology*, New York, v. 3, n. 4, p. 251-259, 2002.
- KUREK, K.; PLITTA-MICHALAK, B.; RATAJCZAK, E. Reactive oxygen species as potential drivers of the seed aging process. *Plants*, Basel, v. 8, n. 174, 2019.
- LAGO, A. A.; ZINK, E.; RAZERA, L. F.; BANZATTO, N. V.; SAVY FILHO, A. Dormência em sementes de três cultivares de mamona. *Bragantia*, Campinas, v. 38, p. 41-44, 1979.
- LASO, E.; OGOŃSKI, J. Lipase: characterization, applications and methods of immobilization. *Chemik*, [s. l.], v. 64, n. 2, p. 97-102, 2010.
- LEE, S. E.; SHIN, H.-T.; HWANG, H. J.; KIM, J. H. Antioxidant activity of extracts from *Alpinia katsumadai* seed. *Phytotherapy Research*, Chichester, v. 17, p. 1041-1047, 2003.
- LEHNINGER, A. L., COX, M. M., NELSON, D. L. *Lehninger: princípios de bioquímica*. 5. ed. [S. l.: s. n.], 2011.
- LEHNINGER, A. L., COX, M. M., NELSON, D. L. *Lehninger: princípios de bioquímica*. 6. ed. [S. l.: s. n.], 2014.
- LI, M.; YANG, L.; BAI, Y.; LIU, H. Analytical methods in lipidomics and their applications. *Analytical Chemistry*, Washington, DC, v. 86, n. 1, p. 161-175, 2014.
- LI, Y.; LIU, Y.; ZHANG, J. Advances in the research on the AsA-GSH cycle in horticultural crops. *Frontiers of Agriculture in China*, New York, v. 4, n. 1, p. 84-90, 2010.
- LIMA, É. S.; ABDALLA, D. S. P. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, São Paulo, v. 37, n. 3, p. 293-303, 2001.
- LOGAN, B. A.; KORNYEYEV, D.; HARDISON, J.; HOLADA, A. S. The role of antioxidant enzymes in photoprotection. *Photosynthesis Research*, New York, v. 88, p. 119-132, 2008.

LOPES, F. F. M.; BELTRÃO, N. E. M.; LOPES NETO, J. P.; PEDRO, J. P. Crescimento inicial de genótipos de mamoneira com sementes submetidas ao envelhecimento acelerado. *Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas*, Campina Grande, v. 12, n. 2, p. 69-79, 2008.

LUZ, D. A. *Estudo da degradação da vitamina E (α -tocoferol) durante as etapas do refino do óleo de babaçu (*Orbignya phalerata*, Mart.): validação de um método*. 2011. 94 f. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2011.

LUZ, R. P. *Caracterização morfofisiológica molecular e agrônômica de cultivares de mamona*. 2012. 95 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2012.

MA, W.-G.; ZHANG, Z.-H.; ZHENG, Y.-Y.; PAN, W.; QIU, T.; GUAN, Y.-J.; HU, J. Determination of tobacco (*Nicotiana tabacum*) seed vigour using controlled deterioration followed by a conductivity test. *Seed Science and Technology*, [s. l.], v. 48, n. 1, p. 1-10, 2020.

MA, Y.; HUANG, D.; CHEN, C.; ZHU, S.; GAO, J. Regulation of ascorbate-glutathione cycle in peaches via nitric oxide treatment during cold storage. *Scientia Horticulturae*, Amsterdam, v. 247, p. 400-406, 2019.

MAFRA, D.; ABDALLA, D. S. P.; COZZOLINO, S. M. F. Peroxidação lipídica em pacientes com insuficiência renal crônica. *Revista de Nutrição*, Campinas, v. 12, n. 3, p. 205-212, 1999.

MAGALHÃES, S. R.; BORGES, E. E. L.; BERGER, A. P. A. Mobilização de reservas no eixo embrionário e nos cotilédones de sementes de *Schizolobium parahyba* (vell.) s. f. blake durante a germinação. *Ciência Florestal*, Santa Maria, v. 20, n. 4, p. 589-595, 2010.

MAGEDANS, Y. V. S. *Metabolismo do alcaloide antioxidante braquicerina de *Psychotria brachyceras* Müll. Arg. sob estresse de calor*. 2017. 67 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2017.

MAHJABIN, B. S.; ABIDI, A. B. Physiological and biochemical changes during seed deterioration: a review. *International Journal of Recent Scientific Research*, Chhattisgarh, v. 6, p. 3416-3422, 2015.

MARCOS FILHO, J. *Fisiologia de sementes de plantas cultivadas*. Piracicapba: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, 2005. v. 1.

- MARCOS FILHO, J. Seed vigor testing: an overview of the past, present and future perspective. *Scientia Agricola*, São Paulo, v. 72, n. 4, p. 363-374, 2015.
- MARCOS FILHO, J.; NOVENBRE, A. D. C.; CHAMMA, M. C. P. Tamanho da semente e o teste de envelhecimento acelerado para soja. *Scientia Agricola*, São Paulo, v. 57, n. 3, p. 473-482, 2000.
- MARGUERAT, S.; BÄHLER, J. RNA-seq: from technology to biology. *Cellular and Molecular Life Sciences*, New York, v. 67, n. 4, p. 569-579, 2010.
- MATHEUS, M. T.; LOPES, J. C. Morfologia de frutos, sementes e plântulas e germinação de sementes de *Erythrina variegata* L. *Revista Brasileira de Sementes*, Londrina, v. 29, n. 3, p. 8-17, 2007.
- MATTHEWS, S. Physiology of seed ageing. *Agricultural Botany*, Thousand Oaks, v. 14, n. 2, 1985.
- MCDONALD, M. B. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. *Seed Science and Technology*, [s. l.], v. 27, p. 177-237, 1999.
- MEDEIROS, A. D.; PINHEIRO, D. T.; XAVIER, W. A.; SILVA, L. J.; DIAS, D. C. F. S. Quality classification of *Jatropha curcas* seeds using radiographic images and machine learning. *Industrial Crops & Products*, Amsterdam, v. 146, p. 1-7, 2020.
- MELLO, J. I. O. *Compostos de reserva de sementes e suas relações com diferentes níveis de sensibilidade à dessecação e ao congelamento*. 2008. 126 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Instituto de Botânica, Secretaria do Meio Ambiente, São Paulo, 2008.
- MELO, E. A.; GUERRA, N. B. Ação antioxidante de compostos fenólicos naturalmente presentes em alimentos. *Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, n. 36, p. 1-11, 2002.
- MELO, R. B. *Caracterização das reservas das sementes e avaliação da germinação e formação de plântulas de nove espécies arbóreas de florestas alagáveis da Amazônia*. 2013. 82 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2013.
- MELO, W. C.; SILVA, D. B.; PEREIRA JUNIOR N. Produção de etanol a partir de torta de mamona (*Ricinus communis* L.) e avaliação da letalidade da torta hidrolisada para camundongos. *Química Nova*, São Paulo, v. 31, n. 5, p. 1104-1106, 2008.

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

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

MENGARDA, L. H. G. *at al* Alternating temperature and accelerated aging in mobilization of reserves during germination of *Carica papaya* L. seeds. *Journal of Seed Science*, Londrina, v. 37, n. 1, p. 16-25, 2015.

MESSETTI, M. A.; SANTOS, A. M.; ANGELIS, D. F.; CHIERICE, G. O.; CLARO NETO, S. Estudo do derivado do óleo de *Ricinus communis* L.) mamona) como agente biocida e redutor da viscosidade produzida por *Leuconostoc mesenteroides* em indústrias sucroalcooleiras. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v. 77, n. 2, p. 301-308, 2010.

MILLER, A.-F. Superoxide dismutases: ancient enzymes and new insights. *HHS Public Access*, [s. l.], v. 586, n. 5, p. 585-595, 2012.

MIRA, S.; PIRREDDA, M.; MARTÍN-SÁNCHEZ, M.; MARCHESSI, J. E.; MARTÍN, C. DNA methylation and integrity in aged seeds and regenerated plants. *Seed Science Research*, Cambridge, p. 1-9, 2020.

MIRONCZUK-CHODAKOWSKA, I.; WITKOWSKA, A. M.; ZUJKO, M. E. Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body. *Advances in Medical Sciences*, Amsterdam, v. 63, p. 68-78, 2018.

MISHRA, B.; CHANDC, S.; SANGWANA, N. S. ROS management is mediated by ascorbate-glutathione- α -tocopherol triad in co-ordination with secondary metabolic pathway under cadmium stress in *Withania somnifera*. *Plant Physiology and Biochemistry*, Amsterdam, v. 139, p. 620-629, 2019.

MISHRA, V. K.; PATEL, R. H. Synthesis and characterization of flame retardant polyurethane: effect of castor oil polyurethane on its properties. *Polymer Degradation and Stability*, Amsterdam, v. 175, p. 1-36, 2020.

MITTLER, R.; VANDERAUWERA, S; GOLLERY, M.; BREUSEGEM, F. V. Reactive oxygen gene network of plants. *Trends in Plant Science*, [s. l.], v. 9, n. 10, 2004.

MIYAKE, C.; ASADA, K. Thylakoid-bound ascorbate peroxidase in spinach chloroplasts and photoreduction of its primary oxidation product

monodehydroascorbate radicals in thylakoids. *Plant & Cell Physiology*, Oxford, v. 33, n. 5, p. 541-553, 1992.

MORAES, J. V. *Morfologia e germinação de sementes de Poecilanthe parviflora bentham (fabaceae – faboideae)*. 2007. 78 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Universidade Estadual Paulista, São Paulo,, 2007.

MORAES, P. F.; LAAT, D. M.; SANTOS, M. E. A. H. P.; COLOMBO, C. A.; KIIHL, T. Expressão gênica diferencial em genótipos de mamona (*Ricinus communis* L.) submetidos a déficit hídrico induzido por PEG. *Melhoramento Genético Vegetal*, [s. l.], v. 74, n. 1, p. 25-32, 2015.

MOURA, M. S. B.; GALVINCIO, J. D.; BRITO, L. T. L.; SOUZA, L. S. B.; SÁ, I. I. S.; SILVA, T. G. F. *Clima e água de chuva no semi-árido*. Brasília, DF: Embrapa, 2005. Disponível em: <https://bit.ly/2UpGHGt>. Acesso em: 2 jan. 2020.

MURSHED, S. M. S.; LEONG, K. C.; YANG, C. Investigations of thermal conductivity and viscosity of nanofluids. *International Journal of Thermal Sciences*, Amsterdam, v. 47, n. 5, p. 560-568, 2008.

MUTLU, H.; MEIER, M. A. R. Castor oil as a renewable resource for the chemical industry. *European Journal of Lipid Science and Technology*, New York, n. 112, p. 10-30, 2010.

MYLONA, P. V.; POLIDOROS, A. N. ROS regulation of antioxidant genes. In: GUPTA, S. D. *Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants*. Enfield: Science Publishers, 2011. p. 101-128.

NAGEL, M.; KRANNER, I.; NEUMANN, K.; ROLLETSCHEK, H.; SEAL, C.; COLVILLE, L.; FERNÁNDEZ-MARÍN, B.; BÖRNER, A. Genome-wide association mapping and biochemical markers reveal that seed ageing and longevity are intricately affected by genetic background and developmental and environmental conditions in barley. *Plant, Cell & Environment*, Hoboken, v. 38, n. 6, p. 1011-1022, 2014.

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

NAVAS-IGLESIAS, N., CARRASCO-PANCORBO, A., CUADROS-RODRÍGUEZ, L. From lipids analysis towards lipidomics, a new challenge for the analytical chemistry of the 21st century. Part II: analytical lipidomics. *Trends in Analytical Chemistry*, Amsterdam, v. 28, p. 393-403, 2009.

NELSON, D. L.; COX, M. M. *Princípios de bioquímica de Lehninger*. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014.

NERY, F. C.; ALVARENGA, A. A.; JUSTO, C. F., CASTRO, E. M.; STEIN, V. C. Caracterização morfológica e química de sementes de *calophyllum brasiliense* cambess. *Revista Brasileira de Biociências*, Porto Alegre, v. 5, n. 2, p. 144-146, 2007.

NGUEDAP, R. D. T.; TCHUIFON, D. R. T.; CONDE, M. A.; MENGOUNOU, G. M.; NDOM, J. C.; AZEBAZE, A. G. B. Comparative study of extraction methods on the composition and physicochemical properties of vegetable oil from the seeds of *Ricinus communis*. *Chemical Science International Journal*, [s. l.], v. 29, n. 6, p. 29-37, 2020.

NIKI, E.; ABE, K. Vitamin E: structure, properties and functions. In: NIKI, E. *Vitamin E: chemistry and nutritional benefits*. London: Royal Society of Chemistry, 2019. p. 1-11.

NIMSE, S. B.; PAL, D. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *The Royal Society of Chemistry*, London, v. 5, p. 27986-28006, 2015.

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

NOLETO, L. G.; PEREIRA, M. F. R.; AMARAL, L. I. V. Alterações estruturais e fisiológicas em sementes de *Copaifera langsdorffii* Desf. – Leguminosae-Caesalpinioideae submetidas ao tratamento com hipoclorito de sódio. *Revista Brasileira de Sementes*, Londrina, v. 32, n. 1, p. 45-52, 2010.

OGUNNIYI, D. S. Castor oil: a vital industrial rawmaterial. *Bioresource Technology Amsterdam*, v. 97, p. 1086-1091, 2006.

OLIVEIRA, A. K. M.; SCHLEDER, E. D.; FAVERO, S. Caracterização morfológica, viabilidade e vigor de sementes de *Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth. & Hook. f. ex. S. Moore. *Revista Árvore*, Viçosa, v. 30, n. 1, p. 25-32, 2006.

OLIVEIRA, G. P. *Maturação e qualidade fisiológica de sementes de feijão – caupi (Vigna unguiculata (L.) Walp.)*. 2012. 99 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Vitória da Conquista, 2012.

OLIVEIRA, L. R. *Avaliação dos compostos fenólicos e das propriedades antioxidantes da polpa do pequi (Caryocar spp) processado in natura*. 2010. 121 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

OLIVEIRA, S. C. G. *Aminoácidos não-proteinogênicos como antioxidantes*. 2016. 120 f. Dissertação (Mestrado em Química Medicinal) – Universidade do Minho, Braga, 2016.

OMAR, S. A.; ELSHEERY, N. I.; KALAJI, H. M.; XU, ZENG-FU; SONG-QUAN, S. CARPERNTIER, R. LEE, C. H.; ALLAKHVERDIEVS, S, I. Dehydroascorbate reductase and glutathione reductase play an important role in scavenging hydrogen peroxide during natural and artificial dehydration of *Jatropha curcas* seeds. *Journal Plant Biology*, Hoboken, v. 55, p. 469-480, 2012.

ORNELLASA, F. L. S.; SOUSA, A. O. S.; PIROVANIA, C. P.; ARAÚJO, M. N. A.; COSTA, D. S.; DANTAS, B. F.; BARBOSA, R. M. Gene expression, biochemical and physiological activities in evaluating melon seed vigor through ethanol release. *Scientia Horticulturae*, Amsterdam, v. 261, p. 1-9, 2019.

PAGLIA, D. E.; VALENTINE, W. N. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, v. 70, n. 1, p. 158-169, 1967.

PARK, A. K.; KIM, I.-S.; DO, H.; KIM, H.; CHOL, W.; JO, S.-W.; SHIN, S. C.; LEE, J. H.; YOON, H.-S.; KIM, H.-W. Characterization and structural determination of cold-adapted monodehydroascorbate reductase, MDHAR, from the Antarctic hairgrass *Deschampsia antarctica*. *Crystals*, [s. l.], v. 9, n. 537, 2019.

PASTOR, N.; WEINSTEIN, H.; JAMISON, E.; BRENOWITZ, M. A detailed interpretation of OH radical footprints in a TBP DNA complex reveals the role of dynamics in the mechanism of sequencespecific binding. *Journal of Molecular Biology*, Amsterdam, v. 304, n. 1, p. 55-68, 2000.

PATEL, V. R.; DUMANCAS, G. G.; VISWANATH, L. C. K.; MAPLES, R.; SUBONG, B. J. J. Castor oil: properties, uses, and optimization of processing parameters in commercial production. *Lipid Insights*, [s. l.], v. 9, p. 1-12, 2016.

PERTEL, J. Alterações fisiológicas e bioquímicas durante o envelhecimento natural e artificial de sementes de café (*Coffea arabica* L.). 2004. 117 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2004.

PHANEENDRANATH, B. R. Influence of amount of water in the paper towel on standard germination tests. *Journal of Seed Technology*, [s. l.], v. 5, n. 2, p. 82-87, 1980.

PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLIA, M. B.; PEIXOTO, M. C. Testes de qualidade. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETI, F. *Germinação: do básico ao aplicado*. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 283-297.

PINHO, S. Z.; CARVALHO, L. R.; DELACHIAVE, M. E. A. Limit between stages I and II of a seed imbibition curve. *Scientia Agricola*, Piracicaba, v. 61, n. 1, p. 17-20, 2004.

PIOTROWICZ, I. B. B. *Avaliação das propriedades antioxidante e anti-hipertensiva de peptídeos derivados do concentrado proteico de farelo de arroz (Oryza sativa L.)*. 2016. 156 f. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande, 2016.

POLITO, L.; BORTOLOTTI, M.; BATTELI, M. G.; CALAFATO, G.; BOLOGNESI, A. Ricin: an ancient story for a timeless plant toxin. *Toxins*, Basel, v. 11, n. 324, 2019.

QUEIROGA, V. P.; BELTRÃO, N. E. M. *Produção e armazenamento de sementes de mamona (Ricinus communis L.)*. Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2004).Circular Técnico nº 206).

QUEIROGA, V. P.; SANTOS, R. F. Diagnóstico da produção de mamona (*Ricinus communis*, L.) em uma amostra de produtores do nordeste brasileiro. *Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibras*, Campina Grande, v. 12, n. 1, p. 9-23, 2008.

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

RAHMAN, A.; CHO, B. K. Assessment of seed quality using non-destructive measurement techniques: a review. *Seed Science Research*, Cambridge, v. 26, p. 285-305, 2016.

RAHOUI, S.; CHAOUI, A.; BEM, C.; RICKAUER, M.; GENTZBITTEL, L.; FERJANI, E. E. Effect of cadmium pollution on mobilization of

- embryo reserves in seedlings of six contrasted *Medicago truncatula* lines. *Phytochemistry*, Amsterdam, v. 111, p. 98-106, 2015.
- RAJJOU, L.; LOVIGNY, Y.; GROOT, S. P. C.; BELGHAZI, M.; JOB, C.; JOB, D. Proteome-wide characterization of seed aging in arabidopsis: a comparison between artificial and natural aging protocols. *Plant Physiology*, Oxford, v. 148, p. 620-641, 2008.
- RAMAIAH, K. P.; MISHRA, K.; ATKAR, A.; SRIDHAR, S. Pervaporation separation of chlorinated environmental pollutants from aqueous solutions by castor oil based composite interpenetrating network membranes. *Chemical Engineering Journal*, Amsterdam, v. 387, p. 1-42, 2020.
- RATAJCZAK, E.; MAŁECKA, A.; BAGNIEWSKA-ZADWORNA, A.; KALEMBA, E.M. The production, localization and spreading of reactive oxygen species contributes to the low vitality of long-term stored common beech (*Fagus sylvatica* L.) seeds. *Journal of Plant Physiology*, Amsterdam, v. 174, p. 147-156, 2015.
- RATAJCZAK, E.; MAŁECKA, A.; CIERESZKO, I.; STASZAK, A. M. Mitochondria are important determinants of the aging of seeds. *International Journal of Molecular Sciences*, [s. l.], v. 20, p. 1-12, 2019.
- RESENDE, M. L. V.; SALGADO, S. M. L.; CHAVES, Z. M. Espécies ativas de oxigênio na resposta de defesa de plantas a patógenos. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, DF, v. 28, n. 2, p. 123-130, 2003.
- RIBEIRO, P. R.; ZANOTTI, R. F.; DEFLERS, C.; FERNANDEZ, L, G.; CASTRO, R. D.; LIGTERINK, L.; HILHORST, H. W. M. Effect of temperature on biomass allocation in seedlings of two contrasting genotypes of the oilseed crop *Ricinus communis*. *Journal of Plant Physiology*, Amsterdam, v. 185, p. 31-39, 2015.
- RIBEIRO, S. M. R.; QUEIROZ, J. H.; PELÚZO, M. C. G.; COSTA, N. M. B.; MATTA, S. L. P.; QUEIROZ, M. E. L. R. A formação e os efeitos das espécies reativas de oxigênio no meio biológico. *Bioscience Journal*, Uberlândia, v. 21, n. 3, p. 133-149, 2005.
- RIBEIRO FILHO, J. *Cultura da mamoneira*. Viçosa: UFV, 1966.
- RIOS, I. C.; CORDEIRO, J. P.; ARRUDA, T. B. M. G.; RODRIGUES, E. A.; UCHOA, A. F. J.; LUNAC, M. T.; CALVALCANTE, C. L.; RICARDO, N. M. P. S. Chemical modification of castor oil fatty acids (*Ricinus communis*) for

biolubricant applications: an alternative for Brazil's green market. *Industrial Crops & Products*, Amsterdam, v. 145, p. 1-8, 2019.

RODRIGUES, H. C. A.; CARVALHO, S. P.; CARVALHO, A. A.; CARVALHO FILHO, J. L. S.; CUSTÓDIO, T. N. Avaliação da diversidade genética entre acessos de mamoneira (*Ricinus communis* L.) por meio de caracteres morfoagronômicos. *Revista Ceres*, Viçosa, v. 57, n. 6, p. 773-777, 2010.

ROHMAN, M. M.; ISLAM, M. M.; MONSUR, M. B.; AMIRUZZAMAN, M.; FUJITA, M.; HASANUZZAMAN, M. Trehalose protects maize plants from salt stress and phosphorus deficiency. *Plants*, [s. l.], v. 8, n. 568, p. 1-19, 2019.

ROLIM, A. E. H.; HENRIQUE-ARAÚJO, R.; FERRAZ, E. G.; DULTRA, F. K. A. A.; FERNANDEZ, L. G. Lipidomics in the study of lipid metabolism: current perspectives in the omic sciences. *Gene*, Amsterdam, v. 554, n. 2, p. 131139, 2015.

ROSSETTO, C. A. V.; MARCOS FILHO, J. Comparação entre os métodos de envelhecimento acelerado e de deterioração controlada para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de soja. *Scientia Agricola*, Piracicaba, v. 52, n. 1, p. 121-131, 1995.

ROTTA, R. B. *Estudo da enzima glutationa em carne de frango*. 2007. 96 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) –Universidade Regional Integrada do Alto do Uruguai e das Missões, Erechim, 2007.

ROVER JÚNIOR, L.; HÖEHR, N. F.; VELLASCO, A. P.; KUBOTA, L. T. Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutationa associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. *Química Nova*, São Paulo, v. 24, n. 1, p. 112-119, 2001.

SACHAN, N.; ROGERS, D. T.; YUN, K.-Y.; LITTLETON, J. M.; FALCONE, D. L. Reactive oxygen species regulate alkaloid metabolism in undifferentiated *N. tabacum* cells. *Plant Cell Reports*, New York, n. 29, v. 437, p. 437-448, 2010.

SALIMON, J.; NOOR, N. A. M.; NAZRIZAWATI, A. T.; MOHD FIRDAUS, M. Y.; NORAISHAH, A. Fatty acid composition and physicochemical properties of malaysian castor bean *Ricinus communis* L. seed oil. *Sains Malaysiana*, [s. l.], v. 39, n. 5, p. 761-764, 2010.

- SANO, N.; RAJJAOU, L.; NORTH, H.; DEBEAUJON, M.-P. A.; SEO, M. Staying alive: molecular aspects of seed longevity. *Plant & Cell Physiology*, Oxford, v. 57, n. 4, p. 660-674, 2016.
- SANTOS, C. M. R.; MENEZES, N. L.; VILLELA, F. A. Alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de feijão envelhecidas artificialmente. *Revista Brasileira de Sementes*, Londrina, v. 26, n. 1, p. 110-119, 2004.
- SANTOS, J. F.; ALVARENGA, R. O.; TIMÓTEO, T. S.; CONFORTO, E. C.; MARCOS FILHO, J.; VIEIRA, R. D. Avaliação do potencial fisiológico de lotes de sementes de soja. *Revista Brasileira de Sementes*, Londrina, v. 33, n. 4, p. 743-751, 2011.
- SANTOS, J. L. *Fisiologia da maturação de frutos e superação de dormência em sementes de maracujá-do-mato (Passiflora cincinnata Mast.)*. 2018. 80 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Vitória da Conquista, 2018.
- SANTOS, M. H.; BATISTA, B. L.; DUARTE, S. M. S.; ABREU, C. M. P.; GOUVÊA, C. M. C. P. Influência do processamento e da torrefação sobre a atividade antioxidante do café (*Coffea arabica*). *Química Nova*, São Paulo, v. 30, n. 3, p. 604-610, 2007.
- SANTOS, S. R. G. *Efeito da temperatura na germinação de sementes de Sebastiania commersoniana (Baill.) Smith & Downs (Branquilho)*. 1999. 76 f. Dissertação (Mestrado em Produção e Tecnologia de Sementes) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1999.
- SANTOSO, B. B.; PARWATA, I. A.; JAYA, I. K. D. Seed viability and oil content of castor bean (*Ricinus communis* L.) as affected by packaging materials during storage. *International Journal of Applied Science and Technology*, [s. l.], v. 5, n. 2; p. 56-61, 2015.
- SASAKI, M. Lipídios, carboidratos e proteínas de sementes de leguminosas do cerrado. 2008. 83 f. Dissertação (Mestrado em Biociências) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.
- SATHISH, S.; AHAMED, R.; SENTHIL, N.; ARULKUMAR, N.; PARK, H. S.; KALAISELVI, S.; UMARANI, R.; RAVEENDRAN, M.; BHASKARAN, M.; KIM, G. S. Proteomic analysis of ageing in black gram (*Vigna mungo* L.) seeds and its relation to seed viability. *Plant Omics*, [s. l.], v. 8, n. 3, p. 201-211, 2015.

SCHAUER, N.; FERNIE, A. Plant metabolomics: towards biological function and mechanism. *Trends in Plant Science*, Maryland Heights, v. 11, n. 10, p. 508-516, 2006.

SCHNEIDER, R. C. S.; ALVES, D. M.; LARA, L. R. S.; PONS, E. L.; CARAMÃO, E. B.; MARTINELLI, M. Componentes minoritários do óleo de mamona (*Ricinus communis* L.). *Tecno-Lógica*, Santa Cruz do Sul, v. 11, n. 1, p. 41-46, 2007.

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*, Soropédica, v. 21, n. 1, p. 45-51, 2014.

SEVERINO, L. S.; FERREIRA, G. B.; MORAES, C. R. A.; GONDIM, T. M. S.; CARDOSO, G. D.; VIRIATO, J. R.; BELTRÃO, N. E. M. Produtividade e crescimento da mamoneira em resposta à adubação orgânica e mineral. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, DF, v. 41, n. 5, p. 879-882, 2006.

SEWELAM, N; KAZAN, K; SCHENK, P. M. Global plant stress signaling: reactive oxygen species at the cross-road. *Frontiers in Plant Science*, San Diego, v. 7, n. 187, p. 1-21, 2016.

SHABAN, B. Aging in orthodox seeds is a problem. *International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research*, Nakhil St, v. 1, n. 11, p. 1296-1301, 2013.

SHACTER, E. Quantification and significance of protein oxidation in biological samples. *Drug Metabolism Reviews*, [s. l.], v. 32, p. 307-326, 2000.

SHARMA, P.; DUBEY, R. S. Lead toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, Campoo dos Goytacazes, v. 17, n. 1, p. 35-52, 2005.

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

SILVA, A. A.; GONÇALVES, R. C. Espécies reativas do oxigênio e as doenças respiratórias em grandes animais. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 40, n. 4, p. 994-1002, 2010.

SILVA, J. N.; SILVA, M. A. D.; RODRIGUES, M. H. B. S.; ALVES, R. M. Testes de envelhecimento acelerado e condutividade elétrica para sementes de espécies florestais nativas: uma breve revisão. *Meio Ambiente (Brasil)*, [s. l.], v. 1, n. 2, p. 24-30, 2019.

- SILVA, M. L. C.; COSTA, R. S.; SANTANA, A. S. S.; KOBLITZ, M. G. B. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 31, n. 3, p. 669-682, 2010.
- SILVA, P. P., SEKITA, M. C., DIAS, D. C. F.; NASCIMENTO, W. M. Biochemical and physiological analysis in carrot seeds from different orders of umbels. *Revista Ciência Agronômica*, Fortaleza, v. 47, p. 407-413, 2016.
- SILVA, S. A.; CERQUEIRA, L. S.; VILARINHOS, A. D.; AMORIM, E. P.; MOREIRA, R. F. C.; COSTA, M. A. P. C. Variabilidade genética em cultivares de mamona por meio de marcadores RAPD. *Magistra*, Recôncavo da Bahia, v. 24, n. 4, p. 341-347, 2012.
- SILVEIRA, C. M. *Teste de deterioração controlada em sementes de amendoim*. 2006. 62 f. Dissertação (Mestrado em Produção de Tecnologia de Semente) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2006.
- SINGH, A. S.; KUMARI, S.; MODI, A. R.; GAJERA, B. B.; NARAYANAN, S.; KUMAR, N. Role of conventional and biochnological approaches in genetic improvement of castor (*Ricinus communis* L.). *Industrial Crops and Products*, Amsterdam, v. 74, p. 55-62, 2015.
- SINGH, J.; PAROHA, S.; MISHRA, R. P. Factors affecting oilseed quality during storage with special reference to soybean (*Glycine max*) and Niger (*Guizotia abyssinica*) seeds. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, Tamilnadu, v. 6, n. 10, p. 2215-2226, 2017.
- SINGH, V. G; JITHENDRA, K. D; CHAUHAN, S. S.; SINHA, A.; SIGH, S.; SHARMA, S. *Ricinus Communis* (palm of Christ) healing touch of God. *International Journal of Advance Research and Development*, [s. l.], v. 3, p. 181-183, 2018.
- SMERILLI, A.; BALZANO, S.; MASELLI, M.; BLASIO, M.; OREFICE, I; GALASSO, C.; SANSONE, C.; BRUNET, C. Antioxidant and photoprotection networking in the coastal diatom *Skeletonema marinoi*. *Antioxidants*, Basel, v. 8, n. 6, p. 154, 2019.
- SMERTENKO, A.; DRABER, P; VIKLICKY, V.; OPATRNY, Z. Heat stress affects the organization of microtubules and cell division in *Nicotiana tabacum* cells. *Plant, Cell and Environment*, Hoboken, v. 20, n. 12, p. 1534-1542, 1997.

SOARES, A. M. S.; MACHADO, O. L. T. Defesa de plantas: sinalização química e espécies reativas de oxigênio. *Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas*, São Luís, v. 1, n. 1, p. 1-11, 2007.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. *Revista Nutrição*, Campinas, v.15, n. 1, p. 71-81, 2002.

SOETISNA, U. *at al* Germination test recommendations for estimating the viability of moist or dry seeds of lemon (*Citrus limon*) and lime (*C. aurantifolia*). *Seed Science & Technology*, Zurich, v. 13, p. 87-110, 1985.

SOUZA, A. S.; TAVORA, F. J. A. F.; PITOMBEIRA, J. B.; BEZERRA, F. M. Épocas de plantio e manejo da irrigação para a mamoneira. II – Crescimento de produtividade. *Revista Ciência Agronômica*, Fortaleza, v. 38, p. 422-429, 2007.

SOUZA, M. T.; SOUZA, M. T.; PANOBIANCO, M. Morphological characterization of fruit, seed and seedling, and seed germination test of *Campomanesia guazumifolia*. *Journal of Seed Science*, Londrina, v. 40, n. 1, p. 75-81, 2018.

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

SOUZA, V. H. A.; SANTOS, L.T.; CAMPOS, A. F; CAROLINO, J. Análise do Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNPB): resultados e críticas. *Revista de Administração Geral*, Macapá, v. 1, n. 1, p. 23-41, 2015.

SPINOLA, M. C. M.; CÍCERO, S. M.; MELO, M. Alterações bioquímicas e fisiológicas em sementes de milho causadas pelo ao envelhecimento acelerado. *Scientia Agrícola*, São Paulo, v. 57, n. 2, p. 263-270, 2000.

STAHL, W.; SIES, H. Antioxidant activity of carotenoids. *Molecular Aspects of Medicine*, Amsterdam, v. 24, p. 345-351, 2003.

SUDA, C. N. K.; GIORGINI, J. F. Seed reserve composition and mobilization during germination and initial seedling development of *Euphorbia heterophylla*. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, Campinas, v. 12, p. 226-245, 2000.

SUJATHA, M.; REDDY, T. P; MAHASI, M. J. Role of biotechnological interventions in the improvement of castor (*Ricinus communis* L.) and *Jatropha curcas* L. *Biotechnology Advances*, Amsterdam, v. 26, p. 424-435, 2008.

- TAIZ L; ZEIGER E. *Fisiologia vegetal*. 3. ed. Rio de Janeiro: Artmed, 2004.
- TELES, C. A. S. *Aspectos fisiológicos e eventos do ciclo celular em sementes de Ricinus communis L. sob restrição hídrica*. 2013. 97 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2013.
- TESNIER, K.; STROOKMAN-DONKERS, H. M.; VAN PIJLEN, J. G.; VAN DER GEEST, A. H. M.; BINO, R. J.; GROOT, S. P. C. A controlled deterioration test for *Arabidopsis thaliana* reveals genetic variation in seed quality. *Seed Science & Technology*, [s. l.], v. 30, p. 149-165, 2002.
- TIWARI, Y. K.; YADAV, S. K. Effect of high-temperature stress on ascorbate-glutathione cycle in maize. *Agricultural Research*, New York, v. 9, p. 1-9, 2019.
- TOZZI, H. H. *Caracterização da mobilização das reservas das sementes do maracujá-amarelo (Passiflora edulis Sims f. flavicarpa O. Deg) durante a germinação*. 2010. 55 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2010.
- TRAPNELL, C.; PACHTER, L.; SALZBERG, S. L. TopHat: discovering splice junctions with RNA-Seq. *Bioinformatics*, Oxford, v. 25, n. 9, p. 1105–1111, 2009.
- TRZECIAK, M. B. *Formação de semente de soja: aspectos físicos, fisiológicos e bioquímicos*. 2012. 131 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz Queiroz”, Piracicaba, 2012.
- UENOJO, M.; MARÓSTICA JUNIOR, M. R.; PASTORE, G. M. Carotenóides: propriedades, aplicações e biotransformação para formação de Compostos de aroma. *Química Nova*, São Paulo, v. 30, n. 3, p. 616-622, 2007.
- VALKO, M.; LEIBFRITZ, A.; MONCOL, J.; CRONIN, M. T. D.; MAZUR, M.; TELSER, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, Amsterdam, n. 39, p. 44-84, 2007.
- VAN DER GREEF, J., STROOBANT, P., VAN DER HEIJDEN, R. The role of analytical sciences in medical systems biology. *Current Opinion in Chemical Biology*, London, v. 8, n. 5, p. 559-565, 2004.
- VASCONCELLOS, A. *Qualidade fisiológica de sementes de mamona e gergelim provenientes do consórcio*. 2012. 18 f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Agroecologia e Agropecuária) – Universidade Estadual da Paraíba, Lagoa Seca, 2012.

VASCONCELOS, P. C T. *Abordagem multi-ômica para identificação de marcadores de estresses abióticos em sementes e plântulas de Ricinus communis L.: fenotipagem integrada, perfil metabolômico e expressão de genes.* 2017. 230 f. Tese (Doutorado em Bioquímica e Biologia Molecular) Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2017.

VASCONCELOS, P. C T. *Desenvolvimento e germinação de sementes de mamona cv. Mpa 11: morfofisiologia e ciclo celular.* 2015. 88 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia), Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2015.

VIANT, M. R.; SOMMER, U. Mass spectrometry based environmental metabolomics: a primer and review. *Metabolomics*, New York, v. 9, n. S1, 144-158, 2012.

VILLAS-BÔAS, S.G., HØJER-PEDERSEN, J., AKESSON, M., SMEDSGAARD, J., NIELSEN, J. Global metabolite analysis of yeast: evaluation of sample preparation methods. *Yeast*, Chichester, v. 22, n. 14, p. 1155-1169, 2005.

WAHID, A.; GELANI, S.; ASHRAF, M.; FOOLAD, M. R. Heat tolerance in plants: an overview. *Environmental and Experimental Botany*, Amsterdam, v. 61, p. 199-223, 2007.

WALTERS, C. Understanding the mechanisms and kinetics of seed aging. *Seed Science Renault*, Cambridge, v. 8, p. 223-244, 1998.

WANG, Z.; GERSTEIN, M.; SNYDER, M. RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics. *Nature reviews. Genetics*, London, v. 10, n. 1, p. 57-63, 2009.

WOLFE-SIMON, F.; GRZEBYK, D.; SCHOFIELD, O. The role and evolution of superoxide dismutases in algae. *Phycological Society of America, Moss Landing*, v. 41, p. 453-465, 2005.

YAO, Z.; LIU, L.; GAO, F.; RAMPITSCH, C.; REINECKE, D. M.; OZGA, J. A.; AYELE, B. T. Developmental and seed aging mediated regulation of antioxidative genes and differential expression of proteins during pre- and post-germinative phases in pea. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, Campos dos Goytacazes, v. 169, p. 1477-1488, 2012.

YEBOAH, A.; YING, S.; LU, J.; XIE, Y.; AMOANIMAA-DEDE, H.; BOATENG, K. G. A.; CHEN, M.; YIN, X. Castor oil (*Ricinus communis*): a review on the chemical composition and physicochemical properties. *Food Science and Technology*, Campinas, p. 1-15, 2020.

ZUCARELI, C. *Teste de deterioração controlada para avaliação do vigor de sementes de milho (Zea mays L.)*. 2002. 111 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2002.

ZUCARELI, C.; CAVARIANI, C.; AUGUSTO, C.; SBRUSSI, G.; NAKAGAWA, J. Teste de deterioração controlada na avaliação do vigor de sementes de milho. *Revista Brasileira de Sementes*, Londrina, v. 33, n. 4, p. 732-742, 2011.

ZUCHI, J.; BEVILAQUA, G. A. P.; ZANUNCIO, J. C.; PESKE, S. T.; SILVA, S. D. A.; SEDIYAMA, C. S.; Characteristics of castor bean cultivars according to the environmental crop and sowing season in Rio Grande do Sul State, Brazil. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 40, n. 3, p. 501-506, 2010.

ZUCHI, J.; PANOZZO, L. E.; HEBERLE, E.; ARAÚJO, E.F. Curva de embebição e condutividade elétrica de sementes de mamona classificadas por tamanho. *Revista Brasileira de Sementes*, Londrina, v. 34, n. 3, p. 504-509, 2012.

Sobre os autores

Thamires Soares Ricardo Jesus

Universidade Federal da Bahia, Instituto de Ciências da Saúde, Departamento de Bioquímica e Biofísica, Laboratório de Bioquímica, Biotecnologia e Bioprodutos (LBBB/ICS/UFBA), Salvador (BA).

E-mail: thamires.s.r.jesus@gmail.com, <http://lattes.cnpq.br/3458550915427125>

Patrícia Campos Santos

Universidade Federal da Bahia, Instituto de Ciências da Saúde, Departamento de Bioquímica e Biofísica, Laboratório de Bioquímica, Biotecnologia e Bioprodutos (LBBB/ICS/UFBA), Salvador (BA).

E-mail: patricia.campos@ufba.br, psopmacs@gmail.com, <http://lattes.cnpq.br/4192658430990088>

Thales Guimarães Bezerra

Universidade Federal da Bahia, Instituto de Ciências da Saúde, Departamento de Bioquímica e Biofísica, Laboratório de Bioquímica, Biotecnologia e Bioprodutos (LBBB/ICS/UFBA), Salvador (BA).

E-mail: thalesguimaraes@live.com, <http://lattes.cnpq.br/2359072070702372>

Cristiane Dantas de Brito

Universidade Federal da Bahia, Instituto de Ciências da Saúde, Departamento de Bioquímica e Biofísica, Laboratório de Bioquímica, Biotecnologia e Bioprodutos (LBBB/ICS/UFBA), Salvador (BA).

E-mail: crisbrichta@gmail.com, <http://lattes.cnpq.br/4167308031183290>

Paulo Roberto Ribeiro de Jesus

Universidade Federal da Bahia, Instituto de Química, Departamento de Química Orgânica, Metabolomic Research Group, Laboratório de Bioquímica, Biotecnologia e Bioprodutos (LBBB/ICS/UFBA), Salvador (BA).

E-mail: pauloribeiro@ufba.br, <http://lattes.cnpq.br/2372350954162223>

Renato Delmondez de Castro

Universidade Federal da Bahia, Instituto de Ciências da Saúde, Departamento de Bioquímica e Biofísica, Laboratório de Bioquímica, Biotecnologia e Bioprodutos (LBBB/ICS/UFBA), Salvador (BA).

E-mail: renatodel@gmail.com, <http://lattes.cnpq.br/0945648805844128>

Henk Hilhorst

Wageningen University, Department of Plant and Physiology, Wageningen, Netherlands. E-mail: henk.hilhorst@wur.nl

Wilco Ligterink

Wageningen Seed Lab, Laboratory of Plant Physiology, Wageningen University, Wageningen, the Netherlands. E-mail: wilco.ligterink@keygene.com

Luzimar Gonzaga Fernandez

Universidade Federal da Bahia, Instituto de Ciências da Saúde, Departamento de Bioquímica e Biofísica, Laboratório de Bioquímica, Biotecnologia e Bioprodutos (LBBB/ICS/UFBA), Salvador (BA).

E-mail: luzimargonzaga@gmail.com, luzimar@ufba.br, <http://lattes.cnpq.br/5869970809916591>

Formato: 17 x 24 cm
Fontes: Futura Md BT, IowanOldSt BT
Extensão digital: PDF



Luzimar G. Fernandez é bióloga e química, doutora em Bioquímica na área de Biologia Molecular Estrutural, professora titular do Departamento de Bioquímica e Biofísica do Instituto de Ciências da Saúde da UFBA, atuando na orientação e no desenvolvimento de pesquisas em bioquímica e ciências ômicas, com espécies vegetais e suas aplicações, desde 2000.



Thamires Soares é bacharel em Biotecnologia, mestre e doutoranda em Bioquímica e Biologia Molecular pela UFBA.



Patrícia Campos é bióloga, especialista MBA em Auditoria e Gestão Ambiental e doutoranda em Biotecnologia de Recursos Naturais na UFBA.

Trata-se de uma compilação de publicações científicas com várias ilustrações, que deixam esta obra bem didática ao discutir de forma clara, mas com detalhamento e rigor científico, sobre os mecanismos biológicos, fisiológicos, bioquímicos e moleculares envolvidos na germinação, armazenamento, envelhecimento e estresse oxidativo em *R. communis*. O público-alvo são estudantes, professores e pesquisadores que trabalham com a planta e outras oleaginosas, e/ou tenham interesse nos temas abordados. O principal diferencial desta obra para as demais existentes é a abordagem multidisciplinar sobre os avanços científicos sobre sementes, metabolismo e estresse oxidativo em *R. communis*, apresentados pela primeira vez na forma de livro, mas que podem ser aplicados a outras plantas multiusos e adaptados ao semiárido.

ISBN 978-65-5630-234-8



9 786556 302348

