



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

PAULO DE CARVALHO TEIXEIRA VASCONCELOS

**DESENVOLVIMENTO E GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE
MAMONA CV. MPA 11: MORFOFISIOLOGIA E CICLO
CELULAR**

Salvador

2015

PAULO DE CARVALHO TEIXEIRA VASCONCELOS

**DESENVOLVIMENTO E GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE MAMONA
CV. MPA 11: MORFOFISIOLOGIA E CICLO CELULAR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia como requisito para obtenção do título de mestre em biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Renato Delmondez de Castro

Co-orientadora: Prof.^a Dr.^a Marta Bruno Loureiro

Salvador-BA

2015

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Universitária de
Saúde, SIBI - UFBA.

V331 Vasconcelos, Paulo de Carvalho Teixeira
Desenvolvimento e germinação de sementes de mamona cv.
MPA 11:morfofisiologia e ciclo celular / Paulo de Carvalho Teixeira
Vasconcelos. – Salvador, 2014.
84 f.

Orientador: Prof. Dr. Renato Delmodez de Castro.

Co-orientador: Prof^a. Dr^a. Marta Bruno Loureiro.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Bahia.
Instituto de Ciências da Saúde, 2014.

1.Biotecnologia.2.Biodiesel.3. Mamona - germinação.4. Regiões
áridas. I. Castro, Renato Delmondez de. II Loureiro, Marta Bruno. III
Universidade Federal da Bahia. Instituto de Ciências da Saúde.IV.
Título.

CDU- 60


PAULO DE CARVALHO TEIXEIRA VASCONCELOS

**ANÁLISE FUNCIONAL DO DESENVOLVIMENTO DE
SEMENTES DE MAMONA (*Ricinus communis* L.): ASPECTOS
FISIOLÓGICOS E CITOLÓGICOS**


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

Aprovada em 24 de julho de 2014.

BANCA EXAMINADORA:

Renato Delmondez de Castro – Orientador 
Doutor em Fitotecnia / Fisiologia Molecular Vegetal pela Wageningen University And Research Center, WUR, Holanda.
Universidade Federal da Bahia

Rafael da Conceição Simões 
Doutor em Bioquímica pela Universidade Federal do Ceará, UFC, Brasil.
Universidade Federal da Bahia.

Renata Silva-Mann 
Doutora em Agronomia / Fitotecnia pela Universidade Federal de Lavras, UFLA, Brasil.
Universidade Federal de Sergipe.

A minha mãe Katia Terra Teixeira (*in memoriam*)

Agradecimentos

A Deus nosso Pai e Jesus Cristo nosso Mestre.

A minha família e amigos.

Ao professor Dr. Renato Delmodez de Castro meu orientador.

A professora Dra. Marta Bruno Loureiro minha co-orientadora.

A professora Dra. Luzimar Gonzaga Fernandez coordenadora do Laboratório de Bioquímica, Biotecnologia e Bioprodutos.

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

Aos professores do mestrado em Biotecnologia da UFBA.

A CAPES por financiar minha bolsa e a PETROBRAS pelo suporte financeiro ao meu projeto de dissertação.

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

A arte da humildade é um exercício do espírito
Que amplia o sentimento do amor
Viver para aprender e prosperar é um prestígio
Que alivia o sentimento da dor
Chorão – Charlie Brown Jr. (2007)

VASCONCELOS, Paulo de Carvalho Teixeira. Desenvolvimento e germinação de sementes de mamona cv. MPA 11: morfofisiologia e ciclo celular. 85 f. il. 2014. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2014.

Resumo

A mamoneira (*Ricinus communis* L.) é uma espécie que apresenta destaque no cenário das oleaginosas, principalmente pela composição química e qualidade do óleo extraído de suas sementes como fonte de matéria prima para a produção de biodiesel. Além das vantagens de ser uma cultura de fácil manejo, e com ampla faixa de adaptação e tolerância podendo ser cultivada em ambientes desfavoráveis e baixos custos de produção. Devido a estes fatores, criaram-se incentivos e perspectivas de expansão do seu cultivo pela agricultura familiar no semiárido nordestino, região caracterizada pela escassez de chuvas e frequentes secas. O objetivo deste trabalho consistiu em caracterizar o processo de formação da semente de Mamona da cultivar MPA 11 e analisar funcionalmente os eventos do ciclo celular e eventos fisiológicos durante o desenvolvimento e maturação das sementes, bem como durante a germinação das sementes embebidas sob condições de restrição hídrica por meio de osmocondicionamento. Como material biológico foi utilizado sementes do cultivar MPA11 produzida pela Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola (EBDA) cultivadas na Fazenda Experimental da UFBA (São Gonçalo dos Campos-BA). Foram realizadas visitas semanais para colheita de frutos a cada sete dias até o 63^o dia após a marcação (DAM), os quais passaram por análises biométricas, sendo medidos largura e comprimento de frutos; largura, comprimento e espessura de sementes, teor de umidade e conteúdo de matéria seca das sementes. As sementes colhidas aos 63 DAM foram submetidas à secagem e osmocondicionamento, e subsequente teste de germinação, conduzido em quatro repetições de 25 sementes por tratamento, sendo o delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial de 2 x 2. Para o estudo do ciclo celular durante o desenvolvimento foram utilizados embriões de sementes com 28, 35, 42, 49, 56 e 63 DAM para análise de conteúdo de DNA por citometria de fluxo, tubulina por western blotting e microtúbulos por microscopia de imunofluorescência. Para estudo do ciclo celular durante a germinação, foram extraídos os eixos embrionários nos períodos de 0, 24, 48, 72 e 96 h das sementes embebidas em água, sendo realizadas análises de tubulina e microtúbulos. A cultivar MPA11 apresenta ciclo precoce, com suas sementes alcançando a maturidade fisiológica aos 35 DAM estando às mesmas maduras aos 56 DAM, sendo esta uma variedade promissora para o semiárido nordestino. Para os tratamentos de secagem aplicados às sementes maduras, não houve diferenças significativas. No entanto, o osmocondicionamento permitiu às sementes iniciar etapas do processo de germinação, o que melhorou a velocidade de germinação após embebição em água. Neste estudo, um modelo de desenvolvimento e germinação de sementes de mamona da cultivar MPA11 da EBDA é proposto, o que representa um avanço na compreensão do desenvolvimento e germinação de sementes de mamona.

Palavras-chave: semiárido, biosiesel, maturação fisiologia, osmocondicionamento.

VASCONCELOS, Paulo de Carvalho Teixeira. Development and germination of castor bean seeds cv. MPA 11: morphophysiology and cell cycle. 85 pp. ill. 2014. Master Dissertation – Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2014.

Abstract

The castor bean (*Ricinus communis* L.) is a species that has featured in the scenario of oilseeds, mainly by the chemical composition and quality of the oil extracted from its seeds as a source of raw material for the production of biodiesel. Besides the advantages of being a culture of easy handling and wide range of adaptation and tolerance can be grown on low costs and unfavorable production environments. Due to these factors, it created incentives and opportunities for expansion of its cultivation on family farms in the northeastern semi-arid region characterized by low rainfall and frequent droughts. The aim of this study was to characterize the process of formation of Castor seed cultivar MPA11 and functionally analyze the cell cycle events and physiological events during development and maturation of seeds and during germination of seeds soaked under constraint conditions water through priming. As biological material MPA11 seeds of cultivar produced by the Bahia Agricultural Development Company (EBDA) grown at the Experimental Farm UFBA (São Gonçalo dos Campos-BA) were used. Weekly visits to harvest fruit were taken every seven days until the 63th day after (DAM) marking, which passed through biometric analysis, being measured width and fruit length; width, length and thickness of seed moisture content and dry matter content of the seeds. Seeds harvested at 63 DAM were dried and priming, and subsequent germination test conducted in four replicates of 25 seeds per treatment, the completely randomized design in a factorial 2 x 2 To study the cell cycle during developing embryos of seeds with 28, 35, 42, 49, 56 and 63 DMA analysis of DNA content by flow cytometry, western blotting for tubulin and microtubules by immunofluorescence microscopy. To study the cell cycle during germination the embryonic axes to periods of 0, 24, 48, 72 and 96 h of seeds soaked in water, the analysis being performed tubulin and microtubules were extracted. Cultivar MPA11 presents early cycle with its seeds reach physiological maturity at 35 to being mature same at 56 DAM, which is a promising variety for the semi-arid northeast. For the drying treatments applied to mature seeds, there were no significant differences. However, osmopriming allowed the seeds start germinating stages of the process, which improved the germination rate after soaking in water. In this study, a model of development and germination of castor bean cultivar MPA11 EBDA is proposed, representing a breakthrough in understanding the development and germination of castor seeds.

Keywords: semiarid, seedlings, stress tolerance.

LISTA DE FIGURAS

Nº	Legenda	Pág
Figura 01	- Mapa da região nordeste brasileira com o semiárido em destaque.	22
Figura 02	- Inflorescência da mamona, <i>Ricinus communis</i> L., cultivar MPA 11: Detalhe do racemo com botões masculinos abertos e botões femininos já fecundados.	26
Figura 03	- Desenvolvimento e germinação de sementes ortodoxas. Um esquema geral de eventos associados com as diferentes fases de desenvolvimento, germinação e crescimento pós-germinativo de sementes, incluindo ciclo celular, eventos metabólicos, mudanças no peso fresco, no peso seco e no conteúdo de água de sementes inteiras.	30
Figura 04	- Padrão trifásico da curva de embebição de sementes ortodoxas.	34
Figura 05	- Ensaio de espaçamento em mamona (<i>Ricinus communis</i> L.) conduzido na Fazenda Experimental da UFBA, São Gonçalo dos Campos-BA, 2012.	40
Figura 06	- Sementes de mamona (<i>Ricinus communis</i> L.) variedade MPA11 da Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola (EBDA)	41
Figura 07	- Montagem do tratamento de osmocondicionamento e do teste de germinação. (A) Carúnculas retiradas após a desinfestação. (B) Sementes dispostas uniformemente e substrato sendo umedecido. (C) Caixas dispostas no interior da câmara de germinação (D) Troca do substrato e solução de trabalho.	43
Figura 08	- Coleta de embriões para análises citológicas. (A) Excisão do embrião. (B) Acondicionamento do embrião para análise imunocitoquímica.	45
Figura 09	- Esquema ilustrativo da montagem do sanduiche da eletrotransferência.	49
Figura 10	- Inflorescência de mamona (<i>Ricinus communis</i> L.) cultivar MPA11. A) Inflorescência destacando as brácteas e folha. B) Inflorescência após 7 dias, destacando os estigmas avermelhado.	53
Figura 11	- Gráfico representativo dos valores médios da largura e comprimento de frutos de mamona (<i>Ricinus communis</i> L.) cultivar MPA11, durante o desenvolvimento. Barra com mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, $p \leq 0,05$. Milímetros (mm)	54
Figura 12	- Frutos de mamona (<i>Ricinus communis</i> L.) cultivar MPA11. (A) Corte transversal de fruto e sementes com 7 dias após a marcação (DAM) com amplificação de 2x .0,8x; (B) Corte transversal de	55

fruto e sementes com 21 DAM; (C) Corte transversal de fruto e sementes com 35 DAM; (D) Fruto com 56 DAM. Nuc. = Nucela; Teg. = Tegumento; End. = Endosperma; Cot. = Cotilédone.

- Figura 13** - Gráfico representativo dos valores médios da largura, comprimento e espessura de sementes de mamona (*Ricinus communis* L.) cultivar MPA11 durante o desenvolvimento. Barra com mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, $p \leq 0,05$. Milímetros (mm) **56**
- Figura 14** - Embrião de sementes de mamona (*Ricinus communis* L.) cultivar MPA11 em diferentes estágios do desenvolvimento. (A) 21 dias após a marcação (DAM) amplificação de 4,5x, embrião em estágio torpedo; (B) 28 DAM amplificação de 0,65x; (C) 35 DAM amplificação de 0,65x). Cot. = Cotilédone. Eix. = Eixo embrionário. **56**
- Figura 15** - Matéria seca (g) e teor de umidade (%) em sementes de mamona (*Ricinus communis* L.) cultivar MPA11, durante o desenvolvimento. Colunas com mesma letra maiúscula e pontos com mesma letra minúscula não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, $p \leq 0,05$. Grama (g) e Porcentagem (%) **57**
- Figura 16** - Sementes de mamona (*Ricinus communis* L.) cultivar MPA11. (A) Corte sagital de semente com 7 dias após a marcação (DAM) amplificação 2x . 1,25x; (B) Corte sagital de semente com 14 DAM; (C) Corte longitudinal de semente com 21 DAM amplificação 0,65x; (D) Corte longitudinal de semente com 35 DAM amplificação 0,65x. Nuc. = Nucela; Teg. = Tegumento; End. = Endosperma; Cot. = Cotilédone; Car. = Caruncula; Emb. = Embrião. Eix. = Eixo embrionário. **58**
- Figura 17** - Porcentagem (%) de núcleos 4C em radículas de sementes de mamona (*Ricinus communis* L.) cultivar MPA11, durante o desenvolvimento. Colunas com mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, $p \leq 0,05$. **59**
- Figura 18** - Ciclo célula em radículas extraídas de sementes de mamona (*Ricinus communis* L.) cultivar MPA11, durante o desenvolvimento. (A) Fotomicrografias representativas do citoesqueleto microtubular. Setas indicam microtúbulos. (B) Acúmulo de β -tubulina (P – Tubulina padrão, 30 ng). 28d: 28 dias após a marcação (DAM); 35d: 35 DAM; 42d: 42 DAM; 49d: 49 DAM; 56d: 56 DAM; 63d: 63 DAM. **61**
- Figura 19** - Pigmentação do tegumento de sementes de mamona (*Ricinus communis* L.) cultivar MPA11. (A) Semente com 7 dias após a marcação (DAM) amplificação 0,65x; (B) Semente com 14 DAM amplificação 0,65x; (C) Semente com 21 DAM amplificação 0,65x; (D) Semente com 28 DAM amplificação 0,65x; (E) Semente com 35 DAM amplificação 0,65x; (F) Semente com 49 **62**

DAM amplificação 0,65x.

- Figura 20** - Germinação e tempo de embebição em sementes de mamona (*Ricinus communis* L.) cultivar MPA11 com 63 dias após a marcação, submetidas aos tratamentos de secagem e osmocondicionamento. Linha tracejada em vermelho indica o Tempo para 50% da germinação total (T50). **66**
- Figura 21** - Fotomicrografias representativas do citoesqueleto microtubular e acúmulo de β -tubulina em radículas de sementes de mamona (*Ricinus communis* L.) cultivar MPA11 com 63 dias após a marcação, submetidas aos tratamentos fresca não osmocondicionada (FNO), frescas osmocondicionadas (FO), secas não osmocondicionadas (SNO) e secas osmocondicionadas (SO). A) Citoesqueleto microtubular B) FNO e SNO (1– Tubulina padrão 30 ng; 2 – 0h; 3 – 24h; 4 – 48h; 5 – 72h; 6 – 96h). C) FO e SO (7 – 0h; 8 – 24h; 9 – 48h; 10 – 72h; 11 – 96h). **67**
- Figura 22** - Sementes de mamona (*Ricinus communis* L.) cultivar MPA11: modelo funcional do desenvolvimento e germinação de sementes com 63 dias após a marcação, submetidas ao osmocondicionamento. **69**

LISTA DE TABELAS

Nº	Legenda	Pág
Tabela 01	Porcentagem dos componentes do óleo de sementes de mamona	26
Tabela 02	- Porcentagem dos componentes da torta de mamona	27
Tabela 03	- Coeficiente de correlação de Pearson (ρ) entre o teor de umidade e as variáveis de morfometria de frutos e sementes, e matéria seca de sementes de mamona (<i>Ricinus communis</i> L.) cultivar MPA11.	57
Tabela 04	- Médias da porcentagem de germinação (G), tempo para 50% da germinação total (T50), tempo médio de germinação (TMG), uniformidade (U8416) e área abaixo da curva (AAC), em sementes de mamona (<i>Ricinus communis</i> L.) cultivar MPA11 com 63 dias após a marcação, sementes frescas e secas. C.V.: Coeficiente de Variação	64
Tabela 05	- Médias da porcentagem de germinação (G), tempo para 50% da germinação total (T50), tempo médio de germinação (TMG), uniformidade (U8416) e área abaixo da curva (AAC), em sementes de mamona (<i>Ricinus communis</i> L.) cultivar MPA11 com 63 dias após a marcação, sementes e osmocondicionadas e não osmocondicionadas com solução de polietilenoglicol PEG 8000. C.V.: Coeficiente de Variação	65
Tabela 06	- Médias da porcentagem de germinação (G), tempo para 50% da germinação total (T50), tempo médio de germinação (TMG), uniformidade (U8416) e área abaixo da curva (AAC), em sementes de mamona (<i>Ricinus communis</i> L.) cultivar MPA11 com 63 dias após a marcação, submetidas aos tratamentos fresca não osmocondicionada (FNO), frescas osmocondicionadas (FO), secas não osmocondicionadas (SNO) e secas osmocondicionadas (SO). C.V.: Coeficiente de Variação	65

LISTA DE ANEXOS

Nº	Legenda	Pág
Anexo 01	Gráficos representativos dos dados meteorológicos na microrregião de Feira de Santana durante o período de 01/07/2012 a 31/2/2012. A) Precipitação (mm). B) Temperatura (°C). C) Temperatura de ponto de orvalho (°C).	81
Anexo 02	- Gráficos representativos dos dados meteorológicos na microrregião de Feira de Santana durante o período de 01/07/2012 a 31/2/2012. A) Umidade (%). B) Velocidade do vento (m/s). C) Direção do vento (grau).	81

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A	Alfa
B	Beta
Γ	Gama
%	Porcentagem
°C	Graus Célsius
±	Mais ou menos
AAC	Área abaixo da curva
ANP	Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis
BMM	Butilmetilmetacrilato
BDMG	Banco de Desenvolvimento de Minas Gerais
BSA	Albumina de soro bovino
BSA_c	BSA acetilado
CEDRS/BA	Conselho Estadual de Desenvolvimento Rural Sustentável da Bahia
Cm	Centímetro
CNPE	Conselho Nacional de Política Energética
Cv	Cultivar
DAM	Dias após a marcação
DMSO	Dimetil sulfóxido
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DTT	Ditiotreitol
EBDA	Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola
EGTA	Ácido tetra-acético de etileno glicol
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FNO	Frescas não osmocondicionadas
FO	Frescas osmocondicionadas
G	Grama
G (%)	Porcentagem de germinação
H	Hora
HAH	Cloridrato de hidroxilamina
HCl	Ácido clorídrico
H₂O	Água

IAC	Instituto Agronômico de Campinas
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICS	Instituto de Ciências da Saúde
IgG	Imunoglobulina G
INMET	Instituto Nacional de Meteorológica
INSA	Instituto Nacional do Semiárido
K	Potássio
kDa	Quilo Dalton
Km	Quilometro
LBBB	Laboratório de Bioquímica, Biotecnologia e Bioprodutos
mA	Miliampère
MDA	Ministério do Desenvolvimento Agrário
MgSO₄.7H₂O	Sulfato de magnésio hepta hidratado
MG	Miligrama
µg	Micrograma
µL	Microlitro
mL	Mililitro
MME	Ministério de Minas e Energia
Mod.	Modelo
MPA	Mamoneira de porte alto
MPB	Mamoneira de porte baixo
MSB	Tampão estabilizador de microtubulos
MSP	Massa seca de plântulas
mRNA	RNA mensageiro
N	Nitrogênio
Nm	Nanômetro
P	Fósforo
<i>P</i>	Coeficiente de correlação de Pearson
PBIO	Petrobras Biocombustível
PBS	Tampão fosfato salino
PEG	Polietilenoglicol
PEG 8000	Polietilenoglicol 8000
PFA	Paraformaldeído

pH	Potencial de hidrogênio
PIB	Produto Interno Bruto
PIPES	Ácido 1,4-Piperazinediethanesulfonic
PNPB	Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel
PVDF	Difluoreto de polivinilidina
PRONAF	Programa Nacional da Agricultura Familiar
RNA	Ácido ribonucleico
RNAse	Enzima que degrada RNA
RPM	Rotações por minuto
SDS	Dodecil-sulfato de sódio
SDS-PAGE	Eletroforese em gel de poliacrilamida na presença de SDS
SEAGRI	Secretaria de Agricultura, Irrigação e Reforma Agrária do estado da Bahia
SNO	Secas não osmocondicionadas
SO	Secas osmocondicionadas
SUAF	Superintendência de Agricultura Familiar
SUDENE	Superintendência do Desenvolvimento do Nordeste
T50	Tempo para 50% da germinação total
TBST	Tampão tris salino contendo Tween 20
TMG	Tempo médio de germinação
u8416	Uniformidade entre 84 e 16% de sementes germinadas
u8020	Uniformidade entre 80 e 20% de sementes germinadas
u7525	Uniformidade entre 75 e 25% de sementes germinadas
UFBA	Universidade Federal da Bahia

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABELAS	xi
LISTA DE ANEXOS	xii
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	xiii
1. INTRODUÇÃO	18
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	21
2.1. Semiárido brasileiro	21
2.2. Agricultura familiar e biodiesel no estado da Bahia	22
2.3. Mamona (<i>Ricinus communis</i> L.)	24
2.4. Fases do desenvolvimento de sementes	29
2.5. Tratamento Pós-colheita (Secagem)	32
2.6. Germinação de sementes	33
2.7. Tratamentos pré-semeadura (Osmocondicionamento)	35
2.8. Reativação do ciclo celular	37
3. OBJETIVOS	39
3.1. Objetivo geral	39
3.2. Objetivos específicos	39
4. MATERIAIS E MÉTODOS	39
4.1. Caracterização da área de plantio	39
4.2. Amostra biológica	40
4.2.1. Coleta	40
4.2.2. Morfometria de frutos e sementes	41
4.3. Tratamentos Pós-colheita e Pré-germinativo em sementes com 63 DAM	42
4.3.1. Secagem e Teor de umidade	42
4.3.2. Osmocondicionamento	42
4.4. Teste de germinação	43
4.5. Estudo do ciclo celular	44
4.5.1. Extração de radículas	44
4.5.2. Análise Imunocitoquímica	45

4.5.3.	Detecção da β -tubulina	47
4.5.3.1.	Extração de proteína	47
4.5.3.2.	Quantificação de proteínas	48
4.5.3.3.	SDS-PAGE	48
4.5.3.4.	Eletrotransferência (western blotting)	49
4.5.3.5.	Detecção quimioluminescente de β -Tubulina	50
4.5.4.	Citometria de Fluxo	50
4.6.	Análises estatísticas	51
4.6.1.	Análises estatísticas do desenvolvimento	51
4.6.2.	Análises estatísticas da germinação	51
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
6.	CONCLUSÃO	69
7.	REFERÊNCIAS	70
8.	ANEXOS	84

1. INTRODUÇÃO

A região semiárida do nordeste brasileiro é caracterizada pelas frequentes secas ocasionadas pela escassez de chuva, tornando difícil a vida das populações locais, que se baseiam na agricultura familiar como principal fonte de sustento (SUDENE, 2014).

Dentre as espécies cultivadas pela agricultura familiar na região, a mamoneira (*Ricinus communis* L.) destaca-se como oleaginosa pela composição química e qualidade do óleo extraído de suas sementes, o qual é altamente valorizado para a indústria ricinoquímica, o que contribuiu para que o semiárido se tornasse a principal região produtora de mamona no Brasil (CHAN et al., 2010; RIBEIRO et al., 2014b). Alternativamente, o alto teor de óleo e a importância socioeconômica regional justificou a indicação da mamona como uma das principais fontes de matéria prima potencial para a fabricação de biodiesel.

Alem de contribuir para a diminuição da emissão de gases de efeito estufa com substituição parcial de combustíveis fósseis, a mamona apresenta como vantagens à produção de biocombustível; apresentar ampla faixa de adaptação podendo ser cultivada em ambientes desfavoráveis, ser de fácil manejo e baixos custos de produção. Devido a todos estes fatores, foram criados incentivos e perspectivas pelo Programa Nacional de produção e Uso de Biodiesel (PNPB) para a expansão e valorização do cultivo da mamona pela agricultura familiar no semiárido nordestino, de modo a favorecer a geração de renda e o desenvolvimento socioeconômico na região (BELTRÃO et al, 2003; BELTRÃO et al., 2005; EMBRAPA, 2010; PEREA-FLORES et al, 2011; BRUM et al, 2011; NOBRE et al, 2012; MADANKAR et al, 2013; RIBEIRO et al., 2014a).

A Índia, China, Brasil e Moçambique são os maiores produtores de sementes de mamona (96% da produção mundial), onde o cultivo é tradicionalmente feito por pequenos agricultores, fazendo uso de variedades de baixo rendimento e colheita manual. O avanço no uso da espécie para fabricação de biocombustível vem sendo limitado pelo déficit no fornecimento da matéria-prima (pouco confiável), e não pela demanda industrial. Sendo que o aumento da produção de mamona pode ser obtido com o uso de variedades e híbridos com maior potencial genético e um melhor manejo da cultura, porém a criação de novos genótipos de alto rendimento depende de um conhecimento mais profundo sobre desenvolvimento e germinação de sementes (OPENSHAW, 2000; CHAN, 2010; BERMAN et al, 2011; SEVERINO et al., 2012; RAMANJANEYULU et al, 2013; CAMPBELL et al., 2014).

A obtenção de híbridos com o desempenho superior a suas linhagens parentais é denominada de heterose, que pode ser alcançada pelo cruzamento de linhagens que possuem

boa capacidade combinatória. Através da heterose é possível melhorar vários aspectos agronômicos que estão relacionados ao aumento de rendimento, sendo esta mais observada em plantas adultas, onde geralmente são analisados parâmetros como; aumento do tamanho da planta, frutificação, velocidade de desenvolvimento, resistência a doenças e pragas de insetos e resistência a estresses climáticos. No entanto, o aumento do vigor já se manifesta durante o desenvolvimento da semente, a germinação e a fase inicial do desenvolvimento da plântula, sendo observadas melhoras na massa seca e fresca das sementes e comprimento das plântulas (GOMES et al., 2000; HOECKER et al., 2006).

O ciclo de vida em plantas superiores e lavouras comerciais compreende o desenvolvimento da semente seguido da germinação e desenvolvimento pós-germinativo. Estas etapas são marcadas por eventos citológicos e fisiológicos associados à qualidade da semente. Apesar de a mamona ser muito investigada sob o ponto de vista da produção vegetal como lavoura, ainda é necessário um melhor entendimento dos aspectos citológicos e fisiológicos que governam o desenvolvimento das suas sementes com vistas à qualidade bioquímica e fisiológica para fins de propágulo (germinação e vigor) e bioproduto (commodity) (BEWLEY & BLACK, 1994; TAIZ & ZEIGER, 2009).

A qualidade das sementes pode ser definida como a soma de atributos genéticos, físicos, fisiológicos e bioquímicos que afetam a capacidade das sementes para realizar as funções vitais, estando relacionada à germinação, vigor e longevidade, sendo a qualidade fisiológica baseada no genótipo. Apesar dos efeitos climáticos sobre a qualidade das sementes, o potencial máximo de qualidade, como a germinação, emergência e vigor, podem ser controlados geneticamente (NERLING, 2013).

A fase de desenvolvimento de sementes pode ser dividida em três estádios distintos: a Fase I é a histodiferenciação, marcada pela formação dos tecidos e órgãos da semente (embrião e endosperma) ocorrendo intensas divisões celulares, sendo as sementes mais sensíveis ao ambiente durante essa fase, pois o número de células formadas vai definir a taxa de acúmulo de reservas na fase posterior; a Fase II é a morfogênese, na qual ocorre crescimento do embrião por expansão celular e depósito de nutrientes de reserva no embrião e endosperma, alcançando ponto de maturidade fisiológica; o qual em geral culmina ou é sucedida pela maturação final, definida como a Fase III, na qual ocorre interrupção do desenvolvimento, a supressão da germinação precoce, aquisição de tolerância à dessecação, dessecação e quiescência metabólica, podendo haver indução de dormência (DE CASTRO & HILHORST, 2000; MUNIER-JOLAIN et al., 2008; SEVERINO & AULD, 2013b).

A dessecação ou secagem das sementes pode influenciar na qualidade e capacidade de germinação, em virtude da transição do metabolismo do desenvolvimento em preparo para o metabolismo da germinação; e, subsequente, crescimento e desenvolvimento pós-germinativo (ADAMS & RINNE, 1981; LONG et al., 1981, KERMODE et al., 1985; PRESSEL et al., 2006).

Na germinação ocorre à reativação metabólica e morfo genética da semente a partir da reabsorção de água, sendo o crescimento do embrião dependente dos processos de expansão e divisão celular (VILLELA, 2001; DE CASTRO & HILHORST, 2006). A uniformidade na germinação é um parâmetro almejado em cultivos agrícolas, o que pode ser alcançado por meio de tratamentos pré-germinativos, visando uniformizar o estande, o crescimento e o desenvolvimento da lavoura, e posteriormente facilitar e otimizar a colheita e a comercialização (VARIER et al., 2010; CHEN & ARORA, 2013).

O osmocondicionamento constitui um tipo de tratamento pré-germinativo por meio da embebição controlada (restrição hídrica) das sementes, podendo proporcionar melhorias quanto a quebra de dormência, germinabilidade e emergência em campo, aliado ao aumento da tolerância a estresses (abióticos e bióticos) na fase de estabelecimento da lavoura. O osmocondicionamento ou condicionamento osmótico constitui-se na pré-embebição das sementes em soluções aquosas com partículas sólidas, como mecanismo de controle da absorção de água pela semente, reduzindo-se a taxa e o volume de água absorvida, o que permite reestruturação das membranas e a possibilidade dos tecidos celulares se desenvolverem mais ordenadamente, contribuindo para a uniformização do processo germinativo (REDDY & MATCHA, 2010; VARIER et al., 2010; CHEN & ARORA, 2013).

As análises de mecanismos de controle do ciclo celular, que acontecem durante o desenvolvimento e germinação de sementes, têm contribuído significativamente com evidências sobre os programas regulatórios que controlam ambas as fases do desenvolvimento das plantas superiores (DE CASTRO et al., 2001). Portanto, é importante o estudo por meio de técnicas que permitam a obtenção de resultados consistentes em níveis fisiológico e citológico, a fim de se compreender melhor os mecanismos de desenvolvimento e germinação e estabelecer estratégias adequadas para o melhor desenvolvimento, qualidade e produtividade de sementes de mamona.

Desta maneira, tornam-se importantes o desenvolvimento de estudos com caráter investigatório sobre as sementes, podendo estes gerar subsídios para o melhor entendimento de seu comportamento, possibilitando um melhor aproveitamento das sementes de mamona.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Semiárido brasileiro

O Semiárido brasileiro apresenta um clima semiárido tropical e uma rica diversidade biológica, com espécies adaptadas a condições edafoclimáticas locais, onde há restrição hídrica, tendo em vista que esta região é conhecida principalmente devido a seca que a atinge (INSA, 2014).

Segundo dados da SUDENE (2014) as precipitações médias anuais da região variam entre 500 e 800 mm, com as chuvas mal distribuídas no tempo. O que realmente caracteriza uma seca não é o baixo volume de chuvas e sim a sua má distribuição ao longo do tempo.

A proximidade da linha do Equador é um fator natural que tem influência marcante nas características climáticas do semiárido. As baixas latitudes condicionam à região temperaturas elevadas (médias anual de 26° C), número também elevado de horas de sol por ano (estimado em cerca de 3.000 h/ano) e índices acentuados de evapotranspiração, devido à incidência perpendicular dos raios solares sobre a superfície do solo, evapotranspirando, em média, cerca de 2.000 mm/ano, e em algumas regiões a evapotranspiração pode atingir cerca de 7 mm/dia. O principal ecossistema é o da Caatinga, com solo, em sua maioria, areno-argiloso, e a presença de rios temporários com vegetação xerófita aberta, de aspecto agressivo devido à abundância de cactáceas colunares e, também, pela frequência dos arbustos e árvores com espinhos, o que distingue fisionomicamente essa região (FUNDAJ, 2014).

O semiárido ocupa 57,53% da área do nordeste, estando presente nos nove estados nordestinos (Maranhão, Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe e Bahia) e no norte do estado de Minas Gerais, abrange 1.133 municípios (Figura 01), e abriga 40,54% da população da região nordeste, sendo responsável ainda por aproximadamente 21,6% do Produto Interno Bruto (PIB) da região. Sendo esta uma das regiões com o menor PIB do país, com altos índices de analfabetismo, e com a agricultura e pecuária como principal fonte de renda, sobretudo a agricultura familiar. Na Bahia o semiárido ocupa 68,7% do território, da região norte a centro-sul do estado, abrangendo 265 municípios compreendendo uma área de 388.274 Km² (DE CARVALHO et al., 2010; IBGE, 2010; SUDENE, 2014; FUNDAJ, 2014).

Figura 01 - Mapa da região nordeste brasileira com o Semiárido em destaque.



Fonte: www.bnb.gov.br

2.2. Agricultura familiar e biodiesel no estado da Bahia

O primeiro plano nacional voltado para o incentivo da agricultura familiar no Brasil foi o Programa Nacional da Agricultura Familiar (PRONAF), que surgiu em 1996, como resultado da luta dos trabalhadores rurais por uma política pública específica e diferenciada, que fosse realmente voltada para a agricultura familiar (CARVALHO et al., 2011).

Em abril de 2002, foi criado o Fundo Garantia Safra, este vinculado ao Ministério do Desenvolvimento Agrário e instituiu o Benefício Garantia Safra com o objetivo de garantir condições mínimas de sobrevivência aos agricultores familiares de municípios sistematicamente sujeitos a perda de safra, situados na área de atuação da Superintendência do Desenvolvimento do Nordeste (SUDENE). Desde o ano de 2007 a Secretaria de Agricultura, Irrigação e Reforma Agrária do estado da Bahia (SEAGRI), através da Superintendência de Agricultura Familiar (SUAF) e da Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola (EBDA) coordenam um conjunto de ações articuladas, levando a um aumento da adesão das Prefeituras municipais e Agricultores familiares ao Fundo Garantia Safra (SEAGRI, 2014b).

No início de 2014, o Conselho Estadual de Desenvolvimento Rural Sustentável da Bahia (CEDRS/BA), assegurou a liberação de verba no valor de R\$ 24 milhões para ser aplicada em projetos de apoio e fortalecimento da agricultura familiar no estado. A ação visa atender aos compromissos assumidos pelo governo estadual, direcionados ao segmento que congrega 665 mil famílias, sendo a Bahia o estado com maior representatividade de estabelecimentos rurais da agricultura familiar (SEAGRI, 2014a).

Em dezembro de 2004, o governo lançou o Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNPB), com o objetivo de introduzir o biodiesel na matriz energética brasileira, promovendo a inclusão social e o desenvolvimento regional. Para tanto, foram desenvolvidos mecanismos para inclusão da agricultura familiar, fundamentado no Selo Combustível Social, por sua vez pautado por diretrizes claras de política de inclusão social; aproveitamento das oleaginosas de acordo com as diversidades regionais; segurança de abastecimento para o novo combustível; garantia de qualidade para o consumidor; e busca da competitividade frente ao diesel de petróleo.

O Selo Combustível Social é concedido pelo Ministério do Desenvolvimento Agrário, sendo este um certificado concedido aos produtores de biodiesel que adquirem percentuais mínimos de matéria prima de agricultores familiares; celebrem contratos com os agricultores familiares, estabelecendo prazos e condições de entrega da matéria-prima; e prestem assistência técnica aos agricultores. As empresas detentoras do Selo Combustível Social podem ter redução parcial ou total de tributos federais, conforme definido no modelo tributário aplicável ao biodiesel. Essas empresas possuem acesso a melhores condições de financiamento, além de poderem concorrer a 80% do volume total negociado nos leilões de biodiesel (MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA, 2014).

A mistura de biodiesel ao diesel fóssil teve início em dezembro de 2004, em caráter autorizativo. Em janeiro de 2008, entrou em vigor a mistura legalmente obrigatória de 2%, em todo o território nacional. Com o perceptível amadurecimento do mercado brasileiro, esse percentual foi ampliado pelo Conselho Nacional de Política Energética (CNPE) sucessivamente até atingir 5% em janeiro de 2010, antecipando em três anos a meta estabelecida pela Lei nº 11.097, de 13 de janeiro de 2005 (MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA, 2014). Em maio de 2014, foi determinado o aumento da mistura de 5% para 6% a partir de 1º de julho de 2014 e de 6% para 7% a partir de 1º novembro de 2014 (RODRIGUES & MOURA, 2014).

Destaca-se também a rápida evolução da capacidade industrial de produção de biodiesel. No final de 2011, 56 unidades estavam autorizadas a produzir e a comercializar o biocombustível, com uma capacidade nominal total de 6 bilhões de litros/ano. Desde o lançamento do PNPB até o final de 2011, o Brasil produziu 8,3 bilhões de litros de biodiesel, reduziram as importações de diesel em um montante de 5,3 bilhões de dólares, contribuindo positivamente para a Balança Comercial brasileira. A participação de pequenos agricultores também é relevante. Dessa capacidade industrial, cerca de 78% (4,7 bilhões de litros/ano) são

provenientes de usinas detentoras do Selo Combustível Social, um certificado fornecido pelo governo às unidades produtoras que atendem aos requisitos de inclusão da agricultura familiar na cadeia produtiva do biodiesel (MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA, 2014).

Regularmente, o biodiesel é vendido misturado ao diesel de petróleo em mais de 30 mil postos de abastecimento espalhados pelo país. Vários indicadores confirmam o sucesso do PNPB. Com relação à produção desse tipo de biocombustível, saltou de 69 milhões de litros em 2006 para 2,7 bilhões de litros em 2011. Esse resultado credencia o Brasil como um dos maiores no mercado mundial de biodiesel, juntamente com a Alemanha e os Estados Unidos, que produzem e consomem este combustível renovável há muito mais tempo. Outros importantes mercados são a França, a Espanha, a Itália e a Argentina (MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA, 2014).

Visando a ampliação da eficiência da cadeia produtiva das oleaginosas gerando melhoria a qualidade de vida dos agricultores familiares do estado da Bahia, no dia 11 de novembro de 2013, foi firmado um convênio entre a SEAGRI e a Petrobras Biocombustível (PBIO), no valor total de R\$ 11,2 milhões, atendendo diretamente 8.700 agricultores familiares, sendo 6.100 destes produtores de mamona vinculados ao PNPB. O convênio garante o preparo do solo para implantação das lavouras de oleaginosas, serviço de assistência técnica, distribuição de sementes e mudas de qualidade, e garantia de comercialização a preço de mercado, uma vez que toda produção de oleaginosa será adquirida pela PBIO (SEAGRI, 2013).

A partir da produção de biodiesel pelo Brasil uma nova cadeia produtiva vem se fortalecendo, gerando e multiplicando emprego e renda, tanto na fase agrícola e nos mercados de insumos e serviços, como também nas atividades de transporte, armazenamento, mistura e comercialização do biodiesel. Além disso, vem agregando-se valor ao mesmo tempo em que aumenta a demanda em produtividade e produção das matérias-primas oleaginosas produzidas no País (MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA, 2014).

2.3. Mamona (*Ricinus communis* L.)

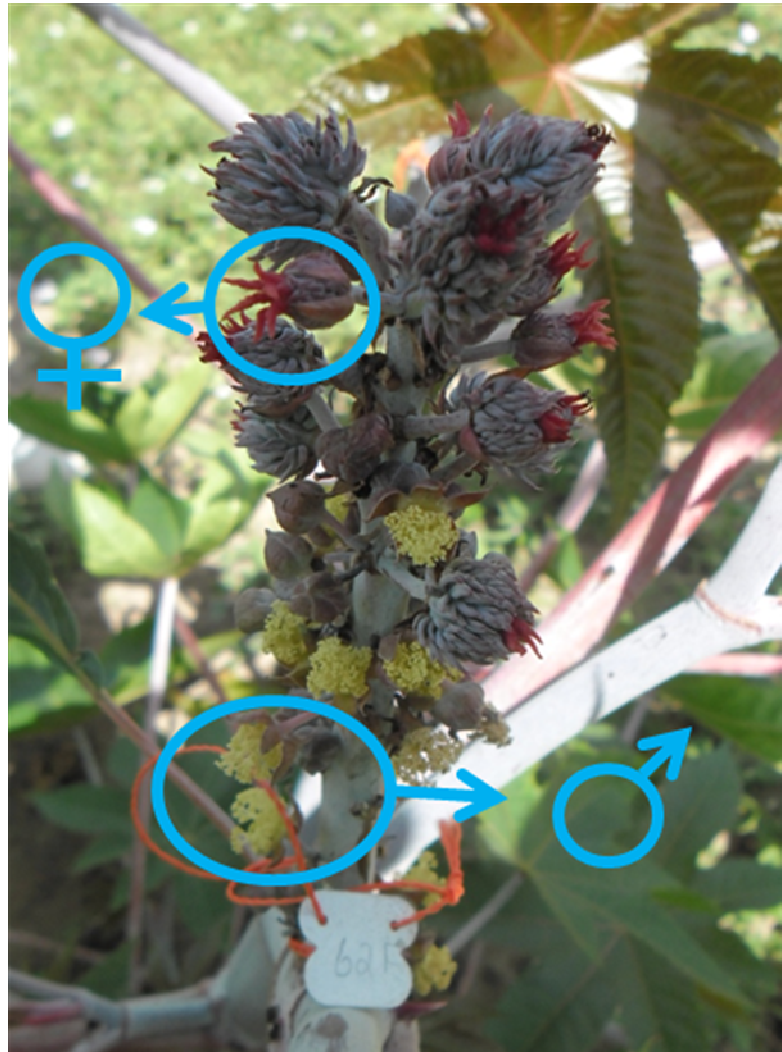
Ricinus communis L. é uma espécie oleaginosa da família Euphorbiaceae, conhecida popularmente como mamona, rícino, carrapateira, palma-de-cristo, mamoneira, bafureira e figueira-do-inferno. Sua diversidade fenotípica é bastante ampla, com genótipos comerciais podendo apresentar plantas de porte baixo a alto, ciclo anual podendo casualmente ser bienal,

e grande variabilidade quanto à aparência e parâmetros biométricos das sementes. As variedades e cultivares anuais apresentam ciclo médio de 150 dias, e as precoces de 120 a 130 dias, sendo estas mais adequadas a colheita mecânica por apresentarem homogeneidade na maturação. Já as cultivares de ciclo longo (180-210 dias) são mais adequadas às regiões tropicais, e apresentam maior tolerância aos estresses bióticos e abióticos sendo, portanto, mais recomendadas para produtores que utilizam baixa tecnologia (AZEVEDO & LIMA, 2007; SCHMIDT et al., 2008; BELTRÃO & OLIVEIRA, 2011).

A mamona é tida como uma planta xerófila e heliófila, com sistema radicular pivotante profundo, folhas simples, grandes, do tipo digitolobadas e denticuladas, e que apresenta grande variabilidade fenotípica quanto aos caracteres morfológicos, tais como o hábito de crescimento, cor do caule e das folhas, aparência, tamanho e conteúdo de óleo das sementes, frutos com espinhos ou inermes, deiscentes ou indeiscentes, ciclo anual ou semiperene e estatura arbustiva ou arbórea. Porém, estudos revelam baixa diversidade genética entre germoplasmas de mamona em nível global (NÓBREGA, 2008; CATANHEDE, 2009; CHAN, 2010; MORAIS, 2010; NOBRE et al., 2012).

As inflorescências da mamoneira apresentam flores masculinas na base e femininas na porção distal do racemo monoico (Figura 02). A proporção de flores masculinas e femininas pode ser afetada pela temperatura, idade da planta, duração do dia e pela variedade utilizada, sendo que a deficiência hídrica e altas temperaturas induzem a formação de flores masculinas, enquanto que condições climatológicas balanceadas induzem a formação de flores femininas. A flor feminina possui ovário tricarpelar, com um óvulo em cada carpelo, o qual originará a futura semente (SAVY FILHO, 2005; EMBRAPA, 2014).

Figura 02 - Inflorescência da mamona, *Ricinus communis* L., cultivar MPA 11: Detalhe do racemo com botões masculinos abertos e botões femininos já fecundados.



Fonte: Autor

Em relação à colheita, a característica mais importante da mamoneira é a maturação desuniforme dos frutos, principalmente em cultivares de ciclo longo. Essa desuniformidade pode ser considerada um fator importante nas condições do semiárido, evitando que o enchimento dos frutos ocorra num único período, o que colocaria em risco a produção na ocorrência de uma seca. Por outro lado, a desuniformidade de maturação dificulta a colheita, pois, como os racemos são lançados em diferentes momentos, sua maturação também é desigual, criando grande diferença de tempo entre a maturação do primeiro e do último cacho. Isso força o agricultor a realizar várias passagens pela lavoura, aumentando o custo de produção (SEVERINO et al., 2007).

Uma característica importante do fruto da mamoneira é a deiscência, que é definida como o fenômeno de abertura espontânea do fruto. A deiscência ocorre quando os frutos atingem a maturidade, sendo uma característica vantajosa para variedades selvagens, porém, indesejável em plantios comerciais, porque impossibilita a colheita das sementes, já que permite que elas caiam no chão logo que os frutos secam (MILANI et al., 2006). As plantas de mamona podem variar desde totalmente deiscentes, a semi-deiscentes a totalmente indeiscentes, sendo que produtores familiares, principalmente aqueles que ainda descascam as sementes manualmente, têm preferência por cultivares semi-deiscentes. Estas variedades podem abrir parte dos frutos ainda na lavoura, ocasionando um pouco de perda das sementes, mas possuem a vantagem de serem descascadas mais facilmente após a secagem dos racemos em terreiros (SEVERINO et al., 2007).

As sementes da mamona são ricas em óleo, com os teores variando de 45 a 50%, sendo o principal componente do óleo, o ácido ricinoléico (Tabela 01). A grande quantidade de hidróxidos contidos em tal componente confere características únicas desejáveis para utilização em produtos industrializados, como estabilidade, alta viscosidade, estabilidade oxidativa, solubilidade em álcool e solidificação em baixas temperaturas (COSTA, 2006; EMBRAPA, 2014).

Tabela 01 – Porcentagem dos componentes do óleo de sementes de mamona

Componentes do óleo de mamona	Porcentagem
Ácido ricinoleico	90,8 %
Ácido palmítico	1 %
Ácido linoleico	3,6 %
Ácido oleico	4,6 %

Por sua tolerância à seca e exigência em calor e luminosidade, esta espécie encontra-se disseminada por todo o nordeste brasileiro, constituindo-se em grande potencial para a economia do Semiárido, onde é tradicionalmente cultivada para a produção do óleo ricinoléico como fonte de matéria-prima para a indústria ricinoquímica (TÁVORA, 1982; AMORIM NETO et al., 2001). O óleo é obtido a partir do processamento de sementes, obtendo-se como subproduto, a torta. O óleo apresenta características singulares, possibilitando um variado leque de aplicações na indústria ricinoquímica, incluindo a produção de tintas, lubrificantes para maquinarias em geral, cosméticos, drogas

farmacêuticas, bem como na fabricação de corantes, anilinas, desinfetantes, germicidas, colas e aderentes, base para fungicidas e inseticidas, além de nylon, matéria plástica, e mais recentemente a produção de biodiesel. Acredita-se que o óleo de mamona foi usado primeiramente como uma pomada há 4.000 anos no Egito, de onde se espalhou para outras partes do mundo, incluindo Grécia e Roma, onde foi usado como laxante há 2.500 anos (BANZATTO et al., 1976; ROBBERS et al., 1997; SANTOS et al., 2007; CHAN, 2010; RAMANJANEYULU et al., 2013; CAMPBELL et al., 2014).

A torta é utilizada como fertilizante e possui a capacidade de restaurar solos esgotados, além de ser utilizada na alimentação animal e produção de materiais biodegradáveis devido aos elevados teores de proteínas, fibras e minerais (Tabela 02), o que eleva significativamente o valor da torta quando comparada a sua utilização como fertilizante. No entanto, sua utilização para alimentação animal ainda é limitada devido à presença de componentes tóxicos na torta, sendo a detoxificação um processo complexo e caro (GOMES, 2007; PIVETTI, 2013). A toxicidade nas sementes de mamona ocorre devido à presença da ricina, que é uma glicoproteína composta por duas cadeias de polipetídeos, sendo considerada como um dos venenos naturais mais tóxicos. A semente de mamona apresenta um teor de ricina que varia de 1% a 5% (COOPMAN et al., 2009; DEMANT et al., 2012).

Tabela 02- Porcentagem dos componentes da torta de mamona

Componentes	(%)
Proteínas	43,0
Fibra	35,0
Umidade	10,0
Nitrogênio	4,5
Cálcio	2,5
Óleo	2,1
Fósforo	1,6
Potássio	1,3

Atualmente existem diversas cultivares disponíveis no mercado, tendo como fontes a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola (EBDA) ou o Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), onde estas desenvolvem pesquisas no intuito de melhorar geneticamente a espécie, obtendo variedades com características de interesse agrônomo como indeiscência, precocidade,

maior produção, teor de óleo, tolerância a estresse e etc. As sementes da mamona possuem uma grande variedade de formas e tamanhos distintos, quanto a presença e ausência de carúncula e teores de componentes químicos, variando de acordo com a cultivar em estudo (EMBRAPA, 2014). A EBDA lançou variedades adaptadas ao clima do estado da Bahia, como EBDA MPA 11, MPB 01 e a MPA 34.

O cultivar EBDA MPA 11 é uma mamoneira de porte alto (MPA), que se destaca principalmente quanto a precocidade, indeiscência no campo, teor de óleo nas sementes, produtividade e resistência a doenças (SANTIAGO et al., 2008). O cultivar MPA 11 foi testado por agricultores familiares com tradição de cultivo dessa oleaginosa no estado da Bahia, os quais aprovaram o cultivar por apresentar qualidades, como grande emissão de ramos laterais, com a formação de até 60 cachos por planta, precocidade, mais tolerância às condições climáticas da região, bem como a ataques de pragas e doenças, demonstrando um bom desenvolvimento no campo (SEAGRI, 2011).

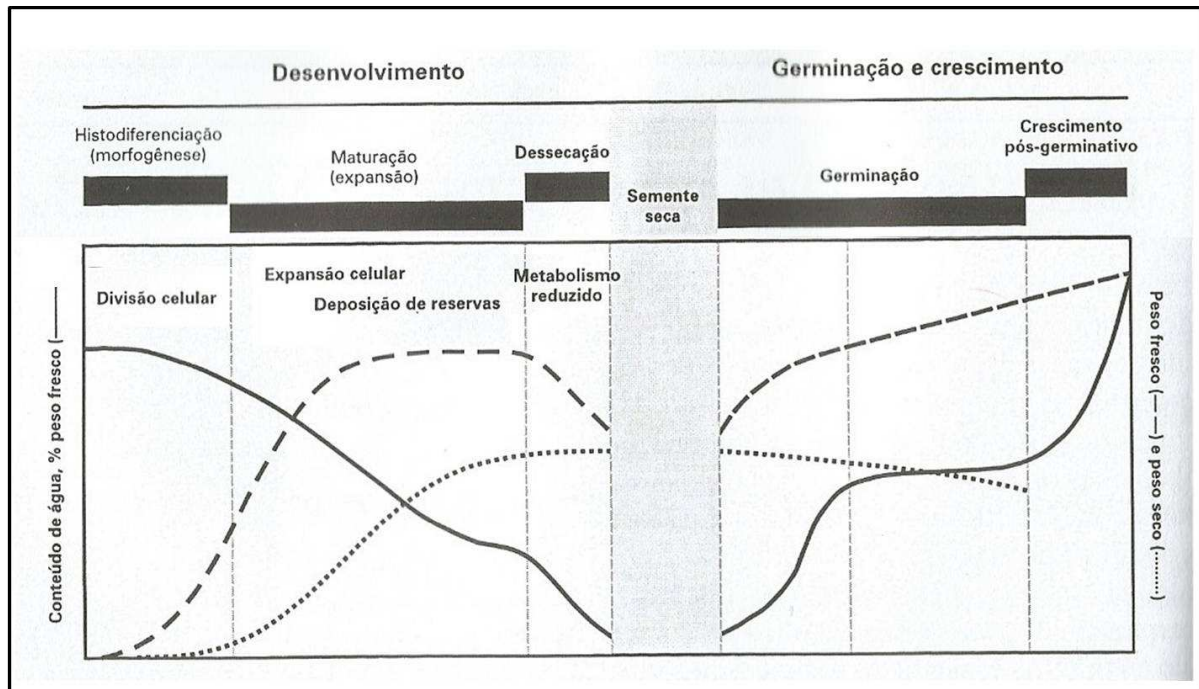
2.4. Fases do desenvolvimento de sementes

As sementes são a unidade primária de dispersão de plantas superiores possuindo a base genética completa da planta que a originou. São estruturas complexas que durante o tempo se adaptaram a condições adversas para sobreviver, sendo as sementes de algumas espécies capazes de germinar após ter se desprendido da planta mãe há centenas de anos (MARCOS FILHO, 2005). Além disso, são estruturas vegetais de importância e utilizações diversas como bioproduto, fazendo parte da vida do homem desde o início das civilizações como alimento (DE CASTRO, 1998; CARVALHO & NAKAGAWA, 2000).

A fase de desenvolvimento de sementes pode ser dividida em dois períodos distintos, relacionados à formação do embrião ou embriogênese, o primeiro período é definido como o da morfogênese, quando é estabelecido o plano no qual o embrião é formado, sendo este marcado por intensas divisões celulares e formação dos tecidos e partes embrionárias (COMAI & HARADA 1990; WEST & HARADA, 1993; GOLDBERG et al., 1994; HARADA 1997). Já o segundo é o período de maturação do embrião e da semente, no qual ocorre a interrupção da formação dos tecidos e partes do embrião, o acúmulo de nutrientes de reservas; mudanças no tamanho, peso fresco e peso seco do embrião; a supressão de germinação precoce; a aquisição de tolerância a dessecação; dessecação e quiescência; e em muitas espécies, a indução de dormência (KOORNNEEF & KARSSSEN, 1994).

Alternativamente, estudos realizados em espécies ortodoxas demonstram que é possível descrever o desenvolvimento das sementes em três estádios distintos, em que a primeira fase da embriogênese a histodiferenciação que é caracterizada pela formação dos tecidos e partes embrionárias, sendo esta marcada por uma atividade inicial intensa de síntese de DNA, e uma rede abundante de citoesqueleto microtubular cortical e mitótico, resultando em muitas divisões e multiplicação celular. A segunda fase é a maturação, na qual ocorre o depósito de nutrientes de reserva no endosperma e no embrião acompanhando as mudanças relacionadas à forma e tamanho do embrião e semente, acontecendo também as principais mudanças relacionadas aos pesos fresco e seco. Dessa forma, essa segunda fase é marcada pela detecção apenas de citoesqueleto microtubular cortical abundante, o qual, na ausência de síntese de DNA e divisões celulares, leva ao crescimento subsequente do embrião por exclusivamente expansão celular. Nesse estágio, o embrião atinge sua forma final, coincidindo com os valores máximos de peso seco e aquisição da maturidade fisiológica. A dessecação, como é denominada a terceira fase, é marcada pela degradação completa do citoesqueleto microtubular, o qual deixa de existir em embriões completamente maduros, ocorrendo supressão da germinação precoce; a aquisição de tolerância à dessecação; dessecação e quiescência; podendo haver indução de dormência (Figura 03) (DE CASTRO, 1998).

Figura 03 - Desenvolvimento e germinação de sementes ortodoxas. Um esquema geral de eventos associados com as diferentes fases de desenvolvimento, germinação e crescimento pós-germinativo de sementes, incluindo ciclo celular, eventos metabólicos, mudanças no peso fresco, no peso seco e no conteúdo de água de sementes inteiras.



Fonte: De Castro e Hilhorst, 2004, modificado.

A interrupção do desenvolvimento embrionário e das sementes se constitui numa condição imposta durante a fase de maturação da semente a qual não é necessária à formação de um embrião viável, uma vez que, ao contrário das sementes ortodoxas, os embriões e sementes recalcitrantes não passam por um período de interrupção do desenvolvimento e quiescência metabólica, de forma que nestes casos os embriões e sementes também não passam por um período de dessecação, sendo intolerantes a tal condição (BEWLEY & BLACK 1994).

A qualidade da semente é de fundamental importância para agricultura familiar, sendo consideradas de alta qualidade quando possuem uma elevada capacidade germinativa e vigor, e esses fatores devidamente balanceados, proporcionam maior homogeneidade de população, elevado vigor das plantas e, conseqüentemente, maior qualidade e produtividade. A qualidade das sementes é influenciada pelo local e época de cultivo, uma vez que estresses abióticos são prejudiciais durante a fase de maturação das sementes. Outro fator que leva a 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 aquelas predominantes na fase final de maturação. (LACERDA, 2007; SOUZA et al., 2007; OLIVEIRA, 2012).

Durante o processo de maturação ocorrem alterações morfológicas, físicas, fisiológicas e bioquímicas, que permitem a identificação do momento ideal de colheita

obtendo assim um material de melhor qualidade. No entanto, a colheita no momento ideal é impraticável em espécies de crescimento indeterminado. A maturação culmina na maturidade fisiológica, evento que ocorre paralelamente a interrupção da transferência de matéria seca da planta para as sementes, sendo o ponto onde a semente se encontra no seu potencial fisiológico máximo (CARVALHO e NAKAGAWA, 2000; MARCOS FILHO, 2005; IOSSI et al., 2007; OLIVEIRA, 2012).

As biomoléculas mais acumuladas durante a maturação são as proteínas, carboidratos e lipídios, os quais atuam como material de reserva das sementes após separação da planta mãe. Dentre as proteínas acumuladas esta a ricina, que é sintetizada durante o desenvolvimento da semente e funciona como proteína de armazenamento, fornecendo nutrientes durante a germinação e também pode agir como proteína de defesa (ROBERTS et al., 1985; SHEWRY et al., 1995; BALDONI, 2010). O acúmulo de óleo em sementes oleaginosas ocorre durante a maturação, estando no seu teor de óleo máximo quando a semente alcança a maturidade fisiológica. O acúmulo de óleo e a presença de ácidos graxos livres no mesmo dependem de fatores genéticos e condições de campo durante a maturação, sendo o teor e qualidade do óleo, afetados por estresses abióticos. Para a indústria de biodiesel, os fatores de maior importância no momento da compra de sementes são o teor de óleo e a qualidade do óleo determinada pelo percentual de ácidos graxos livres, sendo que quanto maior for o índice de ácidos graxos livres do óleo bruto maior também será o custo para a industrialização e conversão em biodiesel (KUMAR & SHARMA, 2008; LACERDA FILHO et al., 2008; SANTOS et al., 2012).

2.5. Tratamento Pós-colheita (Secagem)

A dessecação natural que ocorre durante a fase final da maturação e do desenvolvimento em sementes ortodoxas, resulta em uma fase transiente de quiescência metabólica entre o desenvolvimento e a germinação. As vias metabólicas que estão ativadas durante o desenvolvimento são significativamente diferentes das vias ativas na germinação e posterior crescimento. Segundo Kermode e Bewley (1985ab), durante a maturação o metabolismo da maioria das células, particularmente as de tecidos de armazenamento, é voltada para a síntese e deposição de material de reservas. Enquanto que na germinação há um redirecionamento do metabolismo voltado ao suporte às plântulas em crescimento, de

modo que processos hidrolíticos são ativados resultando na degradação das reservas armazenadas acumuladas ao longo da maturação, que por sua vez contribuirão para o metabolismo energético e de síntese (*de novo*) de novas moléculas necessárias ao crescimento da nova plântula em transição para a continuidade do desenvolvimento em uma planta autotroficamente ativa.

Sementes de mamona imaturas em geral não dispõem de capacidade germinativa. No entanto, a aquisição prematura de capacidade germinativa pode ser induzida em sementes imaturas de mamona (*Ricinus communis* L. cv. Hale) quando colhidas prematuramente e submetidas à secagem artificial. Isso demonstra o efeito da secagem como responsável pela interrupção do metabolismo programado de desenvolvimento e maturação, seguido da ativação do metabolismo de germinação. Essa mudança de padrão metabólico, esta associada ao redirecionamento na síntese de proteínas solúveis. Sendo observado após cinco horas de reidratação das sementes imaturas, que a síntese de proteínas de reserva características do desenvolvimento e maturação (as albuminas e lectinas) fora interrompido, em contrapartida a iniciação de um metabolismo exclusivamente associado à germinação e crescimento, com a produção de enzimas diretamente envolvidas na mobilização de reservas de proteína (B-leucil naftilamidase) e lipídios (isocitrato liase) (KERMODE E BEWLEY, 1985a, b, c).

A reabsorção de água após dessecação faz com que as sementes germinem, demonstrando que a perda de água nos tecidos reduz acentuadamente o metabolismo celular, interrompendo as vias metabólicas que estavam atuantes durante o desenvolvimento e maturação. A posterior (re) embebição reativa o metabolismo celular, no entanto, nesse momento as vias expressas estão voltadas para os eventos germinativos e pós-germinativos. De acordo com Kermode e Bewley (1989a), durante o desenvolvimento normal da semente de mamona há mudanças quantitativas e qualitativas no conteúdo de mRNAs. Em particular, as mensagens que codificam para proteínas de reserva diminuem substancialmente durante a maturação e dessecação natural, sendo esse declínio similar durante a dessecação artificial prematura de sementes imaturas.

A dessecação natural ou artificial aplicada pode provocar diminuição ou perda de alguns mRNAs voltados para o desenvolvimento, isso ocorre devido à sua estabilidade reduzida e/ou o aumento da degradação, e uma diminuição na sua síntese. As mensagens que codificam para proteínas de reserva que persistem após a secagem parecem ser mais sensíveis e decaem durante a germinação, e neste momento, esses mRNAs não podem ser substituídos pois a sua transcrição já foi suprimida, direta ou indiretamente devido a dessecação. A

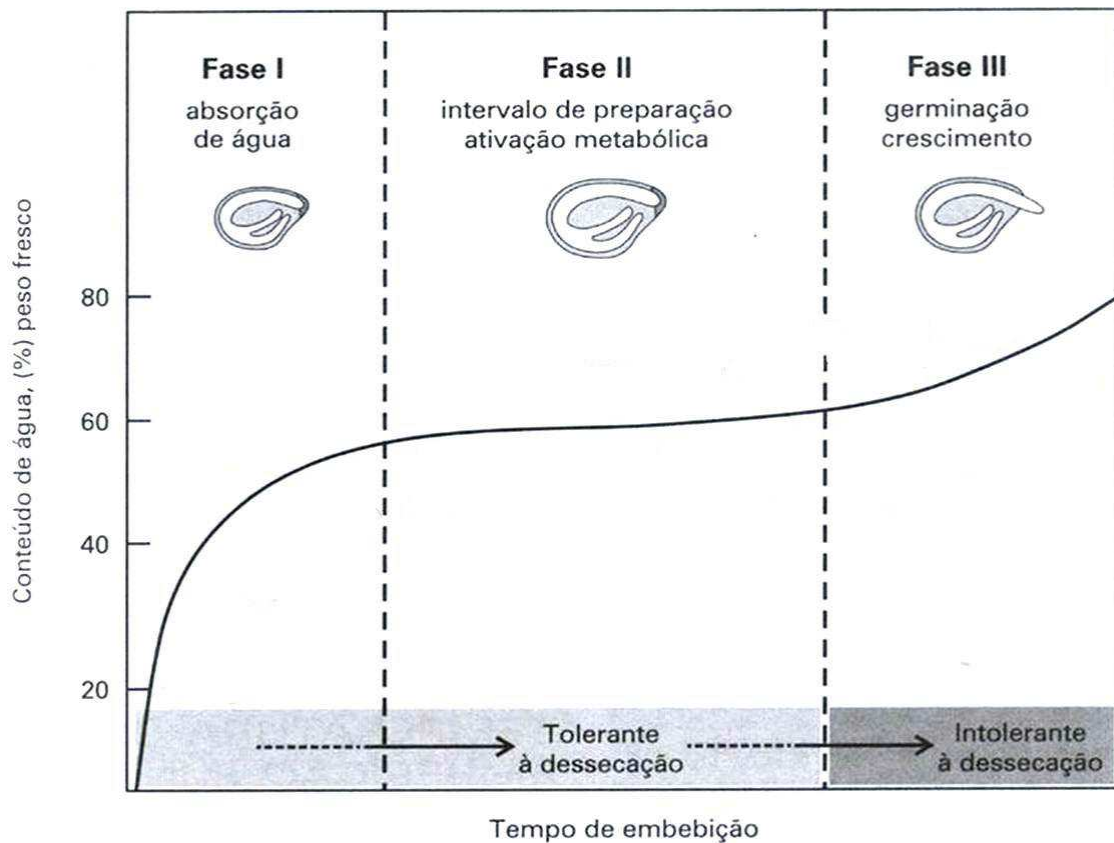
sequência temporal das mudanças nas populações de mRNAs que ocorre durante a germinação é idêntica entre as sementes prematuramente secas (artificialmente) e as sementes que passaram pela dessecação natural. Assim, a secagem prematura da semente em desenvolvimento, durante a fase de tolerância, não afeta adversamente a expressão do genoma, no entanto, tem papel fundamental na mudança da atividade de transcrição (KERMODE & BEWLEY, 1989a).

2.6. Germinação de sementes

Uma vez transcorrida todas as fases do desenvolvimento resultando na maturação e dessecação característica (no caso das sementes ortodoxas), a finalidade biológica de uma semente é germinar e estabelecer uma nova planta quando em ambiente favorável. A reativação metabólica e morfogenética da semente quiescente resultam da reabsorção de água durante as fases de embebição e germinação, e crescimento pós-germinativo, sendo o crescimento do embrião resultante dos processos de alongamento e de divisão celular (BEWLEY, 1997; VILLELA, 2001; DE CASTRO & HILHORST, 2006).

Previamente à germinação, as sementes absorvem água, e conseqüentemente há reativação do ciclo celular, culminando na germinação propriamente dita. Os mecanismos citológicos de reativação do ciclo celular, e os mecanismos bioquímicos e fisiológicos de reativação do metabolismo iniciados com a embebição e que se estendem até a germinação com a emissão da raiz primária, variam conforme o nível de hidratação da semente. A germinação pode ser dividida em três fases, sendo a Fase I relativa à absorção de água de maneira física, devido a um gradiente de potencial hídrico, sendo a água direcionada à semente, esta fase é característica pelo aumento rápido do potencial hídrico do embrião; na Fase II ocorre uma acentuada redução na absorção de água, estabelecendo um platô, onde inicia-se ativação do metabolismo; por fim, na Fase III, a absorção de água é retomada, aumentando consideravelmente a curva de embebição, porém desta vez associada ao crescimento do embrião, culminando na protrusão da raiz e alongamento das estruturas (Figura 04) (BEWLEY & BLACK 1994; NONOGAKI et al., 2007).

Figura 04 – Padrão trifásico da curva de embebição de sementes ortodoxas.



Fonte: De Castro e Hilhorst, 2004, modificado.

Diversos fatores influenciam a quantidade de água que é absorvida pela semente, como por exemplo, as diferenças entre as espécies, cultivares, fatores ambientais, além de características da própria semente como composição química, teor de água inicial e constituição do tegumento, e vários fatores ambientais, como por exemplo, a umidade, oxigênio, temperatura, luz e nutrientes são capazes de influenciar o processo germinativo e o desenvolvimento pós-germinativos de plântulas, destacando-se a disponibilidade de água (PIMENTEL, 1999; SEO et al., 2009; ZUCHI et al., 2012). Sendo a disponibilidade de água um fator limitante à iniciação da germinação de sementes e estabelecimento de plântulas no campo. Isto ocorre porque as relações hídricas em sementes e subsequente desenvolvimento em plântulas são afetadas diretamente, implicando em todas as demais etapas do metabolismo, incluindo ativação do ciclo celular e crescimento (DE CASTRO et al., 2000; NEJAD, 2013).

Os parâmetros utilizados para interpretar o desempenho da germinação ou germinabilidade são o tempo em horas para atingir 50% de germinação (T_{50}), percentagem máxima de germinação (G_{max}), uniformidade de germinação e intervalo de tempo em horas, como por exemplo, intervalo entre 84% e 16% de sementes viáveis para germinar (U_{8416}),

Intervalo de tempo entre 80% e 20% de sementes para germinar (U_{8020}), intervalo de tempo entre 75% e 25% de sementes viáveis para germinar (U_{7525}) (JOOSSEN et al., 2010).

2.7. Tratamentos pré-semeadura (Osmocondicionamento)

As técnicas de absorção de água pelas sementes em condições controladas estão sendo frequentemente utilizadas como tratamentos de pré-semeadura, que na terminologia em inglês refere-se como *priming*. Esse controle pode ser por hidratação controlada aplicando-se quantidade específica de água às sementes, ou embebendo as sementes em soluções aquosas com partículas sólidas, o que é denominado osmocondicionamento ou condicionamento osmótico. Em geral, estes tratamentos visam à melhoria da emergência em campo, quebra de dormência, uniformidade de estande, além do aumento da tolerância aos estresses abióticos e bióticos (TAYLOR et al., 1998; VARIER et al., 2010; CHEN & ARORA, 2013).

O osmocondicionamento determina um condicionamento fisiológico por meio da hidratação controlada das sementes até atingir um nível adequado para permitir os processos metabólicos essenciais ao processo germinativo, porém, sem que se resulte na germinação (protrusão radicular). Ou seja, a embebição por água deve permitir níveis de hidratação em que as sementes possam completar as Fases I e II, porém, sem que seja permitido alcançar a Fase III da curva padrão trifásica de embebição. Desse modo, é possibilitada a ocorrência de eventos pré-metabólicos germinativos promovendo processos de reparo no DNA e mitocôndrias (Fase I), assim como a reativação do metabolismo voltado à síntese de novos RNAs e proteínas (Fase II), porém insuficiente para a ocorrência da protrusão da raiz primária (Fase III), ou germinação *per se* (BEWLEY & BLACK 1994; TAYLOR et al., 1998; VARIER et al., 2010).

Em suma, o osmocondicionamento baseia-se no princípio da embebição por restrição hídrica (estresse hídrico). Ao permitir que as sementes hidratem, mas sem completar a germinação, o osmocondicionamento possibilita que todas as sementes viáveis de um mesmo lote atinjam o mesmo momento fisiológico pré-germinativo, podendo ser dessecadas, pois ainda são tolerantes à dessecação. Assim, se obtém um lote de sementes que germinam uniformemente após a semeadura, emergindo plântulas de forma rápida e sincronizada favorecendo o estande e sucesso no estabelecimento da lavoura. A técnica constitui um sistema modelo adequado para estudos de restrição hídrica em sementes e plântulas,

entretanto, as respostas ao osmocondicionamento variam entre as espécies, e mesmo entre os lotes de sementes de uma mesma espécie (NASCIMENTO, 1998; JISHA et al., 2013).

Soluções de polietilenoglicol (PEG) têm sido amplamente usadas como meio osmótico para simular o estresse por restrição hídrica e constituindo-se em meio ideal aplicado também em osmocondicionamentos, visto o PEG ser um polímero não iônico, quimicamente inerte, que não apresenta toxicidade às sementes e nem é absorvido devido ao seu alto peso molecular (VILLELA et al., 1991; BEWLEY & BLACK, 1994; GHASSEMI-GOLEZANI et al., 2008). Resultados satisfatórios para diversas espécies, particularmente as que apresentam sementes pequenas têm sido relatados com o emprego do osmocondicionamento, como por exemplo, uma maior probabilidade de se obter sementes com melhor vigor resultando em uma boa germinação e emergência de plântulas, igualmente vigorosas (BORGES et al., 1994; TAYLOR et al., 1998; JISHA et al., 2013).

O osmocondicionamento pode ser considerado como um estresse inicial que pode ativar uma série de genes, criando uma espécie de “memória” vegetal. Quando uma semente osmocondicionada é exposta novamente ao estresse hídrico, ou a outros tipos de estresse, esta pode desencadear respostas mais rápidas e potencializadas em garantir o sucesso vigoroso no estabelecimento da lavoura, particularmente em condições de estresse abióticos (RIZHSKY et al., 2002; BRUCE et al., 2007; LIGTERINK et al., 2007; CHEN & ARORA, 2013).

2.8. Reativação do ciclo celular

Os eventos celulares e moleculares que ocorrem durante a germinação de sementes estão organizados em uma sequência de ativação de processos que se inicia no núcleo celular. Estes processos são principalmente a síntese do DNA e a divisão celular e são reconhecidos como eventos do ciclo celular, que levam a padrões específicos de organogênese e morfogênese, no que diz respeito à diferenciação celular. Mais profundamente nos níveis citológico e molecular, o ciclo celular envolve um ciclo cromossômico em que a síntese para a replicação ocorre durante a interfase, e um ciclo mitótico que leva a célula a divisão (DE CASTRO & HILHORST, 2000).

A manutenção da integridade da molécula de DNA durante a expansão e divisão celular é de fundamental importância para a germinação de sementes, sendo esta integridade mantida por distintas matrizes de microtúbulos associados aos diferentes estágios do ciclo celular (BINO et al. 1998; WRIGHT et al., 2009). A rede do citoesqueleto, que é composto

pelas matrizes de microtúbulos e filamentos de actina, coordena inúmeras atividades da célula, incluindo a divisão celular, mudança de forma da célula, transporte intracelular, diferenciação celular, organiza espacialmente as organelas, serve como um andaime para o seu movimento e, além disso, o citoesqueleto da planta desempenha um papel importante na mediação da resposta da célula a patógenos e simbiontes (FEDOROVA, 2007).

A progressão através do ciclo celular está associada a mudanças na dinâmica espacial, temporal e na organização específica do citoesqueleto microtubular. A função dos microtúbulos é dependente das proteínas α , γ e β -tubulina. A γ -tubulina combina-se com outras proteínas para a nucleação dos filamentos de microtúbulos, enquanto as proteínas globulares semelhantes α e β -tubulina se ligam fortemente. Os dímeros de tubulina, por sua vez, unem-se entre si, para a formação da parede de um microtúbulo cilíndrico oco. Essa estrutura semelhante a um cano é um cilindro composto por 13 protofilamentos paralelos, cada um dos quais representados por uma cadeia linear de dímeros de α e β -tubulina alternadas longitudinalmente (FOUREST-LIEUVIN et al., 2006; TAIZ & ZEIGER, 2009).

Os microtúbulos estão relacionados com o ciclo celular através de reorganizações ou configuração de matrizes, ou seja, a matriz da interfase cortical, as bandas pré-prófase, fusos e matriz mitótica e fragmoplasto. A síntese e a replicação do DNA ocorrem durante a interfase e podem durar várias horas. Portanto, a interfase é uma fase que, dentro do ciclo celular, dura mais do que a mitose. Dentro da interfase, há uma fase de quiescência (G0) acoplada a uma fase de crescimento e de pré-síntese (G1) durante a qual os núcleos de células diplóides contém um valor arbitrário de DNA 2C, referindo-se a quantidade de DNA por núcleo, e que pode ocorrer durante a reparação do DNA. Subsequentemente, ocorre a síntese para a replicação do DNA ou fase S. Finalmente, a fase G2, compreendendo os núcleos com valores de 4C DNA, conclui a interfase em preparação para a mitose (DE CASTRO, 1998; ESTANISLAU, 2002).

A fase mitótica compreende vários estágios distintos com base nas matrizes microtubulares, ou seja, bandas (pré-) prófase, metáfase, anáfase e telófase. Tanto a síntese de DNA e a organização microtubular tem sido extensivamente estudadas em sementes, tendo em consideração que estão sujeitos a eventos celulares na embriogênese e formação do endosperma durante o desenvolvimento da semente, e na organogênese durante o crescimento pós-germinativo (DE CASTRO, 1998; ESTANISLAU, 2002).

Por meio de estudos constata-se que o citoesqueleto microtubular é redistribuído sob condições de estresse, tais como estresse hiperosmótico, por choque térmico e, temperatura

baixa e dessecação, sendo o comportamento dos microtúbulos dependente do tipo de célula, diferenciação e estágio de desenvolvimento. Apesar da forte correlação entre a natureza sensível dos microtúbulos e sua recuperação após o tratamento de estresse, ainda não está claro como células vivas regulam a sua resposta ao estresse em intensidades diferentes (MÜLLER et al., 2007; BAGNIEWSKA-ZADWORNA, 2008).

Técnicas como *Western blotting* e imunocitoquímica podem ser empregadas como ferramentas para estudar a proteína tubulina através do acúmulo desta e da localização e organização do citoesqueleto microtubular (DE CASTRO et al., 2000; HASEZAWA & KUMAGAI, 2002). Através da citometria de fluxo é possível estimar o conteúdo de DNA em diferentes estágios de replicação nos núcleos de diferentes tecidos da planta, sendo possível acompanhar as alterações do estado fisiológico de uma semente (SLIWINSKA et al., 2009).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Caracterizar o processo de formação da semente de Mamona (*Ricinus communis* L.) cultivar MPA11 e analisar funcionalmente os eventos do ciclo celular e os eventos fisiológicos durante o desenvolvimento e a germinação de sementes maduras submetidas a tratamentos de secagem e osmocondicionamento.

3.2. Objetivos específicos

- Descrever a biometria dos frutos e sementes durante o desenvolvimento;
- Avaliar o efeito dos tratamentos de secagem e osmocondicionamento nas sementes no último estágio de 63 DAM (germinabilidade);
- Definir as configurações do citoesqueleto microtubular durante o desenvolvimento e embebição das sementes no estágio de 63 DAM (após secagem e osmocondicionamento);
- Avaliar acúmulo de β -tubulina durante o desenvolvimento e embebição das sementes no estágio de 63 DAM (após secagem e osmocondicionamento);
- Definir as fases do ciclo celular através do conteúdo de núcleos 2C (fase G1) e núcleos 4C (fase G2) durante o desenvolvimento;
- Traçar um mapa funcional do desenvolvimento e germinação de sementes de mamona, baseado nos parâmetros biotéticos, fisiológicos e de atividades do ciclo celular.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Caracterização da área de plantio

Com intuito de acompanhar o início da floração, frutificação e o desenvolvimento de sementes de mamona, foram realizadas expedições semanais à Fazenda Experimental da UFBA (Figura 05) que apresenta um solo do tipo massapê, localizada na latitude 12° 23' 58"

sul e longitude 38° 52' 44" oeste, a 110 km de Salvador, no município de São Gonçalo dos Campos, situado no Recôncavo Baiano, microrregião de Feira de Santana-BA.

Figura 05 - Ensaio de espaçamento em mamona (*Ricinus communis* L.) conduzido na Fazenda Experimental da UFBA, São Gonçalo dos Campos-BA, 2012.



Fonte: Autor

Os dados meteorológicos da região de Feira de Santana durante a realização do experimento estão representados nos “anexos 01 e 02”.

4.2. Amostras biológicas

4.2.1. Coleta

Como material biológico foram utilizadas sementes de mamona cultivar MPA11 da Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola (EBDA) (Figura 06); Sendo realizada semeadura em 26/07/2012, com desbaste e replantios no dia 11/08/2012, com adubações nos dias 26/07/2012 (N, P e K), 12/09/2012 (N e K) e 19,10/2012 (N e K). A semeadura foi realizada em quatro parcelas com vinte plantas em cada parcela, sendo o espaçamento entre as plantas dentro de cada parcela 3,0 x 3,0 m, e o espaçamento entre as parcelas foi de 5,0 m.

Figura 06 - Sementes de mamona (*Ricinus communis* L.) cultivar MPA11 desenvolvida pela Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola (EBDA).



Fonte: Autor

Foram realizadas 11 expedições para o acompanhamento da fenologia reprodutiva e do desenvolvimento de sementes em intervalos semanais (a cada sete dias) entre oito de outubro e dezessete de dezembro do ano de 2012, durante as quais as inflorescências de mamona (racemos) de segunda e terceira ordem com botões florais antes da antese (botões fechados) foram marcadas com fita colorida e etiquetas de papel com identificação. Os botões florais fecundados foram contados, sendo retiradas e eliminadas as flores não fecundadas, e subsequentemente realizada a coleta dos racemos em intervalos semanais aos 7, 14, 21, 28, 35, 42, 56 e 63 dias após a marcação (DAM), em que foram isolados os frutos e as sementes para as avaliações morfométricas, fisiológicas e citológicas.

4.2.2. Morfometria de frutos e sementes

A caracterização morfométrica foi realizada por meio de biometria e captação de imagens para dos diferentes estádios de desenvolvimento dos frutos e sementes, nos intervalos semanais entre 7 e 63 DAM.

A biometria foi realizada utilizando-se um paquímetro digital (Marathon) com precisão de 0,01 mm para tomar as medidas de largura (região mediana) e o comprimento (distância do pedúnculo ao lado oposto) dos frutos, bem como da largura, comprimento e espessura das sementes e os resultados foram expressos em milímetros. Foi determinado o conteúdo de matéria seca e o teor de umidade das sementes pelo método da estufa (Eletrolab,

Mod. EL402/150) a $105^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$, durante 24 horas, com corte prévio das mesmas em quatro partes (BRASIL, 2009).

A visualização das estruturas no interior dos frutos e sementes durante o desenvolvimento foi realizada através da captação de imagens produzidas a partir de cortes transversais em frutos e sementes, e em cortes longitudinais e sagitais nas sementes. Os cortes foram visualizados e fotografados em microscópio estereoscópico (Zeiss, Mod. Stemi 200-C) com lente complementar de amplificação (Zeiss, Mod. 2,0 X Supplemental Lens), acoplado a uma câmera digital (Zeiss, Mod. AxioCam ERc 5s) conectada a um computador. A aquisição das imagens foi realizada utilizando um software para microscopia (Zeiss, AxioVision LE) e as imagens capturadas e armazenadas em formato TIFF em 1600×1200 .

4.3. Tratamentos Pós-colheita e Pré-germinativo em sementes com 63 DAM

Para os tratamentos pós-colheita e pré-germinativo, foram utilizadas sementes com 63 DAM, pois de acordo com Kermode & Bewley (1985a) as sementes de mamona de cultivares precoce estão maduras com 60 dias após a polinização.

4.3.1. Secagem e Teor de Umidade

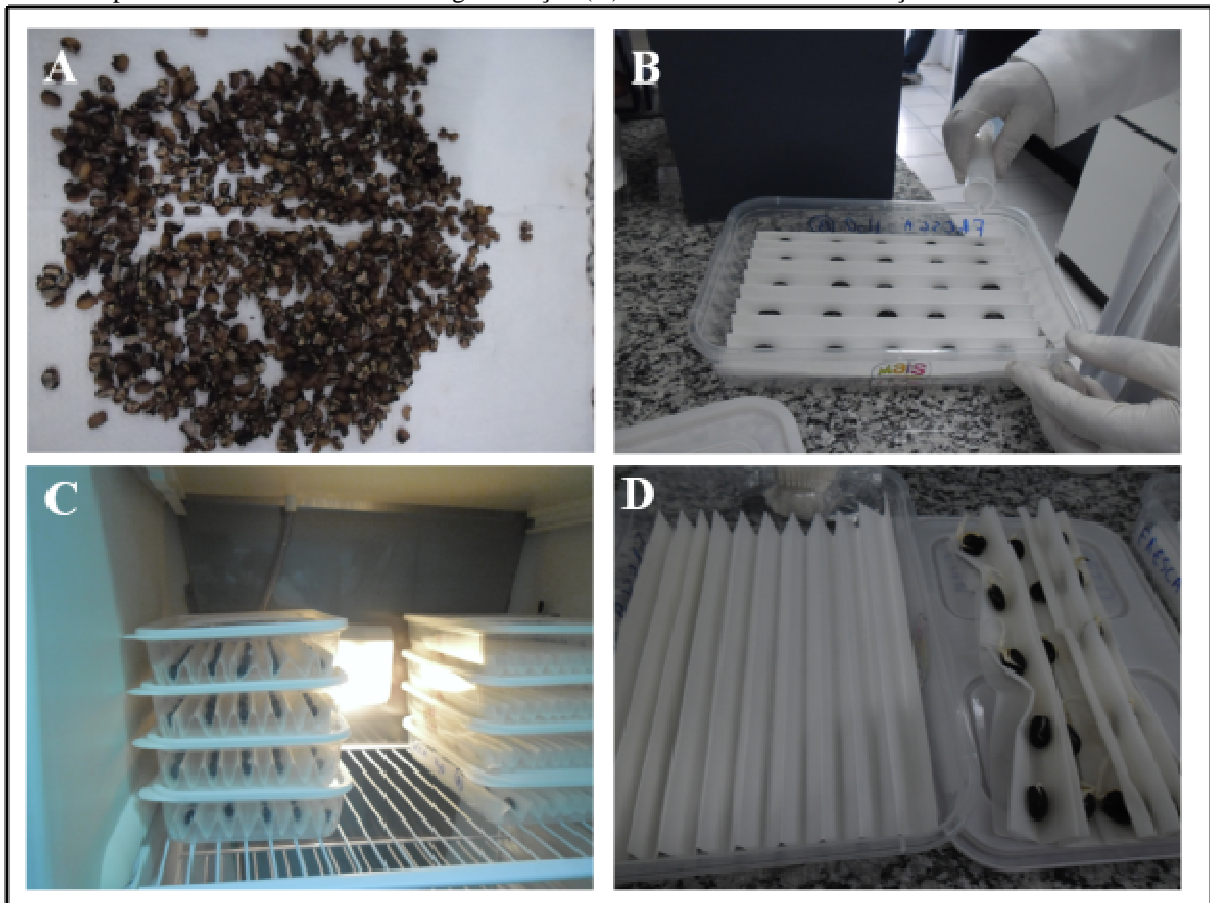
Sementes com 63 DAM coletadas no dia 10/12/2012, foram submetidas à secagem em temperatura ambiente, ao abrigo de luz solar durante 7 dias. As sementes com 63 DAM coletadas no dia 17/12/2012 não passaram por secagem, originando-se assim 2 lotes (Lote I, e Lote II), compostos de sementes secas e sementes frescas, para as quais foi determinado o teor de umidade pelo método de estufa (Eletrolab, Mod. EL402/150) a $105^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ por 24 horas, de acordo com as recomendações das Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009).

4.3.2. Osmocondicionamento

O osmocondicionamento foi realizado embebendo-se as sementes em solução de polietilenoglicol (PEG 8000) a -1,0 MPa potencial que inibi a germinação de sementes de mamona, e vem sendo bastante utilizado no osmocondicionamento de sementes de mamona (VILLELA, 2001; SOUZA et al., 2007; GOIS et al., 2007; TELES, 2013). Inicialmente as sementes dos Lotes I e II passaram por desinfestação superficial com solução a 0,5% de cloro

ativo durante dez minutos sob agitação constante, e posteriormente submetidas a quatro lavagens com água destilada e postas para secar sobre papel. Em seguida, as carúnculas foram retiradas (Figura 07A) e as sementes foram dispostas uniformemente em uma folha de papel germitest sanfonado (substrato) estéril em caixa plástica com medida de 22,5 x 14,0 cm, sendo umedecido com a solução de PEG 8000, em volume equivalente a três vezes o peso do substrato (Figura 07B) (BRASIL, 2009). O osmocondicionamento durou sete dias e foi conduzido em câmara de germinação (Eletrolab, Mod. EL202), ajustada a temperatura de 25°C, na ausência de luz (Figura 07C), sendo a solução teste e o substrato trocados após quatro dias, a fim de evitar a contaminação do substrato e da amostra (Figura 07D). Não houve germinação durante o osmocondicionamento.

Figura 07- Montagem do tratamento de osmocondicionamento e do teste de germinação. (A) Carúnculas retiradas após a desinfestação. (B) Sementes dispostas uniformemente e substrato sendo umedecido. (C) Caixas dispostas no interior da câmara de germinação (D) Troca do substrato e solução de trabalho.



Fonte: Autor

4.4. Teste de germinação

O teste de germinação em água foi conduzido com quatro repetições de 25 sementes por tratamento, sendo o delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial de 2 x 2. Os tratamentos consistiram de sementes dos Lotes I e II, com e sem osmocondicionamento. Sendo os tratamentos descritos como: sementes secas não osmocondicionadas (SNO), sementes secas osmocondicionadas (SO), sementes frescas osmocondicionadas (FO) e para o controle sementes frescas não osmocondicionadas (FNO).

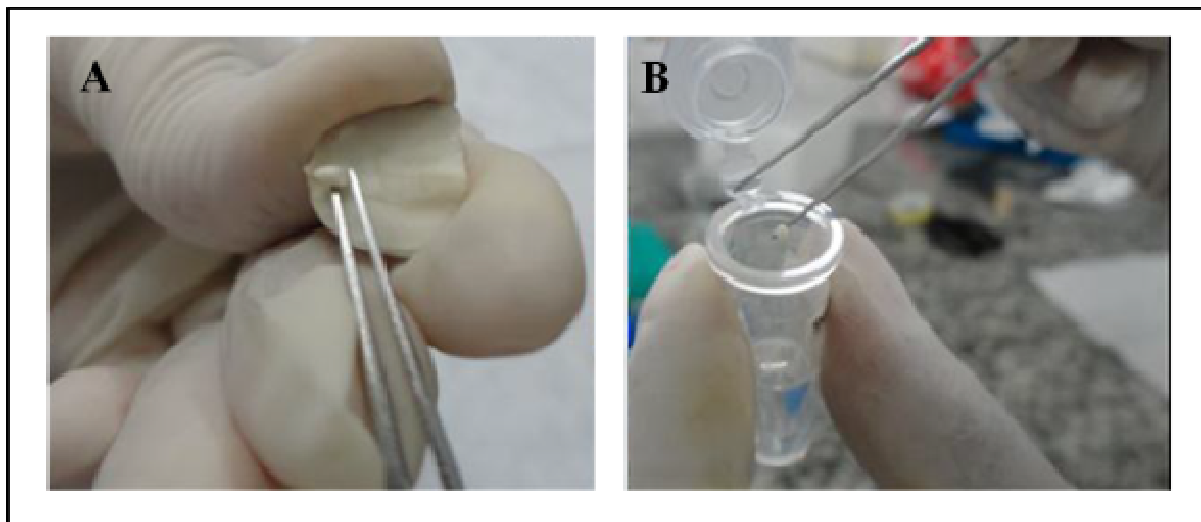
Inicialmente as sementes foram desinfestadas superficialmente em solução com 0,5% de cloro ativo durante dez minutos sob agitação constante, e posteriormente foram submetidas a quatro lavagens com água destilada e postas para secar sobre papel. Em seguida, as carúnculas foram retiradas (Figura 07A) e as sementes foram dispostas uniformemente em uma folha de papel germitest sanfonado estéril em caixa plástica com medida de 22,5 x 14,0 cm, sendo umedecido com água, em volume equivalente a três vezes o peso do substrato (Figura 07B) (BRASIL, 2009), e postas para germinar em câmara de germinação (Eletrolab, Mod. EL202) sem fotoperíodo e temperatura ajustada a 25°C (Figura 07C), sendo a temperatura recomendada para germinação de sementes de mamona (CHEEMA et al. 2010; AIRES et al., 2011; SEVERINO & AULD, 2013). As avaliações foram realizadas a cada 24 horas e a solução teste e o substrato foram trocados no quarto dia de avaliação (Figura 07D), a fim de evitar a contaminação do substrato e da amostra. A duração do teste foi de sete dias.

4.5. Estudo do ciclo celular

4.5.1. Extração de radículas

Para análise imunocitoquímica durante o desenvolvimento foram utilizados embriões de sementes a partir dos 28 DAM, pois não foi viável realizar as análises nos estádios anteriores, e para a análise durante o teste de germinação foram utilizados os embriões de sementes nos períodos de 0, 24, 48, 72 e 96 horas de embebição em água dos tratamentos FNO, FO, SNO e SO. Foram realizadas duas repetições contendo 15 embriões, estes extraídos com auxílio de estilete e pinça e acondicionados em microtubos contendo solução fixadora paraformaldeído (PFA) 4% e tampão estabilizador de microtubulos (MSB - *Microtubule Stabilizing Buffer* (50 mM PIPES - Ácido 1,4-Piperazinediethanesulfônico, 5 mM EGTA - Ácido tetra-acético de etileno glicol, 5 mM MgSO₄ - Sulfato de magnésio) (Figura 08A, B).

Figura 08 – Coleta de embriões para análises citológicas. (A) Excisão do embrião. (B) Acondicionamento do embrião para análise imunocitoquímica.



Fonte: Autor

Para a detecção de β -tubulina (*western blotting*) durante o desenvolvimento foram utilizados embriões de sementes a partir dos 28 DAM, pois não foi viável realizar as análises nos estádios anteriores, e para a análise durante o teste de germinação foram utilizados os embriões de sementes nos períodos de 0, 24, 48, 72 e 96 horas de embebição em água dos tratamentos FNO, FO, SNO e SO. Foram realizadas 3 repetições contendo 15 embriões, estes extraídos com auxílio de estilete e pinça (Figura 08A) e nitrogênio líquido e acondicionados em ultrafreezer a -80°C (Sanyo, Mod. MDF U53VC).

Para contagem dos núcleos (citometria de fluxo) durante o desenvolvimento foram utilizados embriões de sementes a partir dos 28 DAM, pois não foi viável realizar as análises nos estádios anteriores, sendo realizadas três repetições contendo 10 embriões, estes extraídos com auxílio de estilete e pinça (Figura 08A) e nitrogênio líquido e acondicionados em ultrafreezer a -80°C (Sanyo, mod. MDF U53VC).

4.5.2. Análise Imunocitoquímica

Para análise qualitativa do citoesqueleto microtubular, após a coleta, as amostras passaram por etapas de fixação, desidratação e infiltração para serem emblocadas em resina de BMM (Butilmetilmetacrilato), todo o procedimento foi realizado em capela de exaustão. Na etapa de fixação, assim que as radículas foram coletadas, os tubos foram colocados em

forno hibridizador (Autoblot, Mod. Bellco Glass Inc), agitando constantemente em temperatura ambiente durante quatro horas, seguida de quatro lavagens em tampão MSB durante trinta minutos cada. Em seguida, na etapa de desidratação, as amostras foram desidratadas com trocas de solução de etanol absoluto e etanol nas concentrações de 10 a 100% com 10 mM de ditioneitol (DTT), sendo agitados nas concentrações de 10, 30 e 50% durante trinta minutos, e mantidos em pernoite na concentração de 70%, e na manhã seguinte agitados por períodos de uma hora subsequente nas concentrações de 96 e 100%.

A etapa de infiltração consistiu em trocas da solução de etanol com BMM nas proporções (3:1/1:1/1:3), por duas horas cada, e com BMM 100% pernoite. Em etapa seguinte, as amostras foram colocadas em cápsulas contendo BMM absoluto a fim de passarem por polimerização em luz ultravioleta sob a temperatura de -20°C (Carrier – Mod. F550) durante um período de 12 h, conforme metodologia proposta por Baskin (1992), modificada por De Castro et al. (2000) e Faria et al. (2005).

Após o emblocamento das amostras, foram feitos cortes semi-finos (1,5 µm) em ultra micrótomo (Leica, Mod. EM UC7), sendo os mesmos dispostos em lâminas pré-tratadas. Utilizou-se vapor do clorofórmio para esticar os cortes e em seguida levou-se as lâminas para aquecimento até a completa evaporação da água, utilizando-se para tal placa aquecedora ajustada a 50°C.

Para a marcação com anticorpo, inicialmente as lâminas com os cortes histológicos foram colocadas em berço para lavagem. As etapas de lavagem consistiram em exposição das lâminas em acetona absoluta por duas vezes durante 10 minutos sob agitação constante, seguida de lavagem em solução tampão fosfato salina (PBS) (2,7M de Cloreto de Sódio (NaCl), 0,2M de Fosfato Dissodico (Na_2HPO_4), 0,05M de Cloreto de Potássio (KCl) e 0,03M de Fosfato Monopotássico (KH_2PO_4)) pH 7,5, também por duas vezes durante 10 minutos. Em seguida, foi realizada a imersão em solução de Cloridrato de Hidroxilamina 0,1M (HAH) durante cinco minutos e, posteriormente, enxágue em tampão PBS pH 7,5 durante 5 minutos, sempre sob agitação constante.

Em etapa posterior, as seções foram imersas em uma solução bloqueadora (1% de albumina de soro bovino (BSA) em PBS pH 7,5) por 30 minutos, passaram por três lavagens em solução de BSA acetilado (0,01% de BSAC e PBS pH 7,5), durante 5 minutos cada, sob agitação constante. Após estas etapas, foi realizada uma secagem nas lâminas com papel filtro e marcação em torno dos cortes com a caneta hidrofóbica. Os cortes marcados foram incubados com anticorpo monoclonal anti α -tubulina (produzido em camundongo) “pernoite”

à 4°C, na ausência de luz. No dia seguinte, realizou-se quatro lavagens durante 15 minutos cada, em solução de PBS pH 7,5 com 0,01% de BSAc, transferindo as lâminas da caixa escura para o berço de lavagem de lâminas.

As lâminas foram secas com papel filtro, tomando-se o cuidado para não danificar os cortes e incubadas com anticorpo secundário anti IgG de camundongo produzido em cabra por duas horas a temperatura ambiente (25°C, aproximadamente). Nesta etapa todo o procedimento foi feito com o mínimo de luz, sendo que as lâminas foram acondicionadas em uma caixa escura. Após este procedimento, foram realizadas quatro lavagens adicionais de 15 minutos em solução de PBS pH 7,5 com 0,01% de BSAc, sendo os cortes cobertos por Citifluor AF2 (glicerol) a fim de reduzir o clareamento da fluorescência e fechados com lamínulas. Posteriormente os cortes foram analisados no microscópio de fluorescência com câmera acoplada (Olympus, Mod. BX51), utilizando-se para tal o filtro de excitação azul, com comprimento de onda de 450 a 490 nm.

4.5.3. Detecção da β -tubulina

4.5.3.1. Extração de proteínas

Para análise qualitativa do acúmulo de β -tubulina, primeiramente os embriões foram triturados com auxílio do aparelho Dismembrator (Sartorius, Mod. Mikro-Dismembrator S). Os embriões congelados foram transferidos para microtubos específicos para trituração, e junto com os embriões foi colocado uma esfera de metal com diâmetro de 3 mm. O microtubo congelado foi colocado no aparelho, e o mesmo foi configurado a 2.000 RPM durante dois minutos.

A extração das proteínas foi feita utilizando o tampão Laemmli (1970) modificado, (62,5mM de Tris-HCL, SDS 2% (p/v), 15 mg.mL⁻¹ de DTT, glicerol 12,5% (w/v), em pH 9.0) sendo que o pH da solução foi ajustado com ácido clorídrico (HCl) e auxílio de um peagâmetro Homis, Mod. PH 016). As amostras foram pesadas em balança analítica com precisão de 0,0001g (Shimadzu, Mod. AUX 220) e a solução tampão de extração foi adicionada na proporção de 1:1 ($\mu\text{g}.\mu\text{L}^{-1}$). O extrato foi homogeneizado em Vortex (Ika, Mod. MS 3) e aquecido em banho-maria (Polyscience, Mod. POL00010) à 100°C durante 10 minutos. Após a desnaturação das proteínas por aquecimento, o extrato foi centrifugado a 4°C durante 15 minutos a 14.000 RPM em centrífuga (Hettich, Mod. 320R). O sobrenadante

separado do resíduo precipitado (pellet) foi coletado, divididos em alíquotas de 20 μ L e congelados em ultrafreezer -80°C (Sanyo, mod. MDF U53VC).

4.5.3.2. Quantificação de proteínas

Na quantificação das proteínas das amostras, utilizaram-se os procedimentos do Kit Micro-protein (Bio-Rad), modificado a partir do método descrito por Bradford (1976).

A curva analítica foi preparada utilizando-se solução estoque de albumina sérica bovina (BSA) nas concentrações de 0,5 a 10 μ g.mL⁻¹, como padrão. Para a análise das amostras foi utilizada uma alíquota de 1 μ L do extrato bruto diluído em 799 μ L de água ultrapura totalizando 800 μ L, acrescentando 200 μ L do reagente de Bradford, contido no Kit BIO-RAD Protein Assay. A leitura das amostras foi realizada em triplicatas, em espectrofotômetro (GE, Mod. Ultrospec 7000), no comprimento de onda de 595 nm. A concentração das proteínas nas amostras foi calculada usando-se a equação obtida no cálculo de regressão linear da curva analítica com BSA padrão.

4.5.3.3. SDS-PAGE

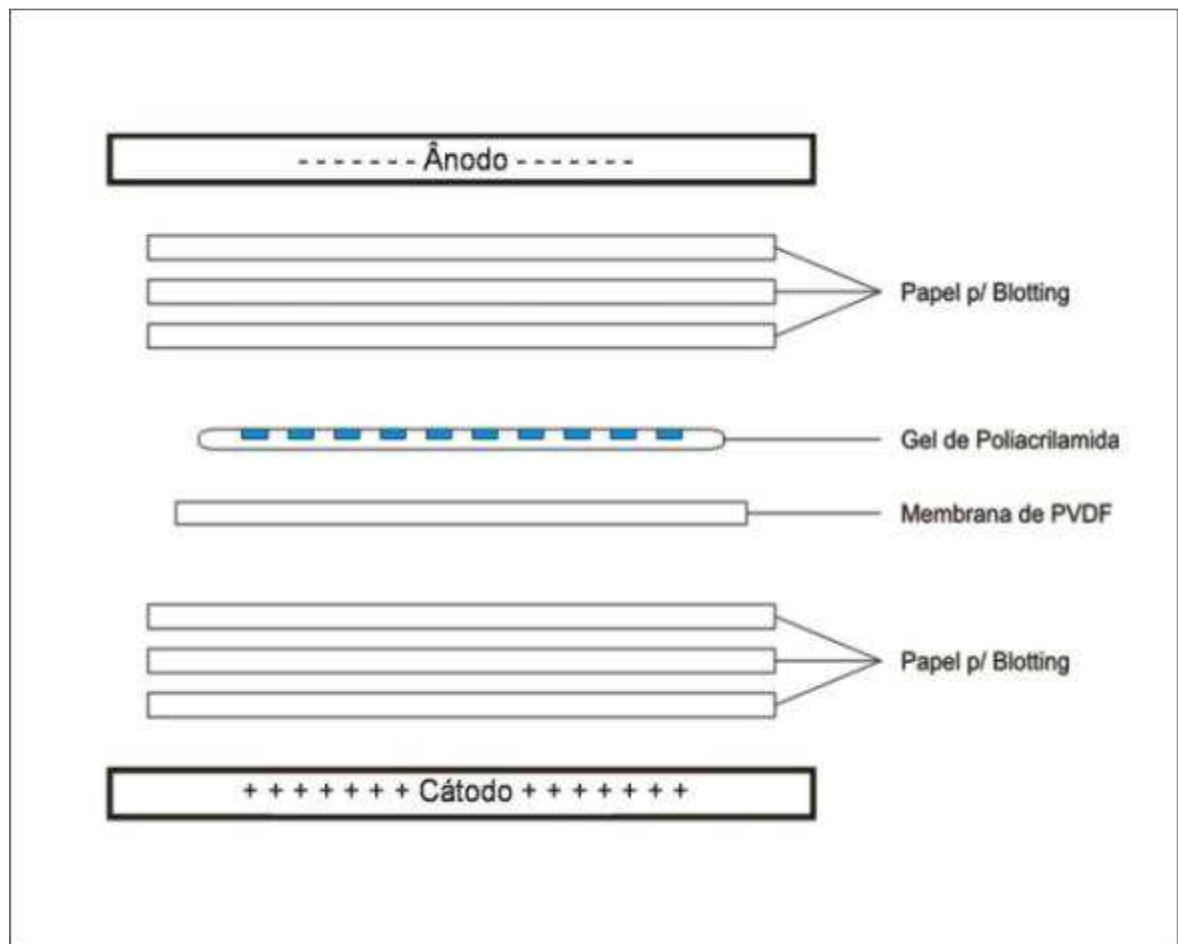
A eletroforese foi realizada em gel descontínuo de poliacrilamida contendo SDS (dodecil-sulfato de sódio), sendo o gel separador a 12,5% (Acrilamida 12,5% (p/v), 0,375 M de solução Tris pH 8,8, SDS 0,1% (p/v), TEMED 0,146% (v/v), Persulfato de Amônia 0,1% (p/v) e água ultrapura) e o gel empilhador a 4,5% (Acrilamida 4,5% (p/v), 0,125 M de solução Tris pH 6,8, SDS 0,1% (p/v), TEMED 0,2% (v/v), Persulfato de Amônia 0,14% (p/v) e água ultrapura). O marcador utilizado foi o High-Range Rainbow (12 – 225 KDa) da GE. As amostras foram ajustadas para a concentração de 30 μ g de proteínas totais e para tal foram diluídas em solução tampão de extração contendo azul de bromofenol, sendo aplicados 30 μ L por poço, sendo aplicado o padrão de tubulina pura de bovino na concentração de 30 ng (Molecular Probes cod n° T-7451).

Para a corrida eletroforética foi utilizado aparelho de eletroforese vertical (Amersham Biosciences, Mod. mini VE e SE 400) e fonte (GE, Mod. EPS 601) programada em 300 V, 30 mA por aproximadamente duas horas.

4.5.3.4. Eletrotransferência (*western blotting*)

Após a corrida, a faixa dos géis contendo as bandas de interesse (55 KDa para detecção da β -tubulina) foram cortadas com o auxílio de um estilete, medidas com uma régua graduada e imersas no tampão de transferência (tris 25 mM, glicina 192 mM e metanol 10 % em pH 8,7). Foi montado um sanduíche e a faixa de interesse do gel foi posta em contato com uma membrana de Difluoreto de Polivinilidina (PVDF da Roche/Boehringer Mannheim) e acondicionada entre seis pedaços de papel para *blotting* Hoefer (Amersham) (Figura 09), ambos também umedecidos em tampão de transferência pelo tempo mínimo de cinco minutos. Em seguida, foi realizada a eletrotransferência em sistema da Amersham-Biosciences (Mod. TE 77 PWR) ajustado a 200 mA, sob temperatura ambiente, durante duas horas, em tampão de transferência.

Figura 09 – Esquema ilustrativo da montagem do sanduiche da eletrotransferência.



Fonte: Autor

4.5.3.5. Detecção imunoquimioluminescente de β -Tubulina

Após a eletrotransferência, a membrana foi lavada em TBST (tampão tris salino + Tween 20 0,5%) pH 7,5, imersa em solução bloqueadora 1% pernoite a 4°C e, posteriormente, encubada durante 60 minutos em solução de anticorpo primário (anti β -Tubulina/anticorpo monoclonal produzido em camundongo) na concentração de 1 $\mu\text{g mL}^{-1}$ diluído em solução bloqueadora 0,5 %.

Em etapa seguinte, a membrana foi lavada duas vezes por 10 minutos em volumes abundantes de TBST e duas vezes por 10 minutos em volumes abundantes de solução bloqueadora 0,5 %. Após as lavagens, foi então encubada em solução de 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de anticorpo secundário (produzido em caprino, contra IgG de camundongo, conjugado com peroxidase) diluído em solução bloqueadora 0,5 % durante 60 minutos, sendo em seguida lavada por quatro vezes durante 15 minutos em grande volumes de TBST. Posteriormente, a membrana foi exposta a solução de detecção (Roche, BM Chemiluminescence Western Blotting Kit) no volume de 125 $\mu\text{L cm}^{-2}$ e acondicionada entre folhas de transparência em um cassete de revelação.

O cassete foi levado para uma sala escura, onde os filmes (Amersham, Hyperfilm-ECL) foram cortados e marcados para posterior identificação. Em seguida, os filmes foram revelados em solução específica (Revelador Kodak) por cinco minutos em seguida lavados em água destilada e expostos à solução fixadora por no mínimo cinco minutos.

4.5.4. Citometria de Fluxo

As radículas congeladas foram colocadas em placas de petri contendo 1 mL da solução tampão de isolamento de núcleos (10 mM $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 50 mM KCL, 5 mM Hepes, 1 mg mL^{-1} DTT, 2,5 mg. mL^{-1} PVP 40 e Triton x-100 1% (w/v) em pH 8,0) conforme descrições de Faria e colaboradores (2005) e Arumuganathan (1991).

Para a calibração do citômetro foram utilizadas folhas de mamona (50 mg). Estas foram trituradas com o auxílio de uma lâmina em placa de petri contendo três gotas do tampão de isolamento de núcleos cortando as folhas por várias vezes com o auxílio de uma lâmina. Em seguida foi acrescentado 500 μL de tampão sobre as folhas e o sobrenadante foi pipetado e filtrado em um microtubo utilizando-se uma malha de nylon de 25 μm .

Os embriões de mamona durante o desenvolvimento foram colocados separadamente em placas de Petri e fragmentadas com o auxílio de uma lâmina, adicionando-se três gotas do tampão de isolamento de núcleos. Posteriormente, adicionou-se 500 μL de tampão sobre as radículas, a suspensão foi pipetada e filtrada em um tubo através de uma malha de nylon de 25 μm , para a eliminação de fragmentos celulares não desejáveis, obtendo-se apenas os núcleos celulares.

Foi adicionado à suspensão filtrada 5 μL de RNase ($50 \mu\text{g mL}^{-1}$), aguardou-se um tempo de cinco minutos e a seguir adicionados 80 μL de uma solução estoque de Iodeto de Propídio (1 mg mL^{-1}), mantidos por aproximadamente 10 minutos até o momento da realização da leitura em citômetro.

Após estes procedimentos as análises foram realizadas em um aparelho de fluxo citométrico (BD, Mod. FACS Calibur) em comprimento de onda de 488 nm. Foram avaliados 30.000 núcleos. Foi utilizado o software Summit 4.2 DakoCytomation para processamento dos histogramas e a análise dos dados obtidos. Os resultados foram expressos baseados na porcentagem da quantidade total de núcleos nos picos do histograma.

4.6. Análises estatísticas

4.6.1. Análises estatísticas do desenvolvimento

Os testes estatísticos durante o desenvolvimento de semente de mamona foram realizados com os dados de morfometria de frutos e sementes, o teor de umidade, o conteúdo de matéria seca e a porcentagem de núcleos 4C. Os dados foram analisados através de análise de normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk, e análise de variância, pelo a média dos tratamentos comparadas empregando teste de Tukey a 0,05% de significância, estes realizados no programa SISVAR (Versão 5.0). Posteriormente, calculou-se os coeficientes de correlação simples de Pearson (ρ) para o teor de umidade e morfometria de frutos e sementes, o conteúdo de matéria seca e a porcentagem de núcleos 4C.

4.6.2. Análise estatística da germinação

Os testes estatísticos foram realizados com os dados coletados até completar 96 horas do início do teste de germinação. Os parâmetros avaliados foram porcentagem de germinação

(G), Tempo para 50% da germinação total (T50), Uniformidade (U8416), Área Abaixo da Curva (AAC) e Tempo Médio de Germinação (TMG), estes gerados no programa Germinator (JOSEN et al, 2010). Os dados foram analisados através de análise de normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk, e para comparação entre médias foi utilizado o teste t de Student a 0,05% de probabilidade e a análise de variância, pelo teste de Tukey a 0,05% de significância (SANTANA & RANAL, 2004), estes realizados no programa SISVAR (Versão 5.0).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A inflorescência do cultivar EBDA-MPA11 é protegida por um par de brácteas e uma folha, em que as brácteas desprendem-se e caem ao solo com cerca de três a cinco dias e a folha persiste, crescendo normalmente (Figura 10A). Em geral, estigmas em mamona possuem coloração clara logo após a antese, tornando-se mais escuros e avermelhados após a fecundação (RIZZARDO, 2007), o que foi observado no presente estudo com 7 DAM (Figura 10B), indicando que a ocorrência precoce da antese e fecundação, quando comparado a outros estudos em que a abertura dos botões florais em mamona ocorreu com 8 a 10 dias após o surgimento da inflorescência (SEVERINO et al., 2007).

O tempo que as flores levam para se abrir vai depender de características da variedade, sendo as variedades com flores que se abrem precocemente bastante procuradas por apresentarem características como: curto período para colheita, reduzindo os riscos em regiões com precipitação irregular; mais colheitas por ano; e por serem facilmente adaptáveis a diferentes sistemas de cultivo (WEISS, 2000; RIZZARDO, 2007; ANJANI, 2010).

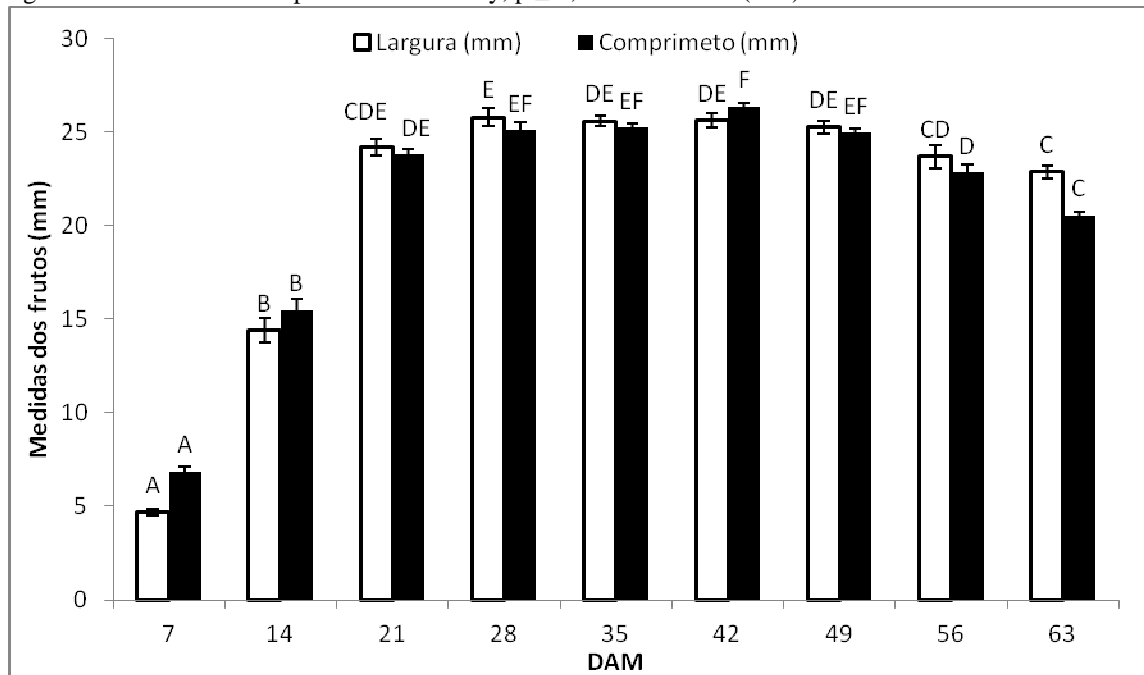
Figura 10. Inflorescência de mamona (*Ricinus communis* L.) cultivar MPA11. A) Inflorescência destacando as brácteas e folha. B) Inflorescência após 7 dias, destacando os estigmas avermelhados.



Fonte: Autor

Logo após a fecundação das flores femininas, iniciou-se o crescimento dos frutos, os quais apresentaram um expressivo aumento em largura entre 7 DAM ($4,68 \pm 0,51$ mm) até os 28 DAM ($25,79 \pm 1,53$ mm), seguido por uma leve diminuição aos 35 DAM ($25,59 \pm 0,77$ mm), a qual se manteve constante até os 49 DAM. No estágio de 56 DAM, foi observado outro decréscimo culminando na largura média de $22,87 \pm 1,03$ mm aos 63 DAM. Quanto ao comprimento, houve um significativo aumento do estágio de 7 DAM ($6,85 \pm 0,81$ mm) até o estágio de 28 DAM ($25,10 \pm 1,30$ mm). Após esse estágio o comprimento foi aumentando lentamente alcançando $26,34 \pm 0,74$ mm no estágio de 42 DAM, subsequentemente, houve uma diminuição do comprimento, culminando nos $20,52 \pm 0,66$ mm aos 63 DAM (Figura 11). Segundo Severino e colaboradores (2007), como não há mudanças morfológicas significativas entre flores femininas e frutos, não é possível visualizar as etapas de desenvolvimento, sendo o tamanho do fruto a única característica que se pode acompanhar externamente, mas esta característica isoladamente não é suficiente para indicar em que fase está a semente internamente.

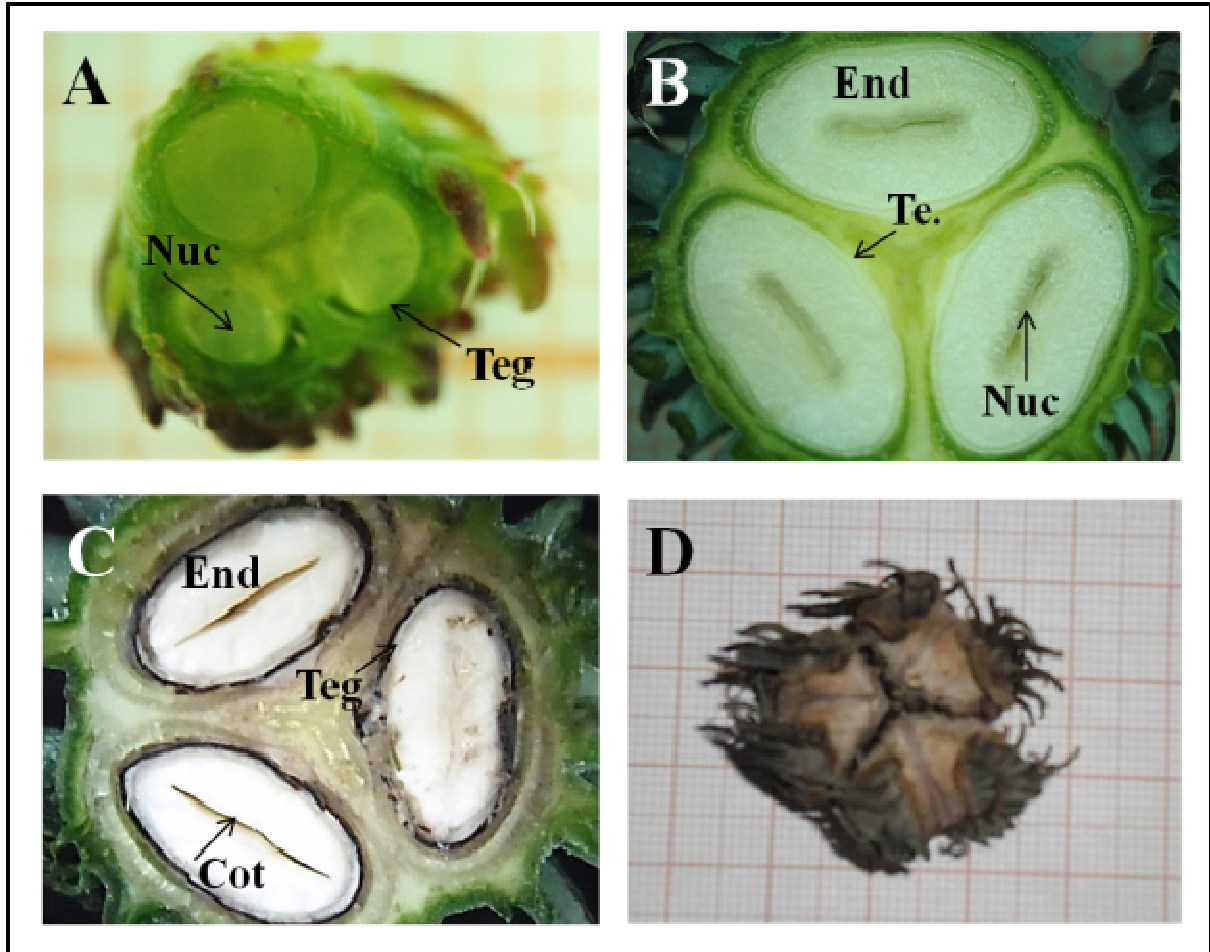
Figura 11 – Gráfico representativo dos valores médios da largura e comprimento de frutos de mamona (*Ricinus communis* L.) cultivar MPA11, durante o desenvolvimento. Barra com mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, $p \leq 0,05$. Milímetros (mm)



Fonte: Autor

Os frutos de mamona são triloculares, sendo que a coloração dos frutos do cultivar MPA 11 da EBDA segue verde até os 49 DAM modificando para a cor marrom aos 56 DAM (Figura 12), segundo Severino e colaboradores (2007) os frutos de mamona estão completamente maduros quando eles mudam de cor e secam, e em média, em cultivares de ciclo médio, isso ocorre cerca de 90 dias após a abertura das flores. Estes resultados corroboram com os dados descritos anteriormente, como indicativo de que a cultivar em estudo apresenta ciclo precoce.

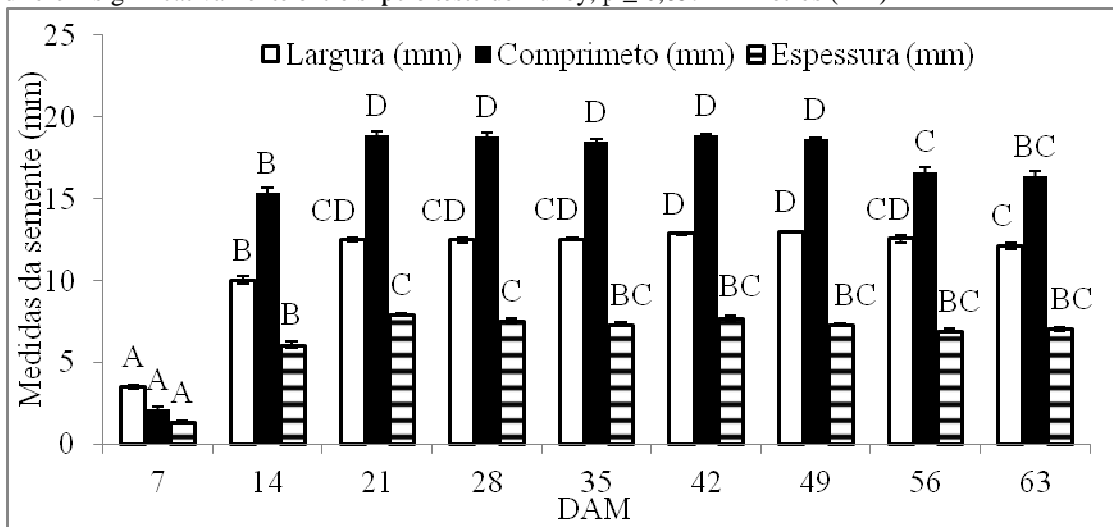
Figura 12 – Frutos de mamona (*Ricinus communis* L.) cultivar MPA11. (A) Corte transversal de fruto e sementes com 7 dias após a marcação (DAM) com amplificação de 2x .0,8x; (B) Corte transversal de fruto e sementes com 21 DAM; (C) Corte transversal de fruto e sementes com 35 DAM; (D) Fruto com 56 DAM. Nuc. = Nucela; Teg. = Tegumento; End. = Endosperma; Cot. = Cotilédone.



Fonte: Autor

Durante o desenvolvimento, a semente de mamona apresenta um significativo aumento da largura do estádio de 7 DAM ($3,51 \pm 0,35$ mm) até os 21 DAM ($12,50 \pm 0,37$ mm), permanecendo constante até o estádio 35 DAM com um leve aumento aos 42 DAM ($12,88 \pm 0,21$ mm), já no estádio de 56 DAM, a largura decai chegando aos $12,12 \pm 0,69$ mm no estádio 63 DAM. Em relação ao comprimento, podemos verificar que ocorreu um expressivo aumento dos 7 DAM ($2,15 \pm 0,37$ mm) até o estádio de 21 DAM ($18,90 \pm 0,61$ mm), permanecendo constante até os 49 DAM, seguido de um decréscimo aos 56 DAM, obtendo $16,36 \pm 1,08$ mm aos 63 DAM. Quanto à espessura, houve um significativo aumento dos 7 DAM ($1,35 \pm 0,21$ mm) até os 21 DAM ($7,95 \pm 0,27$ mm), permanecendo constante até os 28 DAM, seguido de um decréscimo aos 35 DAM ($7,33 \pm 0,37$ mm) o qual permaneceu constante até os 63 DAM (Figuras 13).

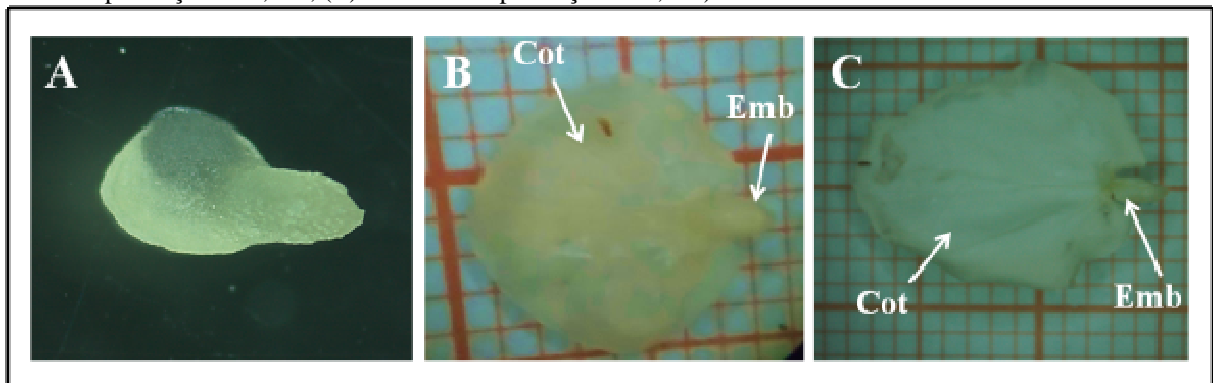
Figura 13 – Gráfico representativo dos valores médios da largura, comprimento e espessura de sementes de mamona (*Ricinus communis* L.) cultivar MPA11 durante o desenvolvimento. Barra com mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, $p \leq 0,05$. Milímetros (mm)



Fonte: Autor

Na figura 13 é possível analisar que após os 21 DAM as sementes atingem o seu maior tamanho durante o desenvolvimento, neste mesmo período ainda é observada a presença da nucela e o embrião está no estágio torpeda (Figuras 12B, 14A e 16C). O eixo embrionário e o cotilédone foliáceo são observados a partir dos 28 DAM (Figura 14B). Corroborando com Carvalho e Nakagawa (2000) que observaram de modo geral, que as sementes crescem rapidamente em tamanho, atingindo o tamanho máximo num curto período de tempo, antes mesmo de completar o processo de maturação fisiológica.

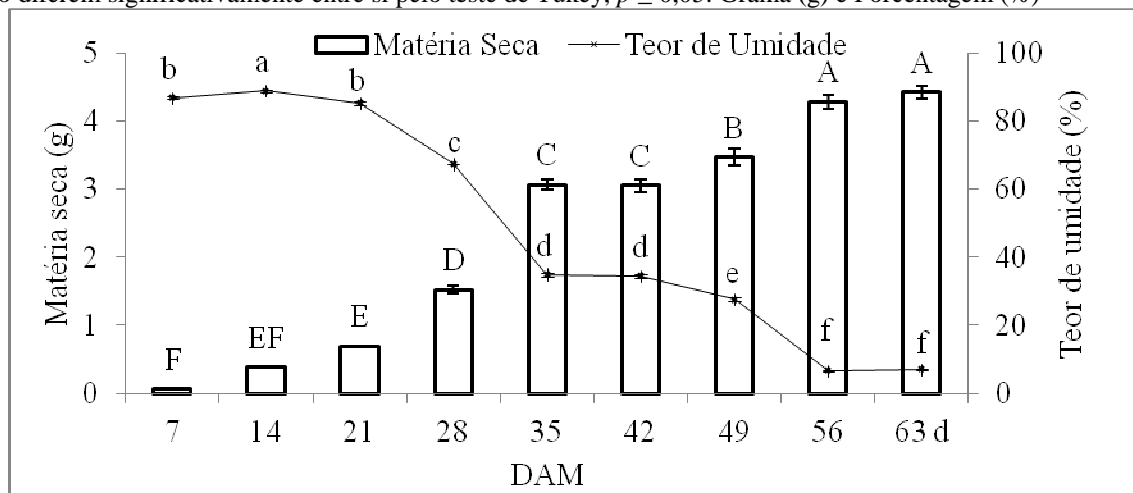
Figura14 – Embrião de sementes de mamona (*Ricinus communis* L.) cultivar MPA11 em diferentes estágios do desenvolvimento. (A) 21 dias após a marcação (DAM) amplificação de 4,5x, embrião em estágio torpeda; (B) 28 DAM amplificação de 0,65x; (C) 35 DAM amplificação de 0,65x). Cot. = Cotilédone. Eix. = Eixo embrionário.



Fonte: Autor

As sementes com 7 DAM apresentam conteúdo de matéria seca de $0,06 \pm 0,004$ g chegando as $0,68 \pm 0,022$ g aos 21 DAM, ocorrendo um expressivo aumento até os 28 DAM, chegando a $3,06 \pm 0,148$ g aos 35 DAM, permanecendo constante até os 42 DAM, seguido de um aumento gradual até os 56 DAM quando permanece constante até os 63 DAM ($4,42 \pm 0,180$ g). O inverso é observado no teor de umidade, que permanece superior a 85% dos 7 aos 21 DAM, decrescendo até $67,36 \pm 0,20\%$ aos 28 DAM, chegando a $34,97 \pm 1,08\%$ com 35 DAM, e assim como a matéria seca, permanece constante até os 42 DAM, voltando a decair com 49 DAM, se estabilizando aos 56 DAM ($6,66 \pm 0,15\%$) (Figura 15).

Figura 15 - Matéria seca (g) e teor de umidade (%) em sementes de mamona (*Ricinus communis* L.) cultivar MPA11, durante o desenvolvimento. Colunas com mesma letra maiúscula e pontos com mesma letra minúscula não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, $p \leq 0,05$. Grama (g) e Porcentagem (%)



Fonte: Autor

Como pode ser observado na Tabela 3, o conteúdo de matéria seca apresenta uma forte correlação negativa com o teor de umidade, sendo observado um valor de ρ de $-0,9952$. Já medidas de largura e comprimento dos frutos apresentam uma fraca relação negativa com o teor de umidade, com valores de ρ de $-0,5619$ e $-0,5019$.

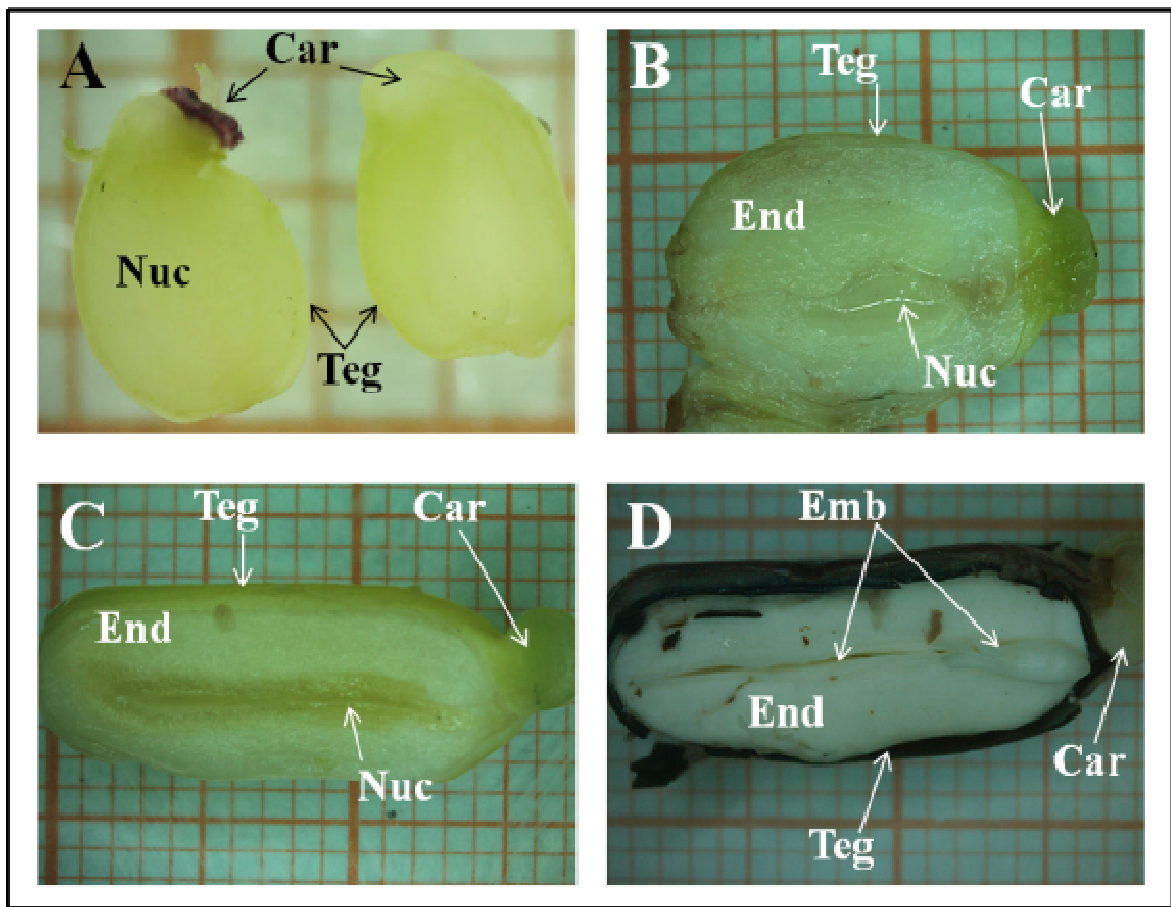
Tabela 03 - Coeficiente de correlação de Pearson (ρ) entre o teor de umidade e as variáveis de morfometria de frutos e sementes, e matéria seca de sementes de mamona (*Ricinus communis* L.) cultivar MPA11.

	LF	CF	LS	CS	ES	MS	4C
TU	-0,5619	-0,5019	-0,5407	-0,3925	-0,4130	-0,9952	0,9189
R ²	0,3157	0,2519	0,2924	0,1541	0,1706	0,9905	0,8443

LF = largura frutos; CF = comprimento de frutos; LS = largura de sementes; CS = comprimento de sementes; ES = espessura de sementes; MS = matéria seca; 4C = porcentagem de núcleos 4C

Segundo Moshkin (1986), em mamona até cerca de 20 dias após o aparecimento das inflorescências, as sementes encontram-se na fase chamada "leitosa", quando apresenta apenas tecido nucelar em seu interior. Desta forma, a fase leitosa do cultivar MPA 11 progride até 14 DAM quando as sementes apresentam apenas a carúncula, o tegumento e a nucela (Figuras 12A e 16A), a partir de quando foi observado o início da formação do endosperma em substituição a nucela (Figura 16B), corroborando com os dados descritos anteriormente, sendo mais um parâmetro que indica o cultivar MPA 11 como de ciclo precoce. Foram observados embriões estágio torpeda aos 21 DAM, ainda na presença de nucela (Figuras 12B, 14A e 16C). Não foram mais observada a presença de nucela aos 35 DAM, quando foi possível distinguir o cotilédone e o eixo embrionário (Figura 16D).

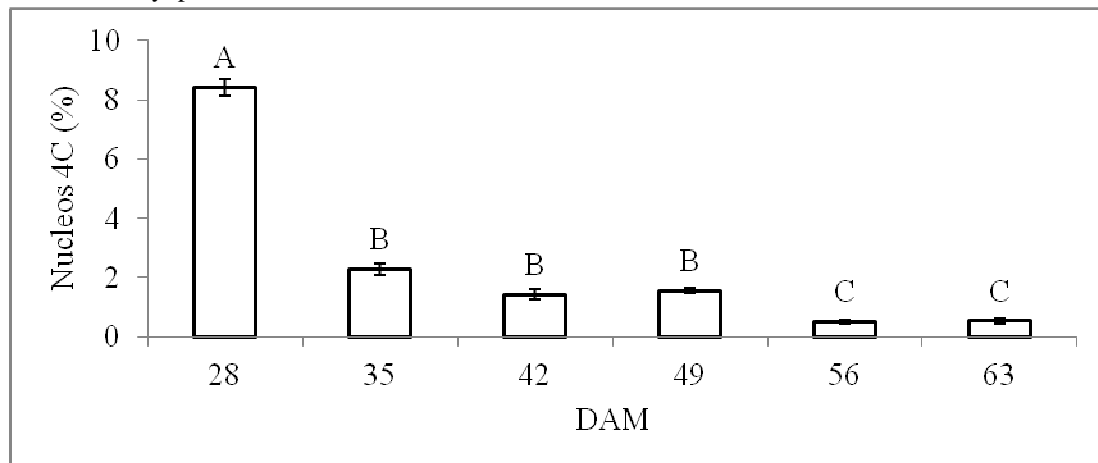
Figura 16 - Sementes de mamona (*Ricinus communis* L.) cultivar MPA11. (A) Corte sagital de semente com 7 dias após a marcação (DAM) amplificação 2x . 1,25x; (B) Corte sagital de semente com 14 DAM; (C) Corte longitudinal de semente com 21 DAM amplificação 0,65x; (D) Corte longitudinal de semente com 35 DAM amplificação 0,65x. Nuc. = Nucela; Teg. = Tegumento; End. = Endosperma; Cot. = Cotilédone; Car. = Carúncula; Emb. = Embrião. Eix. = Eixo embrionário.



Fonte: Autor

Durante o desenvolvimento de sementes de mamona, o conteúdo de núcleos 4C característico da fase G2 (interfase), houve expressivo decréscimo de $8,41 \pm 0,50\%$ para $2,27 \pm 0,33\%$ entre 28 e 35 DAM, permanecendo este constante até os 49 DAM, e voltando a decair com 56 DAM culminando em $0,51 \pm 0,10\%$, que permaneceram constantes até os 63 DAM (Figura 17). Observou-se forte relação positiva entre o teor de umidade e a porcentagem de núcleos 4C (ρ de 0,9189) (Tabela 03), corroborando com Kermode e Bewley (1989), que observaram o decréscimo no teor de umidade como sendo responsável pela redução do metabolismo durante o desenvolvimento, levando a uma interrupção no processo de síntese e replicação do DNA.

Figura 17 - Porcentagem (%) de núcleos 4C em radículas de sementes de mamona (*Ricinus communis* L.) cultivar MPA11, durante o desenvolvimento. Colunas com mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, $p \leq 0,05$.



Fonte: Autor

A análise imunocitoquímica por meio de microscopia de imunofluorescência (Figura 18A), permitiu observar aos 28 DAM uma abundante rede de citoesqueleto microtubular cortical (indicados pelas setas), a qual aparentemente começa a ser degradada a partir dos 35 DAM mediante a observação concomitante de grânulos fluorescentes representativos da depolimerização de microtúbulos em agregados de tubulinas. Sendo que em embriões com 42 e 49 DAM verificou-se apenas grânulos de tubulina que já não estavam mais presentes a partir dos 56 DAM.

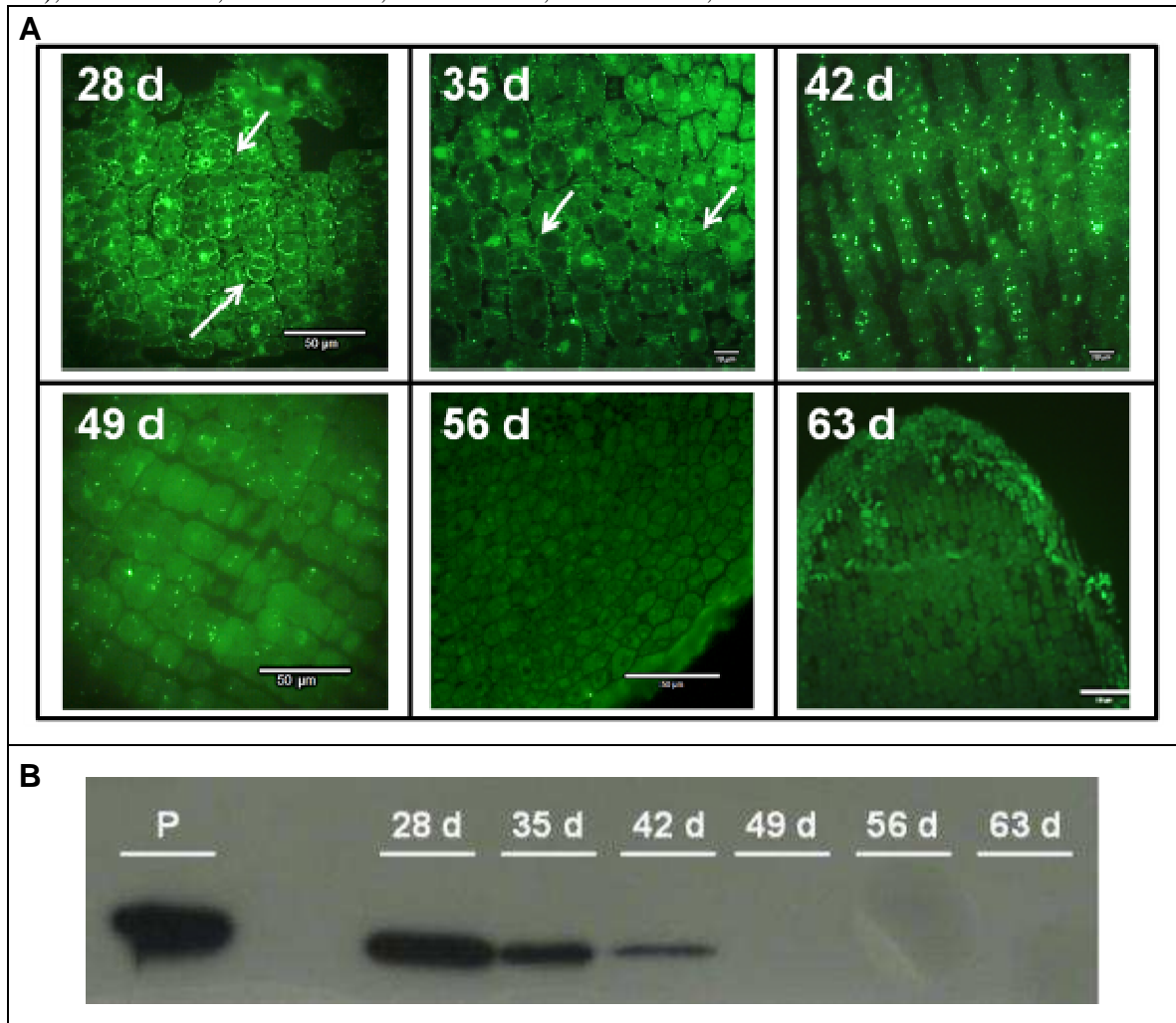
A fase de histodiferenciação de sementes é marcada pelo crescimento da semente perto de seu tamanho final, um teor de umidade de aproximadamente 85%, intensas divisões celulares (porcentagem de núcleos 4C $\geq 15\%$) e a presença de citoesqueleto mitótico e cortical (CARVALHO & NAKAGAWA, 2000; DE CASTRO & HILHORST, 2000; SEVERINO & AULD 2013a). Como pode ser verificado nas Figuras 13 e 15, o aumento

expressivo da largura, comprimento e espessura ocorre dos 7 aos 21 DAM, com o teor de umidade superior a 85% durante esse período. Quando o tamanho máximo é atingido, este sofre um decréscimo gradativo a medida que a semente seca, no entanto, as medidas de largura, comprimento e espessura de sementes apresentam uma fraca relação negativa com o teor de umidade, com valores de ρ de -0,5407, -0,3925 e -0,4130 respectivamente (Tabela 03). Esses resultados combinados com a porcentagem de núcleos 4C inferior a 15% e a ausência do citoesqueleto mitótico a partir dos 28 DAM (Figuras 17 e 18A) sugerem que a fase de histodiferenciação ocorreu até os 21 DAM, sendo observado durante essa fase o embrião em seu estágio torpedo (Figura 14A).

O embrião completa a sua morfogênese por meio de expansão celular resultante do acúmulo expressivo de matéria seca durante a fase de maturação, em contrapartida ao decréscimo no teor de umidade para aproximadamente 60%, que por sua vez responde à redução do metabolismo durante o desenvolvimento, levando a uma interrupção no processo de síntese e replicação do DNA ocorrendo apenas à presença de citoesqueleto cortical, finalizando a formação do embrião por expansão e alongamento celular (KERMODE & BEWLEY 1989; DE CASTRO & HILHORST, 2000; MUNIER-JOLAIN et al., 2008).

De acordo com os resultados observados, pode-se inferir que a morfogênese ocorreu durante os 28 DAM, quando foi observado decréscimo no teor de umidade para 67,36%, aumento expressivo da matéria seca (0,69 g para 1,52 g), 8,41% de núcleos 4C e presença abundante de citoesqueleto cortical (Figuras 15, 17 e 18A), sendo possível observar o eixo embrionário e cotilédone foliáceo do embrião (Figura 14B). Segundo Severino e colaboradores (2007) as sementes de mamona com 30 dias após a inflorescência apresentam teor de umidade superior a 85% estando ainda na fase de morfogênese. Estes resultados corroboram com os dados descritos anteriormente que sugerem que a cultivar em estudo apresenta ciclo precoce.

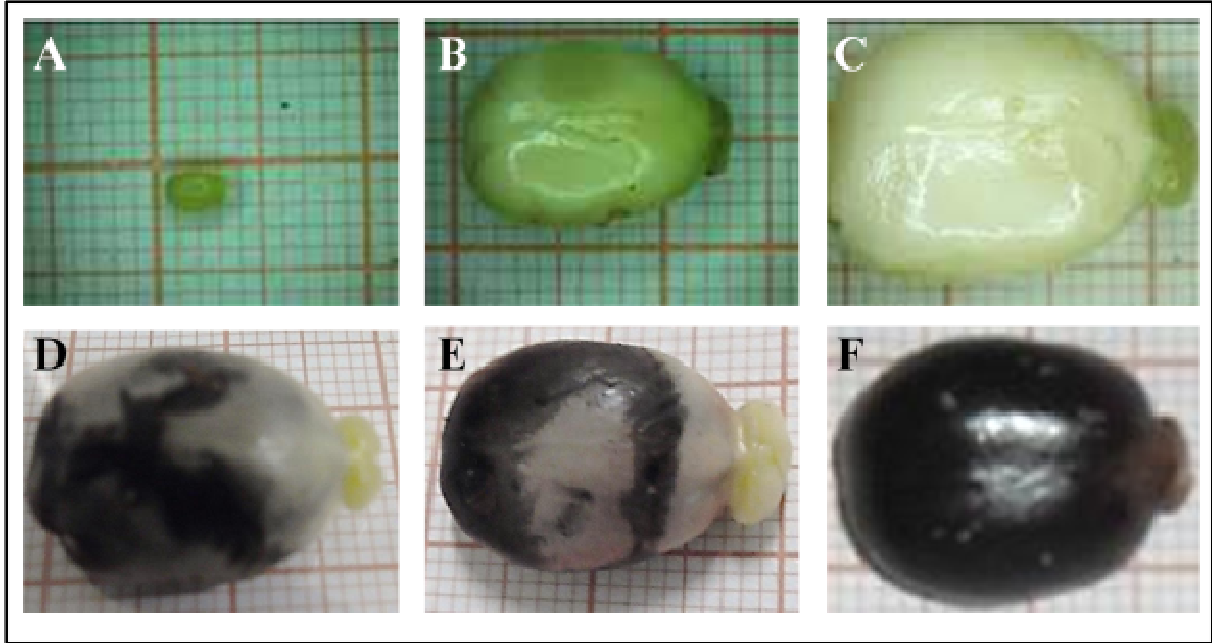
Figura 18 – Ciclo célula em radículas extraídas de sementes de mamona (*Ricinus communis* L.) cultivar MPA11, durante o desenvolvimento. (A) Fotomicrografias representativas do citoesqueleto microtubular. Setas indicam microtúbulos. (B) Acúmulo de β -tubulina (P – Tubulina padrão, 30 ng). 28d: 28 dias após a marcação (DAM); 35d: 35 DAM; 42d: 42 DAM; 49d: 49 DAM; 56d: 56 DAM; 63d: 63 DAM.



Fonte: Autor

Aos 28 DAM quando as sementes estavam na fase de morfogênese foi observado o início de pigmentação do tegumento, estando o tegumento completamente pigmentado aos 49 DAM (Figura 19), discordando de Severino e colaboradores (2007) que descreve o início da maturação em sementes de mamona ocorrer paralelamente ao início da pigmentação do tegumento.

Figura 19 – Pigmentação do tegumento de sementes de mamona (*Ricinus communis* L.) cultivar MPA11. (A) Semente com 7 dias após a marcação (DAM) amplificação 0,65x; (B) Semente com 14 DAM amplificação 0,65x; (C) Semente com 21 DAM amplificação 0,65x; (D) Semente com 28 DAM amplificação 0,65x; (E) Semente com 35 DAM amplificação 0,65x; (F) Semente com 49 DAM amplificação 0,65x.



Fonte: Autor

Durante o desenvolvimento das sementes a detecção da β -tubulina no embrião decresceu dos 28 aos 42 DAM, estando ausente a partir dos 49 DAM (Figura 18B). O decréscimo da detecção da β -tubulina, concomitantemente com a degradação gradual do citoesqueleto microtubular cortical durante as fases de histodiferenciação e morfogênese, constituem eventos indicativos do início da maturação (DE CASTRO & HILHORST, 2000; TAIZ & ZEIGER, 2009). Em geral, a fase de maturação se inicia quando o embrião completa a sua formação, sendo alcançado o máximo conteúdo de matéria seca e teor de umidade de aproximadamente 35% em sementes de milho, girassol e mamona, correspondendo ao ponto de maturidade fisiológica obtida (BORRÁS & WESTGATE, 2006; RONDANINI et al., 2007; VALLEJOS et al., 2011).

Desta forma, pode-se inferir que no presente estudo as sementes de mamona completaram a maturidade fisiológica e iniciaram a fase de maturação aos 35 DAM, quando foi observado o embrião completamente formado, teor de umidade de 35%, início da degradação do citoesqueleto cortical e decréscimo na detecção da β -tubulina (Figuras 14C, 15 e 18). Neste período não foi mais observada a presença de nucela (Figura 16D), desta forma

pode-se inferir que a ausência de nucela é um indicativo de que a semente já alcançou a maturidade fisiológica.

Em sementes de mamona das variedades FAUBA 1 e AL GUARANI 2002, a maturidade fisiológica foi completada quando as sementes alcançaram respectivamente o teor de umidade de 20,3 e 22,4% (VALLEJOS et al, 2011). Em sementes da variedade BRS Nordestina a maturidade fisiológica foi alcançada aos 60 dias após a inflorescência com teor de umidade de 45,6% (SEVERINO et al., 2007). Estes resultados corroboram com os dados descritos anteriormente que sugerem que a variedade em estudo apresenta ciclo precoce, quando comparadas à variedade BRS Nordestina, tida como de ciclo longo.

As sementes ortodoxas estão maduras após passarem pelo processo de dessecação e atingirem o seu menor teor de umidade, nessa fase a porcentagem de núcleos 4C é baixíssima e a β -tubulina esta ausente (KERMODE & BEWLEY, 1985; DE CASTRO & HILHORST, 2000). Desta forma, pode-se inferir que as sementes estavam maduras a partir dos 56 DAM, quando os valores do teor de umidade e porcentagem de núcleos 4C se estabilizaram (6,66% e 0,5%, respectivamente) e a tubulina estava ausente (Figuras 15, 17 e 18), sendo observado que o amadurecimento das sementes ocorre paralelamente ao amadurecimento dos frutos (Figura 12D). O teor de umidade detectado foi compatível com os de sementes maduras de outros cultivares de mamona (KERMODE & BEWLEY, 1985; JUNIOR, 2009; CARVALHO et al, 2010; MACHADO et al., 2010; LUZ, 2012).

De acordo com o teste de Shapiro-Wilk os parâmetros avaliados seguem a distribuição normal. Segundo Santana e Ranal (2004), quando os dados obtidos apresentam uma distribuição normal os testes paramétricos podem ser realizados. A secagem das sementes com 63 DAM fez com que o teor de umidade decrescesse de 6,66% para 3,57%, no entanto, na análise das médias pelo teste t de Student após embebição, pode se verificar que as sementes frescas e secas não apresentaram diferença significativa entre as médias das variáveis analisadas (Tabela 04), sendo valores semelhantes observados por Kermode e Bewley (1985), onde sementes da cultivar Hale com 60 DAM apresentaram um decréscimo no teor de umidade de 6,9% para 3,73% após a secagem, não apresentando diferença significativa durante a germinação quando comparadas com as sementes frescas.

Tabela 04 - Médias da porcentagem de germinação (G), tempo para 50% da germinação total (T50), tempo médio de germinação (TMG), uniformidade (U8416) e área abaixo da curva (AAC), em sementes de mamona (*Ricinus communis* L.) cultivar MPA11 com 63 dias após a marcação, sementes frescas e secas. C.V.: Coeficiente de Variação

Tratamentos	Variáveis				
	G (%)	T50 (h)	TMG (h)	U8416 (h)	AAC
Frescas	98,50	37,95	40,71	33,20	56,92
Secas	96,00	34,80	36,36	21,16	59,53
C.V. (%)	1,81	7,61	8,96	26,45	3,83

Na coluna, médias seguidas de * diferem significativamente entre si pelo teste t de Student, a $\alpha = 0,05$.

No entanto, quando comparada às médias das sementes com e sem osmocondicionamento pelo teste t de Student após embebição, houve diferença significativa, nos quais as sementes osmocondicionadas apresentaram melhor TMG (h) e AAC, melhorando a velocidade de germinação, o que é compatível com efeitos positivos de *priming* resultantes do osmocondicionamento (CHEN & ARORA, 2013). Para os outros parâmetros analisados não houve diferença significativa (Tabela 05). Estes resultados discordam dos obtidos por Teles (2013), que observou que sementes de mamona do cultivar MPA 11 da EBDA colhidas com mais de 63 dias após a inflorescência e armazenadas, não apresentaram melhorias na velocidade da germinação nem na uniformidade quando osmocondicionadas, não ocorrendo efeitos de osmocondicionamento.

A porcentagem de germinação das sementes osmocondicionadas foi de 97,5%, segundo Souza e colaboradores (2007) e Gois e colaboradores (2007), sementes de mamona das cultivares BRS Paraguaçu, BRS Nordestina, Mirante 10 e AL Guarani, submetidas à osmocondicionamento a -1,0 MPa, germinaram respectivamente a 92, 31, 69 e 15%, permitindo inferir que o osmocondicionamento a -1,0 MPa não é eficaz para todas as cultivares de mamona. Ao passo que no presente estudo osmocondicionamento de sementes de mamona aumentou significativamente a velocidade de germinação após embebição em água quando comparadas com as sementes não osmocondicionadas, obtendo um TMG (h) de 32,7 e uma AAC de 63,16, respectivamente 44,37 e 53,30 para as sementes não osmocondicionadas (Tabela 05), corroborando com Taylor e colaboradores (1998), que observaram que o osmocondicionamento pode proporcionar um aumento da velocidade de germinação em sementes de mamona.

Tabela 05 - Médias da porcentagem de germinação (G), tempo para 50% da germinação total (T50), tempo médio de germinação (TMG), uniformidade (U8416) e área abaixo da curva (AAC), em sementes de mamona (*Ricinus communis* L.) cultivar MPA11 com 63 dias após a marcação, sementes e osmocondicionadas e não osmocondicionadas com solução de polietilenoglicol PEG 8000. C.V.: Coeficiente de Variação

Tratamentos	Variáveis				
	G (%)	T50 (h)	TMG (h)	U8416 (h)	AAC
Não Osmocondicionadas	97,00	42,74	44,37*	22,00	53,30*
Osmocondicionadas	97,50	30,00	32,70*	32,30	63,16*
C.V. (%)	0,36	23,55	20,65	22,05	11,25

Na coluna, médias seguidas de * diferem significativamente entre si pelo teste t de Student, a $\alpha = 0,05$.

Através da análise de variância pelo teste de Tukey, pode ser observado que a combinação entre os tratamentos de secagem e osmocondicionamento em sementes de mamona, aumentou significativamente, a velocidade de germinação após embebição em água quando comparada com os demais tratamentos, obtendo um T50 (h) de 27 e um TMG (h) de 29 sendo os piores valores observados no tratamento controle (FNO) para 43 e 45 dias. Para os outros parâmetros analisados não houve diferença significativa (Tabela 06). Sementes da cultivar MPA 11 colhidas com mais de 63 dias após a inflorescência e armazenadas, apresentaram T50 (h) de 63,3 quando submetidas à osmocondicionamento a -1,0 MPa (TELES, 2013). Podendo inferir que o tratamento de osmocondicionamento de sementes de mamona do cultivar MPA 11 a -1,0 MPa é indicado para sementes que não passaram por armazenamento.

Tabela 06 - Médias da porcentagem de germinação (G), tempo para 50% da germinação total (T50), tempo médio de germinação (TMG), uniformidade (U8416) e área abaixo da curva (AAC), em sementes de mamona (*Ricinus communis* L.) cultivar MPA11 com 63 dias após a marcação, submetidas aos tratamentos fresca não osmocondicionada (FNO), frescas osmocondicionadas (FO), secas não osmocondicionadas (SNO) e secas osmocondicionadas (SO). C.V.: Coeficiente de Variação

Tratamentos	Variáveis				
	G (%)	T50 (h)	TMG (h)	U8416 (h)	AAC
FNO	98 a	43 b	45 b	26 a	53,5 a
FO	99 a	33 ab	36 ab	40 a	60,4 a
SNO	96 a	41 b	43 ab	21 a	54,2 a
SO	96 a	27 a	29 a	24 a	66,0 a
C.V. (%)	4,07	13,57	18,96	73	12,65

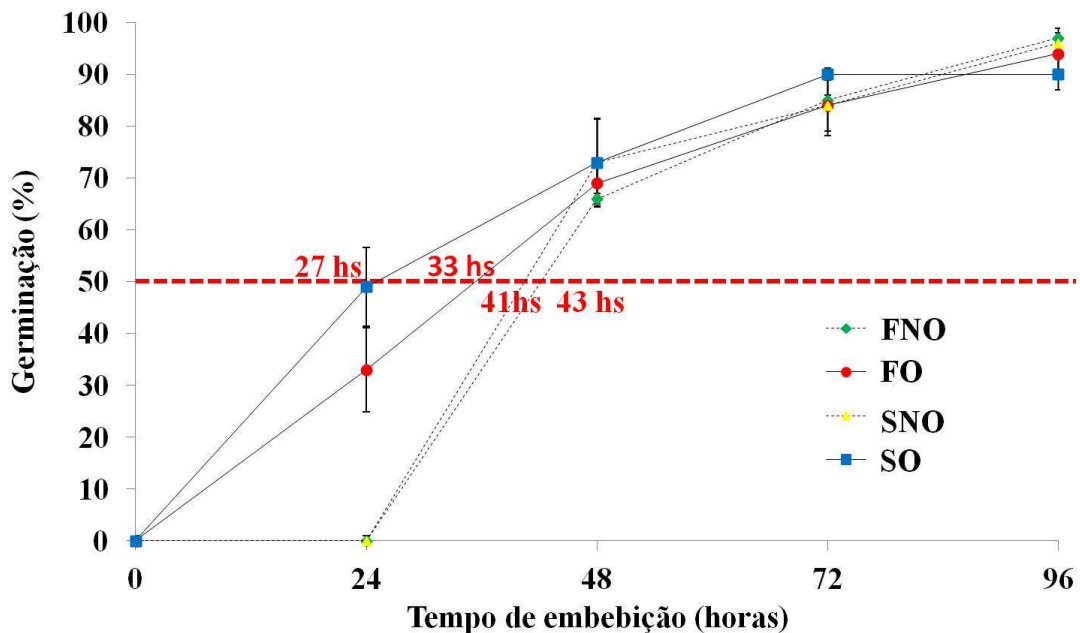
Na coluna, médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 0,05 de probabilidade.

As sementes frescas e secas não osmocondicionadas germinaram com 48 h de embebição em água, sendo nesse período observado citoesqueleto microtubular em

configurações mitóticas e o acúmulo de grânulos de tubulina foi detectado com 24 horas de embebição (Figura 20 e 21A). Estes resultados discordam dos obtidos por Teles (2013) que em sementes de mamona do cultivar MPA 11 colhidas com mais de 63 dias após a inflorescência, secas em campo e armazenadas a 4°C, observou em sementes não osmocondicionadas a presença de poucos grânulos de tubulina dispersos no citoplasma das células antes da embebição, verificando com 24 h de embebição em água acúmulo em abundância de citoesqueleto microtubular em configurações corticais e mitóticas, sendo que as sementes germinaram com 48h de embebição.

Por outro lado, tanto as sementes frescas como as secas osmocondicionadas, apresentaram grânulos de tubulina antes da embebição em água, com a germinação ocorrendo com 24 h após a embebição, sendo que nesse período foi observado apenas citoesqueleto microtubular em configuração cortical, enquanto configurações mitóticas só foram observadas após 48 h de embebição (Figura 20 e 21A). Segundo Barrôco e colaboradores a ocorrência de citoesqueleto microtubular em configurações mitóticas, pode ser considerada como marcadores exclusivos para a divisão celular. Contudo, a visualização das matrizes de microtúbulos corticais permite a identificação do alongamento das células (BARRÔCO et al., 2005). Desta forma, pode-se inferir que as sementes que passaram por osmocondicionamento germinaram por alongamento celular, com divisões celulares após a germinação. Já nas sementes não osmocondicionadas a divisão foi observada paralelamente a germinação.

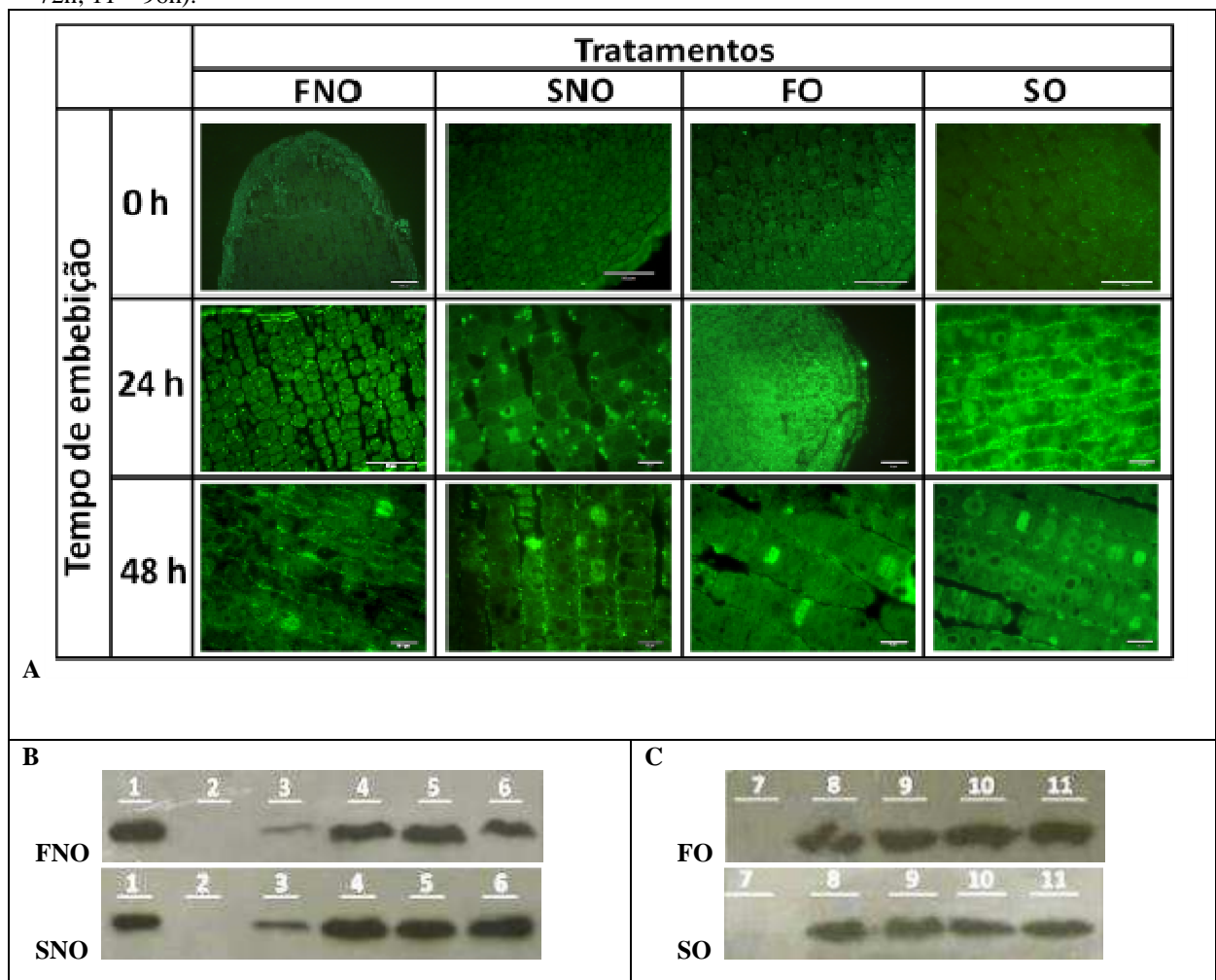
Figura 20 - Germinação e tempo de embebição em sementes de mamona (*Ricinus communis* L.) cultivar MPA11 com 63 dias após a marcação, submetidas aos tratamentos de secagem e osmocondicionamento. Linha tracejada em vermelho indica o Tempo para 50% da germinação total (T50).



Fonte: Autor

De acordo com a Figura 21B, durante a embebição em água das sementes dos tratamentos frescas e secas sem osmocondicionamento, a β -tubulina foi detectada após 24 h de embebição, tendo o seu acúmulo aumentado após 48 h, permanecendo constante até as 96 h. Estes resultados estão correlacionados com as configurações do citoesqueleto microtubular, observadas na Figura 21A. No entanto nas sementes que passaram pelo osmocondicionamento, a detecção da β -tubulina foi observada com 24 h permanecendo constantes até as 96 h (Figura 21C). Os grânulos de tubulina visualizados no tempo 0 h de embebição das sementes osmocondicionadas (Figura 21A), não foram detectados na Figura 21C, devido ao fato dos grânulos de tubulina nessa fase não serem solúveis.

Figura 21 - Fotomicrografias representativas do citoesqueleto microtubular e acúmulo de β -tubulina em radículas de sementes de mamona (*Ricinus communis* L.) cultivar MPA11 com 63 dias após a marcação, submetidas aos tratamentos fresca não osmocondicionada (FNO), frescas osmocondicionadas (FO), secas não osmocondicionadas (SNO) e secas osmocondicionadas (SO). A) Citoesqueleto microtubular B) FNO e SNO (1–Tubulina padrão 30 ng; 2 – 0h; 3 – 24h; 4 – 48h; 5 – 72h; 6 – 96h). C) FO e SO (7 – 0h; 8 – 24h; 9 – 48h; 10 – 72h; 11 – 96h).



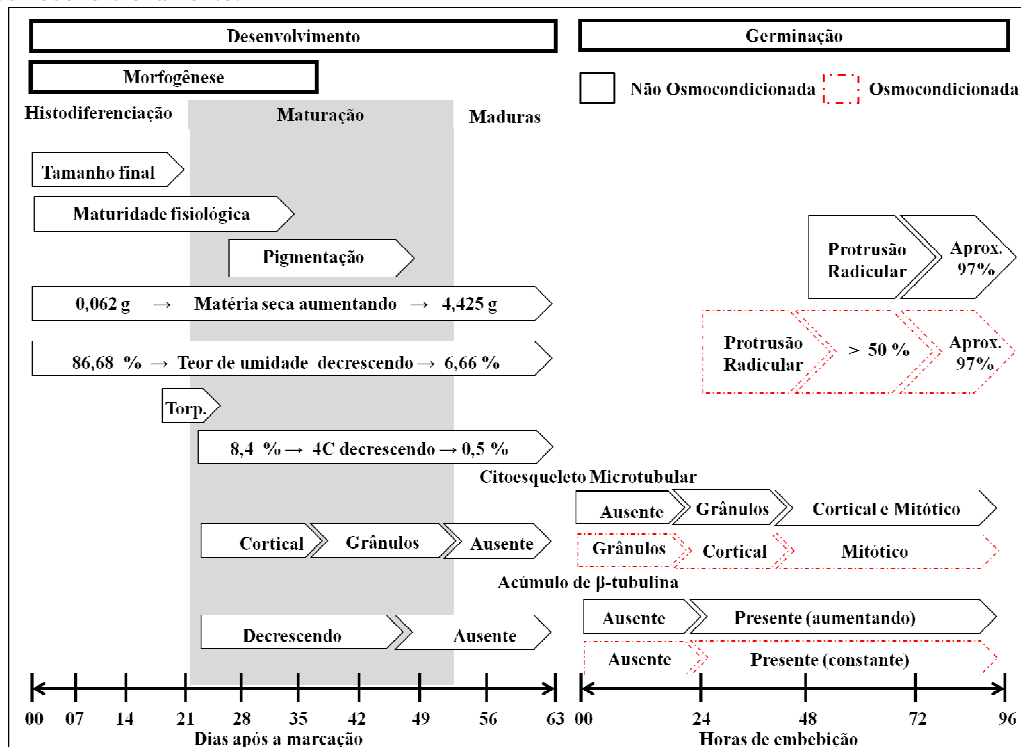
Fonte: Autor

O estudo da proteína tubulina tem sido utilizado como marcador molecular com a finalidade de se detectar níveis de atividade do ciclo celular, com pesquisas relacionadas ao desenvolvimento, germinação e dormência, envigoroamento (*'priming'*) e tolerância à dessecação em sementes (DE CASTRO et al., 1995, 1998, 2000, 2001; SACANDÉ et al., 1997; GORNIK et al., 1997; JING et al., 1999; PAWLOWSKI et al, 2004; SILVA et al., 2008; CARVALHO et al., 2013). Os microtúbulos podem ser utilizados para demonstrar a dinâmica das mudanças estruturais durante a progressão do ciclo celular em células vegetais superiores, onde desempenham importantes papéis na morfogênese celular, podendo variar na formação das matrizes de microtúbulos, tanto em configurações corticais, como configurações mitóticas dentre as quais, bandas pré-prófase e o fragmoplasto são estruturas encontradas somente em plantas (HASEZAWA & KUMAGAI, 2002).

Desta forma, os resultados obtidos sugerem que o osmocondicionameto permitiu que as sementes iniciassem a Fase I da germinação, alcançando a Fase II fazendo com que a semente reativasse o seu metabolismo preparando a semente para a germinação. Portanto, estes dados corroboram com o que foi descrito por Carvalho e colaboradores (2000), onde o osmocondicionamento consiste na hidratação controlada das sementes até um determinado nível de modo a permitir a ocorrência das etapas iniciais do processo de germinação, sem, contudo, ocorrer germinação.

Baseado nos dados obtidos foi proposto um modelo funcional inicial representativo das fases de desenvolvimento e germinação de sementes de mamona (Figura 22).

Figura 22 – Sementes de mamona (*Ricinus communis* L.) cultivar MPA11: modelo funcional do desenvolvimento e germinação de sementes com 63 dias após a marcação, submetidas a osmocondicionamento.



Fonte: Autor

6. CONCLUSÃO

Em comparação com outras variedades e cultivares a MPA11 da EBDA mostrou-se precoce, com suas sementes alcançando a maturidade fisiológica aos 35 DAM estando às mesmas maduras aos 56 DAM, sendo esta uma das características que indicam a MPA11 da EBDA como uma cultivar promissora para o semiárido nordestino.

Os resultados obtidos apontam o estudo do ciclo celular e análises fisiológicas como ferramentas fundamentais para a caracterização e definição das fases de desenvolvimento e germinação em sementes de mamona. O tratamento de secagem aplicado às sementes maduras, não resultou em diferenças significativas. No entanto, o osmocondicionamento permite que as sementes iniciem etapas do processo de germinação, resultando em efeitos positivos de *priming* por meio de melhoria na velocidade de germinação após re-embebição em água.

Neste estudo, um modelo de desenvolvimento e germinação de sementes de mamona do cultivar MPA11 da EBDA é proposto, o que representa um avanço na compreensão do desenvolvimento e germinação de sementes de mamona, servindo como base para estudos

futuros. Determinar as fases de desenvolvimento de sementes, principalmente a maturidade fisiológica pode ser útil para definir o momento que as sementes podem passar pelo tratamento de secagem, visando antecipar a colheita, podendo precaver possíveis danos bióticos ou abióticos que são comuns na região do semiárido.

Assim abre-se a possibilidade de se desenvolver e adequar às técnicas de osmocondicionamento ou *priming* de modo que possam ser aplicadas pelo agricultor antes da semeadura de modo a garantir melhores chances de sucesso no estabelecimento da lavoura sob condições de escassez de água ou chuvas no plantio ou pós-semeadura.

7. REFERÊNCIAS

- ABUD, H. F.; GONÇALVES, N. R.; REIS, R. DE G. E.; GALLÃO, M. I.; INNECCO, R. Morfologia de sementes e plântulas de Cártamos. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 41, n. 2, p. 259-265, 2010.
- ADAMS, C. A.; RINNE, R. W. Seed maturation in soybeans (*Glycine max* L. Merr.) is independent of seed mass and of the parent plant, yet is necessary for the production of viable seeds. **Jornal os Experimental Botany**, v. 32, p. 615-620, 1981.
- AIRES, R.F.; SILVA, S.D.A.; EICHOLZ, E.D. Análise de crescimento de mamona semeada em diferentes épocas. **Ciência Rural**, v. 41, n. 8, p. 1347-1353, 2011.
- ALBUQUERQUE, U. P. de; ANDRADE, L. H. C. Uso de recursos vegetais da caatinga: o caso do agreste do estado de Pernambuco (nordeste do Brasil). **Interciência**, v. 27, n. 7, p. 336-347, 2002.
- ALMEIDA, C. F. C. B. R.; ALBUQUERQUE, U. P. Uso e conservação de plantas e animais medicinais no estado de Pernambuco (Nordeste do Brasil): Um estudo de caso. **Interciência**, v. 27, n. 6, p. 276-285, 2002.
- AMORIM NETO, M. da S.; ARAÚJO, A. E. de; BELTRÃO, N. E. de M. Clima e solo. In: AZEVEDO, D. M. P de; LIMA, E. F. (Ed.). **O agronegócio da mamona no Brasil**. Brasília: Informação Tecnológica, p.63-76, 2001.
- ANJANI, K. Extra-early maturing germplasm for utilization in castor improvement. **Industrial Crops and Products**, v. 31, p. 139–144, 2010
- ARUMUGANATHAN, K.; EARLE, E. D. Estimation of nuclear DNA content of plants by flow cytometry. **Plant Molecular Biology Reporter**, v. 9, n. 3, p. 208-218, 1991.
- AZEVEDO, D. M .P.; LIMA, E. F. (Ed.). **O Agronegócio da mamona no Brasil**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 380 p., 2007.

- AZEVEDO, D. M. P. de; LIMA, E. F.; BATISTA, F. A. S. **Recomendações técnicas para o cultivo da mamoneira (*Ricinus communis* L.) no Brasil**. Campina Grande: CNPA, 52p., 1997.
- AZEVEDO, J. I. S. **Morfologia, maturação e produção de sementes**. Lavras: ESAL/DEMA, 1977.
- BAGNIEWSKA-ZADWORNA, A. The root microtubule cytoskeleton and cell cycle analysis through desiccation of *Brassica napus* seedlings. **Protoplasma**, v. 233, p. 177-185, 2008.
- BALDONI, Aisy Botega. **Acúmulo de ricina em sementes de mamona e silenciamento do gene em plantas geneticamente modificadas**. 2010. 71 f. Tese (Doutorado em Biologia Molecular)-Universidade de Brasília, Brasília, 2010.
- BANZATTO, N.V.; CANÉCHIO FILHO, V.; SICHMANN, W. **Melhoramento da mamoneira (*Ricinus communis* L.)**. Campinas –São Paulo, Instituto Agronômico de Campinas – IAC(Circular técnica 61), 17p., 1976.
- BARRÔCO, R. M.; POUCKE, K. V.; BERGERVOET, J. H. W.; DE VEYLDER, L.; GROOT, S. P. C.; INZE, D.; ENGLER, G. The Role of the Cell Cycle Machinery in Resumption of Postembryonic Development. **Plant Physiology**. v.137, p.127–140, 2005.
- BASKIN, T. I.; WILLIAMSON, W. E. Ethylene, microtubules and root morphology in wild-type and mutant Arabidopsis seedlings. **Curr. Top. Plant Biochem. Physiol.** v.11, p.118-130,1992.
- BDMG - BANCO DE DESENVOLVIMENTO DE MINAS GERAIS. **Aspectos de mercado para o óleo de mamona “castor oil”**. Belo Horizonte. 15 p., 2000.
- BELTRÃO, N. E. DE M.; CARTAXO, W. V.; PEREIRA, S. R. P.; SOARES, J. J.; SILVA, O. R. R. F. **O cultivo sustentável da mamona no semiárido brasileiro**. Campina Grande: Embrapa CNPA, 23p., 2005.
- BELTRÃO, N. E. M.; SOUZA, J.G.; SANTOS, J.W.; JERÔNIMI, J.F.; COSTA, F.X.; LUCENA, A.M.A.; QUEIROZ, U.C. Fisiologia da mamoneira, cultivar brs 149 nordestina, na fase inicial de crescimento, submetida a estresse hídrico. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, v. 7, n. 1, p.659-664, 2003.
- BELTRÃO, N. E. M.; OLIVEIRA, M. I. P. **Ecofisiologia das culturas de algodão, amendoim, gergelim, mamona, pinhão-manso e sisal**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 322 p., 2011.
- BERMAN, P.; NIZRI, S.; WIESMAN, Z. Castor oil biodiesel and its blends as alternative fuel. **Biomass and Bioenergy**, v. 35, p. 2861-2866, 2011.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: Physiology of Development and Germination**. Second Edition. Plenum Press, New York, 1994.
- BEWLEY, J.D. Seed germination and dormancy. **Plant Cell**. v. 9, p. 1055-1066, 1997.
- BINO, R. J.; JALINK, H.; OLUOCH, M.O.; GROOT, S.P.C. Pesquisa para o aprimoramento de tecnologia de sementes. **Scientia Agricola**, v. 55, p.19-26, 1998.

- BINO, R.J, LANTERI, S; VERHOEVEN, H.A; KRAAK, H. L. Flow cytometric determination of nuclear replication stages in seed tissues. **Ann Bot.**, v.72, p.181-187, 1993.
- BORRÁS, L., WESTGATE, M.E. Predicting maize kernel sink capacity early in development. **Crop Res.**, v. 86, p. 131–146, 2006.
- BORGES, E. E. L.; SILVA, L. F.; BORGES, R.C. Avaliação do osmocondicionamento na germinação de sementes de quaresminha (*Meconia candolleana* Triana). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 16, p. 90-94,1994.
- BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal. Biochem.**, v.72, p.248-254,1976.
- BRASIL, Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília, 3695 p., 2009.
- BRUCE, T. J. A.; MATTHES, M. C.; NAPIER, J. A.; PICKETT, J. A. Stressful “memories” of plants: Evidences and possible mechanisms. **Plant Sciences**, v.173, p.603-608, 2007.
- BRUM, B., LOPES, S.J., STORCK, L., LÚCIO, A.D., OLIVEIRA, P.H., MILANI, M. Canonical correlation between variables seed, seedling, plant and grain yield in castor bean. **Ciência Rural**, v. 41, p. 404–411, 2011.
- CAMPBELL, D.N, ROWLAND, D. L., SCHNELL, R.W., FERRELL, J.A., WILKIE, A.C. Developing a castor (*Ricinus communis* L.) production system in Florida, U.S.: Evaluating crop phenology and response to management. **Industrial Crops and Products**, v. 53, p. 217– 227, 2014.
- CANGEMI, J. M.; DOS SANTOS, A. M.; CLARO NETO, S. A revolução verde da Mamona. **Química Nova na Escola**, v. 32, p. 3-8, 2010.
- CANTANHÊDE, Ilka South de Lima. **Avaliação de novos híbridos de mamona (*Ricinus communis* L.) em condições de safra e safrinha no município de Bariri-SP**. 2009. 63 f. Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, SP. 2009.
- CARVALHO, B.C. DA S.; DA SILVA, L.X.; SOUZA, H.F. **Agricultura familiar e desenvolvimento territorial no povoado Barreiras sul - Barreiras/Bahia: Desafios e perspectivas**. In: 63ª Reunião Anual da SBPC, 2011, UFG – Goiânia/GO. Anais 63ª Reunião Anual da SBPC, 2011. v. único.
- CARVALHO, M. L. M.; VIEIRA, M. G. G. C.; PINHO, E. R. V. Técnicas moleculares em sementes. **Revista Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, UFLA. Disponível em <http://www.biotecnologia.com.br/revista/bio17/17_tmes.pdf>, Acesso em: 20.07.2013.
- CARVALHO, N.M; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. Jaboticabal: Funep, 588 p., 2000.
- CHAN, A. P.; CRABTREE, J.; ZHAO, Q.; LORENZI, H.; ORVIS, J.; PUIU, D.; MELAKE-BERHAN, A.; JONES, K. M.; REDMAN, J.; CHEN, G.; CAHOON, E. B.; GEDIL, M.; STANKE, M.; HAAS, F.; WORTMAN, J. R.; FRASER-LIGGETT, C. M.; RAVEL, J.; RABINOWICZ, P. D. Draft genome sequence of the oilseed species *Ricinus communis*. **Nature Biotechnology**, v.28, p. 951-959, 2010.

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

CHLAN, C. A.; DURE, L. I. Plant seed embryogenesis as a tool for molecular biology. **Mol. Cell Biochem**, v.55, p.5-15, 1983.

COMAI, Lucio; HARADA, John J. Transcriptional activities in dry seed nuclei indicate the timing of the transition from embryogeny to germination. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 87, n. 7, p. 2671-2674, 1990.

COOPMAN, V.; LEEUW, M. D.; CORDONNIER, J.; JACOBS, W. Suicidal death after injection of a Castor bean extract (*Ricinus communis* L.). **Forensic Science International**, v.189, p.13-20, 2009.

COSTA, Ticiana Leite. **Características Físicas e Físico-químicas do Óleo de duas Cultivares de Mamona**. 2006. 113 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola). Universidade Federal de Campina Grande, Paraíba, 2006.

DE CARVALHO, R. L.; POTENGY, G. F.; KATO, K. **PNPB e Sistemas Produtivos da Agricultura Familiar no Semiárido: Oportunidades e Limites**. In: VIII Congresso da Sociedade Brasileira de Sistemas de Produção, 2010, Maranhão. Anais VIII Congresso da Sociedade Brasileira de Sistemas de Produção. 2010. v. único.

DE CASTRO R.; HILHORST, H. W.M. Dormancy, germination and the cell cycle indeveloping and imbibing tomato seeds. **R. Bras. Fisiol. Veg.** v. 12, p. 105-136, 2000.

DE CASTRO, R. D.; BINO, R. J; JING, H. C.; KIEFT, H.; HILHORST, H. W. M. Depth of dormancy in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) seeds is related to the progression of the cell cycle prior to the induction of dormancy. **Seed Science Research**, v. 11, p. 45-54, 2001.

DE CASTRO, R. D.; HILHORST, H. W. M. Hormonal control of seed development in GA- and ABA-deficient tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill. cv. Moneymaker) mutants. **Plant Science**, v. 170, n. 3, p. p.462-470, 2006.

DE CASTRO, R. D.; VAN LAMMEREN, A. A. M.; GROOT, S. P. C.; BINO, R. J.; HILHORST, H. W. M. Cell division and subsequent radicle protrusion in tomato seeds are inhibited by osmotic stress but DNA synthesis and formation of microtubular cytoskeleton are not. **Plant Physiology**, v.122, p.327–335, 2000.

DE CASTRO, R. D.; ZHENG, X.; BERGERVOET, J. H. W.; RIC DE VOS, C. H.; BINO, R. J. B-Tubulin accumulation and DNA replication in imbibing tomato seeds. **Plant Physiology**, v.109, p.499–504, 1995.

DE CASTRO, Renato Delmondez. **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, Holanda, 1998.

DEMANT, C. A. R.; AULD, D.; DEMANT, A. R. M. Development of a bioassay to quantify the ricin toxin content of castor bean (*Ricinus communis* L.) seeds. **Acta Scientiarum Agronomy**, v.34, n. 4, p.397-402, 2012.

DURE, L. I. Embryogenesis and gene expression during seed formation. **Oxford Surv. Plant Mol. Cell Biol**, v.2, p.179-197, 1985.

DURE, L. I.; GREENWAY, S. C.; GALAU, G. A. Developmetal biochemistry of cottonseed embryogenesis and germination: changing messenger ribonucleic acid populations as shown by in vitro protein synthesis. **Biochem.** v. 20, p.4162-4168, 1981.

EMBRAPA. **Sistema de Produção de Mamona**. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Mamona/SistemaProducaoMamona.htm>> Acesso em: 12/01/2014

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA –EMBRAPA. **Centro Nacional de Pesquisa em Algodão, CNPA -(Campina Grande, PB)**. Disponível em:<http://www.cnpa.embrapa.br/produtos/mamona/apresentacao.html>. Acessado em 28/10/2010.

ESTANISLAU, W. T. **Modelo funcional de desenvolvimento de sementes de cafeeiro (Coffea Arabica L.)**. 2002. 125 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2002.

FARIA, J. M. R.; BUITINK, J.; LAMMEREN, A. A. M. V.; HILHORST, H. W. M. Changes in DNA and microtubules during loss and re-establishment of desiccation tolerance in germinating *Medicago truncatula* seeds. **Journal of Experimental Botany**, v. 56, n. 418, p. 2119–2130, 2005.

FEDOROVA, E. E. Conformation of cytoskeletal elements during the division of infected *Lupinus albus* L. nodule cells. **Journal of Experimental Botany**, v. 58, n. 8, p. 2225–2236, 2007.

FERNANDO, R.; FERNANDO, D. N. Poisoning with plants and mushrooms in Sri Lanka: a retrospective hospital based study. **Veterinary and human toxicology**, v.32, n.6, p. 579-581, 1990.

FOUREST-LIEUVIN, A.; PERIS, L.; GACHE, V.; GARCIA-SAEZ, I.; JULLANBINARD, C.; LANTEZ, V.; JOB, D. Microtubule Regulation in Mitosis: Tubulin Phosphorylation by the Cyclin-dependent kinase Cdk1. **Mol Biol Cell**, v. 17, n. 3, p. 1041-1050, 2006.

FUNDAJ. **Caracterização do Semi-Árido**. Disponível: <http://www.fundaj.gov.br/index.php?option=com_content&view=article&id=1122%3Acaracterizacao-do-semi-arido&catid=75&Itemid=717> Acesso em: 15/06/2014

GALAU, G. A.; JAKOBSEN, K.S.; HUGHES, D. W. The controls of late dicot embryogenesis and early germination. **Physiol. Plant**, v.81, p.280-288, 1991.

GHASSEMI-GOLEZANI, K.; ALILOO, A. A.; VALIZADEH, M.; MOGHADDAM, M. Effects of Hydro and Osmo-*Priming* on Seed Germination and Field Emergence of Lentil (*Lens culinaris* Medik.). **Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj**, v.36, n.1, p. 29-33, 2008.

GOLDBERG, R.B.; DE PAIVA, G.; YEDEGARI, R. Plant embryogenesis: zygote to seed. **Science**. v. 266, p. 605-614, 1994.

GOMES, C.B. **Sistema de Produção de Mamona: Torta de mamona**. EMBRAPA Clima Temperado, 2007. Disponível em: <

<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Mamona/SistemaProducaoMamona/torta.htm>> Acesso em: 20/03/2014

GOMES, M. S.; PINHO, E. V. R. V.; PINHO, R. G. V.; VIEIRA, M. G. G. C. Efeito da heterose na qualidade fisiológica de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 22, n. 1, p.7-17, 2000.

GORNIK, K.; DE CASTRO, R. D.; LIU, Y.; BINO, R. J.; GROOT, S. P. C. Inhibition of cell division during cabbage (*Brassica oleracea* L.) seed germination. **Seed Science Research**, v.7, p.333-340, 1997.

GRATZNER, H.G. Monoclonal antibody to 5-bromo- and 5-iododeoxyuridine: a new reagent for detection of DNA replication. **Science**. v. 218, p. 474-475, 1982.

HARADA, J.J. Seed maturation and control of germination. In: LARKINS, B.A. e VASIL, I.K. (Ed.). **Cellular and Molecular Biology of Plant Seed Development**. Dordrecht, NL: Kluwer Academic Publishers, p. 545-592, 1997

HASEZAWA, S.; KUMAGAI, F. Dynamic Changes and the Role of the Cytoskeleton during the Cell Cycle in Higher Plant Cells. **International Review of Cytology**. v.214, p.161-191, 2002.

HILHORST, H. W. M; GROOT, S. P. C.; BINO, R. J. The tomato seed as a model system to study seed development and germination. **Acta Bot. Neerl.** v.47, p.169-183, 1998.

HILHORST, H. W. M. A critical update on seed dormancy. I. Primary dormancy. **Seed Sci. Res.**v.5, p. 61-73, 1995.

HOECKER, N.; KELLER, B.; PIEPHO, H. Manifestation of heterosis during early maize (*Zea mays* L.) root development. **Theoretical and Applied Genetics**, v.112, n.3, p.421-429, 2006.

I.B.G.E. **Indicadores sociais municipais 2010: incidência de pobreza é maior nos municípios de porte médio**. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=2019&id_pagina=1> Acesso em 27/10/2013.

I.N.S.A. **Semiarido Brasileiro**. Disponível em: <<http://www.insa.gov.br/>> Acesso em 05/02/2014.

IOSSI, E.; SADER, R.; MORO, F. V.; BARBOSA, J. C. Maturação fisiológica de sementes de Phoenix roebelenii O'Brien. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 1, p.147-154, 2007.

JASPEREN-SCHIB, R.; GUIRGUIS-OESCHGER, M.; GOSSWEILER, B.; MEIER-ABT, P. J. Wichtige Pflanzenvergiftungen in der schweiz 1966-1994. Eine fallanalyse aus dem schweizerischen toxikologischen informationszentrum. **Schweizerischen Medizinische Wochenschrift**, v.126, n.25, p.1085-1098, 1996.

JING, H. C.; LAMMEREN, A. A. M. V.; CASTRO, R. D.; BINO, R. J.; HILHORST, H. W. M.; GROOT, S. P. C. β -tubulina accumulation and DNA synthesis are sequentially resumed in embryo organs of cucumber (*Cucumis sativus* L.) seeds during germination. **Protoplasma**, v.208, p.230-239, 1999.

JISHA, K. C.; VIJAYAKUMARI, K.; PUTHUR, J. T. Seed *priming* for abiotic stress tolerance: an overview. **Acta Physiol Plant**, v.35, p.1381-1396, 2013.

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

JUNIOR, Joel Martins Braga. **Maturação, qualidade fisiológica e testes de vigor em sementes de mamona**. 2009. 135 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2009.

KERMODE, A. R. Regulatory mechanisms in the transition from seed development to germination: interactions between the embryo and the seed environment. In: KIGEL, J. e GALILI, G. (Ed.). **Seed Development and Germination**. New York, USA: Marcel Dekker, Inc., p. 273-332. 1995.

KERMODE, A.; DASGUPTA, J.; MISRA, S. e BEWLEY, J. D. The transition from seed development to germination: A key role for desiccation? **Horticultural Science**, v. 84, p. 167-179, 1985.

KERMODE. A. R. & BEWLEY. J. D. The Role of Maturation Drying in the Transition from Seed Development to Germination I. Acquisition of desiccation-tolerance and germinability during development of *Ricinus communis* L. seeds. **Journal of Experimental Botany**. v. 36, p. 1906-1915, 1985a.

KERMODE. A. R. & BEWLEY. J. D. The Role of Maturation Drying in the Transition from Seed Development to Germination II. Post-germinative enzyme production and soluble protein synthetic pattern changes within the endosperm of *Ricinus communis* L. seeds. **Journal of Experimental Botany**. v. 36, p. 1916-1927, 1985b.

KERMODE. A. R. & BEWLEY. J. D. The Role of Maturation Drying in the Transition from Seed Development to Germination III. Insoluble protein synthetic pattern changes within the endosperm of *Ricinus communis* L. seeds. **Journal of Experimental Botany**. v. 36, p. 1928-1936, 1985c.

KERMODE. A. R. & BEWLEY. J. D. The Role of Maturation Drying in the Transition from Seed Development to Germination IV. Protein synthesis and enzyme activity changes within the cotyledons of *Ricinus communis* L. seeds. **Journal of Experimental Botany**. v. 37, p. 1887-1898, 1986.

KERMODE. A. R. & BEWLEY. J. D. The Role of Maturation Drying in the Transition from Seed Development to Germination V. Responses of the immature castor bean embryo to isolation from the whole seed: a comparison with premature desiccation seeds. **Journal of Experimental Botany**. v. 39, p. 487- 497, 1988.

KERMODE. A. R. & BEWLEY. J. D. The Role of Maturation Drying in the Transition from Seed Development to Germination VI. Desiccation-induced changes in messenger rna populations within the endosperm of *Ricinus oommunis* L. seeds. **Journal of Experimental Botany**. v. 40, p. 33-41, 1989a.

KERMODE. A. R. & BEWLEY. J. D. The Role of Maturation Drying in the Transition from Seed Development to Germination VII. Effects of partial and complete desiccation on

abscisic acid levels and sensitivity in *Ricinus communis* L. seeds. **Journal of Experimental Botany**. v. 40, p. 303- 313, 1989b.

KOORNNEEF, M. & KARSSSEN, C.M. Seed dormancy and germination. In: MEYEROWITZ, E.M. & SOMMERVILLE, C.R. (Ed.). **Arabidopsis**. Cold Spring Harbor, USA: Cold Spring Harbor Laboratory Press, p. 313-334, 1994.

KUMAR, A.; SHARMA, S. An evaluation of multipurpose oil seed crop for industrial uses (*Jatropha curcas* L.): A review. **Industrial Crops and Products**. v.28, p.1-10, 2008.

LACERDA, A.L.S. Fatores que afetam a maturação e qualidade fisiológica das sementes de soja (*Glycine max* L.). **Revista Brasileira de Sementes**. v. 17, p. 132- 137, 2007.

LACERDA FILHO, A. F.; DEMITO, A.; VOLK, M. B. S. **Qualidade da soja e acidez do óleo**. Nota Técnica, 2008. Disponível em: <<http://www.sop.eng.br/pdfs/6d2b57671ce672243df5ff377a083fb3.pdf>> Acesso em: 15/06 2014.

LAEMMLI, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, v.277, p.680-685, 1970.

LEYING, H.J.; HUBER, I.; HINZPETER, M. Detection of proteins with BM chemiluminescence western blotting system. **Biochemica**, v.1, p.10-12, 1994.

LIGTERINK, W.; KODDE, J.; LAMMER, M.; DASSEM, H.; VAN DER GEEST, A.H.M.; MAAGD, R.A.; HILHORST, H.W.M. Stress-inducible gene expression and its impact on seed and plant performance: a microarray approach. In: ADKINS, S.W.; IAVIE, S.C.; ASHMORE, S. (Ed.). **Seeds: Biology, Development and Ecology**. Austrália: Hardback, p. 139-148, 2007.

LONG, S. R.; DALE, R. M. K. e SUSSEX, I. M. Maturation and germination of *Phaseolus vulgaris* axes in culture. **Planta**. v. 153, p. 405-415, 1981.

LOWRY, O.H.; ROSEBROUGH, N.J.; FARR, A.L. e RANDAL, R.J. Protein measurement with the folin phenol reagent. **J. Biol. Chem.** v. 193, p. 265-275, 1951.

LUBISCO, N. M. L.; VIEIRA, S. C. **Manual de estilo acadêmico: trabalhos de conclusão de curso, dissertações e teses**. 5. Ed. – Salvador : EDUFBA, 2013.

LUZ, Renata Pereira. **Caracterização morfofisiológica, molecular e agrônômica de cultivares de mamona**. 2012. 94 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2012.

MACHADO, C. G.; MARTINS, C.C.; CRUZ, S. C. S.; NAKAGAWA, J.; PEREIRA, F. R. S. Posição do racemo e do fruto na qualidade fisiológica de sementes de mamona durante o armazenamento. **Semina: Ciências Agrárias**. v. 31, n. 2, p. 301-312, 2010.

MADANKAR, C.S.; DALAI, A.K.; NAIK, S.N. Green synthesis of Bio-lubricant base stock from canola oil. **Industrial Crops and Products**. v. 44, p. 139-144, 2013.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: Fealq, p. 496, 2005.

MILANI, M.; NÓBREGA, M. B. de M.; AMARAL, J.G.; ZANOTTO, M. D.; CARVALHO, J. M. F. C. de; VIDAL, M. S.; LUCENA, W. A., Melhoramento, cultivares e

biotecnologia. In: SEVERINO, L. S.; MILANI, M.; BELTRÃO, N. E. M. (Ed.). **Mamona – O produtor pergunta, a Embrapa responde**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, p 153-169, 2006.

MINISTERIO DE MINAS E ENERGIA. **Biodiesel: Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel**. Disponível em: <
<http://www.mme.gov.br/programas/biodiesel/menu/biodiesel/pnpb.html>> Acesso em:15/01/2014

MONTELES, R.; PINHEIRO, C. U. B. Plantas medicinais em um quilombo maranhense: uma perspectiva etnobotânica. **Rev.de Biologia e Ciências da Terra**, v. 7, n. 2, p. 38-48, 2007.

MORAIS, Angélica Taveira. **Clonagem e estudo funcional do promotor do gene DREB da mamoneira (*Ricinus communis* L.)**. 2008. 70 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Instituto de Ciências Biológicas - Universidade de Brasília, Brasília, 2008.

MORAIS, Guilherme Loss de. **Caracterização Filogenética das Proteínas Inativadoras de Ribossomos (RIPs) de mamona (*Ricinus communis* L.) e análise da expressão dos genes *Rcom* RIPs durante o desenvolvimento da Semente**. 2010. 105 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

MOSHKIN, V. A.: **Castor**, 1º Edição. Amerind: New Delhi, 1986.

MENZEL, D.; ŠAMAJ, J. Cell-type-specific disruption and recovery of the cytoskeleton in *Arabidopsis thaliana* epidermal root cells upon heat shock stress. **Protoplasma**, v. 230, p. 231–242, 2007.

MUNIER-JOLAIN, N., LARMURE, A., SALON, C. Determinism of carbon and nitrogen reserve accumulation in legume seeds. **C. R. Biol.** v. 331, p. 780–787, 2008.

NASCIMENTO, W. M. Condicionamento osmótico de sementes de hortaliças: potencialidades e implicações. **Horticultura Brasileira**, v. 16, n. 2, p. 106-109, 1998.

NEJAD, H. A. The effects of seed *priming* techniques in improving germination and early seedling growth of *Aeluropus macrostachys*. **International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research**, v. 1, n. 2, p. 86-95, 2013.

NERLING, D.; COELHO, C. M. M.; NODARI, R. O. Genetic diversity for physiological quality of seeds from corn (*Zea mays* L.) intervarietal crossbreeds. **Journal of Seed Science**, v.35, n.4, p.449-456, 2013.

NOBRE, R.G.; LIMA, G.S.; GHEYI, H.R.; MEDEIROS, E.P.; SOARES, L.A.A.; ALVES, A.N. Teor de óleo e produtividade da mamoneira de acordo com a adubação nitrogenada e irrigação com água salina. **Pesq. Agropec. Bras.** v. 47, n. 7, p. 991-999, 2012.

NÓBREGA, M.B. de M. **Avaliação de genótipos de mamona (*Ricinus communis* L.) em cruzamentos dialélicos parciais**. 2008. 77 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba. 2008.

NONOGAKI, H.; CHEN, F.; BRADFORD, K. J. Mechanisms and genes involved in germination *sensu stricto*. **Annual Plant Reviews Volume 27: Seed Development, Dormancy and Germination**, p. 264-304, 2007.

- OLIVEIRA, Glauce Portela. **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.
- OPENSHAW, K. A review of *Jatropha curcas*: an oil plant of unfulfilled promise. **Biomass and Bioenergy**, v.19, p.1-15, 2000.
- PAWLOWSKI, T. A.; BERGERVOET, J. H. W.; BINO, R. J.; GROOT, S. P. C. Cell cycle activity and β -tubulin accumulation during dormancy breaking of *Acer platanoides* L. seeds. **Biologia Plantarum**, v. 48, n. 2, p. 211-218, 2004.
- PEREA-FLORES, M.J.; CHANONA-PÉREZ, J.J.; GARIBAY-FEBLES, V.; CALDERÓN-DOMINGUEZ, G.; TERRÉS-ROJAS, E. Microscopy techniques and image analysis for evaluation of some chemical and physical properties and morphological features for seeds of the castor oil plant (*Ricinus communis*). **Industrial Crops and Products**. v. 34, p. 1057-1065, 2011.
- PIMENTEL, C. Relações hídricas em dois híbridos de milho sob dois ciclos de deficiência hídrica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 34, n. 11, p. 2021-2027, 1999.
- PIVETTI, F. **Torta de mamona é alternativa para alimentação animal**. Agência USP de notícia, 05 de novembro de 2013. Disponível em: <<http://www.usp.br/agen/?p=159969>> Acesso em: 20/06/2014
- PRESSEL, S.; L IGRONE, R.; DUCKETT, J. Effects of De- and Rehydration on Food-conducting Cells in the Moss *Polytrichum formosum*: A Cytological Study. **Annals of Botany**. v. 98, p. 67–76, 2006.
- RAGHAVAN, V. **Molecular Embryology of Flowering Plants**. 1º Edição. Cambridge University Press, New York, 1997.
- RAMANJANEYULUA, A. V.; REDDY, A. V.; MADHAVIC, A. The impact of sowing date and irrigation regime on castor (*Ricinus communis* L.) seed yield, oil quality characteristics and fatty acid composition during post rainy season in South India. **Industrial Crops and Products**. v. 44, p. 25-31, 2013.
- REDDY, K.R.; MATCHA, S.K. Quantifying nitrogen effects on castor bean (*Ricinus communis* L.) development, growth, and photosynthesis. **Industrial Crops Products**. v. 31, p. 185–191, 2010.
- RIBEIRO, P. R.; DEKKERS, B.; FERNANDEZ, L. G.; DE CASTRO, R. D.; LIGTERINK, W.; HILHORST, H. Identification of reference genes for gene expression studies during seed germination and seedling establishment in *Ricinus communis* L. **Seed Science Research**, v. 24, n. 04, p. 341-352, 2014.
- RIBEIRO, P. R.; FERNANDEZ, L. G.; DE CASTRO, R. D.; LIGTERINK, W.; HILHORST, H. Physiological and biochemical responses of *Ricinus communis* seedlings to different temperatures: a metabolomics approach. **BMC Plant Biology**, v. 14, n. 1, p. 223, 2014.
- RITTER, M. R.; SOBIERAJSKI, G. R.; SCHENKEL, E. P.; MENTZ, L. A. Plantas usadas como medicinais no município de Ipê, RS, Brasil. **Rev. Brasileira de Farmacognosia**, v.12, n. 2, p. 51-62, 2002.

RIZZARDO, Rômulo Augusto Guedes. **O papel de *Apis mellifera* L. como polinizador da mamoneira (*Ricinus communis* L.): avaliação de eficiência de polinização das abelhas e incremento de produtividade da cultura.** 2007. 78 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 2007.

RIZHSKY, L.; LIANG, H.; MITTLER, R. The combined effect of drought stress and heat shock on gene expression in tobacco. **Plant Physiology**, v.130, p.1143-1151, 2002.

ROBBERS, J.E.; SPEEDIE, M.K.; TYLER, V.E. **Farmacognosia e farmacobiologia.** São Paulo: Editorial Premier. 1997.

ROBERTS, L.M.; LAMB, F.I.; PAPPIN, D.J.; LORD, J.M. The primary sequence of *Ricinus communis* agglutinin. Comparison with ricin. **J. Biol. Chem.** v. 260, n. 29, p. 15682-15686, 1985.

RONDANINI, D.P.; SAVIN, R.; HALL, A.J. Estimation of physiological maturity in sunflower as a function of fruit water concentration. **Eur. J. Agron.** v. 26, p. 295–309, 2007.

RODIGUES, E.; MOURA, R.M. **Dilma assina medida provisória que eleva mistura de biodiesel no diesel.** Estadão, 28 de maio de 2014. Disponível em: <http://economia.estadao.com.br/noticias/negocios,dilma-assina-medida-provisoria-que-eleva-mistura-de-biodiesel-no-diesel,186226e>> Acesso em: 18/07/2014

SACANDÉ, M.; DE CASTRO, R. D.; GROOT, S. P. C.; HOEKSTRA, F. A.; BINO, R. J. Cell cycle events in developing neen (*Azadirachta indica*) seeds: are they related to intermediate storage behavior? **Seed Science Research**, v. 7, p. 161-168, 1997.

SANTANA, D.G. e RANAL, M.A. **Análise da germinação: um enfoque estatístico.** Editora: Universidade de Brasília. Brasília, 2004.

SANTIAGO, A. N.; LARANGEIRAS, L. A. P.; DOURADO, V. V.; LEITE, V. M.; OLIVEIRA, E. A. S.; SILVA, S. A.; PEIXOTO, M. F. S. P.; PEIXOTO, C. P.; GONÇALVES, N. P. **EBDA MPA-11 Nova Cultivar de Mamona com Potencial Agrônomo para o estado da Bahia e Minas Gerais.** In: III Congresso Brasileiro de Mamona: Energia e Ricinoquímica, 2008, Salvador, Bahia. Anais III Congresso Brasileiro de Mamona: Energia e Ricinoquímica. 2008. v. único.

SANTOS, R.F. dos; KOURI, J.; BARROS, M.A.L.; MARQUES, F.M.; FIRMINO, P. de T.; REQUIÃO, L.E.G. Aspectos econômicos do agronegócio da mamona. In: AZEVEDO, D.M.P. de; BELTRÃO, N.E. de M. (Ed.). **O Agronegócio da mamona no Brasil.** Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, p.23-41, 2007.

SANTOS, S.B.; MARTINS, M.A.; AGUILAR, P.R.M.; CANESCHI, A.L.; CARNEIRO, A.C.O.; DIAS, L.A.S. Acúmulo de matéria seca e óleo nas sementes de pinhão-mansão e qualidade do óleo extraído. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental.** v.16, n.2, p.209–215, 2012.

SAVY FILHO, A. **Mamona Tecnologia Agrícola.** Campinas, SP: EMOPI, p. 105, 2005.

SCHENKEL, E. P.; ZANNIN, M.; MENTZ, L. A.; BORDIGNON, S. A. L.; IRGANG, B. Plantas tóxicas In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento.**

Porto Alegre: Editora da Universidade/UFRGS; Florianópolis, Editora da UFSC, p.755-788, 2000.

SCHMIDT, D. A. M.; MAIA, L. C.; SILVA, J. A. G. Mamona. In: BARBIERE, R. L.; STUMPF, E. R. T. (Ed.). **Origem e Evolução de Plantas Cultivadas**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, p. 909, 2008.

SEAGRI. **Convênio entre Seagri e Pbio fortalece agricultura familiar e programa Biodiesel na Bahia**. Imprensa Seagri. 2013.

SEAGRI. **Governo assegura recursos para fortalecer agricultura familiar**. Imprensa Seagri. 2014a.

SEAGRI. **Novos cultivares de mamona incrementam produção em Iraquara**. Imprensa Seagri. 2011. Disponível em: < <http://www.seagri.ba.gov.br/noticias/2011/04/13/novos-cultivares-de-mamona-incrementam-produ%C3%A7%C3%A3o-em-iraquara#sthash.7pWRgCFF.dpuf> > Acesso em: 30/07/2014

SEAGRI. **Programa Garantia Safra**. Imprensa Seagri. 2014b. Disponível em: < <http://www.seagri.ba.gov.br/content/programa-garantia-safra-0> > Acesso em: 15/06/2014

SEO, M.; NAMBARA, E.; CHOI, G.; YAMAGUSHI, S. Interaction of light and hormone signals in germinating seeds. **Plant Mol Bio**, v.69, p.463-472, 2009.

SEVERINO, L. C.; LUCENA, A. M. A.; SAMPAIO, L. R.; TAVARES, M. J. V.; BELTRÃO, N. E. M.; BORTOLUZI, C. R. D. **Descrição das Fases do Desenvolvimento Reprodutivo da Mamoneira Visando ao Manejo da Colheita**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2007.

SEVERINO, L.S. AULD, D.L. A framework for the study of the growth and development of castor plant. **Industrial Crops and Products**. v. 46, p. 25– 38, 2013a.

SEVERINO, L.S. e AULD, D.L. Seed abortion and the individual weight of castor seed (*Ricinus communis* L.). **Industrial Crops and Products**. v. 49, p. 890– 896, 2013b.

SEVERINO, L.S., AULD, D.L., BALDANZI, M., CÂNDIDO, M.J.D., CHEN, G., CROSBY, W. A review on the challenges for increased production of castor. **Agron. J.** v. 104, p. 853–880, 2012.

SHEWRY, P.R.; NAPIER, J.A.; TATHAM, A.S. Seed storage protein: structure and biosynthesis. **The Plant Cell**, v. 7, n. 7, p. 945-956, 1995.

SILVA, E. A. A.; TOOROP, P. E.; LAMMEREN, A. A. M. V.; HILHORST, H. W. M. ABA inhibits embryo cell expansion and early cell division events during coffee (*Coffea arabica* “Rubi”) seed germination. **Annals of Botany**, v. 102, p. 425-433, 2008.

SLIWINSKA, E.; BASSEL, G. W.; BEWLEY, J. D. Germination of *Arabidopsis thaliana* seeds is not completed as a result of elongation of the radicle but of the adjacent transition zone and lower hypocotyl. **Journal of Experimental Botany**. v. 60, n. 12, p.3587-3594, 2009.

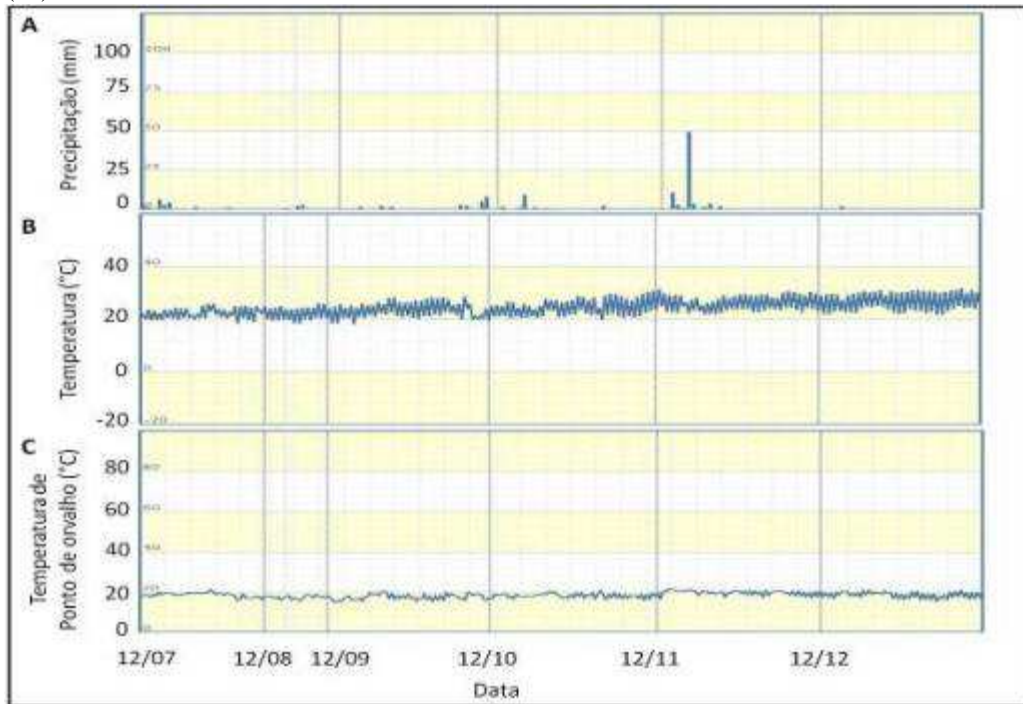
SOUZA, E. M.; SILVA-MANN, R.; CARVALHO, S. V. A.; SANTOS, A. R. F. dos; GOIS, I. B.; SANTOS, H. O. dos; PESSOA, A. M. dos S.; NUNES, F. B. da S. **Condicionamento osmótico de sementes de mamona (*Ricinus communis* L.): Cultivares BRS Nordestina e**

- BRS Paraguçu.** In: II Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia de Biodiesel, 2007, Brasília. Anais II Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia de Biodiesel. 2007. v. único.
- SOUZA, L. C.D.; YAMASHITA, M. Y.; CARVALHO, M. A. C de. Qualidade de sementes de arroz utilizadas no norte de Mato Grosso. **Revista Brasileira de Sementes**, v.29, n.2, p. 98-105, 2007.
- SUDENE. **Área de atuação da Sudene – O Semiárido Nordeste.** Disponível em: <<http://www.sudene.gov.br/site/extra.php?idioma=&cod=130>> Acessado em 14/01/2014
- TAIZ, LINCOLN; ZEIGER, EDUARDO. **Fisiologia Vegetal.** Versão traduzida. 4ª Edição. Porto Alegre, p. 738, 2009.
- TÁVORA, F. J. A. F.; MELO, F. I. O.; SILVA, F. P. da.; BARBOSA FILHO, M.; Consorciação da mamona com culturas anuais de ciclo curto. **Ciência Agrônômica**, v.19, n.2, p.85–94, 1988.
- TAYLOR, A. G.; ALLEN, P.S.; BENNET, M. A.; BRADFORD, K. J.; BURRIS, J. S.; MISRA, M. K. Seed enhancements. **Seed Science Research**, v.8, n.1, p.245-256, 1998.
- TELES, Clarissa Abreu Santos. **Aspectos fisiológicos e eventos do ciclo celular em sementes de *Ricinus communis* L. sob restrição hídrica.** 2013. 95 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia). Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2013.
- VALEJOS, M.; RONDANINI, D.; WASSNERA, D.F. Water relationships of castor bean (*Ricinus communis* L.) seeds related to final seed dry weight and physiological maturity. **Europ. J. Agronomy**. v. 35, p. 93–101, 2011.
- VARIER, A.; VARI, A. K.; DADLANI, M. The subcellular basis of seed *priming*. **Current Science**, v.99, n.4, p.450-456, 2010
- VILLELA, F. A. Potencial osmótico de soluções aquosas de polietileno glicol 8000. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 23, n. 1, p. 267-275, 2001.
- VILLELA, F.A.; DONI-FILHO, L. & SEQUEIRA, E.L. Tabela de potencial osmótico em função da concentração de polietileno glicol 6000 e da temperatura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.26, n.11/12, p.1957-1968, 1991.
- WALBOT, V. Control mechanisms for plant embryogeny. In: CLUTTER, M.E. (Ed.). **Dormancy and Developmental Arrest.** New York, USA: Academic Press, Inc., p. 113-116, 1978.
- WEDIN, G. P.; NEAL, J. S.; EVERSON, G. W.; KRENZELOK, E. P. Castor bean poisoning. **American Journal of Emergency Medicine**, v.4, n.3, p.259-261, 1986.
- WEISS, E.A. **Oil seed Crops**, 2º Edição. Blackwell Science. Oxford, 2000.
- WEST, M.A. & HARADA, J.J. Embryogenesis in higher plants: An overview. **The Plant Cell**. v. 5, p. 1361-1369, 1993.
- WRIGHT, A. J.; GALLAGHER, K., SMITH, L. G. Redundantly at the Cortical Division Site to Promote Preprophase Band Formation and Orient Division Planes in Maize. **The Plant Cell**. v. 21, p. 234–247, 2009.

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

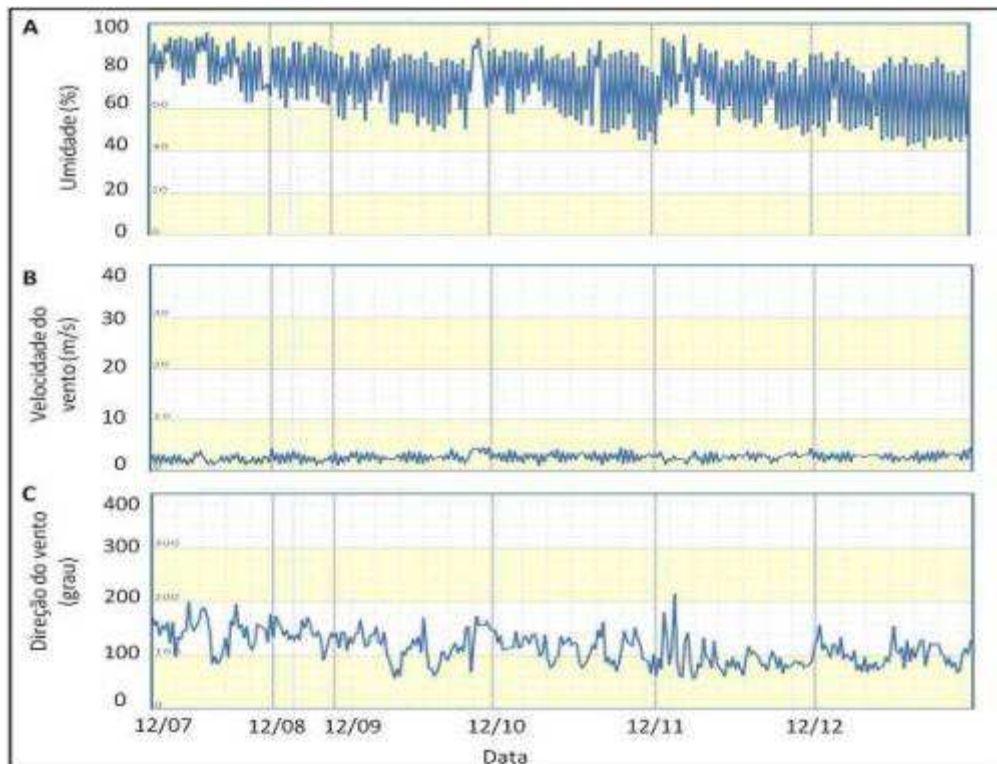
8. ANEXOS

ANEXO 01 - Gráficos representativos dos dados meteorológicos na macrorregião de Feira de Santana durante o período de 01/07/2012 a 31/2/2012. A) Precipitação (mm). B) Temperatura (°C). C) Temperatura de ponto de orvalho (°C).



Fonte: Instituto Nacional de Meteorológica (INMET), estação A413- Feira de Santana.

ANEXO 02 - Gráficos representativos dos dados meteorológicos na macrorregião de Feira de Santana durante o período de 01/07/2012 a 31/2/2012. A) Umidade (%). B) Velocidade do vento (m/s). C) Direção do vento (grau).



Fonte: Instituto Nacional de Meteorológica (INMET), estação A413- Feira de Santana.

