

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA PROGRAMA DE PÓS-
GRADUAÇÃO EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS CURSO
DE MESTRADO**

**POTENCIAL FITORREMEDIADOR DE *Ricinus communis* L.
FRENTE À TOXICIDADE DE ZINCO: IDEÓTIPO, PROTEÇÃO
HORMONAL SOBRE ASCORBATO PEROXIDASE E EFEITOS NA
GERMINAÇÃO**

CRISMEIRE SANTANA SANTOS FILADELFO

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA
2025**

**POTENCIAL FITORREMEIADOR DE *Ricinus communis* L.
FRENTE À TOXICIDADE DE ZINCO: IDEÓTIPO, PROTEÇÃO
HORMONAL SOBRE ASCORBATO PEROXIDASE E EFEITOS NA
GERMINAÇÃO**

CRISMEIRE SANTANA SANTOS FILADELFO

Farmacêutica

Centro Universitário Ruy Barbosa – Wyden, 2018.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Recursos Genéticos Vegetais.

Orientador: Dra. Simone Alves Silva

CRUZ DAS ALMAS - BAHIA

2025

FICHA CATALOGRÁFICA

F479p	Filadelfo, Crismeire Santana Santos. Potencial fitorremediador de <i>Ricinus communis</i> L. frente à toxicidade de zinco: ideótipo, proteção hormonal sobre ascorbato peroxidase e efeitos na germinação / Crismeire Santana Santos Filadelfo. – Cruz das Almas, BA, 2025. 68f. (Dissertação) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias Ambientais e Biológicas, Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais. Orientadora: Prof. Dra. Simone Alves Silva. 1.Mamona – Cultivo – Manejo. .2.Mamona – Fitorremediação. 3.Santo Amaro (BA) – Avaliação. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias Ambientais e Biológicas. II.Título. CDD: 633.85
-------	---

Ficha elaborada pela Biblioteca Central de Cruz das Almas - UFRB. Responsável pela Elaboração Antonio Marcos Sarmento das Chagas (Bibliotecário - CRB5 / 1615).

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA PROGRAMA DE PÓS-
GRADUAÇÃO EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS CURSO DE
MESTRADO**

**POTENCIAL FITORREMEIADOR DE *Ricinus communis* L.
FRENTE À TOXICIDADE DE ZINCO: IDEÓTIPO, PROTEÇÃO
HORMONAL SOBRE ASCORBATO PEROXIDASE E EFEITOS NA
GERMINAÇÃO**

Comissão Examinadora da Defesa de Dissertação de Crismeire Santana Santos
Filadelfo

Prof. Dr. Simone Alves Silva - UFRB
(Orientador)



Documento assinado digitalmente
RICARDO FRANCO CUNHA MOREIRA
Data: 29/08/2025 18:10:29-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof. Dr. Ricardo Franco Cunha Moreira - UFRB (Examinador Externo)



Documento assinado digitalmente
RANER JOSÉ SANTANA SILVA
Data: 29/08/2025 17:46:37-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof. Dr. Raner José Santana Silva - Universidade Estadual de Santa Cruz
(Examinador Externo)

AGRADECIMENTOS

A Deus, meu sustento espiritual em meio às tribulações, minha fonte de esperança e direção ao longo desta caminhada.

À minha orientadora, Dra. Simone Alves Silva, pela oportunidade concedida, pela confiança depositada e pelo apoio inestimável em todos os momentos deste trabalho. Sua orientação foi essencial para o meu crescimento acadêmico e pessoal.

Ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais (RGV), à Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB) e à CAPES, pelo apoio institucional e financeiro indispensável à realização desta pesquisa.

À equipe técnica e aos discentes do Núcleo de Melhoramento Genético e Biotecnologia, por todo o aprendizado compartilhado, pela colaboração constante e pela ajuda ao longo dessa jornada.

À minha família, que além do amor sempre me incentivou a continuar. Em especial aos meus pais Rousemeire Antunes e Crispiniano Conceição, que me estimulavam com palavras de cunho harmonioso e foram essenciais nos momentos de dúvidas onde pude alcançar novas direções.

Ao meu companheiro de todas as horas, Ciro Ribeiro Filadelfo, obrigada por compartilhar a vida comigo, por ser meu maior incentivo e por ser luz em meio a escuridão muitas vezes. Você foi chave importante nesse processo.

E principalmente ao meu filho, Ciro Filho, que sem dúvidas é a minha maior motivação, responsável por me tornar uma pessoa mais forte e com olhar mais humano para as adversidades da vida.

*Não tenho certeza de nada, mas a visão das
estrelas me faz sonhar.*
Van Gogh

POTENCIAL FITORREMEDIADOR DE *Ricinus communis* L. FRENTE À TOXICIDADE DE ZINCO: IDEÓTIPO, PROTEÇÃO HORMONAL SOBRE ASCORBATO PEROXIDASE E EFEITOS NA GERMINAÇÃO

RESUMO:

A presença de metais pesados no solo, como o zinco, representa um sério risco ambiental e à saúde humana, sendo resultado de atividades como mineração e descarte industrial. A fitorremediação tem se mostrado uma técnica eficaz para mitigar esses impactos, utilizando espécies vegetais capazes de absorver e transformar contaminantes. A mamoneira (*Ricinus communis* L.) é uma planta promissora nesse processo, mas ainda carece de descritores específicos voltados para o melhoramento genético com fins fitorremediadores. Este trabalho integrou revisão bibliográfica, análises *in silico* e experimentação para identificar características morfofisiológicas desejáveis, como raízes longas, caule espesso, porte elevado e presença de antocianinas. Também foram analisadas isoformas da enzima antioxidante RcAPx, observando-se alta afinidade entre fitormônios (giberelina, brassinolídeo e auxina) e o sítio catalítico da RcAPx.iso1, indicando possível ação protetora contra o estresse oxidativo induzido pelo zinco. Em experimento com sementes da cultivar BRS Energia e da Linhagem UFRB160, sob diferentes concentrações de zinco, quelante (EDTA) e fitormônio, a BRS Energia mostrou maior tolerância à germinação, enquanto a UFRB160 respondeu melhor à associação com giberelina e EDTA. A variabilidade genética para fitorremediação precisa ser melhor explorada, principalmente incluindo os caracteres como a presença de antocianina, maior tamanho da raiz, porte elevado e maior diâmetro do caule. Os genótipos BRS Energia e UFRB 160 são eficazes na fitorremediação de zinco, especialmente com o uso de EDTA em alguns casos. E possuem potenciais voltadas à fitoextração ou fitoestabilização. Os achados reforçam o potencial da mamoneira na fitorremediação e subsidiam programas de melhoramento voltados à recuperação de áreas degradadas.

Palavras-chave: Mamona, Fitorremediação, *In silico*, Fitormônio, Metal de transição.

PHYTOREMEDIATION POTENTIAL OF *RICINUS COMMUNIS* L. UNDER ZINC TOXICITY: IDEOTYPE, HORMONAL PROTECTION ON ASCORBATE PEROXIDASE, AND EFFECTS ON GERMINATION

ABSTRACT:

The presence of heavy metals in the soil, such as zinc, poses a serious environmental and human health risk, often resulting from activities like mining and industrial waste disposal. Phytoremediation has proven to be an effective technique for mitigating these impacts by employing plant species capable of absorbing and transforming contaminants. The castor bean plant (*Ricinus communis* L.) is a promising candidate for this process, though it still lacks specific descriptors aimed at genetic improvement for phytoremediation purposes. This study integrated a literature review, *in silico* analyses, and experimentation to identify desirable morphophysiological traits, such as long roots, thick stems, tall growth, and anthocyanin presence. Isoforms of the antioxidant enzyme RcAPx were also analyzed, revealing a high affinity between phytohormones (gibberellin, brassinosteroid, and auxin) and the catalytic site of RcAPx.iso1, suggesting a possible protective role against zinc-induced oxidative stress. In experiments using seeds from the BRS Energia cultivar and the UFRB160 line under different zinc concentrations, chelating agent (EDTA), and phytohormone treatments, BRS Energia demonstrated greater tolerance during germination, while UFRB160 responded better to the combination of gibberellin and EDTA. Genetic variability for phytoremediation should be further explored, particularly traits such as anthocyanin presence, longer root systems, taller stature, and greater stem diameter. Both BRS Energia and UFRB160 genotypes proved effective in zinc phytoremediation, especially when EDTA was applied, and show potential for use in phytoextraction or phytostabilization strategies. These findings reinforce the potential of castor bean for phytoremediation and support breeding programs focused on the recovery of degraded areas.

Keywords: Castor bean, Phytoremediation, *In silico*, Phytohormone, Transition metal.

SUMÁRIO

DEFINIÇÃO DO IDEÓTIPO DE <i>RICINUS COMMUNIS</i> L. PARA FITORREMEDIAÇÃO: UMA REVISÃO INTEGRATIVA.....	11
1 INTRODUÇÃO.....	11
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	12
2.1 Aspectos botânicos e fisiológicos da mamona.....	12
2.2 Importância econômica.....	13
2.3 Programa de melhoramento	13
2.4 Contaminação por metais tóxicos.....	14
2.5 Melhoramento por ideótipo.....	15
3 Metodologia.....	17
4 Resultado e discussão.....	18
5 Conclusão.....	24
REFERÊNCIAS.....	24

CAPÍTULO 1

INSIGHTS DO EFEITO PROTETOR DE FITORMÔNIOS CONTRA A TOXICIDADE DE ZINCO A PARTIR DE ANCORAGENS MOLECULARES COM ASCORBATO PEROXIDASE DE <i>Ricinus communis</i> L.....	32
--	-----------

INTRODUÇÃO.....	34
MATERIAIS E MÉTODOS.....	35
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
CONCLUSÃO.....	49
REFERÊNCIAS.....	49

CAPÍTULO 2

TOXICIDADE DO ZINCO NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE <i>Ricinus communis</i> L. SOB DIFERENTES CONCENTRAÇÕES.....	54
--	-----------

INTRODUÇÃO.....	56
MATERIAIS E MÉTODOS.....	57
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	59
CONCLUSÃO.....	64
REFERÊNCIAS.....	66

DEFINIÇÃO DO IDEÓTIPO DE *RICINUS COMMUNIS* L. PARA FITORREMEDIAÇÃO: UMA REVISÃO INTEGRATIVA

1. INTRODUÇÃO

A diversidade da família Euphorbiaceae lhe garante característica adaptativa, distribuição favorável em regiões tropicais e subtropicais, resultando em plantas com hábitos variados, desde trepadeiras até ervas (Friedman *et al.*, 2013)

Dentre as espécies desse taxon, *Ricinus communis* L., conhecida popularmente como mamoneira, destaca-se por suas inúmeras aplicações. Sendo amplamente reconhecida pela produção de óleo, suas atividades farmacológicas e diversas utilizações agrícolas, que possuem elevado valor comercial (Enan; Fawzy; Amiri, 2012; Vasco Leal *et al.*, 2022).

A mamoneira possui um elevado potencial energético devido a produção de óleos em suas sementes, que são fonte de matéria-prima para a geração de biocombustíveis e a fabricação de diversos subprodutos, incluindo: lubrificantes, hidrogéis, tintas, adesivos e cosméticos. Sua cultura é versátil e de fácil manejo, apresentando boa durabilidade pós-colheita, o que a torna uma excelente opção para a agricultura regional. Além disso, demonstra um significativo potencial fitorremediador, especialmente para a remoção de metais pesados (Landoni *et al.*, 2023).

Em regiões como Santo Amaro, onde a contaminação por chumbo, cobre e zinco representa riscos ecológicos e de saúde significativos, aproveitar as capacidades de fitorremediação da mamona pode ser uma abordagem valiosa como forma de amenizar os problemas persistentes de poluição por metais (Khan *et al.*, 2019; Souza & Lima, 2021).

A fitorremediação é uma técnica que utiliza plantas hiperacumulativas para promover a remoção, sequestro ou neutralização de substâncias tóxicas do meio ambiente. Esse tipo de biorremediação abrange seis técnicas: fitoextração, fitofiltração/rizofiltração, fitoestabilização, fitodegradação/rizodegradação, fitoestimulação e fitovolatilização. A mamoneira é identificada por ser tolerante a metais e bioindicadora de contaminação do solo, utilizando duas das técnicas mencionadas: fitoextração e fitoestabilização (Sadahia *et al.*, 2021).

Os mecanismos de fitoextração e fitoestabilização consistem na remoção de metais pesados por meio da absorção pelas raízes e sua translocação para

parte aérea das plantas, bem como promover a precipitação desses metais na rizosfera. Essas técnicas são efetivas em diferentes concentrações de elementos tóxicos.

Atrelada a escolha da técnica e a seleção da planta fitorremediadora (*R. communis* L.) o presente trabalho tem como principal objetivo a descrição dos aspectos presentes na literatura relacionados ao melhoramento por ideótipo, proteção hormonal sobre ascorbato peroxidase e efeitos na germinação.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 ASPECTOS BOTÂNICOS E FISIOLÓGICOS DA MAMONA

A mamona, cientificamente conhecida como *Ricinus communis* L. e pertencente a família Euphorbiaceae, é uma planta dicotiledônea com notável adaptabilidade a vários ambientes, levando a sua ampla distribuição geográfica. A adaptabilidade da planta é destacada por sua capacidade de prosperar em diversas condições (Naidu *et al.*, 2015; Nour *et al.*, 2023).

A mamona apresenta considerável diversidade genética, com estudos indicando variações significativas em características como rendimento de sementes e hábitos de crescimento (Oke, 2024). Os programas de melhoramento visam melhorar o rendimento e reduzir compostos tóxicos como a ricína, que complicam o uso comercial da planta (Landoni *et al.*, 2023). As complexas interações dentro do endosperma da semente durante a germinação destacam a necessidade de técnicas avançadas de melhoramento como seleção, hibridação ou mapeamento molecular dos loci para otimizar o crescimento e a produção de óleo (Rajput *et al.*, 2023).

Em relação aos descritores qualitativos, a mamoneira é caracterizada por folhas grandes, verde-escuras, palmatilobadas, frutos semelhantes a bagas com deiscência explosiva e características variáveis do caule (Capinan *et al.*, 2022; Hussien, 2022; Oke, 2024). A raiz axial pode atingir profundidades de até 2,0 metros, o que auxilia na absorção de nutrientes e água (Oke, 2024).

A inflorescência em racemo terminal, composta por flores masculinas na base e femininas no ápice, garante elevada produção de sementes, principal órgão de interesse econômico e ambiental. Essa característica é estratégica em programas de fitorremediação, uma vez que assegura ampla formação de frutos

e, consequentemente, alta disponibilidade de sementes para propagação em áreas contaminadas. A disposição das flores reduz a autopolinização e favorece a variabilidade genética, o que amplia a adaptação da espécie a diferentes condições de estresse, incluindo solos com presença de metais pesados (Neto et al., 2008).

As sementes, por sua vez, apresentam uma estrutura complexa que compreende vários componentes, como rafe, endosperma, micrópila, carúncula, embrião, cotilédone, tegumento e eixo embrionário (Wrobel *et al.*, 2023). Essas sementes também apresentam uma variedade de cores e formas, influenciadas por fatores genéticos e ambientais (Han *et al.*, 2023; Acosta-navarrete et al., 2023).

2.2 IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DA MAMONA

Índia, China e Brasil por quase três décadas mantiveram-se no ranking de principais produtores mundiais de mamona, em relação não só da quantidade produzida mais de área colhida, isto porque, a comercialização de *Ricinus* é feita de três formas: Mamona em bagas, Óleo bruto ou refinado e exploração de derivados (Fanan et al., 2009; Visser *et al.*, 2011).

A produção global gira em torno de 1,4 milhões de toneladas por ano, a porcentagem entre esses países variou até o presente momento, fazendo com que atualmente a Índia domine o mercado de mamona, com aumento de quase 75% na frente de seus concorrentes, pela movimentação alta da exportação de óleo para França, Alemanha, Estados Unidos, Japão e China países onde seu emprego é intenso na indústria ricínocômica, automobilística, aeroespacial e farmacêutica (FAO, 2023; CONAB, 2023).

Consequentemente, a situação no Brasil teve grandes oscilações com tendências de declínio, com cerca de 25,5 mil toneladas, representando 1,4% da produção mundial. A Bahia, epicentro da mamonocultura nacional chegou a concentrar mais de 78% da produção do país e a produtividade por hectare teve media de 500kg/há nas cultivares. A Bahia tem assumido papel estratégico no contexto do biodiesel, impulsionada por políticas como o Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNPB). Isso motivou aumentos expressivos na área de plantio e na produção de mamona como matéria-prima para biodiesel Embora o óleo de soja domine o setor

atualmente, a mamona apresenta vantagens relevantes como cultura energética subtropical com alto teor de óleo e adaptabilidade ao semiárido (CONAB, 2023).

2.3 PROGRAMAS DE MELHORAMENTO GENÉTICO DA *Ricinus Communis* L.

As principais características desejadas nos programas de melhoramento da mamona visam otimizar o rendimento industrial e econômico da cultura. Essas características incluem a facilitação da colheita através do desenvolvimento de plantas de porte baixo, o aumento do número de plantas por área, aumento da produtividade, e o incremento do teor de óleo (Santos *et al.*, 2021). Além disso, é essencial garantir resistência a pragas e outros fatores bióticos adversos. Contudo, há uma crescente necessidade de abordar os impactos ambientais relacionados a cultura da mamona, especialmente em áreas afetadas por negligência industrial e política. Isso inclui a recuperação de áreas degradadas por contaminação com poluentes, resíduos químicos e metais de transição (Sun *et al.*, 2008; Silva *et al.*, 2017).

A mamona é amplamente reconhecida como um bioindicador da qualidade do solo devido a sua capacidade de fitorremediação, utilizando mecanismos como a fitoextração e a fitoestabilização para remover metais pesados do solo. No entanto, os estudos direcionados ao desenvolvimento de cultivares específicas para fitorremediação ainda são escassos. Atualmente, o Brasil enfrenta desafios significativos relacionados a contaminação por metais, como o caso da contaminação por chumbo em Santo Amaro, na Bahia. Esta questão continua a ser uma demanda crítica na região do Recôncavo Baiano, onde o descaso histórico e a falta de ação eficaz persistem como barreiras para solução do problema (Chandra e Kumar, 2017; Silva *et al.*, 2004; Souza *et al.*, 2014).

2.4 CONTAMINAÇÃO POR METAIS TÓXICOS EM SANTO AMARO - BAHIA

Localizado no Recôncavo da Bahia, o município de Santo Amaro possui uma área de 494 km² e uma população de aproximadamente 61.000 habitantes (IBGE, 2022). A economia da cidade sempre foi voltada para mineração, começando em 1950 com a instalação da Companhia Brasileira de Chumbo (COBRAC), que gerou empregos para a população local.

Durante 33 anos, a empresa foi responsável pela fundição de chumbo (Pb)

oriundo da galena. O minério produzido era transportado para Santo Amaro com finalidade de gerar ligas de chumbo e zinco. No entanto, essa produção em massa resultou em contaminação das áreas próximas a metalúrgica, causando impactos significativos na pecuária e levando a morte de equinos e bovinos (Carvalho, 1984; Tavares, 1996)

Em 1993, a COBRAC encerrou suas atividades e a Plumbum LTDA começou a operar, também voltada para mineração de chumbo e cádmio. Isso resultou em uma intensificação maciça da contaminação ambiental. Entre os impactos provocados pela metalúrgica destacam-se: depósitos de resíduos no solo, poluição do ar devido a fuligem, deposição de escória contaminadas com chumbo que se alastrou para áreas da cidade, afetando a saúde dos habitantes, funcionários, fauna e flora local (Tavares, 1996; Machado, 2003).

Os efeitos dessa exposição continuam a reverberar. A recuperação de áreas degradadas por agentes tóxicos é um desafio no Brasil, agravados pelo fato de que os processos e técnicas de remediação são caros e complexos. Nos últimos anos, houve uma preferência por manejos que ofereçam menor risco de contaminação, sejam versáteis e apresentem maior custo-benefício. (Mallmann et al., 2019).

A fitorremediação é cada vez mais reconhecida como uma ferramenta biotecnológica promissora para lidar com a contaminação por metais em solos pela segurança ambiental e potencial para aumentar a fertilidade do solo e a biodiversidade. Este método utiliza espécies vegetais específicas, conhecidas como hiperacumuladores, que podem absorver e desintoxicar metais pesados, fornecendo assim uma solução sustentável para a poluição sem a extensa infraestrutura necessária pelos métodos convencionais (Musa et al., 2024; Ghazaryan et al., 2024).

A abordagem não apenas atenua os efeitos nocivos dos metais pesados nos ecossistemas e na saúde humana, como também promove a restauração ecológica ao melhorar a qualidade do solo e estimular a biodiversidade (Lavanya et al., 2024; Deng et al., 2024).

Dentre as técnicas de fitorremediação, destacam-se a fitoextração e a fitoestabilização, que removem metais pesados do solo por meio do sistema

radicular, mesmo em altas concentrações. Assim, busca-se uma planta ideal, com características hiperacumuladoras, capaz de atender a essa finalidade.

Nesse contexto, a mamoneira (*Ricinus communis* L.) surge como uma espécie promissora por sua elevada adaptabilidade a diferentes condições climáticas e solos contaminados. Além de atuar como bioindicadora de poluentes, contribui para sua remoção devido ao seu potencial fitoextrator e fitoestabilizador. Por essas características, torna-se uma candidata relevante para programas de melhoramento genético voltados à fitorremediação (Cheraghi et al., 2011; Chandra e Kumar, 2017).

2.5 MELHORAMENTO POR IDEÓTIPO

Nos últimos anos, a crescente preocupação com a produção de alimentos para acompanhar o crescimento populacional tem levado ao desenvolvimento de práticas agrícolas e biotecnológicas aprimoradas, com foco na seleção para o melhoramento genético.

A seleção indireta, incluindo métodos como a seleção genômica (GS) e a fenotipagem de alto rendimento, tem se destacado por sua eficácia em aumentar a produtividade e a adaptabilidade das culturas (Zhang, Zhang & Jensen, 2022). A integração de ferramentas biotecnológicas avançadas com programas de melhoramento convencionais tornou-se crucial para responder a esses desafios (Mahajan & Kapoor, 2023).

Dentro desse contexto, as técnicas de melhoramento por ideótipo, propostas por Donald (1968), desempenham um papel fundamental. O conceito de ideótipo refere-se a criação de um modelo de planta ideal, definido a partir de características desejáveis que envolvem aspectos fisiológicos, morfológicos e genéticos. Este processo é considerado um investimento a longo prazo, uma vez que busca desenvolver cultivares com maior produtividade em comparação as existentes, utilizando o material disponível em bancos de germoplasma para direcionar o melhoramento.

O melhoramento por ideótipo, conforme descrito por Mock e Peace (1975), envolve três etapas essenciais: 1) Definir a planta-alvo e o ambiente de produção, levando em consideração as condições específicas onde a cultivar será cultivada; 2) Desenvolver um modelo baseado em características qualitativas, quantitativas e

morfológicas que possam influenciar o desempenho no ambiente de produção; e 3) Integrar essas características com técnicas de melhoramento para estimar variabilidade genética, herdabilidade e correlações, culminando no lançamento e proteção da nova cultivar.

O pedido de solicitação de proteção de cultivar é feito diretamente no Sistema Nacional de Proteção de Cultivar (SNPC), esse órgão, vinculado ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), além de emitir certificado de petição, é responsável pela solicitação do teste de Distinguibilidade, Homogeneidade e Estabilidade (DHE) para definição dos descritores (Quali e quantitativo) e produção do relatório final dos resultados obtidos. Cabe ressaltar que o teste DHE só poderão ser realizados caso a espécie em questão possua publicação no Diário Oficial dos seus descritores, e, caso não possui, será necessário entrar em contato com o MAPA para elaboração e publicação de diretrizes.

3 METODOLOGIA

3.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO

Trata-se de uma revisão de literatura transversal, de cunho descritivo, com a finalidade de entender sobre melhoramento dos caracteres qualitativos e quantitativos de *Ricinus communis* L.

3.2 COLETA DE DADOS E CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

As buscas por artigos foram realizadas com foco no melhoramento dos caracteres como critério para fitorremediação. Dos 35 descritores listados no Formulário de Instruções para Execução dos Ensaio de Distinguibilidade, Homogeneidade e Estabilidade de Cultivares de mamona do MAPA (BRASIL, 2008), o melhoramento de 9 descritores relacionados a fitorremediação está sendo abordado neste estudo. Estes descritores são: altura da planta - EST, arquitetura da planta - AQP, diâmetro do caule - DC, inserção do primeiro racemo - IRP, número de internódios do caule - NIC, teor de óleo de semente - TOS, Peso de 100 sementes - P100, produtividade - PRO e pigmentação antocianínica — PAH. Além desses, também foram incluídas análises de mais 2 descritores: tamanho da

raiz e número de esporos de *Amphobotrys ricini* (Tabela 1). Os descritores mencionados foram escolhidos com base na relação funcional e fisiológica que cada um tem com a capacidade da planta de realizar a fitorremediação, ou seja, de absorver, translocar, acumular ou estabilizar metais pesados no solo.

Foram excluídos artigos que abordassem descritores do DHE, como rendimento, entre outros, que estão relacionados exclusivamente a aplicabilidade da mamona nos setores farmacêutico e automobilístico.

Tabela 1. Descritores abordados no estudo com suas respectivas formas de avaliação.

Nº	DESCRIPTORES	AVALIAÇÃO	CLASSE FENOTÍPICA
01	Estatuta da Planta (EP)	Medir com uma trena do solo ao ápice mais alto da planta.	1. Muito baixa (< 100 cm) 2. Baixa (101 a 150 cm) 3. Média (151 a 200 cm) 4. Alta (201 a 250 cm) 5. Muito alta (> 250 cm)
02	Arquitetura da Planta (AQP)	Fotografia da planta para análise.	1. Ereta 2. Semiereta 3. Aberta
03	Diâmetro do caule (DC)	Paquímetro digital.	1. Fino (< 3 cm) 2. Médio (3 a 6 cm) 3. Longo (> 5 cm)
04	Inserção do Racemo Primário (IRP)	Medir com trena do solo até ponto da inserção.	1. Baixa (< 50 cm) 2. Média (51 a 100 cm) 3. Alta (> 100 cm)
05	Número de Internódios do Caule (NIC)	Contagem da quantidade de cicatriz presente no caule.	1. Baixo (até 15) 2. Médio (16 a 18) 3. Alto (> 19)
06	Peso de 100 sementes a 9% de umidade (P100)	Aplicar metodologia de RAS (BRASIL, 2009).	1. Baixo (< 40 g) 2. Médio (41 a 55 g) 3. Alto (> 55 g)
07	Pigmentação Antocianina (PAH)	Observação visual.	1. Presença 2. Ausência
08	Número de esporos <i>Amphobotrys ricini</i>	Aplicar metodologia de Soares et al., 2010 2022	1. Altamente suscetível (AS) (> 100 mil) 2. Suscetível (S) (> 10 mil < 100 mil) 3. Moderadamente suscetível (MS) (> 1 mil < 10 mil) 4. Moderadamente resistente (MR) (> 100 < 1 mil) 5. Resistente (< 100)
09	Tamanho da raiz	Medir com trena até	> 1,5

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As características inerentes a mamoneira (*Ricinus communis* L.), incluindo seus aspectos fisiológicos, bioquímicos e morfoagronômicos, são foco dos programas de melhoramento genético dessa espécie. Esses programas buscam não apenas alto rendimento e produtividade, mas também atender às crescentes demandas do mercado industrial.

Desse modo, foram observadas diferenças nos caracteres dos genótipos encontrados na literatura (altura da planta, arquitetura, diâmetro do caule, inserção do primeiro racemo, número de internódios do caule, teor de óleo de semente, peso de 100 sementes, produtividade, tamanho da raiz, número de esporos de *Amphobotrys ricini* e pigmentação antocianínica (Tabela 2).

Na variável estatura da planta, houve diferenças significativas entre genótipos estudados por Souza et al. (2014) e Eichotz et al. (2014). Eles perceberam que esse caráter era influenciado pela irrigação e pela variação de densidade populacional. Em outras palavras, quanto mais estreitas as linhas de plantio, maior o crescimento vertical devido à competitividade por luz, induzindo um crescimento progressivo.

Além disso, Savy Filho et al. (2007) e Cruz et al. (2021) observaram um crescimento vertical das plantas ao longo do tempo, indicando que houve um aumento proporcional e contínuo da estatura, variando de 1,4 a 1,8 metros em resposta direta à aplicação de NPK. Esses resultados evidenciam que a adubação balanceada pode influenciar o crescimento vertical, promovendo plantas de menor porte.

Nesse contexto, a caracterização da arquitetura da planta, especialmente quanto à forma ereta e ao porte reduzido, torna-se essencial na seleção de genótipos para plantios comerciais, pois tais características facilitam o manejo agrônomo e permitem um arranjo adensado, otimizando o uso do espaço na lavoura.

Tabela 2. Comparação dos Descritores Fenotípicos de *Ricinus communis* L.: Resultados da Literatura para fitorremediação versus ideótipo de produtividade.

DESCRITORES	VALORES OBTIDOS	LITERATURA	IDEÓTIPO
Altura da Planta (m)	1,5 - 1,8	(SAVY FILHO et al., 2007)	Produtividade: 1,2 m Fitorremediação: 1,8 m
Arquitetura da planta	Aberta	(SEITER et al., 2012)	Produtividade: ereta Fitorremediação: Aberta
Diâmetro do caule (cm)	19,84 - 20,87	(CRUZ et al., 2020)	Produtividade: 23,5 cm Fitorremediação: 50 cm
Inserção do primeiro racemo (cm)	50 - 78	(FERNANDES et al., 2015)	Produtividade: 40 cm Fitorremediação: 70 cm
Teor de óleo das sementes (%)	48,41 - 55,14	(LACERDA et al., 2016)	56%
Peso de 100 sementes (g)	35,08 - 42,5	(DEVIDE et al., 2019)	56%
Produtividade	457,6 - 824,4	(SEVERINO et al., 2006)	1,5 kg
Tamanho da raiz (m)	1,5	(DRUMOND et al., 2008)	Fitorremediação: 1,5 m
Número de esporos de <i>Amphobotrys ricini</i>	31.119	(SOARES, 2022)	< 100
Pigmentação Antocianina	Presença	(LUZ, 2012)	Presença acima de 70%

Fonte: Elaborada pelo Autor.

Em relação a variável diâmetro do caule, Bahia et al. (2008) observaram que plantas muito altas, que recebem maior oferta hídrica e adubação, tendem a ter caules mais robustos, o que pode dificultar a colheita mecanizada. Um exemplo disso é a cultivar BRS 149 Nordestina, que apresentou um diâmetro de caule de 52,04 cm.

Em contraste, Neto et al. (2008) e Cruz et al. (2020) reportaram uma variação no diâmetro do caule de 6,93 a 25,60 cm. Essa diferença deve-se a correção do solo realizada antes do delineamento experimental, o que evitou o crescimento de caules muito finos nas cultivares Paraguaçu, Sipeal e Nordestina. Essa correção reduziu problemas de acamamento, que podem afetar a

produtividade e aumentar a incidência de doenças.

Outro descritor importante é o número de internódios do caule, que influencia diretamente na altura de inserção do primeiro racemo e está relacionado também a precocidade da planta (Pivetta et al., 2015).

A inserção do racemo primário marca o início da fase reprodutiva da planta, ocorrendo após o crescimento do caule primário e a emissão de novas folhas e internódios (Jesus *et al.*, 2024). Plantas com inserções mais baixas do primeiro racemo, devido a melhor partição de carbono, têm o potencial de produzir mais racemos e podem ser cultivadas em arranjos com espaçamentos menores, o que aumenta a produtividade (De Miranda Pinto, 2011).

Além disso, como essas características estão relacionadas a precocidade, os programas de melhoramento geralmente buscam selecionar genótipos com menores alturas de inserção e menor número de internódios, uma vez que plantas que produzem o cacho principal a uma altura menor são consideradas mais precoces (Jesus *et al.*, 2024).

O uso de adubação orgânica, aliado à precipitação pluvial, exerce impacto significativo na inserção dos racemos, evidenciando que diferentes práticas de manejo podem influenciar diretamente esse caráter. Além da adubação orgânica, práticas como a adubação mineral equilibrada, o espaçamento adequado entre plantas, a densidade de semeadura e a irrigação suplementar também favorecem o posicionamento e o número de racemos, refletindo em maior rendimento da cultura (Fernandes *et al.* 2015).

Do ponto de vista fisiológico, a mamoneira apresenta raiz pivotante profunda, que pode ultrapassar dois metros, conferindo elevada capacidade de absorção de água e nutrientes em camadas mais profundas do solo. Suas folhas grandes, palmatilobadas, são eficientes na captação de luz, sustentando elevadas taxas fotossintéticas, enquanto o caule oco e a cutícula espessa contribuem para sua adaptação a condições de estresse hídrico. Esses aspectos fisiológicos, aliados ao manejo adequado, explicam a plasticidade da espécie em diferentes ambientes e sua relevância para programas de melhoramento e fitorremediação (Bahia et al, 2008)

Quanto à produtividade, as cultivares IAC 2028 e BRS Energia apresentaram os maiores rendimentos por hectare, alcançando até 2.008,25 kg, tanto entre os materiais de ciclo precoce quanto os de ciclo mais longo, quando

comparadas a outras cultivares avaliadas por Lacerda et al. (2016). Esses resultados estão diretamente relacionados às condições edafoclimáticas do semiárido e à aplicação de adubação mineral com nitrogênio e potássio, nutrientes que atuam no crescimento e também na modulação da expressão sexual da mamoneira.

A reversão sexual que consiste na mudança de flores masculinas para femininas é considerada vantajosa, pois pode aumentar a produção de sementes (já que as flores femininas são as que originam os frutos), favorecendo o rendimento da planta. Além disso, essa característica amplia o potencial de variabilidade genética, pois permite maior flexibilidade em cruzamentos dirigidos no melhoramento genético. Essa flexibilidade metodológica é importante em programas de seleção, pois permite a obtenção de genótipos mais produtivos e adaptados a diferentes condições ambientais (Lacerda et al., 2016).

A estimativa da herdabilidade e a análise da correlação entre descritores são essenciais em programas de melhoramento, pois orientam a seleção de genótipos superiores e auxiliam na tomada de decisões. A herdabilidade expressa a proporção da variação fenotípica atribuída a fatores genéticos e pode ser obtida por ensaios e análise de variância (ANOVA). Já a correlação entre descritores permite identificar características que podem ser melhoradas simultaneamente (Santos et al., 2021; Beaulieu et al., 2024).

Nos estudos de Silva et al. (2017), observaram-se variações na herdabilidade que vão de níveis baixos a elevados. Por exemplo, a estatura da planta e o ciclo reprodutivo (início da floração até a maturação) apresentaram no trabalho menor herdabilidade e instabilidade de expressão, sendo fortemente influenciados pelo clima e pela adubação balanceada. Quando esses fatores não são adequadamente fornecidos, há prejuízos significativos a esses caracteres. Outro fator desfavorável foi a dificuldade de definir claramente o estágio inicial da maturidade fisiológica (IFIM), devido a desuniformidade natural da espécie.

Em contraste, a avaliação feita por Passo et al. (2010) mostrou que a herdabilidade da estatura da planta pode variar significativamente entre diferentes cruzamentos. Por exemplo, os cruzamentos entre BRS 149 Nordestina' x 'EBDA MPA 17 obtiveram uma herdabilidade de 25% para a estatura da planta, enquanto 'BRS 149 Nordestina' x 'Mirante apresentaram 69% (Tabela 3).

Nos caracteres analisados por AKIT et al. (2019), foram observados uma

alta herdabilidade nos 60 genótipos de mamona avaliados sob diferentes regimes de irrigações. Resultados semelhantes foram encontrados no experimento de Dos Santos *et al.* (2019), onde a herdabilidade para o teor de óleo foi de 97% e para ciclo vegetativo foi de 75%, observando-se uma correlação positiva entre esses descritores (Tabela 3). Em todos os estudos, observou-se uma correlação positiva entre o peso de 100 sementes e o teor de óleo. O peso das sementes é uma característica importante para a seleção indireta de genótipos, devido à sua fácil mensuração e alta herdabilidade. Além disso, os caracteres avaliados anteriormente são diretamente influenciados pela inserção do racemo, e, juntos esses descritores desempenham um papel crucial na maximização da produtividade.

Tabela 3. Estimativas de Herdabilidade para Descritores Fenotípicos de *Ricinus communis* L.: Relação com a Produtividade e Fitorremediação.

Descritores	Herdabilidade	Literatura
Altura da Planta	25% - 44,51%	(DA SILVA <i>et al.</i> , 2017)
	28% - 69%	(PASSOS <i>et al.</i> , 2010)
	56%	(DOS SANTOS <i>et al.</i> , 2019)
Massa de racemo	76%	(DA SILVA <i>et al.</i> , 2017)
Número de racemos por planta	90%	(DA SILVA <i>et al.</i> , 2017)
Início da floração do início da maturação	16%	(DA SILVA <i>et al.</i> , 2017)
Dias de floração	98%	(AKIT <i>et al.</i> , 2019)
Número de entrenós	73%	(AKIT <i>et al.</i> , 2019)
Inserção do primeiro racemo	94%	(AKIT <i>et al.</i> , 2019)
Teor de óleo	97%	(DOS SANTOS <i>et al.</i> , 2019)
	90%	(AKIT <i>et al.</i> , 2019)
Peso de 100 sementes	98,17%	(SADAIAH <i>et al.</i> , 2021)
Ciclo vegetativo	75%	(DOS SANTOS <i>et al.</i> , 2019)

Fonte: Elaborada pelo Autor.

Os caracteres listados anteriormente devem ser considerados como critérios na seleção de genótipos visando tanto à produtividade (em escala industrial) quanto à fitorremediação (em escala ambiental). No entanto, é essencial deixar claro quais descritores possuem relação direta com a capacidade fitorremediadora das plantas e por quê. Por exemplo, características como

arquitetura aberta da copa e maior estatura (cerca de 1,8 m) favorecem o desenvolvimento de um sistema radicular mais profundo e extenso, o que é desejável para plantas fitorremediadoras, pois amplia a zona de contato com o solo contaminado e, conseqüentemente, a capacidade de absorção e estabilização de metais pesados (Passos et al., 2010; Dos Santos et al., 2019)

Para a fitorremediação, quanto maior a área foliar e o desenvolvimento radicular, maior tende a ser a remoção de contaminantes. Se as raízes atingirem profundidade de até 1,5 m, a capacidade de absorver metais em camadas mais profundas do solo é aumentada. Além disso, é necessário considerar as condições climáticas locais, como no Recôncavo Baiano, onde a elevada umidade relativa do ar contribui significativamente para o surgimento e a proliferação de fitopatógenos, especialmente fungos como *Amphobotrys ricini*, agente causal do mofo-cinza.

Diante disso, torna-se fundamental a adoção de estratégias de manejo integrado, como o uso de cultivares resistentes que apresentem bagas sem acúleos, dificultando a instalação do patógeno, e a presença de antocianina, substância que confere resistência fisiológica ao ataque fúngico. Contudo, é importante ressaltar que a severidade do ataque do fungo pode comprometer significativamente a planta, reduzindo ou até mesmo anulando sua capacidade de desempenhar funções essenciais, como a Fitorremediação (Drummond et al., 2008; Passos et al., 2010).



Figura 1 - Modelo de ideótipo proposto de *Ricinus* para fitorremediação. (MAPA adaptado, 2008).

Outro parâmetro importante para seleção de genótipos para fitorremediação é avaliação de enzimas antioxidante como a Superóxido dismutase e Glicose-6-fosfato desidrogenase, por meio da quantificação da

peroxidação lipídica, uso de RT-PCR para expressão gênica dessas enzimas, fitoquelatina que são estimuladas pela concentração de metais e análise da ocorrência de apoptose que de forma indireta verifica a efetividade do sistema antioxidante (Moraes et al., 2015; Vivodik et al., 2015).

Dessa forma, a revisão evidencia a relevância da mamoneira (*Ricinus communis* L.) como espécie promissora para programas de fitorremediação, tanto pelo seu potencial adaptativo quanto pela capacidade de suportar condições ambientais diversas. Ressalta-se que, em ambientes com recursos abundantes, a planta é capaz de explorar os limites de seus processos fisiológicos, maximizando crescimento e acúmulo de biomassa, o que amplia sua eficiência na extração e imobilização de contaminantes. Além disso, o potencial fitoextrator da cultura, aliado à possibilidade de melhoramento genético para caracteres agrônômicos e tolerância a estresses, consolida a mamoneira como alternativa estratégica para recuperação de áreas degradadas.

5 CONCLUSÃO

A revisão apresentada revelou que a variabilidade genética para caracteres morfoagronômicos desejáveis para produtividade está bem estabelecida na literatura. No entanto, para fitorremediação, a situação é diferente e menos explorada. Este trabalho trouxe, de forma inédita parâmetros específicos para o melhoramento genético voltados para recuperação de áreas degradadas por metais pesados. Os ideótipos de *Ricinus communis* L., propostos incluem características como a presença de antocianina, maior tamanho da raiz, porte elevado e maior diâmetro do caule. Esses parâmetros oferecem novas perspectivas e orientações para a seleção e desenvolvimento de cultivares adequados para fitorremediação.

6 REFERENCIAS

ACOSTA-NAVARRETE, M. S.; TIGREROS, J.; HOLGADO-APAZA, L. A.; FLORES-BALDERAS, J. N.; BARRÓN ADAME, J. M. Morphometric, weight, viability, and germination analysis of castor bean seeds (*Ricinus communis*) under

two temperature and relative humidity conditions. **Agro Productividad**, [S. l.], 2023. DOI: 10.32854/agrop.v15i4.2484.

ANKIT, P.; PATEL, C. J.; PATEL, D. K. Genetic Variability In Castor (*Ricinus Communis* L.). **GAU Research Journal**, v. 44, n. 1, p. 48-52, 2019.

BAHIA, H. F.; SILVA, S. A.; FERNANDEZ, L. G.; LEDO, C. A. S.; MOREIRA, R. F. C. Divergência genética entre cinco cultivares de mamoneira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, p.357-362, 2008.

BEAULIEU, J., LENZ, P.R., LAVERDIÈRE, JP. et al. A meta-analysis on the effects of marker coverage, status number, and size of training set on predictive accuracy and heritability estimates from genomic selection in tree breeding. **Tree Genetics & Genomes** 20, 22 (2024). <https://doi.org/10.1007/s11295-024-01653-x>

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instruções para execução dos ensaios de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade de cultivares de mamona (*Ricinus communis* L.). Brasília – DF, 2008, 10p. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/protecao-de-cultivar/arquivos-agricolas/mamona-formulario-01-08-2008-p.doc> Acesso em: 05 jun. 2022

CAPINAN, G. C. S., SILVA, S. A., SOUZA, D. R. D., SANTOS, L. A. D., & JESUS, I. B. S. D.. Variability of f2 progenies of castor bean by means of morphoagronomic descriptors. **Revista Caatinga**, 35(1), 53–67. 2022. <https://doi.org/10.1590/1983-21252022v35n106rc>

CARVALHO, F.; TAVARES, T. M.; SOUZA, S. P.; LINHARES, P.S. Lead and cadmium concentrations in the hair of fishermen from the Subae River basin, Brazil. **Environmental research**, v. 33, n. 2, p. 300-306, 1984.

CHANDRA, R.; KUMAR, V. Phytoextraction of heavy metals by potential native plants and the ir microscopic observation of root growing on stabilized distillery sludge as a prospective tool for in situ phytoremediation of industrial waste.

Environmental Science and Pollution Research, v. 24, n. 3, p. 2605-2619, 2017. doi: 10.1007/s11356-016-8022-1.

CHERAGHI, M.; LORESTANI, B.; KHORASANI, N.; YOUSEFI, N.; KARAMI, M. Findings on the phytoextraction and phytostabilization of soils contaminated with heavy metals. **Biological Trace Element Research**, v. 144, n. 1-3, p. 1133-1141, 2011. doi: 10.1007/s12011-009-8359-0.

CONAB – Conselho Nacional de Abastecimento. Disponível em: http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/11_10_31_12_03_59_mamo na dezembro 2022.pdf Acesso em março de 2023.

CRUZ, B.J.E et al. Potencial produtivo de híbridos de mamona em diferentes densidades de plantas na segunda safra em ambiente estressante. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 20, n. 1, p. 053-059, 2021

DA SILVA, A. R.; SILVA, S. A.; SANTOS, L. A.; SOUZA, D. R.; ARAUJO, G. M.; MOREIRA, R. F. C. Genetic divergence among castor bean lines and parental strains using ward's method based on morpho-agronomic descriptors. **Acta Scientiarum Agronomy**, v.39, n.3, p.307-313, 2017.

DE JESUS, E. N et al. Práticas agroecológicas & a sustentabilidade do semiárido brasileiro. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 7, n. 2, p. e69355-e69355, 2024.

DE MIRANDA PINTO, C. et al. Produtividade e índices competição da mamona consorciada com gergelim, algodão, milho e feijão caupi. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 6, n. 2, p. 18, 2011.

DENG, S., ZHANG, X., ZHU, Y., ZHUO, R.. Recent advances in phyto-combined remediation of heavy metal pollution in soil.. **Biotechnology Advances**, 2024. doi: 10.1016/j.biotechadv.2024.108337

DEVIDE, A. C. P.; CASTRO, C. M.; CARVALHO, C. R. L. Manejo semiperene de mamona em duas densidades de plantio na safrinha. **Revista Brasileira de Energias Renováveis**, v. 8, n. 1, 2019.

DOS SANTOS, L. A.; SILVA, S. A.; SOUZA, D. R.; ARAUJO, G. M.; ALMEIDA, V. O.; NEVES, C. G. Genetic Parameters in Agronomic Characters for Selection of Superior Lineages of *Ricinus Communis* L." **Ciência Rural** , v. 49, n. 1, 2019.

DRUMOND, M. A.; ANJOS, J. B.; MORGADO, L. B.; BELTRÃO, N. E. M.; SEVERINO, L. S Cultivo da Mamoneira para o Semiárido Brasileiro. Petrolina: **Embrapa Semiárido**, 2008. (Circular Técnica 85).

EICHOLZ, E. D.; CARDOSO, P. C.; SEITER, R.; GRANATO, J. A. Comportamento agronômico de genótipos de mamona em Londrina, PR. In: SIMPÓSIO ESTADUAL DE AGROENERGIA; REUNIÃO TÉCNICA DE AGROENERGIA - RS, 5.; **ENCONTRO DE ENERGIAS RENOVÁVEIS NA AGRICULTURA FAMILIAR**, 2., Pelotas, 2014. Anais... Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2014.

ENAN, M.; FAWZY, N.; AMIRI, K. Código de barras de DNA de *Ricinus communis* de diferentes origens geográficas usando Chloroplast Matk e espaçadores transcritos internos. *Am. J. Plant Sci.* 2012 , 3 , 1304–1310.

FANAM, S.; MEDINA, P. F.; CAMARGO, M. B. P.; GALBIERI, R. Descrições de características agronômicas e avaliação de épocas de colheita na produtividade da mamoneira cultivar IAC 2028. **Bragantia**, v. 68, n. 2, p.415-422, 2009.

FAO. (Roma). Disponível em: <http://www.fao.org/>. Acesso março 2023

FRIEDMAN, M. H.; ANDREU, M. G.; QUINTANA, H. V.; MCKENZIE, M. *Ricinus communis*, castor bean. **Institute of Food and Agricultural Sciences, Gainesville**, n. 244, p. 1-3, 2010. Disponível em: . Acesso em: 1 julho 2024.

GHAZARYAN, K., VERMA, A., RAWAT, S., WARSHINI, A., RAJPUT, P., MINKINA, T., ELSHIKH, M. S., KHACHATRYAN, H., SINGH, R. K., ALEXIOU, A., & SINGH, A. Green Remediation Harnessing Plant-Based Strategies for Removal of Emerging Soil Contaminants. In V. Rajput (Ed.), *Nanotechnology Applications and Innovations for Improved Soil Health* (pp. 57-71) 2024. **IGI Global**. <https://doi.org/10.4018/979-8-3693-1471-5.ch004>

HAN, B., LI, Y., WU, D., LI, D.Z., LIU, A., XU, W. Dynamics of imprinted genes and their epigenetic mechanisms in castor bean seed with persistent endosperm. Volume 240, Issue5. **New Phytologist**. Pages 1868-1882. 2023.

HUSSEN KW. Review on Reproductive Biology of Caster bean (*Ricinus communis* L.). **J Ecol & Nat Resour** 2022, 6(1): 000268. DOI: 10.23880/jenr-16000268

KHAN, MJ, AHMED, N., HASSAN, W., SABA, T., KHAN, S., & KHAN, Q. Avaliação do potencial de fitorremediação de cultivares de mamona para metais pesados do solo. **Planta Daninha** , 37 , 2019. <https://doi.org/10.1590/S0100-83582019370100134>

LACERDA, R. R. A.; SOUZA, A. S.; FURTADO, G. F.; LACERDA, W. A.; LACERDA, I. S. Q. Componentes de produtividade e teor de óleo de cultivares de mamona no Semiárido paraibano. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 11, n. 3, p. 47-52, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.18378/rvads.v11i3.4382>

LANDONI, M.; BERTAGNON, G.; GHIDOLI, M.; CASSANI, E.; ADANI, F.; PILU, R. Opportunities and Challenges of Castor Bean (*Ricinus communis* L.) **Genetic Improvement. Agronomy** 2023, 13, 2076. <https://doi.org/10.3390/agronomy13082076>

LAVANYA, M., DABIR, S., VISWANATH., P.V., SIVAPULLAIAH..Phytoremediation: An eco-friendly approach for remediation of heavy metal-contaminated soils-A comprehensive review. **Environmental**

Nanotechnology, Monitoring and Management, 2024. doi: 10.1016/j.enmm.2024.100975

MAHAJAN R, KAPOOR N. Potential of Molecular Plant Breeding for Sustaining the Global Food Security. **Biosci Biotech Res Asia** 2023;20(1).

MORAES, P.F et al. Expressão gênica diferencial em genótipos de mamona (*Ricinus communis* L.) submetidos a déficit hídrico induzido por PEG. **Bragantia**, v. 74, n. 1, p. 25-32, 2015.

MUSA, I. O., IJAH, U. J. J., ABIOYE, O. P., ABDULSALAM, M., PAL, S. K., ABAMHEKHELU, I. A., MAUDE, A. M., YUSUF, O. O., AKANDE, S. A. Phytoremediation of Heavy Metal-Contaminated Soil. 2024. doi: 10.1201/9781003423393-2

NAIDU, L. G. K et al. Identification and delineation of potential castor growing areas in different Agro-eco sub regions of India: IDENTIFICATION AND DELINEATION OF CASTOR GROWING AREAS IN AGRO-ECO SUB REGIONS. **Journal of Oilseeds Research, India**, v. 32, n. 1, 2015. DOI: 10.56739/jor.v32i2.141964. Disponível em: <https://epubs.icar.org.in/index.php/JOR/article/view/141964>. Acesso em: 8 aug. 2024.

NETO, S. F et al. Impacto ambiental–agroindústria processadora de óleo de mamona/PB. **Ciência e Natura**, v. 30, n. 2, p. 141-154, 2008.

NOUR, I.H.; ALHADEAD, K.; ELLMOUNI, F.Y.; BADR, R.; SAAD, T.I.; EL-BANHAWY, A.; ABDEL RAHMAN, S.M. Morphological, Anatomical and Chemical Characterization of *Ricinus communis* L. (Euphorbiaceae). **Agronomy** 2023, 13, 985. <https://doi.org/10.3390/agronomy13040985>

OKE, C. O. Morpho-genetic Diversity and Traits' Relationship in Castor Germplasm . **Badeggi journal of agricultural research and environment**, [S. l.], v. 6, n. 1, 2024. DOI: 10.35849/BJARE202401/156/008.

PASSOS, A. R.; SILVA, S. A.; SOUZA, C. S.; SOUZA, C. M. M.; FERNANDES, L. S. Parâmetros genéticos de caracteres agronômicos em genótipos de mamoneira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.45, n.7, p.709-714, 2010.

PIVETTA, L.G et al. Avaliação de genótipos de mamona em diferentes níveis de adubação. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 2, n. 2, p. 9-18, 2015.

RAJPUT, D., PATEL, M.P., KUMAR, S., PATEL, R., KATBA, P. Screening of castor germplasm for wilt reaction and morpho-molecular characterization of resistant genotypes. **Research article**. Volume 9, 2023. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e14598>

SADAIHA, K.; NEELIMA, G.; RANI, C. V. D.; RANI, V. D.; MADHURI, G.; NALINI, N.; SUJATHA, M.; SHANKAR, V. G.; KUMAR, M. P.; LAVANYA, C.; LAL, J. J.; RAJU, C. D. Genetic parameters, diversity and character association studies in germplasm lines of castor *Ricinus communis* L.. **Electronic Journal of Plant Breeding**, v. 12, n. 4, p. 1134 -1141, 2021.

SAVY FILHO, A.; AMORIM, E. P.; RAMOS, N. P.; MARTINS, A. L. M.; CAVICHIOLO, J. C. IAC-2028: nova cultivar de mamona. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, p. 449-452, 2007.

SEITER, R. et al. Avaliação de genótipos de mamona em diferentes épocas de semeadura na safra 2011/12 em Pelotas/RS. 2012.

SEVERINO, L. S.; MILSEVERINO, L. S.; MILANI, M.; BELTRÃO, N. E. M. Mamona: o produtor pergunta, a Embrapa responde. Brasília, DF: **Embrapa Informação Tecnológica**; Campina Grande: Embrapa Algodão, 2006.

SILVA, A. R.; SILVA, S. A.; SANTOS, L. A.; SOUZA, D. R.; ARAUJO, G. M.; MOREIRA, R. F. C. Genetic divergence among castor bean lines and parental strains using ward's method based on morpho-agronomic descriptors. **Acta Scientiarum Agronomy**, v.39, n.3, p.307-313, 2017.

SIQUEIRA-SILVA, A. I.; SILVA, L. C.; AZEVEDO, A. A.; OLIVA, M. A. Iron plaque formation and morphoanatomy of roots from species of restinga subjected to excess iron. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 78, p. 265-275, 2012.

SOARES, D. J. Reação de híbridos comerciais de mamoneira à *Amphobotrys ricini*, agente causal do mofo-cinzento. Campina Grande: Embrapa algodão, 2022. (Circular Técnica 18)

SOUZA, L. Z. S. & LIMA, L. R. P. DE A. Risk assessment for the presence of potentially toxic elements in the vicinity of a former lead smelter in Bahia, Brazil. **Environ Earth Sci** 80, 532. 2021. <https://doi.org/10.1007/s12665-021-09883-1>

SOUZA-SCHLICK, G.D de; SORATTO, R.P; ZANOTTO, M.D. Combinação ótima de espaçamento e população de plantas para um novo genótipo de mamona de porte baixo na safrinha. *Acta Scientiarum. Agronomy*, v. 36, p. 475-481, 2014.

SUN, Q. B.; LI, L. F.; LI, Y.; WU, G. J.; GE, X. J. SSR and AFLP markers reveal low genetic diversity in the biofuel plant: *Jatropha curcas* in China. **Crop Science**, v.48, p.1865-1871, 2008.

TAVARES, T. M. Programa de Monitoramento dos Ecossistemas ao norte da Baía de Todos os Santos [relatório técnico final]. Salvador: Universidade Federal da Bahia, 1996.

VASCO LEAL, J. F., CUELLAR-NUÑEZ, L., VIVANCO-VARGAS, M., SOLÍS-LOZANO, J. A., DÍAZ-CALZADA, M. E., & MÉNDEZ-GALLEGOS, S. J. Agribusiness potential of castor oil plant (*Ricinus communis* L.) in Mexico. **Agro Productividad**, 2022. <https://doi.org/10.32854/agrop.v15i5.2267>

VISSER, E. M.; OLIVEIRA FILHO, D.; MARTINS, M. A.; STEWARD, B. L. Bioethanol production potential from Brazilian biodiesel co-products. **Biomass and Bioenergy**, Amsterdam, v. 35, n. 1, p. 489-494, 2011.

WROBEL T.J, BRILHAUS D, STEFANSKI A, STÜHLER K, WEBER APM AND LINKA N..Mapping the castor bean endosperm proteome revealed a metabolic interaction between plastid, mitochondria, and peroxisomes to optimize seedling growth. *Front. Plant Sci*, 2023. doi: 10.3389/fpls.2023.1182105

ZHANG, Q; ZHANG Q AND JENSEN J.. Association Studies and Genomic Prediction for Genetic Improvements in Agriculture. *Front. Plant Sci*. 13:904230. 2022. doi: 10.3389/fpls.2022.904230

CAPÍTULO 1

INSIGHTS DO EFEITO PROTETOR DE FITORMÔNIOS CONTRA A TOXICIDADE DE ZINCO A PARTIR DE ANCORAGENS MOLECULARES COM ASCORBATO PEROXIDASE DE RICINUS COMMUNIS L.

INSIGHTS DO EFEITO PROTETOR DE FITORMÔNIOS CONTRA A TOXICIDADE DE ZINCO A PARTIR DE ANCORAGENS MOLECULARES COM ASCORBATO PEROXIDASE DE *Ricinus communis* L.

RESUMO:

O objetivo deste estudo foi avaliar *in silico* mecanismo de defesa do sistema antioxidante contra zinco em *Ricinus communis* L. com ancoragens moleculares de fitormônios, desse metal e produtos do estresse oxidativo com Ascorbato Peroxidase (RcAPx). As sequências de bases nitrogenadas e de aminoácidos das RcAPxs foram extraídas do National Center for Biotechnology Information (NCBI). Cinco famílias gênicas, proteicas e sete isoformas foram encontradas.. Realizou-se a análise dos cis-elementos envolvidos destas famílias proteicas a fim de selecionar uma RcAPx para as ancoragens e com a sequência de aminoácidos do sítio catalítico, , eleita a isoforma RcAPx.iso1. As localizações subcelulares resultaram que na maioria das RcAPxs são encontradas em organelas de vias metabólicas e o endereçamento ocorre com a fosforilação da serina. As modelagens por homologia validaram as estruturas 3D. Entre os resultados para as ancoragens moleculares destacam-se a giberelina ($\Delta G = -6,1$ kcal/mol) e o brassinolídeo ($\Delta G = -6,0$ kcal/mol) com maiores afinidades ao sítio catalítico da RcAPx.iso1, seguido da auxina ($\Delta G = -5,4$ kcal/mol) quando comparados ao substrato ascorbato ($\Delta G = -5,0$ kcal/mol), ao padrão

utilizado heme ($\Delta G = -5,6$ kcal/mol), ao zinco ($\Delta G = -1,8$ kcal/mol), ao peróxido de hidrogênio ($\Delta G = -3,3$ kcal/mol) e ao malonaldeído ($\Delta G = -2,3$ kcal/mol). Esses achados corroboram no entendimento do possível efeito protetor das RcAPxs por esses fitormônios contra o zinco e produtos do estresse oxidativo.

Palavras-chave: afinidade, enzima antioxidante, metal pesado, mamona

INSIGHTS INTO THE PROTECTIVE EFFECT OF PHYTOHORMONES AGAINST ZINC TOXICITY FROM MOLECULAR ANCHORAGES WITH ASCORBATE PEROXIDASE FROM RICINUS COMMUNISL.

ABSTRACT:

The objective of this study was to evaluate in silico the defense mechanism of antioxidant system against zinc in *Ricinus communis*L. with molecular anchors of phytohormones, this metal and products of oxidative stress with Ascorbate Peroxidase (RcAPx). With nitrogen base and amino acid sequences of RcAPxs, extracted from NationalCenter for Biotechnology Information (NCBI), five gene and protein families and seven isoforms were found according to Jardim-Messeder et al. (2022). We performed the analysis of cis-elements involved in these protein families in order to select an RcAPx for anchors and with amino acid sequence of catalytic site, which we took as a reference from work of Singh and Shah (2014), choosing the isoform RcAPx.iso1. Subcellular localizations have resulted in most RcAPxs being found in organelles of metabolic pathways and addressing largely occurs with serine phosphorylation. Homology modeling validated the 3D structures. Among results for molecular anchorages, gibberellin ($\Delta G = -6.1$ kcal/mol) and brassinolide ($\Delta G = -6.0$ kcal/mol) stand out, with greater affinities to catalytic site of RcAPx.iso1, followed by auxin ($\Delta G = -5.4$ kcal/mol when compared to ascorbate substrate (ΔG

= -5.0 kcal/mol), to standard used heme ($\Delta G = -5.6$ kcal/mol), to zinc ($\Delta G = -1.8$ kcal/mol), to hydrogen peroxide ($\Delta G = -3.3$ kcal/mol) and to malonaldehyde ($\Delta G = -2.3$ kcal/mol). These findings support the understanding of possible protective effect of RcAPxs by these phytohormones against zinc and stress products oxidative.

Keywords: affinity, antioxidant enzyme, heavy metal, castor bean.

INTRODUÇÃO

R. communis L. (Mamoneira) tem um potencial grande em realizar a fitorremediação, como demonstrado em estudos com cádmio, chumbo e zinco, ao ser observado tolerância nesse contexto (Bauddh e Sing, 2012; Marques e Nascimento, 2014; Kiran e Prasad, 2019; Chhajro et al., 2022).

Um dos mecanismos de controle da toxicidade desses metais pesados, que geram Espécies Reativas de Oxigênio (EROs), é por meio do sistema antioxidante (Marques e Nascimento, 2014). Esses mesmos autores observaram aumento da produção de peróxido de hidrogênio, um tipo de ERO, em duas condições de chumbo em contato com a espécie em questão.

EROs são produtos das vias redox catalisadas por enzimas antioxidantes ou são oriundas da excitação/doação de elétrons ao O_2 , podendo ser cedido por metais pesados (Bhattacharjee, 1997; Gupta 2010). Ao entrar em contato com componentes químicos celulares podem desestruturar membranas e proteínas, estruturantes de organelas, ao formar por exemplo, intermediários da peroxidação

lipídica como o malonaldeído (Blokhina *et al.*, 2003; Barreiros, David e David, 2006).

Diante do efeito tóxico das EROs, há uma gama de arsenal enzimático para neutralizá-las. Em plantas, a enzima ascorbato peroxidase (APx) é encontrada em diversas organelas, principalmente as envolvidas com metabolismo energético (cloroplastos e mitocôndrias) ou acúmulo de peróxido de hidrogênio (peroxissomos). Como este último ERO pode atuar como mensageiro químico de estresse, a APx, devido a sua versatilidade vinculada ao seu substrato, é ponto crucial em sistemas antioxidantes de planta (Maruta e Ishikawa, 2018).

A ascorbato peroxidase (EC 1.11.1.11) é uma heme-peroxidase que utiliza o ascorbato (vitamina C) como cofator para doação de elétrons, que converte o peróxido de hidrogênio em água. Nas plantas, elementos presentes nas regiões promotoras dos seus genes, com sequência cis ativadas sob estresse biótico e/ou abiótico, são responsivos a por exemplo fitormônios característicos, que induzem a sua expressão (Raza *et al.*, 2022; Jardim-Messeder *et al.* (2022)

O zinco foi o metal escolhido, pois pode ser tanto um micronutriente, ao fazer parte da constituição de sítios catalíticos de enzimas, como em altas concentrações, pode apresentar toxicidade, principalmente em *R. communis* L. (Marques e Nascimento, 2014). Dessa forma, o presente trabalho, definiu seus elementos cis reguladores, localizações subcelulares, alterações pós-traducionais, a fim de entender os contextos biológicos destas enzimas e eleger uma RcAPxs para análise de afinidade entre esta e fitormônios produtos do estresse oxidativo gerados pelo zinco, com o intuito de compreender um possível mecanismo de proteção do sistema oxidante contra esse metal.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 ELEMENTOS-CIS, PROTEICA DAS APXS DE *R. COMMUNIS* L. (RCAPXS)

A identificação das regiões upstream dos genes RcAPxs, a partir do banco de dados do genoma de *R. Communis* L. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> e <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder/>) foi realizada em um fragmento de 1500 pb, pois a porção regulatória dos genes em plantas está geralmente localizada até 1000 pb antes do sítio de início da transcrição (Dean *et al.*, 1995). A partir dessas

porções, foram realizadas a identificação de possíveis cis-elementos com o uso do banco de dados PlantCare (Rombauts *et al.*, 1999). A localização subcelular das formas proteicas das RcAPxs, foram obtidas a partir da ferramenta de bioinformática DeepLoc - 2.1 (Ødum *et al.*, 2024). Foram usados dois sites o NetPhos 3.1 (Blom *et al.*, 1999) e o NetNGlyc 1.0 Server (Gupta e Brunak, 2004) para quantificação dos pontos de fosforilação (Ser/Thr/Tyr) e de N-glicosilação (Asn-X-Ser/Thr), respectivamente. Vale ressaltar que o X na N-glicosilação pode ser qualquer aminoácido, exceto prolina.

2.3 MODELAGEM MOLECULAR

Os critérios para validação e produção das estruturas tridimensionais proteicas foram obtidos(as) a partir das sequências FASTA, que foi inseridas no servidor SWISS-MODEL (<https://swissmodel.expasy.org>) (Waterhouse *et al.*, 2018), bem como no servidor MOLPROBITY (<http://molprobity.biochem.duke.edu/>) (Williams *et al.*, 2018) para obtenção das porcentagens de Ramachandran.

2.4 ANCORAGEM MOLECULAR

Os ligantes no formato sdf 3D foram obtidos da plataforma de banco de dados de moléculas o PubChem (Bolton *et al.*, 2011) com os seguintes códigos (CID): brassinolideo (115196), auxina (802), giberelina (5280379), metil jasmonato (5281929), ácido abscísico (5375199), ácido salicílico (338), etileno (6325), ascorbato (54670067), heme (26945) - padrão usado por Singh e Shah (2014), zinco - micronutriente/metalo pesado - (23994), malonaldeído (10964), peróxido de hidrogênio (784). Os ligantes foram convertidos no formato pdb no programa Pymol versão 2.1.1 (Scrdinger, 2015) e salvos em pasta contendo os seguintes arquivos: conf, vina, vina_license, vina-split e o arquivo no formato pdb da proteína modelo 1iyn.1.A (Wada *et al.*, 2003) para elucidação da estrutura tridimensional da RcAPx.iso1.

A estrutura tridimensional elucidada de RcAPx1.iso.1, a partir do modelo 1iyn.1.A de APx cloroplástica de *Nicotiana tabacum* L. (Wada *et al.*, 2003), foi utilizada para as ancoragens moleculares, pois foi a única que apresentou dois aminoácidos do sítio catalítico correspondentes (His169 - Lys169 aminoácido correspondente- e Ser173) ao trabalho base de Singh e Shah (2014) e maior

índice de fosforilação na serina para as ancoragens moleculares, bem como nas outras (exceto para RcAPx2) tem resposta a fitormônios (cis-elementos) envolvidos no estresse oxidativo, localização subcelular em organela envolvida em vias metabólicas (exceto as isoformas da RcAPx3.iso1 e as RcAPx4 e RcAPx5), maior índice de fosforilação na serina e valores de estabilidade na estrutura química (% Ramachandran) e identidade com a proteína modelo, que sinalizam uma boa qualidade na sua modelagem.

O AutoDockTools versão 1.5.6 (Morris, Huey e Olson, 2008) foi utilizado para conversão dos ligantes no formato pdb em pdbqt salvo na mesma pasta com os outros arquivos mencionados, bem como a conversão da proteína também em pdbqt, além de gerar o *grid box* (região correspondente ao do sítio catalítico) com as coordenadas x 5.972, y 27.361 e z 49.861 e do tamanho deste x 30, y 24 e z 28, salvos no arquivo conf na pasta.

Com o uso do Prompt de comando foram realizadas as análises de afinidade entre os ligantes e o sítio catalítico (Trott e Olson, 2010). Em seguida, os arquivos ligand_out e o da proteína no formato pdb, com o uso do programa Pymol versão 2.1.1 (Scrdinger, 2015), foram salvos os complexos proteína-ligante no formato pdb. Por fim, no software Discovery Studio Visualizer v.17.2.016349 (Biovia *et al.*, 2016) foram geradas as imagens bi e tridimensionais das ancoragens moleculares com a posição do ligante com a maior afinidade.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 ANÁLISE DOS ELEMENTOS CIS-REGULADORES DOS GENES RCAPXS

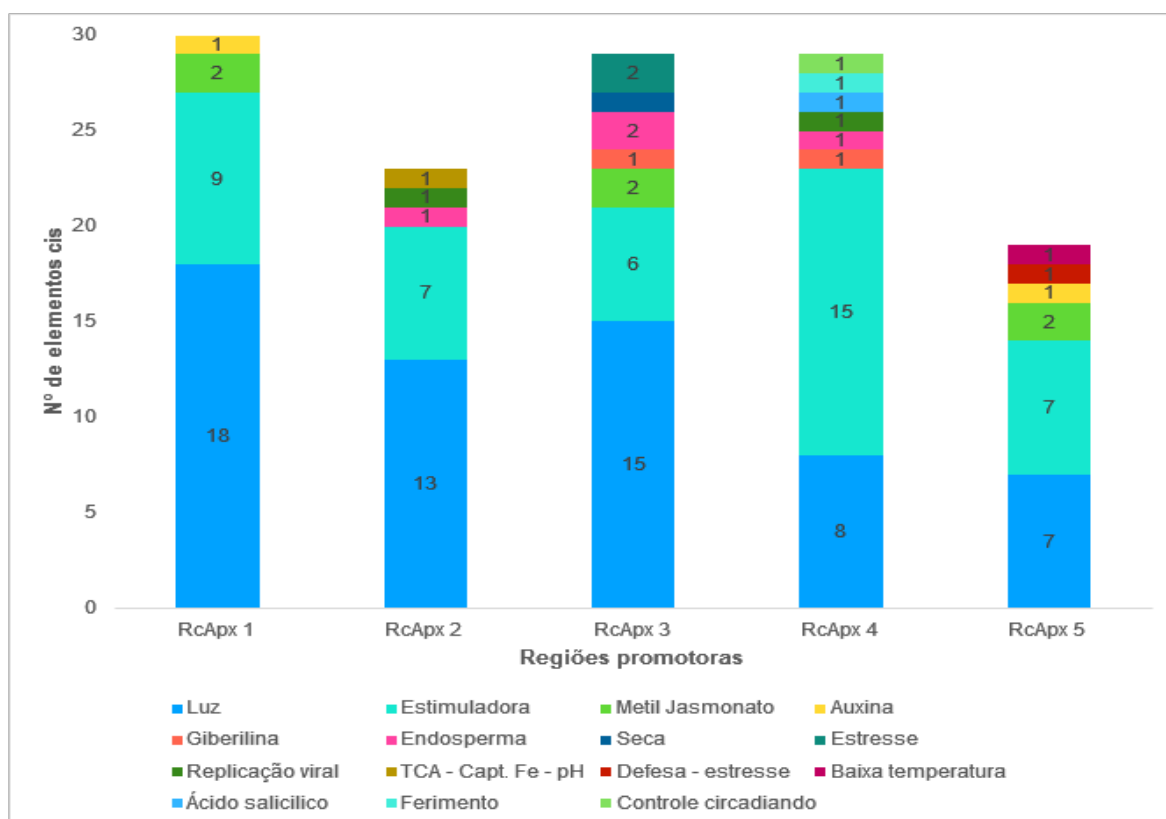
O banco de dados do genoma da mamoneira possibilitou a identificação de cinco genes das ascorbato peroxidases (RcAPxs), RcAPx1, RcAPx2, RcAPx3, RcAPx4 e RcAPx5, como foi identificado por Jardim-Messeder *et al.* (2022), com 3 isoformas para a primeira, 2 para a segunda e 2 para quinta encontradas.

A maioria dos elementos cis identificados (variando de 7 a 18, dependendo do promotor) está relacionada à resposta à luz (Figura 1), que compartilham funções como a ativação de regiões estimuladoras, expressão do

endosperma e controle circadiano, comuns em diversas espécies estudadas, como também foi encontrado no trabalho de Jardim-Messeder *et al.* (2022).

Brown e colaboradores (2012) demonstraram maior expressão nas folhas e sementes principalmente da RcAPx 2, dado corroborativo ao da tabela 1 da sua localização subcelular (mitocondrial) e intimamente relacionada à fotorrespiração e ao fluxo metabólico vinculado à germinação das sementes, beta oxidação de ácidos graxos-ciclo do glioxilato-gliconeogênese-respiração celular, como observados nos trabalhos de Jardim-Messeder *et al.* (2022) e Gerhardt e Beevers (1970). Além disso, foram identificados elementos associados a fitormônios e indutores como giberelina, auxina, metil jasmonato, ácido e ácido salicílico (Figura 1), que tendem a se acumular em condições de estresse biótico e/ou abiótico. Esse acúmulo pode afetar a expressão de diversos genes, como miR6445, miR156, miR159, miR167 e miR171, localizados principalmente em folha e raiz, que estão envolvidos em processos fisiológicos e bioquímicos que favorecem a adaptação da planta a diferentes ambientes (Jardim-Messeder *et al.*, 2022).

Figura 1 – Regiões promotoras dos genes Apxs em mamona (*Ricinus communis* L.) e seus elementos cis-regulatórios



Fonte: Elaborada pelo autor

3.2 LOCALIZAÇÃO SUBCELULAR E MODIFICAÇÕES PÓS-TRADUCIONAIS DAS RCAPXS EM MAMONA.

As localizações subcelulares das RcAPxs (Tabela 1) estão intimamente relacionadas a organelas que geram os fitormônios aqui estudados, como a giberelina (plastídeos - Hedden e Thomas, 2012), o brassinolídeo (retículo endoplasmático - Jin *et al.* (2009) e a auxina em plastídeos e citoplasma (Ung *et al.*, 2022; Salazar-iribe e De-La-Pena, 2020), bem como estão de acordo aos achados de Jardim-Messeder *et al.* (2022). Além disso, vale ressaltar a importância de algumas isoformas serem encontradas em mitocôndrias, ainda mais em situações de taxas metabólicas altas, como em condições de estresse oxidativo, em que a taxa de produção de radicais livres, em suas devidas proporções, são concomitantes ao efeito dos fitormônios que estimulam o desenvolvimento da planta e induz a expressão de enzimas antioxidantes (Khamiss, Sabouh e Kanbar., 2011; Jardim-Messeder *et al.*, 2022).

Tabela 1. Localização subcelular das APxs de Mamona.

Enzima	ID	Localização
RcApx1.1	XP_015575410.1	Plastídeo
RcApx1.2	XP_002520353.1	Plastídeo
RcApx1.3	XP_048226997.1	Retículo endoplasmático
RcApx2	XP_048231103.1	Mitocôndria
RcApx3.1	XP_048234686.1	Núcleo/Citoplasma
RcApx3.2	XP_002530823.1	Peroxisomo/ Mitocôndria
RcApx4	XP_048234428.1	Citoplasma
RcApx5.1	XP_025014203.1	Citoplasma
RcApx1.2	XP_048235911.1	Citoplasma

Fonte: Elaborada pelo autor.

Todas as enzimas analisadas apresentaram sítios de fosforilação (Fig. 2). A RcApx1.iso.1 contém 88 sítios (Thr8, Ser73, Tyr7), enquanto a RcApx1.iso.2 possui 82 sítios (Thr7, Ser69, Tyr6). A RcApx1.iso.3 apresenta 40 sítios (Thr7, Ser29, Tyr4) e a RcApx2, 50 sítios (Thr17, Ser28, Tyr5). A RcApx3.iso.1 possui 55 sítios (Thr10, Ser32, Tyr13) e a RcApx3.iso.2 conta com 48 sítios (Thr11, Ser28, Tyr9). A RcApx4 apresenta 23 sítios (Thr5, Ser12, Tyr6), enquanto as isoformas RcApx5.iso.1 e RcApx5.iso.2 têm 32 sítios (Thr14, Ser13, Tyr5). Notavelmente, as proteínas RcApx4, RcApx5.iso.1 e RcApx5.iso.2 não apresentam sítios de N-glicosilação, ao contrário das demais, que mostraram a presença de N-glicosilação (1, 1, 1, 1, 1, 1) respectivamente.

Figura 2 – Modificações pós-traducionais das RcAPxs



Fonte: Elaborada pelo autor.

3.5 MODELAGEM MOLECULAR Das RcAPxs

Os modelos correspondentes das enzimas, identificados pelos PDB IDs (Protein Data Bank Identifier), foram: 1IYN.1.A, A0A3Q7F8U4.1.A, A0A1R3JD58.1.A, A0A6A1V597.1.A, A0A4D6LID6.1.A e V4SNA9.1.A. Os valores de identidade entre as enzimas variaram de 71,93% (RcApx5.iso.2) a 89,35% (RcApx1.iso.2). Esses resultados, com identidade superior a 25%, indicam que todas as RcApxs selecionadas no estudo são bons modelos para serem utilizadas como moldes. A similaridade entre as sequências de aminoácidos variou de 51% (entre RcApx5.iso.1, RcApx5.iso.2 e RcApx3.iso.1) a 59% (entre RcApx1.iso.1 e outras isoformas), com uma cobertura mínima de 41% (RcApx3.iso.1) e máxima de 95% (RcApx5.iso.1 e RcApx5.iso.2). Isso significa que as sequências analisadas incluem todos os resíduos que compõem o domínio funcional proteico. O valor de QMEAN variou de 89% (RcApx1.iso.1) a 92% (RcApx1.iso.2). A análise de validação, por meio do gráfico de Ramachandran, revelou que a maioria das proteínas apresentou mais de 90% dos resíduos em regiões favoráveis, com destaque para a RcApx4, que alcançou 99,19% (Tabela 2). Além disso, os resultados do z-score indicaram que a RcApx1 (<1) e suas isoformas apresentam boa qualidade (Figura 3), como as encontradas por Jardim-Messeder *et al.* (2022).

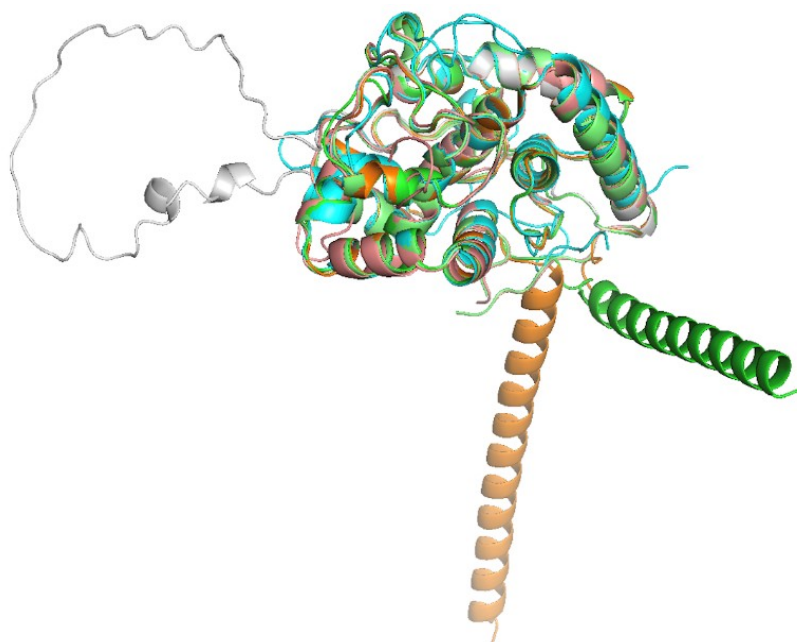
A isoforma RcApx1.iso.1 foi utilizada para as ancoragens moleculares, pois foi a única com dois aminoácidos do sítio catalítico equivalentes (His169 - Lys169 aminoácido correspondente com mesma polaridade - e Ser173) aos encontrados por Singh e Shah (2014) para as ancoragens moleculares, bem como a sua estrutura tridimensional foi validada (Tabela 3 e Figura 4).

Tabela 2. Validação da modelagem por homologia das proteínas Apxs em *R. communis* L.

Protein	Modelo (PDB ID)	Identidade	Sequência de similaridade	Cobertura	Faixa	QMEAN	GMQE	Ramachandran (%)	Qualidade (z-score)
RcAPx1.iso.1	1iyn.1.A	89,31	0,59	0,65	89-362	0,89	0,61	98,16	< 1
RcAPx1.iso.2	1iyn.1.A	89,35	0,59	0,77	89-365	0,92	0,71	98,16	< 1
RcAPx1.iso.3	1iyn.1.A	89,31	0,59	0,82	14-287	0,90	0,76	98,53	< 1
RcAPx2	A0A3Q7F8U4.1.A	79,86	0,55	1	1-283	-	0,92	97,16	-
RcAPx3.iso.1	A0A1R3JD58.1.A	73,45	0,51	0,41	1-181	-	0,34	87,64	-
RcAPx3.iso.2	A0A6A1V597.1.A	85,07	0,57	1	1-288	-	0,94	98,25	-
RcAPx4	A0A4D6LID6.1.A	86,75	0,58	1	1-249	-	0,97	99,19	-
RcAPx5.iso.1	V4SNA9.1.A	71,93	0,51	0,95	1-239	-	0,95	92,41	-
RcAPx5.iso.2	V4SNA9.1.A	71,93	0,51	0,95	1-239	-	0,95	92,41	-

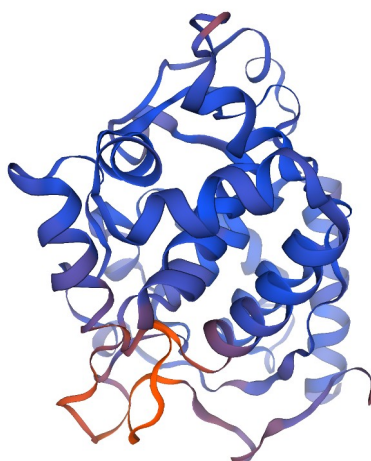
Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 3 – Estruturas tridimensionais definidas e alinhadas das RcAPxs, representadas cada uma por cores diferentes.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 4. Estrutura 3D definida e alinhada da RcAPx1.iso1, representadas cada uma por cores diferentes.



Fonte: Elaborada pelo autor

3.6 ANCORAGEM MOLECULAR

A ascorbato peroxidase é uma das enzimas chave para a compreensão do equilíbrio do status redox de plantas em condições de estresse oxidativo causado por metais, devido à versatilidade funcional do seu substrato, o peróxido de hidrogênio (Maruta e Ishikawa, 2018). Os fitormônios (giberelina, auxina, metil jasmonato e ácido salicílico) foram encontrados como fatores cis-elementos estimuladores da expressão da ascorbato peroxidase *in silico* (Jardim-Messeder et al., 2022), como observado em nossos resultados. Outros, como o brassinolídeo, são conhecidos por serem produzidos em condições de estresse oxidativo gerado por metais pesados (Khan et al., 2018). Além de mecanismos de promoção dessas defesas bem conhecidos, como o aumento da expressão e atividades de enzimas antioxidantes (Rahman et al., 2023), outra que foi pouco explorada até o momento consiste na afinidade desses fitormônios com os sítios catalíticos de enzimas antioxidantes, como a APx. Um dos poucos trabalhos que demonstrou isso foi o realizado por Singh e Shah (2014), com estudos *in silico*, ao apresentar como o metil jasmonato pode interferir na interação do cádmio com a APx de *Oryza sativa* L. (arroz), podendo conferir um efeito protetor. De acordo com Singh e Shah (2014), os resíduos de aminoácidos observados estavam restritos apenas ao grupo heme; entretanto, em nossos resultados, os resíduos identificados foram localizados em posições próximas, mantendo a mesma polaridade, o que reforça a consistência da interação observada. Diante desse contexto, as afinidades encontradas pelas ancoragens moleculares foram realizadas (Tabela 3, Figuras 5 e 6).

Tabela 3. Variação de energia livre entre os ligantes e a proteína (afinidade).

Ligante	Afinidade (ΔG - kcal/mol)
Heme	- 5,6
Ascorbato	- 5,0
Giberelina	- 6,1
Brassinolídeo	- 6,0
Auxina	- 5,4
Metil jasmonato	- 4,7
Ácido abscísico	- 5,0
Ácido salicílico	- 5,0
Etileno	- 1,4
Zinco	- 1,8

Peróxido de hidrogênio	- 3,3
Malonaldeído	- 2,3

Fonte: Elaborada pelo autor

Dos fitormônios utilizados nas ancoragens moleculares comparados a todos os outros ligantes, a giberelina e o brassinolídeo destacam-se com as maiores afinidades, - 6,1 e - 6,0 kcal/mol respectivamente (Tabela 3), podendo conferir efeito protetor contra metais pesados e produtos do estresse oxidativo. Todos os fitormônios testados estão envolvidos no estímulo de divisão celular para amadurecimento, crescimento e germinação em plantas. Nesse contexto, há um aumento da taxa metabólica e, por conseguinte, aumento da produção de EROs, assim, elevada expressão de enzimas antioxidantes, como encontrado nos nossos resultados e que está de acordo com os de Jardim-Messeder *et al.* (2022). Esses efeitos são observados na presença de metais pesados (Rahman *et al.*, 2023).

Em estudos de ancoragem molecular são consideradas duas condições: o encaixe do ligante no espaço do sítio catalítico e a distribuição das energias em interações/ligações para estabilizar esse complexo, resultando em uma menor entropia nesse local, ou seja, menor variação de energia livre (ΔG), podendo ser atribuída às moléculas de água no entorno como interferentes (Tao *et al.*, 2020; Bissantz, Kuhn e Stahl, 2010).

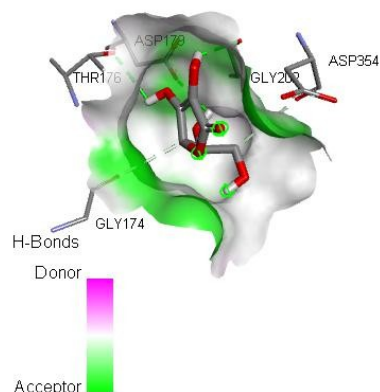
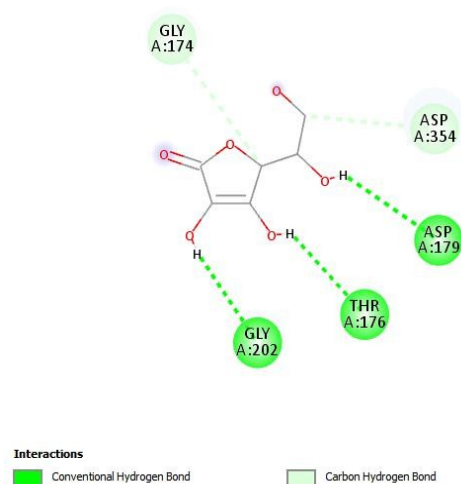
As forças de Van Der Waals encontradas na interação da giberelina possivelmente justificam a alta afinidade encontrada com RcAPx1.iso1 (Figura 6A e 6B). Essas forças apresentam baixa intensidade, quando comparada à ligação de hidrogênio (Alves de Lima, 2010). Além dessas, foram encontradas interações alquila entre aminoácidos polares e regiões apolares, como encontrada para o brassinolídeo (Figura 6C e 6D), e desfavoráveis receptor-receptor, podendo serem importantes por não inibirem a atividade da RcAPx1.iso1 (Bissantz, Kuhn e Stahl, 2010).

O brassinolídeo foi o segundo fitormônio com maior afinidade ($\Delta G = - 6,0$ kcal/mol) comparado ao substrato (ascorbato - $\Delta G = -5,0$ kcal/mol) e ao heme ($\Delta G = - 5,6$ kcal/mol). Isto se deve possivelmente ao deslocamento de moléculas de água periféricas ao sítio catalítico devido a sua característica apolar em algumas regiões, como na giberelina (Figura 6A e 6B), conferindo menor energia livre, bem como estabilizadas por duas interações alquila-alquila, entre aminoácidos

apolares e regiões apolares acíclicas do fitormônio e uma alquila-arila, entre aminoácidos apolar e um anel de cinco carbonos do ligante (Figura 6C e 6D) (Bissantz, Kuhn e Stahl, 2010). Apesar de interações fracas, alguns trabalhos informam que são importantes na estabilidade do complexo proteína-ligante (Nishio *et al.*, 2014; Brandl *et al.*, 2001; Shimohigashi *et al.*, 1999; Oakley *et al.*, 2010). Interações proteína e brassinolídeo já foram demonstradas em *Pennisetum glaucum*, no caso com a chaperona HSC70 envolvida em tolerância ao estresse por calor (Baloji *et al.*, 2019).

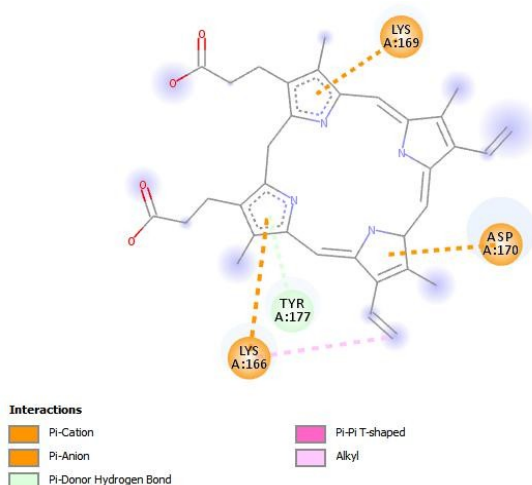
Figura 5. Imagens bi e tridimensionais das interações do sítio catalítico da RcAPx.iso1 com o substrato ascorbato (A e B) e o padrão heme (C e D) (Singh e Shah, 2014).

A

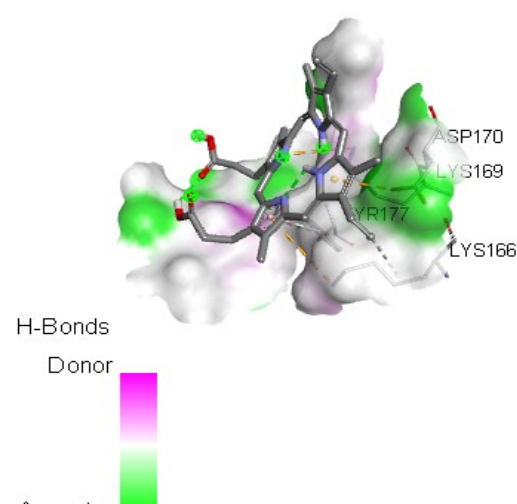


Fonte: Elaborada pelo autor.

C

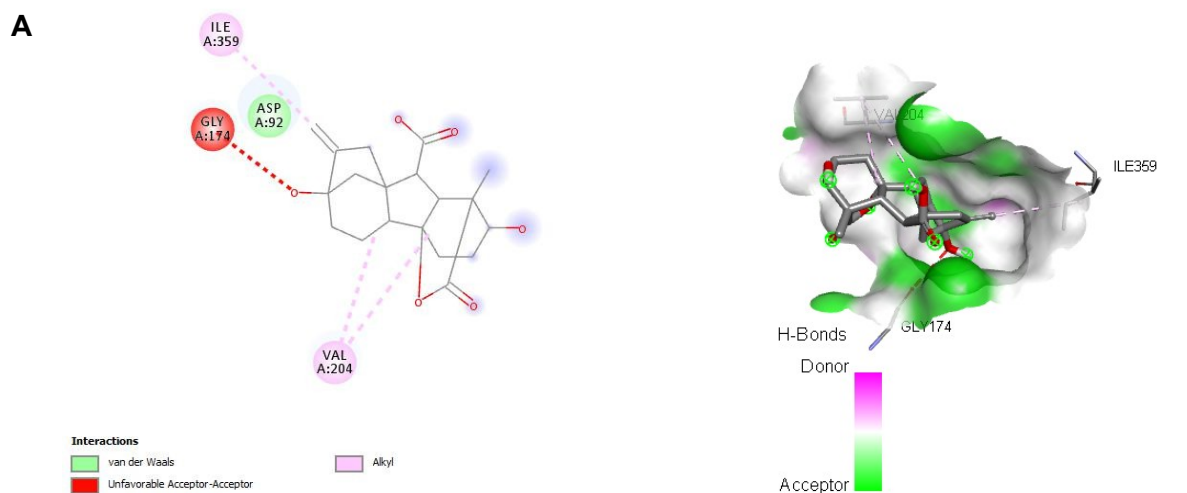


D

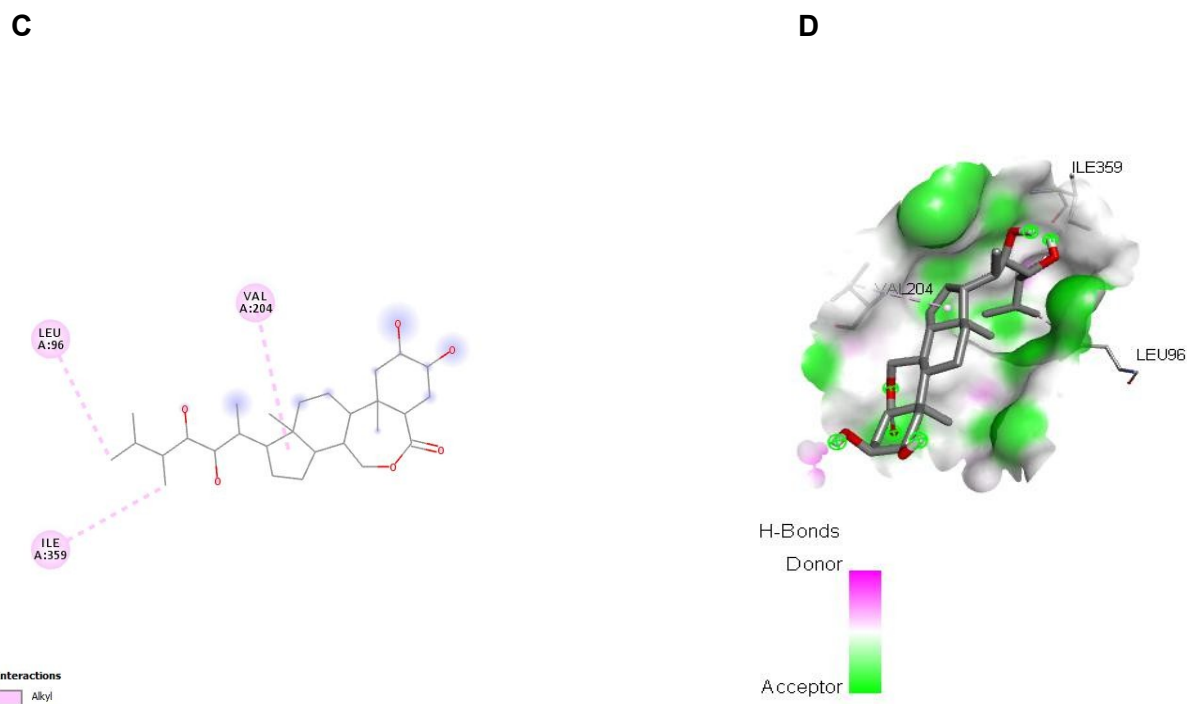


Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 6. Imagens bi e tridimensionais das interações do sítio catalítico da RcAPx.iso1 com giberelina (A e B), brassinolídeo (C e

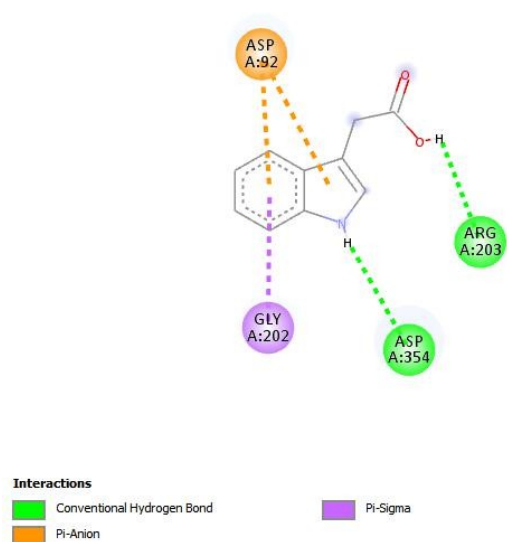


Fonte: Fonte: Elaborada pelo autor

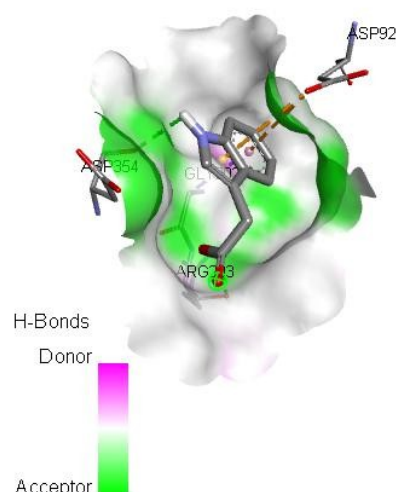


Fonte: Elaborada pelo autor

E



F



Fonte: Elaborada pelo autor

Diferente do que foi observado para o brassinolídeo, para o ascorbato e o heme, foram constatadas ligações de hidrogênio e Pi-cátion e ânion aos aminoácidos polares sem/com carga do sítio catalítico da RcAPx1.iso1, respectivamente (Figuras 5A, 5B, 5C e 5D), que apesar de apresentarem maior intensidade (de hidrogênio - 2 a 10 kcal/mol) quando comparada às do fitormônio (0,5 - 1,0 kcal/mol), a polaridade dos aminoácidos acaba favorecendo a interação com moléculas de água, resultando em uma afinidade reduzida devido a menor estabilidade no complexo proteína-ligante (Fokoue *et al.*, 2020). Esse padrão de tipos de ligação encontra-se também na auxina (ligações de hidrogênio e Pi-ânion) com os aminoácidos da RcAPx1.iso1, podendo explicar a proximidade nos resultados de afinidade ($\Delta G = -5,4$ kcal/mol) comparado tanto ao ascorbato ($\Delta G = -5,0$ kcal/mol) quanto ao heme ($\Delta G = -5,0$ kcal/mol) (Tabela 3, Figuras 5A, 5B, 5C, 5D e 6E e 6F). Esses resultados podem servir como base para estudos *in silico* e *in vivo* da auxina e seus derivados como herbicida, como foi realizado por Wang *et al.* (2022) contra *Echinochloa crus-galli*.

Singh e Shah (2014) encontraram resultados similares para metil jasmonato aos nossos observados para ascorbato, com a presença de ligações

de hidrogênio entre esse ligante e aminoácidos polares com carga positiva na APx de *O. sativa* L. (arroz), da mesma forma com em nossos resultados (não apresentados) para os ácidos abscísico e salicílico, em que ambos apresentam estruturas cíclicas e regiões polares (carboxilas), podendo explicar os mesmo valores de afinidade idênticos ($\Delta G = -5,0$ kcal/mol). Diferente do encontrado em nossos resultados (não mostrados) para metil jasmonato (uma interação alquila) e, assim, justifica-se a afinidade um pouco menor ($\Delta G = -4,7$ kcal/mol) (Tabela 3).

Dentre os fitormônios com a menor afinidade foi o etileno ($\Delta G = -1,4$ kcal/mol), não apresentando assim, uma possível mecanismo de defesa contra o zinco ($\Delta G = -1,4$ kcal/mol), peróxido de hidrogênio ($\Delta G = -3,3$ kcal/mol) e malonaldeído ($\Delta G = -2,3$ kcal/mol) (Tabela 3) (Bhattacharjee, 2006; Gupta, 2010; Blokhina *et al.*, 2003; Barreiros, David e David, 2006). Arya *et al.* (2021) apresentou resultados de ancoragem molecular entre a superóxido dismutase e o malonaldeído em humano e sugere a inibição da atividade dessa enzima, crucial para o início do processo de detoxificação de EROs pelo sistema antioxidante (Perry *et al.*, 2010), mecanismo que pode ocorrer para APx e outras enzimas antioxidantes.

Os resultados aqui apresentados de ancoragem molecular possibilitam novos estudos com giberelina e brassinolídeo contra metais pesados, ao apresentarem maiores afinidade à RcAPx1.iso1 e impedir a interação do zinco ou de produtos do estresse oxidativo, preservando esse componente do sistema antioxidante. Outras perspectivas de pesquisas podem ser voltadas para o princípio de redução da toxicidade pela giberelina com a modulação do equilíbrio das concentrações de ferro, com estudos com ancoragens entre proteínas transportadoras de ferro e esse fitormônio, como observado por Uzal e Yasar (2017) com alface em contato com cádmio. Além disso, a partir do presente trabalho, podem ser realizados estudos *in silico* e *in vivo* em *R. communis* L., como realizado por Kvasnica *et al.*, 2016 contra fitopatógenos, ao interagir análogos do brassinolídeo com o receptor de brassinosteróide insensível 1 (RECEPTOR BRASSINOSTEROID INSENSITIVE 1 - BRI1), que ao associar-se à cinase receptora de embriogênese somática 1 (SOMATIC EMBRYOGENESIS RECEPTOR KINASE 1 - SERK1) podem desencadear um processo de sinalização celular voltados para o desenvolvimento/ crescimento vegetativo, assim, uma resposta a estresse biótico e abiótico.

4 CONCLUSÃO

Os fatores cis-elementos, as localizações subcelulares atreladas as modificações pós-traducionais demonstram uma íntima relação entre os fitormônios utilizados e as RcAPxs. Isso, de maneira conjunta com a validação das estruturas tridimensionais resolvidas com boa qualidade contribuem com a escolha da RcAPx1.iso1, para realização das ancoragens. Os fitormônios apresentam maior afinidade, exceto o etileno, quando comparado ao zinco, malonaldeído, peróxido de hidrogênio e principalmente a giberelina, quando comparado com todos os ligantes estudados. Esses resultados contribuem para a compreensão de mais uma linha de estudos do efeito protetor dos fitormônios em *R. communis* L em resposta a estresse abiótico.

5 REFERÊNCIAS

ARYA A. *et al.* Inactivation of the superoxide dismutase by malondialdehyde in the nonalcoholic fatty liver disease: a combined molecular docking approach to clinical studies. **Arquivos de fisiologia e bioquímica**, v. 127, n. 6, p. 557-564, 2021.

BALOJI, G. *et al.* Insights from the molecular docking analysis of phytohormone reveal brassinolide interaction with HSC70 from *Pennisetum glaucum*. **Bioinformation**, v.15, n. 2, p. 131, 2019.

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

BAUDDH, K.; SINGH R. P. Cadmium Tolerance and Its Phytoremediation by Two Oil Yielding Plants *Ricinus Communis* (L.) and *Brassica Juncea* (L.) From The Contaminated Soil. **Revista internacional de fitorremediação**, v. 14, n. 8, p. 772-785, 2012.

BHATTACHARJEE, S. Membrane lipid peroxidation, free radical scavengers and ethylene evolution in *Amaranthus* as affected by lead and cadmium. **Biologia plantarum**, v. 40, p. 131-135, 2010.

BIOVIA, D. *et al.* Dassault Systèmes BIOVIA, **Discovery Studio Visualizer**, 2016.

BISSANTZ, C.; KUHN, B.; STAHL, M. A Medicinal Chemist's Guide to Molecular Interactions, v.53, n. 14, p. 5061-84, 2010.

BLOKHINA, O. *et al.* Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. **Annals of Botany**, v. 91, p. 179-194, 2003.

BLOM, N.; GAMMELTOFT, S.; BRUNAK, S. Sequence and structure-based prediction of eukaryotic protein phosphorylation sites. **Journal of Molecular Biology**, v. 294, p. 1351-1362, 1999.

BOLTON, E. E. *et al.* PubChem3D: a new resource for scientists. **Journal of cheminformatics**, v. 3, p. 1-15, 2011.

BRANDL, M. *et al.* Interações CH... π em proteínas. **Journal of molecular biology**, v. 307, n. 1, p.:357-377, 2001.

BROWN, A.P. *et al.* Tissue-Specific Whole Transcriptome Sequencing in Castor, Directed at Understanding Triacylglycerol Lipid Biosynthetic Pathways. **PLoS ONE**, v. 7, e30100, 2012.

CHHAJRO, M. A. *et al.* Physiological and Growth Responses of Castor (*Ricinus Communis* L) Under Cadmium Stressed Environment. **Jornal de Pesquisa Aplicada em Ciências Vegetais**, v. 3, n. 02, p. 242-247, 2022.

DEAN, C., SCHIMIDT, R. Plant genomes: a current molecular description. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 46, p. 395-418, 1995.

FOKOUÉ, H. H. *et al.* Há Algo Novo no Reconhecimento Molecular Aplicado à Química Medicinal? **Química Nova**, v. 43, p. 78-89, 2020.

GERHARDT, B. P.; BEEVERS, H. Developmental studies on glyoxysomes in *Ricinus* endosperm. **The Journal of Cell Biology**, v. 44, n. 1, p. 94-102, 1970.

GUPTA, R. J.; BRUNAK, S. NetNGlyc – Prediction of n-linked glycosylation sites in human proteins. **In preparation**, v. 46, p. 203-206, 2004.

GUPTA, S. D. Ed. **Reactive Oxygen Species and Antioxidants in Higher Plants**. CRC press, 2010.

HEDDEN, P.; THOMAS, S. G. Gibberellin biosynthesis and its regulation. **Biochemical Journal**, v. 444, n. 1, p. 11-25, 2012.

JARDIM-MESSEDER, D. *et al.* Ascorbate-glutathione cycle genes families in Euphorbiaceae: Characterization and evolutionary analysis. **Biology**, v. 12, n. 1, p. 19, 2022.

JIN, H. *et al.* A plant-specific calreticulin is a key retention factor for a defective brassinosteroid receptor in the endoplasmic reticulum. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. v. 106, n. 32, p.13612-13617, 2009.

KHAMISS, K.; SABOUH, M.; KANBAR, A. Evaluating the impact of brassinolide on ascorbate peroxidase activity during *Brassica napus* embryo development *in vitro*. *J. Appl. Sci. Res*, v. 7, p. 1336-1339, 2011.

KHAN, D. A. *et al.* Role of Phytohormones in Enhancing Antioxidant Defense in Plants Exposed to Metal/Metalloid Toxicity. Em: Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Fujita, M. (Eds.). **Plants Under Metal and Metalloid Stress**. Cingapura: Springer, 2018.

KIRAN, B. R; PRASAD, M. N. Defense manifestations of enzymatic and non-enzymatic antioxidants in *Ricinus communis* L. exposed to lead in hydroponics. **J. EuroBiotech**, v. 3, p. 117–127, 2019.

KVASNICA, M. J. *et al.* Design, synthesis and biological activities of new brassinosteroid analogues with a phenyl group in the side chain. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 14, n. 37, p. 8691-8701, 2016.

MARQUES, M. C.; NASCIMENTO, C. W. Tolerância de mamona a zinco avaliada por fluorescência de clorofila e nutrição das plantas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 38, p. 850-85, 2014).

MARUTA, T.; ISHIKAWA, T. Ascorbate peroxidase functions in higher plants: the control of the balance between oxidative damage and signaling. Em: Gupta, D., Palma, J., Corpas, F. (Eds.). **Antioxidants and antioxidant enzymes in higher plants**. Cham: Springer, 2018.

MORRIS, G.M.; HUEY, R.; OLSON, A. J. Using autodock for ligand-receptor docking. **Protocolos atuais em bioinformática**, v. 24, n. 1, p. 8-14, 2008.

NISHIO, M. *et al.* CH– π hydrogen bonds in biological macromolecules. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 16, n. 25, p. 12648-12683, 2014.

OAKLEY, A. J. *et al.* **Structural and functional basis of resistance to neuraminidase inhibitors of influenza B viruses**. 2010.

ØDUM, M. T. *et al.* DeepLoc 2.1: multi-label membrane protein type prediction using protein language models. **Nucleic Acids Research**, v. 52, n. 1, p. 215-2020, 2024.

PERRY, J. J. *et al.* The structural biochemistry of the superoxide dismutases. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics**, v. 1804, n. 2, p. 245-262, 2010.

RAHMAN, S. U. *et al.* Role of phytohormones in heavy metal tolerance in plants: A review. **Ecological Indicators**, v. 146, p. 109844, 2023.

RAZA, A. *et al.* Plant hormones and neurotransmitter interactions mediate antioxidant defenses under induced oxidative stress in plants. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, n. 13, p. 961872, 2022..

ROMBAUTS, S. *et al.* PlantCARE, a plant cis-acting regulatory element database. **Nucleic Acids Research**, v. 27, n. 1, 1999.

SALAZAR-IRIBE, A.; DE-LA-PENA, C. Auxins, the hidden player in chloroplast development. **Plant Cell Reports**, v. 39, n. 12, p. 1595-1608, 2020.

SCHRÖDINGER, LLC. **The PyMOL Molecular Graphics System**, Version 2.1.1; 2015.

SHIMOHIGASHI, Y. *et al.* Design de inibidores de serina protease com conformação restrita pela interação cadeia lateral-cadeia lateral de aminoácidos CH/ π . **Peptide Science**, v. 51, n. 1, p. 9-17, 1999.

SINGH I.; SHAH K. Evidences for structural basis of altered ascorbate peroxidase activity in cadmium-stressed rice plants exposed to jasmonate. **Biometals**. v. 27, p. 247-63, 2014.

TAO, X. *et al.* Recent developments in molecular docking technology applied in food science: a review. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 55, p. 33–45, 2020.

TROTT, O.; OLSON, A. J. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. **Journal of computational chemistry**, v. 31, n. 2, p. :455-61, 2010.

UNG, K. L. *et al.* Structures and mechanism of the plant PIN-FORMED auxin transporter. **Nature**, v. 609, n. 7927, p. 605-610, 2022.

UZAL, O.; YASAR, F. Effects of GA 3 hormone treatments on ion uptake and growth of pepper plants under cadmium stress. **Applied Ecology & Environmental Research**, v. 15, n. 4, 2017.

WADA, K. *et al.* Crystal structure of chloroplastic ascorbate peroxidase from tobacco plants and structural insights into its instability. **Journal of Biochemistry**, v. 134, n. 2, p. 239-244, 2003.

WANG, X. *et al.* Design, synthesis, and herbicidal activity of indole-3-carboxylic acid derivatives as potential transport inhibitor response 1 antagonists. **Frontiers in Chemistry**, v. 10, p. 975267, 2020.

WATERHOUSE, A. *et al.* SWISS-MODEL: homology modelling of protein structures and complexes. **Nucleic Acids Research**, v. 46, p. 296-303, 2018.

WILLIAMS, C. J. *et al.* MolProbity: More and better reference data for improved all-atom structure validation. **Protein Science**, v. 27, p. 293-315, 2018.

CAPÍTULO 2

TOXICIDADE DO ZINCO NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *Ricinus communis* L. SOB DIFERENTES CONCENTRAÇÕES

TOXICIDADE DO ZINCO NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *Ricinus communis* L. SOB DIFERENTES CONCENTRAÇÕES

RESUMO:

A fitotoxicidade do zinco compromete processos fisiológicos e bioquímicos em plantas, podendo ser atenuada com o uso de genótipos com capacidade remediadora, como de *Ricinus communis* L. (mamona). Devido sua alta adaptabilidade, essa espécie atua como bio-sinalizadora natural em áreas com solos contaminados, como acontece em Santo Amaro, Bahia, contribuindo para o monitoramento e recuperação de áreas degradadas por fitoextração. O presente estudo avaliou os efeitos do zinco na germinação de sementes da linhagem UFRB160 e da cultivar BRS Energia, submetidos em diferentes concentrações (Água, EDTA 125 mg + Zn 125 mg, 32 mg, 62,5 mg, 125 mg, Giberelina 125 mg + Zn 125 mg), aferição das raízes das plântulas, bem como teores de óleo nessas condições. A cultivar BRS Energia demonstrou tolerância maior ao estresse abiótico referente a germinação, porém não para as ramificações radiculares e o teor de óleo. Por outro lado, foi observado sensibilidade da linhagem UFRB160 ao zinco em concentrações elevadas, salvo com a utilização do quelante, como para a cultivar BRS Energia, e na porcentagem de germinação na condição com o fitormônio. Assim, os resultados reforçam a importância da seleção de constituições genéticas para reduzir as concentrações de íons metálicos tóxicos ambientais

Palavras-chave: Fitorremediação, Íon Metálico, Mamona, Vigor germinativo, Estresse abiótico.

ZINC TOXICITY ON THE GERMINATION OF *Ricinus communis* L. SEEDS UNDER DIFFERENT CONCENTRATIONS

ABSTRACT:

Zinc phytotoxicity compromises physiological and biochemical processes in plants and can be attenuated by using genotypes with remediation capacity, such as *Ricinus communis* L. (castor bean). Due to its high adaptability, this species acts as a natural biosignaler in areas with contaminated soils, as is the case in Santo Amaro-BA, contributing to monitoring and recovery of areas degraded by phytoextraction. The present study evaluated effects of zinc on germination of seeds of UFRB160 line and cultivar BRS Energia, submitted to different concentrations (water, EDTA 125 mg + Zn 125 mg, 32 mg, 62.5 mg, 125 mg, Gibberellin 125 mg + Zn 125 mg), measurement of seedling roots, as well as oil contents under these conditions. The BRS Energia cultivar showed greater tolerance to abiotic stress regarding germination, but not for root ramifications and oil content. On other hand, UFRB160 was sensitive to zinc at high concentrations, except with the use of chelator, as for cultivar, and in germination percentage under condition with phytohormone. Thus, we reinforce the importance of selecting genetic results to reduce concentrations of toxic metal ions in environment.

Keywords: Phytoremediation, Metallic Ion, Castor bean, Germination vigor, Abiotic stress.

1 INTRODUÇÃO

A viabilidade germinativa das sementes representa uma fase importante no ciclo de vida vegetal, sendo modulada por condicionantes ambientais e nutricionais. Sob a perspectiva edáfica e nutricional, o zinco é um micronutriente essencial para a regulação integrada das respostas proteômicas, metabolômicas e hormonais. Além disso, esse oligoelemento contribui para a mitigação do estresse oxidativo gerados por espécies reativas de oxigênio (ROS), por meio da ativação e estabilização do sistema antioxidante enzimático, especialmente pela ascorbato peroxidase (APx) (Liu *et al.*, 2018)

No entanto, níveis inadequados desse cofator indica um quadro de fitotoxicidade severa que compromete a fisiologia vegetal associada à ocorrência de estresse abiótico, resultando na produção intensificada de ROS, inativação do sistema antioxidante, que como consequência compromete a aptidão germinativa ou ocasiona dormência de sementes. A presença excessiva do zinco em solos ocorre sob influência de atividades industriais como mineração, adubação subótima que resulta na disposição descontrolada ao ambiente (Huang *et al.*, 2018; Anas *et al.*, 2024)

O resultado do manejo ineficiente da contaminação desse metal foi relatado no município de Santo Amaro, no estado da Bahia, cujo efeito da exploração e beneficiamento em conjunto a outros elementos de transição contribuíram para poluição ambiental, que alastrou-se aos recursos hídricos e quadro clínico deficiente da população local. Nessa região a recuperação de áreas degradadas representa um desafio para melhorar o cenário agrícola exigindo estudos de fitorremediação que contribuam para a revitalização ambiental local (Filadelfo *et al.*, 2024).

A mamoneira (*R. communis*) é uma oleaginosa de ampla utilização econômica, principalmente na produção de biocombustíveis. Além disso, é empregada em programas de recomposição de ecossistemas devido à sua

adaptabilidade e ao seu potencial como bio-sinalizadora. Entretanto, a escassez científica sobre o assunto é um bloqueio para analisar respostas morfofisiológicas dessa espécie ao estresse abiótico por metais pesados, como o zinco, em doses elevadas (Qureshi *et al.*, 2020)

Considerando esse contexto, o presente estudo tem como objetivo avaliar os efeitos tóxicos do zinco, em diferentes concentrações, na germinação de sementes de *R. communis*, especificamente na cultivar BRS Energia e na linhagem UFRB160. Busca-se, assim, determinar o grau de resistência, suscetibilidade ou tolerância dessas variedades ao metal, a fim de orientar estratégias futuras para restabelecimento de áreas naturais por meio do uso adequado desse recurso genético vegetal.

2 METODOLOGIA

O presente trabalho foi realizado no Laboratório do Núcleo de Melhoramento Genético e Biotecnologia - NBIO, vinculado ao Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, localizada em Cruz das Almas, Bahia, Brasil. Sendo utilizadas no experimento as sementes de mamona (*R. communis*) da cultivar BRS Energia e da linhagem UFRB160, esta última gerada por este Núcleo.

2.1 Teste de germinação

Os testes germinativos foram conduzidos entre janeiro e abril de 2025, utilizando sementes armazenadas no banco ativo de germoplasma do Núcleo de Melhoramento Genético e Biotecnologia (NBIO/UFRB), conforme as recomendações das Regras para Análise de Sementes – RAS (Brasil, 2009). O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, com cinco repetições de 50 sementes para cada genótipo. Para assegurar maior uniformidade na embebição durante os ensaios fisiológicos, as sementes tiveram suas carúnculas removidas antes de serem submetidas à desinfestação com solução de hipoclorito de sódio a 0,1%, permanecendo submersas por 20 minutos. Em seguida, foram lavadas em água corrente para a remoção do resíduo de hipoclorito e secas sobre papel toalha.

As sementes foram dispostas em papel *germitest* previamente umedecido com água destilada equivalente a 2,5 vezes o peso do papel seco nas condições Água, EDTA 125 mg (11,08 mM) + Zn 125 mg, Zn 32 mg (2,63mM), Zn 62,5 mg (5,65mM), Zn 125 mg(11,29mM) e Giberelina (9,37mM) + Zn 125 mg, colocadas para germinar a temperatura de 25 °C sem fotoperíodo para posteriormente avaliar as variáveis: germinação, comprimento da parte radicular (raízes primárias e secundárias), peroxidação lipídica e teor de óleo.

Tratamento	Descrição
1	Água
2	EDTA 125 mg + Zn 125 mg (1:1)
3	Zn 32 mg
4	Zn 62,5 mg
5	Zn 125 mg
6	Giberelina + Zn 125 mg (1:1)

2.1.1 Teste de germinação: As avaliações foram realizadas em um período de 7 dias após a semeadura segundo as RAS (Brasil, 2009).

2.1.2 Comprimento de parte radicular: a avaliação foi feita com auxílio de uma régua graduada (mm) no sétimo dia após a semeadura (final do teste germinativo), das quais foram medidas as Raízes primárias e Raízes secundárias.

2.1.3 - Extração de Óleo: Para a determinação do teor de óleo, utilizou-se o método de Soxhlet (1879), com algumas modificações. Foram pesados 5 g de sementes de cada um dos dois genótipos (BRS Energia e UFRB160), correspondentes aos diferentes tratamentos. Em seguida, as sementes foram maceradas, acondicionadas em papel filtro e inseridas em cestos de aço inox coberto com algodão nas partes superior e inferior. Cada conjunto foi colocado no equipamento, e nos frascos de vidro adicionaram-se 100 mL de hexano ($\geq 99\%$). Após o primeiro gotejamento uniforme do solvente e o alcance da temperatura de 176 °C, o processo seguiu por uma hora e meia. Em seguida, realizou-se uma segunda maceração com 3 g de areia autoclavada, repetindo-se o tempo de extração. Ao final, os frascos foram levados à estufa a 130 °C por 40 minutos. O teor de óleo foi determinado pela diferença do peso do recipiente com o óleo antes e após a extração, descontando-se o peso dos frascos (SOXHLET, 1879).

2.1.4 - Peroxidação lipídica: A peroxidação lipídica foi quantificada pelo método TBARS (*Thiobarbituric Acid Reactive Species*), conforme Hodges *et al.* (1999), com adaptações. Para preparação do reagente, pesou-se 0,048 g de ácido tiobarbitúrico (TBA) em tubo de 50 mL, adicionando-se 7,14 µL de água destilada. A solução foi homogeneizada e o pH ajustado para 3,5. Em microtubos, a solução de TBA foi misturada com o óleo extraído (proporção 3:1), em triplicata. As amostras foram incubadas em estufa a 100 °C por 1 hora. Após o resfriamento por 15 minutos em freezer, adicionou-se butanol, e as amostras foram centrifugadas a 13.400 rpm, a 4 °C, por 10 minutos. O sobrenadante foi descartado, e a leitura do precipitado foi realizada em espectrofotômetro UV a 532 nm. Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística.

As médias do experimento foram comparadas pelo teste de tukey, a 5% (*) de probabilidade para todas as variáveis, a partir do programa GRAPHPAD PRISM versão 10.0.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A análise germinativa das sementes de *R. communis*, sob diferentes concentrações apresentadas em ambos genótipos (BRS energia e UFRB160), obteve contrastes significativos referentes a resposta fisiológica ao zinco, cujo experimento foi conduzido ao longo de 7 dias até a taxa de germinação estabilizar. Na Figura 1, é possível observar que a cultivar BRS Energia conseguiu atingir o platô germinativo por volta do terceiro dia na maioria das condições impostas, principalmente na 125mg, evidenciando uma elevada tolerância ao metal pela rápida resposta na fase emergencial, diferente do que aconteceu com a taxa de germinação da UFRB160.

Figura 1. Velocidade de Germinação da cultivar BRS Energia (Mamona)

Fonte: Elaborada pelos autores.

Na UFRB160 (Figura 2) a maior sensibilidade ao estresse abiótico por zinco foi devido a redução acentuada na mesma condição a qual a cultivar apresentou tolerância, no entanto, é possível perceber que na presença de agente condicionantes como Ácido giberélico - Gb (Tipo de giberelina) e o EDTA (Agente quelante inespecífico), ajudam na superação do estresse, enquanto nos tolerantes (BRS Energia) mesmo na ausência dos agentes condicionantes desempenham uma resposta satisfatória na germinação.

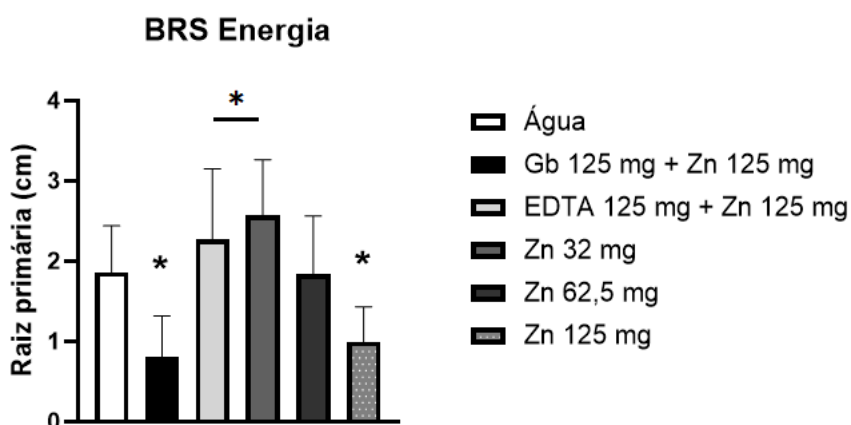
Figura 2. Velocidade de Germinação do linhagem UFRB160 (Mamona)

Fonte: Elaborada pelos autores.

A giberelina além de atuar na quebra da dormência, bem como na fase inicial do desenvolvimento das plântulas, está potencialmente envolvida na regulação da fitotoxicidade causada por elementos químicos, ativando sistema de defesa (Rahman *et al.*, 2023). Segundo estudos de Atici (2005), a concentração dos níveis desse fitormônio é inversamente proporcional a concentração de zinco, destacando que a associação entre resistência e tolerância por elementos de transição e o ácido giberélico em plantas pode estimular a biossíntese a níveis endógenos e exógenos. Diferente do EDTA, que possui eficácia de fitoextrair metais pela formação de complexos metálicos solúveis alterando a absorção radicular e o metabolismo secundário das plantas (Ali *et al.*, 2016; Tammam *et al.*, 2021).

Na Figura 3 de Raiz primária da BRS Energia, é possível observar que a presença do quelante e/ou na condição do zinco (32 mg) na germinação das sementes favoreceram a germinação. Em contrapartida, na condição de zinco 125 mg isolado, reafirma-se que a alta concentração pode gerar efeitos deletérios ao vegetal que compromete o material genético e consequentemente causa um desequilíbrio nutricional, principalmente de ferro, manganês e cobre, induzindo a clorose foliar (Galal *et al.*, 2021).

Figura 3. Dados de Raiz primária da cultivar BRS Energia

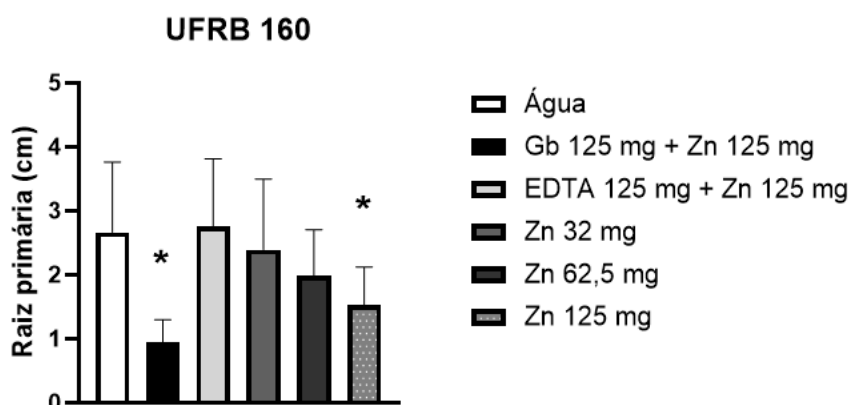


Fonte: Elaborada pelos autores.

Nos dados de raiz primária da UFRB160 (Figura 4), a maioria dos resultados não tiveram diferença estatística significativa como na cultivar BRS

Energia, embora as menores concentrações tenha apresentado uma resposta mais uniforme, sugere que a tolerância relativa depende dos níveis ofertados do metal, onde no extremo (Zn 125 mg), sofre alterações morfológicas visíveis provocadas pelos efeitos tóxicos, principalmente com redução no comprimento do hipocótilo e ausência de desenvolvimento foliar completo subsequente aos cotilédones.

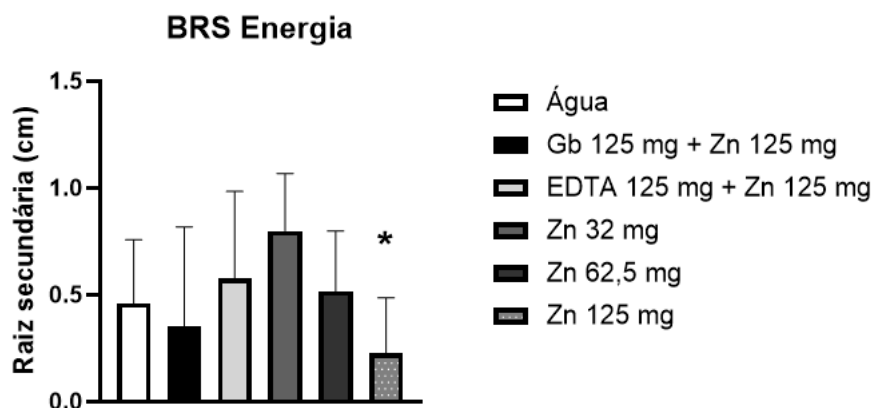
Figura 4. Dados de Raiz primária do linhagem UFRB160



Fonte: Elaborada pelos autores.

Os dados de Raiz primária da BRS reverberam-se na Raiz secundária (Figura 5), cujo comprimento da plântula segue comprometido em dosagem superiores, confirmando fitotoxicidade mesmo sem o comprometimento na porcentagem de germinação nas condições impostas (Figura 1). Na concentração de Zn 125 mg, a redução das ramificações radiculares podem ter uma relação direta aos danos na fotossíntese, interferindo na biossíntese de clorofila, pela inibição do ácido 5-aminolevulínico (ALA), precursor das porfirinas responsável pela conversão fotoativa da redutase protoclorofilídio em clorofilídio, bem como deposição na exoderme de ligninas e suberinas e alteração no número de elementos condutores afetando a condutividade hidráulica (Gomes *et al.*, 2011).

Figura 5. Dados de Raiz secundária da Cultivar BRS Energia

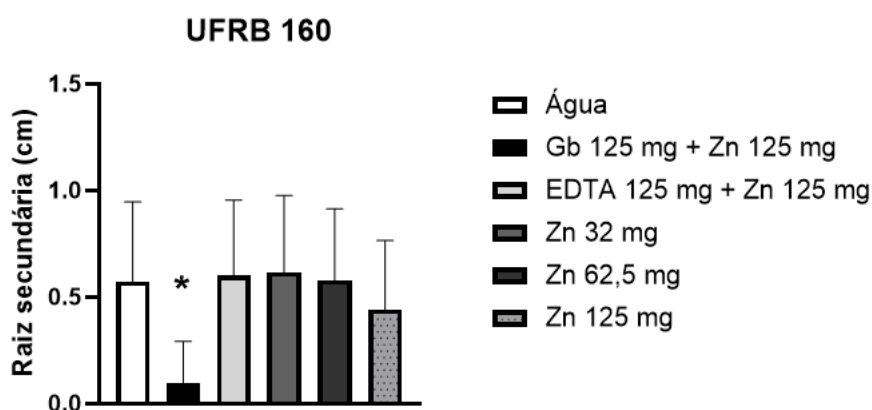


Fonte: Elaborada pelos autores.

Como compensação, as ramificações radiculares da UFRB160 (Figura 6) não tiveram respostas significantes, exceto pela condição de Gb 125 mg + Zn 125 mg sugerindo um efeito sinérgico tóxico, visto que a giberelina tem função de desenvolvimento vegetal, porém a sua aplicação conjunta em doses altas do metal pode agravar o índice de toxicidade devido a desregulação do sistema antioxidante enzimático (Gong *et al.*, 2021).

Na concentração mais tóxica (Zn 125 mg) para ambos os genótipos, a redistribuição de fotoassimilados possivelmente afetou a emergência/desenvolvimento das raízes e também comprometeu o metabolismo energético influenciando no teor de óleo (Saini *et al.*, 2021).

Figura 6. Dados de Raiz secundária do genótipo UFRB160

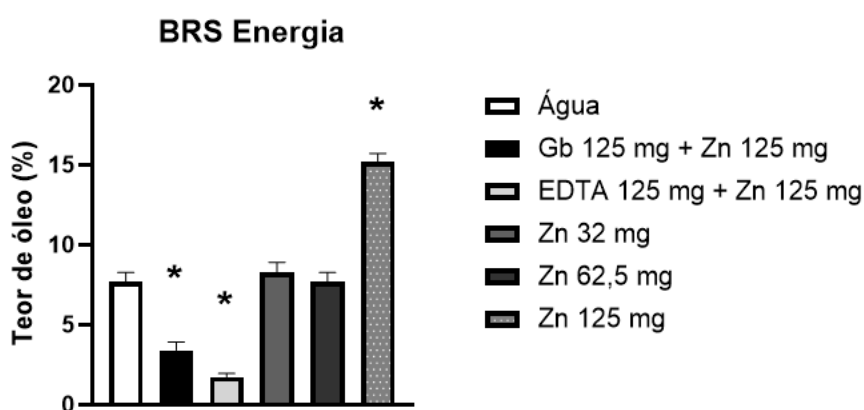


Fonte: Elaborada pelos autores.

Quanto a peroxidação lipídica (resultados não mostrados), não houve diferença significativa entre todas as condições nos dois genótipos,

possivelmente a geração de espécies reativas de oxigênio promovida pelo zinco, como peróxido de hidrogênio, radical hidroxil e ânion superóxido foi suprimida pela super expressão enzimática antioxidante de primeira linha de defesa na função de minimizar os efeitos por meio da neutralização e eliminação dos danos oxidativos (Nelson e Cox, 2022).

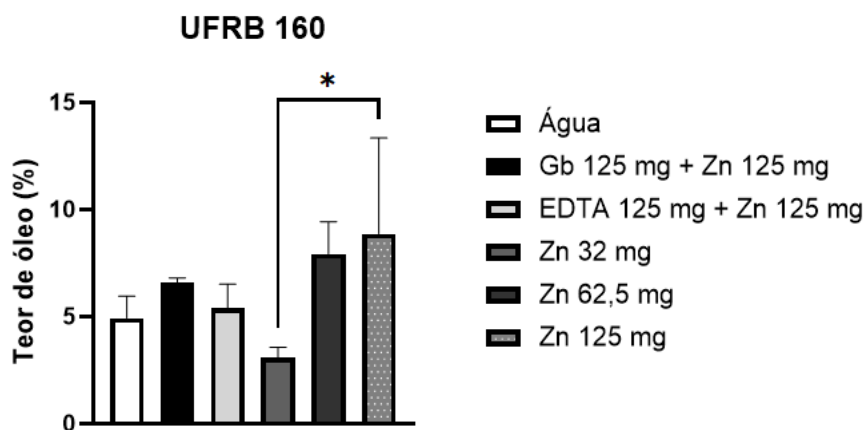
Figura 7. Dados de Teor de Óleo do genótipo BRS Energia



Fonte: Elaborada pelos autores.

Tanto para a cultivar BRS Energia como para o linhagem UFRB 160, na concentração Zn 125 mg (Figuras 7 e 8), os teores de óleo foram reduzidos comparadas as outras condições, principalmente com EDTA 125 mg + Zn 125 mg (Figura 7) e com Zn 32 mg (Figura 8). Segundo Tan *et al.* (2013), o óleo é essencial para germinação, pois é usado como reserva energética a partir da β -oxidação de ácidos graxos, ciclo do glioxilato, ciclo de Krebs e via da gliconeogênese para produção de carboidratos, em que serão utilizados para geração de Trifosfato de Adenosina (ATP), molécula fundamental na divisão celular. Assim, alto teor de óleo pode refletir em baixo consumo deste para germinação.

Figura 8. Dados de Teor de Óleo da Linhagem UFRB160



Fonte: Elaborada pelos autores.

5 CONCLUSÃO

Os genótipos de *Ricinus communis* L. mostraram resultados distintos em resposta ao estresse abiótico por zinco. A cultivar BRS Energia, apresentou tolerância à elevada concentração do metal, devido a sua germinação acelerada, conservação da integridade celular e manutenção do teor de óleo, associada a eficiência do sistema antioxidante enzimático que favoreceu a homeostase redox.

No entanto, a linhagem UFRB160 mostrou maior sensibilidade ao zinco, pelo atraso emergencial da plântula bem como a sua resposta negativa mesmo com o uso de condicionantes como a giberelina, dando indícios da ausência de ganhos expressivos na biossíntese lipídica e agravos na regulação do sistema de defesa.

Dessa forma, a linhagem UFRB160 atua melhor com ação de complexos metálicos para remoção da fitotoxicidade, enquanto a cultivar BRS Energia se mostra mais promissora do ponto de vista genético. Portanto, o trabalho demonstra que a mamona tem potencial em ser utilizada na fitorremediação de zinco utilizando ambos genótipos, porém em alguns casos é necessário a utilização de EDTA para melhores respostas.

REFERÊNCIAS

ALI, Syed Yakub; CHAUDHURY, Shibani. EDTA-enhanced phytoextraction by *Tagetes* sp. and effect on bioconcentration and translocation of heavy metals. **Environmental Processes**, v. 3, n. 4, p. 735-746, 2016.

ANAS, Muhammad et al. Manganese oxide nanoparticles elicit cadmium tolerance in wheat seedlings by ionic and phenomic adjustment, regulation of AsA–GSH pathway, cellular thickness recovery, and antioxidant modulation. **Environmental Science: Nano**, v. 11, n. 11, p. 4588-4605, 2024.

ATICI, Ökkeş; AĞAR, G.; BATTAL, PEYAMI. Changes in phytohormone contents in chickpea seeds germinating under lead or zinc stress. **Biologia plantarum**, v. 49, p. 215-222, 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Regras para análise de sementes*. Brasília, DF: **MAPA/ACS**, 2009. 399 p.

FILADELFO, Crismere Santana Santos, et al. Definição do ideótipo de *Ricinus communis* L. para fitorremediação: uma revisão integrativa. **Revista Delos**, 2024, vol. 17, no. 59, p. e1943–e1943.

GALAL, Tarek M.; ESSA, Basma; AL-YASI, Hatim. Heavy metals uptake and its impact on the growth dynamics of the riparian shrub *Ricinus communis* L. along Egyptian heterogenic habitats. **Environmental Science and Pollution Research**, 2021, vol. 28, p. 37158–37171.

GOMES, Marcelo Pedrosa, et al. Effects of tailings from zinc industry in the anatomy and growth of young plants of *Salix humboldtiana* Willd. (willow). **Hoehnea**, 2011, vol. 38, p. 135–142.

GONG, Q., et al. Gibberellic acid application on biomass, oxidative stress response, and photosynthesis in spinach (*Spinacia oleracea* L.) seedlings under copper stress. **Environmental Science and Pollution Research**, 2021, vol. 28, no. 38, p. 53594–53604.

HODGES, D. Mark, et al. Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. **Planta**, 1999, vol. 207, p. 604–611.

HUANG, G., et al. Influence of phosphorous fertilization on copper phytoextraction and antioxidant defenses in castor bean (*Ricinus communis* L.). **Environmental Science and Pollution Research**, 2018, vol. 25, p. 115–123.

LIU, L., et al. Remediation techniques for heavy metal-contaminated soils: Principles and applicability. **Science of the Total Environment**, 2018, vol. 633, p. 206–219.

NELSON, David L.; COX, Michael M. *Princípios de bioquímica de Lehninger*. Porto Alegre: **Artmed Editora**, 2022.

QURESHI, Freeha Fatima et al. Organic chelates decrease phytotoxic effects and enhance chromium uptake by regulating chromium-speciation in castor bean (*Ricinus communis* L.). **Science of the Total Environment**, v. 716, p. 137061, 2020.

RAHMAN, Shafeeq Ur, et al. Role of phytohormones in heavy metal tolerance in plants: A review. **Ecological Indicators**, 2023, vol. 146, p. 109844.

SAINI, Shivani; KAUR, Navdeep; PATI, Pratap Kumar. Phytohormones: Key players in the modulation of heavy metal stress tolerance in plants. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 223, p. 112578, 2021.

SOXHLET, H. Preparation of permanent rennet-essence. **American Journal of Pharmacy (1835–1907)**, 1879, vol. 51, p. 37.

TAMMAM, A., et al. Improved of growth and phytostabilization potential of lead (Pb) in *Glebionis coronaria* L. under the effect of IAA and GA₃ alone and in combination with EDTA by altering biochemical attributes of stressed plants. **International Journal of Phytoremediation**, 2021, vol. 23, no. 9, p. 958–968.

TAN, Longyan et al. Proteomic insights into seed germination in response to environmental factors. **Proteomics**, v. 13, n. 12-13, p. 1850-1870, 2013.