

## METABOLISMO ANTIOXIDANTE DE PEDÚNCULOS E FRUTOS DE *Coffea arabica* L. COM DIFERENTES FORÇAS DE DESPRENDIMENTO

Isabel Rodrigues Brandão<sup>1</sup>; Dayane Meireles da Silva<sup>2</sup>; Kamila Rezende Dázio de Souza<sup>3</sup>; Lissa Vasconcellos Vilas Boas<sup>4</sup>; Fábio Moreira da Silva<sup>5</sup>; Milene Alves de Figueiredo Carvalho<sup>6</sup>; Jose Donizeti Alves<sup>7</sup>

<sup>1</sup>Bolsista Pós-Doutorado, Embrapa Café, Lavras – MG, isabel.brandao@posgrad.ufla.br

<sup>2</sup>Doutoranda em Agronomia/Fisiologia Vegetal, UFLA, Lavras – MG, dayanemeireles@yahoo.com

<sup>3</sup>Bolsista Pós-Doutorado PNP/CAPEs, UFLA, Lavras – MG, krdazio@hotmail.com

<sup>4</sup>Mestranda em Agronomia/Fisiologia Vegetal, UFLA, Lavras – MG, lissa-92@hotmail.com

<sup>5</sup>Professor, Doutor, Departamento de Engenharia, UFLA, famsilva@ufla.br

<sup>6</sup>Pesquisadora, Doutora, Embrapa Café, Lavras – MG, Milene.carvalho@embrapa.br

<sup>7</sup>Professor, Doutor, Departamento de Biologia/Fisiologia Vegetal, UFLA, jdalves@dbi.ufla.br

**RESUMO:** O objetivo deste trabalho foi investigar o metabolismo antioxidante de pedúnculos e frutos de *Coffea arabica* em diferentes estádios de maturação e forças de desprendimento. Frutos e pedúnculos de cafeeiro foram coletados com auxílio de um dinamômetro portátil em diferentes estádios de maturação e forças de desprendimento (10 – 13N e 8 – 9,9N, 6 – 6,9N e 5 – 5,9N, 4 – 4,9 e 2 – 3,9N). Após a coleta o material vegetal foi separado em cada intervalo de força pré-determinado e colocado em nitrogênio líquido até o armazenamento em ultrafreezer. Foram quantificados os níveis de peróxido de hidrogênio, peroxidação lipídica e a atividade das enzimas dismutase do superóxido, catalase e peroxidase do ascorbato. Maiores níveis de peróxido de hidrogênio foram observados no estágio cereja independente da força de desprendimento e órgão. Ocorreu diferença entre as forças, bem como entre os órgãos, sendo os maiores níveis encontrados nos frutos. Isto culminou com uma maior peroxidação lipídica nos frutos do estágio cereja na maior força de desprendimento utilizada. Em relação à atividade das enzimas antioxidantes, a dismutase do superóxido apresentou-se constante entre os estádios de maturação, bem como entre as forças, porém com maior atividade nos pedúnculos. A atividade da catalase foi maior no estágio cereja, em detrimento da atividade da peroxidase do ascorbato. Pode-se concluir que durante o processo de maturação ocorre maior produção de espécies reativas de oxigênio, com um consequente aumento nos níveis de peroxidação lipídica. Entre as enzimas antioxidantes, a catalase e a peroxidase do ascorbato atuam na tentativa de minimizar os efeitos nocivos das EROs, porém o estresse oxidativo é necessário para o processo de maturação dos frutos de *Coffea arabica* cv Icatu amarelo.

**PALAVRAS-CHAVE:** dismutase do superóxido, catalase, peroxidase do ascorbato e maturação dos frutos.

## ANTIOXIDANT METABOLISM OF PEDUNCLES AND FRUITS OF *Coffea arabica* L. WITH DIFFERENT FORCE OF DETACHMENT

**ABSTRACT:** The aim of this work was to investigate the antioxidant metabolism of peduncles and fruits of *Coffea arabica* L. cultivar Icatu amarelo in different stages of maturation and forces of detachment. Peduncles and fruits were collected using a portable dynamometer at different stages of maturation and forces of detachment (10 - 13 N and 8 – 9.9 N; 6 – 6.9N and 5 – 5.9 N; 4 - 4.9 and 2 – 3.9 N). Peduncles and fruits were placed in liquid nitrogen and stored in ultrafreezer. The levels of hydrogen peroxide and lipid peroxidation, as well as the activity of superoxide dismutase, catalase and peroxidase ascorbate were evaluated. Higher hydrogen peroxide levels were found in cherry stage independent of force of detachment and organ. Differences among forces and organs were observed, and the highest levels were found in fruits. High levels of hydrogen peroxide led to increased lipid peroxidation in higher force of detachment in cherry fruits. Superoxide dismutase activity was constant among the stages of maturation, and between the forces, nevertheless showed greater activity in the peduncles. Catalase activity was higher in the cherry stage, where ascorbate peroxidase activity was lower. Therefore, during the maturation process was observed an increase in production of reactive oxygen species and consequent increased levels of lipid peroxidation. Among the antioxidant enzymes, catalase and peroxidase ascorbate act in order to minimize the harmful effects of ROS, nevertheless the oxidative stress is required for the maturation process of the fruits of *Coffea arabica* L. cultivar Icatu amarelo.

**KEYWORDS:** superoxide dismutase, catalase, ascorbate peroxidase, fruit ripening.

## INTRODUÇÃO

O cafeeiro apresenta uma diferença na maturação de seus frutos, em consequência de uma florada desuniforme, podendo prejudicar tanto o processo de colheita, como a qualidade do produto final (MAJEROWICEZ; SONDAHL, 2005). Isso porque os frutos devem ser colhidos somente quando atingirem a maturação, fase em que apresentam as características de aroma e paladar desejadas (ARRUDA et al., 2011). O processo de amadurecimento do fruto pode ser

considerado como uma forma modificada de senescência. Os mecanismos de deterioração das membranas e desestruturação dos tecidos durante o amadurecimento podem ser provavelmente semelhantes aos caracterizados durante o processo de senescência, envolvendo o acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROs) (MONDAL et al., 2009).

Dentre as EROs, estão o radical superóxido ( $O_2^-$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), radical hidroxila ( $OH^\cdot$ ) e oxigênio singlete ( $^1O_2$ ), que são produtos inevitáveis do metabolismo vegetal e que são consideradas a principal causa de danos oxidativos celulares (SHARMA et al., 2012). Visando minimizar os efeitos das EROs, as células apresentam em seu metabolismo o sistema antioxidante enzimático, constituído por enzimas como a dismutase do superóxido (SOD - EC 1.15.1.1), catalase (CAT - EC 1.11.1.6) e peroxidase do ascorbato (APX - EC 1.11.1.11), e o não enzimático composto, por exemplo, pelo ascorbato e glutatona. A enzima SOD é a primeira linha de defesa contra as EROs, realizando a dismutação dos íons superóxido, com a formação de  $H_2O_2$  (MITTLER, 2002). A CAT tem a função de neutralizar o  $H_2O_2$  em água e oxigênio molecular e está presente nos peroxissomas e glioxissomas (SHARMA, 2012). Já a APX utiliza o ascorbato como seu doador de elétrons para reduzir  $H_2O_2$  à água, fazendo parte do ciclo ascorbato-glutatona (SHIGEOKA et al., 2002).

A existência de um equilíbrio entre a formação de EROs e a ação de componentes celulares com capacidade antioxidante é muito importante, uma vez que as células são muito susceptíveis aos danos oxidativos (ANAND et al., 2009). Reações envolvendo EROs são constituintes intrínsecas de processos como senescência e maturação de frutos, principalmente porque é uma resposta ao declínio da atividade de determinadas enzimas antioxidantes (PROCHÁZKOVÁ; WIHELMOVÁ, 2007). Durante o processo de maturação dos frutos, o aumento do estresse oxidativo, provavelmente resultante da diminuição da atividade das enzimas antioxidantes, é necessário para facilitar muitas mudanças metabólicas associadas com o amadurecimento dos frutos (ROGIERS et al., 1998; MONDAL et al., 2004). Com isso, o objetivo deste estudo foi investigar o metabolismo antioxidante de pedúnculos e frutos de *Coffea arabica* em diferentes estádios de maturação e forças de desprendimento.

## MATERIAL E MÉTODOS

O material vegetal foi obtido de área cafeeira localizada no Setor de Cafeicultura da Universidade Federal de Lavras. Frutos e pedúnculos de *Coffea arabica* cv. Icatu amarelo foram coletados, individualmente, em diferentes estádios de maturação e intervalos de força de desprendimento (Tabela 1). A FDF foi aferida pela utilização de um dinamômetro portátil modelo DD-200 (Instrutemp), adaptado para a coleta dos frutos de café. Os intervalos de forças de desprendimento para cada estádio de maturação dos frutos foram determinados e fixados por um pré-teste realizado no local das coletas, baseando-se nos resultados descritos por Silva et al. (2013).

Tabela 1 Estádio de maturação, mês de coleta e intervalos de FDF

Estádio de maturação	Mês de coleta	Intervalo da FDF
Verde	Março – Abril	8 a 9,9 N e 10 a 13 N
Verde-cana	Maió – Junho	6 a 6,9 N e 7 a 7,9 N
Cereja	Junho – Julho	2 a 3,9 N e 4 a 5,9 N

A coleta foi realizada no terço médio das plantas, com quatro repetições, sendo que os frutos foram coletados individualmente. Quando desprendidos dentro de um dos intervalos de força pré-determinados tiveram a região de ligação entre o pedúnculo e o fruto excisada com o auxílio de um bisturi e armazenada em ultrafreezer (-80 °C).

Para quantificação de  $H_2O_2$  foram macerados 100 mg de material fresco em nitrogênio líquido com polivinil polipirrolidona (PVPP), homogeneizados em 1,5 mL de ácido tricloroacético (TCA) 0,1% (m/v) e centrifugados a 12.000 g por 15 minutos, a 4 °C. O  $H_2O_2$  foi determinado medindo-se a absorbância a 390 nm em um meio de reação conforme VELIKOVA; YORDANOV; EDREVA (2000). A peroxidação lipídica foi determinada, por meio da quantificação de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico, conforme descrito por Buege e Aust (1978). O extrato para quantificação das enzimas antioxidantes foi obtido pela maceração em nitrogênio líquido de 50 mg de material fresco, às quais foram adicionados 1,5 mL do tampão de extração contendo tampão fosfato de potássio 400 mM (pH 7,8), EDTA 10 mM, ácido ascórbico 200 mM e água. O extrato foi centrifugado a 13.000 g por 10 minutos a 4°C e o sobrenadante foi coletado e armazenado a -20 °C durante o período das análises. Os sobrenadantes coletados foram utilizados para as análises enzimáticas da dismutase do superóxido (SOD), catalase (CAT) e peroxidase do ascorbato (APX) (BIEMELT; KEETMAN; ALBRECHT, 1998).

A atividade da SOD foi avaliada pela capacidade da enzima em inibir a fotorredução do azul de nitrotetrazólio (NBT) conforme GIANNOPOLITIS; RIES (1977). A atividade da CAT foi avaliada segundo o decréscimo na absorbância de  $H_2O_2$  a 240 nm conforme MENGUTAY et al. (2013). A atividade da APX foi determinada pelo acompanhamento da taxa de oxidação do ascorbato a 290 nm conforme NAKANO; ASADA (1981). Os dados obtidos foram submetidos à

análise de variância, utilizando-se o programa estatístico SISVAR 4.3 (Sistema de Análise de Variância para Dados Balanceados) (FERREIRA, 2011) e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os teores de peróxido de hidrogênio (Figura 1A) foram superiores nos estádios de maturação verde e verde-cana, nos pedúnculos e frutos da menor força e no estádio cereja independente da força e órgão. Comparando-se as forças de desprendimento ocorreu diferença estatística em todos os estádios, independente do órgão analisado. Em relação aos pedúnculos e frutos, também ocorreu diferença em todos os estádios e forças, sendo as maiores médias observadas nos frutos.

Os níveis de peroxidação lipídica (Figura 1B) foram superiores nos últimos estádios de maturação. As maiores médias foram obtidas nos pedúnculos e frutos na menor força, tanto no estádio verde quanto no verde-cana. Já no estádio cereja, maiores médias foram encontradas independente da força e do órgão. Quando comparadas as forças de desprendimento, foram observadas diferenças no estádio cereja, com maiores médias na maior força independente do órgão. Analisando-se pedúnculos e frutos, observa-se diferença somente no estádio cereja, na maior força, com maior nível de peroxidação lipídica no fruto. O peróxido de hidrogênio é uma molécula com uma meia vida relativamente longa (BHATTACHARJEE, 2005), sendo produzido em organelas como cloroplasto, mitocôndrias e peroxissomos, através de reações como dismutação do  $O_2^-$ , beta oxidação e oxidação do glioxilato. Essa molécula pode atuar como um regulador chave em vários processos, dentre eles a maturação e senescência de frutos, flores e folhas (MITTLER et al., 2004; BRIGHT et al., 2006).

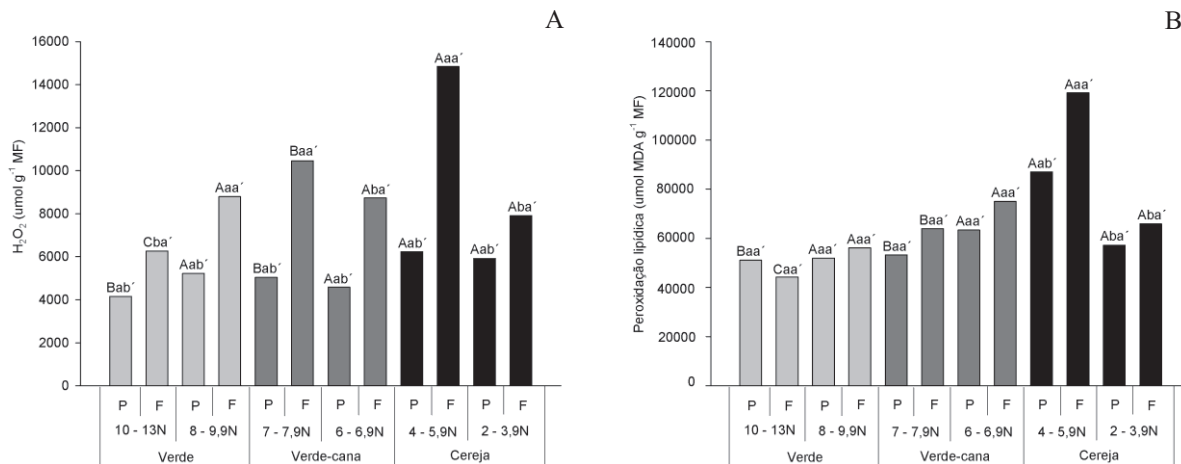


Figura 1 Conteúdo de peróxido de hidrogênio (A) e níveis de peroxidação lipídica (B) da região de ligação entre pedúnculos e frutos - P (amostra “c”) e frutos - F (amostra “d”) em diferentes estádios de maturação e forças de desprendimento. Letras maiúsculas comparam os estádios de maturação dentro das forças maiores e menores de cada órgão, letras minúsculas as diferentes forças de desprendimento dentro de cada estádio e órgão e letras minúsculas seguidas por apóstrofe comparam pedúnculo e fruto, dentro de cada força e estádio de maturação. Diferentes letras indicam diferenças significativas com 0,05 de probabilidade pelo teste Scott-Knott.

Para a atividade da enzima dismutase do superóxido (Figura 2) não ocorreu diferença entre os estádios de maturação ou entre as forças de desprendimento dos frutos. Em relação aos órgãos analisados, em todos os estádios, assim como as forças, a maior atividade foi observada em pedúnculos.

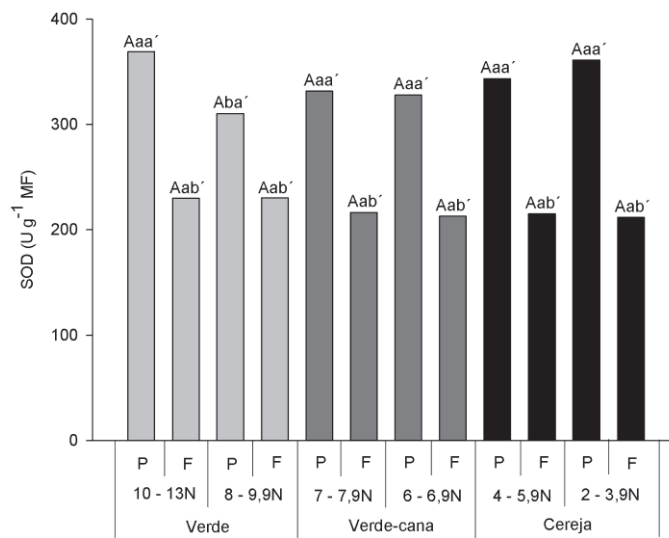


Figura 2 Atividade da enzima dismutase do superóxido da região de ligação entre pedúnculos e frutos - P (amostra “c”) e frutos - F (amostra “d”) em diferentes estádios de maturação e forças de desprendimento. Nota: Letras maiúsculas comparam os estádios de maturação dentro das forças maiores e menores de cada órgão, letras minúsculas as diferentes forças de desprendimento dentro de cada estágio e órgão e letras minúsculas seguidas por apóstrofe comparam pedúnculo e fruto, dentro de cada força e estágio de maturação. Diferentes letras indicam diferenças significativas com 0,05 de probabilidade pelo teste Scott-Knott.

De modo geral a atividade da enzima catalase (Figura 3) foi maior no estágio cereja, independente da força. Os maiores valores da atividade da enzima catalase ocorreram nos estádios cereja, na menor força e em ambos os órgãos e na maior força somente no fruto, e no estágio verde-cana na maior força, no fruto, e no estágio verde, na maior força, no pedúnculo. Em relação às forças dentro de cada estágio de maturação, foram encontradas diferenças em todos os estádios de maturação e órgãos, exceto nos frutos do estágio verde. Para os órgãos analisados ocorreu diferença estatística, sendo no estágio verde, os maiores valores encontrados nos pedúnculos de ambas as forças, no estágio verde-cana nos frutos, também de ambas as forças e no estágio cereja apenas nos frutos de menor força de desprendimento.

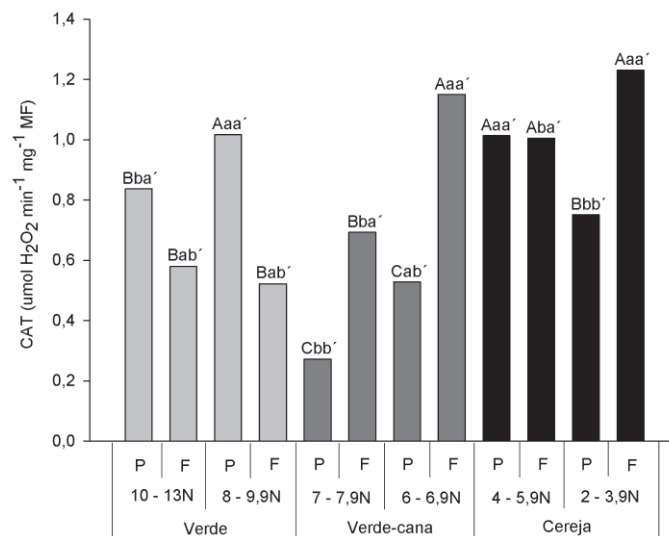


Figura 3 Atividade da enzima catalase da região de ligação entre pedúnculos e frutos - P (amostra “c”) e frutos - F (amostra “d”) em diferentes estádios de maturação e forças de desprendimento. Nota: Letras maiúsculas comparam os estádios de maturação dentro das forças maiores e menores de cada órgão, letras minúsculas as diferentes forças de desprendimento dentro de cada estágio e órgão e letras minúsculas seguidas por apóstrofe comparam pedúnculo e fruto,

dentro de cada força e estágio de maturação. Diferentes letras indicam diferenças significativas com 0,05 de probabilidade pelo teste Scott-Knott.

Na quantificação da atividade da enzima peroxidase do ascorbato (Figura 4), maiores médias foram obtidas no estágio verde, na maior força, em ambos os órgãos e na menor força no fruto, no estágio verde-cana, na maior força, no pedúnculo e na menor força no fruto, já para o estágio cereja foi na menor força e no pedúnculo. Quando comparadas as forças de desprendimento entre os estádios de maturação, notou-se maiores atividades nos pedúnculos coletados na maior força do estágio verde e nos frutos da maior força do estágio verde-cana e cereja. Com exceção da maior força no estágio verde, os frutos apresentaram maiores atividade quando comparado com os pedúnculos.

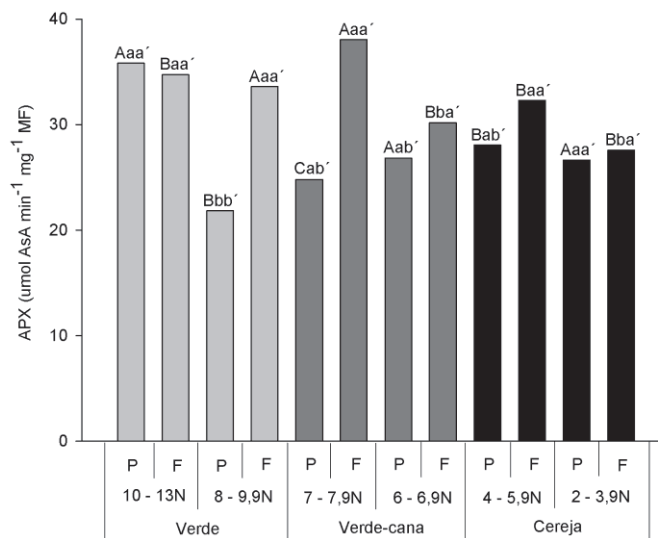


Figura 4 Atividade da enzima peroxidase do ascorbato da região de ligação entre pedúnculos e frutos - P (amostra “c”) e frutos - F (amostra “d”) em diferentes estádios de maturação e forças de desprendimento. Nota: Letras maiúsculas comparam os estádios de maturação dentro das forças maiores e menores de cada órgão, letras minúsculas as diferentes forças de desprendimento dentro de cada estágio e órgão e letras minúsculas seguidas por apóstrofe comparam pedúnculo e fruto, dentro de cada força e estágio de maturação. Diferentes letras indicam diferenças significativas com 0,05 de probabilidade pelo teste Scott-Knott.

A atividade da SOD durante o processo de maturação dos frutos varia entre as espécies. Em *Fragaria ananassa* (LÓPEZ; GOCHICOA; FRANCO, 2010) e *Psidium guajava* L. (MONDAL et al., 2009) esta enzima apresentou um pico nos estádios intermediários com uma queda nos estádios finais de maturação. No entanto, para o café parece ocorrer uma manutenção na atividade dessa enzima ao longo dos estádios de maturação, fato que também foi observado por Santos (2012) ao estudar a frutificação do cafeeiro em diferentes altitudes. A CAT é a primeira enzima de defesa contra os danos oxidativos induzidos pela senescência (ZIMMERMANN et al., 2006). Ela apresenta maiores atividades ao longo do processo de maturação, corroborando com os resultados encontrados com *Mangifera indica* e *Solanum lycopersicum* (MASIA, 1998; ANDREWS et al., 2004; MONDAL et al., 2004).

De maneira geral, durante o processo de maturação dos frutos de cafeeiro, ocorreu um aumento nos níveis de peróxido de hidrogênio, culminando com uma maior atividade da enzima catalase, em detrimento da atividade da APX no estágio cereja. Embora tenha ocorrido um aumento na atividade da catalase, esse não foi suficiente para neutralizar os danos causados pelas EROs, resultando em maior peroxidação lipídica em frutos cereja. Resultados semelhantes foram obtidos em estudos com *Lycopersicon esculentum*, *Citrus sinensis*, *Arabidopsis thaliana* e *Acacia mangium* (YE et al., 2000; YU; ONG, 2000; MONDAL et al., 2004; HUANG et al., 2007). Frutos de *Salicifolius cotoneaster*, *Citrus sinensis*, *Solanum lycopersicum* e *Pyrus communis*, apresentaram aumento nos níveis de EROs durante o processo de maturação (ROGIERS et al., 1998; MONDAL et al., 2004; HUANG et al., 2007). Em frutos de *Rubus sp.* ocorreu uma diminuição da atividade das enzimas SOD, CAT e APX, assim como um aumento da peroxidação lipídica, concomitantemente ao amadurecimento (WANG; JIAO, 2001). Também em *Solanum lycopersicum* as atividades da SOD e da CAT decresceram com o amadurecimento, assim como seus mRNAs (JIMÉNEZ et al., 2002).

## CONCLUSÃO

Pode-se concluir que durante o processo de maturação ocorre maior produção de espécies reativas de oxigênio, com um consequente aumento nos níveis de peroxidação lipídica. Entre as enzimas antioxidantes, a catalase e a peroxidase do

ascorbato atuam na tentativa de minimizar os efeitos nocivos das EROs, porém esta produção de EROs é necessária para o processo de maturação dos frutos de *Coffea arabica* cv Icatu amarelo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARRUDA, N. P.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Discriminação entre estádios de maturação e tipos de processamento de pós-colheita de cafés arábica por microextração em fase sólida e análise de componentes principais. **Química Nova**, São Paulo, v. 34, n. 5, p. 819-824, Feb. 2011.
- ANAND, T. et al. Defence responses of chilli fruits to *Colletotrichum capsici* and *Alternaria alternata*. **Biologia Plantarum**, Prague, v. 53, p. 553-559, Sept. 2009.
- ANDREWS, P. K.; FAHY, D. A.; FOYER, C. H. Relationships between fruit exocarp antioxidants in the tomato (*Lycopersicon esculentum*) pigment-1 mutant during development. **Physiologia Plantarum**, Hoboken, v. 120, p. 519-528, Mar. 2004.
- BHATTACHARJEE, S. Reactive oxygen species and oxidative burst: roles in stress senescence and signal transduction in plant. **Current Science**, Bangalore, v. 89, p. 1113 – 1121, Oct. 2005.
- BIEMELT, S.; KEETMAN, U.; ALBRECHT, G. Re-aeration following hypoxia or anoxia leads to activation of the antioxidative defense system in roots of wheat seedlings. **Plant Physiology**, Rockville, v. 116, p. 651-658, Feb. 1998.
- BRIGHT, J. et al. ABA-induced NO generation and stomatal closure in Arabidopsis are dependent on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> synthesis. **The Plant Journal: for cell and molecular biology**, Oxford, v. 45, p. 113-122, Jan. 2006.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: A computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.35, n.6, p.1039-1042, Nov./Dec. 2011.
- GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases: I. occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, Rochville, v. 59, n. 2, p. 309-314, Feb. 1977.
- HUANG, R. et al. Antioxidant activity and oxygen scavenging system in orange pulp during fruit ripening and maturation. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 113, p. 166-172, Jun. 2007.
- JIMÉNEZ, A. et al. Changes in oxidative processes and components of the antioxidant system during tomato fruit ripening. **Planta**, Berlin, v.214, n.5, p.751-758, Mar. 2002.
- LÓPEZ, A. P.; GOCHICOA, A.; FRANCO, A. R. Activities of antioxidante enzymes during strawberry fruit development and ripenibg. **Biologia Plantarum**, v. 54, p. 349-352, Jun. 2010.
- MAJEROWICZ, N.; SONDAHL, M. R. Induction and differentitaion of reproductive buds in *Coffea arabica* L. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 17, p. 247-254, Apr./Jun. 2005.
- MASIA, A. et al. Effect of some plant growth regulator treatments on apple fruit ripening. **Plant Growth Regulation**, Netherlands, v. 25, p. 127-134, Feb. 1998.
- MENGUTAY, M. et al. Adequate magnesium nutrition mitigates adverse effects of heat stress on maize and wheat. **Plant and Soil**, The Hague, v. 368, p. 57-72, Jul. 2013.
- MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, Kidlington, v.7 n.9, p. 405-410, Sept. 2002.
- MONDAL, K. et al. Antioxidant systems in ripening tomato fruits. **Biologia Plantarum**, Prague, v.48, n.1, p.49-53, Mar. 2004.
- MONDAL, K. et al. Oxidative stress and antioxidant systems in Guava (*Psidium guajava* L.) fruits during ripening. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 15, p. 327-334, Oct. 2009.
- NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbato-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant and Cell Physiology**, Oxford, v. 22, n.5, p. 867-880, Aug. 1981.
- PROCHÁZKOVÁ, D.; WILHELMOVÁ, N. Leaf senescence and activities of the antioxidant enzymes. **Biologia Plantarum**, Prague, v. 51, p. 401-406, Sept. 2007.
- ROGIERS, S. Y.; KUMAR, M. G. N.; KNOWLES, N. R. Maturation and ripening of fruit of *Amelanchier alnifolia* Nutt. Are accompanied by increasing oxidative stress. **Annals of Botany**, Oxford, v. 81, p. 203-211, Feb. 1998.
- SHARMA P. et al. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **Journal of Botany**, p. 1-26, 2012.
- SHIGEOKA, S. et al. Regulation and fuction of ascorbato peroxidase isoenzymes. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 53, n. 372, p. 1305-1319, May 2002.
- SILVA, C. S. et al. Desempenho operacional da colheita mecanizada e seletiva do café em função da força de desprendimento dos frutos. **Coffee Science**, v. 8, p. 53-60, 2013.
- WANG, S. Y.; JIAO, H. Changes in oxygen-scavenging systems and membrane lipid peroxidation during maturation and ripening in blackberry. **Journal of agricultural and food chemistry Washington**, v. 49, p. 1612-1619, Mar. 2001.
- VELIKOVA, V.; YORDANOV, I.; EDREVA, A. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants : protective role of exogenous polyamines. **Plant Science**, Clare, v. 151, n. 1, p. 59-66, Feb. 2000.
- YE, Z. Z.; RODRIGUEZ, R.; TRAN, A. The development transition to flowering represses ascorbate peroxidase activity and induce enzymatic lipid peroxidation in leaf tissue in *Arabidopsis thaliana*. **Plant Sciece**, Clare, v. 158, p. 115-127, Sept. 2000.

YU, H. B.; ONG, B. Photosynthesis and antioxidante enzymes of phyllodes of *Acacia mangium*. **Plant science: an international journal of experimental plant biology**, Clare, v. 159, p. 107-115, Oct. 2000.

ZIMMERMANN, P. et al. Senescence-specific regulation of catalases in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. **Plant, cell and environment**, Oxford, v. 29, p. 1049–60, Jun. 2006.