



PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
MESTRADO EM AGRONOMIA

MARCELO DUARTE

PRODUTIVIDADE E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO BROTO DE FEIJÃO
MUNGO-VERDE (*Vigna radiata* L.) EM FUNÇÃO DE ELICITORES

Presidente Prudente - SP
2018

MARCELO DUARTE

**PRODUTIVIDADE E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO BROTO DE FEIJÃO
MUNGO-VERDE (*Vigna radiata* L.) EM FUNÇÃO DE ELICITORES**

Dissertação apresentada à Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação da Universidade do Oeste Paulista como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Agronomia – Área de concentração: Produção Vegetal.

Orientador:
Prof^a. Dr^a. Ceci Castilho Custódio

Coorientador:
Prof^a. Dr^a. Ana Claudia Pacheco

Presidente Prudente - SP
2018

633.372
D812p

Duarte, Marcelo.

Produtividade e atividade antioxidante do broto de feijão mungo-verde (*Vigna radiata* L.) em função de elicitores / Marcelo Duarte. – Presidente Prudente, 2018. 63 f.: il.

Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade do Oeste Paulista – Unoeste, Presidente Prudente, SP, 2018.

Bibliografia.

Orientador: Ceci Castilho Custódio.

1. Ácido Salicílico. 2. Ácido Ascórbico. 3. Tocoferol. 4. Metabolismo Secundário. 5. Alimento Vivo. 6. Alimento Funcional. 7. Feijão. I. Título.

MARCELO DUARTE

**PRODUTIVIDADE E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO BROTO DE FEIJÃO
MUNGO-VERDE (*Vigna radiata* L.) EM FUNÇÃO DE ELICITORES**

Dissertação apresentada à Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação da Universidade do Oeste Paulista como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Agronomia - Área de Concentração: Produção Vegetal.

Presidente Prudente, 9 de março de 2018.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Ceci Castilho Custódio
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste
Presidente Prudente-SP

Prof^a. Dr^a. Fabiana Lima Abrantes
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste
Presidente Prudente-SP

Prof. Dr. Claudemir Zucareli
Universidade Estadual de Londrina - UEL
Londrina-PR

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a Deus, que sempre foi o autor da minha vida e do meu destino, me permitindo concluir este trabalho, mesmo tendo passado por momentos difíceis.

Este trabalho também é dedicado às pessoas que estiveram ao meu lado ao longo de toda a vida: a meu pai e amigo, Onofre Urias Duarte e à memória de minha mãe, Dirce de Jesus Duarte, que se faz presente em todos os dias da minha vida. Sei que, de algum lugar, ela olha por mim. Dedico à minha irmã Mirian Duarte e à minha sobrinha Carolina Duarte, que sempre me deram apoio.

Aos grandes amigos Claudemir Monteiro Lima, Edson Trevisan, Emerson Ferreira, Matheus Monteiro Lima, Neuza Maria Vila e Renilda Monteiro, que sempre acreditaram em mim.

AGRADECIMENTOS

A realização desta dissertação de mestrado contou com importantes apoios e incentivos, sem os quais não se teria tornado uma realidade e aos quais estarei eternamente grato.

Agradecimentos especiais à minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Ceci Castilho Custódio, pela paciência, por todo o conhecimento transmitido, pela delicadeza, amizade e apoio em todos os momentos, assim como à minha coorientadora, Prof^a. Dr^a. Ana Claudia Pacheco dos Santos, pelo apoio e considerações, pois tornaram este trabalho possível.

Aos professores doutores: Alessandra Ferreira Ribas, Fábio Fernando de Araújo, José Eduardo Creste, Nelson Barbosa Machado Neto e Vânia Maria Ramos, pelos conhecimentos transmitidos ao longo de minha estada no programa.

Aos colegas de pós-graduação, e em especial ao doutorando em Agronomia Pedro Gorni, e à graduanda de Zootecnia, Verônica Letícia da Silva, por suas colaborações durante o processo.

Agradeço ainda aos servidores dos diversos laboratórios que utilizei durante a pós-graduação, assim como à Secretária da Pós-Graduação, Keid Ribeiro Krüger, pela atenção e presteza que dedica a todos naquele departamento.

Finalmente, agradeço ao Prof. Dr. Claudemir Zucareli, pela análise deste trabalho e por sua participação na banca de defesa.

*“Ai de nós, educadores,
se deixarmos de sonhar sonhos
possíveis.” (Paulo Freire)*

RESUMO

Produtividade e atividade antioxidante do broto de feijão mungo-verde (*Vigna radiata* L.) em função de elicitores

Este trabalho teve a finalidade de subsidiar profissionais para produzir um alimento com qualidades agregadas ou funcionais, disponibilizando opções benéficas para a saúde dos consumidores. O objetivo foi verificar o efeito da aplicação exógena do ácido salicílico (AS), ácido ascórbico (AC) e do tocoferol (TOC) sobre a produção de biomassa e o conteúdo dos compostos fenólicos antioxidantes em brotos de feijão mungo-verde (*Vigna radiata* L.). O experimento foi conduzido no laboratório de sementes da UNOESTE, em delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro repetições, e analisado por ANOVA e teste Tukey ($p < 0,05$) para comparação de médias. As sementes foram subdivididas em 4 subamostras de 50 sementes para cada tratamento. Foram adicionados 12 mL de água destilada e germinadas com temperatura constante de 25 °C. Após 24 horas, os brotos com desenvolvimento discrepante (atrasado ou adiantado), foram substituídas por outras de forma a se ter um conjunto homogêneo em cada repetição. Houve 4 ensaios com AS, nas concentrações zero; 115,1; 230,2 e 575,5 mg L⁻¹ (uma aplicação de 12 mL da solução; duas aplicações de 12 mL; duas aplicações de 6 mL e uma aplicação de 6 mL). Com o AC houve três ensaios, nas concentrações zero, 0,147; 1,468 e 14,68 g L⁻¹ (uma aplicação de 12 mL da solução; duas aplicações de 12 mL; duas aplicações de 6 mL). Três ensaios ocorreram com o TOC nas concentrações zero, 25; 50 e 100 mg L⁻¹ (uma aplicação de 12 mL da solução; duas aplicações de 12 mL; três aplicações de 12 mL). Os brotos normais obtidas aos cinco dias após a semeadura foram medidas quanto ao comprimento de parte aérea e raiz e, após serem segmentadas, levadas a estufa a 60 °C por 48 h para obtenção das massas secas. O mesmo procedimento foi repetido para a obtenção dos extratos etanólicos secos e a partir deles, foram determinados os teores de fenóis totais (TFT) e a atividade antioxidante pelo método do radical livre DPPH. Os hipocótilos foram congelados (-80 °C) para a determinação do teor de proteínas solúveis totais e da atividade da enzima superóxido dismutase (SOD). A aplicação exógena de AS na dose de 230 mg L⁻¹ não apresentou efeito negativo sobre os parâmetros de crescimento e incrementou o teor de compostos fenólicos totais e a atividade antioxidante dos brotos tratados. Conclui-se em relação ao AC que a menor concentração (0,147 g L⁻¹ em duas aplicações de 6 mL da solução) apresentou os melhores resultados de crescimento do broto e poder antioxidante dos extratos. Quanto ao tocoferol, não houve diferença estatística para as concentrações e número de aplicações utilizadas quanto ao crescimento; porém, a concentração de 25 mg L⁻¹ incrementou o teor de fenóis totais dos extratos obtidos, ao passo que o extrato obtido com a concentração 100 mg L⁻¹ apresentou maior capacidade de inibição do radical livre DPPH em três aplicações de 12 mL da solução. Todos os produtos funcionaram como estimulantes das funções antioxidantes dos brotos e, em concentrações mais elevadas, reduziram os parâmetros biométricos, de modo que em menores concentrações foram considerados mais adequados.

Palavras-chave: ácido salicílico; ácido ascórbico, tocoferol; metabolismo secundário; biorregulador; alimento vivo; alimento funcional.

ABSTRACT

Productivity and antioxidant activity of the mung bean sprout (*Vigna radiata* L.) in function of elicitors

The present work is aimed at giving subsidies for professionals to produce food with aggregate or functional qualities, providing healthier options for consumers. The goal was to verify the effects of the exogenous application of salicylic acid (SA), ascorbic acid (AA) and tocopherol for the production of biomass and the contents of antioxidant phenolic compounds in mung bean sprouts (*Vigna radiata* L.). The experiment was conducted at the UNOESTE seed laboratory, in an experimental design that was entirely randomized, repeated four times, and analyzed through ANOVA and the Tukey test ($p < 0,05$) for the comparison of means. The seeds were divided into 4 sub-samples composed of 50 seeds for each treatment. 12 mL of distilled water was added, and the seeds were germinated under a constant temperature of 25 °C. 24 hours later, seedlings with uneven development (sprouting either too early or too late) were replaced with others in order to ensure a homogeneous set for each repetition. There were 4 trials with AS, in concentrations of zero; 115,1; 230,2 and 575,5 mg L⁻¹ (one application of 12 mL of the solution; two applications of 12 mL; two applications of 6 mL and one application of 6 mL). Three trials were conducted with the AA, in concentrations of zero; 0,147; 1,468 and 14,68 g L⁻¹ (one application of 12 mL of the solution; two applications of 12 mL; two applications of 6 mL). Three trials were conducted with the TOC, in concentrations of zero; 25; 50 and 100 mg L⁻¹ (one application of 12 mL of the solution; two applications of 12 mL; three applications of 12 mL). The standard seedlings that were obtained five days after sowing were measured for the length of both the aerial part and the root and, after being segmented, were taken to a greenhouse set at 60 °C for 48 hours in order to obtain their dried masses. The same procedure was repeated in order to obtain dried ethanol extracts that were used to determine both their total phenol contents (TFC) and the antioxidant activity through the method of free radical DPPH. The hypocotyls were frozen (at -80 °C) in order to determine both their content of total soluble proteins and the activity of the superoxide dismutase (SOD) enzyme. The exogenous application of SA in a dosage of 230 mg L⁻¹ did not exhibit negative effects on the growth parameters and increased both the content of total phenolic compounds and the antioxidant activity of the sprouts. It was concluded that, with respect to the AA, the lowest concentration (0,147 g L⁻¹ in two applications of 6 mL of the solution) provided the best results for both sprout growth and the antioxidant power of the extracts. With respect to tocopherol, there was no statistical difference for different concentrations and number of applications made with respect to growth; however, the concentration of 25 mg L⁻¹ increased the total phenol content of the extracts that were obtained, while the extract that was obtained with a concentration of 100 mg L⁻¹ has shown a larger capacity of inhibiting the free radical DPPH with three applications of 12 mL of the solution. All the products that were used worked as stimulants of the antioxidant functions of the sprouts and, when in higher concentrations, they have reduced the biometric parameters, such that they were considered to be more adequate when in lower concentrations.

Keywords: salicylic acid; ascorbic acid, tocopherol; secondary metabolism; bioregulator; live food; functional food.

LISTA DE SIGLAS

AC	Ácido ascórbico
AD	Água destilada
ANOVA	Análise de variância
AS	Ácido salicílico
CI	Concentração inibitória média
CPA	Comprimento da parte aérea
CR	Comprimento da raiz
CT	Comprimento total
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
EROs	Espécies reativas de oxigênio
GSH	Glutathiona
MSPA	Massa seca da parte aérea
MSR	Massa seca da raiz
MST	Massa seca total
PS	Proteínas solúveis
REL_RPA	Relação raiz, parte aérea
SOD	Superóxido dismutase
TFT	Teor de fenóis totais
TOC	Tocoferol
UV-B	Radiação ultravioleta
α -Toc	alfa-Tocoferol

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Resultados de comprimento de parte aérea (CPA) e raiz (CR), comprimento total dos brotos (CT), relação raiz, parte aérea (REL_RPA), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR) e massa seca total (MST), sob diferentes concentrações e números de aplicações de ácido salicílico.	39
Tabela 2 -	Resultados de teor de fenóis totais (TFT), atividade antioxidante por concentração inibitória do DPPH (CI 50), atividade de superóxido dismutase (SOD) e teor de proteínas solúveis (PS) obtidos de brotos com uma aplicação de ácido salicílico (6 mL).	41
Tabela 3 -	Resultados de comprimento de parte aérea (CPA) e raiz (CR), comprimento total dos brotos (CT), relação raiz, parte aérea (REL_RPA), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR) e massa seca total (MST), sob diferentes concentrações e números de aplicações de ácido ascórbico.	43
Tabela 4 -	Resultados de teor de fenóis totais (TFT), atividade antioxidante por concentração inibitória do DPPH (CI 50), atividade de superóxido dismutase (SOD) e teor de proteínas solúveis (PS) obtidos de brotos com uma aplicação de ácido ascórbico em duas doses (6 mL / 6 mL).	45
Tabela 5 -	Resultados de comprimento de parte aérea (CPA) e raiz (CR), comprimento total dos brotos (CT), relação raiz, parte aérea (REL_RPA), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR) e massa seca total (MST), sob diferentes concentrações e números de aplicações de tocoferol.	47
Tabela 6 -	Resultados de teor de fenóis totais (TFT), atividade antioxidante por concentração inibitória do DPPH (CI 50), atividade de superóxido dismutase (SOD) e teor de proteínas solúveis (PS) obtidos de brotos com uma aplicação de tocoferol em três doses (12 mL / 12 mL / 12mL).	48

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
1.1	Justificativa e Objetivo.....	14
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	16
2.1	Particularidades da Cultura de feijão mungo-verde (Vigna radiata L.)	16
2.2	Alimentos funcionais	18
2.3	Metabolismo secundário.....	20
2.4	Elicitores	21
2.4.1	Ação dos elicitores na promoção do metabolismo secundário	22
2.4.1.1	Ácido Salicílico (AS)	22
2.4.1.2	Ácido Ascórbico (AC).....	25
2.4.1.3	Tocoferol (TOC).....	28
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	32
3.1	Ensaio com Ácido Salicílico (AS).....	34
3.2	Ensaio com Ácido Ascórbico (AC).....	35
3.3	Ensaio com Tocoferol (TOC)	36
3.4	Análise estatística	36
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
5	CONCLUSÃO.....	49
	REFERÊNCIAS	50

1 INTRODUÇÃO

A baixa incidência de certas doenças em alguns povos acabou por chamar a atenção para as suas dietas. Os esquimós, com sua alimentação baseada em peixes e produtos do mar ricos em ácidos graxos poli-insaturados das famílias ômega-3 e 6, têm baixo índice de problemas cardíacos, assim como os franceses, devido ao consumo de vinho tinto, o qual apresenta grande quantidade de compostos fenólicos. Os orientais, devido ao consumo de soja, que contém fitoestrogênios, apresentam baixa incidência de câncer de mama. Nestes países, o costume de consumir frutas e verduras também resulta numa redução do risco de doenças coronarianas e de câncer, comprovada por dados epidemiológicos (ANJO, 2004).

Tendo em vista a deficiência de alimentos com elevada qualidade proteica, alternativas que possam melhorar o valor nutricional de alimentos imediatamente disponíveis podem ser interessantes (LEITE et al., 2016). Nesse contexto, a utilização de sementes germinadas na elaboração de produtos alimentícios com boa qualidade nutricional é uma possibilidade, uma vez que adeptos do crudivorismo, tipo de dieta que se fundamenta na não cocção dos alimentos, consomem sementes cruas germinadas como alternativa para incrementar o valor nutricional e a qualidade dos alimentos, tornando-os comestíveis em seu estado natural (SANGRONIS, 2007).

Segundo Tomandl (2011), alimentos vivos são as sementes brotadas, que, embora não sendo muito populares, poderiam ter um papel muito importante na saúde e na alimentação das pessoas, posto que são ricas em enzimas, vitaminas e minerais, tanto que iniciam a germinação sem precisar extrair nutrientes do solo. É digno de nota que, durante o processo de germinação, os carboidratos complexos e as proteínas são convertidas em formas mais facilmente digeríveis. São tanto pouco calóricos quanto uma possível fonte de fibras. Seus nutrientes se mantêm intactos até o momento que começam a ser mastigados, diferentemente dos demais vegetais, que começam a perder nutrientes já a partir do momento em que são retirados da terra.

Enzimas como as encontradas nos brotos são fundamentais para o bom funcionamento do organismo, uma vez que estão envolvidas em todas as ações e reações químicas e mecânicas do corpo. Sem elas, não há absorção

adequada de nutrientes e todas as funções metabólicas se desaceleram, envelhecendo o corpo e deixando-o mais vulnerável a doenças. Os brotos ativam o sistema imunológico na proteção contra o envelhecimento, o câncer, os problemas cardíacos e a obesidade (TOMANDL, 2011).

Na década de 1980, por exemplo, foi lançado no Japão um programa de governo que tinha como objetivo desenvolver alimentos saudáveis para a população que envelhecia e apresentava uma grande expectativa de vida (ANJO, 2004). Existe, nesse sentido, uma demanda crescente por alimentos que também possam atuar estimulando os sistemas de defesa do consumidor, permitindo uma vida mais saudável. Tais alimentos são conhecidos como funcionais, e pertencem a diversas categorias: probióticos e prebióticos, sulfurados e nitrogenados, pigmentos e vitaminas, compostos fenólicos, ácidos graxos poli-insaturados e fibras. São também associados à menor incidência e menor mortalidade por doenças crônicas não transmissíveis, sobretudo o câncer, em seres humanos. Os vegetais *in natura*, as frutas e as castanhas são geralmente alimentos ricos em compostos com propriedades antioxidantes.

Dentre os vários alimentos funcionais, temos o feijão mungo-verde (*Vigna radiata* L.) ou Mungo verde, nativo da Ásia, que é uma importante leguminosa granífera. Por meio da germinação de suas sementes são obtidos os brotos de feijão, forma de consumo muito apreciada na China, no Japão e nos EUA, dentre outros países (OLIVEIRA et al., 2013). No Brasil, a produção de feijão mungo-verde é incipiente, mas a tendência é a de seu crescimento, dado o aumento da demanda por alimentos funcionais.

No momento, o estudo sobre fitoquímicos tornou-se o principal problema de pesquisa no campo dos alimentos funcionais. O desenvolvimento de estratégias eficientes para melhorar o nível de metabolitos úteis em plantas comestíveis sem modificação genética é cada vez mais relevante e significativo (LEITE et al., 2016). A elicitação, que pode ser feita com elicitores de origem biótica ou abiótica, é uma das abordagens mais eficazes para induzir a síntese de metabolitos secundários bioativos nas plantas, uma vez que as plantas respondem automaticamente a todos os tipos de compostos desconhecidos para garantir sua sobrevivência através da produção dessas substâncias protetoras (NAMDEO, 2007).

A biofortificação é o procedimento normalmente utilizado para aumentar o teor de micronutrientes nas plantas durante a germinação, adicionando o

mineral ao solo ou à solução. Esta técnica também pode ser aplicada por meio da elicitação de plantas que utilizam esses minerais para induzir as alterações fisiológicas e desencadear a síntese de compostos fitoquímicos que podem possivelmente melhorar as propriedades biológicas das plantas a partir dos efeitos sinérgicos dos compostos fitoquímicos e de um aumento do conteúdo de minerais (CHOMCHAN et al., 2017).

Processos como a respiração, além de diversas outras reações oxidativas que ocorrem nas células aeróbicas, levam à formação de radicais livres, que causam danos ao organismo e contribuem para o aparecimento de muitas doenças, tais como: inflamações, tumores malignos, mal de Alzheimer e doenças cardiovasculares, bem como aceleram o processo de envelhecimento (SIKORA et al., 2008). Por isso, as células humanas dependem de certa capacidade antioxidante para fornecer proteção contra os efeitos prejudiciais de radicais livres e espécies reativas de oxigênio, que são consequências inevitáveis da vida aeróbica. Para alcançar uma proteção eficiente, os tecidos dispõem de um sistema antioxidante integrado, que consiste de um arranjo de diversos componentes lipossolúveis (vitamina E; carotenóides), hidrossolúveis (ácido ascórbico; glutathiona) e enzimáticos (glutathiona peroxidase; superóxido dismutase; catalase) (McLEAN et al., 2005).

Neste cenário, a utilização de elicitores pode melhorar o desempenho produtivo e a biossíntese de compostos secundários de interesse em alimentos funcionais, constituindo-se em uma tecnologia com grande potencial de incorporação ao manejo técnico-produtivo destes alimentos.

Entre as principais substâncias antioxidantes presentes nos vegetais, encontram-se o ácido ascórbico (AC), a glutathiona (GSH), o α -tocoferol os carotenoides. Todos eles ocorrem em cloroplastos, mitocôndrias e peroxissomos (MITTLER, 2002; KIM; KWAK, 2010; DINAKAR; DJILIANOV, D.; BARTELS, 2012).

Alterações metabólicas foram avaliadas em função da produção, da produtividade e da atividade antioxidante do broto de feijão mungo-verde (*Vigna radiata* L.).

1.1 Justificativa e Objetivo

A demanda cada vez maior por uma alimentação mais saudável justifica a busca por novas tecnologias de produção agrícola que visem agregar

valores aos produtos. Desta forma, a utilização de elicitores em sementes de feijão mungo-verde (*Vigna radiata* L.) tem grande potencial de elevar a produtividade de brotos por acréscimos em massa verde e seca, além de potencialmente estimular a síntese de compostos fenólicos, propiciando maior atividade antioxidante neste alimento.

Testou-se neste trabalho o efeito de diferentes elicitores (Ácido Salicílico, Ácido Ascórbico e Tocoferol) em brotos de feijão mungo-verde (*Vigna radiata* L., Leguminosae) quanto aos aspectos biométricos e bioquímicos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Particularidades da cultura de feijão mungo-verde (*Vigna radiata* L.)

O feijão mungo-verde é uma planta anual, de porte ereto ou semi-ereto, com caule, ramos e folhas cobertos por pelos, e com altura que varia de 0,3 a 1,5 m. Seu caule pode ter coloração verde ou vermelha (NALAMPANG, 1992). As folhas, com exceção do primeiro par, são trifolioladas, alternadas, de coloração verde-clara ou verde-escura; os folíolos são ovais e os pecíolos, longos. A floração tem início entre 30 e 50 dias após a semeadura, dependendo do cultivar, da região e da época de plantio (SAYÃO; BRIOSO; DUQUE et al., 1991; VIEIRA; NISHIHARA, 2015; MIRANDA et al., 1996). A inflorescência é um racimo axilar, com pedúnculo de 2 a 13 cm de comprimento. Em cada racimo há de 10 a 25 flores. A coloração das pétalas varia de esverdeada a amarelo brilhante e elas têm 1-2 cm de diâmetro. O florescimento é indeterminado, podendo durar algumas semanas (NALAMPANG, 1992). Segundo van Rheenen (1964), o mungo-verde é espécie de autofecundação, com cerca de 4-5% de fecundação cruzada. As vagens surgem horizontalmente em forma radial, daí a denominação radiata. O número de vagens por planta geralmente varia de 4 a 34, dependendo, principalmente, da população de plantas e das condições edafoclimáticas. As vagens são cilíndricas, com 7 a 15 cm de comprimento e, em geral, são cobertas com pelos. Na maturação, as vagens apresentam coloração marrom ou preta, e cada vagem contém de 6 a 20 sementes (VIEIRA R. F.; VIEIRA R. F.; VIEIRA C, 2001).

De acordo com Vieira et al. (2001), as sementes são pequenas, de coloração verde, amarela, marrom, preta ou mosqueada, com pequeno hilo branco. Os cultivares utilizados para produção de grãos secos geralmente têm sementes verde-opacas ou verde-brilhantes. O comprimento das sementes varia de 3,1 a 6,3 mm, e a largura, de 2,3 a 4,5 mm. A razão comprimento/largura é usada como indicador da forma da semente; essa razão varia de 1,01 a 1,50. O peso de 100 sementes pode variar de 2,0 a 8,7 g (TOMOOKA et al., 1991). Na Tailândia, em geral, os cultivares comerciais têm grãos pesando de 4 a 6 g por 100 unidades. Sementes grandes produzem brotos maiores (NALAMPANG, 1992). Seus cotilédones são epígeos na germinação. O teor de proteína dos grãos está em torno de 23%, mas pode variar de 19,5% a 31,2%. Os grãos contêm ainda 61,8% de

carboidratos, 10,6% de água, 4,4% de fibras, 3,5% de cinzas e 1,2% de lipídios (AYKROYD; DOUGHTY, 1982; VIEIRA; ARAÚJO, 1992). Os grãos também são ricos em Ca, P, Fe, Na e K (NALAMPANG, 1992). Os açúcares rafinose e estaquiose, principais responsáveis pela produção de gases intestinais, ocorrem em menores teores nos grãos do mungo-verde do que nos do mungo-preto, do caupi, do grão-de-bico, do guandu e da soja (SAVITRI; DESIKACHAR, 1985).

O botânico e geneticista russo Nikolai Ivanovich Vavilov incluiu o mungo-verde no centro de diversidade genética indiano, maior produtor mundial. No Brasil, sua produção é incipiente, mas, com o aumento da produção e consumo do broto de feijão (*moyashi*), o interesse por ela vem aumentando. As exigências dos produtores de broto de feijão é a de que as sementes adquiridas possuam alta germinação e vigor, além de estarem isentas de fungos e bactérias, fatores determinantes na produção de brotos de qualidade (VIEIRA et al., 2015).

De acordo com Barradas, Sayão e Duque (1989), o mungo-verde cresce melhor em solos argilosos com pH acima de 5,5. A correção do solo deve ser feita com calcário dolomítico ou calcítico, de acordo com os níveis de Mg^{2+} e Ca^{2+} revelados pela análise de solo, aplicados com antecedência mínima de 30 dias da semeadura. A adubação deve ser aplicada no sulco do plantio de acordo com a análise de solo. A inoculação das sementes com rizóbio supre as necessidades de N das plantas, devendo-se evitar a adubação nitrogenada na semeadura, pois esta inibe a formação de nódulos e a fixação biológica do N_2 . Se 25 dias após a emergência não houver nódulos e as plantas estiverem amareladas, característica de deficiência de nitrogênio, deve-se recorrer a uma adubação nitrogenada em cobertura. Quanto a época de cultivo e o manejo, assemelham-se ao do feijoeiro comum, sendo necessárias duas colheitas quando plantado no período das águas (setembro – outubro) e duas colheitas no cultivo da seca (fevereiro – março); as vagens escurecem quando maduras e devem ser colhidas manualmente a cada 10 ou 15 dias de intervalo, evitando-se, assim, sua deiscência. A semeadura deve ser feita em linhas espaçadas de 50 cm e as sementes devem ser colocadas na profundidade de 3 a 4 cm, variando de 15 a 20 sementes por metro linear, gastando-se de 16 a 20 kg de sementes por hectare, respectivamente.

A temperatura mínima média para o desenvolvimento dessa espécie é de 20 a 22 °C, e a ótima, por sua vez, vai de 28 a 30 °C, ou talvez um pouco acima, se as chuvas forem adequadas (VIEIRA et al., 2001).

O mungo-verde produz ao redor de 2000 kg ha⁻¹ quando semeado na primavera-verão (VIEIRA et al., 2003; VIEIRA et al., 2005). Brotos de feijão são comumente chamados pelos japoneses de *moyashi*, assim como os demais brotos. Por tradição, as extremidades (folhas e raiz) do broto são extraídas, já que, ao terem este aspecto, costumam ser bem mais aceitos no mercado. O cultivo dos brotos de feijão *Moyashi* visa à produção de plantinhas que ainda não desenvolveram as suas folhas, posto que a parte nobre da planta é o hipocótilo, ou seja, o caule do embrião.

Atualmente, a produção de brotos é feita de forma simples, podendo ser utilizados vários tipos de recipientes, como os de madeira resistente à umidade, tanques de aço inox, caixas de isopor, baldes, etc. No caso dos brotos produzidos sem a presença da luz, como os de feijão-moyashi e de soja, os recipientes devem ser de coloração escura (EMBRAPA, 2016). O processo de germinação depende de uma série de fatores, incluindo a integridade física, bioquímica e do estado fisiológico da semente. O envelhecimento natural das sementes é capaz de danificar estruturas celulares e subcelulares como membranas, organelas e plastídeos de armazenamento (McDONALD JR., 1975; ABDUL-BAKI, 1980), além de causar diminuição no vigor interferindo no processo de obtenção dos brotos. Segundo Marcos Filho (2015), o vigor é influenciado por diversos agentes, como o ataque de pragas e doenças, o genótipo, as condições climáticas, favoráveis ou não, que ocorrem durante o ciclo de desenvolvimento da semente e até mesmo fatores que derivam antes da sua formação, que pode ser exemplificado pela nutrição da planta mãe que a originou.

A produção leva pouco tempo, de 3 a 7 dias, e pode ocorrer em qualquer época do ano, sem necessidade de solo, fertilizantes, agrotóxicos e de luz solar direta. O rendimento (proporção semente/broto) é alto: um quilo de sementes pode produzir entre 5 e 12 quilos de alimento funcional na forma de brotos, dependendo da espécie vegetal empregada e do tempo de brotação (VIEIRA; LOPES, 2001).

2.2 Alimentos funcionais

Atualmente o papel da alimentação considerada saudável é otimizar a nutrição dos indivíduos, proporcionando-lhes melhorias na saúde e no bem-estar, além de reduzir o risco de desenvolvimento de doenças decorrentes da má

alimentação. Os alimentos funcionais apresentam substâncias com distintas funções biológicas, denominadas compostos bioativos, que são capazes de modular a fisiologia do organismo, auxiliando na manutenção da saúde (CARVALHO; LINO, 2014).

Para uma melhor compreensão dos vários conceitos e princípios que devem ser considerados ao se definir alimentos funcionais, podem ser destacados estudos como o de Csiro (2004), que os caracteriza como alimentos que podem ser consumidos regularmente, como parte de uma dieta normal, projetados especificamente para fornecer um benefício fisiológico ou médico. Esses alimentos, segundo Doyon e Labrecque (2008), também podem regular as funções do corpo para proteger contra e/ou retardar a progressão de doenças como: câncer, diabetes, doença coronária, hipertensão e osteoporose.

De acordo com a Health Canada (2006), um alimento funcional é um alimento convencional, ou um alimento com aparência semelhante ao alimento convencional, que faz parte de uma dieta regular e proporciona benefícios relacionados à saúde e/ou reduz o risco de doenças crônicas. Também podem ser definidos como aqueles que influenciam as funções do organismo de forma favorável, proporcionando melhorias no bem-estar e redução de doenças (ROBERFROID, 2002). De forma geral, são todos os alimentos ou bebidas que, quando consumidos, fornecem benefícios fisiológicos específicos, por conta da presença de seus ingredientes saudáveis (CÂNDIDO; CAMPOS, 2005).

Os alimentos e ingredientes funcionais recebem dois tipos de classificação: quanto a sua fonte, podendo ser de origem animal ou vegetal, e quanto a sua atuação no organismo, sendo que nesse grupo eles podem atuar no sistema digestório, como antioxidante, no metabolismo de substratos, ou assumirem ainda outras funções (SOUZA et al., 2003). Além disso, as substâncias biológicas ativas existentes nesses alimentos podem ser classificadas de acordo com as seguintes categorias: probiótico e prebiótico, sulfurados e nitrogenados, pigmentos e vitaminas, compostos fenólicos, ácidos graxos poli-insaturados e fibras (MORAES; COLLA, 2006).

Vegetais *in natura* contêm numerosos fitoquímicos, metabólitos vegetais, destacando-se os compostos fenólicos, os compostos nitrogenados, os carotenóides, o ácido ascórbico e os tocoferóis. Muitos desses compostos possuem significativa atividade antioxidante, sendo associados à menor incidência e menor

mortalidade por doenças crônicas não transmissíveis, sobretudo o câncer, em seres humanos (PEREIRA; CARDOSO, 2012). Além disso, pode-se ressaltar que, segundo Sibbel (2007), o aumento no consumo dos alimentos funcionais é uma tendência mundial.

2.3 Metabolismo secundário

As células vivas possuem um conjunto de atividades constantes intermediadas por moléculas orgânicas e enzimas que fornecem energia, renovam moléculas e mantêm a ordem do organismo. Esses processos somados são chamados de metabolismo (MARZZOCO; TORRES, 2007). O metabolismo primário é responsável pela síntese de celulose, lignina, proteínas, lipídeos, açúcares e outras substâncias importantes para a realização das funções vitais (CHAMPE; HARVEY; FERRIER, 2008). Este possui função estrutural, plástica e de armazenamento de energia (TAIZ; ZEIGER, 2006). Por outro lado, as plantas também apresentam o metabolismo secundário, que não está diretamente envolvido com as funções primárias de crescimento, servindo para fornecer aos vegetais ferramentas de adaptabilidade ao meio que despertam interesse pelos benefícios farmacêuticos (MARZZOCO; TORRES, 2007; SCHENKEL et al., 2007).

Os vegetais produzem uma grande variedade de compostos orgânicos que parecem não ter função direta em seu crescimento e desenvolvimento. Tais substâncias são conhecidas como metabólitos secundários, produtos secundários ou produtos naturais. Ainda segundo os autores, os metabólitos secundários diferem dos metabólitos primários (aminoácidos, nucleotídeos, açúcares e acil-lipídeos) por apresentarem distribuição restrita no reino vegetal; isto é, metabólitos secundários específicos são restritos a uma espécie vegetal ou a um grupo de espécies relacionadas, enquanto os metabólitos primários são encontrados em todo o reino vegetal e não tem participação direta no metabolismo essencial para a sobrevivência da planta. São três as principais classes de metabólitos secundários: terpenos, compostos fenólicos e compostos nitrogenados (TAIZ et al., 2017).

Os compostos fenólicos, também conhecidos como polifenóis ou fenilpropanoides, formam um grupo estruturalmente diverso de metabólitos secundários que inclui os metabólitos originados da condensação de unidades acetato, flavonoides, isoflavonóides e taninos (ANDRÉS-LACUEVA et al., 2008).

Muitas pesquisas têm demonstrado que compostos fenólicos oriundos de plantas possuem grande potencial antioxidante (SOUSA, 2007), por capturarem diretamente espécies reativas ou intermediários reativos de uma série de reações com as enzimas antioxidantes (ANDRADE et al., 2007).

Os antioxidantes são compostos químicos que podem prevenir ou diminuir os danos oxidativos de lipídios, proteínas e ácidos nucleicos causados por espécies reativas de oxigênio, o que inclui os radicais livres; ou seja, os antioxidantes possuem a capacidade de reagir com os radicais livres e assim restringir seus efeitos maléficos ao organismo humano (COUTO; CANNIATTI-BRAZACA, 2010).

Os antioxidantes têm efeitos sinérgicos no crescimento, rendimento e qualidade do rendimento de muitas espécies de plantas. Estes compostos têm efeitos benéficos na captura dos radicais livres ou do oxigênio ativo produzidos durante a fotossíntese e os processos de respiração (FOYER et al., 1991)

A aplicação exógena de antioxidantes sob a forma de vitaminas ganhou atenção considerável como uma possível abordagem para combater os efeitos adversos do estresse nas plantas, de modo a produzir melhoras qualitativas e quantitativas em seus crescimentos, desenvolvimentos e rendimentos (EL BASSIOUNY; GOBARAH; RAMADAN, 2005). As vitaminas podem ser consideradas como compostos biorreguladores naturais e de segurança que, em concentrações relativamente baixas, exerceram influências profundas sobre diversos processos fisiológicos (SADAK; DAWOOD, 2014).

2.4 Elicitores

Existem algumas substâncias chamadas de elicitores, que se definem por sua capacidade de, ao serem adicionadas em pequenas doses em células vivas, poderem iniciar ou melhorar a síntese de compostos químicos específicos (EDREVA et al., 2008; FERRARI, 2010). Esses elicitores podem ser classificados de duas maneiras. No primeiro caso, quanto a sua origem: exógenos e endógenos, podendo ser íons metálicos e compostos inorgânicos ou orgânicos. No segundo caso, quanto a sua natureza: bióticos ou abióticos. O metabolismo secundário gera produtos que são hoje em dia essenciais tanto para a indústria farmacêutica quanto para a nutrição humana. Quando os organismos vegetais recebem os elicitores, as células

podem aumentar o rendimento na produção de metabólitos específicos via metabolismo secundário, gerando uma melhora na qualidade e quantidade de compostos (NAMDEO, 2007).

Os elicitores abióticos são substâncias de origem não biológica, predominantemente sais inorgânicos e demais fatores físicos que atuam como elicitores, tais como os íons Cu e Cd, Ca^{2+} ou um pH elevado; já os elicitores bióticos são substâncias com origem biológica, o que inclui polissacarídeos derivados de paredes celulares de plantas (pectina ou celulose), micro-organismos (quitina ou glucanos), glicoproteínas, proteínas G ou proteínas intracelulares, cujas funções são acopladas aos receptores e atuam ativando ou inativando uma série de enzimas ou canais iônicos. Os elicitores exógenos são substâncias originadas fora da célula, como polissacarídeos, poliaminas e ácidos graxos, enquanto os elicitores endógenos são substâncias originadas no interior da célula, como a galacturonida ou os hepta- β -glucósídeos, etc.

Namdeo, Patil e Fulzele (2002) verificaram que a concentração da solução desempenha um papel muito importante no processo de elicitação. Observaram ainda variações na acumulação de ajmalicine em culturas de *C. roseus* quando tratadas com diferentes concentrações de elicitores: a acumulação de ajmalicine foi maior em células elicidadas com maior concentração (5,0%) de extratos provocadores em comparação com a menor concentração (0,5%). No entanto, aumentar a concentração até 10,0% afetou negativamente o acúmulo de ajmalicine. Uma alta dosagem de elicitor induziu resposta hipersensível, levando à morte celular, ao passo que um nível ideal foi alcançado para uma indução desejada (COLLINGE; SUSARENKA, 1987; ROEWER; CLOUTIER; VAN DER HEIJDEN, 1992).

Dentre os vários possíveis, neste trabalho nos utilizaremos das vitaminas C e E, e ainda do composto fenólico ácido salicílico.

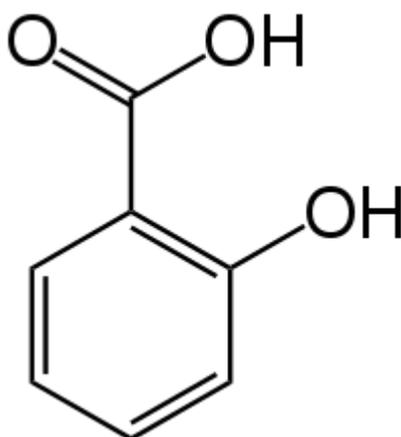
2.4.1 Ação dos elicitores na promoção do metabolismo secundário

2.4.1.1 Ácido Salicílico

O ácido salicílico (AS) é um ácido orgânico que possui efeito elicitor, e cuja fórmula estrutural está apresentada na Figura 1. Segundo Nunes et al. (2008),

trata-se de uma molécula sinalizadora de agressão que aumenta os metabólitos secundários. É formado por compostos fenólicos e sintetizado a partir do aminoácido fenilalanina. Seu efeito elicitor significa que, em pequenas quantidades, o AS pode funcionar como promotor de crescimento, antioxidante e ainda aumentar a lignificação dos vegetais, por estimular o metabolismo secundário.

Figura 1 – Estrutura molecular do ácido salicílico



Fonte: FERREIRA, 2015. <http://apelequehabitoblog.blogspot.com.br/2015/10/acido-salicilico.html#.Wcv0HGhSziU>

Nos vegetais, o ácido salicílico está presente em folhas, plantas atacadas por patógenos e inflorescências de plantas termogênicas (CASTRO; VIEIRA, 2001).

Elicitores abióticos como o ácido salicílico, quando aplicados exogenamente, podem desencadear sistemicamente a expressão de um conjunto de genes de defesa que naturalmente são ativados quando ocorre infecção por patógeno, de modo a estimular a síntese de vários metabólitos vegetais, como os polifenóis e compostos nitrogenados (OKADA et al., 2007).

De acordo com Mazaro et al. (2015), o ácido salicílico ativa rotas de defesa vegetal, como as PR-proteínas quitinases e a β -1,3-glucanase, além da rota dos fenilpropanóides, com alteração na atividade da fenilalanina amônia-liase e nos compostos do metabolismo secundário, como antocianinas e flavonoides.

Pacheco et al. (2007) avaliaram a germinação de sementes de camomila e calêndula em diferentes concentrações de AS. Assim, constataram que

concentrações acima de 0,2 mM prejudicam a germinação das sementes de camomila, enquanto dosagens de 0,025 mM e 0,05 mM favoreceram a germinação e a velocidade da mesma em calêndula. Em sementes de arroz, concentrações entre 10 e 20 mM diminuíram a germinação e causaram morte das células (SILVEIRA; MORAES; LOPES, 2000). Por outro lado, Sadeghipour e Aghaei (2012) apuraram que a aplicação exógena de AS favorece o crescimento e a produção do feijão comum quando em situação de estresse hídrico, com base em mudanças em algumas características como altura de planta, índice de área foliar (IAF), teor de proteína e rendimento de proteína de semente.

Existem ainda pesquisas que buscaram estabelecer relação entre a aplicação de AS com antioxidantes enzimáticos. Para Silva et al. (2016), a presença de peroxidase em maracujazeiro amarelo aumentou significativamente nos intervalos de 12 e 24h de aplicação. Na aplicação via foliar, em duas espécies híbridas de girassol, a presença de superóxido dismutase e peroxidase aumentou significativamente, enquanto a enzima catalase se manteve sem alterações (NOREEN et al., 2009).

O ácido salicílico apresentou efeito de indução de resistência e manutenção da qualidade pós-colheita de maracujás (WEBER et al., 2012); morangos (LOLAEI et al., 2012; SALARI et al., 2012) e pêssegos (KHADEMI; ERSHADI, 2013), atuando na expressão de genes responsáveis pelo acúmulo de espécies reativas de oxigênio no apoplasto, tais como superóxido (O_2^-) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2), que causam a morte de células no local da infecção.

Estudos elaborados por Gonçalves (2017) envolvendo *Mentha x piperita* cultivada com aplicação de ácido salicílico, visando a verificação de sua influência em aspectos dos metabolismos primário e especializado, revelaram que aplicação de ácido salicílico não influenciou a produção de substâncias voláteis, nem a produção de folhas, de matéria seca e a área foliar, ao passo que influenciou de modo discreto índices fisiológicos de crescimento e elevando taxas de assimilação de CO_2 , carboxilação, condutância estomática, eficiência de uso da água e transpiração e antocianinas. Conclui-se que a aplicação de ácido salicílico influenciou o metabolismo primário e especializado, elevando as trocas gasosas e influenciando aspectos das rotas de síntese de antioxidantes.

A aplicação exógena de AS na concentração de 0,50 mM resultou em aumentos lineares no acúmulo de massa seca de raiz, massa seca total, razão raiz /

parte aérea e teores de clorofila a e clorofila a+b em plantas de mil-folhas (*Achillea millefolium* L.), assim como em efeitos positivos sobre o metabolismo secundário, que foram evidenciados pelos aumentos na concentração de compostos fenólicos totais e da atividade antioxidante nas concentrações 0,50 e 1,00 mM (GORNI, 2015).

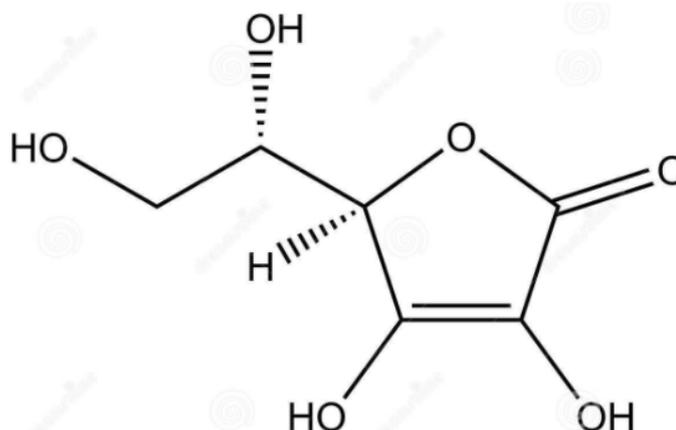
2.4.1.2 Ácido Ascórbico

O médico escocês da Marinha Britânica, James Lind, documentou em 1747 a ingestão de sucos cítricos no tratamento do escorbuto, realizando o primeiro estudo controlado de que se tem notícia na medicina. Ele foi, afinal, o primeiro a correlacionar a alta morbidade e mortalidade dos marinheiros ingleses com a deficiência da vitamina C (FIORUCCI; SOARES; CAVALHEIRO, 2003).

Muitas tentativas fracassaram de se tentar isolar e identificar a vitamina C em sua forma pura. Em 1928, o médico e bioquímico húngaro Albert Szent-Gyorgyi conseguiu isolar esta vitamina, que recebeu o nome de ácido hexurônico. Ele descobriu ainda que sua fórmula era $C_6H_8O_6$. Em 1932, o isolamento da vitamina C em forma cristalina pura foi conseguido por Szent-Gyorgyi e seu colaborador Norman Haworth, professor de Química na Universidade de Birmingham. A estrutura química foi identificada, e o produto, sintetizado sob a forma fisiologicamente ativa pouco depois; em 1938, o ácido ascórbico foi oficialmente aceito como nome químico da vitamina C (LE COUTEUR, 2006).

Com relação à nomenclatura L-treo-2-hexenona-1,4-lactona ou vitamina C, houve uma modificação, em 1965, para o nome ácido L-ascórbico pela comissão de nomenclatura bioquímica da IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*). Assim, o nome ácido ascórbico indicava a atividade antiescorbútica da vitamina C com origem na antiga forma inglesa da palavra escorbuto (*scorby*) (ROSA et al. 2007). A fórmula estrutural do ácido ascórbico está ilustrada na Figura 2.

Figura 2 – Estrutura molecular do ácido ascórbico



Fonte: DREAMSTIME. **Estrutura molecular do ácido ascórbico (vitamina C)** [2018]. Disponível em: <<https://pt.dreamstime.com/ilustra%C3%A7%C3%A3o-stock-estrutura-molecular-do-%C3%A1cido-asc%C3%B3rbico-vitamina-c-image71064579#>>. Acesso em: 1 jun. 2018

O ácido ascórbico está envolvido na regulação de diversos processos biológicos críticos, como fotoinibição e alongamento celular (NOCTOR et al., 1998), além de muitas outras reações enzimáticas e não enzimáticas importantes (SMIRNOFF, 2000). Além disso, o ácido ascórbico é muito importante para a regulação da fotossíntese, floração e senescência (BARTH; DE TULLIO; CONKLIN, 2006).

O ácido ascórbico (vitamina C) é um dos mais importantes antioxidantes solúveis em água nas plantas, atuando como um modulador do desenvolvimento da planta através da sinalização hormonal e como coenzima em reações por meio das quais os carboidratos, gorduras e proteínas são metabolizados (PASTORI et al., 2003)

O pré-tratamento das sementes com antioxidantes não enzimáticos, como o ácido ascórbico, aumenta o vigor, e com isso, o potencial de armazenamento dessas sementes em condições adversas de temperatura e umidade (MAITY et al., 2000). É sugerido que o tratamento prévio das sementes com antioxidantes como o ácido ascórbico aumenta o vigor e prolonga a armazenabilidade das sementes, devido, principalmente, à remoção de espécies reativas de oxigênio (ERO) (SMIRNOFF, 2000). Entretanto, são escassos na

literatura estudos sobre o efeito da aplicação de antioxidantes não enzimáticos na melhoria da viabilidade e do potencial de armazenamento de sementes de feijão.

O ácido ascórbico atua como um antioxidante, por estar disponível para uma oxidação energeticamente favorável. Como ele é facilmente oxidado pelo ar, este sofre a oxidação em preferência ao alimento, preservando a sua qualidade. Muitos oxidantes (tipicamente, das espécies de oxigênio reativos), como o radical hidroxil (formado a partir da água oxigenada), contêm um elétron não emparelhado, e, com isso, são muito reativos e prejudiciais para as pessoas, plantas, alimentos, etc., em nível molecular. Isto se deve à sua interação com os ácidos nucleicos, proteínas e lipídios. As espécies de oxigênio reativas são reduzidas a água, enquanto que as formas oxidadas do ácido ascórbico (monodehidroascórbico e dehidroascórbico) são relativamente estáveis e não reativas (ARAÚJO, 1999).

O ácido ascórbico, ao ser utilizado como antioxidante em alimentos, funciona de diversas maneiras: na remoção do oxigênio, prevenindo, portanto, a oxidação de constituintes sensíveis do alimento, e na regeneração de antioxidantes, além de atuar sinergisticamente com os agentes complexantes e/ou na redução de produtos indesejáveis da oxidação (RAMALHO, 2005).

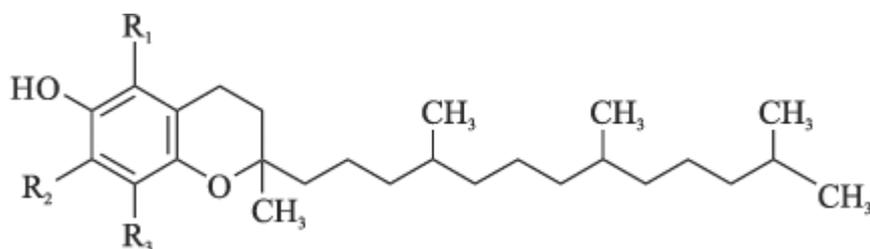
Ullah et al. (2016) demonstraram que a aplicação exógena de ácido ascórbico às plantas com estresse por cádmio fez com que diminuísse a acumulação de cádmio em brotos e raízes, demonstrando também reversão parcial dos efeitos do estresse por cádmio.

Oliveira et al. (2014), ao analisar o efeito das doses de ácido ascórbico (AC) na porcentagem de germinação de semente de milho doce, verificou que os resultados apresentaram um comportamento linear, mostrando que, conforme foi aumentada a dose de ácido ascórbico, houve uma tendência correspondente de incremento nos valores do percentual de germinação. De acordo com Tomassi et al. (2011), o ácido ascórbico pode estar envolvido diretamente no processo responsável pelo redirecionamento das substâncias de reserva disponível para a germinação do embrião, pois o mesmo tende a estimular a produção de enzimas responsáveis por esse processo, favorecendo um melhor desempenho na germinação. Burgueres et al. (2007) observaram variação na germinação entre os tratamentos de sementes com ácido ascórbico quando comparados com a germinação de sementes de milho doce do cultivar Vivi, não tratadas. Já Stasolla e Yeung (2003) verificaram um aumento na taxa de germinação com aplicação exógena de ácido ascórbico.

2.4.1.3 Tocoferol

A natureza múltipla da vitamina E começou a ser descoberta em 1936, a partir do isolamento de compostos no óleo de gérmen de trigo, designados como alfa e beta tocoferol (α , β - tocoferol) (AZZI; STOCKER, 2000). Na sequência, descobriu-se em óleo vegetal outros compostos de tocoferol, o gama e delta tocoferol (γ , δ -tocoferol), além dos tocotrienóis (AZZI; STOCKER, 2000). Na Figura 3 é apresentada a estrutura molecular dos tocoferóis.

FIGURA 3 – Estrutura molecular dos tocoferóis



α - tocoferol: $R_1 = R_2 = R_3 = CH_3$

β - tocoferol: $R_1 = R_3 = CH_3$; $R_2 = H$

γ - tocoferol: $R_1 = H$; $R_2 = R_3 = CH_3$

δ - tocoferol: $R_1 = R_2 = H$; $R_3 = CH_3$

Fonte: <http://vitaminasfarmacia.blogspot.com.br/2016/05/estrutura-propriedades-fisico-quimicas.html>

Além dos compostos homólogos de ocorrência natural, existe a forma sintética da vitamina E conhecida como DL- α -tocoferol, configurada a partir de uma mistura de oito estereoisômeros, possuindo uma absorção menor do que a forma natural, de papel antioxidante *in vitro*, porém diferindo em sua atividade biológica (MACHLIN; GABRIEL; BRIN, 1982; SCHENKER et al., 1998).

Os tocoferóis desempenham papéis vitais na manutenção da homeostase redox. Nas membranas fotossintéticas, eles recuperam ROS (principalmente O^2 e OH) e reduzem os radicais peroxila ($LOO\bullet$) aos seus hidroperóxidos correspondentes (MAEDA et al., 2005), tornando a principal função da vitamina o seu papel antioxidante (TRABER; ATKINSON, 2007). Além desta função, a vitamina E também pode desempenhar funções celulares não

antioxidantes, como inibições da proteína quinase C, da fosfolipase A2 e da NADPH-oxidase (ZINGG; AZZI, 2004).

O α -tocoferol é a forma mais comum de vitamina E encontrada no tecido fotossintético (AHMAD; RASOOL, 2014). Ao contrário de outros antioxidantes, o tocoferol é sintetizado exclusivamente em organismos fotossintetizadores, como plantas superiores e algas (HUSSAIN et al., 2013). A biossíntese de tocoferol nas plantas ocorre principalmente no plastídio. Existem duas vias convergentes da biossíntese do tocoferol que são regidas por uma série de enzimas (MENDES; KELL, 1997).

O tocoferol é um antioxidante não enzimático lipossolúvel. Em cooperação com outros antioxidantes (por exemplo, ácido ascórbico), efetivamente atua reduzindo a produção de ROS (principalmente O_2 e OH^*). Vários estudos de plantas forneceram evidência de que níveis elevados de tocoferol podem conferir tolerância a vários estresses abióticos, incluindo salinidade (OUYANG et al., 2011; FAROUK, 2011), seca (CELA; CHANG; MUNN'E-BOSCH, 2011; ESPINOZA et al., 2013), temperaturas extremas (KANAYAMA et al., 2013; KUMAR; SINGH; NAYYAR, 2013), toxicidade metálica (SANITA` DI TOPPI et al., 2012), ozônio elevado (GUO et al., 2009) e radiação UV (MUNN'E-BOSCH e ALEGRE, 2002), deixando evidente que a biossíntese de tocoferol aumentou em condições estressantes e proporcionou uma melhor proteção contra o estresse oxidativo, limitando a geração de ROS (SHAO et al., 2008; SEMCHUK et al., 2009; LUSHCHAK; SEMCHUK, 2012).

O tocoferol está presente em quantidades elevadas na membrana do tilacoide no cloroplasto, também um importante local de produção de ERO (AHMAD; RASOOL, 2014). Em cooperação com o ciclo das xantofilas, a vitamina E cumpre pelo menos duas funções diferentes em cloroplastos, nos dois principais locais de produção de oxigênio singlete: tanto preserva o fotossistema II (PSII) da fotoinativação quanto protege os lipídios da membrana da fotoxidação (HAVAUX et al., 2005).

As plantas pré-tratadas com α -tocoferol apresentaram tolerância ao estresse induzido e proteção contra danos oxidativos causados por vários estresses (KUMAR; SINGH; NAYYAR, 2013). Como a produção de ERO e a biossíntese de tocoferol estão localizadas no mesmo local, é possível que o enriquecimento de α -tocoferol em membranas de cloroplasto possa estar relacionado à habilidade de tocoferol para eliminar ERO como O^2 e LOO^* , protegendo o aparelho fotossintético

de estresse oxidativo e peroxidação lipídica (MUNNÉ-BOSCH, 2007; LUSHCHAK; SEMCHUK, 2012).

Outros antioxidantes (por exemplo, ácido ascórbico e glutadiona) estão interligados com o tocoferol para controle de ERO. A aplicação exógena de tocoferol mostrou um nível melhorado de tocoferol endógeno e maior tolerância ao estresse (AHMAD; RASOOL, 2014).

Delong e Steffen (1998) forneceram α -tocoferol exógeno às membranas de tilacoides de espinafre para determinar se os níveis elevados de α -tocoferol protegeriam os lipídios da degradação induzida pela exposição à radiação UV-B, e perceberam que, embora os níveis de α -tocoferol não tenham sido alterados por UV-B ou radiação fotossinteticamente ativa nos tilacoides normais, eles diminuíram de forma semelhante para ambos os tratamentos de radiação a 90 e 180 min de exposição nas membranas. Esses dados indicam que níveis elevados de α -tocoferol conferiram proteção antioxidante aos lipídios da membrana de tilacoides expostos a UV-B e radiação fotossinteticamente ativa, mas ao custo da degradação significativa de α -tocoferol ao longo do tempo.

Experimentos realizado com soja por Mostafa et al. (2015) demonstraram que três aplicações foliares com 100 mg L^{-1} de tocoferol aumentaram a taxa de assimilação líquida de fotossíntese, a taxa de crescimento relativo, o teor de nitrogênio, além de terem apresentado alterações variáveis, mas positivas, em todos os outros parâmetros medidos (relação clorofila a/b; concentrações de prolina livre; aminoácidos livres totais; açúcares livres totais e íons de sódio), sob irrigação com água salina ou água fresca, em diferentes níveis de salinidade.

Ye et al. (2017) sugerem que a aplicação foliar com α -tocoferol poderia efetivamente proteger as plantas de *C. leucochlora* do dano do estresse salino, presumivelmente por extinção das espécies de oxigênio reativo excessivo, para proteger os pigmentos fotossintéticos e de modo a aumentar o ajuste osmótico.

Encontrar doses apropriadas e métodos de aplicação do tocoferol como protetor é um tema relevante para estudos. Nos últimos anos, algumas tentativas foram feitas para adaptar os genes responsáveis pela biossíntese de tocoferol em condições estressantes. A elucidação completa destes processos ajudará no desenvolvimento da tolerância ao estresse abiótico e no fornecimento de alimentos enriquecidos com tocoferol para seres humanos (AHMAD; RASOOL, 2014).

O efeito dos elicitores nas plantas depende de muitos fatores ligados ao cultivo, tais como a concentração utilizada, o tempo de elicitação e o estágio de crescimento da cultura (DÖRNENBURG; KNORR, 1996). A produção destes compostos fenólicos é frequentemente baixa (menos de 1% de peso seco), além de depender em grande medida do estágio fisiológico e de desenvolvimento da planta (OKSMAN-CALDENTY; INZE, 2004) (DIXON, 2001).

De acordo com Namdeo (2007), é comprovado que a elicitação aumenta o metabolismo secundário em plantas ou células vegetais *in vitro*, mas isso não implica que o mecanismo exato de elicitação seja inteiramente compreendido. Isto proporciona uma oportunidade para a investigação intensiva no domínio das biociências para a exploração de células vegetais tendo em vista a produção de metabolitos secundários.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Sementes da Faculdade de Agronomia da UNOESTE, em Presidente Prudente/SP. As sementes de *Vigna radiata* L. foram obtidas de cultivadores de broto de feijão da região, pois não havia empresa de sementes com sementes disponíveis no comércio nacional. Após a caracterização inicial do lote de sementes com avaliações iniciais de germinação e teor de água (BRASIL, 2009), foram instalados experimentos onde se verificou o efeito dos elicitores sobre o metabolismo das plântulas, avaliando-se tanto parâmetros biométricos de crescimento (produção de biomassa aérea e radicular) quanto parâmetros bioquímicos.

As sementes de *Vigna radiata* L. foram colocadas em caixas plásticas (11 x 11 x 3 cm) na proporção de 50 sementes por caixa, com 1000 sementes para cada experimento, e sendo adicionados 12 mL de água destilada; as caixas eram, em seguida, levadas para câmara de germinação com temperatura constante de 25 °C.

Após 24 horas, as caixas plásticas foram analisadas para descarte das sementes não germinadas e brotos com desenvolvimento discrepante (atrasado ou adiantado) de modo a se obter um conjunto homogêneo de 50 brotos em cada uma das 5 caixas para início da aplicação dos tratamentos com ácido salicílico (AS, 138,12 g mol⁻¹), ácido ascórbico (AC, 176,12 g mol⁻¹) e tocoferol (TOC, na forma de DL- α tocoferol, 772,74 g mol⁻¹).

Para cada um dos tratamentos, os brotos obtidos aos cinco dias após semeadura foram medidas quanto ao comprimento de parte aérea, raiz e total, tomando-se aleatoriamente 20 brotos por repetição. As partes aéreas e as raízes já segmentadas foram colocadas em recipientes devidamente identificados, para posterior secagem em estufa a 60 °C por 48 h e obtenção da massa seca de parte aérea e raiz dos brotos. Com a soma das massas das partes, foram obtidas as massas totais de brotos de cada repetição. A razão raiz/parte aérea foi obtida pela divisão da massa seca da raiz pela massa seca da parte aérea. Uma das 5 caixas acima descritas foi utilizada para se obter cinquenta brotos, que foram congeladas em freezer -80 °C para a posterior realização da determinação do teor de proteínas solúveis e da atividade da enzima superóxido dismutase (SOD), que desempenha

papel chave no sistema de defesa antioxidante através da dismutação de $O_2^{\cdot-}$ a H_2O_2 e O_2 .

O teor de proteínas solúveis foi obtido pela utilização de 100 mg de tecido fresco de hipocótilos para cada uma das três repetições biológicas para cada um dos três tratamentos, que foram macerados em nitrogênio líquido e colocados em tubos contendo 2 mL de tampão fosfato 0,1 M (pH 7.8). Os tubos foram agitados e incubados em temperatura ambiente por uma hora. A solução foi centrifugada a 9.500 rpm por 10 minutos. O pelete foi re-extraído como descrito acima e o sobrenadante resultante foi agitado e armazenado a $-80\text{ }^\circ\text{C}$ até quantificação. As proteínas foram quantificadas de acordo com Bradford (1976).

De acordo com Buscarioli (2011), a superóxido dismutase SOD possui a função de proteção contra os danos gerados pelo $O_2^{\cdot-}$, sendo considerada a primeira linha do sistema de defesa antioxidante enzimático. SOD representa um grupo de enzimas que catalisa a dismutação do $O_2^{\cdot-}$ e a sequente formação de H_2O_2 .

A atividade de superóxido dismutase (SOD, EC.1.15.11) foi mensurada usando o método descrito por Lei et al. (2005), que consisti em adicionar 50 μL do extrato de hipocótilos a 4,95 mL de tampão fosfato 0,1 M (pH 7.8) contendo 13 mM de metionina e 63 μM de nitro blue tetrazólio (NBT), com 13 μM riboflavina. Os tubos foram incubados a $25\text{ }^\circ\text{C}$ por 15 minutos sob luz fluorescente, centrifugado a 10.000 rpm por cinco minutos, e a absorbância foi lida a 560 nm. Os tubos contendo o mesmo meio sem o extrato e sem recebimento de luz foram usados como controle. Uma unidade de SOD (mg protein^{-1}) foi definida como a atividade da enzima capaz de inibir a fotorredução do NBT a formazan em 50%. Os resultados de atividade de SOD foram normalizados pelos de proteínas solúveis, determinadas pelo método Bradford (1976).

Com relação às demais análises bioquímicas (fenóis totais e atividade antioxidante), cada uma foi realizada em triplicata e a condução dos experimentos acima citados (produção de brotos com 5 DAS), para que, em seguida, fossem obtidos os extratos a serem analisados em cada uma das três repetições biológicas realizadas.

Os extratos produzidos para as análises de fenóis totais e de atividade antioxidante foram obtidos a partir do seguinte protocolo (REIS; MARIOT; STEENBOCK, 2004): depois de lavados em água corrente, os brotos de cada

tratamento (incluindo-se os cotilédones e a raiz) foram colocados em liquidificador por 5 minutos, juntamente com etanol 70°, com descanso posterior em gelo por outros 5 minutos. A proporção utilizada foi de 1:1 (grama / volume) em cada uma das três repetições executadas para se concluir este processo.

Em seguida, os extratos foram filtrados a vácuo por meio da utilização de uma bomba da marca TECNAL, modelo TE-058, e levados à capela por uma hora, distribuídos em placas de petri onde foi adicionado 1 mL de acetona. Retirados da capela, foram secos em estufa a 40 °C até que cada uma das amostras atingisse o ponto de graxa. Os materiais foram acondicionados em recipientes plásticos com tampa e armazenados ao abrigo da luz.

A determinação do teor de fenóis totais presentes nos extratos vegetais dos brotos foi realizada por meio de espectroscopia na região do visível, a partir da aplicação do método de Folin–Ciocalteu, segundo a metodologia proposta por Jayaprakasha et al. (2001).

A atividade antioxidante foi determinada via atividade sequestradora do radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH). Para tanto, utilizou-se o protocolo de Blois (1958). O radical livre sintético DPPH possui coloração púrpura, absorvendo a um comprimento de onda máximo de aproximadamente 515nm (ROGINSKY; LISSI, 2005). A partir das porcentagens de inibição de DPPH, por regressão linear foi possível calcular a concentração inibitória (CI50), ou seja, a concentração de extrato capaz de reduzir 50% da concentração inicial de DPPH.

3.1 Ensaios com Ácido Salicílico

Os tratamentos com ácido salicílico (AS) foram conduzidos nas concentrações de zero, 115,1, 230,2 e 575,5 mg L⁻¹, com aplicações que variaram entre uma e duas aplicações de 12 mL no ciclo e uma e duas aplicações de 6 mL no ciclo, conforme o Quadro 1. Os brotos foram mantidos nas caixas plásticas destampadas e em câmara de germinação com temperatura constante de 25 °C até a colheita.

Quadro 1 – Esquema de seleção de brotos e aplicação de soluções de ácido salicílico (AS) e água destilada (AD) nos diferentes ensaios de crescimento de brotos de feijão (*Vigna radiata* L), desde o primeiro dia após a semeadura (DAS) até a colheita.

Todos os ensaios	Dias após semeadura			Total aplicado
	2	3	5	
Ensaio 1	Seleção de brotos + 12 mL solução de AS nas diferentes concentrações	- + 12 mL AD	- Colheita	12 mL
Ensaio 2	+ 12 mL solução de AS nas diferentes concentrações	+ 12 mL solução de AS nas diferentes concentrações	Colheita	24 mL
Ensaio 3	+ 6 mL solução de AS nas diferentes concentrações + 6 mL AD	+ 6 mL solução de AS nas diferentes concentrações + 6 mL AD	Colheita	6 mL
Ensaio 4*	+ 6 mL solução de AS nas diferentes concentrações + 6 mL AD	+ 12 mL AD	Colheita	12 mL

* o ensaio 4 foi utilizado para obtenção dos brotos utilizados nas análises bioquímicas

Fonte: O autor.

3.2 Ensaios com Ácido Ascórbico

Os tratamentos com ácido ascórbico (AC) foram conduzidos nas concentrações de zero; 0,147; 1,468; e 14,680 g L⁻¹, com aplicações que variaram entre uma e duas aplicações de 12 mL no ciclo e duas aplicações de 6 mL no ciclo, conforme Quadro 2. Os brotos foram mantidos nas caixas plásticas destampadas e em câmara de germinação com temperatura constante de 25 °C até a colheita.

Quadro 2 – Esquema de seleção de brotos e aplicação de soluções de ácido ascórbico (AC) e água destilada (AD) nos diferentes ensaios de crescimento de brotos de feijão (*Vigna radiata* L), desde o primeiro dia após a semeadura (DAS) até a colheita.

	Dias após semeadura			Total aplicado
	2	3	5	
Todos os ensaios	Seleção de brotos	-	-	
Ensaio 1	+ 12 mL solução de AC nas diferentes concentrações	+ 12 mL AD	Colheita	12 mL
Ensaio 2	+ 12 mL solução de AC nas diferentes concentrações	+ 12 mL solução de AC nas diferentes concentrações	Colheita	24 mL
Ensaio 3*	+ 6 mL solução de AC nas diferentes concentrações + 6 mL AD	+ 6 mL solução de AC nas diferentes concentrações + 6 mL AD	Colheita	12 mL

* o ensaio 3 foi utilizado para obtenção dos brotos utilizados nas análises bioquímicas
Fonte: O autor.

3.3 Ensaio com Tocoferol

Os tratamentos com tocoferol (TOC) ocorreram nas concentrações de zero; 25,0; 50,0 e 100,0 mg L⁻¹, com aplicações que variaram em uma, duas e três aplicações de 12 mL no ciclo, conforme Quadro 3. Os brotos foram mantidos nas caixas plásticas destampadas e em câmara de germinação com temperatura constante de 25 °C até a colheita.

3.4 Análise Estatística

Os ensaios foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições por tratamento. Os resultados de comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), comprimento total (CT), massa seca de parte aérea (MSPA), massa seca de raiz (MSR) e massa seca total (MST) foram submetidos a análise de variância e teste Tukey (P < 0,05%).

As análises bioquímicas (proteína solúvel, superóxido dismutase – SOD, fenóis totais e atividade antioxidante) foram realizadas a partir de material vegetal obtido em ensaios inteiramente casualizado com três repetições biológicas e três repetições técnicas compondo nove leituras por tratamento. Os resultados foram submetidos a análise de variância e teste Tukey ($P < 0,05\%$). Todas as análises utilizaram o software Assistat.

Quadro 3 – Esquema de seleção de brotos e aplicação de soluções de tocoferol (TOC) e água destilada (AD) nos diferentes ensaios de crescimento de brotos de feijão (*Vigna radiata* L), desde o primeiro dia após a semeadura (DAS) até a colheita.

	Dias após semeadura				Total aplicado
	2	3	4	5	
Todos os ensaios	Seleção de brotos	-	-	-	
Ensaio 1	+ 12 mL solução de TOC nas diferentes concentrações	+ 12 mL AD	+ 12 mL AD	Colheita	12 mL
Ensaio 2	+ 12 mL solução de TOC nas diferentes concentrações	+ 12 mL solução de TOC nas diferentes concentrações	+ 12 mL AD	Colheita	24 mL
Ensaio 3*	+ 12 mL solução de TOC nas diferentes concentrações	+ 12 mL solução de TOC nas diferentes concentrações	+ 12 mL solução de TOC nas diferentes concentrações	Colheita	36 mL

* O ensaio 3 foi utilizado para obtenção dos brotos utilizados nas análises bioquímicas
Fonte: O autor.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Experimento 1: Aplicação de Ácido Salicílico

Na Tabela 1, observa-se que a aplicação de uma dose de 12 mL da solução de AS, nas concentrações de 230,2 e 575,5 mg L⁻¹, resultou em plantas que diferiram do controle na maioria dos parâmetros avaliados. Quando se observa o crescimento de raiz, houve redução de 60,15% com a maior concentração do AS, e o comprimento total do broto foi reduzido em 38,69%.

Por sua vez, aplicando-se duas doses de 12 mL da solução, por dois dias consecutivos, houve maior comprometimento quanto ao crescimento, pois todas as concentrações apresentaram resultados inferiores ao controle para todos os parâmetros avaliados de biometria dos brotos.

A aplicação de apenas uma dose de 6 mL da solução por dois dias consecutivos diminuiu a interferências do AS no crescimento. Neste caso, os parâmetros CPA, MSPA e MST não foram significativamente diferentes em relação ao controle. No entanto, na concentração 575,5 mg L⁻¹, os demais parâmetros indicaram redução do crescimento dos brotos com o comprimento total sendo deprimido em 29%.

A mesma tabela demonstra que a aplicação de uma dose de 6 mL da solução resultou em menor comprometimento do crescimento dos brotos. O CPA, MSPA, MSR e MST não diferiram do controle nas concentrações mais baixas do AS (115,1 e 230,2 mg L⁻¹), enquanto o comprimento total do broto foi reduzido em aproximadamente 31% na concentração de 575,5 mg L⁻¹.

Tabela 1 – Resultados de comprimento de parte aérea (CPA) e raiz (CR), comprimento total dos brotos (CT), relação raiz / parte aérea (REL_RPA), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR) e massa seca total (MST), em feijão mungo-verde sob diferentes concentrações e números de aplicações de ácido salicílico.

Concentração (mg L ⁻¹)	CPA (cm)	CR (cm)	CT (cm)	REL_RPA -	MSPA (g)	MSR (g)	MST (g)
Ensaio 1 - 1 aplicação de 12 mL							
0,0	8,18 a	5,27 a	13,44 a	0,64 a	0,29 a	0,05 a	0,34 a
115,1	7,68 a	4,23 b	11,90 ab	0,55 c	0,30 a	0,04 ab	0,34 a
230,2	7,00 ab	3,03 c	10,03 bc	0,43 b	0,25 b	0,03 bc	0,28 b
575,5	6,15 b	2,1 d	8,24 c	0,34 d	0,24 b	0,03 c	0,27 b
F	8,4*	41,6**	22,9**	44,5**	12,5**	13,9**	13,5**
CV	0,083	0,117	0,086	0,081	0,058	0,117	0,062
Ensaio 2 - 2 aplicações de 12 mL							
0,0	8,17 a	5,27 a	13,44 a	0,64 a	0,29 a	0,05 a	0,34 a
115,1	7,00 b	3,03 b	10,03 b	0,43 b	0,25 bc	0,03 b	0,28 bc
230,2	7,01 b	2,53 b	9,61 b	0,36 c	0,26 b	0,04 b	0,29 b
575,5	5,87 c	1,52 c	7,40 c	0,26 d	0,22 c	0,02 b	0,25 c
F	22,5**	60,5**	45,9**	83,6**	17,2**	13,4**	19,4**
CV	0,056	0,132	0,073	0,084	0,052	0,143	0,057
Ensaio 3 - 2 aplicações de 6 mL							
0,0	6,46	4,16 ab	10,62 a	0,65 a	0,26	0,05 a	0,30
115,1	6,51	4,28 a	10,79 a	0,66 a	0,27	0,04 b	0,30
230,2	5,51	3,10 bc	8,62 b	0,57 a	0,23	0,04 b	0,37
575,5	5,44	2,09 c	7,53 b	0,39 b	0,18	0,03 c	0,21
F	3,9	16,1**	11,6**	11,3**	2,3	18,8**	2,9
CV	0,098	0,150	0,99	0,134	0,217	0,072	0,188
Ensaio 4 - 1 aplicação de 6 mL							
0,0	8,01 a	4,70 a	12,70 a	0,59 a	0,29 a	0,05 a	0,34 a
115,1	7,15 a	3,34 b	10,49 b	0,47 b	0,28 ab	0,05 a	0,32 ab
230,2	7,21 a	4,08 a	11,29 b	0,57 a	0,30 a	0,05 a	0,35 a
575,5	6,24 b	2,52 c	8,76 c	0,41 b	0,26 b	0,04 b	0,30 b
F	11,8**	36,2**	32,3**	12,9**	7,0**	10,8**	7,8**
CV	0,059	0,085	0,053	0,094	0,043	0,065	0,044

* Significativo a 5%; ** Significativo a 1%

Fonte: O autor.

Neste estudo, as concentrações de AS variaram de 115,1 a 575,5 mg L⁻¹, o que equivale a uma variação de 0,83 até 4,16 mM. O AS é considerado uma molécula sinalizadora e que apresenta função hormonal, podendo incrementar ou reduzir o crescimento (CASTRO; VIEIRA, 2001; NUNES et al., 2008). Geralmente, a aplicação de baixas concentrações de AS alivia a sensibilidade ao estresse abiótico de plantas, enquanto altas concentrações (usualmente mais de 1 mM) induzem altos níveis de estresse oxidativo, levando ao decréscimo de tolerância ao estresse abiótico e conseqüentemente à redução do crescimento (MIURA; TADA, 2014), o

que pode ter acontecido com este experimento, já que as doses aplicadas foram superiores à concentração de 0,83 mM.

Pacheco et al. (2007), avaliando a germinação de sementes de camomila e calêndula em diferentes concentrações de AS, constataram que concentrações acima de 0,2 mM prejudicam a germinação das sementes de camomila, enquanto as dosagens de 0,025 mM e 0,05 mM favoreceram a germinação e a velocidade da germinação em calêndula, concentrações estas inferiores às que utilizamos, o que pode ter reduzido os parâmetros de crescimento do broto. Gorni e Pacheco (2016), por sua vez, verificaram que houve incremento de 83,11% na massa seca de raízes em plantas de mil folhas (*A. millefolium*) pulverizadas com 0,50 mM de AS.

Tratar sementes de trigo via pré-embebição com AS (100 a 500 mg L⁻¹) não foi efetivo para a altura, para o número de grãos por espiga e nem para os comprimentos destas, tanto em condições normais quanto em estresse salino. Por outro lado, a dose de 100 mg L⁻¹ impactou positivamente a produtividade, pois foi constatado tanto um aumento da porcentagem de emergência em campo quanto do número de espigas por m². Já as sementes tratadas com as maiores doses apresentaram desempenho inferior (YOUSOF; EL-SAIDY, 2014). Estes resultados não diferem dos aqui apresentados, talvez porque as doses tenham sido elevadas, causando estresse oxidativo e a inibição do crescimento.

O AS pode promover o metabolismo secundário e as vias de resposta ao estresse biótico e abiótico. Na tabela 2, são apresentados os resultados bioquímicos da aplicação de 6 mL de AS. Os resultados indicaram que todas as concentrações de AS (115,1; 230,2 e 575,5 mg L⁻¹) incrementaram o teor de fenóis totais dos extratos obtidos a partir dos brotos tratados. Por outro lado, o poder antioxidante destes extratos, mensurado pela CI 50, foi maior nos extratos obtidos com as concentrações 115,1 e 575,5 mg L⁻¹ de AS. Não houve diferença estatística tanto para a atividade de SOD quanto para o teor de proteínas solúveis totais com a aplicação de AS aos brotos. Contudo, verificou-se também que, onde o poder antioxidante do extrato foi maior (CI 50), a atividade da SOD foi numericamente maior.

TABELA 2 – Resultados de teor de fenóis totais (TFT), atividade antioxidante (CI 50), atividade de superóxido dismutase (SOD) e teor de proteínas solúveis (PS) obtidos de brotos de feijão mungo-verde tratadas com ácido salicílico.

Concentração (mg L ⁻¹)	TFT (µg. mL ⁻¹)	CI 50 (µg. mL ⁻¹)	SOD SOD (560nm). (mg proteína ⁻¹)	PS (mg. g massa fresca ⁻¹)
0,0	152,4 c	23,6 d	0,002560	4,6
115,1	170,1 bc	12,4 c	0,002883	4,0
230,2	204,2 a	21,7 d+	0,001847	6,3
575,5	171,8 b	9,1 c	0,002870	4,7
F	22,9**	57,8**	2,1	2,9
CV	0,052	0,096	0,228	0,200

Fonte: o autor. * Significativo a 5%; ** Significativo a 1%; CI 50 – concentração inibitória para 50% do DPPH

Alguns autores encontraram efeitos positivos causados pela aplicação de AS em feijão comum, tanto no que diz respeito ao aumento da atividade de enzimas antioxidantes quanto ao aumento na geração de EROS. A pré-embebição de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) em AS (1 mM), e o posterior crescimento na ausência e presença de estresse salino (NaCl) aumentou a atividade de todas as enzimas antioxidantes, bem como a concentração de antioxidantes não enzimáticos e de osmoprotetores (RADY; MAHAMED, 2015). A pré-embebição de sementes de feijão caupi (*Vigna unguiculata*) com AS (0,01 mM) aumentou a atividade antioxidante (atividade SOD, CAT e APX) (DUTRA et al., 2017). Neste experimento também observamos aumento da atividade antioxidante para todas as concentrações aplicadas.

A aplicação de AS por si só, em raiz de trigo de quatro dias, na dose de 0,05 mM, foi capaz de induzir aumento na taxa de geração de EROS, ao passo que os brotos que passaram por estresse salino apresentaram geração de EROS muito maior. O tratamento com AS reduziu a geração de EROS em 50% em relação às plantas que não receberam o AS quando ambas foram colocadas em condições de salinidade, com observações semelhantes aplicadas aos sistemas antioxidantes representados pelas atividades das enzimas SOD e peroxidases (SAKHABUTDINOVA; FATKHUTDINOVA; SHAKIROVA, 2004). Para este experimento, utilizamos doses variando de 0,83 mM até 4,16 mM, demonstrando que estas doses tiveram influência menos nos resultados.

Experimento 2: Aplicação de Ácido Ascórbico

Observa-se na Tabela 3 que a aplicação de 12 mL da solução de AC nas concentrações de 0,147 e 1,468 g L⁻¹ não resultou em diferença significativa em relação ao controle para todas as variáveis biométricas analisadas. Entretanto, verifica-se que a maior concentração de AC provocou uma redução de 77% no comprimento total do broto quando comparado ao controle, conseqüentemente acarretando diminuições nos demais parâmetros.

A aplicação de 12 mL da solução por dois dias reduziu ainda mais o crescimento dos brotos tratados com a maior concentração (14,680 g L⁻¹), conforme demonstra a Tabela 3, enquanto a concentração de 0,147 g L⁻¹ não diferiu estatisticamente do controle, a não ser no que diz respeito ao comprimento da parte aérea, que apresentou melhor resultado estatístico. A maior concentração reduziu em 78% o crescimento total do broto, quando comparado ao controle.

Verifica-se que a aplicação de duas doses de 6 mL da solução de AC por dois dias consecutivos obteve melhores resultados para a concentração de 0,147 g L⁻¹ nos parâmetros CPA, MSPA e MST, quando comparados ao controle. A maior concentração de AC reduziu o crescimento total em aproximadamente 72% com relação ao valor obtido no controle.

TABELA 3 – Resultados de comprimento de parte aérea (CPA) e raiz (CR), comprimento total dos brotos (CT), relação raiz / parte aérea (REL_RPA), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR) e massa seca total (MST), em feijão mungo-verde sob diferentes concentrações e números de aplicações de ácido ascórbico.

Concentração (g L ⁻¹)	CPA (cm)	CR (cm)	CT (cm)	REL_RPA -	MSPA (g)	MSR (g)	MST (g)
Ensaio 1 - 1 aplicação de 12 mL							
0,00	8,40 a	4,61 a	13,02 a	0,55 a	0,31 a	0,06 a	0,37 a
0,147	8,49 a	5,14 a	13,63 a	0,61 a	0,31 a	0,05 a	0,36 a
1,468	8,72 a	4,78 a	13,51 a	0,55 a	0,32 a	0,06 a	0,38 a
14,680	2,16 b	0,87 b	3,03 b	0,41 b	0,13 b	0,03 b	0,16 b
F	71,83**	35,13**	60,87**	7,36**	114,13**	61,28**	142,41**
CV	0,1084	0,1751	0,1231	0,1195	0,0647	0,0745	0,0563
Ensaio 2 - 2 aplicações de 12 mL							
0,00	8,41 b	4,61 ab	13,02 ab	0,55	0,31 a	0,06 a	0,37 a
0,147	9,81 a	5,16 a	14,97 a	0,53	0,31 a	0,06 a	0,37 ab
1,468	7,52 b	3,69 b	11,20 b	0,49	0,28 a	0,06 a	0,34 b
14,680	1,90 c	1,02 c	2,92 c	0,55	0,12 b	0,02 b	0,14 c
F	126,02**	27,44**	74,22**	0,226	188,70**	60,73**	259,58**
CV	0,0895	0,1939	0,1170	0,2168	0,0527	0,0888	0,0446
Ensaio 3 - 2 aplicações de 6 mL							
0,00	6,55 b	4,84 a	11,38 ab	0,75	0,25 b	0,05 a	0,31 b
0,147	7,49 a	4,89 a	12,38 a	0,66	0,29 a	0,05 a	0,34 a
1,468	6,39 b	3,96 a	10,34 b	0,62	0,24 b	0,05 a	0,29 b
14,680	1,98 c	1,62 b	3,14 c	0,61	0,11 c	0,03 b	0,14 c
F	129,63**	59,00**	159,02**	1,13	124,01**	42,75**	175,59**
CV	0,0772	0,1230	0,0715	0,1778	0,0624	0,0795	0,0501

Fonte: o autor. ** Significativo a 1%

O ácido ascórbico foi identificado como um regulador de crescimento que afeta muitos processos metabólicos e fisiológicos. A adição de ácido ascórbico exógeno é um fator importante para o crescimento e a divisão celular (FRANCESCHI; TARLYN, 2002). Emam El-Sweify; Helal (2011) mencionaram que o ácido ascórbico aumentou significativamente os componentes de produção de plantas de linho em termos de número de cápsulas por planta, número de sementes por cápsula, produção de semente por planta, produção de sementes por área, bem como o índice de sementes em comparação com o controle, diferentemente do ocorrido neste experimento.

De acordo com Nascimento et al. (2014), os estudos acerca do tratamento de sementes com ácido ascórbico precisam ser aprimorados, pois os resultados apresentados nos estudos realizados com alface (*Lactuca sativa* L.) não

indicaram que o ácido ascórbico nas doses 0,05; 0,1; 0,15 e 0,20 g L⁻¹ tenha influenciado o processo de germinação, ainda que tenha auxiliado na melhora do vigor de plântulas, devido ao incremento de matéria fresca e seca. A derivação da equação encontrada na variável fresca sem embebição indicou que a melhor dose no estudo de Nascimento et al. (2014), seria de 0,15 g L⁻¹ de ácido ascórbico. Este incremento de matéria seca foi percebido quando utilizamos 2 aplicações de 6 mL na concentração de 0,147 g L⁻¹.

O ácido ascórbico (AC) é um dos metabolitos importantes envolvidos na divisão celular e no ajuste osmótico (DE-GARA et al., 2003), além de também desempenhar um papel vital durante os estágios iniciais de germinação (ARRIGONI et al., 1997). O ácido ascórbico também possui forte potencial antioxidante e ajuda a equilibrar a produção e a eliminação de EROS (MÜLLER-MOULÉ et al., 2003); contudo, um alto nível endógeno de AC é necessário para manter a homeostase celular. Curiosamente, a aplicação exógena de AC pode aumentar o nível de AC endógeno (CHEN, GALLIE. 2004).

Estudos mostram que a presença de antioxidantes, como é o caso do ácido ascórbico, protege a semente contra a peroxidação de lipídios e as espécies reativas de oxigênio (ERO), induzidas pelo envelhecimento das sementes (FOYER, NOCTOR, 2005).

Segundo Brilhante et al. (2013), a aplicação exógena de ácido ascórbico a 0,85 mM nas sementes de feijão de corda, cultivar EPACE 10, após o envelhecimento artificial, atenua os efeitos deletérios na integridade das membranas, provocados pelo envelhecimento artificial, favorecendo a qualidade fisiológica das sementes.

Os resultados apresentados na Tabela 4 indicaram que não houve diferença estatística para o teor de fenóis totais, nem para a atividade da SOD ou para o teor de proteínas solúveis. Por sua vez, o poder antioxidante mensurado pela capacidade de inibição do radical livre DPPH (CI 50) foi maior no extrato obtido com a concentração 0,147 g L⁻¹.

TABELA 4 – Resultados de teor de fenóis totais (TFT), atividade antioxidante (CI 50), atividade de superóxido dismutase (SOD) e teor de proteínas solúveis (PS), obtidos de brotos de feijão mungo-verde tratadas com ácido ascórbico.

Concentração (g L ⁻¹)	TFT (µg. mL ⁻¹)	CI 50 (µg. mL ⁻¹)	SOD SOD (560nm). (mg proteína ⁻¹)	PS (mg. g massa fresca ⁻¹)
0,00	152,4	23,60 d	0,002265	5,18
0,147	135,7	9,67 b	0,001970	5,26
1,468	149,22	13,55 c	0,001503	7,70
F	2,687	338,29**	2,13	3,35
CV	0,081	0,050	0,28	0,26

Fonte: o autor. ** Significativo a 1%; CI 50 – concentração inibitória para 50% do DPPH

Farooq et al. (2013) verificaram que a aplicação exógena de AC em sementes melhora a resistência à seca no trigo através de aumento dos teores endógenos de AC, do potencial antioxidante e de ajuste osmótico. Afirmaram ainda que a manipulação de níveis endógenos de AC, seja através de meios genéticos ou biotecnológicos, pode resultar no desenvolvimento da resistência à seca em trigo.

Experimento 3: Aplicação de Tocoferol

A Tabela 5 indica que uma única aplicação de tocoferol (12 mL da solução) não apresentou efeito significativo quanto aos parâmetros CPA, CR, CT, MSR e MST. Quanto aos demais parâmetros, houve um decréscimo na REL_RPA quando utilizada a maior concentração (100 mg L⁻¹), assim como para a MSPA, quando utilizada a concentração de 50 mg L⁻¹. Como o tratamento consistiu em aplicação da solução na plântula, os resultados diferiram daquele observado por Soltani et al. (2012), quando aplicaram via foliar, doses de tocoferol (0, 50, 100 mg L⁻¹), tendo sido observada uma melhora no crescimento vegetativo e nos parâmetros de floração de *Calendula officinalis*. Ainda segundo os autores, o tocoferol a 100 mg L⁻¹ aumentou a área foliar (9,48%) e o peso fresco e seco das partes aéreas (19,58% e 22,24%, respectivamente).

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 5, os demais ensaios de concentração e número de aplicações não apresentaram diferenças estatísticas quando comparados ao controle.

Por sua vez, El-Quesni, Abd El-Aziz; Maga (2009) relataram que a altura da planta, o número de ramos e folhas, o diâmetro do caule, a área foliar e o peso fresco e seco de *Hibiscus rosa-sinensis* L. foram significativamente melhorados pela aplicação de tocoferol via foliar, o que não foi observado neste experimento, quando da aplicação da solução na plântula.

Ainda quanto aos efeitos do α -tocoferol, Sadak et al. (2010) demonstraram que a aplicação de α -tocoferol em plantas de girassol levou à acumulação de carboidratos totais, à estimulação da síntese proteica e ao atraso da senescência da planta de girassol.

Muitos estudos já provaram que a aplicação exógena do tocoferol possui um eficiente efeito protetor contra diferentes estresses abióticos (DELONG; STEFFEN, 1998; GUO et al., 2009; SKŁODOWSKA et al., 2009; ELLOUZI et al., 2013; ESPINOZA et al., 2013). Tal resultado se deve em parte ao fato de que o tocoferol, sendo uma molécula lipofílica e também um componente das membranas, tem um papel comprovado na estabilização destas (WANG; QUINN, 2000). Além disso, o tocoferol pode também protegê-las de espécies reativas de oxigênio (ROS), seja por eliminação, seja por meio de sua extinção (MAEDA; DELLAPENNA, 2007). Como neste trabalho, os brotos não foram submetidos a estresse, os resultados esperados acabaram diferindo.

Tabela 5 – Resultados de comprimento de parte aérea (CPA) e raiz (CR), comprimento total dos brotos (CT), relação raiz / parte aérea (REL_RPA), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR) e massa seca total (MST) em feijão mungo-verde, sob diferentes concentrações e números de aplicações de tocoferol.

Concentração (mg L ⁻¹)	CPA (cm)	CR (cm)	CT (cm)	REL_RPA -	MSPA (g)	MSR (g)	MST (g)
Ensaio 1 - 1 aplicação de 12 mL							
0	9,08	5,31	14,39	0,59 ab	0,31 ab	0,05	0,36
25	8,62	4,77	13,38	0,55 ab	0,32 ab	0,06	0,39
50	9,03	5,46	14,48	0,61 a	0,30 b	0,06	0,36
100	9,65	5,10	14,75	0,53 b	0,33 a	0,06	0,39
F	2,25	2,19	1,79	4,43*	35,35*	0,40	4,536*
CV	0,0624	0,0787	0,0627	0,0558	0,0369	0,0561	0,0356
Ensaio 2 - 2 aplicações de 12 mL							
0	8,17	4,85	13,02	0,59	0,31	0,05	0,37
25	8,65	5,20	13,85	0,60	0,32	0,05	0,37
50	9,30	5,97	15,27	0,64	0,34	0,06	0,40
100	9,37	6,18	15,55	0,66	0,32	0,06	0,38
F	2,60	2,01	2,56	0,83	2,30	2,78	2,55
CV	0,0796	0,1603	0,1038	0,1158	0,0498	0,0876	0,0532
Ensaio 3 - 3 aplicações de 12 mL							
0	9,49	5,09	14,58	0,53	0,33	0,07	0,40
25	9,30	5,03	14,33	0,54	0,33	0,06	0,39
50	8,62	4,30	12,92	0,49	0,32	0,07	0,39
100	9,28	5,09	14,36	0,54	0,34	0,06	0,40
F	1,48	0,594	0,942	0,374	1,33	4,23	0,40
CV	0,0685	0,2043	0,1113	0,1508	0,0461	0,0703	0,0449

Fonte: o autor. * Significativo a 5%

Na Tabela 6, estão apresentados os resultados bioquímicos da aplicação de tocoferol em três doses da solução (12 mL cada dose). Os resultados indicaram que a concentração de 25 mg L⁻¹ incrementou o teor de fenóis totais dos extratos obtidos com os brotos tratados. Entretanto, o poder antioxidante destes extratos mensurado pela capacidade de inibição do radical livre DPPH (CI 50) foi maior no extrato obtido com a concentração 100 mg L⁻¹. Não houve diferença estatística para a atividade de SOD e para o teor de proteínas solúveis totais com a aplicação de TOC aos brotos.

Tabela 6 – Resultados de teor de fenóis totais (TFT), atividade antioxidante (CI 50), atividade de superóxido dismutase (SOD) e teor de proteínas solúveis (PS) obtidos de brotos de feijão mungo-verde tratadas com tocoferol.

Concentração (mg L ⁻¹)	TFT (µg. mL ⁻¹)	CI 50 (µg. mL ⁻¹)	SOD SOD (560nm). (mg proteína ⁻¹)	PS (mg. g massa fresca ⁻¹)
0	152,42 b	23,60 c	0,002562	4,63
25	186,91 a	31,94 d	0,004075	3,17
50	156,84 b	20,87 b	0,003229	4,52
100	156,33 b	13,04 a	0,003478	3,90
F	16,48**	253,17**	0,599	0,597
CV	0,048	0,038	0,4204	0,3722

Fonte: o autor. ** Significativo a 1%; CI 50 – concentração inibitória para 50% do DPPH

Kumar, Singh e Nayyar, (2013) perceberam que os níveis de tocoferol parecem governar a sensibilidade ao calor do trigo. Sua aplicação exógena pode aliviar parcialmente os efeitos adversos do estresse por causa de seus efeitos antioxidante, de proteção nas membranas e relativa à função fotossintética.

Os α -tocoferóis desempenham um papel em diferentes fenômenos fisiológicos, incluindo o crescimento e o desenvolvimento da planta, a senescência, a prevenção da peroxidação lipídica e a interação com a cascata de sinais que transmite sinais abióticos e bióticos no ambiente celular (BAFFEL; IBRAHIM, 2008), algo que não foi observado neste experimento, quanto ao desenvolvimento das plantas.

5 CONCLUSÃO

Quanto aos **parâmetros biométricos de crescimento** (produção de biomassa aérea e radicular), percebeu-se que a aplicação exógena de AS na dose de 230 mg L^{-1} não apresentou efeito negativo sobre os parâmetros de crescimento.

Com relação ao AC, que a menor concentração ($0,147 \text{ g L}^{-1}$ em duas aplicações de 6 mL da solução), apresentou tanto os melhores resultados de crescimento do broto.

Por sua vez, no que diz respeito ao tocoferol, não houve diferença estatística para as concentrações e para o número de aplicações utilizadas quanto ao crescimento dos brotos.

Para os **parâmetros bioquímicos**, verificamos que a aplicação exógena de AS na dose de 230 mg L^{-1} incrementou o teor de compostos fenólicos totais e a atividade antioxidante dos brotos tratados.

Quando da aplicação de AC, para a concentração de $0,147 \text{ g L}^{-1}$ em duas aplicações de 6 mL da solução, percebeu-se o aumento do poder antioxidante dos extratos produzidos a partir dos brotos tratados.

A aplicação de tocoferol na concentração de 25 mg L^{-1} incrementou o teor de fenóis totais dos extratos obtidos com os brotos tratados, ao passo que o extrato obtido com a concentração 100 mg L^{-1} apresentou maior capacidade antioxidante, em três aplicações de 12 mL da solução.

Por fim, vale ressaltar que todos os produtos funcionaram estimulando as funções antioxidantes dos brotos. No caso de concentrações mais elevadas, os parâmetros biométricos foram reduzidos, o que leva à conclusão de que as concentrações menores foram as mais adequadas.

REFERÊNCIAS

ABDUL-BAKI, A. A. Biochemical aspects of seed vigour. **Hortscience**, v.15, p.761-765, 1980.

AHMAD, P.; RASOOL, S. **Emerging technologies and management of crop stress tolerance: a sustainable approach.**[S.I.]: Elsevier, 2014. v. 2.

ANDRADE, C. A. D. et al. Determinação do conteúdo fenólico e avaliação da atividade antioxidante de *Acacia podalyriifolia* A. Cunn ex. Don Leguminosae-Mimosoidae. **Revista Brasileira Farmacognosia**, v.17, p.231-235, 2007.

ANDRES-LACUEVA, C. et al. Flavanol and flavonol contents of cocoa powder products: influence of the manufacturing process. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 3111-3117, 2008.

ANJO, D. L. C. Alimentos funcionais em angiologia e cirurgia vascular. **Jornal Vascular Brasileiro**, v. 3, n. 2, p. 145-154, 2004.

ARAÚJO, J. M. **Química de alimentos: teoria e prática**. 2. ed. Viçosa: Ed. UFV, 1999.

ARRIGONI, O. et al. Correlation between changes in cell ascorbate and growth of *Lupinus albus* seedlings. **Journal of Plant Physiology**, v. 150, p. 302-308. 1997.

AYKROYD, W. R.; DOUGHTY, J. Legumes in human nutrition. **Food and Agriculture Organization**, Roma , v. 20, p. 152. 1982.

AZZI, A.; STOCKER, A. Vitamin E: non-antioxidant roles. **Progress in lipid research**, v. 39, n. 3, p. 231-255, 2000.

BAFFEL, S. O.; IBRAHIM, M. M. Antioxidants and accumulation of α -tocopherol induce chilling tolerance in *Medicago sativa*. **International Journal of Agriculture and Biology**, v. 10, p. 593-598, 2008.

BARRADAS, C. A. A.; SAYÃO, FAD; DUQUE, F. F. Feijão mungo-uma alternativa proteica na alimentação. **Embrapa Agrobiologia - Comunicado Técnico**, 1989.

BARTH, C.; DE TULLIO, M.; CONKLIN, P. L. The role of ascorbic acid in the control of flowering time and the onset of senescence. **Journal of Experimental Botany**, v. 57, n. 8, p. 1657-1665, 2006.

BLOIS, M. S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. **Nature**, v. 181, n. 4617, p. 1199- 1200, 1958.

BEYER, R. E. The role of ascorbate in antioxidant protection of biomembranes: interaction with vitamin E and coenzyme Q. **Journal of bioenergetics and biomembranes**, v. 26, n. 4, p. 349-358, 1994.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.

BRANDÃO, I. R. et al. Capacidade elicitora do Ácido salicílico no cultivo in vitro de *Alternanthera tenella*. **Revista da Jornada da Pós-Graduação e Pesquisa-Congrega Urcamp**, p.260-271, 2016.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/ DNDV/CLAV, 2009.

BRILHANTE, J. C. A. et al. Ação do ácido ascórbico exógeno na qualidade fisiológica de sementes de feijão de corda envelhecidas artificialmente. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 3, p. 985-994, maio/jun. 2013

BURGUERES E. et al. Effect of vitamin C and folic on seed vigour response and phenolic-linked antioxidant activity. **Bioresource Technology**. v. 98, n. 7, p.1393-1404, 2007.

BUSCARIOLLI, R. **Sistema de defesa antioxidante, histologia e ECG do coração de ratos Wistar submetidos a um protocolo de overtraining em esteira**. 2011. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Biologia. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.

CÂNDIDO, L. M. B.; CAMPOS, A. M. Alimentos funcionais. Uma revisão. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 2, p. 193-203, 2005.

CARVALHO, M. M. S.; LINO, L. L. A. Avaliação dos fatores que caracterizam a berinjela (*Solanum melongena* L.) como um alimento funcional. **Nutrire: Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição**, v. 39, n. 1, p. 130-143, 2014.

CASTRO, P. R. C.; VIEIRA, E. L. **Aplicações de reguladores vegetais na agricultura tropical**. Guaíba: Agropecuária. 2001. 132p.

CELA, J.; CHANG, C.; MUNN'E-BOSCH, S. Accumulation of γ - rather than α -tocopherol alters ethylene signaling gene expression in the *vte4* mutant of *Arabidopsis thaliana*. **Plant and Cell Physiology**, v. 52, n. 8, p. 1389-1400, 2011.

CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A.; FERRIER, D. R. **Bioquímica Ilustrada**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2008. 533p.

CHEN, Z.; GALLIE, D. R. The ascorbic acid redox state controls guard cell signaling and stomatal movement. **The Plant Cell**, v. 16, n. 5, p. 1143-1162, 2004.

CHOMCHAN, R. et al. Influence of selenium bio-fortification on nutritional compositions, bioactive compounds content and anti-oxidative properties of young ricegrass (*Oryza sativa* L.). **Functional Foods in Health and Disease**, v. 7, n. 3, p. 195-209, 2017.

COLLINGE, D. B.; SUSARENKA, A. J. Plant gene expression in response to pathogens. **Plant Molecular Biology**, v.9, p. 389-410, 1987.

COUTO, M. A. L.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G. Quantificação de vitamina C e capacidade antioxidante de variedades cítricas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 1, 2010.

CSIRO, H. N., "Functional foods", **CSIRO Human Nutrition**, Australia. Disponível em: <<http://www.foodscience.csiro.au/functional-foods.htm>>. Acesso em: 20 set. 2017.

DELONG, J. M.; STEFFEN, K. L. Lipid peroxidation and α -tocopherol content in α -tocopherol-supplemented thylakoid membranes during UV-B exposure. **Environmental and experimental botany**, v. 39, n. 2, p. 177-185, 1998.

DE-GARA, L. et al. ; Redox regulation and storage processes during maturation in kernels of *Triticum durum*. **Journal of Experimental Botany**, v. 54, n. 381, p. 249-258.,2003.

DREAMSTIME. **Estrutura molecular do ácido ascórbico (vitamina C)** [2018?]. Disponível em; <<https://pt.dreamstime.com/ilustra%C3%A7%C3%A3o-stock-estrutura-molecular-do-%C3%A1cido-asc%C3%B3rbico-vitamina-c-image71064579#>>. Acesso em: 1 jun. 2018

DINAKAR, C.; DJILIANOV, D.; BARTELS, D. Photosynthesis in desiccation tolerant plants: energy metabolism and antioxidative stress defense. **Plant Science**, v.182, p.29-41, 2012.

DIXON, R.A. Natural products and plant disease resistance. **Nature**, v. 411, n. 6839, p. 843-847, 2001.

DÖRNENBURG, H.; KNORR, D. Generation of colors and flavors in plant cell and tissue cultures. **Critical Reviews in Plant Science**, v.15, p.141-168, 1996.

DOYON, M.; LABRECQUE, J. Functional foods: a conceptual definition. **British Food Journal**, v. 110, n. 11, p. 1133-1149, 2008.

DUTRA, W. F. et al. Antioxidative Responses of Cowpea Cultivars to Water Deficit and Salicylic Acid Treatment. **Agronomy Journal**, v. 109, n.3, p. 895-905, 2017.

EDREVA, A. et al. Stress protective role of secondary metabolites: Diversity of functions and mechanisms. **General and Applied Plant Physiology**, v. 34, n. 1-2, p. 67-78, 2008.

EL BASSIOUNY, H. M. S.; GOBARAH, M. E.; RAMADAN, A. A. Effect of antioxidants on growth, yield and favism causative agents in seeds of *Vicia faba* L. plants grown under reclaimed sandy soil. **Journal of Agronomy**, v. 4, p. 281-287, 2005.

ELLOUZI, H. et al. Drought and cadmium may be as effective as salinity in conferring subsequent salt stress tolerance in *Cakile maritima*. **Planta**, v. 237, n. 5, p. 1311-1323, 2013.

EL-QUESNI, F. E.; ABD EL-AZIZ, N.; MAGA, M. K. Some studies on the effect of Ascorbic Acid and α -tocopherol on the growth and some chemical composition of *Hibiscus rosa sinensis* L. at Nurbaria. **Ozean Journal of Application Science**, v. 2, n. 2, p. 159-167, 2009.

EMAM, M. M.; EL-SWEIFY, A. H.; HELAL, N. M. Efficiencies of some vitamins in improving yield and quality of flax plant. **African Journal of Agriculture Research**, v. 6, n. 18, p. 4362-4369, 2011.

EMBRAPA. **Comunicado Técnico 90**. Londrina: EMBRAPA Soja, 2016.

ESPINOZA, A. et al. Engineered drought-induced biosynthesis of α -tocopherol alleviates stress-induced leaf damage in tobacco. **Journal of Plant Physiology**, v. 170, n. 14, p. 1285-1294, 2013.

FERREIRA, M. Ácido salicílico. **A pele que habito**, 21 out. 2015. Disponível em: <<http://apelequehabitoblog.blogspot.com.br/2015/10/acido-salicilico.html#.Wcv0HGHsZIU>>. Acesso em: 26 out. 2018.

FAROOQ, M. et al. Seed priming with ascorbic acid improves drought resistance of wheat. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 199, n. 1, p. 12-22, 2013.

FAROUK, S. Ascorbic acid and α -tocopherol minimize salt-induced wheat leaf senescence. **Journal of Stress Physiology and Biochemistry**, v. 7, n. 3, p. 58-79, 2011.

FERRARI, S. Biological elicitors of plant secondary metabolites: Mode of action and use in the production of nutraceuticals. **Bio-Farms for Nutraceuticals**, v. 698, p. 152-166, 2010.

FIORUCCI, A. R.; SOARES, M. H. F. B.; CAVALHEIRO, E. T. G. A importância da vitamina C na sociedade através dos tempos. **Química Nova na Escola**, São Paulo, v. 17, p. 3-7, 2003.

FOYER, C. H. et al. . The role of ascorbate in plants, interactions with photosynthesis and regulatory significance. **Current Topics in plant physiology**, 1991.

FOYER, C. H.; NOCTOR, G. Redox homeostasis and antioxidant signaling: a metabolic interface between stress perception and physiological responses. **The Plant Cell**, v. 17, n. 7, p. 1866-875, 2005.

FRANCESCHI, V. R.; TARLYN, N. M. L- Ascorbic is accumulated in source leaf phloem and transported to sink tissue in plants. **Plant Physiology**, v. 130, n. 2, p. 649-656, 2002.

GONÇALVES, F. C. D. M. **Menta (*Mentha x piperita* L.) cultivada com aplicação de ácido salicílico: avaliações fotossintéticas e bioquímicas**. 2017. 129 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agronômicas (FCA), Botucatu, 2017.

GORNI, P. H. **Promoção de crescimento e atividade elicitora do Ácido Salicílico em *Achillea millefolium* L.** 2015, 50 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade do Oeste Paulista - Unoeste, Presidente Prudente, 2015.

GORNI, P. H.; PACHECO, A. C. Growth promotion and elicitor activity of salicylic acid in *Achillea millefolium* L. **African Journal of Biotechnology**, v. 15, n. 16, p. 657-665, 2016.

GUO, J. et al. Effects of ozone on wild type and transgenic tobacco. **Biologia Plantarum**, v. 53, n. 4, p. 670-676, 2009.

HAVAUX, M. et al. Vitamin E protects against photoinhibition and photooxidative stress in *Arabidopsis thaliana*. **The Plant Cell**, v. 17, n. 12, p. 3451-3469, 2005.

HEALTH CANADA. **“What are functional food?”**, Functional Foods and Nutraceuticals: Key Terms, Health Canada, Section 2.2, 2006.

HUSSAIN, N. et al. Biosynthesis, structural, and functional attributes of tocopherols in planta; past, present, and future perspectives. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 61, n. 26, p. 6137-6149, 2013.

JAYPRAKASHA, G. K.; SELVI, T.; SAKARIAH, K. K. Antibacterial and antioxidante activities of grape (*Vitis vinifera*) seed extracts. **Food Research International**, v.36, n.2, p.117-122, 2001.

KANAYAMA, Y. et al. . Seasonal changes in abiotic stress tolerance and concentrations of tocopherol, sugar, and ascorbic acid in sea buckthorn leaves and stems. **Science Horticulture**, v. 164, p. 232-237, 2013.

KHADEMI, Z.; ERSHADI, A. Postharvest Application of Salicylic Acid Improves Storability of Peach (*Prunus persica* cv. Elberta) Fruits. **International Journal of Agriculture and Crop Sciences**, v. 5, n. 6, p. 651, 2013.

KIM, Y. H.; KWAK, S. S. The role of antioxidant enzymes during leaf development. In: GUPTA, S.D. Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants. Enfeld: **Science Publishers**. p.129-150, 2010.

KUMAR, S.; SINGH, R.; NAYYAR, H. α -Tocopherol application modulates the response of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings to elevated temperatures by mitigation of stress injury and enhancement of antioxidants. **Journal of plant growth regulation**, v. 32, n. 2, p. 307-314, 2013.

LE COUTEUR, P. **Os botões de Napoleão: as 17 moléculas que mudaram a história**. São Paulo: Zahar, 2006.

LEI, Y. B.; SONG, S. Q.; FU, J. R. Possible involvement of anti-oxidant enzymes in the cross-tolerance of the germination/growth of wheat seeds to salinity and heat stress. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 47, n. 10, p. 1211-1219, 2005.

LEITE, D. D. F. et al. Propriedades funcionais da semente do sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) in natura e germinado. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 11, n. 1, p. 07-11, 2016.

LOLAEI, A. Effect of pre-and postharvest treatment of salicylic acid on ripening of fruit and overall quality of strawberry (*Fragaria ananasa* Duch cv. Camarosa) fruit. **Annual Biology Reserch**, v. 3, n. 10, p. 4680-4684, 2012.

LUSHCHAK, V. I.; SEMCHUK, N. M. Tocopherol biosynthesis: chemistry, regulation and effects of environmental factors. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 34, n. 5, p. 1607-1628, 2012.

MAEDA, H. et al. Tocopherols protect *Synechocystis* sp. Strain PCC 6803 from lipid peroxidation. **Plant Physiology**, v. 138, n. 3, p. 1422-1435, 2005.

MAEDA, H.; DELLAPENNA, D. Tocopherol functions in photosynthetic organisms. **Current opinion in plant biology**, v. 10, n. 3, p. 260-265, 2007.

MACHLIN, L. J.; GABRIEL, E.; BRIN, M. Biopotency of alpha-tocopherols as determined by curative myopathy bioassay in the rat. **The Journal of Nutrition**, v. 112, n. 7, p. 1437-1440, 1982.

MAITY, S. et al. Chemical induced prologation of seed viability and stress tolerance capacity of mung bean seedlings. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 28, n. 1, p. 155-162, 2000.

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

MARZZOCO, A.; TORRES, B. B. **Bioquímica básica**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007. 736p.

MAZARO S. M. et al. Qualidade pós-colheita de acerolas tratadas com ácido salicílico. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 10, n. 4, p. 512-517, 2015.

McDONALD JR., M. B. A review and evaluation of seed vigour tests. **Proceedings of Association of Official Seed Analysts**, v.65, p.109-39, 1975.

McLEAN, J. A. et al. Lipid-soluble and water-soluble antioxidant activities of the avian intestinal mucosa at different sites along the intestinal tract. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 141, n. B, p. 366- 372, 2005.

MENDES, P; KELL, D. Making cells work—metabolic engineering for everyone. **Trends in Biotechnology**, v. 15, n. 1, p. 6-7, 1997.

MIRANDA, G. V. et al. Comportamento de linhagens de feijão-mungo no sul do Estado do Tocantins. **Horticultura Brasileira**, v. 14, n. 2, p. 148-151, 1996.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, v.7, n. 9, p.405-410, 2002.

MIURA, K.; TADA, Y. Regulation of water, salinity, and cold stress responses by salicylic acid. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, 2014.

MORAES, F. P., COLLA, L. M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista eletrônica de farmácia**, v. 3, n. 2, p. 109-122, 2006.

MOSTAFA, M. R. et al. Exogenous α -tocopherol has a beneficial effect on *Glycine max* (L.) plants irrigated with diluted sea water. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v, 90, n. 2, p. 195-202, 2015.

MÜLLER-MOULÉ, P.; HAVAUX, M.; NIYOGI, K. K. Zeaxanthin deficiency enhances the high light sensitivity of an ascorbate-deficient mutant of *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, v. 133, n. 2, p. 748-760, 2003.

MUNN'E-BOSCH, S.; ALEGRE, L. The function of tocopherols and tocotrienols in plants. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 21, n. 1, p. 31-57, 2002.

MUNNÉ-BOSCH, S. α -Tocopherol: a multifaceted molecule in plants. **Vitamins and Hormones**, v. 76, p. 375-392, 2007.

NALAMPANG, A. **Grain legumes in the tropics**. Bangkok: Department of Agriculture, 1992. 98 p.,

NASCIMENTO F. K. S. et al. Germinação e vigor de sementes de alface tratadas com ácido ascórbico. **Horticultura Brasileira**, v. 31, n. 2, p S3548-S3555, 2014.

NAMDEO, A. G. Plant cell elicitation for production of secondary metabolites: a review. **Pharmacognosy reviews**, v. 1, n.1, p. 69-79, 2007.

NAMDEO, A. Plant cell elicitation for production of secondary metabolites: a review. **Pharmacogn Reviews**, v. 1, n. 1, p. 69-79, 2017.

NANDEO, A. G.; PATIL, S.; FULZELE, D. P. Influence of fungal elicitors on production of ajmalicine by cell cultures of *Catharanthus roseus*. **Biotechnol Prog** v.18, n. 1, p. 159-162, 2002.

NOCTOR, G.; FOYER, C. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. **Annual review of plant biology**, v. 49, n. 1, p. 249-279, 1998.

NOREEN, S. et al. Exogenous application of salicylic acid enhances antioxidative capacity in salt stressed sunflower (*Helianthus annuus* L.) plants. **Pakistan Journal of Botany**, v. 41, n. 1, p. 473-479, 2009.

NUNES, J. M. et al. Influência da elicitação com ácido salicílico na produção de compostos fenólicos em plantas aclimatizadas de *Hypericum polyanthemum klotzsch ex reichardt*. In: SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 20. 2008 Porto Alegre, RS. **Livro de resumos...** Porto Alegre: UFRGS, 2008.

OLIVEIRA, L. L. P. et al. Efeito da água residuária de dessalinizadores na germinação de feijão mungo-verde. **ACSA – Agropecuária Científica no Semiárido**, v.9, n. 02, p. 37-41, 2013.

OLIVEIRA, A. S. et al. Efeito do tratamento de sementes com ácido ascórbico no vigor de sementes e plântulas de milho. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO. 30. 2014. Salvador. **Anais...** Salvador, 2014.

OKADA, A. et al. Elicitor induced activation of the methylethylerythritol phosphate pathway toward phytoalexins biosynthesis in rice. **Plant Molecular Biology**, v.65, n.2, p.177-187, 2007.

OKSMAN-CALDENTEY, K. M.; INZE, D. Plant cell factories in the post-genomic era: new ways to produce designer secondary metabolites. **Trends Plant Science**, v. 9, n. 9, p. 433-440, 2004.

OUYANG, S. et al. The role of tocopherol cyclase in salt stress tolerance of rice (*Oryza sativa*). **Science China Life Sciences**, v. 54, n. 2, p. 181-813, 2011.

PACHECO, A. C. et al. Germinação de sementes de camomila [*Chamomilla recutita* (L.) Rauschert] e calêndula (*Calendula officinalis* L.) tratadas com ácido salicílico. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.9, n.1, p.61-67, 2007.

PASTORI, G. M. et al. Leaf vitamin C contents modulate plant defense transcripts and regulate genes that control development through hormone signaling. **The Plant Cell**, v. 15, n. 4, p. 939-951, 2003.

PEREIRA, R.; CARDOSO, M. G. J. Vegetable secondary metabolites and antioxidants benefits. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 3, n. 4: p. 146-152, 2012.

RADY, M. M.; MOHAMED, G. F. Modulation of salt stress effects on the growth, physio-chemical attributes and yields of *Phaseolus vulgaris* L. plants by the combined application of salicylic acid and *Moringa oleifera* leaf extract. **Scientia Horticulturae**, v. 193, p. 105-113, 2015.

RAMALHO, V. C; JORGE, N. Antioxidantes Utilizados em Óleos, Gorduras e alimentos Gordurosos. **Química Nova**, São Paulo, v. 24, n. 4, p. 755-760, 2005.

REIS, M. S.; MARIOT, A.; STEENBOCK, W. Diversidade e domesticação de plantas medicinais. In: **Farmacognosia: da planta ao medicamento**, , 2004. p. 45-69v. 5,

ROBERFROID, M. Functional food concept and its application to prebiotics. **Digestive and Liver Disease**, v. 34, p. S105-S110, 2002.

ROGINSKY, V.; LISSI, E. A. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. **Food Chemistry**, v. 92, n. 2, p. 235-254, 2005.

ROEWER, I. A.; CLOUTIER, N.; VAN DER HEIJDEN, R. Transient induction of tryptophan decarboxylase (TDC) and strictosidine synthase, (SS) genes in cell suspension cultures of *Catharanthus roseus*. **Plant Cell Reports**, v. 11, n. 2, p. 86-89, 1992.

ROSA, J. S. et al. Desenvolvimento de um método de análise de vitamina C em alimentos por cromatografia líquida de alta eficiência e exclusão iônica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 4, 2007.

SADAK, M. S. et al Increasing sunflower salt toleramnce using nicotinamide and α -tocopherol. **International Journal of Academic Research**, v. 2, n. 4, 2010.

SADAK, M. S.; DAWOOD, M. G. Role of ascorbic acid and α tocopherol in alleviating salinity stress on flax plant (*Linum usitatissimum* L.) **Journal of Stress Physiology and Biochemistry**, v. 10, n. 1, p. 93-111, 2014.

SADEGHIPOUR, O.; AGHAEI, P. Impact of exogenous salicylic acid application on some traits of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under water stress conditions. **International Journal of Agriculture and Crop Sciences**, v. 4, n. 11, p. 685-690, 2012.

SAKHABUTDINOVA, A. R.; FATKHUTDINOVA, D. R.; SHAKIROVA, F. M. Effect of Salicylic Acid on the Activity of Antioxidant Enzymes in Wheat under Conditions of Salination. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 40, n. 5, p. 501-505, 2004.

SALARI, N. et al. Effect of salicylic acid on post-harvest quantitative and qualitative traits of strawberry cultivars. **Advances in Environmental Biology**, v. 7, n. 1, p.94-99, 2013.

SANGRONIS, E.; MACHADO, C. J. Influence of germination on the nutritional quality of *Phaseolus vulgaris* and *Cajanus cajan*. **LWT Food Science and Tecnology**, v. 40, p.116-120, 2007.

SANITA` DI TOPPI, L. et al. A bifasic response to cadmium stress in carrot: early acclimatory mechanisms give way to root collapse further to prolonged metal exposure. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 58, p. 269-279, 2012.

SAVITRI, A.; DESIKACHAR, H. S. R. A comparative estudy of flatus production in relation to the oligosaccharide content of some legumes. **Nutrition reports international (USA)**, v. 31, p. 337-440, 1985

SAYÃO, F. A. D.; BRIOSO, P. S. T.; DUQUE, F. F. Comportamento de linhagens de mungo verde em condições de campo em Itaguaí, RJ. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 26, n. 5, p. 659-664, 1991.

SCHENKEL, E. P. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Florianópolis: Ed. UFSC, 2007. 724 p

SCHENKER, S. et al. Antioxidant transport by the human placenta. **Clinical Nutrition**, v. 17, p. 159-167, 1998.

SEMCHUK, N. et al. Inactivation of genes, encoding tocopherol biosynthetic pathway enzymes, results in oxidative stress in outdoor grown *Arabidopsis thaliana*. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 47, n. 5, p. 384-390, 2009.

SHAO, H. B. et al. ; Plant gene regulatory network system under abiotic stress. **Acta Biologica Sezegediensia**, v. 50, n. 1-2, p. 1-9, 2006.

SHAO, H. B. et al. Primary antioxidant free radical scavenging and redox signaling pathways in higher plant cells. **International Journal of Biological Sciences**, v. 4, n. 1, p. 8, 2008.

SHUI, G.; LEONG, L. P. Residue from star fruit as valuable source for functional food ingredients and antioxidants nutraceuticals. **Food Chemistry**, v. 97, n. 2, p. 277-284, 2006.

SIBBEL, A. A sustentabilidade dos alimentos funcionais. **Social Science & Medicine**, v.64, n.3, p.554-561, 2007.

SIKORA, E. et al. ; The antioxidant activity of selected cruciferous vegetables subjected to aquathermal processing. **Food Chemistry**, London, v. 107, p. 50-55, 2008.

SILVEIRA, M. A. M.; MORAES, D. M.; LOPES, N. F. Germinação e vigor de sementes de arroz (*Oryza sativa* L.) tratadas com ácido salicílico. **Revista Brasileira de Sementes**, v.22, n.2, p.145-52, 2000.

SILVA, M. S. et al. Aplicação exógena do ácido salicílico em maracujazeiro-amarelo para o controle do vírus do endurecimento dos frutos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 83, p. 01-07, 2016.

SKŁODOWSKA, M. et al. Tocopherol content and enzymatic antioxidant activities in chloroplasts from NaCl-stressed tomato plants. **Acta physiologiae plantarum**, v. 31, n. 2, p. 393-400, 2009.

SMIRNOFF, N. Ascorbic acid: metabolism and functions of a multi-facetted molecule. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 3, n. 3, p. 229-235, 2000.

SMITH, C. J. Accumulation of phytoalexins: defense mechanisms and stimulus response system. **New Phytologist**, London, v. 132, n. 1, p. 1-45, 1996.

SOLTANI, Y. et al. Effect of foliar application of a-tocopherol and pyridoxine on vegetative growth, flowering, and some biochemical constituents of *Calendula officinalis* L. plants. **African Journal of Biotechnology**, v. 11, n. 56, p. 11931-11935, 2012.

SOUSA, C. M. M. et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v.30, n. 2, p.351-355, 2007.

SOUZA, P. H. M.; SOUZA NETO, M. H.; MAIA, G. A. Componentes funcionais nos alimentos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, v. 37, n. 2, p. 127-135, 2003.

STASOLLA, C.; YEUNG, E. C. Recent advances in conifer somatic embryogenesis: improving somatic embryo quality. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 74, n. 1, p. 15-35, 2003.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. 4. ed. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates Inc., 2006.

TAIZ, L. et al. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. 6.ed. São Paulo: Artmed, 2017. 888p.

TOMANDL, J. Alimentos Vivos. **Entre Legumes e Verduras**, v. 13, Jan, 2011. Disponível em: <<http://www.entrelegumeseverduras.com.br/brotos-alimentos-vivos/>>. Acesso em: 29 jun. 2017.

TOMOOKA, N. et al. Center of genetic diversity, dissemination pathways and landrace differentiation in mungbean. In: PROCEEDINGS OF THE MUNGBEAN MEETING. 90.,1990. Chiang Mai, Thailand, 1990Proceedings... Bangkok, Thailand: Tropical Agriculture Research Center, 1990.

TRABER, M. G.; ATKINSON, J. Vitamin E, antioxidant and nothing more. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 43, n. 1, p. 4-15, 2007.

ULLAH, H. A. et al. Alleviating Effect of Exogenous Application of Ascorbic Acid on Growth and Mineral Nutrients in Cadmium Stressed Barley (*Hordeum vulgare*) Seedlings. **International Journal of Agriculture and Biology**, v.. 18, n. 1, p. 73-79, 2016.

VAN RHEENEN, H. A. Preliminary study of natural cross-fertilization in mungbean. **Netherland Journal of Agriculture Science**, v. 12, n. 4, p. 260-262, 1964.

VIEIRA, R. F.; ARAUJO, G. A. A. Comparações Agronômicas de Feijões dos Gêneros *Vigna* e *Phaseolus* com o feijão comum (*Phaseolus Vulgaris* L.). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 27, n.6, p. 841-850, 1992.

VIEIRA R. F.; VIEIRA R. F.; VIEIRA C. **Leguminosas graníferas**. Viçosa, Ed. UFV.. 2001.

VIEIRA, R. F. et al. Desempenho de genótipos de feijão-mungo-verde semeados no inverno na Zona da Mata de Minas Gerais. **Revista Ceres**, v. 58, n. 3, 2015.

VIEIRA, R. F.; NISHIHARA, M. K. Comportamento de cultivares de mungo-verde (*Vigna radiata*) em Viçosa, Minas Gerais. **Revista Ceres**, v. 39, n. 221, p.60-83, 2015.

VIEIRA, R. F.; OLIVEIRA, V. R.; VIEIRA, C. Cultivo do feijão-mungo-verde no verão em Viçosa e em Prudente de Moraes. **Horticultura Brasileira**, v. 21, n. 1, p. 37-43, 2003.

VIEIRA R. F.; PINTO C. M. F.; VIANA L. F. Comportamento de linhagens de mungo-verde no verão-outono na Zona da Mata de Minas Gerais. **Revista Ceres**, v. 52, n. 299, p. 153-164, 2005

VIEIRA, R. F.; LOPES, J. D. S. **Produção de brotos comestíveis**: feijão moyashi, alface, trevo, rabanete e brócolis. Viçosa: Centro de Produções Técnicas - CPT, 2001. 108p.

WANG, X.; QUINN, P. J. The location and function of vitamin E in membranes (review). **Molecular Membrane Biology**, v. 17, p. 143-156, 2000.

YE, Y. R. E Foliar-application of α -tocopherol enhanced salt tolerance of *Carex leucochlora*. **Biologia Plantarum**, v. 61, n. 3, p. 565-570, 2017.

YOUSOF, F. I.; EL-SAYDY, A. E. A. Application of salicylic acid to improve seed vigor and yield of some bread wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.) under salinity stress. **Research Journal of Seed Science**, v. 7, n. 2, p. 52-62, 2014.

ZINGG, J.; AZZI, A. Non-antioxidant activities of vitamin E. **Current Medicinal Chemistry**, v. 11, n. 9, p. 1113-1133, 2004.