



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

CAROLINA CABRAL DA SILVA

**GERMINAÇÃO, VIGOR E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM
PASSIFLORA INCARNATA L. SOB O EFEITO DO TIMOL**

CAROLINA CABRAL DA SILVA

**GERMINAÇÃO, VIGOR E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM
PASSIFLORA INCARNATA L. SOB O EFEITO DO TIMOL**

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

Orientadora:
Prof^a Dr^a Ana Cláudia Pacheco Santos

615.321
S586g

Silva, Carolina Cabral.
Germinação, vigor e atividade antioxidante em *Passiflora incarnata* L. sob efeito do timol / Carolina Cabral da Silva. – Presidente Prudente, 2021.
56f. :il.

Dissertação (Mestrado em Agronomia) -
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste,
Presidente Prudente, SP, 2021.
Bibliografia.
Orientador: Ana Cláudia Pacheco Santos

1. Planta medicinal. 2. Germinação de
sementes. 3. Balanço antioxidante. I. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: "GERMINAÇÃO, VIGOR E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM PASSIFLORA INCARNATA L. SOB O EFEITO DO TIMOL"

AUTOR(A): CAROLINA CABRAL DA SILVA

ORIENTADOR(A): ANA CLAUDIA PACHECO SANTOS

Aprovado(a) como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE em AGRONOMIA

Área de Concentração PRODUÇÃO VEGETAL, pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Hilton Fabricio Vitolo



UNOESTE - Universidade do Oeste Paulista / Presidente Prudente (SP)

Profa. Dra. Marcia Eugenia Amaral Carvalho



USP – ESALQ - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" / Piracicaba (SP)

Profa. Dra. Ana Claudia Pacheco Santos



UNOESTE - Universidade do Oeste Paulista / Presidente Prudente (SP)

Data da realização: Presidente Prudente, 25 de agosto de 2021.

DEDICATÓRIA

“Este trabalho é dedicado a Deus que é fiel em tudo na minha vida; aos meus pais e irmãs, que sempre estiveram ao meu lado me ajudando, e incentivando a realizar mais um sonho em minha vida.”

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus e Maria Santíssima pelo dom da vida, pelo seu amor infinito, por estarem sempre ao meu lado, iluminando os meus passos e pensamentos”. Aos meus pais, Sebastião e Maria, pelo amor e dedicação que me deram todos esses anos, por me mostrarem o caminho certo a seguir, meus maiores exemplos. Às minhas irmãs por todo amor, compreensão e carinho, a minha avó, meu cunhado e sobrinhos por toda atenção. Ao tio Miguel (in memoriam), por sempre estar ao meu lado mesmo à distância.

À minha orientadora Professora Ana Claudia Pacheco Santos, por ter me dado a oportunidade de realizar este projeto ao seu lado, que com muita paciência e atenção, dedicou do seu valioso tempo para me orientar passo a passo deste trabalho.

Aos meus amigos em especial, Camila Yoshida, Camila Pinaffi, Érica Sabrina, Erick Rampazzo, Flávia Mignacca e Milena Moraes, com quem aprendi a amar e construir laços eternos. Obrigada por todos os momentos que passamos juntos, pois em vocês encontrei verdadeiros irmãos, obrigada por me ajudar quando precisei, pela paciência, por cada sorriso, pela mão estendida quando era preciso, por estarem sempre ao meu lado, pois está caminhada não seria a mesma sem vocês.

A toda a equipe do CEVOP que me acolheu, em especial a Kézia Guidorrizi, que com toda dedicação e atenção, não media esforços para me ajudar a realizar este projeto.

À professora Edna Torquato, por ter me incentivado estes dois anos a não desistir dos meus sonhos e objetivo, por ser esta amiga maravilhosa que esteve sempre ao meu lado nos momentos bons e ruins.

Minha eterna gratidão a todos aqueles que colaboraram para que este sonho pudesse ser concretizado.

“Tudo o que acontece no universo tem uma razão de ser; um objetivo. Nós como seres humanos, temos uma só lição na vida; seguir em frente e ter a certeza de que apesar de às vezes estarmos no escuro, o sol vai voltar a brilhar”. (Irmã Dulce)

RESUMO

Germinação, vigor e atividade antioxidante em *Passiflora incarnata* L. sob efeito do timol

As sementes da família Passifloraceae apresentam baixa taxa de germinação, devido à existência de dormência, com o aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) é uma característica comum no processo de germinação das sementes e requer a ativação de um complexo sistema antioxidante. O timol é um composto antioxidante facilmente encontrado nas espécies das famílias Lamiaceae e Verbenaceae, com potencial para reduzir danos celulares causados pelas EROs, beneficiando a germinação e o vigor das plantas. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a germinação e o vigor das sementes e plantas de maracujá silvestre (*Passiflora incarnata* L.), através da aplicação exógena de timol. No primeiro experimento avaliou os efeitos do timol (ausência ou presença, via tratamento de imersão das sementes – 1 mg L^{-1}) e da temperatura (35°C constante e alternada $20\text{-}30^\circ\text{C}$) sobre a germinação das sementes em laboratório. As avaliações foram realizadas aos 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26 e 28 dias de germinação, respectivamente, para determinação dos parâmetros de germinação (porcentagem e velocidade). Posteriormente, no segundo experimento avaliou-se o efeito do timol sobre a germinação das sementes em bandejas, via tratamento de imersão da semente e pulverização foliar, avaliando-se o crescimento das plantas por comprimento, massa seca de parte aérea e raiz, atividade de enzimas antioxidantes (catalase, peroxidase do ascorbato e superóxido dismutase), teor de compostos fenólicos totais, teor de flavonoides totais e a avaliação da atividade antioxidante do extrato etanólico foliar. O composto timol não apresentou efeito positivo sobre a germinação de *P. incarnata* L. no experimento 1, sendo que a melhor condição de temperatura foi a de 35°C constante. No experimento 2 o tratamento com timol via imersão das sementes resultou em aumento na concentração de compostos fenólicos nas plantas e a aplicação via foliar promoveu aumento da massa seca da parte aérea, evidenciando o efeito bioestimulante deste composto.

Palavras-chave: Planta medicinal. Germinação de sementes. Balanço de antioxidantes.

ABSTRACT

Germination, vigorous and antioxidant activity in *Passiflora Incarnata* L. Under the effect of thymol

The seeds of the Passifloraceae family have a low germination rate, due to the existence of dormancy, with the increase in the production of reactive oxygen species (ROS) is a common feature in the seed germination process and requires the activation of a complex antioxidant system. Thymol is an antioxidant compound easily found in species of the Lamiaceae and Verbenaceae families, with the potential to reduce cell damage caused by ROS, benefiting germination and plant vigor. This study aimed to evaluate the germination and vigor of seeds and seedlings of wild passion fruit (*Passiflora incarnata* L.), through the exogenous application of thymol. The first experiment evaluated the effects of thymol (absence or presence, via seed immersion treatment – 1 mg L⁻¹) and temperature (constant 35°C and alternating 20-30°C) on seed germination in the laboratory. The evaluations were carried out at 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26 and 28 days of germination, respectively, to determine the germination parameters (percentage and speed). Then, in the second experiment, the effect of thymol on seed germination in trays was evaluated via seed immersion treatment and/or foliar spraying, evaluating seedling growth by length and dry mass of shoot and root, activity of antioxidant enzymes (catalase; ascorbate peroxidation and superoxide dismutase), content of total phenolic compounds, content of total flavonoids and evaluation of the antioxidant activity of the leaf ethanol extract. The thymol compound did not show a positive effect on the germination of *P. incarnata* L. in experiment 1, with the best temperature condition being 35°C constant. In experiment 2, the treatment with thymol via seed immersion resulted in an increase in the concentration of phenolic compounds in the plants and the application via foliar caused an increase in shoot dry mass, showing the biostimulating effect of this compound.

Keywords: Medicinal plant. Seed germination. Antioxidant balance.

LISTA DE SIGLAS

$^1\text{O}_2$	– Oxigênio singleto
O_2^-	– Superóxido
H_2O_2	– Peróxido de hidrogênio
O_2	– Oxigênio molecular
APX	– Ascorbato peroxidase
CAT	– Catalase
CPA	– Comprimento parte aérea
CR	– Comprimento raiz
EROs	– Espécies reativas de oxigênio
MSPA	– Massa seca da parte aérea
MSR	– Massa seca de raiz
MST	– Massa seca Total
R/P	– Relação parte aérea/ raiz
SOD	– Superóxido dismutase
UV	– Ultravioleta
ABA	– Ácido abscísico
GA	– Ácido giberélico

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Níveis de significância dos resultados da análise de variância para os parâmetros tempo máximo da germinação (gMax), índice de velocidade de germinação (IVG), área sobre a curva de germinação (AUC), tempo para 50% da germinação (T50), tempo para 10% da germinação (T10) e tempo médio de germinação (TMG) em sementes de <i>Passiflora incarnata</i> L. em função dos tratamentos com timol e da temperatura	33
Tabela 2 -	Média de porcentagem máxima de germinação (gMax), índice de velocidade de germinação (IVG), e área sobre a curva de germinação em sementes de <i>Passiflora incarnata</i> L. em função dos tratamentos com timol e da temperatura	34
Tabela 3 -	Média de tempo para 50% de germinação (T50 hs), tempo para 10% de germinação (T10) e tempo médio de germinação (TMG) em sementes de <i>Passiflora incarnata</i> L. em função do tratamento com timol e da temperatura	35
Tabela 4 -	Médias de porcentagem de emergência e índice de velocidade de emergência, sobre imersão de 2 horas e 24 horas de plantas de <i>Passiflora incarnata</i> L. em função do tempo de imersão das sementes.....	36
Tabela 5 -	Médias de comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), relação raiz e parte aérea (R/P), massa seca de parte aérea (MSPA), massa seca de raiz (MSR) e massa seca total (MST) de plantas de <i>Passiflora incarnata</i> L. em função de tratamentos com timol.....	36
Tabela 6 -	Médias das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) ascorbato peroxidase (APX), de plantas de <i>Passiflora incarnata</i> L. em função de tratamentos com timol.....	37
Tabela 7 -	Teor de fenóis, flavonoides e atividade antioxidante (AA) em plantas de <i>Passiflora incarnata</i> L. em função de tratamentos com timol.....	37

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Modelo de janela oxidativa e papel da EROs na fisiologia da semente..... 25
- Figura 2 - Germinação acumulada de sementes de *Passiflora incarnata* L. em função da temperatura e do tratamento com timol..... 35

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	HIPÓTESE	15
3	OBJETIVOS	16
3.2	Objetivos específicos	16
4	REVISÃO DE LITERATURA	17
4.1	A espécie <i>Passiflora incarnata</i> L.	17
4.2	Germinação de espécies do gênero <i>Passiflora</i>	18
4.3	Espécies Reativas de Oxigênio (EROs)	19
4.4	Atividade antioxidante das plantas	21
4.4.1	Sistema antioxidante enzimático e não enzimático	21
4.5	Papel das EROs na germinação	23
4.6	Timol em tratamento de sementes	25
5	MATERIAL E MÉTODOS	28
5.1	Experimento 1: Tratamento de sementes com timol e germinação em laboratório sob influência da temperatura	28
5.2	Experimento 2: Avaliação dos efeitos do timol na emergência das plantas em bandejas e análises biométricas e bioquímicas	29
5.2.1	Avaliações bioquímicas	31
5.2.1.1	Determinação da atividade da superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1) ...	31
5.2.1.2	Determinação da atividade de catalase (CAT, EC 1.11.1.6)	31
5.2.1.3	Determinação da atividade da peroxidase do ascorbato (APX, EC 1.11.1.11)	32
5.2.1.4	Análise do teor de compostos fenólicos totais e flavonoides totais	32
5.2.1.5	Avaliação da atividade antioxidante do extrato etanólico foliar	33
5.3	Análise estatística	34
6	RESULTADOS	35
7	DISCUSSÃO	41
8	CONSIDERAÇÕES FINAIS	46
	REFERÊNCIAS	47

1 INTRODUÇÃO

O gênero *Passiflora* é considerado o mais representativo da família Passifloraceae, com 520 espécies de plantas (WOHLMUTH *et al.*, 2010). É encontrado em regiões de clima quente e tropical, principalmente no sudeste da América do Norte e América Central.

A espécie *Passiflora incarnata* L. apresenta uma grande importância na indústria farmacêutica por possuir propriedades medicinais (DHAWAN; DHAWAN; SHARMA, 2004). Os constituintes químicos mais frequentemente citados para as espécies de *Passiflora* são os flavonóides C-glicosilados, como apigenina, vitexina e homorientina, além de saponinas, os quais são compostos presentes nas espécies *P. alata* e *P. edulis* Sims (GOSMANN *et al.*, 2011). No Brasil, as folhas de *P. incarnata* L. são comercializadas em razão de suas propriedades farmacológicas (CAMPOS, 2015), em cultivos presentes nos estados de São Paulo e Paraná.

As espécies de *Passiflora* apresentam sementes semipermeáveis, que permitem pronta captação de água, mas contêm inibidores de germinação (VEIGA-BARBOSA *et al.*, 2013). Estudos demonstraram que embriões excisados de *Passiflora spp.* germinam rapidamente, evidenciando a existência de dormência (DELANOY *et al.*, 2006).

As espécies reativas de oxigênio (EROs) desempenham um papel muito importante na sinalização de processos biológicos das sementes, como a germinação e liberação de dormência (BARBA-ESPÍN *et al.*, 2011; LEYMARIE *et al.*, 2012; ORACZ, 2009). O acúmulo de EROs nas sementes, produzidas pelos embriões, leva à quebra de dormência e estimulação da germinação em sementes em várias espécies (BAILLY; EL-MAAROUF-BOUTEAU; CORBINEAU, 2008).

De acordo com El-Maarouf-Boutease e Bailly (2008), existem evidências do papel das EROs no controle da dormência, atuando em interação com hormônios vegetais como ácido abscísico (ABA), ácido giberélico (GA), etileno (Et), auxina (AIA) e brassinosteroides (BR'S).

Para combater os radicais livres em excesso, as plantas desenvolveram mecanismos de defesa por meio de sistemas antioxidantes enzimáticos e não-enzimáticos (MITTLER, 2002; KIM; KWAK, 2010).

Encontrado na gama de substâncias bioativas naturais, o timol é uma substância com diferentes atividades biológicas, o qual pode ser aplicado na

agricultura como tecnologia de proteção de sementes, decorrente das suas propriedades antioxidante, antimicrobiana e antibacteriana (SHARIFI-RAD *et al.*, 2017; AMIRI, 2012).

Devido à sua ação antioxidante, o timol tem potencial para reduzir danos causados por EROs em sementes, controlando o balanço da EROS e beneficiando a germinação e o vigor das plantas (MACEDO *et al.*, 2018), até mesmo em casos de sementes que apresentam dormência, como é o caso das *Passifloras*.

2 HIPÓTESE

O composto timol pode ser utilizado tanto na semeadura quanto no armazenamento de produtos agrícolas, além de se destacar como agroquímico natural e/ou conservante na proteção de alimentos contra microrganismos patogênicos.

Neste estudo foi estabelecida a hipótese de que o timol, por ser um composto antioxidante, poderia atuar de forma positiva sobre a germinação de sementes de *Passiflora incarnata L.*, promovendo o balanço de espécies reativas de oxigênio e apresentando um efeito sinérgico com os mecanismos de reparo que ocorrem principalmente na fase II da embebição, reduzindo o período que a semente usa para essa fase e em consequência reduzindo o tempo total para a germinação.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

O presente estudo avaliou os efeitos da aplicação de timol sobre a germinação e o vigor das plantas de *Passiflora incarnata L.*, através de tratamento das sementes e aplicação exógena.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar a porcentagem, velocidade e sincronia da germinação em função do tratamento de embebição das sementes com timol e da temperatura;
- Avaliar a resposta das plantas obtidas de sementes tratadas com timol e submetidas a aplicações exógenas de timol em relação ao crescimento (massa e biometria) e atividade das enzimas SOD, CAT, APX, conteúdos de fenóis, flavonóides e atividade antioxidante dos extratos etanólicos.

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1 A espécie *Passiflora incarnata* L.

A espécie *Passiflora incarnata* L. é oriunda do hemisfério Norte, e adaptada aos invernos rigorosos nos países onde ocorre (TONIN, 2010). É facilmente encontrado nos Estados Unidos da América, principalmente nas regiões sudeste do país. Podendo ser encontrada de forma nativa em locais como Bermudas, Caribe, Guiana, Guiana Francesa e Venezuela (BRUCKNER; PICANÇO, 2001).

P. incarnata L. é uma planta herbácea com caule semi-lenhoso e ramificado. Apesar de possuir gavinhas, raramente é uma planta ereta. Possui folhas alternadas simples, lobadas, com bordas serrilhadas, que medem de 6 a 15 cm de comprimento (LORENZI, 2002).

Na região axilar das folhas nascem gemas meristemáticas, onde a superior pode se transformar em uma ramificação, e a inferior origina uma gavinha, ou uma gavinha e uma flor (MAcDOUGAL, 1994). Suas brotações são individuais e indeterminadas, podendo chegar a atingir até dez metros de comprimento, decorrentes dos rizomas e raízes. Os frutos são bagas indeiscentes de forma globosa ou ovóide, de cor verde ou verde amarelada, com sementes envolvidas por um arilo mucilaginoso (McGUIRE, 1998).

Existem vários constituintes químicos presentes nas folhas das plantas do gênero *Passiflora*, mas os principais são flavonoides, alcaloides, saponinas e esteroides (MORAES, 1995; REGINATTO *et al.*, 2001; DHAWAN; DHAWAN; SHARMA, 2004; DOYAMA *et al.*, 2005; MÜLLER *et al.*, 2005).

Pereira (2004) descreveu parâmetros específicos para a identificação das diferentes espécies do gênero *Passiflora*, tendo como um dos principais focos do trabalho a identificação e determinação dos flavonoides utilizando métodos analíticos instrumentais (HPLC, HPTLC e LC-MS) como ferramenta para o controle de qualidade dos compostos presentes na planta.

Os flavonoides glicosilados são relatados como os principais marcadores da espécie *P. incarnata* L., devido à sua grande quantidade nas folhas, contendo principalmente isovitexina, luteolina, kaempferol, vitexina, schaftosídeo, entre outros (ABOURASHED; VANDERPLANK; KHAN, 2002).

4.2 Germinação de espécies do gênero *Passiflora*

A germinação envolve processos sequenciados e sincronizados de eventos fisiológicos, influenciados por dois fatores intrínsecos e extrínsecos, onde o intrínseco está relacionado com dormência, maturação fisiológica e genética, e extrínsecos com luminosidade, temperatura, disponibilidade de água e substrato (KLECZEWSKI; HERMS; BONELLO, 2010).

O tempo de duração da germinação é considerado muito importante para a hidratação da semente e emissão das raízes primárias (LARCHER, 2000). Para que esse processo ocorra, é necessário que a disponibilidade de água, temperatura e a concentração de oxigênio não limitem o metabolismo germinativo (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000).

A propagação de *Passiflora incarnata* L., pode ser feita por semente, enxertia, estacas ou cultura de tecidos in vitro (PANTANO, 2007). Entretanto, a produção em escala comercial do maracujazeiro é realizada principalmente por via sexuada (BECKER *et al.*, 2017), como é o caso dos produtores de *P. incarnata* L. na região de Botucatu, interior de São Paulo (TONIN, 2010), ocorrendo maior segregação e existência de indivíduos diferentes.

As sementes do gênero *Passiflora* têm baixa taxa de germinação, devido à existência de dormência (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000; PANTANO, 2007), o que dificulta a formação de mudas de alta qualidade, sendo um grande problema enfrentado pelos produtores, pois os pomares comerciais no Brasil, predominantemente, são estabelecidos por mudas obtidas de sementes (DANTAS; LIMA; GAÍVA, 2006).

As espécies de *Passiflora* apresentam sementes semipermeáveis, que permitem pronta captação de água, mas contêm inibidores de germinação (VEIGA-BARBOSA *et al.*, 2013). Estudos demonstraram que embriões excisados de *Passiflora spp.* germinam rapidamente, evidenciando a existência de dormência (DELANOY *et al.*, 2006).

Campos (2015) descreve que as sementes de *P. incarnata* L. apresentam boa germinação após seis meses de armazenamento, entre 0 ° e 5 °C. Sua porcentagem de germinação é aumentada quando as sementes são embebidas em água por 24 horas antes da semeadura, mas reduzidas por escarificação ácida ou mecânica.

Problemas relacionados à qualidade fisiológica das sementes são os mais comuns, seguido da manutenção das sementes armazenadas, de modo a evitar problemas como a desuniformidade na germinação, que pode comprometer a formação de mudas (NEGREIROS *et al.*, 2006).

Segundo Pádua *et al.* (2011), é importante conhecer os aspectos que afetam a germinação das sementes, como a origem genética entre espécies e cultivares, pré e pós-colheita, ponto de maturação do fruto, injúrias mecânicas durante a colheita, problemas fitossanitários, secagem, variações climáticas, condições de armazenamento, aspectos morfológicos e condições de luz e temperatura, entre outros.

A temperatura influencia na velocidade de germinação, na absorção de água, nas reações que geram todo o processo bioquímico. Onde a germinação ocorrerá em faixas específicas de temperatura, ocorrendo em algumas espécies em temperaturas alternadas, semelhantes o que ocorre em ambiente natural, onde temperaturas diurnas são mais altas e as noturnas menores (OSIPI; NAKAGAWA 2005).

Zucareli, Henrique e Ono (2015) avaliaram a influência da temperatura e da luz na germinação de sementes de *Passiflora incarnata* L. Os tratamentos foram constituídos de cinco condições de temperaturas (25, 30, 35, 20/30 e 30/20°C) e duas condições de luz (luz constante e escuro constante). Os autores concluíram que a luz tem efeito inibitório sobre a germinação das sementes. A temperatura constante de 35°C e a alternada 30/20°C promoveram maior índice de germinação. Em pesquisas com a utilização de temperatura alternada (20/30 °C) é mais adequada para a germinação (Zucareli *et al.*, 2009).

De acordo com Brasil (2009) nas regras para análises de sementes, a recomendação para a melhor germinação de sementes de *Passiflora edulis* é fazer alternância de temperatura e na ausência de luz. Entretanto, não existem recomendações para as espécies restantes deste gênero.

4.3 Espécies Reativas de Oxigênio (EROs)

Espécies reativas de oxigênio (EROs) são formas reduzidas que dão origem ao superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), hidroxila (OH), e oxigênio singleto (1O_2). O oxigênio possui dois átomos, que são completamente reduzidos por

quatro elétrons, sendo transportado por toda cadeia respiratória, gerando duas moléculas de água. O desligamento de elétrons de sua cadeia respiratória reduz parcialmente o oxigênio molecular, ocorrendo assim a produção de EROs (MITTLER, 2002).

As EROs são um subproduto do metabolismo celular quando as plantas são expostas a condições de estresses bióticos e abióticos. Seu principal ponto de produção são as organelas (mitocôndrias e cloroplastos) com alta atividade de oxidação metabólica (BREUSEGEM *et al.*, 2001).

A formação das EROs acontece por etapas, onde ocorre inicialmente a redução univalente a partir do oxigênio molecular. Os superóxidos possuem número ímpar de elétrons (13) na última camada eletrônica (BHATTACHARJEE, 2010).

É um radical livre, de vida relativamente curta, não podendo atravessar as membranas biológicas, ficando preso ao compartimento onde foi gerado. Com a redução do oxigênio gera-se o H_2O_2 , uma EROs moderadamente reativa, de meia-vida relativamente longa, que tem a capacidade de difundir-se livremente através das membranas, e se distribui a partir do local de sua produção (BREUSEGEM *et al.*, 2001).

O peróxido de hidrogênio tem uma ação danosa, porque participa da reação formadora do radical OH, o oxidante mais reativo na família da EROs. O peróxido de hidrogênio é capaz de desativar enzimas por oxidação de seus grupos tiol (GADJEV; STONE; GECHEV, 2008; KARUPPANAPANDIAN *et al.*, 2011).

E por último a se formar nesta reação, e o mais reativo, é o radical OH, formado a partir do superóxido (O_2^-) ou peróxido de hidrogênio (H_2O_2) na reação de Haber-Weiss, podendo reagir potencialmente com todas as moléculas biológicas, sequestrando um átomo de cada hidrogênio (BREUSEGEM *et al.*, 2001; NORDBERG; ARNER, 2001).

As espécies reativas de oxigênio são capazes de reagir rapidamente com uma ampla diversidade de constituintes celulares e oxidá-los; estes incluem proteínas, DNA, RNA e lipídeos. Podem também desencadear um processo auto catalítico de oxidação de membranas, resultando na degradação de organelas e da membrana plasmática, bem como na morte celular (TAIZ *et al.*, 2017). Porém, também são importantes sinalizadores para a ativação de respostas de defesa das plantas em condições de estresse (MILLER; SHULAEV; MITTLER, 2008; SHETTY *et al.*, 2008).

Existem evidências do seu papel no crescimento celular e alongação foliar, e no afrouxamento da parede celular, provavelmente decorrente da degradação de polissacarídeos, induzida pelo radical OH (MYLONA; POLIDOROS, 2010; FAURE *et al.*, 2012).

4.4 Atividade antioxidante das plantas

As plantas são consideradas uma grande entidade biológica e pela sua potencial fonte e fácil acessibilidade de antioxidantes, tornam-se bons objetos de estudos, a fim de ser bem utilizadas (ZEHIROGLU; SARIKAYA, 2019).

Além disso, Silva *et al.* (2005) diz que, “as propriedades antioxidantes induzidas por espécies de plantas têm uma ampla gama de aplicações em perspectiva na saúde humana”.

Segundo Aydin e Seyidoglu (2021), o processo antioxidante começa com a oxidação quando danifica um composto de radical livre e, em seguida, tenta a restauração. Um antioxidante pode atuar como um pró-oxidante, que gera EROs e RNS (Espécies Reativas de Nitrogênio) de duas maneiras; quebrar a corrente e prevenir.

Portanto, antioxidantes que eliminam as EROs podem ser de grande valor na prevenção do início e/ou progressão de doenças oxidativas (WILLET, 1994; KARNAN; SUBRAMANI, 2015; WIDODO *et al.*, 2019).

4.4.1 Sistema antioxidante enzimático e não enzimático

As plantas protegem suas células dos efeitos citotóxicos das EROs com o auxílio dos sistemas antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos. Dentre as enzimas antioxidantes, são citadas a superóxido dismutase (SOD), a ascorbato peroxidase (APX), a catalase (CAT), a glutathione redutase (GR), a peroxiredoxina (PRX) e a polifenol oxidase (PPO). Já entre os antioxidantes não enzimáticos, são citados metabólitos como a glutathione (GSH), o ácido ascórbico (AA), o α -tocoferol, os carotenoides (SCANDALIOS, 1993; INZÉ; MONTAGU, 1995; MITTLER, 2002) e os compostos fenólicos (AKULA; RAVISHANKAR, 2011).

Das muitas funções atribuídas ao ácido ascórbico (AA), a mais relevante é o fato deste ser o mais importante antioxidante não enzimático em plantas,

participando na remoção das EROs. Junto com a glutatona (GSH), o AA participa do ciclo do ascorbato-glutatona, onde o H_2O_2 é retirado pela APX através da peroxidação do ABA, onde a sua recuperação ocorre através da oxidação da GSH, que acaba sendo reduzida pela glutatona redutase (GR) (BARBOSA *et al.*, 2014).

O α -tocoferol e os carotenoides são também antioxidantes não enzimáticos sequestradores de oxigênio singleto (1O_2), que é produzido nas membranas dos tilacoides pelo fotossistema II (PSII). Os carotenoides agem na proteção ao excesso de luz visível e UV, e reduzem os danos celulares causados pela luminosidade. O α -tocoferol é uma molécula lipossolúvel sintetizadas apenas por organismos fotossintetizantes, atuando na prevenção da peroxidação dos lipídios de membrana pelas EROs (MAEDA; DELLAPENNA, 2007).

Dentro das células, a enzima superóxido dismutase (SOD) é a primeira linha de defesa contra EROs, realizando a dismutação de dois radicais superóxido (O_2^-), formando H_2O_2 e O_2^- . A superóxido dismutase é classificada, de acordo com seus cofatores metálicos: cobre e zinco (Cu/Zn-SOD), manganês (Mn-SOD) e ferro (Fe-SOD) (GILL; TUTEJA, 2010). Presente em diferentes grupos, sendo o tipo e a quantidade de isoformas de SOD variáveis entre espécies vegetais, o Fe-SOD pode ser encontrado no citosol, o Mn-SOD nas mitocôndrias, o Cu/Zn-SOD e Fe-SOD nos cloroplastos (BOWLER; MONTAGU; INZE, 1992).

A enzima CAT possui a função de eliminar o H_2O_2 , produzido durante a fotorrespiração e β -oxidação dos ácidos graxos. Tem função de neutralizar o H_2O_2 em água (H_2O) e oxigênio molecular (O_2), está presente nos peroxissomos, glioxissomos e mitocôndrias (HELDT; HELDT, 2005; DUBEY, 2011). A catalase possui diferentes isoformas em vegetais, podendo dismutar diretamente o H_2O_2 ou oxidar substratos, tais como metanol, etanol, formaldeído e ácido fórmico (BREUSIGEM *et al.*, 2001). Como a catalase está relacionada as altas concentrações de H_2O_2 , são consideradas indispensáveis para a desintoxicação de EROs, quando colocada em condições de estresse severo, e quando os níveis de H_2O_2 estão elevados (DUBEY, 2011).

A enzima APX utiliza o ácido ascórbico como seu doador de elétrons para reduzir H_2O_2 , mesmo estando em baixas concentrações (LOCATO *et al.*, 2010; SHARMA *et al.*, 2012). As isoenzimas de APX são distribuídas em pelo menos quatro compartimentos celulares (citosol, mitocôndrias, peroxissomos e parede celular). (No cloroplasto, a APX) ocorre em duas formas: no estroma, e ligada à

membrana do tilacoide (DABROWSKA *et al.*, 2007; GARA, 2004). A ascorbato peroxidase atua no ciclo ascorbato-glutationa, que ocorre no cloroplasto e mitocôndrias, onde o H₂O₂ formado pela ação da SOD é reduzido pelo ascorbato (MITTLER, 2002; LOCATO *et al.*, 2010).

Peroxidases (POD) utilizam H₂O₂ como doadores de elétrons. Assim o peróxido de hidrogênio formado pela ação da SOD pode ser eliminado pela POD, além da CAT e APX (LOCATO *et al.*, 2010). A peroxidase está localizada na parede celular e vacúolo, podendo ser utilizada como marcador bioquímico de estresse decorrente de fatores bióticos e abióticos, bem como na identificação de processos morfogênicos no período de diferenciação celular, crescimento e multiplicação de plantas (LIMA *et al.*, 2002; PIZA *et al.*, 2003; LOCATO, 2010; KIM; KWAN, 2010).

4.5 Papel das EROs na germinação

A germinação é um processo muito complexo que leva o alongamento do eixo embrionário através de uma semente permitindo a emergência de plantas subsequentes (BEWLEY; BLACK, 1994). O aumento na produção de EROs é uma característica comum no processo de germinação *sensu stricto*, a chamada fase crítica da germinação que requer a ativação de um sistema regulador complexo, controlado por fatores intrínsecos, como por exemplo a dormência, e extrínsecos das condições ambientais, como temperatura, oxigênio, e disponibilidade de água (BAILLY; EL-MAAROUF-BOUTEAU; CORBINEAU, 2008). Este processo está relacionado com a transição de uma semente quiescente para um organismo metabolicamente ativo, e está associado à produção de EROs, sugerindo que é um fenômeno generalizado (BEWLEY; BLACK, 1994; RASHEED *et al.*, 2019).

As EROs desempenham um papel muito importante na sinalização de processos biológicos das sementes, como a germinação e liberação de dormência (BARBA-ESPÍN *et al.*, 2011; LEYMARIE *et al.*, 2012; ORACZ, 2009). A produção de peróxido de hidrogênio, óxido nítrico, radicais hidroxila e radicais superóxido, os quais se acumulam durante a germinação de sementes em várias espécies, contribui para o afrouxamento da parede celular durante o enfraquecimento do endosperma, morte celular programada, e proteção contra patógenos (EL-MAAROUF-BOUTEARE; BAILLY, 2008).

Para que ocorra sucesso na germinação, a mesma necessita dos fatores externos como temperatura, luz, oxigênio e disponibilidade de água. Desta maneira, as sementes devem ser beneficiadas com sensores internos capazes de traduzir sinais ambientais para os mecanismos celulares que levam à germinação. Em condições não favoráveis de germinação, como estresse térmico (calor e frio), radiação UV ou hipóxia, caracterizados como estresses abióticos, ocorre a produção das EROs, que por sua vez impedem a emissão da radícula. Tal papel das EROs, portanto, superaria a interface entre sinalização e efeitos deletérios (BAILLY; EL-MAAROUF-BOUTEAU; CORBINEAU, 2008).

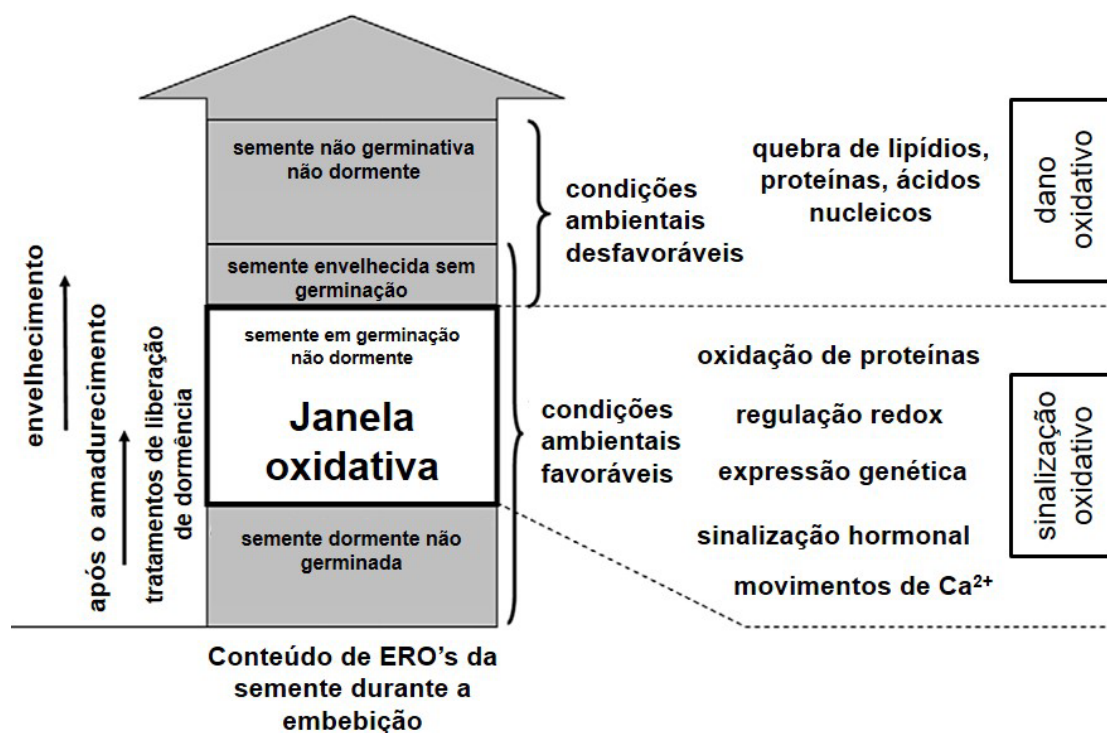
No fotossistema I (PSI) e no fotossistema II (PSII), o cloroplasto torna um importante local de produção de EROs (GILL; TUTEJA, 2010). Os cloroplastos podem gerar EROs, no início do desenvolvimento da semente, e rapidamente eles se tornam não funcionais (EL-MAAROUF-BOUTEARE; BAILLY, 2008). No metabolismo de reservas lipídicas durante a germinação das sementes, os glioxissomas (um tipo de peroxissoma), são importantes sítios de produção de EROs nas sementes, levando à formação de O_2^- e H_2O_2 pelo glicolato oxidase (GILL; TUTEJA, 2010). Outro local de produção de EROs é a membrana plasmática, por causa das suas atividades, a NADPH oxidase transfere elétrons do NADPH citoplasmático para o oxigênio (GRANT; LOAKE, 2000).

Em sementes hidratadas, uma das principais fontes de produção de EROs como H_2O_2 durante a germinação, pode ser atribuída à atividade mitocondrial (NOCTOR; PAEPE; FOYER, 2007). Sendo assim, a retomada da respiração nas sementes embebidas pode levar ao vazamento de elétrons, com isso aumentando a produção de EROs (EL-MAAROUF-BOUTEARE; BAILLY, 2008). Pergo e Ishii-Iwamoto (2011), observaram que a produção de EROs em sementes de *Ipomea triloba*, está relacionada com a retomada da respiração mitocondrial. Quando a cadeia de transferência de elétrons mitocondrial abriga elétrons com energia livre, com capacidade suficiente para reduzir diretamente o oxigênio (O_2), essa mudança é considerada a fonte primária de produção de EROs mitocondrial (RHOADS *et al.*, 2006). No cloroplasto, o oxigênio (O_2) produzido durante a fotossíntese pode aceitar os elétrons que passam pelos fotossistemas na formação de O_2^- . (GILL; TUTEJA, 2010).

O acúmulo de produção de EROs pelos embriões leva à quebra de dormência pela estimulação da germinação em sementes em várias espécies

(BAILLY; EL-MAAROUF-BOUTEAU; CORBINEAU, 2008). Existem evidências do papel das EROs no controle da dormência, atuando em interação com hormônios vegetais como ABA, GA, Et, AIA e (BR'S), sendo todos conhecidos por desempenhar papel importante na dormência de sementes (EL-MAAROUF-BOUTEASE; BAILLY, 2008). As espécies reativas de oxigênio podem agir diretamente, ou como mensageiras, pois estão envolvidas na sinalização de sementes quando estão no estado dormente e não-dormente. Durante a quebra de dormência, as EROs desencadeiam a oxidação das proteínas (ORACZ *et al.*, 2007). Mas podem atuar também no controle da ativação da cascata da MAP quinase, inibir as fosfatases, ativar os canais de Ca^{2+} e as proteínas de ligação a Ca^{2+} , modular o potencial redox e a expressão gênica (EL- MAAROUF-BOUTEARE; BAILLY, 2008).

Figura 1 – Modelo de janela oxidativa e papel da EROs na fisiologia da semente.



Fonte: (adaptado de BAILLY; EL-MAAROUF-BOUTEAU; CORBINEAU, 2008).

4.6 Timol em tratamento de sementes

O timol é um monoterpene fenólico, constituinte comum dos óleos essenciais de espécies da família Lamiaceae (LIMA; CARDOSO, 2007) e Verbenaceae (TREVISAN *et al.*, 2016), cuja fórmula molecular é $C_{10}H_{14}O$. Os compostos

responsáveis pela atividade antioxidante conferida a alguns óleos essenciais, são principalmente aqueles que possuem um ou mais grupos OH ligados ao anel aromático, e elétrons disponíveis para serem doados. O timol é um exemplo de terpenóide antioxidante (possui um grupo hidroxila ligado ao anel aromático) (LIMA; CARDOSO, 2007). Apresenta-se na forma de cristais translúcidos incolores ou brancos, possui odor aromático, e paladar pungente, com um leve efeito cáustico sobre os lábios, é uma substância pouco solúvel em água e extremamente solúvel em álcool (NAGOOR MEERAN *et al.*, 2017).

O timol é conhecido por ser uma substância bioativa que ocorre de forma natural, com atividade antimicrobiana para uma ampla gama de microorganismos (bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, fungos e leveduras), e apropriada para incorporação em diferentes transportadores de polímeros (MARKOVIC *et al.*, 2015; MILOVANOVIC *et al.*, 2015, PILATI *et al.*, 2013, SHAHIDI *et al.*, 2014). Trata-se de um composto bioativo que exhibe muitas propriedades positivas, como antioxidante, antimicrobiano, expectorante, antiespasmódico e antibacteriano (SHARIFI-RAD *et al.*, 2017; AMIRI, 2012; HOFERL *et al.*, 2009; NICKAVAR; MOJAB; DOLAT-ABADI, 2005; AGARWAL; TRIPATHI; MISHRA, 2020).

Constante nas Farmacopeias, o timol é muito utilizado na medicina humana para tratamentos dermatológicos, na realização de inalações em pessoas com problemas respiratórios, e na formulação de enxágue bucal (CARMONA *et al.*, 2002). Na medicina veterinária o timol é utilizado na dermatologia como antifúngico e antipruriginoso (SPINOSA, 2006). Também vem sendo utilizado como agente carrapaticida, mostrando eficácia relevante (NOVELINO; DAEMON; SOARES, 2007; DAEMON *et al.*, 2009; MONTEIRO *et al.*, 2009).

De acordo com o Food and Drug Administration (FDA), o timol é um aditivo alimentar geralmente reconhecido como seguro, e indicado para aplicações na agricultura (ZANG *et al.*, 2014), utilizado na redução de custos de produção e controle bacteriológico (JI *et al.*, 2005).

O composto timol é um potente antioxidante no combate de espécies reativas de oxigênio (ROS), não havendo gasto metabólico na síntese de mecanismo de proteção enzimática (LIMA; MACEDO; SILVA, 2019).

Diante disto, o timol vem sendo utilizado em tratamento de sementes em diversas finalidades. Lima, Macedo e Silva (2019) avaliaram a ação de diferentes doses de timol na germinação de sementes de soja, através de parâmetros

biométricos e enzimáticos e concluíram que o timol não afetou a germinação. Efeito semelhante foi detectado no estudo de Macedo *et al.* (2018) ao utilizar ácido kójico e tirosol, considerados dois potenciais antioxidantes, os quais não causaram nenhum efeito prejudicial na germinação de trigo.

Estudos sobre a eficácia do timol no manejo de doenças em condições de campo, com aplicação via tratamento de sementes, resultou em uma forte atividade antifúngica (DAFERERA; ZIOGAS; POLISSIOU, 2003; NGUEFACK *et al.* 2007; MORCIA; MALNATI; TERZI, 2012; STEVIĆ *et al.*, 2014; GILL *et al.*, 2016; MONGIANO *et al.*, 2021).

5 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Sementes e no Centro de Estudos em Ecofisiologia de Plantas da UNOESTE, da Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), em Presidente Prudente/ SP. As sementes utilizadas no experimento foram doadas pela empresa Grupo Centroflora, que possui um cultivar registrado de *Passiflora incarnata* L. no MAPA (registro 23114-CF01).

De modo a avaliar o potencial germinativo e crescimento de *P. incarnata* L. sob a ação da substância timol, foram desenvolvidos dois experimentos como descrito a seguir.

5.1 Experimento 1: Tratamento de sementes com timol e germinação em laboratório sob influência da temperatura

Para avaliar o potencial do tratamento de sementes de *Passiflora incarnata* L. com o composto timol, as sementes foram tratadas por imersão durante 2 horas em soluções com concentrações 0 e 1 mg L⁻¹ de timol (Sigma Aldrich), conforme descrito por Lima, Macedo e Silva (2019). A propósito, mesmo o timol sendo pouco solúvel, sua solubilidade em água é, aproximadamente, 1000 mg L⁻¹ e a dose de 1 mg L⁻¹ foi selecionada visto que doses maiores prejudicam o desenvolvimento da raiz e parte aérea (LIMA; MACEDO; SILVA, 2019). As sementes tratadas com água destilada foram utilizadas como controle. Após o tratamento, as sementes foram secadas em temperatura ambiente por uma hora e utilizadas para os testes de germinação.

A semeadura foi feita em caixas plásticas transparentes tipo gerbox (11,0 x 11,0 x 3,5 cm) contendo duas folhas de papel de germinação, que receberam o equivalente a 2,5 vezes a sua massa seca em volume de água destilada, para todos os tratamentos. Cada repetição continha 30 sementes.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC), composto por 4 tratamentos [duas condições de temperatura (alternada 20 – 30 °C noturna/diurna e constante - 35 °C) e duas condições de timol (com e sem)]. Para todos os tratamentos as caixas gerbox foram mantidas em escuro constante (ZUCARELI *et al.*, 2015) em câmara de germinação (BOD). Para todos os

tratamentos foram utilizadas 4 repetições de 30 sementes, totalizando 480 sementes.

As avaliações dos parâmetros de germinação foram baseadas por Zucareli *et al.* (2015), realizadas aos 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26 e 28 dias após a semeadura (DAS). A cada avaliação foi feita a contagem da germinação (protrusão radicular), e a partir desses dados foi calculado o índice de velocidade de germinação, de acordo com Maguire (1962):

$$IVG = \frac{N1}{D1} + \frac{N2}{D2} + \dots + \frac{Nn}{Dn}$$

Onde:

IVG = índice de velocidade de germinação;

N = números de plantas verificadas no dia da contagem;

D = números de dias após a semeadura em que foi realizada a contagem.

Com os dados de germinação desde os 2 até os 28 dias após semeadura foi utilizado o programa *GERMINATOR* (JOUSEN *et al.*, 2010), um software para cálculo de parâmetros de germinação e ajuste de curvas para inferir porcentagem máxima de germinação, tempo médio de germinação total, tempo para alcançar 50% de germinação, tempo para alcançar 10% de germinação e integração da área sobre a curva de germinação das sementes.

5.2 Experimento 2: Avaliação dos efeitos do timol na emergência das plantas em bandejas e análises biométricas e bioquímicas

Inicialmente foram comparados dois tempos de imersão (2 ou 24 horas) das sementes em água e na solução com timol (1 mg L⁻¹ de timol – Sigma Aldrich) para efeito de comparação, tempo de 24 horas de imersão recomendado pela empresa Centroflora. Aos 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26 e 28 dias após a semeadura (DAS), foram avaliadas a porcentagem de emergência (realizando-se a contagem de plantas) e a partir desses dados foi calculado o índice de velocidade de emergência (IVE), conforme Edmond & Drapala (1958):

$$IVE = \frac{N1}{D1} + \frac{N2}{D2} + \dots + \frac{Nn}{Dn}$$

Onde:

IVE = índice de velocidade de emergência;

N = números de plantas verificadas no dia da contagem;

D = números de dias após a semeadura em que foi realizada a contagem.

Na sequência, escolhido o melhor tempo de imersão (24 horas), foram estabelecidos os seguintes tratamentos para avaliar o efeito do timol sobre as plantas de maracujá:

- T1: Controle (sementes imersas em água destilada)
- T2: aplicação do timol via imersão das sementes
- T3: aplicação do timol via pulverização das plantas
- T4: aplicação do timol via imersão das sementes + pulverização das plantas.

A semeadura foi realizada em sacos plásticos para mudas preenchidos com terra vegetal (1 kg de substrato), sendo 50% de terra e 50% de material orgânico. Os sacos foram mantidos em casa de vegetação e receberam irrigação diária durante todo o período de germinação (28 dias). As pulverizações com timol foram realizadas aos 14, 21 e 28 dias após o plantio das sementes (DAP). A concentração de timol (1 mg L⁻¹) utilizada tanto na imersão das sementes como na pulverização das plantas foi estabelecida conforme descrito por Lima *et al.* (2019). Aos 55 dias após a semeadura as plantas foram colhidas e avaliou-se os seguintes parâmetros biométricos: comprimento da raiz primária (cm), comprimento da parte aérea (cm), comprimento total (cm), massa seca da raiz (g), massa seca da parte aérea (g), massa seca total e relação raiz/parte aérea. Para todas essas avaliações utilizou-se 10 unidades em cada repetição. As massas secas foram determinadas em balança analítica e após a pesagem as mudas foram acondicionadas em sacos de papel para secagem em estufa de ventilação forçada a 60 °C (BRASIL, 1992) até obtenção de peso constante.

5.2.1 Avaliações bioquímicas

Para avaliar o efeito do timol sobre a eliminação dos radicais livres e o acúmulo de compostos secundários nas plantas, foram determinadas a atividade das enzimas antioxidantes superóxido ascorbato dismutase (SOD), catalase (CAT) e peroxidase (APX), teores de fenóis totais e flavonóides totais nas folhas e a atividade antioxidante do extrato etanólico foliar. Todas as análises bioquímicas foram realizadas em triplicata.

Para a obtenção do extrato enzimático foram pesadas 200 mg de folhas frescas, as quais foram maceradas em almofariz com nitrogênio líquido e polivinilpolipirrolidona (PVPP) com aproximadamente 5 % (p/p) e homogeneizadas em 1,5 mL de meio de extração contendo tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,8), ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) e 0,1mM de ascorbato de sódio 20 mM. Os extratos foram centrifugados a 12000 g por 20 min a 4 °C. O sobrenadante foi coletado e utilizado nos ensaios enzimáticos e para determinação do teor de proteínas (BRADFORD, 1976).

5.2.1.1 Determinação da atividade da superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1)

A atividade da enzima SOD foi determinada conforme descrito por Giannopolitis e Ries (1977) pela capacidade da enzima em inibir a fotoredução do azul de nitrotetrazólio (NBT) a 560 nm em meio de reação de 2 mL contendo extrato vegetal, tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7,8), metionina 14 mM, EDTA 0,1 µM, NBT 75 µM e riboflavina 2 µM. Foi considerada uma unidade de atividade da SOD como a quantidade de enzima presente no extrato que produz uma inibição de 50 % da redução fotoquímica do NBT (expressa em U mg⁻¹ proteína min⁻¹).

5.2.1.2 Determinação da atividade de catalase (CAT, EC 1.11.1.6)

A atividade da enzima catalase foi determinada pela taxa de oxidação do peróxido de hidrogênio (AZEVEDO NETO *et al.*, 2006). A atividade foi monitorada pelo decréscimo na absorbância a 240 nm ($\epsilon_{240\text{nm}} = 39,4 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), durante 2 min em intervalo de leitura de 10 s. Foi utilizado meio de reação de 4 mL (28 °C)

contendo extrato vegetal, tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,0) e peróxido de hidrogênio 12,5 mM. A atividade foi expressa em $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ mg}^{-1} \text{ proteína min}^{-1}$.

5.2.1.3 Determinação da atividade da peroxidase do ascorbato (APX, EC 1.11.1.11)

A atividade da enzima APX foi determinada conforme descrito por Nakano e Asada (1981), usando ascorbato de sódio como substrato. O meio de reação (volume final de 4 mL, 28 °C) foi composto por tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,0), ascorbato de sódio 0,5 mM, peróxido de hidrogênio 0,1 mM e extrato vegetal. A atividade foi monitorada pela taxa de oxidação do ascorbato por 2 min com leitura de absorbância em intervalo de 10 s a 290 nm ($\epsilon_{290\text{nm}} = 2,80 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), e expresso em $\mu\text{mol ácido ascórbico mg}^{-1} \text{ proteína min}^{-1}$.

5.2.1.4 Análise do teor de compostos fenólicos totais e flavonoides totais

As análises de fenóis totais, flavonoides totais e atividade antioxidante foram conduzidos a partir do extrato etanólico foliar. Para a obtenção do extrato etanólico as folhas foram previamente secas em estufa de ventilação forçada a 60°C até massa constante, em seguida a amostra seca foi moída em moinho de lâminas. Posteriormente, foi pesado 1 g de amostra a transferido para um tubo de ensaio contendo 10 mL de etanol 80% e mantido por 5 minutos em banho-maria à 90°C. Esse extrato foi mantido sob refrigeração (4°C) por 24 h. Após a refrigeração o extrato foi centrifugado a 5000 rpm por 10 minutos, por conseguinte o sobrenadante foi filtrado em papel de filtro quantitativo e congelado em tubos do tipo eppendorf até o momento do uso. Esse extrato foi diluído de 1:100, e utilizado para as determinações de compostos fenólicos totais e flavonoides totais e atividade antioxidante.

A concentração de polifenóis totais dos extratos foi analisada de acordo com o método de *Folin-Ciocalteu* (STAGOS *et al.*, 2012). O procedimento foi realizado em tubos de ensaio com capacidade de 3,0 mL. Um volume de 25 μL das soluções testes foi misturado a 125 μL do reagente *Folin-Ciocalteu* e 1250 μL de água destilada. Os tubos homogeneizados ficaram em descanso por 3 min e em seguida foram adicionados 350 μL de solução de carbonato de sódio 25% (m/v) e 750 μL de água destilada. Os tubos de ensaio foram agitados e mantidos no escuro à

temperatura ambiente por 1 hora. Decorrido o tempo, a absorbância foi determinada a 765 nm, utilizando espectrofotômetro. Para a elaboração da curva analítica padrão, foram utilizados o ácido gálico nas concentrações de 25 a 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ diluído em álcool etílico absoluto. As concentrações de polifenóis foram expressas em $\mu\text{g mL}^{-1}$ de equivalentes de ácido gálico.

O doseamento de flavonoides totais foi realizado de acordo com Yao *et al.* (2013). Foi adicionada em tubo de ensaio uma alíquota de 100 μL do extrato junto com 400 μL de álcool 70% e 50 μL de NaNO_2 5%. Após 6 minutos foi acrescentado 50 μL da solução cloreto de alumínio (AlCl_3) 10%, 300 μL de NaOH (1 M) e 100 μL de água destilada. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 510 nm e o branco utilizado foi a mistura de todos os reagentes exceto a amostra. Para a elaboração da curva analítica padrão, foi utilizada rutina diluída em álcool etílico absoluto nas concentrações de 25 a 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$. As concentrações de flavonoides foram expressas em $\mu\text{g mL}^{-1}$ de equivalentes de rutina.

5.2.1.5 Avaliação da atividade antioxidante do extrato etanólico foliar

Para a avaliação da capacidade antioxidante no sequestro do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidraliza (DPPH) foi utilizada a metodologia descrita por Blois (1958) com algumas modificações. Uma mistura reacional contendo 1 mL de tampão acetato (100 mmol L^{-1} pH 5,5), 1,25 mL de etanol absoluto, 250 μL de solução etanólica de DPPH (500 μM) e 50 μL de extrato (100.000 $\mu\text{g mL}^{-1}$) foi agitada em vórtex e permanecerá em repouso por um período de 30 minutos em ambiente escuro. O DPPH apresenta máxima absorbância a 518 nm, que decresce na presença de moléculas doadoras de H^+ , indicado pela mudança da coloração roxa para amarelo. As absorbâncias foram determinadas em espectrofotômetro UV-visível a 518 nm.

A atividade sequestradora do radical DPPH• foi expressa em porcentagem, sendo calculada de acordo com a seguinte equação:

$$\%AA = \left(\frac{A_{\text{controle}} - A_{\text{amostra}}}{A_{\text{controle}}} \right) \times 100$$

Onde, A_{controle} é a absorbância do DPPH e A_{amostra} é a absorbância da amostra após 30 minutos.

5.3 Análise estatística

Os dados dos experimentos 1 e 2 foram avaliados quanto à sua distribuição normal e homogeneidade de variância e em seguida submetidos à análise de variância pelo teste F ($p \leq 0,05$). Quando significativas, as variáveis foram submetidas ao teste de Tukey ($p < 0,05$). A análise estatística dos dados foi feita por meio de rotinas desenvolvidas no software Sisvar versão 5.7 (FERREIRA, 2018).

6 RESULTADOS

6.1 Efeito do timol na germinação em laboratório

Não houve efeito do timol e nem da interação entre os fatores “timol e temperatura” sobre todos os parâmetros de germinação das sementes de maracujá silvestre (Tabela 1). Houve apenas efeito isolado da temperatura.

Tabela 1 - Níveis de significância dos resultados da análise de variância para os parâmetros tempo máximo da germinação (gMax), índice de velocidade de germinação (IVG), área sob a curva de germinação (AUC), tempo para 50% da germinação (T50), tempo para 10% da germinação (T10) e tempo médio de germinação (TMG) em sementes de *Passiflora incarnata* L. em função dos tratamentos com timol e da temperatura.

Fonte de Variação	gMax	IVG	AUC	T50	T10	TMG
Timol	ns	ns	ns	*	*	*
Temperatura	*	*	*	*	**	*
Timol x Temperatura	ns	ns	ns	ns	ns	ns

ns não significativo ($p > 0,05$)
 * significativo a 5% ($p \leq 0,05$)
 ** significativo a 1% ($p \leq 0.01$)

Os resultados obtidos no teste de germinação demonstraram que a melhor temperatura para a germinação do maracujá silvestre foi a de 35°C constante, na qual as sementes apresentaram uma germinação maior e mais rápida (Tabela 2). A variável AUC representa a área abaixo da curva acumulativa de germinação entre os tratamentos, observando-se a ausência de efeito do timol e uma maior área na temperatura de 35°C, o que equivale à maior germinação.

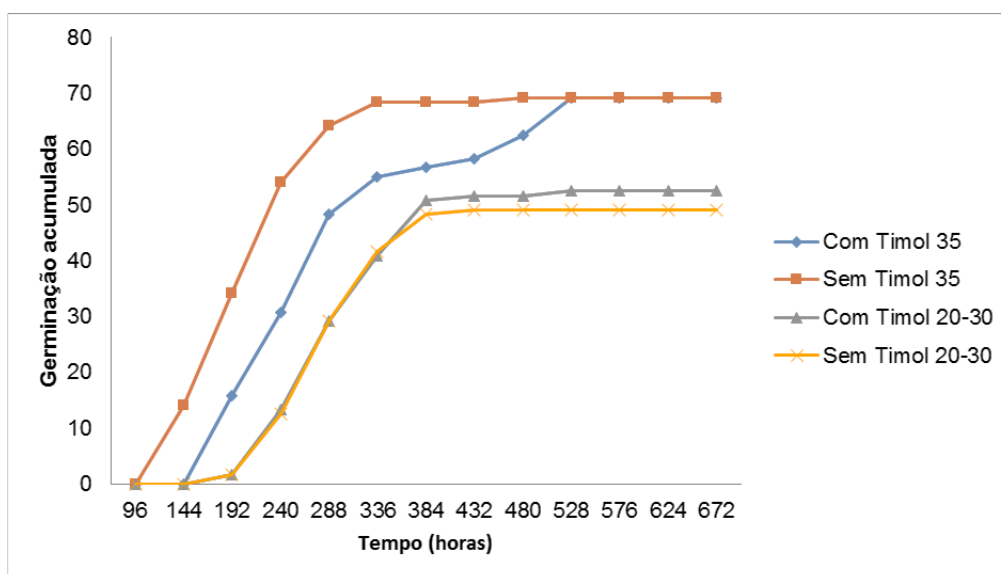
Tabela 2 - Média de porcentagem máxima de germinação (gMax), índice de velocidade de germinação (IVG), e área sobre a curva de germinação em sementes de *Passiflora incarnata* L. em função dos tratamentos com timol e da temperatura.

Tratamentos	gMax	IVG	AUC
Sem timol	59 a	5,0 a	260,0 a
Com timol	61 a	5,8 a	237,8 a
Temp. 20/30°C	51 b	4,0 b	193,8 b
Temp. 35°C	69 a	6,9 a	300,0 a
CV (%)	17,79	19,99	19,75

Médias seguidas de letras minúsculas não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A germinação acumulada não apresentou diferenças em função do tratamento das sementes com o timol, tanto na temperatura constante de 35°C como na temperatura alternada de 20–30 °C. Em relação as temperaturas, a melhor porcentagem de germinação foi observada na condição de 35 °C constante e na ausência do timol (Figura 2).

Figura 2 - Germinação acumulada de sementes de *Passiflora incarnata* L. em função da temperatura e do tratamento com timol.



Fonte: Próprio autor.

As sementes de maracujá tratadas com o timol apresentaram germinação mais lenta, com maiores tempos médios para germinar (T50, T10 e TMG) em relação ao tratamento sem timol (Tabela 3). Quanto à temperatura, verifica-se que a germinação foi mais rápida na condição de 35° C constante, atingindo 10% e 50% de germinação em menor tempo.

Tabela 3 - Média de tempo para 50% de germinação (T50), tempo para 10% de germinação (T10) e tempo médio de germinação (TMG) em sementes de *Passiflora incarnata* L. em função do tratamento com timol e da temperatura.

Tratamentos	T50 (horas)	T10 (horas)	TMG (horas)
Sem timol	233,3 a	174,8 a	240,3 a
Com timol	267,9 b	191,6 b	273,9 b
Temp. 20/30°C	278,3 b	216,0 b	283,9 b
Temp. 35°C	222,9 a	150,3 a	230,3 a
CV (%)	12,02	10,56	10,70

Médias seguidas de letras minúsculas não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

6.2 Efeito do timol na emergência das plantas em casa de vegetação

Tendo em vista que é recomendada a imersão das sementes em água antes do plantio das mudas de *Passiflora incarnata* L., foi realizada inicialmente uma avaliação de dois tempos de imersão (2 ou 24 horas) para efeito de comparação, na ausência ou presença do timol (1 mg L⁻¹). Houve maior emergência e velocidade de emergência das plantas no tempo de imersão de 24 horas, sendo que o timol não exerceu efeito sobre estes parâmetros (Tabela 4). Portanto, adotou-se o tempo de 24 horas de imersão das sementes (o qual é inclusive o recomendado pela empresa Centroflora) para a realização do segundo experimento.

Tabela 4 - Médias de porcentagem de emergência e índice de velocidade de emergência, de sementes de *Passiflora incarnata* L. em função do tempo de imersão das sementes.

Timol	Emergência		IVE (dias)	
	2 horas	24 horas	2 horas	24 horas
Ausente	66 bA	79 aA	0,22 bA	0,29 aA
Presente	69 aA	68 aA	0,24 aA	0,25 aA
CV (%)	20,03		21,31	

Médias seguidas de letras iguais, minúsculas para tempo de imersão e maiúsculas para timol, não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Em relação aos parâmetros biométricos das plantas observou-se que para o comprimento de parte aérea (CPA), a massa seca de raiz (MSR), massa seca total (MST) e relação raiz/parte aérea (R/P) não houve diferença entre os tratamentos (Tabela 5). Em relação ao comprimento de raiz (CR), o tratamento com timol na imersão mais pulverização (I+P) apresentou redução de comprimento de raiz em relação ao controle. Para o parâmetro de massa seca de parte aérea (MSPA), o tratamento com timol na pulverização apresentou maior valor em relação aos demais tratamentos (Tabela 5).

Tabela 5 - Médias de comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), relação raiz e parte aérea (R/P), massa seca de parte aérea (MSPA), massa seca de raiz (MSR) e massa seca total (MST) de plantas de *Passiflora incarnata* L. em função de tratamentos com timol.

Tratamentos	CPA (cm)	CR (cm)	R/P	MSPA (mg)	MSR (mg)	MST (mg)
Controle	9,5a	17,5a	1,8a	138,8b	57,5a	196,4a
Timol I	8,3a	15,7ab	1,9a	158,2ab	45,7a	203,9a
Timol P	8,5a	15,3ab	1,8a	207,7a	42,1a	249,9a
Timol I + P	9,5a	14,4b	1,6a	187,5ab	74,9a	262,4a
CV(%)	8,15	9,65	10,51	19,13	37,21	20,41

Nota: I= imersão; P= pulverização; I+P = imersão e pulverização.

Médias seguidas de letras iguais, não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX) foi menor nas plantas dos tratamentos de timol na pulverização (Timol P) e timol na imersão mais pulverização (Timol I + P) em comparação ao controle (Tabela 6).

Tabela 6 - Médias das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX), de plantas de *Passiflora incarnata* L. em função de tratamentos com timol.

Tratamentos	SOD	CAT	APX
	U mg ⁻¹ proteína min ⁻¹	U mg ⁻¹ proteína min ⁻¹	μmol ácido ascórbico mg ⁻¹ proteína min ⁻¹
Controle	6,90 ^a	38,48a	451,81 ^a
Timol I	5,91ab	34,20a	476,50 ^a
Timol P	4,32bc	16,37b	240,41b
Timol I + P	2,91c	5,98b	160,35b
CV%	23,22	21,63	23,4

Nota: I= imersão; P= pulverização, I+P = imersão e pulverização.
Médias seguidas de letras iguais, não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 7 – Teor de fenóis, flavonoides e atividade antioxidante (AA) em plantas de *Passiflora incarnata* L. em função de tratamentos com timol.

Tratamento	Fenóis (μg mL ⁻¹)	Flavonoides (μg mL ⁻¹)	AA (%)
Controle	1159,00b	361,94ab	62,79a
Timol I	1560,66a	470,27a	72,18a
Timol P	1116,50b	296,66b	57,86a
Timol I + P	1108,16b	381,39ab	55,77a
CV%	13,03	15,05	12,42

Nota: I= imersão; P= pulverização; I+ P = imersão + pulverização.
Médias seguidas de letras iguais, não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Em relação aos teores totais de fenóis e flavonoides nas folhas, o tratamento com timol na imersão (Timol I), foi melhor em comparação ao controle (Tabela 7). Na

atividade antioxidante (AA) do extrato etanólico foliar não houve diferença significativa entre os tratamentos.

7 DISCUSSÃO

7.1 Germinação e crescimento inicial de *Passiflora incarnata* L.

As espécies de *Passiflora* apresentam dormência, havendo a necessidade de se realizar o tratamento das sementes antes da semeadura para possibilitar a sua germinação. Independente do período da semeadura, a germinação pode ser comprometida devido à dormência, mesmo em condições favoráveis (SILVA *et al.*, 2019).

A germinação em condições de laboratório (experimento 1) iniciou no oitavo dia após a implantação do experimento para as sementes submetidas aos tratamentos com e sem timol na concentração de 1mg L^{-1} , em temperaturas de 35 °C constante e na temperatura alternada de 20-30 °C. De acordo com os resultados, não houve efeito do tratamento com timol sobre os parâmetros de germinação (Tabelas 2 e 4). Verificou-se que na temperatura de 35 °C constante a porcentagem e velocidade de germinação foram maiores. O mesmo foi relatado por Zucareli *et al.* (2015), trabalhando com germinação de *Passiflora incarnata* L. testando várias temperaturas, os quais observaram que a temperatura constante de 35 °C e as temperaturas alternadas de 30-20 °C promoveram as maiores taxas de germinação. A temperatura influencia a capacidade e a velocidade de germinação, pois é um fator importante, que age na velocidade de absorção de água e das reações bioquímicas fundamentais a este processo (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000).

O timol é um monoterpreno que apresenta atividade alelopática, com efeito deletério no ciclo celular, com redução na germinação das sementes e no desenvolvimento da planta (PINHEIRO *et al.*, 2015). Compostos aleloquímicos apresentam tanto efeitos inibitórios quanto estimuladores, dependendo das doses dessas moléculas e da espécie receptora (MACEDO *et al.*, 2018, COLPAS *et al.* 2003).

Sob condições de casa de vegetação (experimento 2), a emergência iniciou no 21° dia após a semeadura. O tratamento com timol (imersão das sementes) também não alterou as respostas de porcentagem de emergência e índice de velocidade de emergência (Tabela 4).

De acordo com Macedo *et al.* (2018), quando aplicado o timol em sementes de soja durante o processo inicial de embebição e emissão das radículas, não houve efeitos nocivos nem respostas fitotóxicas. Estes autores concluíram que a aplicação de timol nas doses 0; 0,01; 0,1 e 1 mg L⁻¹ em sementes de soja não prejudicou a germinação, mas a utilização de doses de timol a 10 e 100 mg.L⁻¹ afetou negativamente o fenótipo das mudas.

Não foram encontradas diferenças nos comprimentos de raiz e parte aérea das plantas em função dos tratamentos com timol (Tabela 5), com exceção do tratamento timol I + P que resultou em redução no comprimento radicular. Segundo Macedo *et al.* (2018), a utilização do composto timol em doses elevadas (acima de 1 mg L⁻¹) pode impedir o crescimento das mudas, causando crescimento desuniforme na parte aérea e raiz, conseqüentemente atrasando o desenvolvimento da planta, devido ao acúmulo residual no sistema radicular durante o período de absorção do composto presente no substrato, apresentando também efeitos deletérios na raiz. Isto explica a redução no crescimento radicular das plantas tratadas via imersão e pulverização foliar, as quais portanto foram submetidas a uma maior concentração de timol. Entretanto, a redução no comprimento não foi acompanhada de redução na massa seca das raízes.

Verifica-se que as plantas tratadas com o timol apenas via pulverização foliar (timol P) apresentaram ganho de massa seca de parte aérea (Tabela 5). Neste caso houve alocação de maior quantidade de fotoassimilados para o ganho de massa da parte aérea, indicando uma ação bioestimulante do composto timol.

7.2 Efeitos do timol na ação antioxidante enzimática e não enzimática

A germinação da semente envolve processos sequenciados e sincronizados, onde reações catabólicas e anabólicas são simultâneas, controlados por interações de sinais ambientais e endógenos, ocorrendo alterações dos estados fisiológicos da semente, resultando no desenvolvimento do embrião (MORAES; MODOLO; CASTRO, 2002). Um dos processos de quebra de dormência e promoção da germinação é realizado pela ação das EROs, que sinalizam e desempenham um papel importante no enfraquecimento do endosperma e mobilização de reservas de sementes (GOMES; GARCIA, 2013). Entretanto, durante a embebição das

sementes, a reorganização das membranas e reativação do metabolismo do embrião promovem a síntese de EROs, e nesta etapa o acúmulo destes radicais livres é considerado prejudicial à viabilidade da semente (LIMA; MACEDO; SILVA, 2019).

Todos os tratamentos com timol ocasionaram redução na atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX) (Tabela 6), evidenciando a ação positiva do composto timol sobre o balanço de EROS nas folhas das plantas de *Passiflora incarnata*. Segundo Bhattacharjee (2010), os antioxidantes enzimáticos tem capacidade de acionar mecanismos de defesa do vegetal, podendo impedir o acúmulo de EROs e o estresse oxidativo extremo nas células vegetais. Estes resultados estão em concordância com aqueles obtidos por Lima *et al.* (2019), onde foram avaliados os efeitos de diferentes doses de timol (entre 0 – 100 mg L⁻¹) sobre a germinação de sementes de soja, via tratamentos de imersão. Estes autores observaram que o timol afetou negativamente o crescimento das plantas. Porém, as doses menores (0; 0,01; 0,1 e 1 mg L⁻¹) não afetaram a porcentagem e velocidade de germinação das sementes e promoveram supressão de EROs, revelada pela menor atividade de enzimas antioxidantes nas sementes tratadas.

Segundo Borba *et al.* (2014), sementes com menor atividade de APX, também expressaram maior atividade fisiológica e, portanto, menor produção de EROs, podendo caracterizar menor rompimento do sistema de membranas e menor grau de deterioração das sementes. O mesmo ocorreu no presente estudo com a aplicação de timol nas sementes de *Passiflora incarnata* L., onde houve uma redução da atividade da APX e um melhor desenvolvimento fisiológico nas folhas das plantas (verificada pelo maior valor de MSPA).

Por outro lado, em pesquisa com sementes de repolho, Nobre *et al.* (2021) observou uma maior expressão da atividade de SOD quando houve aplicação exógena de compostos antioxidantes, especialmente para o ácido kójico. Isso sugere que houve um aumento significativo na presença de superóxido ânion (O₂^{•-}) em sementes pré-germinadas submetidas a embebição em compostos antioxidantes.

Nas análises de compostos antioxidantes não enzimáticos presentes nas folhas, observou-se o aumento na produção de compostos fenólicos totais no tratamento timol I (Tabela 7), evidenciando a ação elicitora deste composto sobre o

metabolismo secundário da plantas de *P. Incarnata L.* Compostos orgânicos que atuam como elicitores e/ou bioestimulantes controlam vários processos metabólicos, envolvendo respiração, fotossíntese, síntese de ácidos nucleicos e absorção de íons, contribuindo para o crescimento e desenvolvimento da planta (SAA-SILVA; BROWN; PONCHET, 2013). A ação dos bioestimulantes sobre o metabolismo da planta ocorre também pelo estímulo da síntese de hormônios, conseqüentemente, aumentando sua atividade, interferindo positivamente em processos bioquímicos e mecanismos fisiológicos, como por exemplo a glicólise e assimilação de nitrogênio (EDWARDS; DIXON, 1991; ROCO; CASTAÑEDA; PEREZ, 1993, RADMAN *et al.*, 2003).

Os compostos fenólicos atuam no mecanismo de defesa da planta contra os estresse bióticos (ALSAHLI *et al.*, 2018; GHONEEM *et al.*, 2014) e abióticos (SOARES *et al.*, 2020). Esse pode ser um indicativo da ação do timol como indutor de defesa, já que o composto aumentou o teor de compostos fenólicos totais nas plantas. Esperava-se obter aumento na atividade antioxidante das plantas em resposta ao tratamento com timol I, pois existe forte correlação positiva entre a concentração de fenóis e a atividade antioxidante (GORNI *et al.*, 2020). Entretanto, não houve alteração da atividade antioxidante em resposta aos diferentes tratamentos com timol (Tabela 7).

A elicitação modula a expressão de moléculas do metabolismo primário e, regula o conteúdo dos metabólitos secundários em plantas (RAFIEE *et al.*, 2016). A indução das vias metabólicas em plantas tratadas por bioestimulantes explica porque esses produtos podem ajudar as plantas a superar as condições de estresse (TENA; RENAUDIN, 1998; ZHANG; KLESSIG, 2001). Como exemplo o fertilizante à base de hidrolisado de proteína obtido a partir de plantas hidrolisadas de alfafa (AH) que ao ser aplicado em plantas de milho resultou em atenuação do estresse salino através da estimulação de enzimas que funcionam no metabolismo do nitrogênio, conseqüentemente aumentando a atividade da enzima chave para a síntese de compostos fenólicos em plantas (fenilalanina amônia-liase – PAL).

A aplicação de bioestimulantes de plantas em condições de estresse ambiental pode diminuir os efeitos do estresse e melhorar a capacidade de retenção de água no solo, o crescimento da raiz e a produtividade (RAFIEE *et al.*, 2016). Este efeito é especialmente interessante para a etapa de transplante e pegamento das mudas no campo, desde que o timol quando aplicado em pulverização sobre as

mudas de *Passiflora incarnata* L. afetou de forma positiva seu crescimento (MSPA) e quando aplicado via imersão das sementes resultou em aumento na síntese de compostos fenólicos totais. Tais respostas podem ser interessantes sob condições de estresses abióticos, resultando em maior resiliência das plantas de *P. incarnata*.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O composto químico timol na concentração de 1 mg L^{-1} não influenciou a germinação e a velocidade de germinação das sementes de *Passiflora incarnata L.* A temperatura constante de $35 \text{ }^{\circ}\text{C}$ promoveu as maiores taxas de germinação.

O timol promoveu redução da atividade das enzimas antioxidantes, possivelmente agindo como um agente supressor de espécies reativas de oxigênio (EROs).

O tratamento de sementes com timol via imersão resultou em aumento na concentração de compostos fenólicos nas folhas e a pulverização foliar das plantas com timol aumentou a massa seca de parte aérea, explicitando a ação elicitora e bioestimulante deste composto.

REFERÊNCIAS

- ABOURASHED, E. A.; VANDERPLANK, J. R.; KHAN, I. A. High-speed extraction and HPLC fingerprint of medicinal plants. **Pharmaceutical Biology**, v. 40, p. 81-91, 2002.
- AGARWAL, S.; TRIPATHI, S.; MISHRA, N. Pharmacological potential of thymol. **Innovations in Food Technology**, Singapore, p. 489-500. 2020.
- ALSAHLI, A. *et al.* Extract from *Curcuma longa* L. triggers the sunflower immune system and induces defence-related genes against *Fusarium* root rot. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 57, n. 1, p. 26-36, 2018.
- AKULA, R.; RAVISHANKAR, G. A. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. **Plant signaling & Behavior**, v. 6, n. 11, p. 1720-1731, 2011.
- AMIRI, H. Essential oils composition and antioxidant properties of three *Thymus* species. Evidence-based **Complementary and Alternative Medicine**, p.1–8, 2012.
- AZEVEDO NETO, A. D. *et al.* Effect of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt-tolerant and salt-sensitive maize genotypes. **Environmental and Experimental Botany**, v. 56, p.87-94, 2006.
- AYDIN, C.; SEYIDOGLU, N. **Natural antioxidants to the rescue IntechOpen**. 2021. Disponível em: <https://www.intechopen.com/online-first/75228>. Acesso em: 15 mai. 2021.
- BARBA-ESPÍN, G. *et al.* Understanding the role of H₂O₂ during pea seed germination: a combined proteomic and hormone profiling approach. **Plant, Cell and Environ**, v. 34, p. 1907–1919, 2011.
- BARBOSA, M. R. *et al.* Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 3, p. 453-460, mar, 2014.
- BAILLY, C.; EL-MAAROUF-BOUTEAU, H.; CORBINEAU, F. From intracellular signaling networks to cell death: the dual role of reactive oxygen species in seed physiology. **Comptes Rendus Biologies**, v. 331, p. 806–814. 2008.
- BECKER, T. B. *et al.* Embebição de sementes no crescimento de mudas de novas cultivares de maracujazeiro no Rio Grande do Sul. **Revista da Jornada de Pós-Graduação e Pesquisa-Congrega Urcamp**, 2017.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds**: physiology of development and germination. 2nd ed. Plenum Press, 1994. p. 467.

BORBA, I. C. G. *et al.* Metabolismo antioxidativo para separação de lotes de sementes de diferentes graus de homogeneidade. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 12, n.1, p. 20-26, 2014.

BOWLER, C.; MONTAGU, M. V.; INZE, D. Superoxide dismutase and stress tolerance. **Annual Review of Plant Biology**, v. 43, n. 1, p. 83-116, 1992.

BHATTACHARJEE, S. Sites of generation and physicochemical basis of formation of reactive oxygen species in plant cell. *In*: GUPTA, S.D. **Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants**. Enfield: Science Publishers, 2010. p. 1-30.

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

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF: DNDV/SNAD/CLAV, 1992. p. 365.

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

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

BREUSEGEM, F. V. *et al.* The role of active oxygen species in plant signal transduction. **Plant Science**, v. 161, p. 405-414, 2001.

BRUCKNER, C. H.; PICANÇO, M. C. **Maracujá: tecnologia de produção, pós-colheita, agroindústria, mercado**. São Paulo: Cinco Continentes, 2001. p. 472.

CAMPOS, M. G. **Efeito da adubação orgânica na produção de fitomassa e nos compostos bioativos de *Passiflora incarnata* L.** Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2015. p. 78.

CARMONA, M. *et al.* Influencia del Timol en la puesta de cría de la abeja melífera. **Vida Apícola**, v. 299, p. 162, 2002.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4 ed. Jaboticabal: Funep, 2000.

COLPAS, F.T. *et al.* Effects of some phenolic compounds on soybean seed germination and on seed-borne fungi. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 46, p. 155-161, 2003.

DAȔBROWSKA, G. *et al.* Characteristics of the plant ascorbate peroxidase family. **Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica**, v. 49, n. 1, p. 7-17, 2007.

DAEMON, E. *et al.* Evaluation of the acaricide activity of thymol on engorged and unengorged larvae of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1808) (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, v. 105, p. 495-497, 2009.

DAFERERA, D. J.; ZIOGAS, B. N.; POLISSIOU, M. G. The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. **Crop Protection**, v. 22, n. 1, p. 39-44, 2003.

DANTAS, S. C.; LIMA, A.; GAÍVA, H. N. **Cultivo do maracujazeiro**. Brasília: LK Editora e Comunicação, 2006. Cap. 1, p. 9-97.

DELANOY, M. *et al.* Germination of *Passiflora mollissima* (Kunth) LH Bailey, *Passiflora tricuspidis* Mast. and *Passiflora nov* sp. seeds. **Scientia Horticulturae**, v. 110, n. 2, p. 198-203, 2006.

DHAWAN, K.; DHAWAN, S.; SHARMA, A. *Passiflora*: a review update. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 94, n. 1, p. 1-23, 2004.

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.

DOYAMA, J. T. *et al.* Chemical investigation and effects of the tea of *Passiflora alata* on biochemical parameters in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 96, p. 371-374, 2005.

DUBEY, R.S. Metal toxicity, oxidative stress and antioxidative defense system in plants. *In*: GUPTA, S.D. **Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants**. Enfield: Science Publishers, 2011. Chap. 9, p. 178-203.

EDMOND, J. B.; DRAPALA, W. J. The effects of temperature, sand and soil, and acetone on germination of okra seed. *In*: **Proceedings of the American Society for horticultural Science**. 1958. p. 428-434.

EDWARDS, R.; DIXON, R.A. **Phytochemistry**, v.30, p. 79-84. 1991.

EL-MAAROUF-BOUTEAU, H.; BAILLY, C. Oxidative signaling in seed germination and dormancy. **Plant Signaling & Behavior**, v. 3, n. 3, p.175–182, 2008.

ESCOBAR, A. *et al.* Thymol bioactivity: a review focusing on practical applications. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 13, p. 9243-9269, 2020.

FAURE, A. M. Ascorbic acid induced degradation of beta-glucan: Hydroxyl radicals as intermediates studied by spin trapping and electron spin resonance spectroscopy. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, p. 2160-2168, 2012.

FERREIRA, D. F. **Sisvar versão 5.7**. Lavras: DEX/Ufla. 2018.

GADJEV, I.; STONE, J. M.; GECHEV, T. S. Programmed cell death in plants: new insights into redox regulation and the role of hydrogen peroxide. **International Review of Cell and Molecular Biology**, v. 270, p. 87-144, 2008.

GARA, L. Class III peroxidases and ascorbate metabolism in plants. **Phytochemistry Reviews**, v. 3, n. 1-2, p. 195-205, 2004.

GHONEEM, K. M. *et al.* Seed-borne fungi of sunflower in Egypt with reference to pathogenic effects and their transmission. **Plant Pathology Journal (Faisalabad)**, v. 13, n. 4, p. 278-284, 2014.

GIANNOPOLITIS, C.N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases. I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, v. 59, p. 309-314, 1977.

GILL S.S.; TUTEJA N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, p. 909–930, 2010.

GILL, T. A. *et al.* Thymol-based submicron emulsions exhibit antifungal activity against *Fusarium graminearum* and inhibit fusarium head blight in wheat. **Journal of Applied Microbiology**, v. 121, n. 4, p. 1103-1116, 2016.

GOMES, M. P.; GARCIA, Q. S. Reactive oxygen species and seed germination. **Biologia**, v. 68, p. 351–357, 2013.

GOSMANN, G. *et al.* Composição química e aspectos farmacológicos de espécie de *Passiflora L.* (*Passifloraceae*). **Revista Brasileira de Biociências**, v. 9, s. 1, p. 88-99, 2011.

GORNI, P. H. *et al.* Elicitation improves the leaf area, enzymatic activities, antioxidant activity and content of secondary metabolites in *Achillea millefolium L.* grown in the field. **Journal of Plant Growth Regulation**, p. 1-15, 2020.

GRANT J. J.; LOAKE G. J. Role of reactive oxygen intermediates and cognate redox signaling in disease resistance. **Plant Physiology**, v. 124, p. 21–29, 2000.

HELDT, H.W.; HELDT, F. Phenylpropanoids comprise a multitude of plant secondary metabolites and cell wall components. *In*: HELDT, H.W. **Plant Biochemistry**. San Diego: Academic, 2005. p. 435-454.

HOFERL, M. *et al.* Correlation of antimicrobial activities of various essential oils and their main aromatic volatile constituents. **Journal of Essential Oil Research**, v. 21, p. 459–463, 2009.

INZÉ, D.; MONTAGU, M.V. Oxidative stress in plants. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 6, 2 ed., p. 153-158, 1995.

JI, P. *et al.* Evaluation of thymol as biofumigant for control of bacterial wilt of tomato under Field conditions. **Plant Disease**, v. 89, n. 5, p. 497-500, 2005.

JOOSEN, R. V. *et al.* Germinator: a software package for high-throughput scoring and curve fitting of Arabidopsis seed germination. **The Plant Journal**, v. 62, n. 1, p. 148-159, 2010.

KARNAN, R.; SUBRAMANI, K. Antioxidant properties of certain South Indian medicinal plants. **Journal of Medicinal Plants**, v. 3, n. 2, p. 58-60, 2015.

KARUPPANAPANDIAN, T. *et al.* Reactive oxygen species in plants: their generation, signal transduction, and scavenging mechanisms. **Australian Journal of Crop Science**, v. 5, n. 6, p. 709-725, 2011.

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**. Enfield: Science Publishers, 2010. p. 129-150.

KLECZEWSKI, N. M.; HERMS, D. A.; BONELLO, P. Effects of soil type, fertilization and drought on carbon allocation to root growth and partitioning between secondary metabolism and ectomycorrhizae of *Betula papyrifera*. **Tree Physiology**, v. 30, n. 7, p. 807-817, 2010.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RiMa, 2000.

LEYMARIE, J. *et al.* Role of reactive oxygen species in the regulation of Arabidopsis seed dormancy. **Plant Cell Physiology**, v. 53, p. 96–106, 2012.

LIMA, G. P. P. *et al.* Efeito do BAP e ANA e atividade da peroxidase em mandioca (*Manihot esculenta* Crantz CV'MCOL 22') cultivada in vitro. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 8, n. 2, p. 107-110, 2002.

LIMA, R. C.; CARDOSO, M. G. Família Lamiaceae: importantes óleos essenciais com ação biológica e antioxidante. **Revista Fitos**, n. 3, p. 14-24, 2007.

LIMA, E. L. F.; MACEDO, W. R.; SILVA, G. H. Effect of thymol on soybean seeds germination: physiological and biochemical analysis. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 62, p. e19180251, 2019.

LOCATO, V. *et al.* **Reactive oxygen species and ascorbate-glutathione interplay in signaling and stress responses**. Enfield: Science Publishers, 2010. p. 45-64.

LORENZI, H. E.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. p. 512.

MAEDA, H.; DELLAPENNA, D. Tocopherol functions in photosynthetic organisms. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 10, 3. ed., p. 260-265, 2007.

MACEDO, W. R. *et al.* Physiologic and metabolic effects of exogenous kojic acid and tyrosol, chemicals produced by endophytic fungus, on wheat seeds germination. **Natural Product Research**, v. 32, n. 22, p. 2692-2696, 2018.

MAGUIRE, J. D. Speed germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v. 2, p. 176-177, 1962.

MAcDOUGAL, J. M. Revision of *Passiflora* subgenus *Decaloba* section *Pseudodysosmia* (Passifloraceae). **Systematic Botany Monographs**, v. 41, p. 1-146, 1994.

MARKOVIC, D. *et al.* Impregnation of corona modified polypropylene non-woven material with thymol in supercritical carbon dioxide for antimicrobial application. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 101, p. 215–221, 2015.

McGUIRE, C. M. Field performance and phenotypic variation of *Passiflora incarnata* L. in New York State. **HortScience**, v. 33, 2. ed., p. 240-241, 1998.

MILLER, G.; SHULAEV, V.; MITTLER, R. Reactive oxygen signaling and abiotic stress. **Physiologia Plantarum**, v. 133, 3. ed., p. 481–489, 2008.

MITTLER. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, v. 7, p. 405–410, 2002.

MILOVANOVIC, S. *et al.* Effect of starch xero-and aerogels preparation on the supercritical CO₂ impregnation of thymol. **Starch Biosyntheses Nutrition Biomedical**, v. 64, p. 174-182, 2015.

MONGIANO, G. *et al.* Application of plant-derived bioactive compounds as seed treatments to manage the rice pathogen *Fusarium fujikuroi*. **Crop Protection**, p. 105739, 2021.

MORAES, C. R. A.; MODOLO, V. A.; CASTRO, P. R. C. Fisiologia da germinação e dominância apical. *In*: CASTRO, P.R.C.; SENA, J.O.A.; KLUGE, R.A. (eds.) **Introdução à fisiologia do desenvolvimento vegetal**. Maringá: UEM, 2002. p. 159-178.

MORAES, M. L. L. **Extração e análise de flavonóides em espécies brasileiras de *Passiflora* L.** 1995. 94f. Tese (Mestrado em Ciências) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 1995.

MONTEIRO, C. M. D. O. *et al.* Acaricidal efficacy of thymol on engorged nymphs and females of *Rhipiciphalus sanguineus* (Latreille, 1808) (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, v. 105, p. 1093-1097, 2009.

MORCIA, C.; MALNATI, M.; TERZI, V. In vitro antifungal activity of terpinen-4-ol, eugenol, carvone, 1, 8-cineole (eucalyptol) and thymol against mycotoxigenic plant pathogens. **Food Additives & Contaminants: Part A**, v. 29, n. 3, p. 415-422, 2012.

MÜLLER, S. D. *et al.* LC and UV determination of flavonoids from *Passiflora alata* medicinal extracts and leaves. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 37, 2 ed., p. 399-403, 2005.

MYLONA, P.V.; POLIDOROS, A. N. ROS regulation of antioxidant genes. *In*: GUPTA, S.D. **Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants**. Enfield: Science Publishers, 2011. Cap. 6, p.101-128.

NAKANO Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant & Cell Physiology**, n. 22, 5 ed., p. 867-880, 1981.

NAGOOR MEERAN, M. F. *et al.* Pharmacological properties and molecular mechanisms of thymol: Prospects for its therapeutic potential and pharmaceutical development. **Frontiers in Pharmacology**, v. 8, p. 380, 2017.

NEGREIROS, J. R. S. *et al.* Influência do estágio de maturação e do armazenamento pós-colheita na germinação e desenvolvimento inicial do maracujazeiro-amarelo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 1, p. 21-24, 2006.

NGUEFACK, J. *et al.* Fungicidal potential of essential oils and fractions from *Cymbopogon citratus*, *Ocimum gratissimum* and *Thymus vulgaris* to control *Alternaria padwickii* and *Bipolaris oryzae*, two seed-borne fungi of rice (*Oryza sativa* L.). **Journal of Essential Oil Research**, v. 19, n. 6, p. 581-587, 2007.

NICKAVAR, B.; MOJAB, F.; DOLAT-ABADI, R. Analysis of the essential oils of two *Thymus* species from Iran. **Food Chemistry**, v. 90, p. 609–611, 2005.

NOBRE, D. A. C. *et al.* Exogenous antioxidants on quality of cabbage seeds. **Rodriguésia**, v. 72, 2021.

NOCTOR, G.; PAEPE, R.; FOYER, C. H. Mitochondrial redox biology and homeostasis in plants. **Trends in Plant Science**, v. 12, p. 125–134, 2007.

NORDBERG, J.; ARNER, E.S.J. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 31, p. 1287-1312, 2001.

NOVELINO, A. M. S.; DAEMON, E.; SOARES, G. L. G. Avaliação da atividade repelente do timol, mentol, salicilato de metila e ácido salicílico sobre larvas de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, p. 700-704, 2007.

OSIPI, E. A. F.; NAKAGAWA, J. Efeito da temperatura na avaliação da qualidade fisiológica de sementes do maracujá-doce (*Passiflora alata Dryander*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 27, n. 1, p. 179-181, abr. 2005.

ORACZ, K. *et al.* ROS production and protein oxidation as novel mechanism of seed dormancy alleviation. **The Plant Journal**, v. 50, p. 452–465, 2007.

ORACZ, K. *et al.* The mechanisms involved in seed dormancy alleviation by hydrogen cyanide unravel the role of reactive oxygen species as key factors of cellular signaling during germination. **Plant Physiology**, v. 150, p. 494-505, 2009.

- PÁDUA, J. G. *et al.* Germinação de sementes de *Passiflora setacea* e dormência induzida pelo armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 33, n. 1, p. 080-085, 2011.
- PANTANO, C. S. Propagação. *In*: LEONEL, S.; SAMPAIO, A. C.; **Maracujá doce: aspectos técnicos e econômicos**. São Paulo: UNESP, 2007.
- PEREIRA, C. A. M. A HPTLC densitometric determination of flavonoids from *Passiflora alata*, *P. edulis*, *P. incarnate* and *P. caerulea* and comparison with HPLC method. **Phytochemical Analysis**, n. 15, p. 241-248, 2004.
- PERGO, E. M.; ISHII-IWAMOTO, E. L. Changes in energy metabolism and antioxidant defense systems during seed germination of the weed species *Ipomoea triloba* L. and the responses to allelochemicals. **Journal of Chemical Ecology**, v. 37, p. 500–513, 2011.
- PILATI, F. *et al.* Designing of antibacterial plastics: thymol release from photocured thymol-doped acrylic resins. **The Journal of Materials Science**, v. 48, 4378-4386, 2013.
- PINHEIRO, P. F. *et al.* Phytotoxicity and cytotoxicity of essential oil from leaves of *Plectranthus amboinicus*, Carvacrol, and Thymol in plant bioassays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2015.
- PIZA, I. M. T. *et al.* Atividade de peroxidase e níveis de proteínas em plantas de abacaxizeiro micropropagadas em meio salino. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 9, n. 4, p. 361-366, 2003.
- RADMAN, R. *et al.* Elicitation of plants and microbial cell systems. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, v. 37, p. 91-102, 2003.
- RAFIEE; H. *et al.* Application of plant biostimulants as new approach to improve the biological responses of medicinal plants- a critical review. **Journal of Medicinal Plants**, v. 15, n. 59, 2016.
- RASHEED, A. *et al.* Reactive oxygen species production and scavenging during seed germination of halophytes. *In*: **Ecophysiology, abiotic stress responses and utilization of halophytes**. Singapore: Springer, 2019. p. 63-81.
- REGINATTO, F. H. *et al.* Steroidal and triterpenoidal glucosides from *Passiflora alata*. **Brazilian Journal of Chemical Society**, v. 12, n. 1, p. 32-36, 2001.
- RHOADS, D. M. *et al.* Mitochondrial reactive oxygen species. Contribution to oxidative stress and interorganellar signaling. **Plant Physiology**, v. 141, p. 357–366, 2006.
- ROCO, A.; CASTAÑEDA, P.; PEREZ, L.M. Oligosaccharides released by pectinase treatment of *Citrus limon* seedlings are elicitors of the plant response. **Phytochemistry**, v.33, p.1301-1306, 1993.

SAA-SILVA S.; BROWN P.H.; PONCHET M. (eds). **First world congress on the use of biostimulants in agriculture**. Leuven: International Society of Horticultural Science, 2013.

SÃO JOSÉ, A. R. *et al.* Formação de mudas de maracujazeiros. **Maracujá, produção e mercado**. Vitória da Conquista: DFZ/UESB, 1994. p. 41-48.

SCANDALIOS, J.G. Oxygen stress and superoxide dismutase. **Plant Physiology**, v. 101, p. 7-12, 1993.

SHAHIDI, S. *et al.* Effect of thymol on the antibacterial efficiency of plasma-treated cotton fabric. **Cellulose**, v. 21, 3. ed., p. 1933-1943, 2014.

SHARIFI-RAD, J. *et al.* Plants of the Melaleuca genus as antimicrobial agents: From farm to pharmacy. **Phytotherapy Research**, v. 31, 10 ed., p. 1475–1494, 2017.

SHARMA, P. *et al.* Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **Journal of Botany**, v. 2012, p. 1-26, 2012.

SHETTY, N. P. *et al.* Roles of reactive oxygen species in interactions between plants and pathogens. **European Journal Plant Pathology**, v. 121, p. 267–280, 2008.

SILVA, A. L. *et al.* Superação da dormência de sementes de *Passiflora elegans* Mast., Passifloraceae. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 14, n. 3, p. 406-411, 2019.

SILVA, C. G. da *et al.* Evaluation of antioxidant activity of Brazilian plants. **Pharmacological research**, v. 52, n. 3, p. 229-233, 2005.

SOARES, C. *et al.* Plants facing oxidative challenges- a little help from the antioxidant networks. **Environmental and Experimental Botany**, v. 161, p. 4–25, 2020.

SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 4. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2006. p. 710.

STAGOS, D. *et al.* Correlation of total polyphenolic content with antioxidant and antibacterial activity of 24 extracts from Greek domestic Lamiaceae species. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, n. 11, p. 4115-4124, 2012.

STEVIC, T. *et al.* Antifungal activity of selected essential oils against fungi isolated from medicinal plant. **Industrial Crops and Products**, v. 55, p. 116-122, 2014.

TAIZ, L. *et al.* **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Arnet, 2017. 858 p.

TENA, G.; RENAUDIN, J.P. Cytosolic acidification but not auxin at physiological concentration is an activator of MAP kinases in tobacco cells. **Plant Journal**, v. 16, p. 173-182, 1998.

TONIN, F. B. **Propagação de *Passiflora incarnata* L. com uso de estacas radiculares**. 201. 87f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade do Estado de São Paulo, Botucatu, 2010.

TREVISAN, M. T. S. *et al.* Composition of essential oils and ethanol extracts of the leaves of *Lippia* species: identification, quantitation and antioxidant capacity. **Records of Natural Products**, v. 10, n. 4, p. 485–496, 2016.

VEIGA-BARBOSA, L. *et al.* Seed germination, desiccation tolerance and cryopreservation of *Passiflora* species. **Seed Science and Technology**, v. 41, n. 1, p. 89-97, 2013.

YAO, X. *et al.* *In vivo* and *in vitro* antioxidant activity and α -glucosidase, α -amylase inhibitory effects of flavonoids from *Cichorium glandulosum* seeds. **Food Chemistry**, v. 139, n. 1-4, p. 59-66, 2013.

ZEHIROGLU, C.; SARIKAYA, S. B. O. A importância dos antioxidantes e seu lugar nos estudos científicos e tecnológicos atuais. **Journal of Food Science and Technology**, v. 56, n. 11, p. 4757-4774, 2019.

ZHANG, S.; KLESSIG, D.F. MAPK cascades in plant defense signaling. **Trends Plant Science**, v. 6, p. 520-527, 2001.

ZHANG, Y. *et al.* Fabrication: characterization and antimicrobial activities of thymol loaded zein nanoparticles stabilized by sodium caseinate–chitosan hydrochloride Double layers. **Food Chemistry**, v. 142, p. 269–275, 2014.

ZUCARELI, V. *et al.* Fotoperíodo, temperatura e reguladores vegetais na germinação de sementes de *Passiflora cincinnata* Mast. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n. 3, p. 106-114, 2009.

ZUCARELI, V.; HENRIQUE, L. A. V.; ONO, E. O. Influence of light and temperature on the germination of *Passiflora incarnata* L. seeds. **Journal of Seed Science**, v. 3, n. 2, p. 162-167, 2015.

WIDODO, H. *et al.* Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid contents of selected medicinal plants used for liver diseases and its classification with chemometrics. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 9, n. 06, p. 099-105, 2019.

WILLETT, W. C. Diet and health: what should we eat? **Science**, v. 264, n. 5158, p. 532-537, 1994.

WOHLMUTH, H. *et al.* Pharmacognosy and chemotypes os passionflower (*Passiflora incarnata* L.). **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 33, p. 1015-1018, 2010.