

MARÍLIA TIBERI CALDAS

**QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES E BROTO DE
FEIJÃO-MUNGO-VERDE**

Tese apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Fitotecnia, para obtenção do título de
Magister Scientiae.

Viçosa
MINAS GERAIS – BRASIL
2004

MARÍLIA TIBERI CALDAS

**QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES E BROTONS DE
FEIJÃO-MUNGO-VERDE**

Tese apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Fitotecnia, para obtenção do título de
Magister Scientiae.

APROVADA: 11 de março de 2004.



Prof^a. Denise Cunha F.S. Dias
(Conselheira)



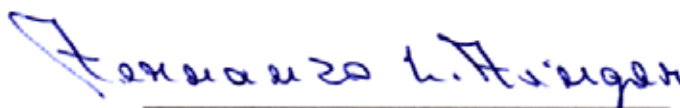
Prof. Paulo Roberto Cecon
(Conselheiro)



Pesq. Cleide Maria Ferreira Pinto



Pesq. Rogério Faria Vieira



Prof. Fernando Luiz Finger
(Orientador)

O SONHO

A vida é inexplicável,
Uma roda, um carrossel.
Um homem, sonhador,
Frágil, pesquisador.

Sonha, vive sonhando,
É iludido, mas sonha,
É reprimido, mas sonha,
Vive e sonha.

Mas para que serve a vida?
Para sonhar,
Para lutar.

Sonhe, lute.
Lute pelo seu sonho.
Pois a vida é um sonho.
MTC/1992.

*Aos meus pais,
Aos meus irmãos e afilhado
Dedico...*

AGRADECIMENTOS

A Deus.

À Universidade Federal de Viçosa (UFV), em especial ao Departamento de Fitotecnia, pela oportunidade de desenvolvimento do presente trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro.

Ao professor Fernando Luiz Finger pela valiosa orientação, pelos ensinamentos e atenção dedicados a mim, permitindo desempenho deste trabalho.

Aos meus pais, Kenio e Neide, meus irmãos, Kênia, Kelen e Maurílio, e ao Rafael, meu afilhado, pelo carinho, compreensão e incentivo à realização de mais uma etapa de minha vida.

Aos professores Paulo Roberto Cecon e Denise C.F.S. Dias pela co-orientação, por todas as sugestões.

À Cleide Maria Ferreira Pinto e ao Rogério Faria Vieira pela estimável ajuda, pelas sugestões e incentivo pela pesquisa.

À família Sano Manabe, à Elizabete Abaurre e ao Sérgio Lannes pela sincera amizade e apoio em todos os momentos, de vitórias e dificuldades, destes dois anos do curso de mestrado.

Aos meus amigos do Programa Milho[®], especialmente ao meu amigo Robert, pelo apoio e compreensão de mais um trabalho realizado.

Aos professores do Departamento de Fitotecnia, especialmente, Glauco Vieira Miranda pelos ensinamentos.

Aos laboratoristas da Fitotecnia pelo auxílio em minha pesquisa.

A todos aqueles que de alguma forma colaboraram para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

MARÍLIA TIBERI CALDAS, filha de Kenio Martins Caldas e Neide Oliveira Tiberi Caldas, nasceu dia 19 de junho de 1974, em Uberaba-MG.

Em março de 2001, graduou-se em Agronomia na Universidade Federal de Viçosa (UFV).

Em março de 2002, iniciou o Curso de Mestrado em Fitotecnia na Universidade Federal de Viçosa, defendendo tese em março de 2004.

CONTEÚDO

RESUMO	VII
ABSTRACT	IX
1. INTRODUÇÃO	1
2. AVALIAÇÃO DO VIGOR DE SEMENTES DE FEIJÃO-MUNGO	5
2.1. RESUMO	5
2.2. INTRODUÇÃO	5
2.3. MATERIAL E MÉTODOS	7
2.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	9
2.5. CONCLUSÕES	12
3. ATIVIDADE ENZIMÁTICA DE FEIJÃO-MUNGO-VERDE	12
3.1. RESUMO	12
3.2. INTRODUÇÃO	13
3.3. MATERIAL E MÉTODOS	15
3.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
3.5. CONCLUSÕES	29
4. EFEITO DE ETILENO E ÁCIDO GIBERÉLICO NA QUALIDADE DE BROTOS DE FEIJÃO-MUNGO-VERDE	30
4.1. RESUMO	30
4.2. INTRODUÇÃO	31
4.3. MATERIAL E MÉTODOS	33
4.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
4.5. CONCLUSÕES	44
5. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE ÁGUA EM SEMENTES E BROTOS DE LINHAGENS DE FEIJÃO-MUNGO-VERDE	45
5.1. RESUMO	45
5.2. INTRODUÇÃO	46
5.3. MATERIAL E MÉTODOS	48
5.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
5.5. CONCLUSÕES	50
6. CONCLUSÕES GERAIS	51
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53

RESUMO

CALDAS, Marília Tiberi, M.S., Universidade Federal de Viçosa, março de 2004. **Qualidade fisiológica de sementes e brotos de feijão-mungo-verde**. Orientador: Fernando Luiz Finger. Conselheiros: Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias e Paulo Roberto Cecon.

Os objetivos do presente trabalho foram avaliar a qualidade fisiológica das sementes de feijão-mungo-verde; a influência do etileno e do ácido giberélico (AG_3) no crescimento dos brotos; a relação entre a atividade da enzima peroxidase e o escurecimento dos brotos; e determinar o teor de água das sementes e dos brotos. Para analisar a qualidade fisiológica das sementes foram utilizados os testes de germinação, envelhecimento acelerado (42 °C/48 h e 42 °C/72 h), germinação a baixa temperatura (18 °C) e condutividade elétrica. A determinação da atividade da peroxidase foi realizada em raiz, hipocótilo e folha verdadeira dos brotos, em diferentes pHs (3, 4, 5, 6, 7, 8 e 9), provenientes de sementes germinadas a 25 °C e a 30 °C, em dois estádios de desenvolvimento (brotos com três e seis dias), enquanto a inativação da enzima, realizada por tratamento térmico (90 °C), em diferentes períodos (0; 2,5; 5 e 10 min). O etileno (Ethrel) e o ácido giberélico (AG_3) foram aplicados isoladamente ou em conjunto, em diferentes estádios da germinação das sementes. O teor de água destas e dos brotos foi determinado em estufa a 70 °C até peso constante. As linhagens testadas foram Ouro Verde MG 2, VC 1973A, VC 5734A, V 3476, VC 4039A, VC 6148B16, VC 3890B e VC 3902A do banco de germoplasma do EPAMIG/CTZM, mas, para avaliação enzimática e aplicação dos hormônios de crescimento, utilizou-se apenas a cultivar Ouro Verde MG 2. Os testes de envelhecimento acelerado e de condutividade elétrica não foram eficientes na avaliação do vigor das sementes, sendo o mais adequado o teste de germinação à baixa temperatura. A atividade da

peroxidase foi expressa por uma curva de formato semelhante nas diferentes partes amostradas do broto, sendo mais baixa nos extremos de pHs 3 ou 9 e mais elevada entre os pHs 4 e 6. Os picos máximos de atividade da enzima foram observados nos pHs 4 e 5 em raiz e 5 e 6 em folha e hipocótilo. Esse formato indica que existem diferentes isoenzimas ou proporções destas agindo nas diferentes partes do broto. A atividade máxima entre os pHs 4 e 6 evidencia tratar-se de uma enzima com atuação preferencialmente extracelular. A atividade específica enzimática foi maior na raiz, seguida das folhas e do hipocótilo. Com relação à atividade da raiz, houve diferença entre os tratamentos, em que a atividade dos brotos com seis dias foi maior que a de três, assim como nos germinados a 30 °C em relação a 25 °C. Os resultados indicaram que brotos cultivados a 25 °C e colhidos com três dias podem atenuar os efeitos indesejáveis da presença da peroxidase, como o escurecimento dos tecidos, e, assim, a vida útil do broto na pós-colheita. O tratamento térmico reduziu a atividade da peroxidase gradativamente com o aumento do tempo de inativação a 90 °C. A atividade peroxidativa dos brotos foi eliminada com o tratamento térmico a 90 °C/10 min. A aplicação de Ethrel a 20 ppm às 8 e 10 horas após o início da embebição resultou em melhor qualidade dos brotos, ou seja, maior espessura e comprimento do hipocótilo. A aplicação conjunta de Ethrel (20 ppm) e GA₃ (500 ppm), nos mesmos períodos descritos anteriormente e produzidos a 25 °C $\pm$ 2 °C, melhorou a espessura e comprimento do hipocótilo e produziu os brotos de cor mais clara. A qualidade do produto foi depreciada quando as sementes foram germinadas em temperatura constante de 30 °C, resultando em brotos muito tenros e com coloração mais escura em comparação com aqueles produzidos a 25 °C. Não houve diferença significativa entre as linhagens quanto ao teor de água dos brotos. O menor valor absoluto de 92,72% no teor de água das sementes foi observado na linhagem VC 3902A. O teor de água das sementes não influenciou o conteúdo de água dos brotos colhidos com cinco dias após a germinação.

ABSTRACT

CALDAS, Marília Tiberi, M.S., Universidade Federal de Viçosa, March, 2004.
Physiological quality in seeds and sprouts of mung bean. Adviser:
Fernando Luiz Finger. Committee Members: Denise Cunha Fernandes
dos Santos Dias e Paulo Roberto Cecon.

The goals of the present work were to evaluate the physiological quality in seeds of mung bean, the influence of ethylene and gibberellic acid (GA_3) on sprouts growth, relationship between peroxidase activity and browning and to determined the water content of seeds and sprouts. To evaluate the physiological of seeds it was used the germination test, accelerated ageing (42 °C/48 h and 42 °C/72 h), germination at low temperature (18°C) and electric conductance. The activity of peroxidase was determined in the root, hypocotyl and true leaf of the sprouts at different pHs (3, 4, 5, 6, 7, 8 and 9) from seeds germinated at 25 °C and at 30 °C, grown for 3 and 6 days, and inactivation of the enzyme by thermal treatment (90 °C) for different periods (0, 2.5, 5 and 10 min). The ethylene (Ethrel) and GA_3 were applied alone or mixed at different stages of seed germination. The content of water in the seeds and sprouts were determined after drying at 70 °C until constant weight. It was tested the accesses Ouro Verde MG 2, VC 1973A, VC 5734A, V 3476, VC 4039A, VC 6148B16, VC 3890B and VC 3902A belonging to the germoplasm bank from EPAMIG/CTZM, but the peroxidase analysis was done in the cultivar Ouro Verde MG 2. The accelerated ageing and electric conductance were not efficient in evaluating the seeds vigor, but the germination at low temperature was able to evaluate it. The peroxidase activity was represented by similar curves in all tissues analyzed. The activity was lower at pHs 3 and 9, and higher at pHs 4 and 6. The highest activities were present at pHs 4 and 5 for roots, and pHs 5 and 6 for leaf and hypocotyl. These data suggest that there are different isoforms or proportions of peroxidase acting in the different parts of the sprout. The

maximum activity between pHs 4 and 6 suggest that the peroxidase is present mainly outside the cell. The specific activity of the enzyme was higher in the root, followed by leaves and hypocotyl. In the roots, the peroxidase activity was higher in sprouts grown for 6 days at 30 °C compared to those grown for 3 days at 25 °C. Sprouts grown for 3 days at 25 °C showed less browning due to lower peroxidase activity, increase the shelf life. Thermal treatment reduced the peroxidase activity at 90 °C proportional to the length of treatment. The peroxidative activity was eliminated when the sprout extract was treated at 90 °C/10 min. The use of 20 ppm Ethrel at 8 and 10 hours after the beginning of germination resulted in better quality for the sprouts or thicker and longer hypocotyls. The combined treatment with 20 ppm Ethrel and 500 ppm GA₃, at 25 °C improved the thickness and length of the hypocotyl, and resulted in lighter color. The quality of the sprout was reduced when the seeds were germinated at 30 °C, resulting in softer and darker sprouts, compared to those grown at 25 °C. There was not difference among the accesses regarding the water content of the sprouts. A lower value of 92,72% was present in the seeds of VC 3902A. The water content in the seeds did not affect the water present in the sprout five days after germination.

1. INTRODUÇÃO

O termo feijão-mungo, ou mungo, abrange duas espécies com características semelhantes: feijão-mungo-verde, ou mungo-verde [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] e feijão-mungo-preto, ou mungo-preto (*Vigna mungo*). Ambas têm como ancestral a espécie *Vigna sublobata* (JAIN e MEHRA, 1980).

O feijão-mungo-verde é uma espécie de autofecundação, com cerca de 4% a 5% de fecundação cruzada. As vagens surgem horizontalmente em forma radial, por isso a denominação *radiata* (Van Rheenen, 1964, citado por VIEIRA et al., 2001). Planta anual, de germinação epígena, porte ereto ou semi-ereto, com caule e folhas recobertos por pêlos e com altura variando de 0,3 a 1,5 m, com caule de forma algo quadrada e coloração verde ou vermelha. Suas sementes são pequenas, de colorações verde, amarela, marrom, preta ou mosqueada, com pequeno hilo branco. Os maiores brotos são produzidos pelas sementes grandes (NALAMPANG, 1992).

Segundo Tickoo e Satyanarayama (1998), o feijão-mungo é uma importante leguminosa granífera cultivada na Ásia, tendo como maior produtor a Índia, com produção em 1995/96 de 47% do total produzido no mundo, seguido de China, Indonésia, Mianmar e Tailândia. Os Estados Unidos produzem cerca de 25% do mungo-verde ali consumido; o restante, cerca de 8.000 t, é importado da Tailândia e da Austrália. No Brasil, uma das maiores produtividades alcançada de mungo-verde foi de 2.550 kg/ha, em 1999, em ensaios conduzidos em Prudente de Moraes, MG (CALDAS et al., 1999).

Diversas são as formas de consumo do feijão-mungo-verde. Os grãos secos podem ser consumidos cozidos misturados com arroz ou usados no preparo de sopas e doces. São também utilizados para a obtenção de brotos de feijão, muito apreciados na China, no Japão e em outros países orientais

(RACHIE et al., 1974). No Brasil, essa é a principal forma de consumo da cultura. A maioria das cultivares apresenta sementes miúdas e de coloração verde, motivo pelo qual é bastante conhecido como mungo-verde. Os grãos apresentam teor de 19,5% a 31,2% de proteína, podendo ser utilizados como fonte protéica suplementar ao arroz, pois são ricos em minerais e vitaminas, à semelhança do feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) (VIEIRA, 1992). Os brotos de feijão contêm 86-91% de água, 2,7-4,3% de proteína, 0,4-0,8% de cinza, 0,6% de fibra e 0,1-0,2% de lipídeos (FORDHAM et al., 1975).

O broto-de-feijão ou “moyashi” é pela germinação das sementes do feijão-mungo-verde sob condições controladas, ficando pronto para o consumo em torno de cinco dias. A produção do “moyashi” depende da percentagem de germinação e vigor da semente e da percentagem de sementes duras. A maior intensidade de dormência ocorre nas cultivares que possuem sementes de tamanho pequeno.

As características dos brotos mais desejáveis são hipocótilo longo (mais de 5 cm), espesso (mais de 2 mm) e de coloração amarelo-clara e consistência firme. Também é importante que os brotos não apresentem pigmentação e cheiro desagradável. A coloração amarronzada dos brotos pode estar indicando que o produto não é de boa qualidade (BUESCHER e CHANG, 1982).

Os brotos são altamente perecíveis, por isso há necessidade de armazenamento sob refrigeração imediatamente após a colheita e a lavagem com água gelada, para auxiliar a conservação. Antes do empacotamento, deve-se efetuar o escoamento da água de lavagem, para evitar o desenvolvimento de bactérias, favorecido pelo excesso de umidade (VIEIRA e LOPES, 2001).

Transformações metabólicas ocorridas no período pós-colheita aceleram a deterioração e prejudicam a qualidade dos brotos. Essas transformações caracterizam-se, principalmente, pela mudança da coloração dos tecidos. O grau de incidência de escurecimento interno de produtos hortifrutícolas depende do estágio de maturação, das condições de armazenamento e da cultivar (NANOS e MITCHELL, 1991).

Estudos sobre os mecanismos bioquímicos e citoquímicos responsáveis por tal processo relacionam a atividade das enzimas polifenoloxidase e peroxidase com o desenvolvimento do escurecimento da polpa de pêssgo (BRADY, citado por FEIPPE et al., 2001). As isoenzimas peroxidases podem atuar em diversas reações oxidativas, como oxidação de fenóis, biossíntese de lignina e degradação de clorofila e auxinas (CLEMENTE e PASTORE, 1998), e ainda participar na síntese de etileno, na integridade da membrana plasmática, na maturidade e na senescência de frutos e de hortaliças (GASPAR et al., 1985).

O etileno é produzido por diversos tecidos das plantas superiores. As taxas mais altas de produção estão associadas com regiões meristemáticas e os tecidos da região de nós, ao passo que as mais baixas, com os tecidos dos entrenós. Várias substâncias são capazes de liberar etileno por meio de reações químicas. Destas, a mais utilizada e efetiva é o ácido 2-cloroetilfosfônico, denominado Ethrel, Ethephon ou CEPA (FELIPE, 1986). Segundo Chen et al. (1987) verificaram que tratamentos para crescimento de brotos de feijão-mungo com 10 ou 20 ppm de Ethephon encurtaram e espessaram o hipocótilo e reduziram o crescimento de raízes, melhorando a qualidade do produto final.

Com o intuito de acelerar e uniformizar a germinação das sementes são utilizados reguladores de crescimento, como as giberelinas, substâncias que estimulam a germinação e o crescimento por alongação (BOTELHO e PEREZ, 2001). Dentre as giberelinas, o ácido giberélico (GA_3) é disponível comercialmente e tem sido muito usado em diversos sistemas biológicos (ARTECA, 1996). Takahashi e Kaufman (1983), citados por DARIO et al., (1989), constataram que as giberelinas possuem ação mais efetiva que os demais compostos como promotoras do alongamento da parte aérea, visto que as auxinas atuam somente no crescimento do coleóptilo e do mesocótilo, enquanto o ácido abscísico parece agir apenas no crescimento foliar e caulinar. Esses autores relataram que o controle do crescimento de plântulas pode ser possível pela utilização de combinações apropriadas de reguladores de crescimento vegetal. Eicholz et al. (2003) mencionaram

melhora significativa na germinação e no índice de velocidade de germinação de sementes de azevém (*Lolium multiflorum* L.) quando tratadas com GA₃.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a qualidade fisiológica das sementes, a qualidade da produção dos brotos via adição de etileno e do ácido giberélico, a relação da atividade da enzima peroxidase com o escurecimento dos brotos e a inativação da enzima pelo tratamento térmico, bem como o teor de água das sementes e brotos de linhagens de feijão-mungo-verde.

2. AVALIAÇÃO DO VIGOR DE SEMENTES DE FEIJÃO-MUNGO

2.1. Resumo

Objetivou-se, neste trabalho, determinar a eficiência de testes para avaliar a qualidade fisiológica das sementes de linhagens de feijão-mungo-verde. Foram utilizados os testes de germinação, de envelhecimento acelerado (42 °C/48 h e 42 °C/72 h), de germinação a baixa temperatura (18 °C) e de condutividade elétrica. Determinou-se, também, o grau de umidade das sementes em estufa a 105 °C/24 h. O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, MG. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, com oito tratamentos e quatro repetições de 50 sementes, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As linhagens testadas foram Ouro Verde MG 2, VC 1973A, VC 5734A, V 3476, VC 4039A, VC 6148B16, VC 3890B e VC 3902A do banco de germoplasma da EPAMIG/CTZM. A germinação das sementes variou de 89% (VC 4039A) a 98% (VC 1973A). Os testes do envelhecimento acelerado e de condutividade elétrica não foram eficientes para avaliar o vigor das sementes, já o teste de germinação a baixa temperatura foi o mais adequado para identificar diferenças no vigor das sementes das linhagens de feijão-mungo-verde.

2.2. Introdução

O feijão-mungo-verde [*Vigna radiata* (L.) Wilckek], ou feijão-mungo, é uma importante leguminosa granífera cultivada na Ásia. O maior produtor mundial é a Índia, com produção de aproximadamente 1.374.000 t, em

1995/96, o que representa 47% do total produzido no mundo, seguida de China, Indonésia, Mianmar e Tailândia (TICKOO e SATYANARAYAMA, 1998). No Brasil, há relato da produção de 2.550 kg/ha de grãos secos (CALDAS et al., 1999).

Essa leguminosa possui ciclo anual, podendo ser de porte ereto ou semi-ereto. Ela é de fácil adaptação nas condições tropicais e subtropicais, onde as melhores cultivares produzem acima de 2.000 kg/ha (DUQUE et al., 1987).

No Brasil e em outros países, o feijão-mungo-verde é consumido, principalmente, na forma de broto de feijão, mas também o é na forma de feno, adubo verde e cultura de cobertura. A maioria das cultivares apresenta sementes miúdas e de coloração verde, motivo pelo qual esse feijão é bastante conhecido como mungo-verde. Seus grãos podem ser consumidos ainda na forma de grãos secos cozidos misturados no arroz ou servem para preparo de sopas e doces (VIEIRA et al., 2001).

Conhecido pelos japoneses como “moyashi”, o broto-de-feijão é obtido por intermédio da germinação das sementes do feijão-mungo sob condições controladas; fica pronto para o consumo em torno de cinco dias (Vieira et al., 2001). A qualidade fisiológica da semente é diretamente relacionada à produtividade de “moyashi”, sendo a maior intensidade de dormência verificada nas cultivares que possuem sementes pequenas (DUQUE et al., 1987).

A qualidade fisiológica das sementes é tradicionalmente avaliada pelo teste de germinação, realizado em condições ideais para a espécie, situação em que expressam o seu potencial máximo de germinação. Para avaliação mais segura e criteriosa dessa qualidade foram desenvolvidos testes de vigor, os quais permitem estimar o desempenho das sementes em ampla faixa de condições ambientais. O objetivo principal desses testes é identificar diferenças na qualidade fisiológica de lotes de sementes com capacidade de germinação elevada e semelhante (MARCOS FILHO, 1999a). Frequentemente, observa-se que lotes de sementes apresentando germinação semelhante exibem comportamentos distintos no campo e, ou, armazenamento.

Como o vigor das sementes é função de um conjunto de características que determinam o potencial para uma emergência rápida e uniforme das plântulas, em ampla diversidade de condições de ambiente (AOSA, 1983), recomenda-se, para uma avaliação criteriosa da qualidade da semente, a utilização de mais de um teste de vigor. Entre os testes recomendados pela AOSA (1983) e que vêm sendo bastante utilizados, destacam-se os de estresse, como envelhecimento acelerado, teste de frio, germinação a baixa temperatura e deterioração controlada; os bioquímicos como, o de condutividade elétrica e tetrazólio; e aqueles baseados em características relacionadas ao crescimento das plântulas, como velocidade de emergência, massa da matéria fresca e seca e comprimento de plântula.

Considerando-se que para obter produção elevada de brotos as sementes de feijão-mungo, além de alta capacidade de germinação, devem apresentar elevado vigor, o objetivo deste trabalho foi determinar a eficiência de testes para avaliar a qualidade fisiológica de diferentes linhagens.

2.3. Material e Métodos

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Fitotecnia da UFV, no período de março a abril de 2003. Utilizaram-se oito linhagens de feijão-mungo (Ouro Verde MG 2, VC 1973A, VC 5734A, V 3476, VC 4039A, VC 6148B16, VC 3890B e VC 3902A) do banco de germoplasma da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais – Centro Tecnológico da Zona da Mata (EPAMIG/CTZM).

As sementes de cada linhagem foram submetidas aos seguintes testes para avaliação da qualidade fisiológica:

Germinação: realizado conforme as Regras para Análise de Sementes (RAS) (BRASIL, 1992). Foram utilizadas 200 sementes de cada linhagem, ou seja, quatro repetições de 50 sementes por linhagem. As sementes foram colocadas para germinar sobre papel “germitest”, umedecido com água destilada na proporção duas vezes e meia o peso do papel. Confeccionaram-se rolos, que foram mantidos em germinador a 25 °C

e umidade relativa do ar (UR) entre 90% e 95%, por cinco dias. As avaliações foram feitas no quinto dia, e os resultados foram expressos em percentagem média de plântulas normais, segundo os critérios estabelecidos pelas RAS (BRASIL, 1992).

Envelhecimento acelerado: seguiu-se a metodologia recomendada pela AOSA (1983) e descrita por Marcos Filho (1999b). Foram utilizadas caixas gerbox adaptadas, contendo, ao fundo, 40 mL de água destilada, às quais foram acopladas uma bandeja de tela metálica, onde foram distribuídas 200 sementes, em camada única. Os gerbox com as sementes foram tampados, de modo a obter UR de cerca de 95% em seu interior, e mantidos em incubadora BOD modelo MA 415, regulada a 42 °C, por 48 h e 72 h (MARCOS FILHO, 1999b). Depois de cada período, as sementes foram colocadas para germinar, conforme método descrito para o teste de germinação.

Germinação a baixa temperatura: as sementes foram colocadas para germinar conforme o teste de germinação, seguindo-se a metodologia descrita por Dias e Alvarenga (1999). O papel utilizado para a confecção dos rolos foi umedecido com quantidade de água igual a 2,5 vezes o seu peso e mantido a 18 °C por 24 h antes de iniciar o teste, para obter, na montagem do teste, a baixa temperatura recomendada. Os rolos foram colocados em sacos de polietileno e mantidos à temperatura de 18 °C, em incubadora BOD modelo MA 415. A percentagem de germinação foi expressa em percentagem de sementes, considerando-se apenas as plântulas que apresentaram comprimento igual ou superior a 4 cm, sendo a contagem realizada no quinto dia após a instalação do teste.

Condutividade elétrica: conduzido com quatro repetições de 50 sementes, as quais foram pesadas e colocadas em recipiente com 75 mL de água destilada e mantidas em incubadora BOD a 25 °C, durante 24 h. Após esse período de embebição, fez-se uma leve agitação, e a leitura da condutividade elétrica da solução foi feita em condutivímetro, modelo DM 31 (Digimed). Os resultados, expressos em $\mu\text{S}/\text{cm}/\text{g}$ de sementes, foram obtidos, dividindo-se o valor da condutividade pelo peso inicial das sementes e calculando-se a média das quatro repetições (AOSA, 1983).

Grau de umidade das sementes: determinado em duas repetições de 50 sementes, conforme recomendações da RAS (BRASIL, 1992), pelo método de estufa a 105 ± 3 °C por 24 h.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com oito tratamentos e quatro repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância, e, para a comparação de médias, utilizou-se o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

2.4. Resultados e discussão

Na Tabela 1, encontram-se os dados referentes aos testes de germinação, germinação a baixa temperatura, envelhecimento acelerado (42 °C/48 h; 42 °C/72 h) e condutividade elétrica.

Os valores de germinação variaram de 89% (VC 4039A) a 98% (VC 1973A). As sementes da linhagem VC 4039A apresentaram menor germinação em relação às de linhagens VC 1973A e V 3476. A germinação das sementes das linhagens VC 3890B, VC 3902A, Ouro Verde MG 2, VC 5734A e VC 6148B16 não diferiu significativamente entre si, apresentando médias entre 92% e 95%. O teste-padrão de germinação, por ser conduzido em condições ideais de temperatura, umidade e luminosidade, fornece resultados relacionados ao potencial máximo de germinação das sementes. O valor de germinação obtido para as sementes de todas as linhagens foi alto, ou seja, superior a 89%.

O teste de germinação a baixa temperatura permitiu melhor separação das linhagens em níveis de vigor. As sementes das linhagens VC 3890B e VC 5734A foram as de maior vigor, em relação à VC 1973A, mas não diferindo significativamente das VC 3902A, Ouro Verde MG 2, V 3476 e VC 6148B16, classificadas como de vigor intermediário. O menor vigor foi observado nas sementes da linhagem VC 1973A, não diferindo significativamente das sementes das linhagens V 3476, Ouro Verde MG 2 e VC 6148B16. As sementes em condições de estresse a baixa temperatura sofreram redução da germinação, o que permitiu constatar diferenças entre

as linhagens na qualidade fisiológica, não observada pelo teste-padrão de germinação. O teste de germinação à temperatura baixa foi desenvolvido, principalmente, para avaliar o vigor de sementes de algodão, mas é utilizado também em outras culturas de verão (AOSA, 1983). Seu princípio baseia-se no fato de que baixas temperaturas são prejudiciais à germinação de sementes de clima tropical, principalmente nos estádios iniciais de embebição.

As médias obtidas nos testes de envelhecimento acelerado não diferiram significativamente quando as sementes foram expostas a 42 °C por 48 h, indicando que esse período não foi suficiente para provocar a deterioração das sementes. Porém, houve diferença significativa quando o envelhecimento foi realizado a 42 °C por 72 h. Nesse caso, sementes das linhagens VC 1973A (96,5%), VC 6148B16 (95,5%), VC 3902A (95,0%) e VC 5734A (93,0%) diferiram daquelas da linhagem VC 4039A (85,5%). Verificaram-se, ainda, respostas diferenciadas das sementes aos testes de envelhecimento acelerado e de germinação a baixa temperatura. Por esses testes se avalia o vigor das sementes em diferentes situações de estresses, e conseqüentemente, dependendo do genótipo, as sementes podem apresentar reações variáveis diante da exposição a alta ou baixa temperatura. Por esse motivo, Marcos-Filho et al. (1990) destacaram a importância da utilização de vários testes para avaliação do vigor das sementes. Verificou-se que as sementes da linhagem VC 5734A apresentaram bom desempenho, tanto no teste de baixa temperatura quanto no de envelhecimento. Quanto às sementes da linhagem VC 1973A, elas se mostraram sensíveis às condições de baixa temperatura, apresentando bom desempenho pelo teste de envelhecimento acelerado a 42 °C por 72 h. Assim, linhagens que exibem bom desempenho no teste de germinação a baixa temperatura podem ser direcionadas para locais onde tais temperaturas ocorrem por ocasião da semeadura. Verificou-se, portanto, que, entre os testes conduzidos para a avaliação da qualidade fisiológica das sementes, o teste de germinação a baixa temperatura mostrou-se o mais sensível, permitindo classificar as sementes em diferentes níveis de vigor.

Tabela 1 – Qualidade fisiológica das sementes de linhagens de feijão-mungo-verde.

Linhagens	Germinação (25°C) (%)	Baixa temper. (18 °C) (%)	Envelhec. acelerado (42 °C/48 h) (%)	Envelhec. acelerado (42 °C/72 h) (%)	Condutividade e elétrica (µs/cm/g)
VC 1973A	98,0a	82,5 c	90,0a	96,5a	126,25a
V 3476	97,0a	89,0abc	96,0a	90,0ab	129,49a
VC 3890B	95,0ab	94,5a	94,0a	90,0ab	127,50a
VC 3902A	95,0ab	92,5ab	91,5a	95,0a	127,65a
O. V. MG2 *	94,0ab	89,0abc	91,2a	88,2ab	127,33a
VC 5734A	94,0ab	93,5a	95,5a	93,0a	117,92a
VC 6148B16	92,0ab	88,0abc	91,0a	95,5a	126,49a
VC 4039A	89,0 b	84,5 bc	95,5a	85,5 b	124,86a
C.V. (%)	6,29	2,99	3,55	4,74	4,38

Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, não diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

* Cultivar Ouro Verde MG 2.

No teste de condutividade elétrica, as médias variaram de 124,86 a 129,49 µS/cm/g, mas não houve diferença significativa entre elas. Nesse teste, o vigor das sementes é em função da quantidade de lixiviados na solução, que está diretamente relacionada com a integridade das membranas celulares. Logo, membranas mal estruturadas e células danificadas estão, geralmente, associadas com o processo de deterioração da semente. Portanto, as sementes de baixo vigor liberam maior quantidade de eletrólitos na solução, resultando em maior valor de condutividade elétrica (AOSA, 1983). Apesar de não significativo, verificou-se que as sementes da linhagem VC 5734A apresentaram menor valor absoluto de condutividade elétrica de 117,92 µS/cm/g, indicando maior integridade das membranas e maior vigor. É importante observar que as sementes dessa linhagem também apresentaram bom desempenho nos testes de germinação a baixa temperatura e envelhecimento acelerado.

2.5. Conclusões

Os testes de envelhecimento acelerado e de condutividade elétrica não foram eficientes em diferenciar o vigor das sementes das linhagens.

O teste de germinação a baixa temperatura foi o mais adequado para identificar o nível de vigor das sementes das diferentes linhagens de feijão-mungo-verde.

3. ATIVIDADE ENZIMÁTICA DE FEIJÃO-MUNGO-VERDE

3.1. Resumo

Este experimento teve como objetivo avaliar a atividade enzimática da peroxidase nos pHs 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 9, em raiz, hipocótilo e folha de brotos de feijão-mungo-verde. Os brotos foram provenientes de sementes germinadas em duas temperaturas (25 °C e 30 °C) e colhidos em dois estádios de desenvolvimento (três e seis dias após a germinação). Avaliou-se a inativação da atividade peroxidativa através de tratamento térmico (90 °C), em diferentes períodos (0; 2,5; 5; e 10 min). O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Pós-Colheita de Hortaliças do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa. Utilizou-se um esquema fatorial 2 x 2 x 7, no delineamento inteiramente casualizado, com três repetições, com a cultivar Ouro Verde MG 2. A curva de atividade da peroxidase teve formato semelhante nas diferentes partes da planta. A atividade foi mais baixa nos extremos de pHs, 3 ou 9, e mais elevada entre os pHs 4 e 6. Os picos máximos de atividade da enzima na raiz foram observados nos pHs 4 e 5; na folha e hipocótilo, eles ocorreram nos pHs 5 e 6. O formato das curvas da atividade da enzima, nos pHs estudados, indica que existem diferentes isoenzimas e proporções destas agindo nas folhas,

no hipocótilo e nas raízes. A atividade máxima entre os pHs 4 e 6 indica tratar-se de enzima com atuação preferencialmente extracelular. A atividade específica enzimática foi notadamente maior na raiz, seguida de hipocótilo e folhas. Em alguns pHs, a atividade na raiz foi nove vezes maior que no hipocótilo e 28 maior que nas folhas (25 °C e seis dias). Na raiz, houve diferença entre os tratamentos: a atividade nos brotos com seis dias foi maior que a naqueles com três dias, e também maior nos germinados a 30 °C em relação a 25 °C. O tratamento térmico a 90 °C reduziu a atividade da peroxidase gradativamente com o aumento do tempo de inativação. Infere-se, desses resultados, que brotos cultivados a 25 °C e colhidos com três dias podem ter atenuado os efeitos indesejáveis da peroxidase, com diminuição do escurecimento dos tecidos e aumento da vida útil do broto na pós-colheita. A atividade peroxidativa dos brotos pode ser eliminada quando estes são submetidos a tratamento térmico de 90 °C/10 min.

3.2. Introdução

Há dois tipos principais de *Vigna radiata*, dependendo da cor das sementes: amarelas (“yellow” ou “golden gram”), que geralmente proporcionam baixa produção de grãos e apresentam vagens deiscentes. As plantas são usadas principalmente como forragem ou como cultura de cobertura; verdes (“mung bean” ou “green gram”), com grãos verde-opacos ou verde-brilhantes, que são mais produtivos e amadurecem mais uniformemente. As vagens têm menor tendência à debulha natural e são comumente plantadas para o consumo humano (RACHIE e ROBERTS, 1974).

Leguminosa nativa da Ásia, o feijão-mungo-verde [*Vigna radiata* (L.) Wilckek] é cultivado principalmente naquele continente. Os Estados Unidos consomem cerca de 11.000 t de mungo anualmente, sobretudo na forma de brotos de feijão. No Brasil, usa-se ainda o nome comum de mungo-verde, em virtude da coloração de suas sementes. Apesar da produção incipiente, no Brasil há tendência crescente devido ao aumento da demanda pelo broto

de feijão (“moyashi”), principal produto dessa espécie (Nalampang, 1992, citado por VIEIRA et al., 2003).

A existência de variedades de feijão-mungo adaptadas às condições brasileiras pode possibilitar o sucesso da produção dos brotos. O moyashi possuem vida de prateleira curta, necessitando de cuidados para evitar sua rápida degradação. Transformações metabólicas ocorridas no período pós-colheita aceleram a deterioração e diminuem a qualidade dos brotos. Essas transformações caracterizam-se, principalmente, pela mudança da coloração dos tecidos. Segundo Nanos e Mitchell (1991), o grau de incidência de escurecimento interno depende de fatores como estágio de maturação, condições de armazenamento e cultivar. Estudos sobre os mecanismos bioquímicos e citoquímicos responsáveis por tal processo relacionam a atividade das enzimas polifenoloxidase e peroxidase com o desenvolvimento do escurecimento da polpa (Brady, 1993, citado por FEIPPE et al., 2001). Essas e outras atividades enzimáticas são estimuladas por fatores como fermentos e outras injúrias, mudanças na temperatura e condições anaeróbicas ou oxidativas.

Dentre as enzimas responsáveis por alterações indesejáveis da qualidade dos alimentos estão as peroxidases (POD) e as catalases (BERK, 1976). A peroxidase é uma das enzimas mais termorresistentes, de forma que, quando inativada pela alta temperatura, certamente as demais enzimas e os microrganismos patogênicos serão destruídos. Por essa alta resistência e sua ampla distribuição em tecidos vegetais, são mais utilizadas como índice de atividade enzimática (HALPIN e LEE, 1987).

As peroxidases (POD) são oxidoredutases que apresentam relação com o desenvolvimento de odor, sabor e cor indesejáveis em hortifrutícolas crus ou insuficientemente branqueados (BARUFFALDI et al., 1983). O branqueamento é um dos tratamentos térmicos amplamente empregados na industrialização dos hortifrutícolas para prevenir ou reduzir a taxa de deterioração pós-colheita; utilizado como tratamento prévio ao congelamento, secagem, saturação com sólidos solúveis e enlatamento. Tal tratamento tem como objetivo produzir no material processado a inativação desses sistemas enzimáticos, reduzir algumas infecções iniciais, remover aromas

indesejáveis, diminuir o volume de material na fase de acondicionamento, expelir o ar e outros gases para reduzir reações de oxidação e pressão interna durante a esterilização e fixar a cor (BARUFFALDI, 1980).

As isoenzimas peroxidases podem atuar em diversas reações oxidativas, como oxidação de fenóis, biossíntese de lignina, degradação de clorofila e auxinas (CLEMENTE e PASTORE, 1998). Podem estar presentes na síntese de etileno, na manutenção da integridade da membrana e na maturação e senescência de frutos e hortaliças (GASPAR et al., 1985).

As peroxidases compreendem diversas isoenzimas, que diferem na especificidade pelo substrato, composição aminoacídica e localização nos tecidos da planta (SIEGEL, 1993). As PODs eliminam o H_2O_2 , transformando-o em H_2O na presença de um substrato doador de elétrons. Uma das principais funções das peroxidases é a proteção celular contra reações oxidativas dos tecidos. A catalase, no entanto, converte $2H_2O_2$ em O_2 e H_2O ; é considerada a principal enzima removedora de H_2O_2 em plantas (Bresegem et al., 2001, citados por ANTUNES, 2002).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a atividade enzimática da peroxidase nos pHs 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 9 em raiz, hipocótilo e folha de brotos de feijão-mungo, produzidos em duas temperaturas e colhidos em dois estádios de desenvolvimento, bem como a influência do tempo na terminativação da atividade peroxidativa.

3.3. Material e Métodos

Foram utilizadas para a produção dos brotos de feijão-mungo-verde sementes da cultivar Ouro Verde MG 2, do banco de germoplasma da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais/Centro Tecnológico da Zona da Mata (EPAMIG/CTZM). Essa cultivar é originária do programa de melhoramento do “Asian Vegetable Research and Development Center” (AVRDC), localizado em Formosa. O cruzamento realizado no AVRDC entre as linhagens VC 2719A x VC 1000C e após sucessivas autofecundações resultou na linhagem denominada VC 3984-B-4-1B, cuja introdução ocorreu no ano de 1986, pela EPAMIG/CTZM. Após anos de ensaios de competição,

essa linhagem passou a ser recomendada para cultivo com a denominação de Ouro Verde MG 2 (VIEIRA et al., 2003).

O atual experimento foi desenvolvido no Laboratório de Melhoramento de Hortaliças e Pós-Colheita do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa, MG, de maio a agosto de 2003.

A germinação das sementes, para o preparo dos brotos, foi realizada conforme Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992), sendo elas colocadas em germinador de câmara tipo Mangelsdorf (sem iluminação) (BIOMATIC). Para a avaliação enzimática, foram postas para germinar em duas temperaturas (25 °C e 30 °C), em dois estádios de desenvolvimento (três e seis dias após a semeadura) e umidade relativa do ar de aproximadamente 95%.

Preparo dos brotos – Utilizaram-se 200 sementes, 50 para cada tratamento, as quais foram germinadas em rolo de papel “germitest”, umedecidas com água destilada na proporção duas vezes e meia o peso do papel e levadas para germinador em posição vertical. Os equipamentos e utensílios utilizados foram desinfetados antes do uso, para evitar contaminação por fungos e bactérias.

Ensaio de peroxidase – Os brotos de cada conjunto foram separados em três partes: folha verdadeira, hipocótilo e raiz, sendo as partes dos brotos cortadas em pequenos pedaços. Os tecidos foram macerados em tampão de extração fosfato a 4 °C. Cada parte da amostra foi triturada em almofariz e, em seguida, adicionados 20 mL de tampão-fosfato (pH 6,5) ao macerado. O extrato resultante foi filtrado em três camadas de tecido de algodão (gaze), retirando-se alíquotas de pesos idênticos, as quais foram submetidas à centrifugação a 15.000 *g* por 15 min a 4 °C. O sobrenadante foi coletado para a avaliação da atividade da enzima peroxidase. Em cubeta, colocaram-se 1,5 mL de tampão-fosfato (pHs 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 9), 500 µL de solução de guaiacol (1:200), 500 µL de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) (1:80) e 500 µL de extrato enzimático. Em seguida, procedeu-se à homogeneização e à atividade enzimática obtida por leitura em espectrofotômetro (UV- 1601 UV- visible spectrophotometer, marca Shimadzu) a 470 nm (LAGRIMINI e ROTHSTEIN, 1987).

Para a inativação da peroxidase, os extratos foram preparados do mesmo modo da etapa de análise da atividade peroxidativa. Após a centrifugação, o sobrenadante foi colocado a 90 °C, pelos tempos de 0; 2,5; 5; e 10 min. Posteriormente, colocaram-se os extratos em gelo por 30 min, e realizou-se o ensaio da peroxidase a 25 °C, em espectrofotômetro a 470 nm.

A concentração de proteína nos extratos foi determinada como descrito pela metodologia de Bradford (1976), usando-se como padrão BSA (Albumina de Soro Bovino). A atividade específica enzimática foi expressa em unidades de absorbância/min/mg de proteína.

O experimento foi montado segundo um esquema fatorial 2 x 2 x 7, ou seja, duas temperaturas de germinação (25 °C e 30 °C), dois estádios de desenvolvimento (três e seis dias) e sete pHs (3, 4, 5, 6, 7, 8 e 9), no delineamento inteiramente casualizado, com três repetições. Realizou-se a análise de variância dos dados, cujas médias foram comparadas utilizando o teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os resultados do tratamento térmico são apresentados em gráficos com desvio-padrão.

Gel de amido – Para a preparação do gel, empregou-se o sistema de eletroforese horizontal em gel de amido (ALFENAS et al., 1991), usando amido de milho (maisena) na concentração de 11%.

O gel foi preparado a partir da suspensão de amido em solução-tampão do gel, à temperatura ambiente, em frasco de Erlenmeyer, com agitação constante. A solução-tampão do gel variou de acordo com o sistema isoenzimático.

A suspensão do amido foi levada ao forno de microondas, onde permaneceu por cinco minutos, sob agitação após cada fervura; essa agitação foi realizada duas vezes. Em seguida, o conteúdo foi vertido, cuidadosamente, em formas de acrílico. O gel foi coberto com placa de vidro, para uniformizar a superfície e evitar o excesso de evaporação. Na colocação da placa, deve-se evitar ao máximo a formação de bolhas sobre o gel. Os géis, preparados à tarde, foram conservados em geladeira até o dia seguinte, quando se procedeu à eletroforese.

Aplicação das amostras e eletroforese – Na manhã seguinte ao preparo do gel, a placa de vidro foi removida. Cerca de 4,0 cm de uma das

extremidades do gel, efetuou-se, com o auxílio de bisturi, um corte perpendicular atingindo a face maior do gel. Com a ajuda de uma pinça, as amostras adsorvidas nas tiras de papel foram aplicadas de modo a cobrir, completamente, a espessura do gel.

Em cada gel foram utilizadas quatro tiras, afastadas aproximadamente 2,0 cm umas das outras. Papelotes de azul-de-bromofenol foram inseridos nas extremidades, para visualização da frente de migração. Em seguida, procedeu-se à junção das partes cortadas, e o suporte do gel foi apoiado sobre as cubas. A conexão do gel às cubas dos eletrodos, contendo cada uma 100 mL do tampão adequado ao sistema, foi feita mediante uma ponte de pano do tipo perfex, dobrado uma vez.

Com o aparelho ligado, realizou-se uma pré-corrida, durante 30 minutos a 150 V, visando à liberação das enzimas contidas nas tiras. Após esse tempo, o aparelho foi desligado e as cubas, desconectadas, sendo as tiras removidas com o auxílio de uma pinça. Finalmente, as partes do gel foram reunidas, reconectando-se o gel às cubas, sendo o aparelho ligado com a voltagem de 150 V, reiniciando a corrida eletroforética até que a frente de azul-de-bromafenol atingisse aproximadamente 9,0 cm.

Fatiamento, coloração, fixação e secagem dos géis – Com o auxílio de guias de vidro de 2,0 mm de espessura e de fio de náilon nº 20, procedeu-se ao corte horizontalmente do gel, em fatias de mesma espessura das guias. As fatias foram, cuidadosamente, retiradas e colocadas distendidas em fôrmas do tipo pirex, onde foram imersas na solução corante específica de cada enzima, sendo a solução da peroxidase mostrada na Tabela 1 e, a da catalase, na Tabela 2.

Após o período de incubação, a solução foi descartada e os géis, lavados em água corrente, sendo, em seguida, feita a fixação em solução de glicerina 10%, por cerca de 12 h, em refrigerador a aproximadamente 4 °C. Após a coloração e fixação, a secagem do gel foi realizada em placa de vidro, após este ter sido envolvido em papel de celulose de madeira esticado. O conjunto gel-placa de vidro foi mantido à temperatura ambiente na posição vertical por aproximadamente 24 h. Depois desse tempo, secou-

se o conjunto gel-placa de vidro em estufa a 37 °C, por mais algumas horas, sendo, posteriormente, identificado.

Os géis foram colocados sobre diafanoscópio e as bandas registradas. Posteriormente, foi feita a interpretação dos géis por região de migração, visando identificar o número de bandas em cada parte do broto (raiz, hipocótilo e folha).

Tabela 1* - Protocolo para detecção da atividade da enzima peroxidase (POD-1.1.1.7)

3-amino-9-etil-carbazole dissolvidos em:	50,00 mL
Dimetilformamida (DMF)	2,50 mL
Tampão acetato de sódio 0,05 M, pH 5,0	95,00 mL
CaCl ₂ 0,1 M	2,00 mL
H ₂ O ₂ em 3%	2,00 mL

SÓLTIS et al., (1983), modificado.

Tabela 2 - Protocolo para detecção da atividade da enzima catalase

Solução A:	
Solução a 3% de H ₂ O ₂	5 mL
Fosfato de Sódio (0,1M) pH 7,0	10 mL
0,06 M Na ₂ S ₂ O ₃ . 5 H ₂ O	7 mL
H ₂ O	78 mL
Solução B	
0,09 M KI	50 mL
H ₂ O	50 mL

SCANDALIOS (1969).

* Incubar o gel na solução A, a temperatura ambiente por 15 minutos. Lavar o gel e adicionar a solução B, retirando a mesma somente quando bandas negativas surgirem num fundo azul.

3.4. Resultados e Discussão

A curva de atividade da peroxidase nos diferentes pHs teve comportamento semelhante nas diferentes partes da planta, ou seja, foi mais baixa nos extremos de pHs 3 ou 9, e mais elevada entre os pHs 4 e 6. Segundo Araújo (1999), a atividade da peroxidase diminui em pHs demasiadamente baixo e elevado. O pH ótimo para atividade da peroxidase varia com a espécie, oscilando de 3,0 a 7,0.

Os picos máximos de atividade peroxidativa foram observados nos pHs 4 e 5 para raiz (Figura 1) e pHs 5 e 6 para hipocótilo e folha (Figuras 2 e 3). Em razão do formato das curvas da atividade da enzima nos diferentes pHs, acredita-se que existam diferentes isoenzimas e proporções delas atuando simultaneamente nas folhas, hipocótilo e raízes. A máxima atividade entre os pHs 4 e 6 indica tratar-se de uma enzima de atuação preferencialmente extracelular.

A atividade específica enzimática foi notadamente maior na raiz, seguida do hipocótilo e folhas (Figuras 4, 5, 6 e 7). Em alguns pHs, a atividade na raiz chegou a ser nove vezes maior que no hipocótilo e 28 maior que nas folhas (25 °C e seis dias). Na raiz, a atividade da peroxidase, na maioria dos tratamentos, foi maior em brotos produzidos na temperatura de 30 °C que a 25 °C e em brotos com seis dias após a germinação (DAG), aos com três dias (Tabela 3).

A atividade peroxidativa no hipocótilo foi maior em brotos com três DAGs que com seis, resultado inverso ao ocorrido com a raiz. A atividade observada foi superior em brotos desenvolvidos na temperatura de 30 °C, em sua maioria àquela dos brotos a 25 °C, com exceção dos tratamentos efetuados com mistura de reação com pHs 3, 6 e 9 (3 DAG), em que essa atividade não difere significativamente em relação aos brotos produzidos em 30 °C e em 25 °C (Tabela 3).

Nos extratos de folhas, a atividade da peroxidase em pH 9 a 25 °C não diferiu significativamente em relação aos dias de germinação. Entretanto, houve diferença significativa nos demais pHs estudados nos diferentes dias de germinação. Em todos os extratos de folhas de brotos produzidos a 30 °C, a atividade da enzima foi superior naqueles com estágio de desenvolvimento de seis dias, em comparação com os de três dias. A atividade enzimática foi diferente, quando se observaram os resultados em relação à temperatura. Nos brotos crescidos a 30 °C, tal atividade foi significativamente maior que naqueles a 25 °C em todos os pHs, em sementes germinadas durante seis dias. Entretanto, nas folhas de brotos desenvolvidos por três dias a atividade da peroxidase em temperatura de 25 °C foi superior aos de 30 °C (Tabela 3).

Nos extratos do hipocótilo, a resposta da atividade peroxidativa foi diferente em comparação aos extratos de raízes e folha, apresentando picos de atividade em pH 5 para os tratamentos de brotos com três dias de desenvolvimento e em pH 6 para os brotos com seis dias (Tabela 3).

O tratamento de 30 °C com seis dias de germinação, em raiz, teve maior atividade que os demais tratamentos, tanto no de 30 °C em três dias (raiz) quanto em ambos os de desenvolvimento em 25 °C (raiz) (Tabela 3).

Tabela 3 – Atividade da enzima peroxidase (Δ ABS/min/mg proteína) em diferentes temperaturas e desenvolvimento de brotos de feijão-mungo.

pH	Temp. Época	Raiz		Hipocótilo		Folha	
		25 °C	30 °C	25 °C	30 °C	25 °C	30 °C
pH 3	3 dias	7,06bB	13,01bA	5,28aA	5,85aA	0,96aA	0,55bB
	6 dias	19,40aB	32,67aA	2,14bB	4,96bA	0,70bB	1,16aA
pH 4	3 dias	10,79bB	18,42bA	6,89aB	7,71aA	1,60aA	0,93bB
	6 dias	28,61aB	43,97aA	3,28bB	7,98aA	1,36bB	2,47aA
pH 5	3 dias	13,41bB	22,19bA	10,59aB	12,27aA	2,33aA	1,38bB
	6 dias	30,75aB	45,66aA	5,41bB	12,29aA	1,99bB	3,45aA
pH 6	3 dias	10,32bB	14,66bA	10,28aA	10,67bA	2,76aA	1,61bB
	6 dias	20,81aB	33,93aA	6,48bB	12,52aA	2,27bB	3,74aA
pH 7	3 dias	5,88bB	9,93bA	7,08aB	8,52aA	2,42aA	1,36bB
	6 dias	14,16aB	19,36aA	4,37bB	9,15aA	1,67bB	2,74aA
pH 8	3 dias	1,43bA	3,66aA	3,48aB	4,54bA	0,95aA	0,48bB
	6 dias	4,98aA	5,99aA	2,75bB	5,36aA	0,68bB	1,21aA
pH 9	3 dias	0,61aA	1,00aA	0,73aA	1,03aA	0,23aA	0,09bB
	6 dias	1,27aA	0,98aA	0,71aB	1,58aA	0,23aB	0,40aA
C.V.		12,32		6,60		2,73	

Médias seguidas da mesma letra, minúscula nas colunas (dias) e maiúscula nas linhas (temperaturas), não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Nos quatro tratamentos, o método de inativação da POD por temperatura foi eficiente quando os extratos foram tratados a 90 °C durante 10 min, para evitar a atividade da peroxidase no hipocótilo, folha e raiz (Figuras 8, 9 e 10). O tratamento térmico aplicado aos alimentos processados e armazenados por longo período de tempo objetiva prevenir a atividade peroxidativa (Florence, 1977, citado por BEZERRA, 1990) e inativar todos os outros sistemas enzimáticos. O desenvolvimento de

aromas estranhos e mudanças na cor de frutas e hortaliças enlatados e congelados estão associados à regeneração da atividade da peroxidase (KOLATTUKUDY et al., 1992). Pinsent (1962), citado por Bezerra (1990), em trabalho com ervilhas branqueadas a 93 – 100 °C, verificou aumento na atividade da peroxidase durante o armazenamento a -18 °C. A regeneração da peroxidase em cenouras armazenadas em temperaturas baixas é mais pronunciada que a observada em outras hortaliças. Em trabalho com cenouras e vagens congeladas, Chen (1985), citado por Chen et al. (1987), observou, por intermédio de dados sensoriais que a peroxidase não apresentou relação significativa com o desenvolvimento de odor estranho, porém afetava a cor final do produto.

A técnica da eletroforese horizontal em gel de amido foi utilizada para separar as bandas das enzimas peroxidase e catalase, as quais são observadas nos zimogramas (Figuras 11 e 12).

O extrato que apresentou maior intensidade de banda, isto é, maior atividade enzimática foi o da raiz, produzido por seis dias em temperatura de 30 °C (Figura 11). A parte foliar dos brotos apresentou bandas da enzima peroxidase, além de duas isoformas catiônicas, também uma banda aniônica na produção efetuada em 30 °C, diferentemente dos brotos produzidos a 25 °C, que não apresentou bandas aniônicas (Figuras 11 e 12).

Para catalase, as bandas foram visíveis apenas no eixo catiônico em todas as partes do broto (raiz, hipocótilo e folha), como pode ser observado nas Figuras 13 e 14.

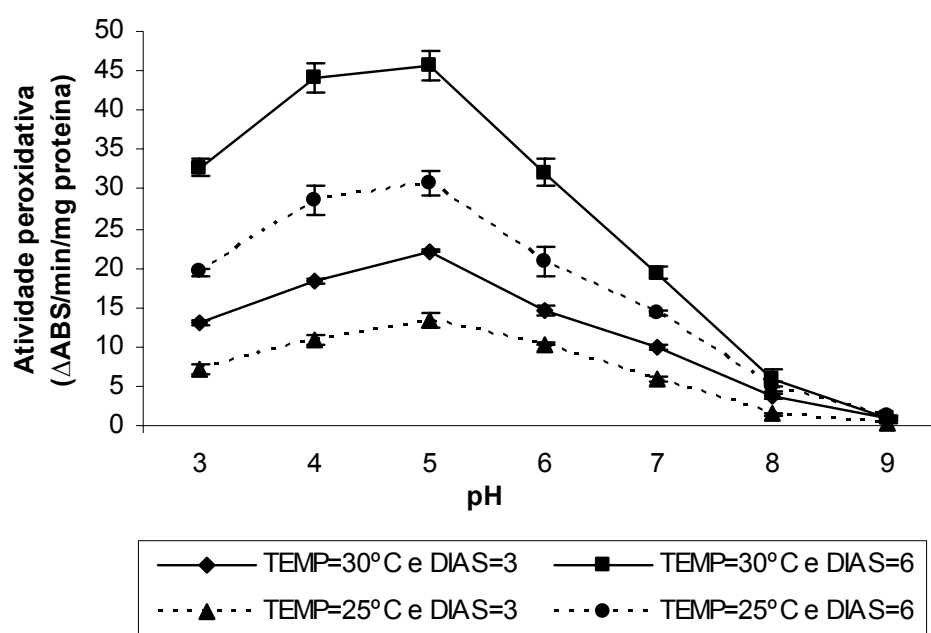


Figura 1 – Atividade da enzima peroxidase (Δ ABS/min/mg proteína) em função do pH para diferentes tratamentos na raiz de brotos de feijão-mungo-verde.

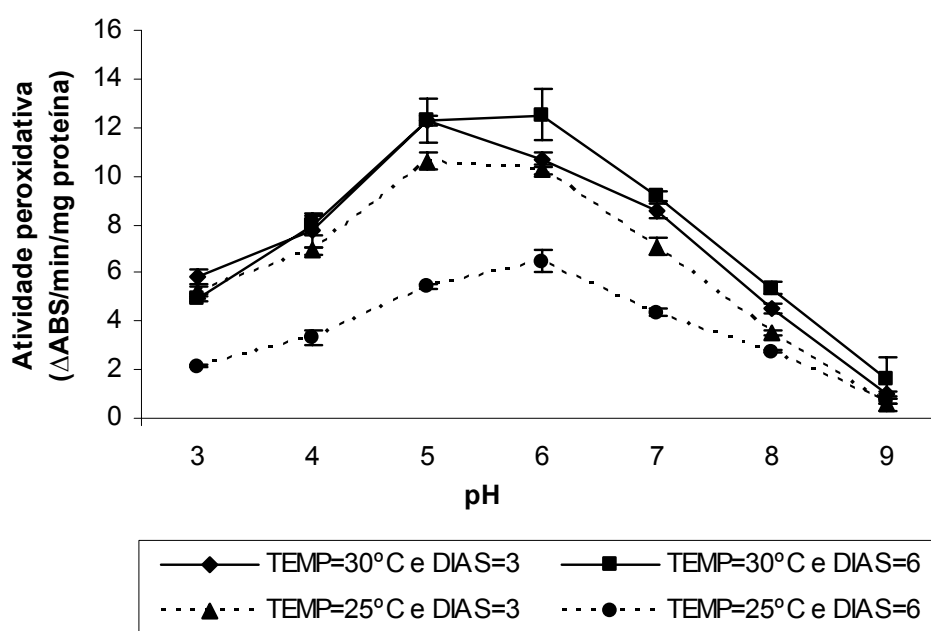


Figura 2 – Atividade da enzima peroxidase (Δ ABS/min/mg proteína) em função do pH para diferentes tratamentos no hipocótilo de brotos de feijão-mungo-verde.

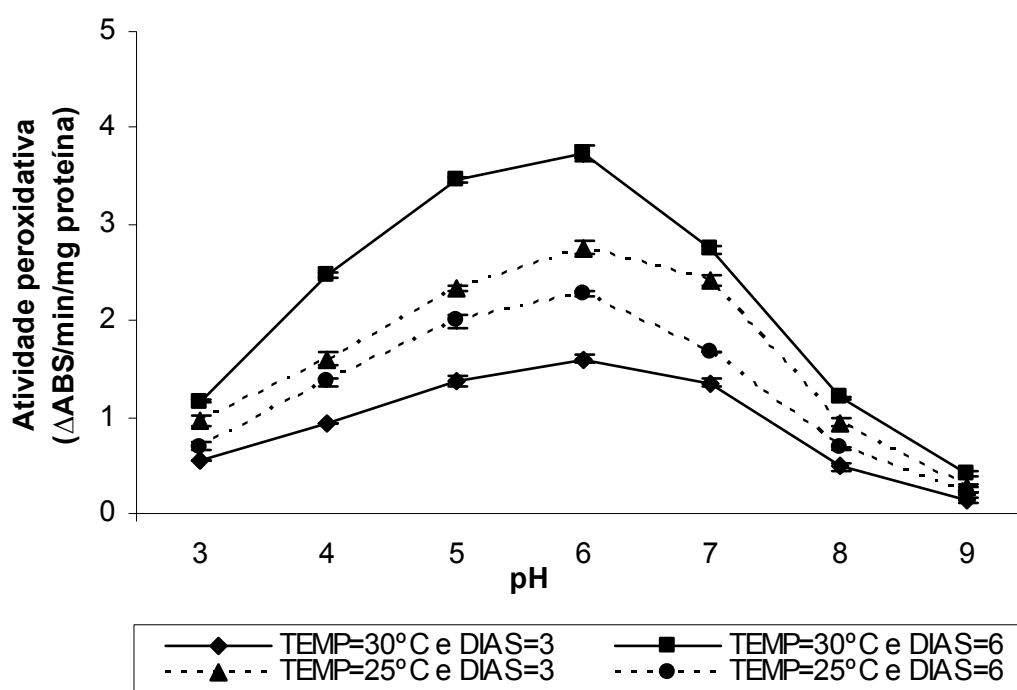


Figura 3 – Atividade da enzima peroxidase ($\Delta\text{ABS}/\text{min}/\text{mg}$ proteína) em função do pH para diferentes tratamentos na folha de brotos de feijão-mungo-verde.

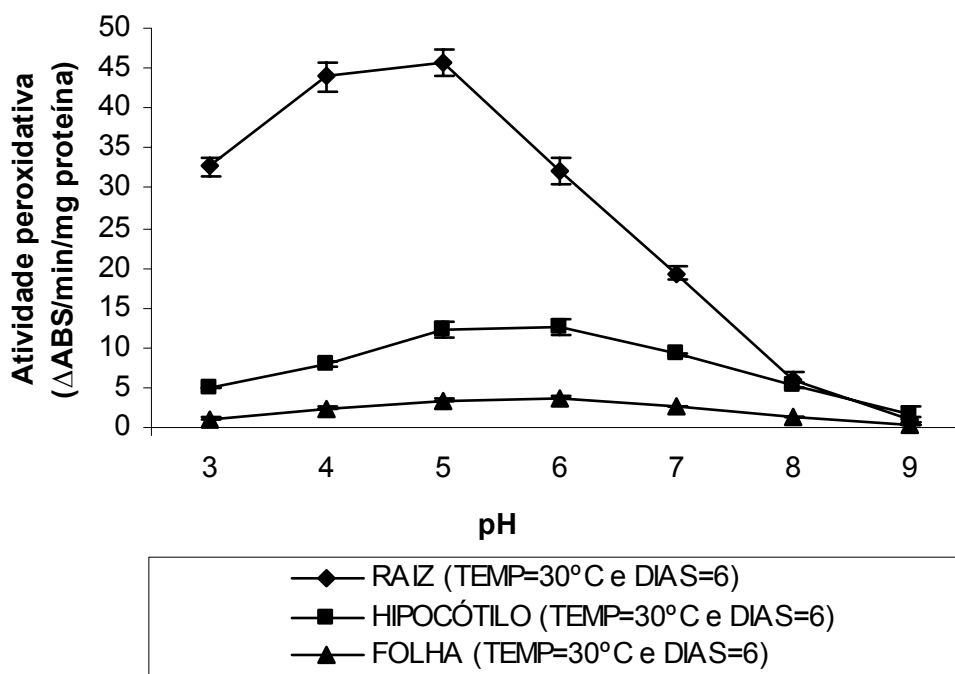


Figura 4 – Atividade da enzima peroxidase ($\Delta\text{ABS}/\text{min}/\text{mg}$ proteína) de brotos de feijão-mungo-verde produzidos em 30 °C por seis dias.

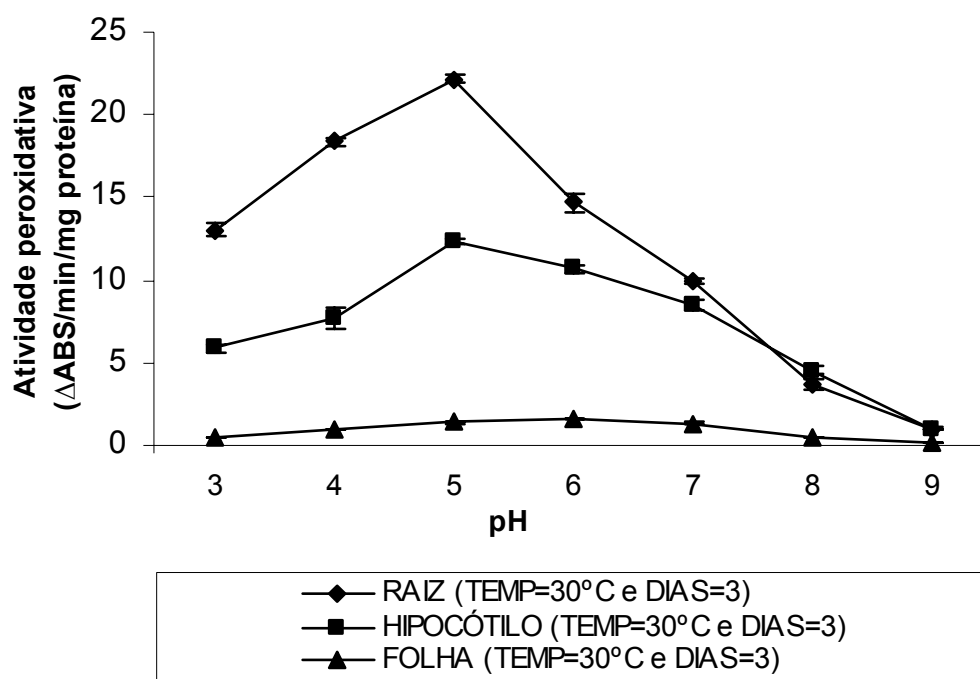


Figura 5 – Atividade da enzima peroxidase (ΔABS/min/mg proteína) de brotos de feijão-mungo-verde produzidos em 30 °C por três dias.

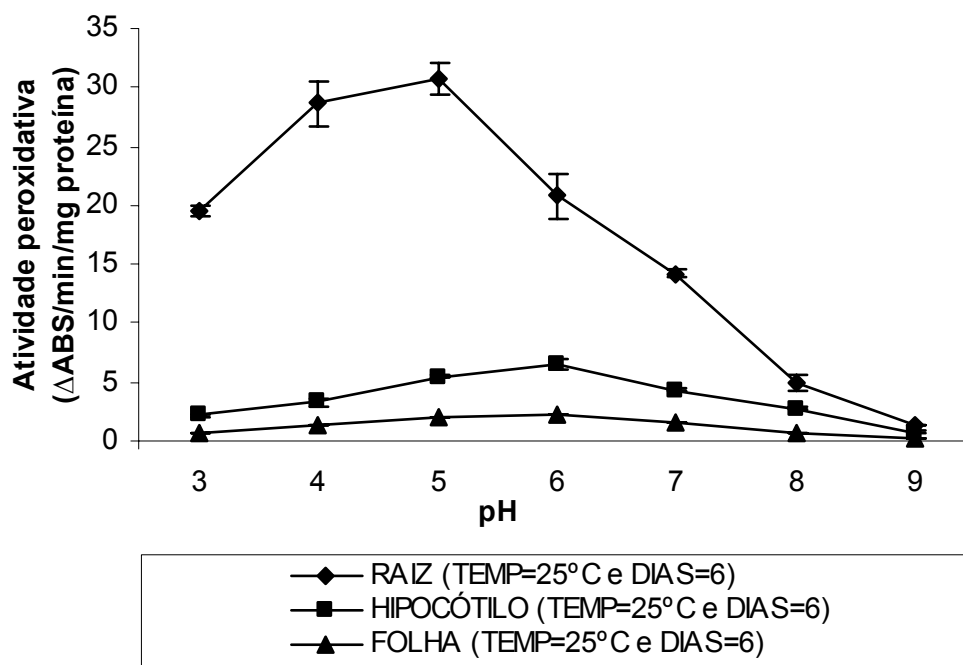


Figura 6 – Atividade da enzima peroxidase (ΔABS/min/mg proteína) de brotos de feijão-mungo-verde produzidos em 25 °C por seis dias.

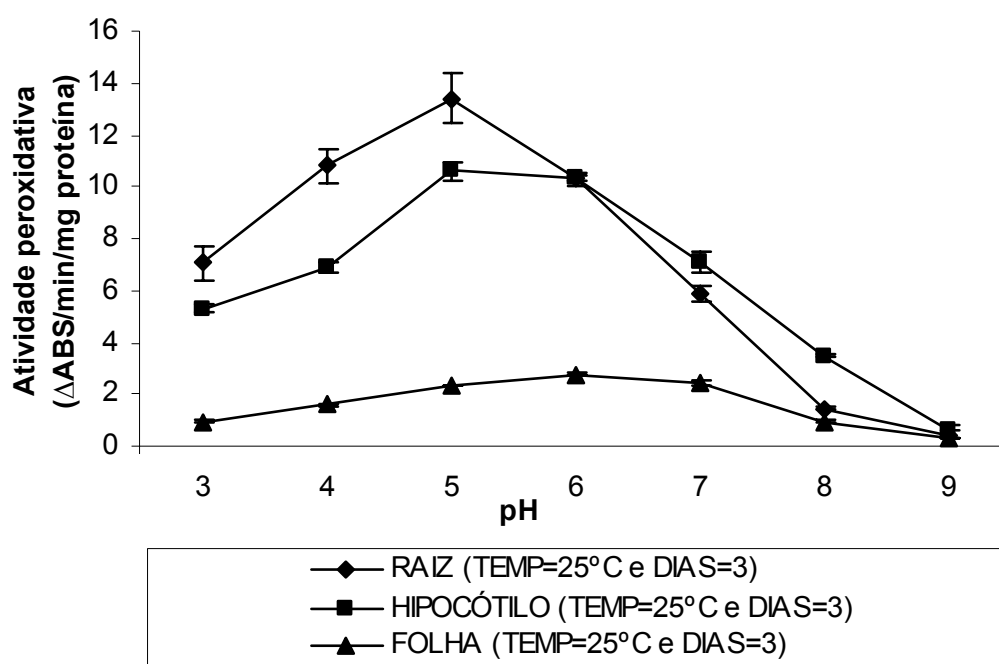


Figura 7 – Atividade da enzima peroxidase (ΔABS/min/mg proteína) de brotos de feijão-mungo-verde produzidos em 25 °C por três dias.

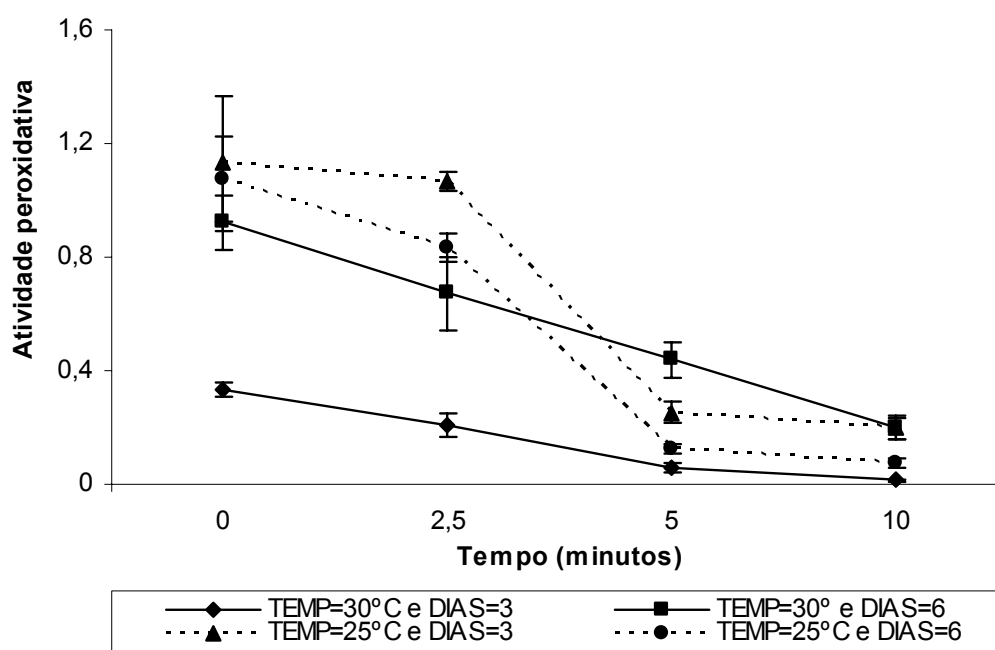


Figura 8 – Atividade da enzima peroxidase (ΔABS/min/mg proteína) na raiz em pH 5 em diferentes tempos de imersão do extrato em água a aproximadamente 90 °C .

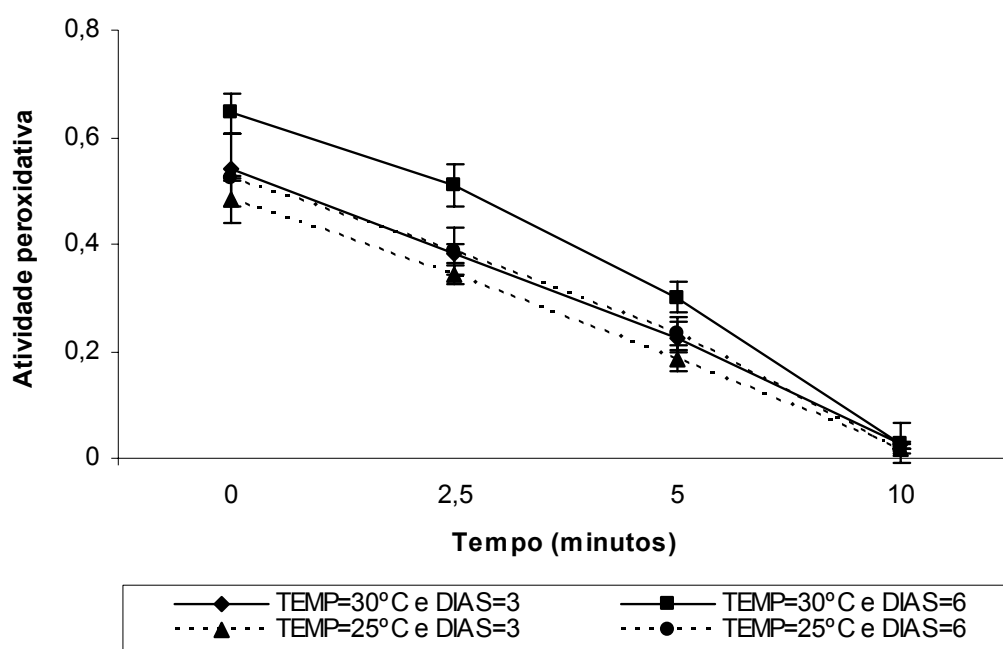


Figura 9 – Atividade da enzima peroxidase (Δ ABS/min/mg proteína) no hipocótilo em pH 5 em diferentes tempos de imersão do extrato em água a aproximadamente 90 °C .

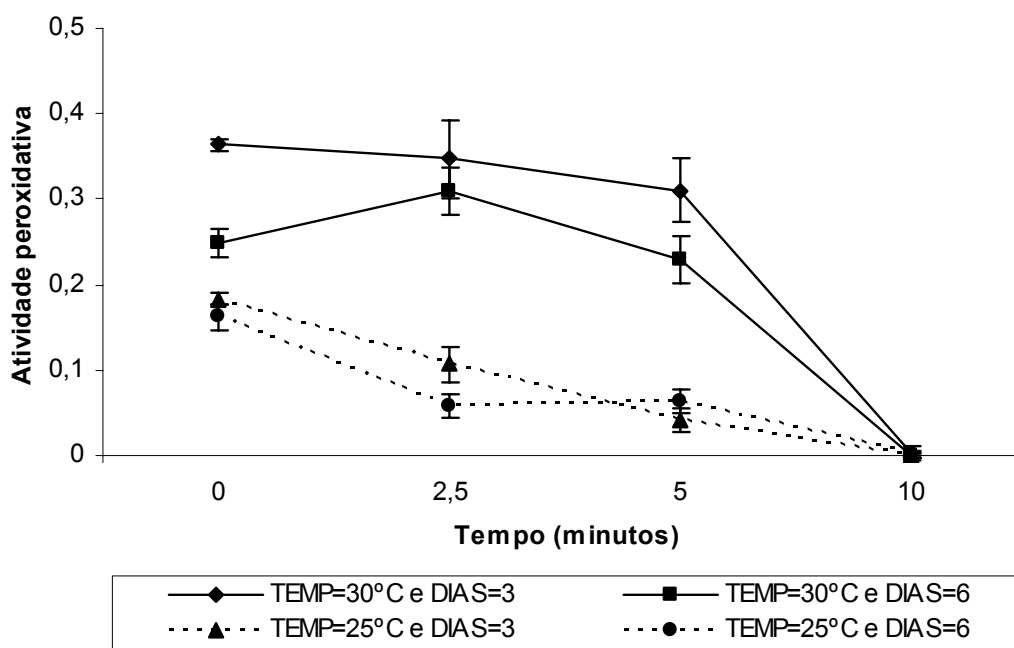


Figura 10 – Atividade da enzima peroxidase (Δ ABS/min/mg proteína) na folha em pH 5 em diferentes tempos de imersão do extrato em água a aproximadamente 90 °C .

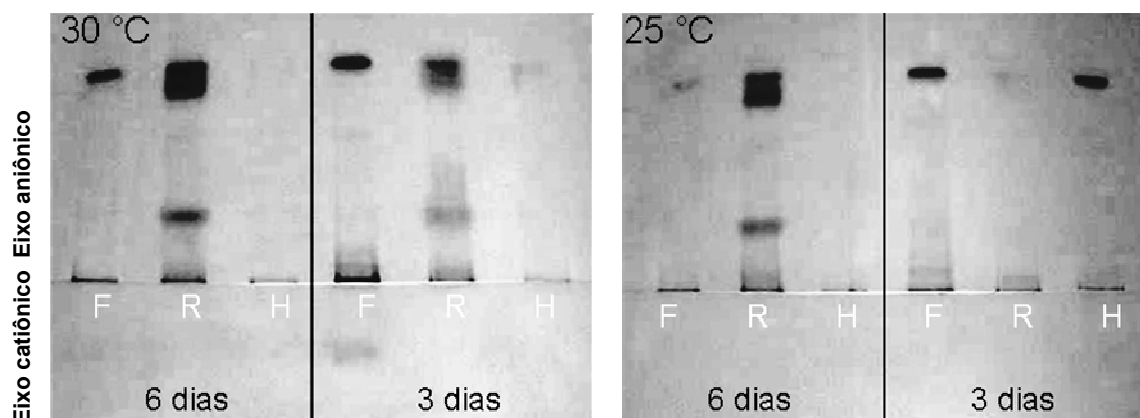
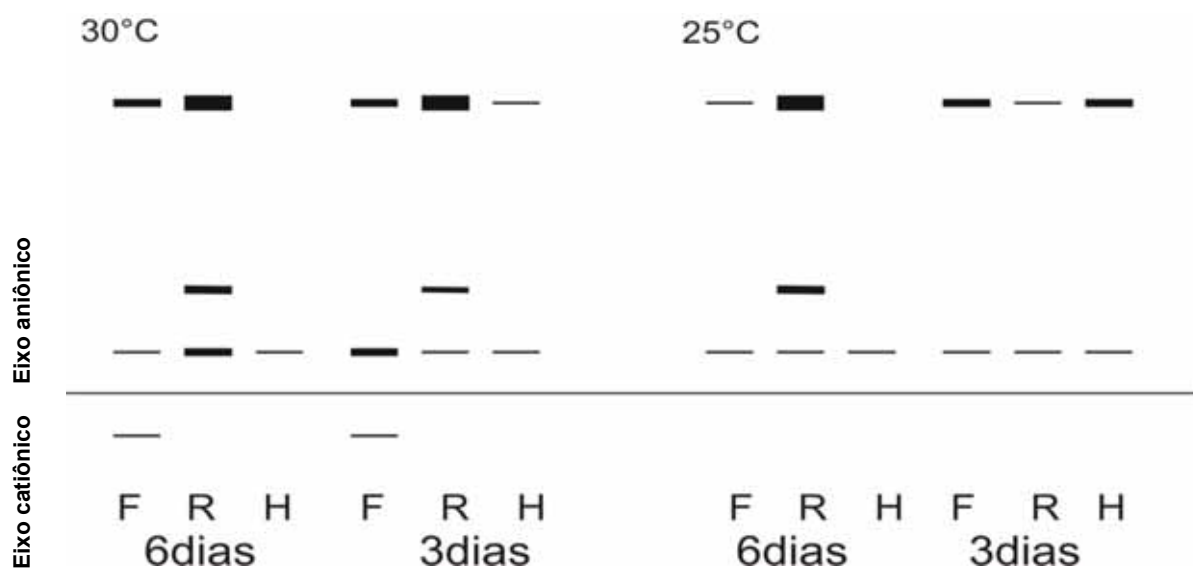


Figura 11 – Bandas da atividade da enzima peroxidase em gel de amido de extratos obtidos de brotos de folha (F), raiz (R) e hipocótilo (H) de feijão-mungo-verde, através de técnica da eletroforese horizontal em gel de amido.



relativa das bandas em gel da enzima peroxidase, observadas nas análises eletroforéticas de extratos obtidos de folha (F), raiz (R) e hipocótilo (H) de brotos de feijão-mungo-verde.

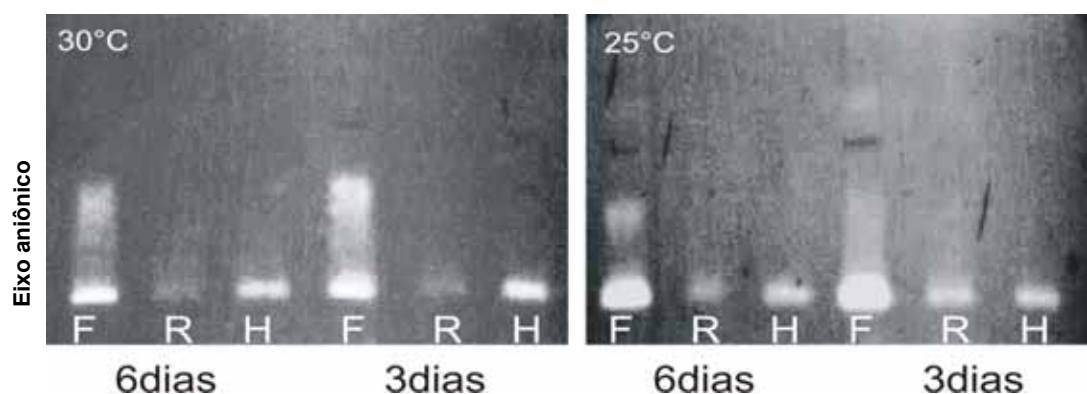


Figura 13 - Bandas da atividade da enzima catalase em gel de amido de extratos obtidos de folha (F), raiz (R) e hipocótilo (H) de brotos de feijão-mungo-verde produzidos em duas temperaturas diferentes (30 °C e 25 °C) e dois estádios de desenvolvimento (seis e três dias), através de técnica da eletroforese horizontal em gel de amido.

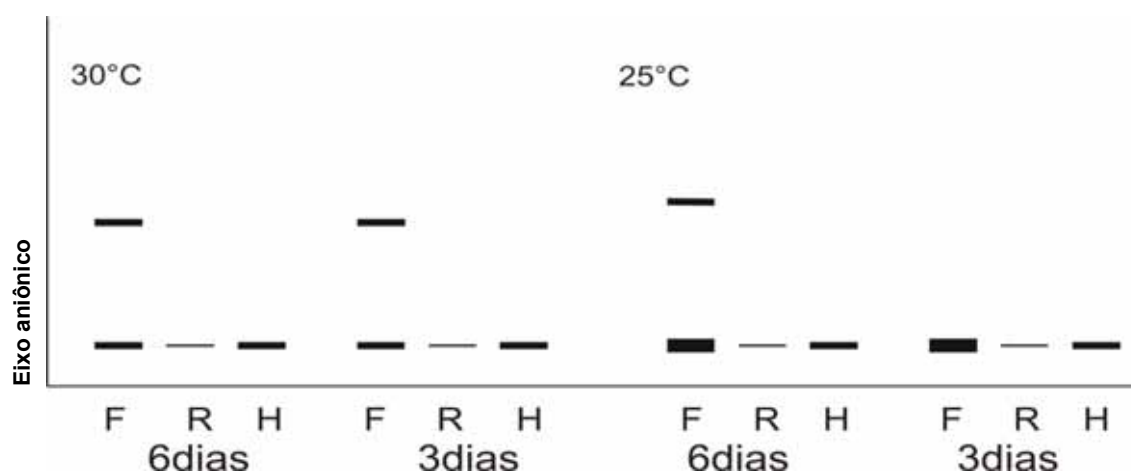


Figura 14 – Zimograma, com base na mobilidade relativa das bandas em gel da enzima catalase, observadas nas análises eletroforéticas de extratos obtidos de folha (F), raiz (R) e hipocótilo (H) de brotos de feijão-mungo-verde.

3.5. Conclusões

Brotos cultivados em temperatura de 25 °C e colhidos com três dias de desenvolvimento tiveram menor atividade da enzima peroxidase, o que reduziu o escurecimento dos tecidos.

A adição de substâncias ácidas (pH abaixo de 4) ou básicas (pH acima de 8) diminui a atividade peroxidativa e pode aumentar a vida de prateleira dos brotos de feijão-mungo.

O tratamento com alta temperatura foi eficiente para eliminar a atividade da enzima peroxidase quando efetuado em aproximadamente 90 °C, por um período de 10 min.

As isoformas da enzima peroxidase obtidas na eletroforese em gel de amido são mais intensas em brotos com seis dias de desenvolvimento e produzidos à temperatura de 30 °C.

4. EFEITO DE ETILENO E ÁCIDO GIBERÉLICO NA QUALIDADE DE BROTOS DE FEIJÃO-MUNGO-VERDE

4.1. Resumo

Reguladores de crescimento são usados como agentes para controle da dormência de sementes e crescimento das plântulas. Este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos do etileno (Ethrel) e do ácido giberélico (AG₃), aplicados isoladamente ou em conjunto, durante a germinação de sementes e crescimento dos brotos de feijão-mungo-verde. O experimento foi conduzido no Laboratório de Pós-Colheita do Departamento de Fitotecnia da UFV. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com quatro repetições. A cultivar avaliada foi a Ouro Verde MG 2. A aplicação de 20 ppm de Ethrel às 8 e 10 h após o início da embebição aumentou a espessura dos brotos. No entanto, melhores resultados foram obtidos com a aplicação conjunta do Ethrel (20 ppm) e do GA₃ (500 ppm), no mesmo período descrito anteriormente e produzidos a 25 °C $\pm$ 2 °C, obtendo-se melhor qualidade dos brotos, como: aumento da espessura e comprimento de hipocótilo e coloração mais clara dos brotos. A qualidade dos brotos foi ruim quando as sementes foram germinadas em temperatura constante de 30 °C. Eles se tornaram muito tenros e com a coloração mais escura em relação aos produzidos a 25 °C.

4.2. Introdução

Utilizados há 5.000 anos pelos chineses, os brotos de feijão só nas últimas décadas tornaram-se interesse dos povos ocidentais. No Brasil, particularmente, o consumo de broto aumentou na década de 90 e atualmente é facilmente encontrado nos mercados de frutas e hortaliças, com grande uso na culinária oriental e restaurantes macrobióticos (VIEIRA et al., 1992). A existência de variedades de feijão-moyashi adaptadas às condições brasileiras possibilita o sucesso da produção dos brotos.

A germinação constitui uma série de processos metabólicos que ocorrem de forma programada, e qualquer substância que interfira nessa sucessão de eventos possivelmente poderá alterar o seu curso. Substâncias químicas inibidoras da germinação, presentes na semente, são uma das causas da dormência e têm sido extraídas de muitas espécies (CARVALHO e NAKAGAWA, 2000). Isso porque esse balanço hormonal nas sementes pode afetar negativamente a germinação, necessitando do uso de reguladores vegetais para iniciar e acelerar o processo germinativo. A promoção da germinação de sementes pelo etileno foi descrita pela primeira vez por Vacha e Harvey (1927), como citado por Abeles et al. (1992). Também, o endosperma pode retardar ou prevenir a germinação das sementes, atuando como barreira física à emissão da radícula, especialmente em condições adversas (SUNG, 1998). Assim, o “enfraquecimento” do endosperma torna-se necessário, nessas condições, à emissão da radícula.

Em leguminosas, a impermeabilidade do tegumento à água é uma das causas mais comuns de dormência nas sementes. No entanto, para a superação desse tipo de dormência, é necessária a mudança de certos constituintes da semente (POPINIGIS, 1985).

Conforme Bewley e Black (1985), a manutenção da semente em condições de altas ou baixas temperaturas (pós-maturação), mudança nas condições de luminosidade e a utilização de reguladores de crescimento para alterar o balanço hormonal são algumas das técnicas utilizadas para a superação da dormência embrionária. Metivier (1986) ressaltou a

importância das giberelinas na superação da dormência e no controle de hidrólise das reservas, da qual depende o embrião em crescimento. Há inúmeras evidências de utilização de compostos químicos na superação da dormência de sementes. Entre eles, o nitrato de potássio e as giberelinas são incluídos em alguns testes de viabilidade de sementes (ISTA, 1985).

O etileno age na germinação ao facilitar e acelerar o transporte das enzimas, sintetizadas pela ação do ácido giberélico (GA_3) na camada de aleurona até o endosperma, em que as enzimas, como a alfa amilase, proteases e ribonucleases atuam na degradação das reservas de amido, proteína e ácido ribonucléico e na promoção da germinação e formação posterior da plântula (FELIPPE, 1979). O emprego de etileno, segundo Ferreira (1998), na concentração de 150 mg/L foi benéfico no processo germinativo em sementes de *Passiflora giberti*.

O uso de reguladores de crescimento, como giberelinas e citocininas, na germinação provoca o aumento do vigor das plântulas, acelerando a velocidade de emergência e realçando o potencial das sementes de várias espécies (BEVILAQUA et al., 1998). A aplicação de giberelinas na germinação pode melhorar o desempenho de sementes de várias espécies, principalmente em condições adversas. As giberelinas têm grande importância na germinação de sementes, pois estão envolvidas na superação da dormência e, também, na síntese de enzimas hidrolíticas envolvidas no processo de mobilização de reservas do endosperma para o embrião. O ácido giberélico pertence ao grupo das giberelinas e é considerado ativador enzimático endógeno, promovendo a germinação (LEVITT, 1974), e a sua aplicação influencia o metabolismo protéico, podendo dobrar a taxa de síntese de proteínas das sementes (Mc DONALD e KHAN, 1983).

Na maioria das espécies, as giberelinas atuam no aumento do alongamento celular, fazendo com que a raiz primária rompa os tecidos que restringem o seu crescimento, como o endosperma, o tegumento da semente ou pericarpo do fruto (SALISBURY e ROSS, 1991).

O presente experimento teve como objetivo estudar os efeitos do uso do etileno (Ethrel), do ácido giberélico (GA_3) e da combinação desses

reguladores de crescimento na germinação das sementes e no crescimento dos brotos de feijão-mungo-verde.

4.3. Material e Métodos

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Pós-Colheita do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa (UFV), no período de junho a dezembro de 2003.

Foram utilizadas sementes de feijão-mungo-verde, cultivar Ouro Verde MG 2.

Para a produção dos brotos, a germinação das sementes foi conduzida conforme as Regras para Análise de Sementes (RAS) (BRASIL, 1992). Foram utilizadas 100 sementes, para cada tratamento, com pesos de 5,5 a 5,8 g. As sementes foram colocadas em recipientes plásticos (2,8 L), os quais foram fechados com tela de náilon. Tais recipientes foram armazenados em local escuro. A germinação foi realizada nas temperaturas de $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $30\text{ }^{\circ}\text{C}$, durante cinco dias. A umidade relativa do ar foi de aproximadamente 90%, obtida com molhamento dos brotos em intervalos de 8 h para os produzidos a $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, e de 6 h para $30\text{ }^{\circ}\text{C}$. Os equipamentos e utensílios utilizados foram desinfetados antes de sua utilização, evitando, assim, a sua contaminação por fungos e bactérias. As sementes permaneceram nessas condições por cinco dias, sendo, posteriormente, as plântulas retiradas para avaliação, nos tratamentos a $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$. Os brotos produzidos em $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ foram avaliados a partir do segundo dia de desenvolvimento.

A água utilizada foi suficiente para encharcar e lavar todas as sementes e, ou, brotos de mungo-verde. Para a desinfecção das sementes, utilizaram-se 5 mL de hipoclorito de sódio para cada litro de água, no período da embebição (12 h).

Na primeira etapa do experimento, em cada tratamento foram aplicados 20 ppm, ou seja, 80 $\mu\text{L/L}$ de etileno ou Ethephon ou Ethrel (ácido 2-cloro-etil-fosfônico) em diferentes estádios de desenvolvimentos dos

brotos. As aplicações de Ethrel foram efetuadas de 12 em 12 h, dando início ao tratamento relativo à embebição e finalizando com a aplicação às 84 h após o período da embebição.

Na segunda etapa, as aplicações de Ethrel (20 ppm) foram efetuadas durante o período da embebição de 2 em 2 h. Foi também realizado um tratamento com o dobro da dose de Ethrel (40 ppm). Essa aplicação foi executada logo após a embebição durante o período de 2 h, para comparação dos efeitos da quantidade do produto no desenvolvimento dos brotos.

Com base nos melhores resultados obtidos na segunda etapa, realizou-se a terceira etapa do experimento. Nessa etapa, além da aplicação de Ethrel, foi adicionado ácido giberélico na concentração de 500 ppm (0,0144 g/L), logo após a embebição por 20 min. Os tratamentos foram: Ethrel e ácido giberélico isoladamente e a adição de ambos os produtos em conjunto.

Posteriormente, com os melhores resultados da terceira etapa, montou-se o último experimento. Neste, a temperatura utilizada para a produção de brotos foi fixada em 30 °C, sendo os brotos avaliados a partir do segundo dia de germinação das sementes. A obtenção dos dados finalizou-se no quinto dia de desenvolvimento.

Os seguintes fatores de produção e qualidade dos brotos foram avaliados após a germinação das sementes de feijão-mungo-verde:

a) Massa da matéria fresca: foi obtida pela pesagem dos brotos logo após cinco dias de germinação das sementes, descartando-se os tegumentos antes da obtenção da massa. Os resultados foram expressos em gramas.

b) Massa da matéria seca: a matéria seca total foi determinada, realizando-se a secagem dos brotos, com cinco dias de desenvolvimento, em estufa a 70 °C, até massa constante. Os resultados foram expressos em gramas.

c) Comprimento do broto: foi conhecido mediante a medição entre as extremidades apical e basal dos brotos, com a utilização de régua milimetrada. Os resultados foram expressos em centímetros.

d) Comprimento do hipocótilo e da raiz: obtido por meio da medição entre as extremidades apical e basal do hipocótilo e da raiz, à semelhança do item anterior. Os resultados foram expressos em centímetros.

e) Espessura do hipocótilo: obtida medindo-se, com paquímetro, a porção mais dilatada do hipocótilo. Os resultados foram expressos em centímetros.

f) Coloração do broto: avaliada por meio da utilização de uma escala de cores, com valores entre 1 e 4, sendo 1 a cor mais clara, 2 a cor clara (amarelo claro), 3 a cor escura (amarronzada) e 4 a mais escura (marrom).

g) Raízes adventícias: nestas foi observada a presença ou não de raízes adventícias dos brotos com cinco dias de desenvolvimento, para tratamentos de $25\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$, a partir do segundo dia de desenvolvimento dos brotos produzidos a 30 °C .

O experimento foi montado no delineamento de blocos ao acaso, com quatro repetições. Os dados foram avaliados por meio da análise de variância. As médias foram comparadas utilizando os testes de Tukey e Dunnet a 5% de probabilidade. Na última etapa (quarta etapa) do experimento foram feitos gráficos com desvio-padrão, para comparação dos dias de desenvolvimento dos brotos de feijão-mungo-verde.

4.4. Resultados e Discussão

Na primeira etapa do experimento, o efeito da aplicação do Ethrel (20 ppm) reduziu significativamente o comprimento do hipocótilo (CH), em comparação com a testemunha (Tabela 1). No entanto, efeito oposto foi observado em relação à espessura dos brotos. Assim, com a aplicação de etileno os brotos reduziram o tamanho, porém aumentaram em diâmetro. De acordo com os resultados, tal efeito foi mais expressivo nos brotos com aplicação de ethephon durante o período da embebição das sementes (Figuras 1, 2, 3 e 4), comprovando, assim, o experimento realizado por Chen et al. (1987), em que ocorreu aumento na espessura do hipocótilo de brotos de feijão-mungo com aplicação de 20 ppm de Ethephon.

Tabela 1 – Efeito da aplicação do Ethrel (20 ppm) em diferentes horários da germinação das sementes de feijão-mungo-verde. Massa fresca dos brotos (MFB), massa seca dos brotos (MSB), comprimento total (CT), comprimento do hypocótilo (CH), comprimento da raiz (CR), espessura do hypocótilo (EHIP).

Tratamento	MFB (g)	MSB (g)	CT (cm)	CH (cm)	CR (cm)	EHIP (cm)
Testemunha	25,35a	21,12a	12,13a	4,36a	6,89a	0,233 b
Embebição	22,15 b	18,03a	10,07ab	2,85 b	6,37a	0,269a
Após em bebição	0 h	23,40ab	19,48a	9,95ab	2,97 b	6,20a
	24 h	23,33ab	19,36a	10,52ab	3,04 b	6,60a
	36 h	23,33ab	19,32a	9,43ab	2,48 b	6,23a
	48 h	22,21ab	18,14a	9,13 b	2,31 b	6,08a
	60 h	23,32ab	19,52a	9,62ab	2,57 b	6,32a
	72 h	22,03 b	17,61a	9,70ab	2,66 b	6,30a
	84 h	23,71ab	20,07a	10,52ab	2,74 b	7,02a
C.V. (%)	5,64	8,01	11,74	17,18	12,07	4,60

Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, não diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

A massa fresca total dos brotos (MFB) no tratamento com aplicação de Ethrel (20 ppm) após 72 h da embebição e o comprimento total (CT) após 48 h foram significativamente superiores aos brotos da testemunha (Tabela 1). Porém, tal resultado não significa que a aplicação do Ethrel foi ineficiente, nem mesmo que tenha ocorrido diminuição na qualidade dos brotos. Segundo Buescher e Chang (1982), os brotos mais desejáveis são os que contêm raízes pequenas, e o hypocótilo deve ser longo (mais de 5 cm) e espesso (mais de 2 mm). Portanto, com a aplicação de Ethrel, é possível controlar, pelo menos, a espessura dos brotos, adaptando-se, assim, às exigências dos consumidores.

Não houve diferença significativa entre as médias da massa seca dos brotos (MSB) e o comprimento da raiz (CR) (Tabela 1).

Em todos os tratamentos, os brotos apresentaram cor clara. Não houve desenvolvimento de raízes secundárias (Figura 1). A colheita dos brotos, segundo Barradas et al. (1989), é feita quando as folhas primárias, de coloração ainda amarela, formam-se, o que ocorre em torno do quinto dia

após o início da germinação. Os brotos devem apresentar coloração creme, consistência firme e ausência de cheiro ou coloração indesejável.

A Tabela 2 ilustra o efeito da aplicação do Ethrel (20 ppm) na germinação das sementes de feijão-mungo quando foi efetuada de 2 em 2 h, no período de embebição. Maior efeito desse regulador de crescimento ocorreu quando a dose foi aumentada de 20 para 40 ppm.

Tabela 2 – Efeito da aplicação do Ethrel (20 ppm) em diferentes horários da embebição das sementes de feijão-mungo-verde e da aplicação do Ethrel (40 ppm) durante 2 h após o período de embebição das sementes. Massa fresca dos brotos (MFB), massa seca dos brotos (MSB), comprimento total (CT), comprimento do hipocótilo (CH), comprimento da raiz (CR), espessura do hipocótilo (EHIP).

Tratamentos	MFB (g)	MSB (g)	CT (cm)	CH (cm)	CR (cm)	EHIP (cm)
Testemunha	34,82a	3,497a	14,253a	5,994a	7,219a	0,231 b
Embebição						
0 h	32,05ab	3,527a	10,805ab	3,610ab	5,760 b	0,252ab
2 h	30,13abcd	2,922ab	18,915abc	2,324ab	4,379 b	0,272ab
4 h	31,01abcd	3,705a	19,610abc	2,906ab	4,941 b	0,260ab
6 h	29,15abcd	3,412a	19,345abc	2,775ab	5,009 b	0,265ab
8 h	32,20ab	3,643a	10,543abc	3,508ab	5,491 b	0,259ab
10 h	31,35abc	3,377a	11,111ab	3,654ab	5,636 b	0,249ab
2 x Ethrel	28,58abcd	3,600a	18,559abc	2,570ab	4,451 b	0,267ab
C.V. (%)	3,71	5,17	8,99	16,88	11,41	14,42

Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, não diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Os comprimentos totais, do hipocótilo e da raiz dos brotos foram reduzidos significativamente com a aplicação do Ethephon. O contrário aconteceu com a espessura dos brotos. Assim, a Tabela 3 foi obtida com a média da razão entre o comprimento total (CT) e a espessura do hipocótilo (EHIP). Tal razão foi alterada com a utilização do produto em diferentes horários da embebição. A razão diminuiu com a aplicação de Ethrel em relação à testemunha, indicando que ocorreu espessamento e, ou, simultâneo encurtamento dos brotos. De acordo com os resultados da razão, os tratamentos mais eficientes foram aqueles cuja aplicação foi efetuada 8 h

e 10 h após o princípio da embebição das sementes de mungo-verde (Tabela 3).

A testemunha não diferiu significativamente apenas do tratamento com aplicação de Ethrel realizada após 8 h da embebição das sementes, em relação à massa da matéria fresca. Observou-se também que o aumento da dose do produto, além de interferir em todos os outros fatores, reduzindo a qualidade do moyashi, provocou queda significativa na matéria seca dos brotos (Tabelas 2 e 3).

Tabela 3 – Média da razão entre o comprimento total e a espessura do hipocótilo de brotos de feijão-mungo-verde da etapa da aplicação do Ethrel (20 ppm) em diferentes horários da embebição das sementes de feijão-mungo-verde e da aplicação do Ethrel (40 ppm) durante 2 h após o período de embebição.

Tratamentos		Razão
Testemunha		61,8
Embebição	0 h	39,0
	2 h	32,9
	4 h	36,9
	6 h	35,7
	8 h	40,9
	10 h	44,7
2 x Ethrel		32,3

A massa fresca dos brotos (MFB), a massa seca dos brotos (MSB), o comprimento total (CT) e o comprimento das raízes (CR) não diferiram significativamente quando submetidos à aplicação de Ethrel (20 ppm) e ácido giberélico (500 ppm), pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (Tabela 4). Porém, houve diferenças significativas com relação ao comprimento e espessura do hipocótilo (Figura 7). Nos tratamentos com Ethrel, os brotos apresentaram menor hipocótilo e maior espessura em relação ao tratamento com ácido giberélico. Entretanto, os brotos tratados com AG₃ apresentaram maior comprimento de hipocótilo e mais finos que a testemunha. Chen et al. (1987), em estudo realizado com brotos de feijão-

mungo, constataram o alongamento do hipocótilo em tratamentos com doses de 500 e 1.000 ppm de ácido giberélico.

Quando foi feita a aplicação de ambos os produtos, a qualidade dos brotos torna-se superior à dos demais tratamentos (Figura 8). Com a aplicação conjunta dos reguladores de crescimento, o ácido giberélico diminuiu o efeito negativo do etileno, ou seja, os brotos tornaram-se mais longos quando comparados com os que receberam aplicação apenas de Ethrel (20 ppm). Também houve aumento na espessura do hipocótilo com tal associação, em relação ao ácido giberélico isoladamente e ao controle.

Os tratamentos com Ethrel às 8 e às 10 h após o início da embebição com a adição de 500 ppm de AG₃ não diferiram significativamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (Tabela 4).

Comprimento de raiz e espessura de hipocótilo tratados com Ethrel às 8 e às 10 h após o início da embebição e também às 10 h após o início com a adição de 500 ppm de AG₃ diferiram significativamente da testemunha, pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade (Tabela 4).

Os brotos produzidos com a aplicação de GA₃ obtiveram forma mais retilínea e coloração mais clara, em comparação com o controle, pois, em meio ácido, a atividade da enzima peroxidase foi reduzida. Segundo Caldas et al. (2003), a atividade peroxidativa, em brotos de feijão mungo-verde, é mais baixa em extremos de pH e mais elevada entre os pHs 4 e 6.

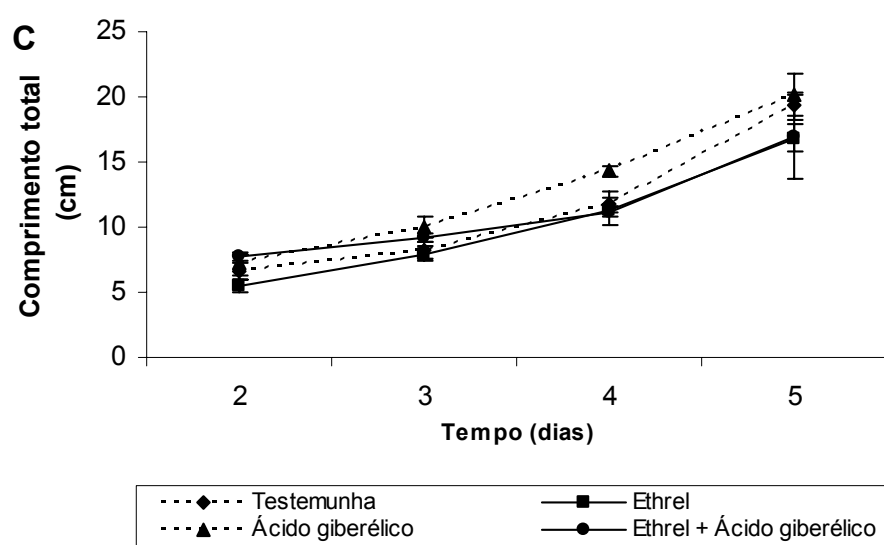
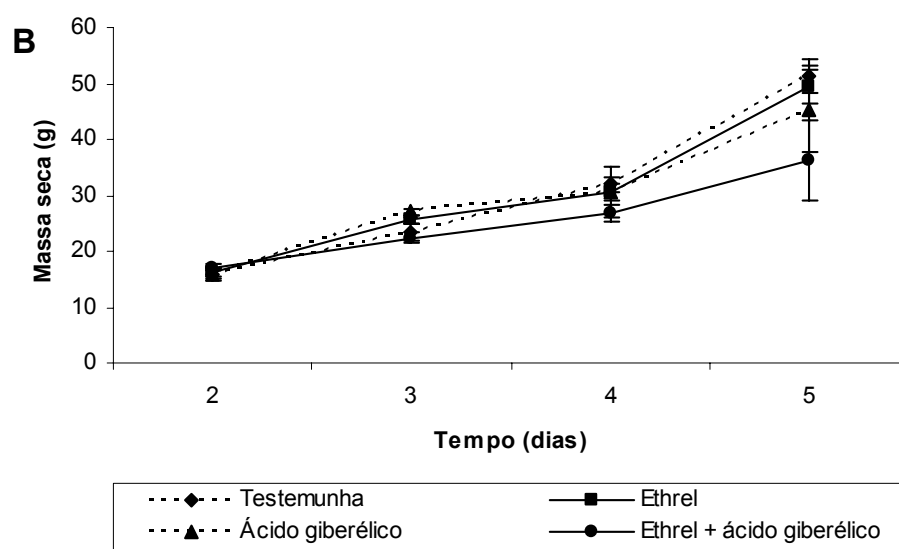
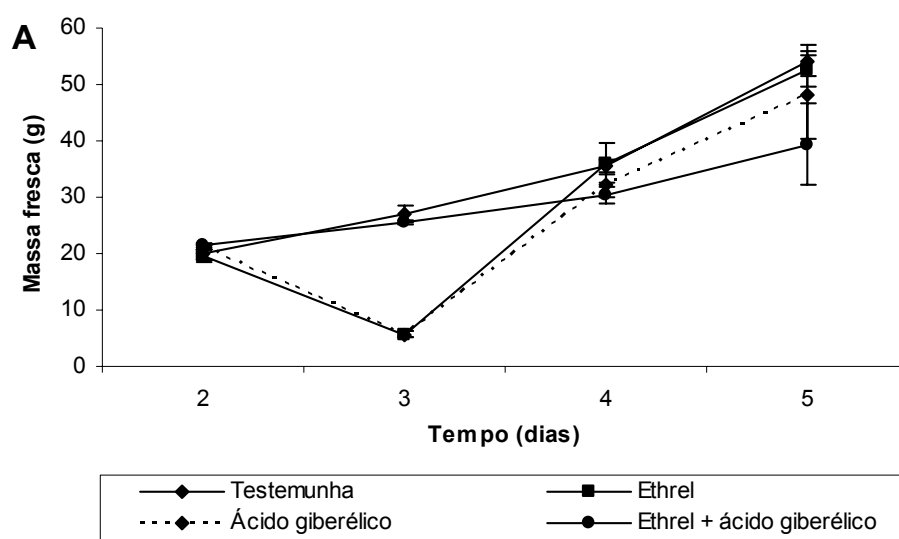
Na última etapa do experimento com a utilização de reguladores de crescimento para a produção dos brotos, foi fixada a temperatura de 30 °C, e, com esse aumento, a germinação tornou-se mais rápida. Pôde-se observar o crescimento do moyashi, como representado na Figura 9 (A a F), porém a qualidade do produto foi depreciada. As Figuras 16, 17 e 18 ilustram o surgimento de raízes adventícias nos brotos. Além do fator qualidade, os brotos tornaram-se muito tenros, e a coloração foi afetada, sendo classificada, de acordo com a escala de cores, com o valor 2 (clara). Isso ocorreu em razão de uma diversidade de fatores, como: elevação da atividade da enzima peroxidase, surgimento de fungos e bactérias e aumento da taxa respiratória, entre outros.

Tabela 4 – Efeito da aplicação do Ethrel (20 ppm) e do ácido giberélico (500 ppm) em dois horários do início da embebição de sementes de feijão-mungo-verde. Massa fresca dos brotos (MFB), massa seca dos brotos (MSB), comprimento total (CT), comprimento do hipocótilo (CH), comprimento da raiz (CR), espessura do hipocótilo (EHIP).

Tratamento	MFB (g)	MSB (g)	CT (cm)	CH (cm)	CR (cm)	EHIP (cm)
Testemunha	35,035a	3,121a	13,898a	4,975abc	7,600a	0,230 bc
Ethrel 8 h	30,093a	3,316a	10,773a	3,498 c	6,385a*	0,259a*
Ethrel 10 h	33,065a	3,283a	10,780a	3,488 c	6,373a*	0,259a*
GA₃	36,288a	3,251a	17,820a	6,435a	7,298a	0,211 c
Ethrel 8 h + GA₃	34,800a	3,203a	16,328a	5,655ab	6,923a	0,239ab
Ethrel 10 h + GA₃	33,423a	3,274a	11,595a	4,273 bc	6,305a*	0,254ab*
C.V. (%)	8,31	3,35	26,51	18,88	8,51	5,17

Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, não diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

* As médias seguidas de asterisco diferem da testemunha ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett.



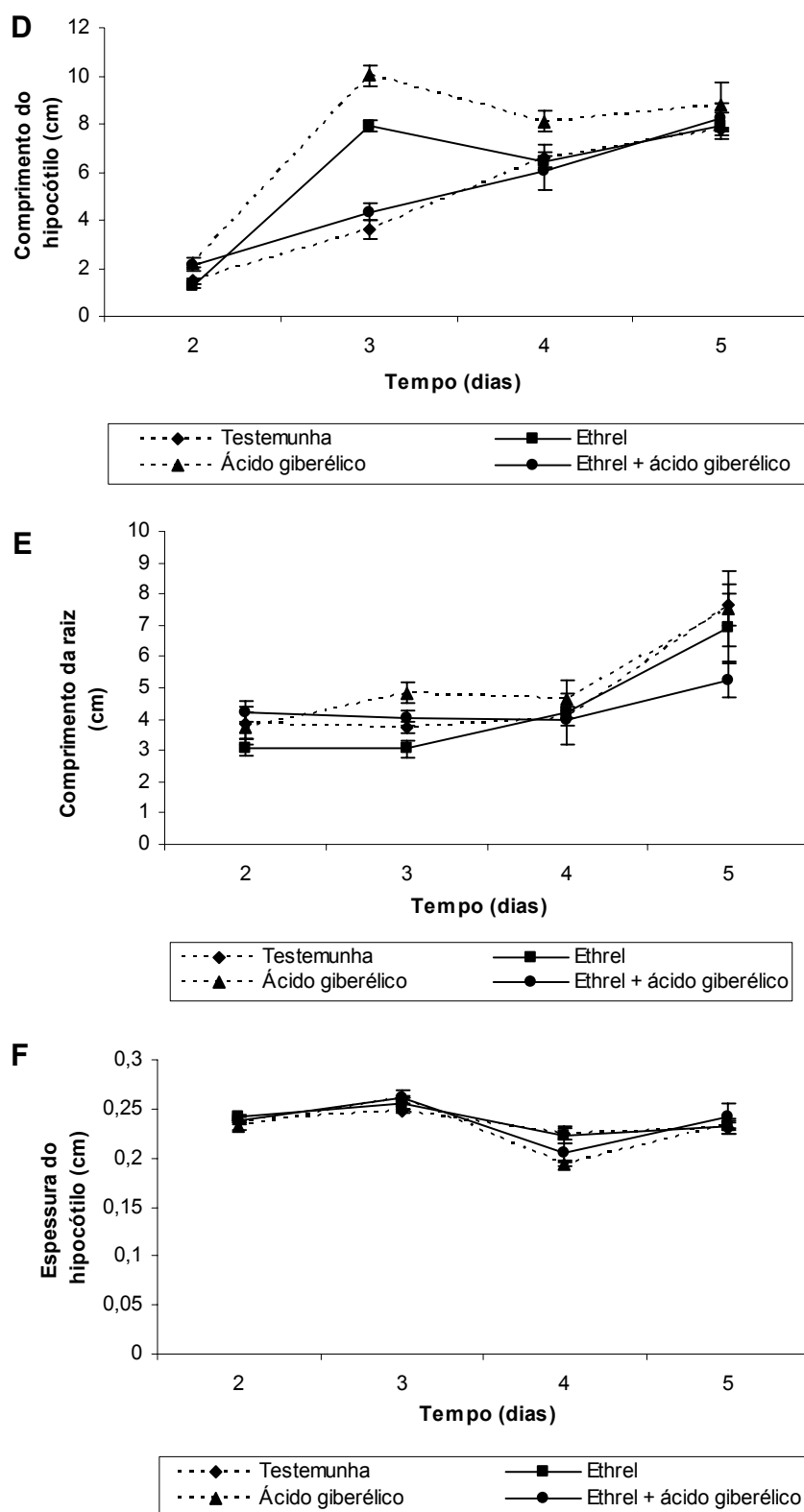
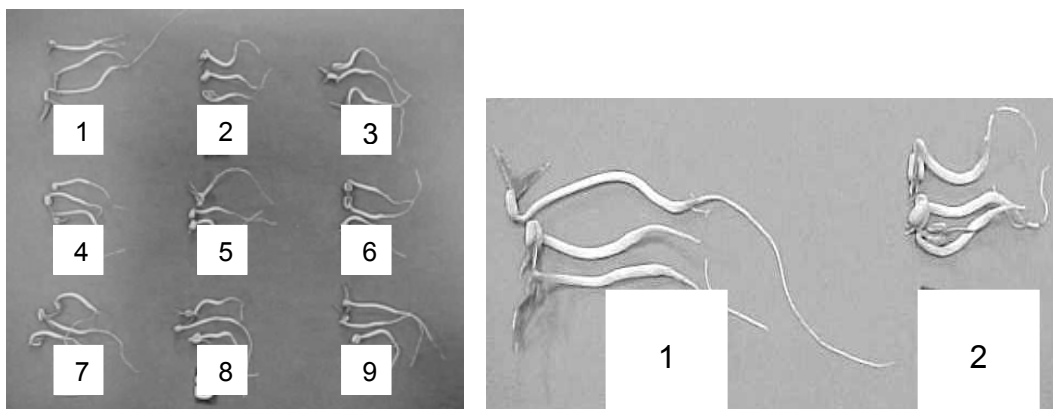
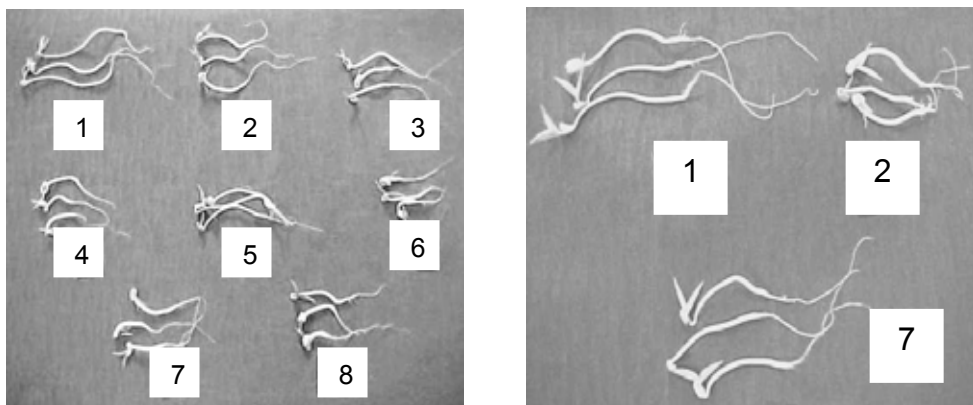


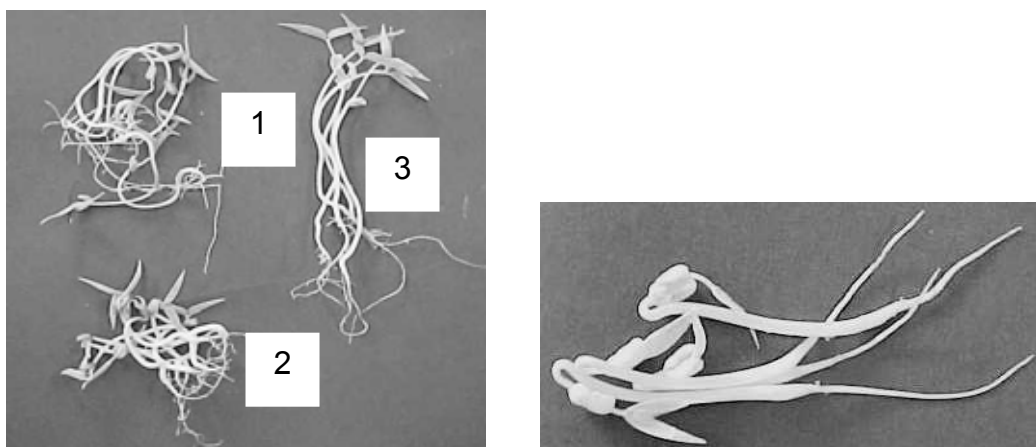
Figura 9 – Experimento de produção de brotos de feijão com aplicação de Ethrel (20 ppm) e GA₃ (500 ppm), em temperatura constante de 30 °C. Massa fresca dos brotos (A); massa seca dos brotos (B); comprimento total (C); comprimento do hipocótilo (D); comprimento da raiz (E) e espessura do hipocótilo (F).



Figuras 3 e 4 – Experimento com Ethrel (20 ppm) aplicados de 12 em 12 h. Tratamentos: testemunha (1); Ethrel durante o período da embebição (2); Ethrel após embebição (3); Ethrel 24 h após embebição (4); Ethrel 36 h após embebição (5); Ethrel 48 h após embebição (6); Ethrel 60 h após embebição (7); Ethrel 72 h após embebição (8); Ethrel 84 h após embebição (9).



Figuras 5 e 6 – Experimento com Ethrel (20 ppm) aplicados durante o período embebição. Tratamentos: testemunha (1); Ethrel no início da embebição (2); Ethrel a 2 h da embebição (3); Ethrel a 4 h da embebição (4); Ethrel a 6 h da embebição (5); Ethrel a 8 h da embebição (6); Ethrel a 10 h da embebição (7); Dobro a dose de Ethrel durante 2 h após embebição (8).



Figuras 7 e 8 – Experimento com aplicação de Ethrel (20 ppm) e ácido giberélico (500 ppm), com temperatura constante de 30 °C. Tratamentos: testemunha (1); Ethrel (2); ácido giberélico (3); Ethrel e ácido giberélico (10h) à direita.

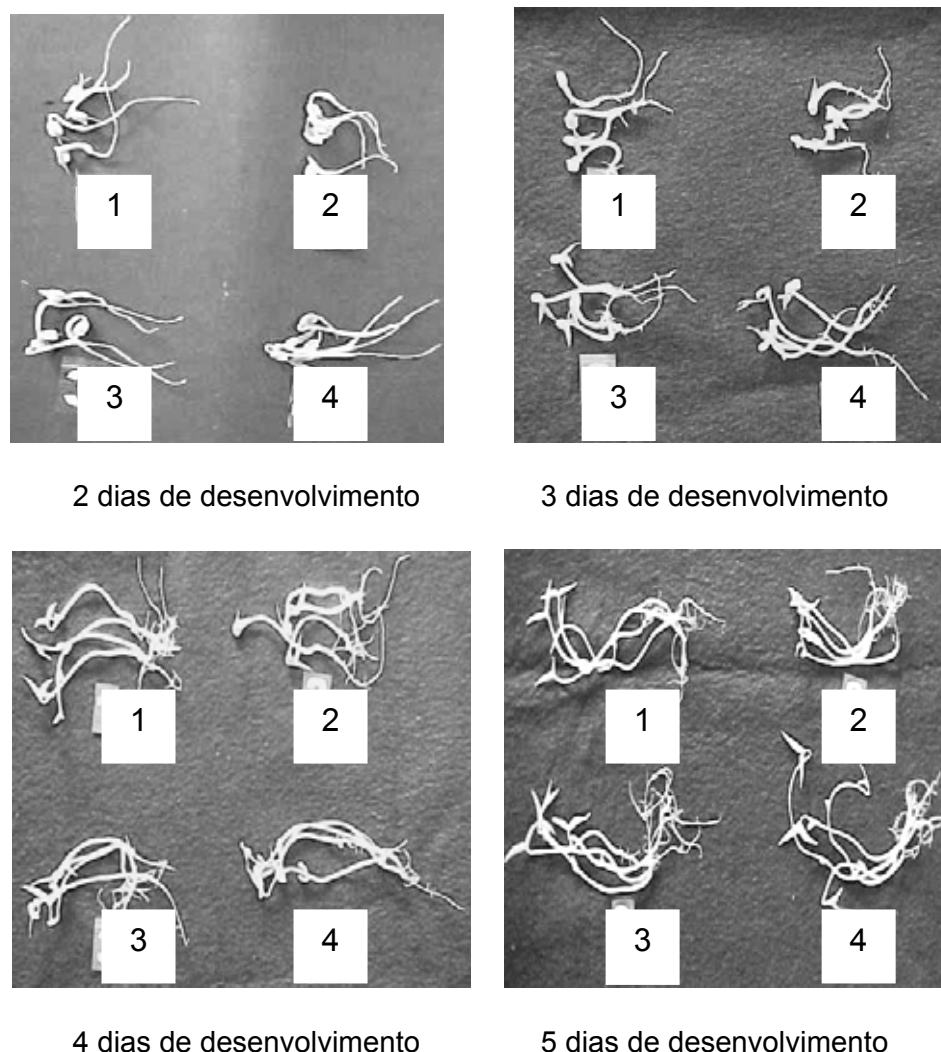


Figura 15, 16, 17 e 18 – Experimento com aplicação de Ethrel (20 ppm) e ácido giberélico (500 ppm) (30 °C). Tratamentos: Testemunha (1); Ethrel após 10 h do início da embebição (2); ácido giberélico (3) e Ethrel após 10 h do início da embebição e ácido giberélico (4).

4.5. Conclusões

Brotos produzidos com a aplicação de 20 ppm de Ethrel no início da embebição das sementes obtiveram aumento na sua espessura.

A utilização de 20 ppm de Ethephon durante a embebição das sementes teve efeito na espessura daqueles brotos, cuja aplicação do produto se deu às 8 e 10 h após o início da embebição.

Os brotos produzidos com a aplicação de 40 ppm de ethephon perderam a qualidade final.

A combinação de Ethrel (20 ppm) e ácido giberélico (500 ppm) aumentou a qualidade dos brotos.

O aumento da temperatura (30 °C) foi prejudicial à produção do moyashi em todos os tratamentos.

5. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE ÁGUA EM SEMENTES E BROTONS DE LINHAGENS DE FEIJÃO-MUNGO-VERDE

5.1. Resumo

Este trabalho teve como objetivo determinar o teor de água das sementes e de brotos de diferentes linhagens de feijão-mungo-verde (*Vigna radiata* L., Leguminosae). O teor de água das sementes e dos brotos foi determinado em estufa a 70 °C até a obtenção de massa constante. O experimento foi desenvolvido nos Laboratórios de Pós-Colheita do Departamento de Fitotecnia da UFV. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, com oito tratamentos e quatro repetições de 50 sementes, sendo as médias obtidas em cada teste e comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Não houve diferença significativa entre as linhagens quanto ao teor de água dos brotos. As sementes da linhagem VC 3902A foram as que obtiveram maior média no teor de água. O teor de água das sementes não influenciou o conteúdo de água dos brotos com cinco dias de desenvolvimento.

5.2. Introdução

O feijão-mungo-verde [*Vigna radiata* (L.) Wilcke] é uma leguminosa importante, plantada extensivamente como fonte de alimentos e para uso industrial nas regiões tropicais e subtropicais. Estima-se que 1,5 milhão de toneladas de feijão-mungo é produzido anualmente no mundo em aproximadamente 3,8 ha, sendo a Índia o maior produtor mundial, a Europa e os EUA os maiores importadores (VIEIRA et al., 2001).

Os brotos de feijão (“moyashi”) são alimentos altamente nutritivos, em cuja produção não se utiliza nenhum tipo de adubo ou de defensivo. O processo de germinação é iniciado com a imersão das sementes em água por 12 h (CHEN et al., 1987). Posteriormente, deve-se manter um ambiente de alta umidade sem, contudo, bloquear a aeração por excesso de água. São, assim, considerados produtos totalmente naturais, que utilizam apenas as reservas armazenadas nas sementes para germinar e alcançar o tamanho adequado para consumo (VIEIRA e LOPES, 2001).

Segundo Barradas et al. (1989), os aspectos do “moyashi” devem ser: coloração creme, ausência de cheiros desagradáveis ou pigmentação e consistência tenra. A pigmentação avermelhada do broto indica falta de umidade e a cor esverdeada, entrada de luz, assim como a cor amarronzada e odores desagradáveis são devidos ao excesso de água e, também, à presença de microrganismos (fungos e bactérias).

As sementes quando colhidas e armazenadas, dependendo das condições ambientais, podem vir a ganhar e a perder água facilmente, por serem higroscópicas. Seu conteúdo de água está sempre buscando o equilíbrio com a umidade relativa do ar (ARAÚJO et al., 1996), e nesse processo de hidratação e secagem a qualidade fisiológica da semente pode ser comprometida. Segundo Motta e Silva (1997), quando a semente atinge nível adequado de hidratação, sendo viável e não-dormente, ela iniciará a germinação plena. No entanto, quando hidratadas parcialmente durante o período de pré-colheita (MOTTA e SILVA, 1997) ou em semeadura em solos de baixo potencial hídrico (HEGARTY, 1977), podem ocorrer alterações fisiológicas, que reduzem sua qualidade. Quando estão no solo, portanto, as

sementes ficam expostas às oscilações de umidade, sendo submetidas a vários ciclos de hidratação e secagem, o que afeta a capacidade de germinação (BERRIE e DRENNAN, 1972; HEGARTY, 1978). Dependendo das condições climáticas, as sementes podem vir a ganhar e perder água facilmente, e nesse processo de hidratação–secagem podem ocorrer danos e diminuição da sua qualidade fisiológica.

A disponibilidade de água é um dos fatores essenciais para desencadear a germinação. Durante esse processo, a absorção de água promove o amolecimento do tegumento e o aumento do volume do embrião e dos tecidos de reserva, facilitando a ruptura do tegumento, a difusão gasosa e a emergência da radícula. A hidratação proporciona, ainda, a diluição do protoplasma, permitindo a difusão de hormônios e a conseqüente ativação de sistemas enzimáticos; com isso, ocorrem a digestão, a translocação e a assimilação das reservas, resultando no crescimento do embrião (MARCOS-FILHO, 1986). Nos testes realizados em laboratório, o substrato deve ser suficientemente umedecido para garantir o crescimento do embrião e a formação da plântula. A deficiência de água impossibilita a seqüência dos processos bioquímicos, físicos e fisiológicos que determinam a retomada do crescimento do embrião. No entanto, o excesso de umidade é prejudicial, porque dificulta a respiração, causando atraso ou paralisação do desenvolvimento ou, ainda, anormalidades nas plântulas, como a ausência de radículas e a aparência hialina das plântulas (MARCOS-FILHO, 1987).

Além do grau de umidade, há outros fatores que afetam a manutenção da qualidade das sementes ao longo do tempo, como as condições do ambiente de armazenamento, principalmente a temperatura e umidade relativa do ar e o tipo de acondicionamento utilizado. Ademais, a longevidade das sementes é influenciada por outros fatores, como espécies, variedades e histórico das sementes (CARVALHO e NAKAGAWA, 2000).

Barreiro et al. (2003), em estudos com *Vigna mungo* (L.) Heper, relataram que a maturidade fisiológica das sementes ocorreu aos 91 dias após a emergência de plântulas, quando apresentavam cerca de 21% de água, coincidindo, portanto, com a máxima qualidade fisiológica.

O desenvolvimento deste trabalho teve como objetivo a determinação do teor de água das sementes e dos brotos de diferentes linhagens de feijão-mungo-verde.

5.3. Material e Métodos

As linhagens de feijão-mungo-verde utilizadas foram Ouro Verde MG 2, VC 1973A, VC 5734A, V 3476, VC 4039A, VC 6148B16, VC 3890B e VC 3902A. O presente trabalho foi desenvolvido nos Laboratório de Pós-Colheita do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa (UFV), de abril a junho de 2003.

Para determinação da percentagem da germinação foram utilizadas 200 sementes, sendo 50 por repetição, de cada linhagem de feijão-mungo. Usaram-se, de cada linhagem, 50 sementes para a determinação do seu teor de água e 30 g de sementes para produção de brotos.

O teste de germinação foi realizado conforme as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992). As sementes foram germinadas em rolo de papel “germitest”, umedecido com água destilada na proporção duas vezes e meia o peso do papel. O teste foi conduzido em germinador a 25 °C e umidade relativa do ar entre 90% e 95%. As avaliações foram realizadas cinco dias após a semeadura, e os resultados foram expressos em percentagem média de plântulas normais.

Para a obtenção dos brotos, a germinação das sementes ocorreu conforme as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992). As sementes foram colocadas para germinar em recipientes plásticos (2,8 L), os quais foram fechados com tela de náilon. A temperatura de germinação foi de aproximadamente 25 °C e a umidade relativa do ar, entre 90% e 95%, obtida através de molhamento em período de 8 em 8 h, com duração de 9 min. Os equipamentos e utensílios utilizados foram desinfetados antes de sua utilização, evitando, com isso, a contaminação do material. Para a desinfecção das sementes, realizada no período da embebição (12 h), utilizaram-se 5 mL de hipoclorito de sódio para cada litro de água.

Para a determinação do teor de água das sementes e dos brotos com cinco dias de desenvolvimento, eles foram secados em estufa com circulação forçada de ar à temperatura de aproximadamente 70 °C até o peso constante.

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado, com oito tratamentos e quatro repetições para cada linhagem. Para a comparação das médias foi usado o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

5.4. Resultados e Discussão

O teor de água das sementes das linhagens estudadas variou de 17,14% (Ouro Verde MG 2) a 26,50% (VC 3902A). As sementes da linhagem VC 3902A apresentaram maior teor de água em relação às das VC 4039A, VC 5734A e VC 1973A e da cultivar Ouro Verde MG 2. As V 3476, VC 3890B e VC 6148B16 obtiveram percentagem do teor de água entre 21,45 e 22,88%, porém não diferiram significativamente entre si (Tabela 1).

Nos brotos, o teor de água variou de 92,72% (VC 3902A) a 93,86% (VC 1973A). Não houve diferença significativa entre os tratamentos na avaliação do teor de água dos brotos (Tabela 1). Pôde-se observar que as sementes da linhagem VC 3902A obtiveram menor valor absoluto do teor de água em brotos, porém foi a de maior valor absoluto nas sementes.

Os resultados da germinação das sementes variaram de 89% (VC 4039A) a 98% (VC 1973A). As sementes da linhagem VC 4039A foram as que apresentaram menor germinação, enquanto as das linhagens VC 1973A e V 3476, a maior. As sementes das linhagens VC 3902A, VC 3890B, VC 6148B16, VC 5734A e da cultivar Ouro Verde MG 2 não diferiram significativamente entre si, apresentando valores de germinação entre 92 e 95% (Tabela 1).

Quanto ao teor de água dos brotos aos cinco dias após a germinação, não houve diferença significativa, mesmo ocorrendo tais diferenças nos resultados do teor de água das sementes, não havendo, portanto, impedimento físico para a absorção de água. Porém, os resultados nas

sementes influenciaram a percentagem de germinação delas próprias.

Tabela 1 - Variação do teor de água e germinação em oito linhagens de feijão-mungo-verde.

Linhagens	Médias		
	Germinação	Sementes	Brotos
VC 5734A	94,0ab	19,87 b	93,15a
Ouro Verde MG 2	94,0ab	17,14 b	93,40a
VC 3902A	95,0ab	26,50a	92,72a
V 3476	97,0a	21,45ab	93,66a
VC 3890B	95,0ab	22,88ab	93,07a
VC 4039A	89,0 b	19,14 b	93,72a
VC 6148B16	92,0ab	22,49ab	93,32a
VC 1973A	98,0a	20,24 b	93,86a
C.V. (%)	6,29	31,17	2,53

Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, não diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

5.5. Conclusões

Houve diferença significativa entre os teores de água das sementes das diferentes linhagens, o que não refletiu em diferenças nesses teores dos brotos, que não diferiram entre si.

Os teores de água dos brotos das linhagens de feijão-mungo não diferiram entre si. As linhagens obtiveram diferenças significativas quando foram comparados os teores de água de suas sementes, sendo a linhagem VC 3902A a de maior valor.

O teor de água das sementes não influenciou o conteúdo de água dos brotos após cinco dias do início da germinação.

6. CONCLUSÕES GERAIS

- ✓ Brotos cultivados em temperatura de 25 °C e colhidos com três dias de desenvolvimento têm menor atividade da enzima peroxidase, o que reduz o escurecimento dos tecidos e prolonga a vida útil pós-colheita.
- ✓ Em pH abaixo de 4 ou acima de 8 houve redução da atividade peroxidativa.
- ✓ O tratamento com alta temperatura foi eficiente para eliminar a atividade da enzima peroxidase quando efetuado a 90 °C, pelo período de 10 min.
- ✓ As isoformas da enzima peroxidase obtidas em eletroforese em gel de amido são mais intensas em brotos com seis dias de desenvolvimento e crescidos a 30 °C.
- ✓ A aplicação de Ethrel (20 ppm) na embebição das sementes favoreceu o aumento da espessura dos brotos.
- ✓ A utilização de 20 ppm de Ethrel após 8 e 10 h de embebição das sementes teve efeito mais marcante na qualidade dos brotos. O tratamento com 40 ppm de Ethephon não é recomendado, pois os brotos cultivados nessas condições tiveram sua qualidade prejudicada, como comprimento reduzido e cor escura.
- ✓ A interação de 20 ppm de Ethrel e 500 ppm de ácido giberélico resultou em melhoria na qualidade dos brotos, pois o GA₃ superou o efeito de excessivo encurtamento do hipocótilo induzido pelo etileno e resultou em brotos com coloração mais clara que os dos outros tratamentos.

- ✓ As linhagens apresentaram diferenças significativas quando foram comparados os teores de água das sementes, sendo a linhagem VC 3902A a de maior valor.
- ✓ A avaliação do vigor das sementes de feijão-mungo pelo teste do envelhecimento acelerado e de condutividade elétrica não foi eficiente.
- ✓ O teste de germinação a baixa temperatura foi o mais adequado para identificar o vigor das sementes das diferentes linhagens de feijão-mungo-verde.
- ✓ Brotos produzidos à temperatura de 25 °C por três dias apresentaram melhor qualidade pós-colheita.
- ✓ A enzima peroxidase foi inativada pelo tratamento térmico a 90 °C por 10 min.
- ✓ A utilização dos reguladores de crescimento, Ethrel (20 ppm) e ácido giberélico (500 ppm) melhorou a obtenção de brotos de alta qualidade.
- ✓ O aumento da temperatura para 30 °C foi prejudicial para a produção do moyashi, pois causou escurecimento e amolecimento do produto.
- ✓ O teor de água das sementes não influenciou o conteúdo de água dos brotos após cinco dias do início da germinação.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABELES, F.B.; MORGAN, P.W.; SALTVEIT-JÚNIOR, M.E. **Ethylene in plant biology**. 2.ed. California: Academic Press, 1992, 414p.

ALFENAS, A.C.; PETER, I.; BRUNE, W.; PASSADOR, G.C. **Eletroforose de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais**. Viçosa, MG: UFV, 1991. 242p.

ANTUNES, F. **Atividade de enzimas no estresse oxidativo em frações subcelulares de plantas submetidas à baixa temperatura**. Viçosa, MG: UFV, 2002. 40p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, 2000.

AOSA-ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSIS. **Seed vigour testing handbook**. East Lansing, 1983. 88p.

ARAÚJO, J.M.A. **Química de alimentos – teoria e prática**. 2.ed., Viçosa: UFV, 1999. 416 p.

ARTECA, R.D. **Plant growth substances: principles and applications**. New York: Chapman & Hall, 1996, 332p.

BARRADAS, C.A.A.; SAYÃO, F.A.D.; DUQUE, F.F. **Feijão mungo – uma alternativa protéica na alimentação**. UAPNPBS, n.4, 1989, p.1-4.

BARREIRO, A.P.; CAVARIANI, C.; NAKAGAWA, J.; ALVES, E. Maturação de sementes de feijão “moiashi” (*Vigna mungo* (L.) Heper). In: Congresso Brasileiro de Sementes, 13, 2003. Londrina. **Resumos...** Londrina, ABRATES, v.13, n.3, 2003, p.74.

BARUFFADI, R.; VESSONI PENNA, T.C.; COLOMBO, A.J. Branqueamento de cenoura. Retenção de sólidos totais e solúveis em água. **Revista de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v.16, p.101-111, 1980.

BERK, Z. **Braverman's introduction to the biochemistry of foods**. 2.ed. Amsterdam, Elsevier, 1976, 238 p.

BERRIE, A.M.M.; DRENNAN, D.S.H. The effect of hydration on seed germination. **New Phytologist**, v.70, n.3, p.135-142, 1972.

BEVILAQUA, G.A.P.; PESKE, S.T.; SANTOS-FILHO, B.G.; SANTOS, D.S.B. Efeito do tratamento de sementes de cenoura com reguladores de crescimento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v.33, n.8, p.1271-1280, 1998.

BEWLEY, J.D.; BLACK, M. Seeds. **Physiology of development and germination**. New York: Plenum Press, 1985. 367p.

BEZERRA, R.M.N. **Branqueamento e congelamento de cenoura (*Daucus carota* L.) cv. Brasília: características químicas, físicas e sensoriais**. Lavras, MG: UFLA, 1990, 110p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Lavras, 1990.

BOTELHO, B.A.; PEREZ, S.C.J.G.A. Efeito hídrico e reguladores de crescimento na germinação de sementes de canafístula. **Scientia Agricola**, v.58, p.43-9, 2001.

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

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

BUESCHER, R.W.; CHANG, J.S. Production of mungbean sprouts. **Arkansas Farm Research**, v.31, n.1, p.13, 1982.

CALDAS, M.T.; PEREIRA, F.H.F.; SILVA, D.D.; GOMES JÚNIOR; JÚLIO; RODRIGUES-DAS-DORES, R.G.; FINGER, F.L. Determinação da atividade da enzima peroxidase em brotos de feijão-mungo-verde. In: Congresso Brasileiro de Sementes, 13, 2003. Londrina. **Resumos...** Londrina, ABRATES, v.13, n.3, 2003, p.292.

CALDAS, M.T.; VIEIRA, R.F.; OLIVEIRA, V.R. Comportamento de cultivares de feijão-mungo-verde em Prudente de Moraes, Minas Gerais. IN: SIMPÓSIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFV, 9, 1999, Viçosa. **Resumos...** Viçosa: UFV, 1999, p.250.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4.ed. Campinas: FUNEP, 2000. 588p.

CHEN, S.L.; BREENE, M.W.; SCHOWALTER, C. Effects of growth regulators on yield and quality of mungbean sprouts grown in an automatically controlled chamber. In: ___ **Growth regulators effects on mungbean sprouts**. Saint Paul: University of Minnesota, Department of Food Science and Nutrition, 1987, p.219-238.

CLEMENTE, E.; PASTORE, G.M. Peroxidase and Polyphenoloxidase, the importance for food technology. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 32, n. 2, p.167-171, 1998.

DARIO, G. J. A; CASTRO, P. R. C.; MELOTTO, E.; LIPSI, J. P. Ação de estimulante vegetal na cultura do arroz (*Oryza sativa* L.). In: REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 18, Porto Alegre, RS, 1989. **Anais...** Porto Alegre: IRGA, 1989. p. 161-67.

DIAS; ALVARENGA. Teste a baixa temperatura. In: KRZYZANOUSKI, F.C; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.) **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999b. p.7.1-7.3.

DUQUE, F.F.; SOUTO, S.M.; ABOUD, A.C. Mungo, proteína em forma de broto de feijão. **A Lavoura**, Rio de Janeiro, v.90, p.21-23, abr/jun. 1987.

EICHOLZ, E.; GADOTTI, G.I.; PERES, W.B. Qualidade de sementes de azevém (*Lolium multiflorum* L.) recobertas com ácido giberélico. In: **Informativo ABRATES**, Londrina, v.13, n.3, 2003, p.75.

FEIPPE, M.A.; VILAS BOAS, E.V. de B. Estúdio de la actividad enzimática post-cosecha de polifenoloxidasa y peroxidasa em durazno. **Rev. Iber. Tecnologia Postcosecha**, v.3, n.2, p.179-184, 2001.

FELIPPE, G.M. Etileno. In: FERRI, M.G. (ed.). **Fisiologia vegetal**. São Paulo: EPU-EDUSP, 1979. cap.6, p.163-192.

FERREIRA, G. **Estudo da embebição e do efeito de fitorreguladores na germinação de sementes de passifloráceas**. Botucatu, SP: UNESP, 1988. 146p. Tese (Doutorado). Universidade Estadual de São Paulo, 1988.

FORDHAM, J.R.; WELLS, C.E.; CHEN, L.H. Sprouting of seeds and nutrient composition of seeds and sprouts. **Journal of Food Science**, Chicago, v.40, p.552-556, 1975.

GASPAR, T.; PENEL, C.; CASTILLO, F.J.; GREPPIN, H.A. A two step significance for growth and development. **Physiologia Plantarum**, v.64, p.418-423, 1985.

HALPIN, B.E; LEE, C.Y. Effect of blanching on enzyme activity and quality changes in green peas. **Journal of Food Science**, Chicago, v.52, n.4, p.1003-1005, 1987.

HEGARTY, T.W. Seed activation and seed germination under moisture stress. **New Phytologist**, Oxford, v.78, n.2, p.349-359, 1977.

HEGARTY, T.W. The physiology of seed hydration and dehydration, and the relation between water stress and the control of germination: A review. **Plant Cell and Environmental**, Oxford, v.1, n.2, p.101-119, 1978.

ISTA – INTERNACIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. International Rules for Seed Testing. Rules 1985. **Seeds Science and Technology**, Zürich, v.13, n.2, p. 299-513, 1985.

JAIN, H.K.; MEHRA, K.L. Evolution, adaptation, relationship, and uses of the species of *Vigna* cultivated in Índia. In: SUMMER-FIELD, R.J.; BUNTING, A.H. [Ed.]. **Advances in legume science**. Kew: Royal Botanic Gardeni, 1980. p.459-468.

KOLATTUKUDY, P.E.; MOHAN, R.; BAJAR, M.A.; SHERF, B.A. Plant peroxidase gene expression and function. **Biochem. Soc. Trans.** UK. v.20, n.2, p.333-337, 1992.

LAGRIMINI, L.M.; ROTHSTEIN, S. Tissue specificity of tobacco peroxidase isozymes and their induction by wounding and tobacco mosaic virus infection. **Plant Physiology**, v.84, p.438-442, 1987.

LEVITT, J. **Introduction to plant physiology**. 2.ed. Saint Louis: The C.V. Mosby Company, 1974. 447p.

MARCOS FILHO, J. Conceitos e testes de vigor para sementes de soja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA. Londrina, 1999. **Anais...** Londrina: Embrapa Soja, 1999a, p.220-226.

MARCOS FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.) **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999b, p.3.1-3.24.

MARCOS-FILHO, J. Germinação de sementes. In: SEMANA DE ATUALIZAÇÃO EM PRODUÇÃO DE SEMENTES, 1, Piracicaba, 1986. **Trabalhos apresentados**. Campinas, SP: Fundação Cargill, p.11-39, 1986.

MARCOS-FILHO, J.; CÍCERO, S.M.; SILVA, W.R. **Avaliação da qualidade fisiológica das sementes**. Piracicaba, SP: FEALQ, 1987. 230p.

MARCOS-FILHO, J.; SILVA, W.R.; NOVENBRE, A.D.C & CHAMMA, H.M.C.P. Estudo comparativo de métodos para a avaliação da qualidade fisiológica de sementes de soja, com ênfase ao teste de condutividade elétrica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v.25, n.2, p.1805-1815, 1990.

Mc DONALD, M.D.; KHAN, A.A. Acid scarification and protein synthesis during seed germination. **Agronomy Journal**, Madison, v.75, n.1, p.111-114, 1983.

METIVIER, J.R. Dormência e germinação. In: FERRI, M.G. (coord.). **Fisiologia vegetal**. 2.ed. São Paulo,SP: EPU/EDUSP, v.2, cap.12, p.343-392, 1986.

MOTTA, C.A.P.; SILVA, W.R. Efeito de hidratação e desidratação no desempenho fisiológico de sementes de trigo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 32, n.4, p.379-390,1997.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados na avaliação das plântulas. In: VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. (eds). **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal, SP: FUNEP, p.49-85, 1994.

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

NANOS, G.D.; MITCHELL, F.G. High temperature conditioning to delay internal breakdown development in peaches and nectarines. **Journal of the American Society for Horticulture Science**, v.26, n.7, p.882-885, 1991.

POPINIGIS, F. **Fisiologia de sementes**. 2.ed. Brasília, DF: AGIPLAN, 1985. 289p.

RACHIE, K.O.; ROBERTS, L.M. Grain legumes of the lowland tropics. **Advances in Agronomy**, New York, v.26, p.21-32, 1974.

SALISBURY, F.B.; ROSS, C.W. **Plant physiology**. Belmont: Wadsworth, 1991. 682p.

SANGAKKARA, U.R.; SOMARATNE, H.M. Sources, storage condition and quality of mungbean seeds cultivation in Sri Lanka. **Seed Science & Technology**, v.16, p.5-10, 1988.

SCANDALIOS, J.G. Genetic of Leucine Aminopeptidase isozymes em Maize. **Genetics**, v.50, p. 899-904, 1964.

SIEGEL, B.Z. Plant peroxidase – na organismic perspective. **Plant Growth Regulation**. v.12, p.303-312, 1993.

SOLTIS, D.E.; HAUFLER, C.H.; DARROW, D.C.; GASTONY, G.J. Starch gel electrophoresis of ferns: a compilation of grinding buffers, gel and electrode buffers, and staining schedules. **American Fern Journal**, v. 73, p.9-27, 1983.

SUNG, Y. **Identification and characterization of thermotolerance in lettuce seed germination**. Gainesville: University of Florida, 1998. p.67, Tese (Doutorado). University of Florida, 1998.

TICKOO, J.L.; SATYANARAYANA, A. (1998). Progress in mungbean breeding research with special emphasis on disease and insect resistance, constraints, and future directions. In.: International Consultation Workshop on Mungbean, New Dehli, Índia. **Proceedings...** Tainan, Taiwan, AVRDC, 1997, p. 58-77.

VIEIRA, R.F.; LOPES, J.D.S. **Produção de brotos comestíveis – feijão moyashi, alfaça, trevo, rabanete e brócolis**. Viçosa: CPT, 2001. 108 p.

VIEIRA, R.F.; NISHIHARA, M.K. Comportamento de cultivares de mungo-verde (*Vigna radiata*) em Viçosa, Minas Gerais. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v.39, n.221, p.60-83, 1992.

VIEIRA, R.F.; OLIVEIRA, V.R.; VIEIRA, C.; PINTO, C.M.F. Ouro Verde MG 2: nova cultivar de mungo-verde para Minas Gerais. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 20, n.1, p.119-120, mar. 2003. Disponível em: <<http://www.sobhortalica.com.br.htm>>. Acesso: 22 jan. 2004.

VIEIRA, R.F.; VIEIRA, C.; VIEIRA, R.F. **Leguminosas graníferas**. Viçosa, MG: UFV, 2001. 206p.