



RAFAEL PERON CASTRO

***Moringa oleifera* LAMARCK: SEED QUALITY AND
POTENTIAL USES OF THE LEAF EXTRACTS IN ORGANIC
AGRICULTURE**

**LAVRAS - MG
2022**

RAFAEL PERON CASTRO

***Moringa oleifera* LAMARCK: SEED QUALITY AND POTENTIAL USES OF THE LEAF
EXTRACTS IN ORGANIC AGRICULTURE**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Doutor.

Prof. Dr. Moacir Pasqual
Orientador
Prof. Dr. Renato Mendes Guimarães
Coorientador
Dra. Carrie Waterman
Coorientadora

**LAVRAS - MG
2022**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Castro, Rafael Peron.

Moringa oleifera Lamarck: Seed quality and potential
uses of the leaf extract in organic agriculture / Rafael Peron

Castro. - 2022.

62 p.

Orientador(a): Moacir Pasqual.

Coorientador(a): Renato Mendes Guimarães, Carrie
Waterman.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2022.

Bibliografia.

1. Moringa. 2. Análise de sementes. 3. Biofertilizante. I.
Pasqual, Moacir. II. Guimarães, Renato Mendes. III.

Waterman, Carrie. IV. Título.

RAFAEL PERON CASTRO

***Moringa oleifera* LAMARCK: SEED QUALITY AND POTENTIAL USES OF THE LEAF
EXTRACTS IN ORGANIC AGRICULTURE**

***Moringa oleifera* LAMARCK: QUALIDADE DE SEMENTES E USOS POTENCIAIS DE
EXTRATOS FOLIARES NA AGRICULTURA ORGÂNICA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 24 de maio de 2022.

Dra. Joyce Dória Rodrigues	UFLA
Dra. Raquel Maria de Oliveira Pires	UFLA
Dra. Ester Alice Ferreira	EPAMIG
Dr. Lucas Ambrosano	UEM

Prof. Dr. Moacir Pasqual
Orientador
Prof. Dr. Renato Mendes Guimarães
Coorientador
Dra. Carrie Waterman
Coorientadora

**LAVRAS - MG
2022**

*Ao professor Antônio Carlos Fraga.
Dedico*

AGRADECIMENTOS

Ao Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras – DAG/UFLA e ao seu Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, pela oportunidade de integrá-lo.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela disponibilização de bolsa de estudos que me possibilitou dedicar aos trabalhos realizados em minha pós-graduação. E ao Programa de Internacionalização PrInt-CAPES, pela bolsa de estudos que me permitiu adquirir experiência acadêmica no exterior.

À Universidade da Califórnia – UC, Davis e a Dra. Carrie Waterman, que me recebeu durante o período em que estive envolvido em suas atividades como aluno visitante.

Ao meu orientador, professor Dr. Moacir Pasqual por me orientar nesta etapa de minha carreira e aos discentes, professores e funcionários do Laboratório de Cultura de Tecidos da UFLA, que me receberam e contribuíram no desenvolvimento de meus trabalhos.

Ao Laboratório de Análise de Sementes – LAS/UFLA, que disponibilizou toda a infraestrutura e orientação necessários para o desenvolvimento de minha pesquisa, e aos professores, funcionários, e discentes deste setor, que se envolveram em meu trabalho com excelência.

Ao Núcleo de Estudos em Plantas Oleaginosas, Óleos, Gorduras e Biodiesel – G-óleo, à Plataforma de Pesquisas Energéticas da UFLA. Ao meu querido pai, professor Dr. Pedro Castro Neto, exemplo de resiliência, dedicação e liderança para todos os seus corajosos “escravos”.

À minha mãe, Sandra Regina pela entrega que depõe sobre seus familiares, com fé e dedicação.

À minha companheira de vida, Dra. Yasmin Berchembrock, por compartilhar comigo as lutas de nossa caminhada, sem a qual nada teria sentido.

Às minhas irmãs Mayra e Daniela, e suas famílias, pelos preciosos presentes que me deram com o título de Tio Rafa.

Aos meus amigos e demais familiares, pelo incentivo e parceria.

Aos alunos que acreditam nos ideais de agricultura sustentável, e se dedicam a aprender e ensinar no Sítio Trovão, leva que é bão!

Aos parceiros da Sol Minas, e da Central de Associações Orgânicos Sul de Minas, pelos ensinamentos e exemplos que me inspiram a confiar na agricultura orgânica.

RESUMO

A moringa (*Moringa oleífera* Lam.) é a planta mais difundida da família monogenérica Moringaceae. Essa espécie tem ocorrência pantropical e reúne nos derivados de suas folhas e sementes os produtos de maior interesse comercial. Considerada uma hortaliça arbórea de alto desempenho agrônomico e ampla aptidão edafoclimática, tem sido cultivada em todas as regiões brasileiras, em cultivos adensados, semi-adensados, e na composição de sistemas agroflorestais – SAF. Reconhecida pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA e pela Organização das Nações Unidas – ONU/FAO como uma planta de múltiplos usos, a moringa tem atraído a atenção de agricultores, empreendedores, pesquisadores e profissionais de ciências agrárias como uma cultura estratégica para o desenvolvimento sustentável, com grande potencial alimentar, farmacológico e energético. A qualidade das sementes é fundamental para garantir a capacidade de uma espécie originar campos de produção com bom desempenho agrônomico. Não obstante, inexistem parâmetros definidos para análise da qualidade de suas sementes. Quanto aos extratos vegetais, esses têm sido intensivamente investigados como um recurso para a nutrição de plantas cultivadas sob manejo orgânico. Na agricultura convencional, são amplamente empregados em adição aos fertilizantes químicos, hormônios de promoção de crescimento de plantas e reguladores vegetais com vistas na elevação de parâmetros de desempenho. Sendo a folha de moringa fonte de minerais, vitaminas, proteínas, aminoácidos, glucosinolatos, e possuir uma gama de compostos bioativos, extratos foliares têm sido empregados na nutrição vegetal, aumentando a produtividade, sanidade, e a qualidade de diversas culturas. Podendo atuar como um insumo alternativo de nutrição vegetal e regulação hormonal para a agricultura orgânica, pesquisadores se dedicam a avaliar, dentre os métodos de extração, quais são aqueles que promovem o melhor aproveitamento de extratos foliares de moringa em cultivos agrícolas. O leque de aplicação destes materiais envolve todas as fases de produção agrícola. Para fornecer informações necessárias para a análise de sementes e plântulas desta espécie, este trabalho teve por objetivo avaliar lotes de sementes de moringa submetidos a diferentes níveis de deterioração controlada. Assim, foi obtido o teste bioquímico, teste de germinação, índice de velocidade de germinação, classificação de sementes e plântulas e medições de raiz primária e hipocótilo. Também, foi realizado o teste de atividade enzimática dos lotes de sementes de moringa após armazenamento em baixas temperaturas. Além disso, estudou-se métodos de formulação e usos potenciais de extratos foliares de moringa e sua aplicação na agricultura orgânica. Os resultados obtidos indicam que a imersão de sementes em solução de tetrazólio 0,5g/L por duas horas é representativa para a realização do teste bioquímico, e que a termoterapia influencia na qualidade de sementes e no desenvolvimento inicial de plântulas de moringa. Em relação ao uso de extratos foliares na agricultura, esses podem ser utilizados no pré-condicionamento germinativo, como biofertilizante, bioestimulante, biopesticida e promotor de crescimento, e no controle de aflatoxinas em grãos armazenados.

Palavras-chave: Deterioração controlada. Análise de sementes. Biofertilizante. Biopesticida.

ABSTRACT

Moringa (*Moringa oleifera* Lam.) is the most spread species of the single gender family Moringaceae. This plant occurs pantropically and gathers in the seeds and leaves, the products of main commercial interest. Considered to be a horticultural tree of high agronomical performance and wide climate and soil aptitude, it has been cultivated all over the Brazilian regions in near and forest spacings and as an agroforestry component. *Moringa* is recognized as a multi purposes tree by the Food and Agriculture Organization of the United Nations – FAO/UN and the Brazilian Agricultural Research Corporation – EMBRAPA, drawing the attention of farmers, entrepreneurships, researchers, and professionals of agricultural sciences as a strategic crop for the sustainable development, because of its feeding, pharmacological, and energetic potential. The quality of seeds is basal to ensure the ability of a species to ensure its capacity of generating high performance production fields. However, there are no stablished parameters to evaluate the quality of moringa seeds. Regarding the leaf extracts, they have been intensively investigated as a resource for plant nutrition under organic cultivation. Synthetic plant growth promoters are widely used in conventional farming in addition to chemical fertilizers to improve performance. As leaves are source of minerals, vitamins, protein, amino acids, glucosynolates, having a range of bioactive compounds, moringa leaf extracts have been used to enhance production, sanity, and the quality of several crops. Being able to act as an alternative resource for plant nutrition and hormone regulation within organic farming, researcher dedicate to evaluate, among the extraction methods, the ones that promote the best use of moringa leaf extracts in agriculture. The range of applications of such material cover all the stages in plant development. To provide the needed information for seed testing, this work aimed to evaluate samples of moringa seeds submitted to different levels of controlled aging. A biochemical test was made, as the germination test, sprouting test, seed and seedling classification, primary root, and hypocotyl measurements. The enzymes activity of the samples was made after the storage in low temperatures. A study of moringa leaf extracts methods of extraction and potential applications for organic agriculture was carried out. The results indicate that the immersion in 0,5 g/L tetrazolium solution for 2 hours is representative for realizing the biochemical test, and the thermal therapy performs influence over both quality and initial development of moringa seedlings. Regarding the use of the leaf extracts in agriculture, they differ depending on the method of extraction, and can be used in seed primming, as biofertilizer, bios stimulant, bio pesticide, growth promoter, and aflatoxin controller to stored grains.

Keywords: Controlled aging. Seed testing. Biofertilizer. Biopesticide.

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE	9
1 INTRODUÇÃO	10
2 REFERENCIAL TEÓRICO	13
2.1 Morfologia e composição de sementes de moringa	13
2.2 Morfologia e composição de folhas de moringa	16
REFERÊNCIAS	20
SEGUNDA PARTE	22
ARTIGO 1 – <i>Moringa oleifera</i> SEED QUALITY, STORAGE INFLUENCY, AND INITIAL DEVELOPMENT	23
ARTIGO 2 - <i>Moringa oleifera</i> LEAF EXTRACTS POTENTIALS FOR ORGANIC AGRICULTURE	46

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

A moringa (*Moringa oleifera* Lamarck.) é a espécie mais difundida da família monogénica das Moringáceas (Moringaceae). Originária do Sul do Himalaia e Nordeste da Índia onde é considerada uma importante cultura agrícola, esta espécie tem ocorrência Pantropical e reúne nos derivados de suas folhas e sementes ou grãos os produtos de maior interesse comercial.

Com status de hortaliça arbórea de alto desempenho agrônômico, lavouras de moringa têm sido cultivadas em todas as regiões brasileiras, demonstrando sua ampla aptidão edafoclimática, sobretudo na composição de sistemas agroflorestais – SAF. Reconhecida pela FAO - ONU (*Food and Agriculture Organization of the United Nations*) como uma planta de múltiplos usos (FOIDL et al., 1999) a moringa tem atraído a atenção de agricultores, empreendedores, pesquisadores e profissionais de ciências agrárias como uma cultura estratégica para o desenvolvimento sustentável.

De porte arbustivo e hábito perene, suas raízes tuberosas pivotantes lhe conferem boa tolerância à seca, rápido estabelecimento, e capacidade de se manter vegetativa em períodos de estiagem. Apresenta-se como uma boa fonte vegetal de proteína, vitaminas A, B e C, minerais, aminoácidos e antioxidantes pelo processamento de suas folhas, e para a purificação de água e produção de energia, dado o potencial coagulante, floculante, bactericida, fungicida e o perfil de ácidos graxos encontrado em suas sementes (RANGEL, 1999).

Embora se trate de uma cultura de amplas aplicações, considerada pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA, como uma espécie que pode ser utilizada para diversas finalidades, não existem parâmetros definidos para a avaliação de sementes de moringa que garantam a implantação de campos de cultivo com bom desempenho agrônômico. Na primeira sessão deste trabalho foram realizados, no Laboratório de Análise de Sementes da Universidade Federal de Lavras – LAS/UFLA, procedimentos para a avaliação da qualidade de sementes e plântulas de *Moringa oleifera* provenientes de uma amostra homogênea. Previamente à realização das análises, o material passou pela deterioração controlada, sendo dividido em 5 (cinco) lotes que se diferenciaram entre si pelo tempo em temperatura elevada ao qual foram submetidos. O objetivo desta metodologia foi o de estabelecer parâmetros para a análise de sementes de moringa e conhecer a tolerância desta espécie ao estresse abiótico na pós-colheita. Após a realização das análises todos os lotes foram armazenados em câmara fria por um período de 12 meses, sendo então utilizados novamente para a avaliação da atividade

enzimática com o intuito de avaliar a viabilidade destas sementes para a utilização em campo. A atividade enzimática é um parâmetro importante para que se possa inferir sobre o potencial de uma semente armazenada, deteriorada ou não, de gerar novos indivíduos (HEBERLE et al., 2019). Esta etapa do trabalho visa entender se as sementes de moringa, após passar por um estresse abiótico na pós-colheita, poderia manter seu potencial germinativo se conservada em ambiente adequado. Os resultados obtidos a partir destas avaliações foram utilizados para a elaboração de um artigo científico apresentado na sessão primária deste trabalho (Artigo 1), que discorre sobre a análises de qualidade de sementes de moringa com diferentes níveis de deterioração, o desenvolvimento inicial de plântulas oriundas da germinação destas sementes, e a influência do armazenamento na qualidade destas mesmas sementes.

Apesar dos benefícios alimentares atribuídos ao consumo de folhas de moringa pela comunidade científica, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA publicou, em 2019, a Resolução nº1.478, que determinou a proibição temporária sobre a fabricação, importação, comercialização, propaganda e distribuição de produtos destinados à alimentação humana que contenham *Moringa oleifera* em sua composição. Esta medida foi motivada pelo fato de que não existia, segundo a ANVISA, níveis seguros para o consumo desta planta, e sobretudo pela presença de produtos processados em agroindústrias que não possuíam alvará de funcionamento portando alegações descabidas em seus rótulos (WATERMAN; CASTRO, 2019). Muito embora esta publicação desestimule a produção da moringa para o mercado de suplementos alimentares, a mesma agência esclareceu por meio de um ofício circular enviado, em março de 2020, a todas as unidades de Vigilância Sanitária do país, que esta proibição não teria abrangência sobre o ato da exportação. Ainda que seja permitido, portanto, a produção de derivados de folhas de moringa para o consumo humano no mercado externo, esta prática não é disseminada.

Para além do uso alimentar, folhas de moringa podem ser utilizadas na alimentação animal (MAHFUZ; XIANG, 2019), como matéria-prima para a extração de compostos bioativos (KASHYAP et al., 2022), no cultivo visando a exploração de efeitos e para a agricultura de diversos modos. Com o objetivo de fornecer alternativas aos que decidem investir esforços dentro da cadeia produtiva da moringa, foi realizada uma revisão literária sobre os usos potenciais de seus extratos foliares na agricultura. No Artigo 2 da segunda parte deste trabalho, é apresentada uma revisão das principais publicações que foram desenvolvidas para avaliar aplicações agrícolas dos extratos de moringa, bem como as metodologias utilizadas para sua obtenção e suas formas de aplicação. Espera-se, com estes resultados, facilitar o

desenvolvimento de tecnologias que permitam a utilização destes extratos na agricultura orgânica, em que não é permitido o uso de fertilizantes, defensivos e reguladores vegetais de origem sintética.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Morfologia e composição de sementes de moringa

O uso de sementes de boa qualidade na implantação de uma lavoura é aspecto fundamental para que qualquer cultura possa manifestar um desempenho agrônômico satisfatório. Uma semente de boa qualidade é aquela que reúne os atributos genéticos e sanitários desejados, sendo que, para inferir sobre o caráter qualitativo de um determinado lote, testes e metodologias foram desenvolvidos pela Associação Internacional de Análise de Sementes (*International Seed Testing Association*) – ISTA. Tais métodos foram validados para que pudessem ser replicados por laboratórios credenciados, munidos dos equipamentos necessários para a aplicação dos protocolos publicados nas Regras Internacionais para Análise de Sementes (*International Rules for Seed Analysis*).

No Brasil, os métodos prescritos pela ISTA foram incorporados aos avanços nacionais em análise de sementes e encontram-se acessíveis nas Regras para Análises de Sementes – RAS, que teve sua primeira edição publicada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA em 1967, e, sua última atualização, feita em 2009 pela Coordenação Geral de Apoio Laboratorial de sua Secretaria de Defesa Agropecuária (BRASIL, 2009b). O material é composto por três volumes: RAS, Manual de Análise Sanitária de Sementes e Glossário Ilustrado de Morfologia, sendo o último indispensável para a caracterização morfológica e o direcionamento de analistas, profissionais e pesquisadores na avaliação da qualidade de sementes que ainda não estão catalogadas nas RAS.

O Laboratório de Análises de Semente da Universidade Federal de Lavras – LAS/UFLA é um dos 188 laboratórios credenciados pelo MAPA para a realização de análises de sementes e mudas no Brasil, e realiza metodologias prescritas nas RAS, incluindo o teste de tetrazólio, que infere sobre a qualidade fisiológica de um determinado lote de sementes. O Setor de Sementes também abriga o Núcleo de Estudos em Sementes, NESEM/UFLA, que realiza pesquisa e inovação em análise de sementes, trabalhando com diversos tipos de equipamentos para a avaliação física e química de sementes e plântulas, a exemplo do seu Laboratório de Biotecnologia e do equipamento Groundeye®, desenvolvido no programa de Incubação de Empresas de Base Tecnológica – INBATEC/UFLA para realizar análise de sementes e plântulas em imagens digitalizadas, o qual foi utilizado no desenvolvimento deste trabalho. Frutos de moringa, embora sejam comumente referidos como vagens de forma equivocada, são

do tipo cápsula loculicida, com três valvas que apresentam deiscência ou semi-deiscência ao longo das nervuras medianas (FOIDL et al., 1999). De coloração verde durante o período de desenvolvimento dos grãos e castanha quando de sua maturação, a capsula abriga as sementes que se encontram alocadas nas placentas parietais, favorecendo a dispersão anemocórica.

Normalmente, para variedades crioulas bem manejadas, cada fruto pode abrigar cerca de 20 sementes (FIGURA 1). Existem variedades que foram desenvolvidas visando aumentar a produtividade de grãos, a exemplo da PKM1, PKM2 e MOMAX3, de origem indiana, que podem conter mais de 200 frutos por planta a cada safra, enquanto alguns acessos africanos produzem cápsulas com até 35 sementes (AYERZA, 2011). Existe, portanto, uma domesticação consolidada em regiões onde a cultura está estabelecida que, através de programas de melhoramento genético, elevou consideravelmente seu potencial produtivo. No Brasil, embora a espécie *Moringa oleífera* encontra-se cadastrada no Registro Nacional de Cultivares – RNC/MAPA sob o número 35125 desde 19/01/2016, não existem, de fato, cultivares dessa espécie registradas no mercado. As cultivares desenvolvidas por programas de melhoramento dos continentes africano e asiático também não se encontram, até o presente momento, cadastradas na lista de Produtos Vegetais de Importação Autorizada – PVIA/MAPA (BRASIL, 2022).

Figura 1 - Fruto de *Moringa oleífera* evidenciando as sementes e as valvas.



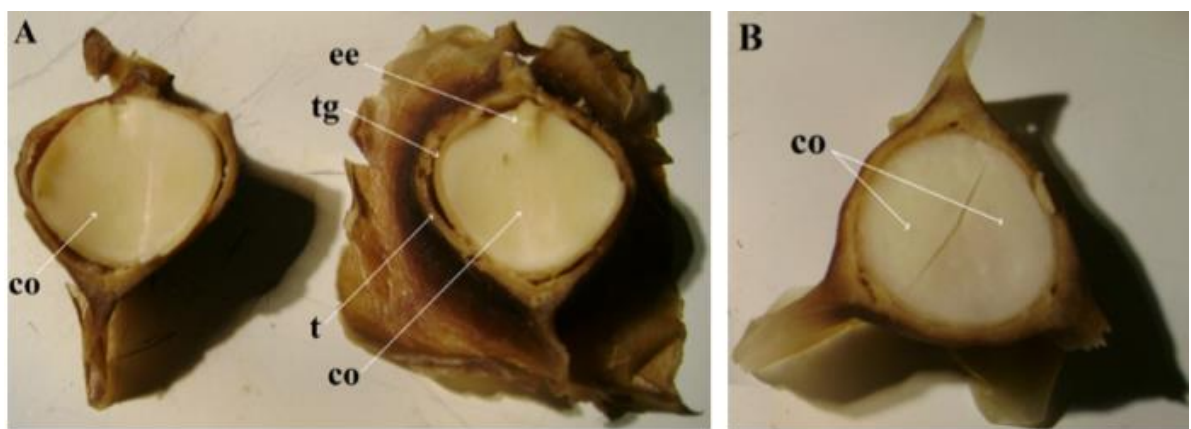
Fonte: Do autor (2022).

Os frutos de moringa têm um período de maturação de cerca de três meses após a fecundação de suas flores, sendo que o ponto de colheita das cápsulas de moringa se dá quando o fruto se encontra com baixo teor de umidade, antes da abertura das valvas, evitando-se a perda de sementes no campo e o ataque de pragas e doenças (PALANISAMY et al., 1985). É possível verificar manualmente o ponto de maturação contraindo o fruto, que estando em maturidade fisiológica, emitirá um som característico ocasionado pelo rompimento das valvas. Todavia,

alguns agricultores optam por colher frutos imaturos, com maior teor de umidade, para que eles possam ser beneficiados em local adequado.

Sementes de moringa são ortodoxas, dicotiledôneas, globosas e aladas, com endosperma oleaginoso envolto por tegumento de coloração castanho médio, onde são inseridas três alas equidistantes, de coloração clara, que se fundem em uma das extremidades e na outra protegem o hilo pequeno, linear e saliente, de onde ocorre a protrusão da radícula e da alça cotiledonar (FIGURA 2) (BRASIL, 2009a; RAMOS et al, 2010).

Figura 2 - Sementes de *Moringa oleífera* em cortes longitudinal (A) e transversal (B) evidenciando os cotilédones (co), eixo embrionário (ee), tégmen (tg), e testa (t).



Fonte: Ramos et al. (2010).

O perfil dos ácidos graxos presentes no endosperma de sementes (ou grãos) de moringa é particularmente interessante para a indústria, que o denominam óleo de Ben (*Ben-oil*) devido ao ácido behênico, ou docosanoico, presente em sua composição (RANGEL, 1999). Em se tratando de um ácido graxo saturado de cadeia longa (C22:0), é um dos responsáveis pela alta estabilidade oxidativa do óleo de sementes de moringa, que reúne predominantemente ácidos graxos insaturados ou com baixo grau de insaturação (MALDONADE et al., 2019). O óleo de moringa tem sido utilizado pela indústria fina na fabricação de cosméticos como produtos para hidratação da pele e condicionadores capilares, lubrificantes, na pintura artística, entre outros. Além disso, alguns estudos têm demonstrado seu potencial como aditivo antioxidante para conferir melhorias a biodiesel e matérias primas residuárias ou provenientes de óleos vegetais de menor qualidade, no sentido de elevá-los aos padrões de qualidade estabelecidos pela Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis – ANP (ANDRADE, 2016).

Embora a composição de ácidos graxos, assim como sua quantidade, possa variar de acordo com a variedade cultivada, o método de extração e as técnicas utilizadas para sua análise,

o óleo de moringa é formado predominantemente por ácidos graxos de cadeia longa e poucos pontos de insaturação (TABELA 1).

Tabela 1 - Composição de ácidos graxos em sementes de *Moringa oleifera*.

Ácidos Graxos	Composição (%)						
	Referência	NRI (1993)	Ferrão e Ferrão (1970)	Dahot e Menon (1985)	Tei (1995)	Aly, Maraeri e Ali (2015)	Rashid et al. (2008)
Myristico (C14:1)		0,1	-	1,4	-	-	-
Palmítico (C16:0)		5,9	6,7	3,5	6,9	6,45	6,5
Palmitoleico (C16:1)		1,1	-	-	1,1	0,32	-
Esteárico (C18:0)		5,1	4,3	8,3	8,3	2,85	6,0
Oleico (C18:1)		72,9	76,5	67,3	67,7	75,43	61,6
Linoleico (C18:2)		0,6	0,7	3,5	0,4	10,24	1,0
Linolêlico (C18:3)		0,1	-	-	-	0,2	-
Arachidico (C20:0)		3,6	2,7	2,7	4,7	3,0	4,0
Eicosenoico (C20:1)		2,3	-	-	2,6	-	2
Behênico (C22:0)		7,2	4,6	5,6	7,4	0,5	7,1
Lignocerico (C24:0)		1,0	1,1	3,2	0,4	-	-

Fonte: Aly, Maraeri e Ali (2015), Rangel (1999) e Rashid et al. (2008).

Sementes oleaginosas são menos propensas ao armazenamento do que as amiláceas, de maneira que a umidade de equilíbrio deve ser menor, pois é relativa somente ao conteúdo não oleaginoso do seu endosperma (DELOUCHE, 1968). Os pontos de insaturação dos ácidos graxos são mais susceptíveis à oxidação do que as moléculas que formam carboidratos e proteínas, motivo pelo qual sementes oleaginosas têm maior perda de sua qualidade fisiológica.

Na elaboração deste trabalho, foram realizados experimentos e protocolos para estabelecer parâmetros de análise de lotes de sementes e plântulas de moringa com diferentes níveis de deterioração, bem como a atividade enzimática dos mesmos lotes de sementes para avaliação dos níveis de qualidade destes acessos após determinado período de armazenamento.

2.2 Morfologia e composição de folhas de moringa

Devido à presença de teores relativamente elevados de proteína, vitaminas, minerais, antioxidantes, aminoácidos e flavonoides, folhas de moringa têm sido oferecidas ao mercado nas formas de chás, farinhas e cápsulas vegetais. Processados com folhas de moringa

desidratadas, esses produtos são comercializados como suplemento alimentar, sobretudo em países do continente americano, europeu e asiático, onde também entram na composição de outros produtos destinados à alimentação humana.

Ainda que se trate de uma espécie florestal, cuja densidade de plantio varia entre 1.300 e 2.500 plantas por hectare, a moringa é considerada uma hortaliça arbórea e seu cultivo também pode ser feito em canteiros com espaçamentos mais adensados, quando se presta exclusivamente à produção de biomassa foliar. Deste modo, em condições favoráveis, é possível que se realizem até oito cortes anualmente para a retirada das folhas. Existem ainda registros de sistemas de cultivo com 40.000 a 167.000 plantas por hectare, sendo que o espaçamento para cultivo de moringa é amplamente variável (MENDIETA–ARAICA et al., 2013). Sob a ótica de sistemas agroflorestais (SAFs), onde o uso da terra é feito pela combinação de espécies florestais e de cultivo agrícola, utilizando-se de práticas de manejo consonantes com a manutenção da população local (MEDRADO, 2000), a moringa participa como uma espécie secundária de extrato alto, que é introduzida no sistema após o segundo ano da sua implantação e ocupa rapidamente as camadas superiores, de exposição solar direta. Por ser considerada uma planta de crescimento rápido, boa capacidade de rebrota, com sistema radicular tuberoso e pivotante, a moringa promove a ciclagem de nutrientes e responde muito bem ao manejo de podas característico deste sistema. O nível de sombreamento pode ser controlado pela altura e frequência com que os cortes são realizados, de acordo com a demanda das culturas consorciadas.

A arquitetura foliar da moringa é pinada, composta e imparipenadas, com cerca de 45 a 60cm de comprimento, formadas por três raques articuladas, onde os folíolos se organizam de maneira composta. Arranjados de forma alternada em pinas e pínulas opostas, os folíolos têm formato elíptico com 1 a 2 cm de comprimento e largura média entre 0,6 e 1cm (FIGURA 3) (RUIZ et al., 2019). Folhas de moringa são decíduas, alternadas, pecioladas e compostas, bipenadas e com sete folíolos ao longo de cada pina (SILVA; KERR, 1999).

O interesse entorno do potencial existente na exploração das folhas de moringa se dão pelas propriedades químicas e nutricionais atribuídas a elas por meio de publicações científicas realizadas nas mais diversas áreas do conhecimento.

Figura 3 - Folha de *Moringa oleifera*.



Fonte: Do autor (2022).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), através da Resolução-RE nº 1.478, de 3 de junho de 2019, determinou a proibição da comercialização, distribuição, fabricação, importação e propaganda de todos os alimentos, em todas as formas de apresentação, que possuem *Moringa oleifera* em sua composição. Essa medida cautelar, foi motivada pela presença de produtos não regulamentados no mercado, com alegações terapêuticas que não se aplicam a alimentos, e pela incerteza da agência a respeito da segurança alimentar do seu consumo. Um edital de chamamento público mobilizou a sociedade na coleta de informações que pudessem levar à reavaliação da medida, e pesquisadores, profissionais e consumidores de produtos derivados da moringa enviaram testemunhos e artigos científicos. No entanto, a Anvisa considerou que os dados enviados eram inconclusivos, e informou que a reavaliação do caso pode ser realizada mediante protocolo de petição específica por pessoa jurídica interessada em sua regulamentação, que deverá disponibilizar um dossiê-técnico científico que contenha as informações necessárias para subsidiar seu pleito. A proibição do insumo moringa para fabricação de alimentos é limitada ao território nacional, e a Anvisa fez

circular um ofício às Vigilâncias Sanitárias estaduais, municipais e do distrito federal, esclarecendo que a medida cautelar não tem abrangência sobre o ato de exportação. O produtor que deseja exportar sua safra deve cumprir os requisitos do país de destino, de acordo com o Art. 54 do Decreto Lei n° 986, de 21 de outubro de 1969.

Tabela 2 - Composição nutricional de folhas de *Moringa oleifera*.

Parâmetros	Folhas frescas	Folhas secas
Umidade g/100g	73,9	5,9
Proteínas g/100g	11,9	27,2
Lipídeos g/100g	1,1	17,1
Cinzas g/100g	2,3	11,1
Fibra bruta g/100g	3,4	19,4
Carboidratos g/100g	10,6	38,6
Energia (Kcal/100g)	86,6	339,1
Cálcio (g/kg)	8,47	20,98
Potássio (g/ kg)	5,49	19,22
Ferro (g/kg)	0,17	0,28
Fósforo (g/k g)	1,11	3,51
Sódio (g/kg)	0	0
Magnésio (g/kg)	1,51	4,06
Manganês (mg/kg)	0	0
Cobre (mg/kg)	0	0
Zinco (mg/kg)	13	54

Fonte: Yaméogo et al. (2011).

A presença de fatores antinutricionais em diferentes partes da planta foi investigada por Makkar e Bekker (1996), que determinaram as quantidades de componentes tóxicos como 44,3 ppm de compostos fenólicos, bem como a presença de taninos (12 ppm), saponinas (81 ppm) e fitatos (21 ppm), ainda que em quantidades insignificantes, não sendo detectada a presença de glucosídeos cianogênicos, lectinas e glucosinolatos. De acordo com os autores, os teores de compostos fenólicos encontrados nas folhas de moringa não produzem efeitos adversos, e recomendam seu emprego na alimentação animal.

Ainda que a proibição temporária permaneça em vigor até a publicação deste trabalho, são muitas as aplicações que justificam o cultivo da espécie e sua exploração. Portanto, uma

revisão bibliográfica foi realizada para elucidar sobre o uso de extratos foliares de folhas de moringa na agricultura como biofertilizante, bioestimulante, fornecedor de fitormônios, e ainda para controle de aflatoxinas e pré-condicionamento fisiológico de sementes (Priming).

REFERÊNCIAS

ALY, A. A.; MARAEI, R. W.; ALI, H. G. Fatty acids profile and chemical composition of Egyptian Moringa oleifera seed oils. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 93, n. 3, p. 397-404, 2016.

ANDRADE, L. C. T. et al. Avaliação da estabilidade do biodiesel produzido a partir da *Moringa oleifera* Lam. **Scientia Plena**, v. 12, n. 5, 2016

AYERZA, R. Seed yield components, oil content, and fatty acid composition of two cultivars of moringa (*Moringa oleifera* Lam.) growing in the Arid Chaco of Argentina. **Industrial Crops and Products**, v. 33, n. 2, p. 389-394, 2011.

BARROSO, G. M. et al. Frutos e sementes: morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas. **Viçosa: Ufv**, v. 1, 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília: Mapa/ACS, 2009a. 399 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento Glossário ilustrado de morfologia / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília: Mapa/ACS, 2009b.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Registro Nacional de Cultivares. 2022. Disponível em: https://sistemas.agricultura.gov.br/snpc/cultivarweb/detalhe_cultivar.php?codsr=35086. Acesso em 07/01/2022.

CAVALCANTE, J. A. et al. Morphology of seed and seedling of moringa (*Moringa oleifera* Lam) Moringaceae. **Magistra**, v. 29, n. 3/4, p. 290-297, 2017.

FOIDL, N. et al. Utilización del marango (*Moringa oleifera*) como forraje fresco para ganado. **FAO animal production and health paper**, p. 341-350, 1999.

MALDONADE, I. R. et al. Estabilidade oxidativa de óleos de sementes de cucurbitáceas. **Embrapa Hortaliças-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E)**, 2019

MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. Nutrients and antiquality factors in different morphological parts of the *Moringa oleifera* tree. **The Journal of Agricultural Science**, v. 128, n. 3, p. 311-322, 1997.

MEDRADO, M. J. S. Sistemas agroflorestais: aspectos básicos e indicações. **Embrapa Florestas-Capítulo em livro científico (ALICE)**, 2000.

- MENDIETA-ARAICA, B. et al. Biomass production and chemical composition of *Moringa oleifera* under different planting densities and levels of nitrogen fertilization. **Agroforestry Systems**, v. 87, n. 1, p. 81-92, 2013.
- PALANISAMY, V. et al. Studies on seed development and maturation in annual *Moringa*. **Vegetable Sci**, v. 12, n. 2, p. 74-78, 1985.
- RAMOS, L. M. et al. Morfologia de frutos e sementes e morfofunção de plântulas de *Moringa* (*Moringa oleifera* Lam.). **Comunicata Scientiae**, v. 1, n. 2, p. 156-156, 2010.
- RANGEL, M. S. A. *Moringa oleifera*: uma planta de uso múltiplo. **Embrapa Tabuleiros Costeiros-Circular Técnica (INFOTECA-E)**, 1999.
- RASHID, U. et al. *Moringa oleifera* oil: A possible source of biodiesel. **Bioresource technology**, v. 99, n. 17, p. 8175-8179, 2008.
- RAVANI, A. et al. Physical Characterization and Optimization of Blanching Process of *Moringa oleifera* (var. PKM-1) Pods.
- RUIZ, A. I. et al. Anatomía e histoquímica foliar y caulinar de *Moringa oleifera* (Moringaceae). **Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica**, v. 54, n. 3, p. 20-30, 2019.
- SÁNCHEZ-MACHADO, D. I. et al. Nutritional quality of edible parts of *Moringa oleifera*. **Food analytical methods**, v. 3, n. 3, p. 175-180, 2010.
- SILVA, A. R.; KERR, W. E. **Moringa: uma nova hortaliça para o Brasil**. UFU/DIRIU, 1999.
- VIJAYAKUMAR, M. Studies on pod characteristics of annual *moringa* cv. PKM-1 as influenced by seasonal changes and growth regulators. **Madras Agricultural Journal**, v. 90, n. jan-mar, p. 1, 2003.
- YAMÉOGO, C. W. et al. Determination of chemical composition and nutritional values of *Moringa oleifera* leaves. **Pakistan journal of nutrition**, v. 10, n. 3, p. 264-268, 2011.

SEGUNDA PARTE

ARTIGO 1 – *Moringa oleifera* SEED QUALITY, STORAGE INFLUENCY, AND INITIAL DEVELOPMENT

Artigo redigido conforme normas do Journal of Seed Science (versão preliminar).

***Moringa oleifera* seed quality, storage influency, and initial development**

R. P. Castro^{1*}, D. B. Andrade¹, W. V. S. Pereira¹, Y. V. Berchembrock¹, H. O. Santos¹, Moacir Pasqual¹.

¹Departamento de Agricultura, Universidade Federal de Lavras, 37200-900 - Lavras, MG, Brasil.

Autor correspondente: *peron@oleo.ufla.br

ABSTRACT: Seed testing is an important step for evaluating a batch of seeds and its capacity of generating a field of good agronomical performance. *Moringa (Moringa oleifera)* is a horticultural tree of great feeding, pharmacologic, and energetic potential. Yet, parameters for moringa seed testing are still undefined. To provide the information needed for moringa seeds and seedlings analysis, the current work aimed to evaluate seed batches submitted to different levels of controlled damage. An Entirely Randomized Design was performed for biochemical test, germination test, seed sprouting speed rate, seed and seedling classification, primary root and hypocotyl measuring, and low temperature storage. The averages were submitted to Analysis of Variance and compared by Tukey test. Results indicate that the immersion of seeds in 0,5g/L tetrazolium solution for two hours is representative to biochemical test, and thermotherapy influences the seed quality and the initial development of moringa seedlings.

Index terms: GroundEye®, controlled damage, germination test, seed storage, vigor.

Qualidade de sementes, influência do armazenamento e desenvolvimento inicial de plântulas de *Moringa oleifera*

RESUMO: A análise de sementes é uma etapa fundamental para a determinação da qualidade de um lote e da sua capacidade de originar campos de produção com bom desempenho agrônômico. *Moringa (Moringa oleifera)* é uma hortaliça arbórea de grande potencial alimentar, farmacológico e energético, que ainda não tem parâmetros definidos para análise de suas sementes. Para fornecer as informações necessárias para a análise de sementes e plântulas dessa espécie, esse trabalho teve o objetivo de avaliar lotes de sementes de moringa submetidos a diferentes níveis de deterioração controlada. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado para a realização de teste bioquímico, teste de germinação, índice de velocidade de germinação, classificação de sementes e plântulas, medições de raiz primária e hipocótilo, bem como o teste de atividade enzimática dos lotes de sementes de moringa após armazenamento em baixas temperaturas. As médias foram submetidas a análise de variância e então, comparadas pelo teste de Tukey. Os resultados obtidos indicam que a imersão de sementes em solução de tetrazólio 0,5g/L por duas horas é representativa para a realização do teste bioquímico, e que a termoterapia influencia na qualidade de sementes e no desenvolvimento inicial de plântulas de moringa.

Termos para indexação: GroundEye®, deterioração controlada, teste de germinação, armazenamento, vigor.

INTRODUÇÃO

As adversidades socioambientais influenciadas pelo crescimento populacional das últimas décadas têm incentivado pesquisadores na busca por espécies e sistemas de produção mais adequados ao desenvolvimento sustentável. Moringa (*Moringa oleifera* Lamarck, Moringaceae) é uma hortaliça arbórea de ocorrência Pantropical, que se apresenta como uma espécie de múltiplos usos e que tem em suas folhas e grãos os produtos de maior interesse. Originária do nordeste indiano, seu consumo alimentar encontra-se estabelecido nos continentes africano e asiático através de folhas, flores e frutos imaturos (Rangel, 1999).

O consumo das folhas de moringa conquistou o mercado de suplementos naturais de países da América do Norte e da Comunidade Europeia. Essas são fontes de proteína, aminoácidos, vitaminas, antioxidantes e minerais que se prestam à nutrição humana, animal e vegetal. O produto desidratado pode ser comercializado na forma de chá ou moído, para que sua farinha seja oferecida encapsulada ou inserida como ingrediente de produtos alimentícios, atuando, assim, como suplemento de alto valor nutricional.

Ainda que sejam baixas as concentrações de fatores antinutricionais em suas folhas, que contém cerca de 21 g.kg⁻¹ de fitatos, 12 g.kg⁻¹ de taninos e 80 g.kg⁻¹ de saponinas (Ferreira et al., 2008), o consumo humano de moringa enfrenta uma proibição temporária no Brasil, ministrada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, que decidiu, em 2019, por proibir temporariamente produtos que contenham moringa em sua formulação (ANVISA, 2019).

Os frutos de moringa, que também são consumidos como alimento humano em algumas partes do mundo, desenvolvem sementes oleaginosas compostas por ácidos graxos de cadeia longa e poucos pontos de insaturação, de alta estabilidade oxidativa (Saini e Giridhar, 2014). Em regiões onde ocorre escassez hídrica, as sementes são usadas para purificação de águas coletadas em cisternas, agindo como coagulante, floculante e larvicida, sendo eficiente no

controle de larvas do mosquito *Aedes aegypt*, vetor de doenças virais como Dengue, Zika e Chicungunha (Coelho et al., 2009).

O cultivo da moringa nestas regiões constitui uma importante ferramenta de segurança alimentar, pois atua no reflorestamento de regiões semiáridas sujeitas à desertificação e promovem impacto relevante na produção de alimentos para a atividade pecuária e na potabilidade de água (Raja e More, 2013). Além disso, o óleo extraído das sementes de moringa também demonstra um alto potencial como aditivo na produção de biodiesel proveniente de matérias primas de baixa qualidade, adequando-o aos padrões estabelecidos pela Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis – ANP (Rashid et al., 2008).

Não obstante ao crescente interesse pelo cultivo e processamento desta hortaliça arbórea de sementes oleaginosas, não existem ainda parâmetros definidos para assegurar a qualidade fisiológica de sementes de moringa no Brasil. Para assegurar o vigor de sementes na implantação de plantios desta cultura ainda subutilizada em território nacional, o presente trabalho teve por objetivo estabelecer parâmetros para auxiliar na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de moringa.

MATERIAL E MÉTODOS

Sementes de moringa (*Moringa oleifera*) da variedade PKM-1 foram coletadas de plantas adultas cultivadas em unidade de produção orgânica localizada na cidade de Nísia Floresta – RN (6°04'56.5'' S, 35°08'01.2'' W, e 25m de altitude). O material foi enviado ao setor de sementes da Universidade Federal de Lavras (UFLA), onde foram mantidas em câmara fria até o início das atividades experimentais e entre cada etapa do trabalho. A homogeneização das sementes foi realizada pela retirada manual das alas e exclusão de sementes de baixa densidade após passagem do lote em um soprador de sementes (DeLeo®).

Deterioração controlada: para a transformação do lote inicial em cinco lotes de sementes com diferentes níveis de deterioração, cerca de 15.000 sementes foram selecionadas e agrupadas em cinco lotes distintas (L1, L2, L3 L4 e L5) contendo, cada, 30 caixas de germinação tipo gerbox. Em cada caixa, aproximadamente 100 sementes foram organizadas sobre a tela de aço inoxidável, sem que houvesse sobreposição de sementes. O fundo de cada recipiente foi preenchido com 40 mL de água destilada para manutenção da umidade nas sementes. Os cinco lotes de sementes foram mantidos em incubadora de Demanda Biológica de Oxigênio (DBO) da marca ELETROlab®, com temperatura controlada em 42°C durante tempos distintos, diferenciando-se entre si pelo tempo a que foram submetidos à termoterapia (L1 = 96h; L2 = 72h; L3 = 48h; L4 = 24h; L5 = 0h). Os lotes foram devidamente identificados, lacrados em recipientes plásticos e acondicionados em caixa de papelão dentro da câmara fria.

Teste bioquímico: 108 sementes de moringa desaladas e com tegumento preservado, previamente submetidos à deterioração controlada, foram coletadas de cada um dos três lotes selecionados (L1, L2 e L3). A partir dessas foi conduzido um ensaio fatorial avaliando-se as combinações dos seguintes fatores: tempo de pré-embebição (12h, 24h e 48h), concentração de 2,3,5 – trifenil cloreto de tetrazólio ($0,25 \text{ g.L}^{-1}$, $0,50 \text{ g.L}^{-1}$ e $0,75 \text{ g.L}^{-1}$) e tempo de imersão em solução de tetrazólio (2h, 4h e 18h). Posteriormente, as sementes foram segmentadas por corte transversal e a análise da atividade respiratória das sementes foi realizada de maneira qualitativa.

Teste de germinação: Para cada um dos cinco lotes, quatro amostras de 25 sementes foram submetidos ao teste de germinação. As sementes foram distribuídas entre duas folhas de papel Germitest previamente umedecidas com 2,5 vezes seu peso em volume de água destilada, enroladas e sobrepostas com uma terceira folha do mesmo papel umedecido (“Chapéu”). As amostras foram acondicionados em germinador da marca ELETROlab®, com temperatura

ajustada para 25 °C e umidade próxima à capacidade de campo durante 11 dias. As amostras foram avaliadas, com intervalos de 24h, para contagem da germinação fisiológica (protrusão radicular).

Análise de plântulas: Após o 11º dia de avaliação, as plântulas foram retiradas do germinador e submetidas à análise fotográfica computadorizada com auxílio do hardware GroundEye® onde, além dos 20 tratamentos referentes ao teste de germinação, plântulas de diferentes estágios de desenvolvimento inicial foram submetidas para a elaboração de uma representação ilustrativa da germinação de sementes de moringa. Posteriormente, comprimentos de raiz primária e hipocótilo foram mensurados em todas as plântulas consideradas normais pela avaliação de vigor dos lotes de semente avaliados.

Atividade enzimática de sementes armazenadas: após 1.020 dias de armazenamento foram coletadas, para cada lote, amostras de 5 sementes representativas para análise enzimática. As sementes foram maceradas em nitrogênio líquido com adição de 50% de Polivinilpirrolidona (PVP) em moinho de facas elétrico, sendo então identificadas e armazenadas em tubos de 15 ml em ultra-freezer com temperatura aproximada de -80°C até a realização das análises. Para cada lote, foram utilizadas três repetições biológicas. Para a extração das enzimas foram utilizados 200 mg do material macerado e 1500 µL da solução tampão da extração contendo 100 mM de fosfato de potássio, 0,1 mM de EDTA, 10 mM de ácido ascórbico, conforme metodologia sugerida por Biemelt et al. (1998). A mistura foi homogeneizada em vórtex por um minuto e então centrifugada a 13000 rpm por 10 minutos a 4°C. O sobrenadante foi coletado e acondicionado em gelo até que fossem realizadas as avaliações de atividade enzimática conforme protocolos que seguem. Todas as leituras foram realizadas em equipamento Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), da marca BioTek®. Foram avaliadas as seguintes enzimas:

- a. *Ascorbato peroxidase (APX)*: foram pipetados 9 μL de sobrenadante para cada amostra biológica, e inseridos em placa do tipo Corning Half Area. Foi então adicionado 162 μL de solução contendo 100 mM de fosfato de potássio pH 7,0; 0,5 mM de ácido ascórbico. A solução foi previamente incubada em banho-maria a 30 °C. Em seguida, 9 μL de peróxido de hidrogênio (2 mM) foram adicionados à mistura (concentração final 0,1 mM). A absorbância foi mensurada a 290 nm, em intervalos de 15 segundos em equipamento ELISA, segundo metodologia sugerida por Nakano e Asada (1981). Os três primeiros poços consistiram em amostras brancas, em que se adicionou água ultrapura em substituição às amostras de enzimas.
- b. *Catalase (CAT)*: foram pipetados 9 μL do extrato de enzimas em placa do tipo Corning Half Area, onde os três primeiros poços foram constituídos de amostra branca (água ultrapura). Para cada reação foram adicionados 90 μL de solução contendo 100 mM de fosfato de potássio previamente incubado em banho-maria a 30°C. No momento da leitura, 9 μL de peróxido de hidrogênio foram adicionados à solução (concentração final: 12,5 mM). A absorbância foi mensurada a 240 nm, em intervalos de 15s, realizada no equipamento ELISA, seguindo metodologia sugerida por Havir e McHale (1987).
- c. *Superóxido dismutase (SOD)*: em placa visível de fundo redondo, foram pipetados 10 μL de água destilada nos três primeiros poços, correspondentes à amostra branca. Nos poços seguintes 10 μL do sobrenadante foram adicionados ao mix do tampão de incubação constituído de 50 mM de fosfato de potássio, 14 mM de metionina, 0,1 μM de EDTA, 75 μM de NBT e 2 μM de riboflavina. O mix foi protegido da luz até o momento de aplicação sobre a placa, quando foi mantido em luz fluorescente por 7min para que a reação acontecesse. A absorbância a 56 nm foi realizada em aparelho ELISA, seguindo metodologia sugerida por Giannopolitis e Ries (1977).

Análises estatísticas: os dados foram estatisticamente submetidos a análise de variância (ANAVA), e aplicado o teste de Tukey para comparação das médias dos tratamentos com um nível de 5% de significância utilizando o software SISVAR (Ferreira, 2011). A precisão experimental foi estimada com base no coeficiente de variação (CV).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Fenologia da Germinação de Sementes de Moringa

A obtenção das imagens para a elaborar uma fenologia da germinação de sementes de moringa foi realizada com a retirada de sementes imaturas de frutos em fase final de enchimento de grãos e durante os 11 dias em que essas foram submetidas à embebição em câmara de germinação. Após esse período, com o auxílio do software Groundeye®, foi possível estabelecer um padrão do desenvolvimento fenológico de plântulas de moringa.

A figura a seguir ilustra as transformações fisiológicas que ocorreram durante o desenvolvimento da semente imatura até o estabelecimento da plântula no momento de sua germinação agrônômica, quando o eixo hipocótilo torna-se visível no campo ou em casa de vegetação.

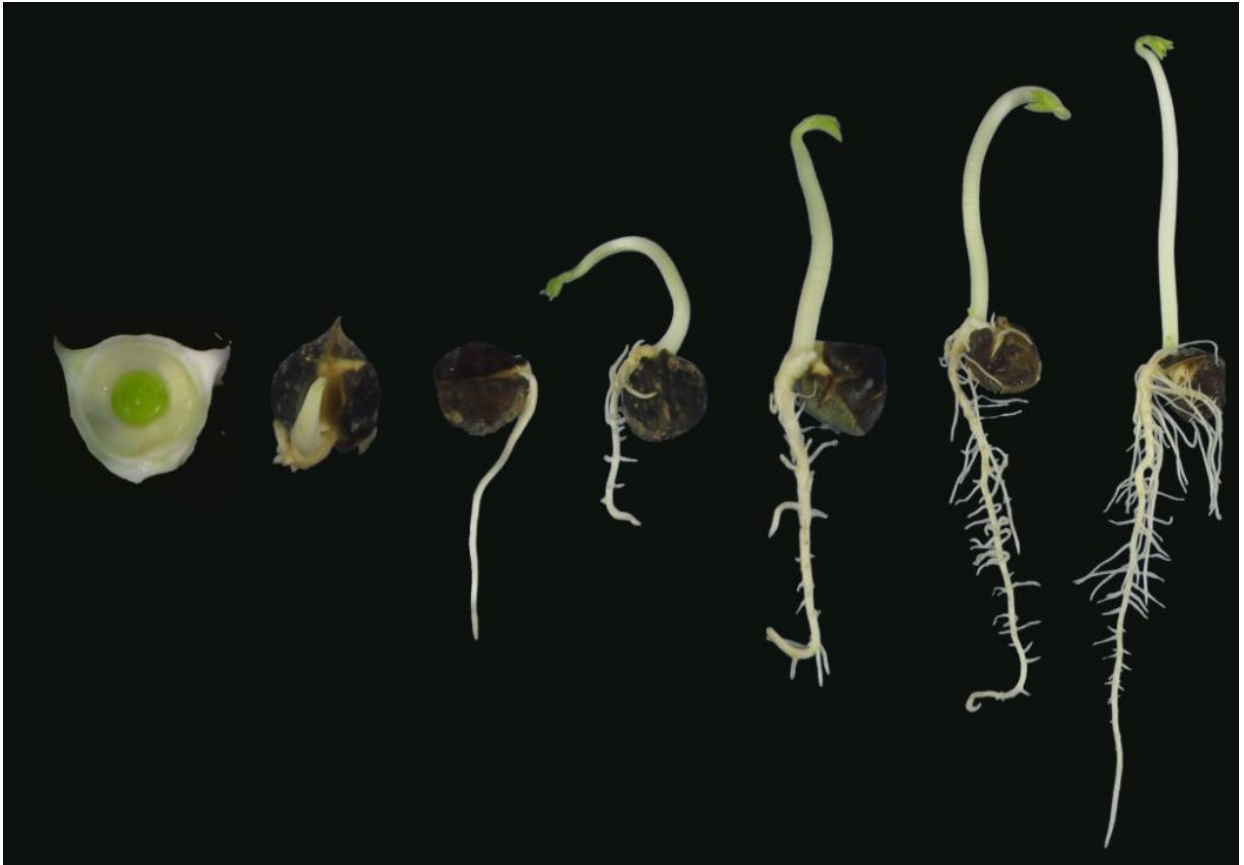


Figura 1. Estádios de desenvolvimento de sementes viáveis de *Moringa oleifera* avaliados pelo período de 11 dias. Da esquerda para a direita, semente imatura, protrusão da radícula, desenvolvimento da raiz primária, desenvolvimento inicial do hipocótilo e raízes secundárias, alongamento hipocótilo e raízes secundárias, ramificação raízes secundárias, geotropismo positivo da coifa na raiz primária.

Com o parâmetro de desenvolvimento fenológico acima, é possível acompanhar o teste de germinação de diferentes lotes de sementes de moringa, comparando-se os estádios da amostra com os observados nesta imagem, que foi obtida através de sementes viáveis em condições ideais para a germinação.

Teste de Tetrazólio

Para avaliar a atividade bioquímica de sementes e inferir sua viabilidade a campo, o teste topográfico de tetrazólio é realizado pela embebição de sementes em uma solução de 2, 3, 5 trifetil cloreto ou brometo de tetrazólio. O contato deste reagente com a desidrogenase do ácido málico produzida no processo respiratório das células vivas resulta no trifetil formazan, um

composto estável de coloração avermelhada, que permite a distinção de tecidos vivos e mortos no interior das sementes (Brasil, 2009a).

Com o teste de tetrazólio, o analista de sementes é capaz de identificar rapidamente sementes dormentes, duras, mortas ou ofegantes, de acordo com a intensidade da coloração que se manifesta em determinadas áreas do endosperma. Para tal, é necessário identificar a concentração de tetrazólio, o tipo de corte para evidenciar o embrião, se necessário, e o tempo de embebição para viabilizar a análise de cada espécie vegetal.

Sementes desaladas foram avaliadas de maneira qualitativa, demonstrando que dentre os tratamentos avaliados, o método que permitiu a melhor avaliação dos lotes com qualidades fisiológicas distintas foi o que se utilizou de pré-embebição de 24h, seguida da imersão em solução de tetrazólio na concentração de 0,5 g/L por duas horas.

Após o tempo de reação, foi realizado o corte transversal em algumas sementes para exposição do embrião, sendo observada a coloração característica de atividade respiratória normal em sementes dos lotes mais vigorosos (Figura 2A). Realizando-se o mesmo procedimento em sementes dos lotes mais deteriorados, foi observada uma coloração mais intensa, característica de sementes “ofegantes”, com atividade respiratória elevada (Figura 2B). Também foram retirados os tegumentos de sementes representativas de ambos os lotes. As imagens (Figura 2) demonstram que o reagente foi capaz de permear pelo tegumento normalmente, sem a necessidade de retirada prévia do tegumento ou segmentação de sementes de moringa para a realização do referido teste fisiológico.



Figura 2. Corte transversal em sementes de moringa, (A) sementes de boa qualidade e (B) sementes com atividade respiratória excessiva, após reação por duas horas em solução de tetrazólio.

Índice de Velocidade de Germinação

O índice de velocidade de germinação foi mensurado pela avaliação de todas as unidades amostrais de cada lote. Todas as sementes foram avaliadas diariamente, após a entrada dos lotes no germinador, encerrando-se a contagem após um período de 240h. O gráfico a seguir (Figura 3) ilustra a influência da deterioração controlada no índice de germinação fisiológica, caracterizada pela protrusão radicular, das sementes que pertenciam aos diferentes lotes de sementes de moringa avaliados, de maneira que o nível de estresse térmico ao qual as sementes foram submetidas se deu em ordem decrescente. O Lote 1 (L1) recebeu o maior nível de deterioração controlada, com 96h em BOD (42°C), o Lote 3 (L3) representa o tratamento intermediário, com 48h em BOD (42°C) e o Lote 5 (L5) não foi submetido ao tratamento térmico.

De acordo com os resultados obtidos, os Lotes 1 e 2 tiveram comportamento semelhante e corresponderam aos menores índices de velocidade de germinação em comparação aos demais. Também foram encontrados os menores índices de germinação fisiológica para estes tratamentos, que atingiram cerca de 60% ao final da contagem.

Os Lotes 3 e 4, que foram submetidos a 48h e 24h de deterioração controlada, respectivamente, apesar do estresse abiótico, apresentaram índices de germinação fisiológica superiores a 80%, que ainda permitem sua utilização em campos de cultivo.

O Lote 4, apresentou desempenho superior aos demais lotes submetidos a deterioração controlada, com índices de germinação superiores a 90% a partir do quinto dia de contagem. O resultado permite inferir que a deterioração controlada promovida nos lotes influenciou o vigor das sementes de moringa. Como esperado, o Lote 5, de sementes que não foram submetidas à deterioração demonstrou os maiores índices de uniformidade e germinação fisiológica avaliados.

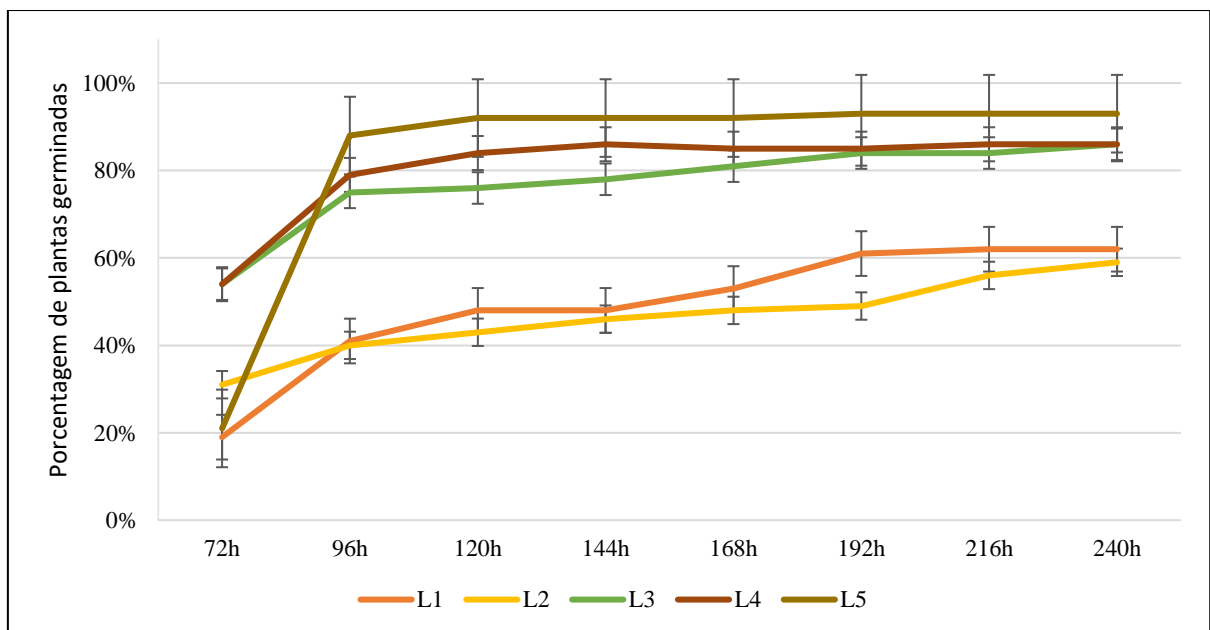


Figura 3. Germinação fisiológica de sementes de *Moringa oleifera* submetidas a diferentes níveis de deterioração controlada.

Teste de Germinação

Com a distinção de um lote de sementes viáveis em cinco lotes com diferentes níveis de deterioração controlada, foi possível estabelecer um parâmetro da influência dos tratamentos

na germinação das sementes de moringa, e sua capacidade de gerar plântulas normais (Figura 4).

Os lotes de sementes L1 e L2, mais deteriorados, resultaram em maiores números de sementes duras (Figura 4A), ou seja, que não se mostraram entumecidas após o período de embebição, e menores números de sementes germinadas fisiológica (Figura 4C) e agronomicamente (Figura 4D) em comparação com as demais. Os lotes L3, L4, e L5 também apresentaram desempenho estatisticamente semelhantes para os parâmetros de qualidade de semente citados anteriormente.

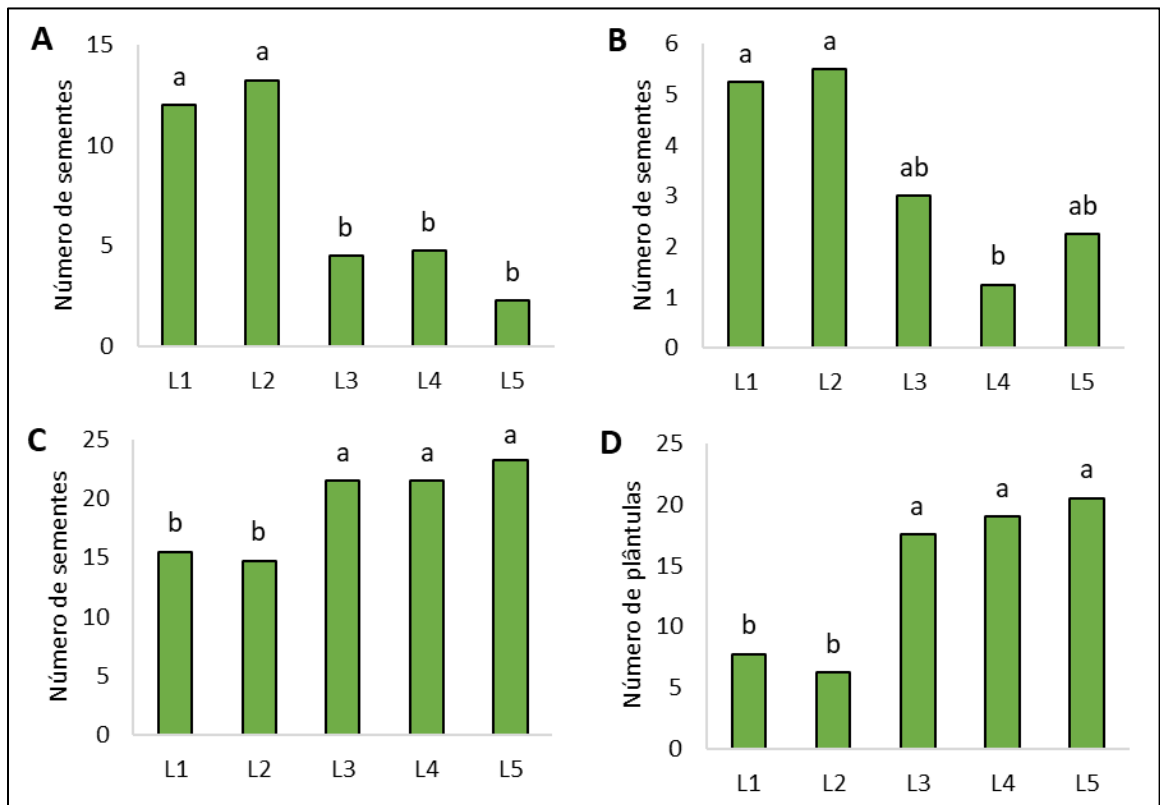


Figura 4. Número de (A) sementes duras, (B) sementes anormais, (C) sementes com germinação fisiológica e (D) sementes com germinação agrônômica avaliadas após 264h em câmara de germinação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey (95%).

Com o uso do Software GroundEye® foram mensurados os comprimentos de raiz primária e eixo hipocótilo para cada uma das unidades amostrais, que foi feito manualmente sobre as

imagens digitalizadas. Os resultados (Figura 5) indicam a influência da deterioração na qualidade de sementes de moringa e nos atributos de qualidade fisiológica das plântulas.

Como indicado na Figura 5, o comprimento da raiz primária sobre as plântulas normais foi estatisticamente igual para todos os lotes independentemente do nível de deterioração controlada imposta sobre as amostras. O desenvolvimento do eixo hipocótilo se mostrou superior para os lotes L3, L4 e L5, indicando que as sementes de moringa avaliadas se mostraram resistentes à deterioração controlada a níveis intermediários. Para os níveis mais severos de estresse térmico, houve prejuízo acentuado do desenvolvimento da parte aérea, como observado nos lotes L1 e L2, assim como para o comprimento total das plântulas. A relação entre raiz e hipocótilo, porém, se mostrou estatisticamente igual para todos os tratamentos, indicando que não há priorização de metabólitos para o sistema radicular ou parte aérea em consequência da deterioração de sementes por aumento da temperatura.

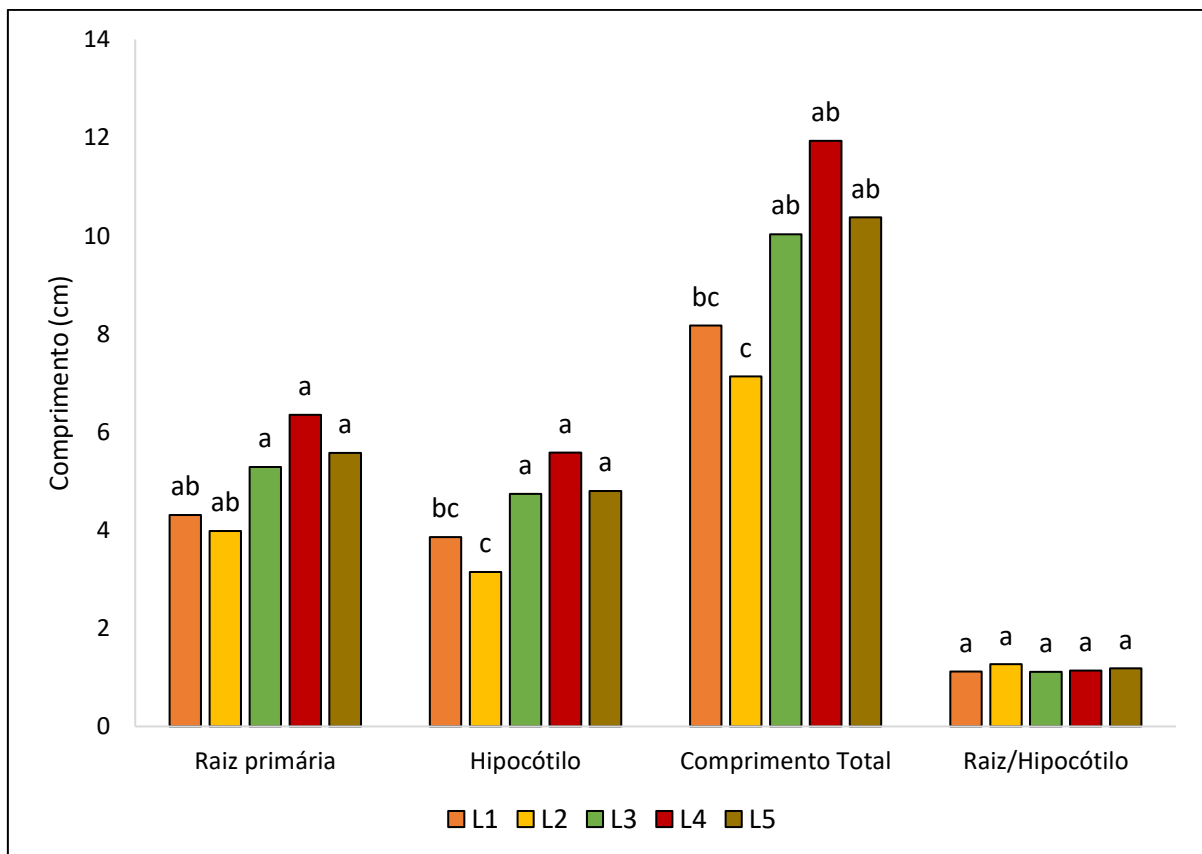


Figura 5. Desenvolvimento inicial de lotes de sementes de *Moringa oleifera* submetidos a diferentes níveis de deterioração controlada após 240h em germinador. Médias seguidas pela mesma letra, dentro dos mesmos parâmetros, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey (95%).

Uma imagem das repetições mais representativas de cada lote está apresentado na Figura 6 e 7, onde é possível identificar as sementes que não apresentaram protrusão radicular (sementes duras), aquelas que não geraram um desenvolvimento radicular e ou do eixo hipocótilo considerado normal (plântulas anormais), e as plântulas que, após o período de 11 dias em condições ideais para a germinação demonstraram o desenvolvimento esperado de raiz e parte aérea, consideradas, portanto, plântulas normais. A imagem mostra que o estresse abiótico ocasionado pelo aumento da temperatura influencia na qualidade e viabilidade de lotes de sementes de moringa, sobretudo para os lotes L1 e L2, que demonstraram um desenvolvimento a quem do potencial ilustrado na Figura 1.

Os lotes L3 e L4, apresentam a maioria das plântulas com desenvolvimento semelhante ao observado no lote L5 (figura 7), que representa sementes de moringa que não foram submetidas à deterioração controlada, indicando que as sementes de moringa têm a capacidade de suportar o aumento excessivo de temperatura até certo ponto, a partir do qual a sua viabilidade passa a ser comprometida de maneira mais significativa

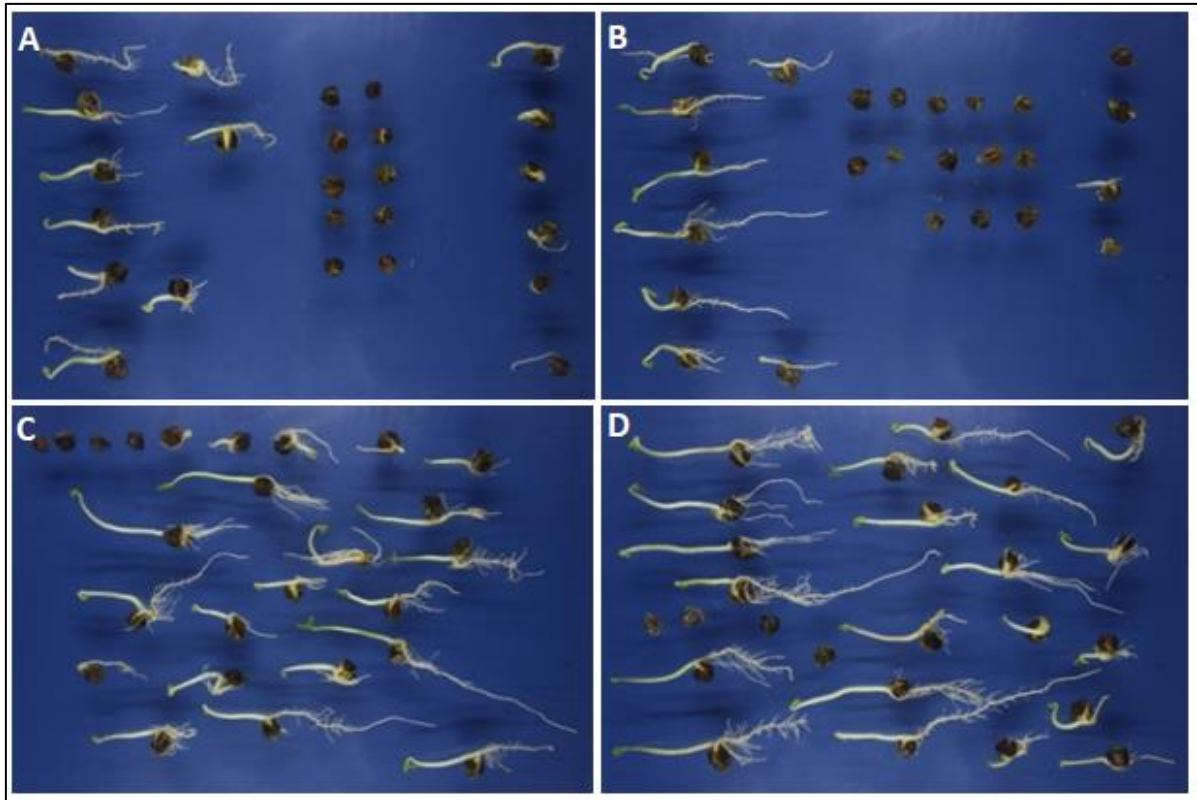


Figura 6. Amostra representativa dos lotes de moringa submetidos à deterioração controlada. Lote 1 (A), Lote 2 (B), Lote 3 (C) e Lote 4 (D).

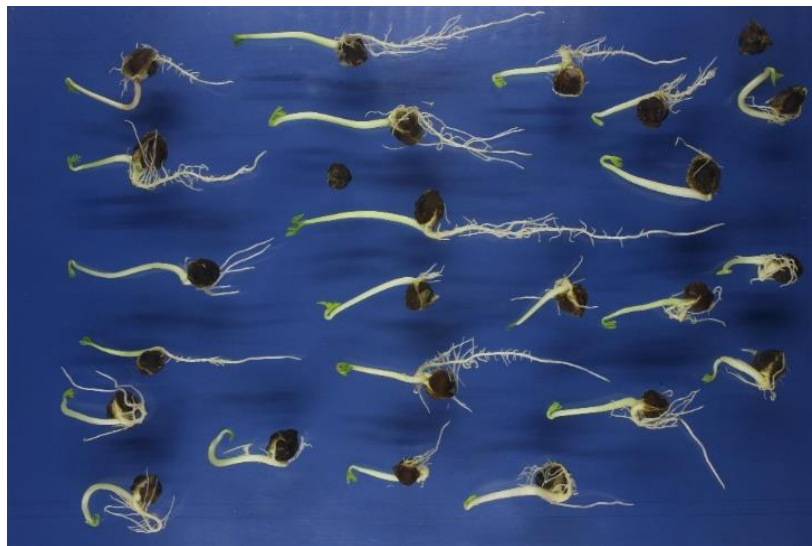


Figura 7. Amostra representativa do lote L5, que não foi submetido à deterioração controlada.

Atividade enzimática

Após a realização dos testes de germinação, as sementes foram novamente armazenadas em câmara fria para a avaliação de sua capacidade de resistir ao armazenamento em câmara fria com temperatura controlada para reduzir o efeito da oxidação em lotes de sementes, e testes

bioquímicos foram realizados para mensurar a atividade enzimática após 12 meses nestas condições. Os gráficos seguintes (Figura 8, 9) mostram a atividade enzimática dos lotes L1, L2, L3, L4 e L5 de sementes de moringa a níveis decrescentes de deterioração controlada.

A Superóxido dismutase (SOD) é a primeira enzima envolvida nos processos de defesa contra estresses abióticos e os danos provocados por espécies reativas de oxigênio, como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), que acometem as espécies vegetais (Zhang et al., 2021). Na Figura 8 pode-se observar que houve uma redução acentuada na atividade da enzima SOD em consequência dos estresses abióticos aos quais os lotes de sementes de moringa foram submetidos, de maneira que somente o L5, que representa o tratamento em que não houve imposição de temperatura elevada, demonstrou concentrações relevantes dessa enzima. Todos os lotes de sementes que passaram pelo processo de deterioração controlada reduziram de maneira significativa os teores da enzima SOD em seus tecidos a níveis próximos à neutralidade, indicando a sensibilidade de sementes de moringa para a manutenção desta enzima em condições inadequadas.

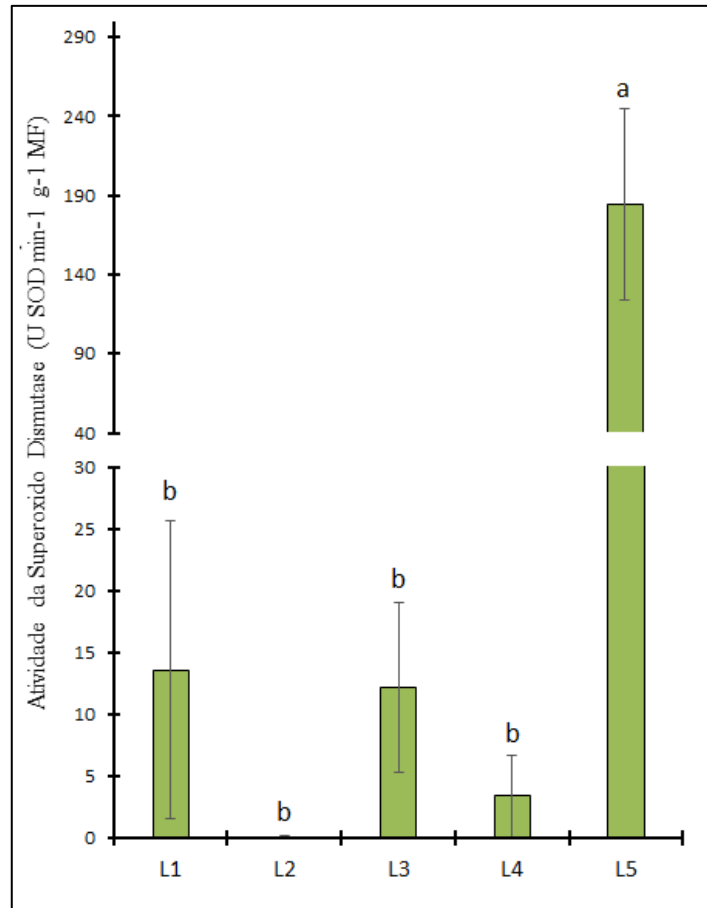


Figura 8. Atividade da enzima Superóxido Dismutase (SOD) em cinco lotes (L1-L5) de sementes de *Moringa oleifera* após armazenamento em câmara fria. Médias seguidas pela mesma letra, dentro dos mesmos parâmetros, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey (95%).

Avaliando-se as enzimas Ascorbato Peroxidase (APX) e Catalase (CAT) (Figura 9), observou-se, para todos os tratamentos, uma presença relevante dos níveis dessas enzimas, que representam uma resposta eficiente das sementes desta espécie em lidar com estresses abióticos após longos períodos de armazenamento. A atividade da APX (Figura 9A), foi estatisticamente semelhante para todos os tratamentos avaliados. A APX é uma enzima fundamental para o metabolismo antioxidante das plantas, e controlam os níveis de espécies reativas de oxigênio, envolvendo-se na resposta a estresses abióticos aos quais o vegetal é submetido. Estando presente no apoplasto das células, regula as enzimas que se associam à parede celular, eliminando o H₂O em regiões onde a enzima Catalase não está presente, reduzindo o processo

oxidativo que caracteriza a deterioração natural de sementes e consequente redução do seu desempenho agrônômico (Corbineau, 2012).

A atividade da CAT (Figura 9B) foi significativamente inferior apenas no lote de sementes L1, que recebeu os maiores níveis de deterioração controlada. A enzima CAT é encontrada nas organelas citoplasmáticas das plantas, como glioxissomos e peroxissomos, e degradam o peróxido de hidrogênio rapidamente. A CAT é a única enzima degradante de H_2O_2 que não exige um consumo excessivo de redutores celulares para promover a degradação do peróxido de hidrogênio, sendo um catalizador eficiente formado pelas plantas em condições de estresse (Eisvand et al., 2016).

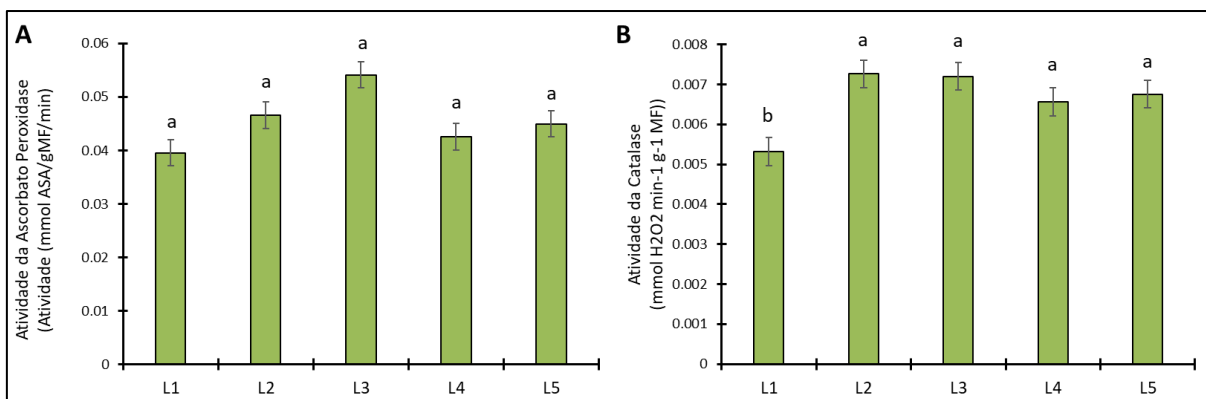


Figura 9. Atividade das enzimas Ascorbato Peroxidase (A) e Catalase (B) em cinco lotes (L1-L5) de sementes *Moringa oleifera* após armazenamento em câmara fria. Médias seguidas pela mesma letra, dentro dos mesmos parâmetros, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey (95%).

Mostrou-se ser possível analisar a viabilidade das sementes de *Moringa oleifera* pelo teste bioquímico realizado após pré-embebição em água destilada pelo período de 24h, seguida de imersão em solução de 2, 3, 5 trifetil cloreto ou brometo de tetrazólio na concentração de 0,5 g/L, seguido de corte transversal das sementes sem a necessidade de remoção do seu tegumento. Utilizando este procedimento, a intensidade da coloração promovida pela atividade respiratória das sementes em contato com o reagente permite a inferência de parâmetros qualitativos que representam a sua capacidade de gerar plantas com potencial desempenho agrônômico.

Os ensaios germinativos realizados nos cinco lotes de sementes de moringa que receberam diferentes níveis de deterioração controlada permitem ainda, concluir que as sementes de moringa são tolerantes ao estresse abiótico promovido pela temperatura excessiva por um período de até 48h preservando a qualidade do lote a níveis satisfatórios. Em se tratando da atividade enzimática relacionada com a resistência de sementes à degradação promovida por estresses abióticos, não houve influência da deterioração controlada à qual as sementes foram submetidas na expressão da enzima APX, já para a CAT, as atividades foram semelhantes entre os lotes avaliados, com exceção daquele que foi exposto por maior período ao processo de deterioração. A presença destas enzimas ocorre em nível relevante mesmo após 12 meses de armazenamento em câmara fria. No que se refere à enzima SOD, essa se mostrou sensível à deterioração controlada, de maneira que sua presença em níveis relevantes se deu somente no lote de sementes que não foi submetido à deterioração controlada.

Conclusão

- O teste de tetrazólio foi eficiente na avaliação da atividade respiratória de sementes de moringa.
- O estresse térmico influenciou a germinação e desenvolvimento de plântulas de sementes de moringa.
- Sementes de moringa podem ser armazenadas por mais de 2 anos.
- A atividade da enzima SOD em sementes de moringa é significativamente reduzida pelo aumento da temperatura.
- A atividade da enzima APX permanece inalterada em sementes de moringa submetidas ao aumento de temperatura a nível de estresse abiótico, ocorrendo redução significativa apenas no nível de deterioração controlado mais severo utilizado.
- A atividade da enzima catalase mostrou-se estatisticamente indiferente ao estresse abiótico causado pelo aumento da temperatura.

Referências Bibliográficas

- ANVISA. Proibidos alimentos com Moringa oleífera. 2019. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2019/proibidos-alimentos-com-moringa-oleifera..> Acesso em 02/05/2022.
- BIEMELT, S., KEETMAN, U; ALBRECHT, G. Re-aeration following hypoxia or anoxia leads to activation of the antioxidative defense system in roots of wheat seedlings. *Plant Physiology*, 116(2), 651-658. (1998). DOI [10.1104/pp.116.2.651](https://doi.org/10.1104/pp.116.2.651)
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília: Mapa/ACS, 2009. 399 p.
- COELHO, J.S; SANTOS, N.D; NAPOLEÃO, T.H; GOMES, F.S; FERREIRA, R.S, ZINGALI, R.B; COELHO, L.C; LEITE, S.P; NAVARRO, D.M; PAIVA, P.M. Effect of Moringa oleifera lectin on development and mortality of Aedes aegypti larvae. *Chemosphere*, 2009. Nov 1;77(7):934-8.
- CORBINEAU, F. "Markers of seed quality: from present to future." *Seed Science Research* 22.S1, 2012. S61-S68
- GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K.. Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. *Plant physiology*, 59(2), 309-314, 1977. <https://doi.org/10.1104/pp.59.2.309>
- EISVAND, H.R; MOORI, S; ISMAILI, A; SASANI, S; Effects of late-season drought stress on physiology of wheat seed deterioration: changes in antioxidant enzymes and compounds. *Seed Science and Technology*, 2016. Jul 1;44(2):327-41.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia (UFPA)*, v. 35, n.6, p. 1039-1042, 2011.
- HAVIR, E. A., & MCHALE, N. A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. *Plant physiology*, 84(2), 450-455, 1987. <https://doi.org/10.1104/pp.84.2.450>

FERREIRA, P. M. P; FARIAS, D. F; OLIVEIRA, J. T. D. A; CARVALHO, A. D. F. U. Moringa oleifera: bioactive compounds and nutritional potential, 2008. *Revista de Nutrição*, 21, 431-437.

NAKANO, Y; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and cell physiology*, 22(5), 867-880, 1981.
<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a076232>

RAJA, S B. G; BAGLE; T. A. MORE. "Drumstick (Moringa oleifera Lamk.) improvement for semiarid and arid ecosystem: Analysis of environmental stability for yield." *Journal of Plant Breeding and Crop Science* 5.8, 2013. 164-170.

RANGEL, M. S. A. Moringa oleifera: uma planta de uso múltiplo. *Embrapa Tabuleiros Costeiros-Circular Técnica (INFOTECA-E)*. 1999.

RASHID, U; ANWAR, F; MOSER, B.R; KNOTHE, G. Moringa oleifera oil: A possible source of biodiesel. *Bioresource technology*, 2008. Nov 1;99(17):8175-9.

SAINI, R. K; N. P. SHETTY, P; GIRIDHAR. "GC-FID/MS analysis of fatty acids in Indian cultivars of Moringa oleifera: potential sources of PUFA." *Journal of the American Oil Chemists' Society* 91.6 (2014): 1029-1034.

ZHANG, K; ZHANG, Y; SUN, J; MENG, J; TAO, J. Deterioration of orthodox seeds during ageing: Influencing factors, physiological alterations and the role of reactive oxygen species. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2021. Jan 1;158:475-85.

ARTIGO 2 - *Moringa oleifera* LEAF EXTRACTS POTENTIALS FOR ORGANIC AGRICULTURE

Artigo redigido conforme normas da revista Planta (versão preliminar).

Moringa oleifera leaf extracts potential for organic agriculture

REVIEW ARTICLE

Rafael Peron Castro¹, Carrie Waterman², Michelle Samuel Foo³, Olufemi Ajayi³, Donchel Boone³, Moacir Pasqual¹

¹ University of Lavras – UFLA. Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000 • Lavras/MG, BRA.

² University of California Davis – UC Davis 1 Shields Ave, Davis, CA 95616, USA

³ Alabama State University – ASU. 915 S Jackson St, Montgomery, AL 36104, USA

Main Conclusion

Aqueous and/or alcoholic *Moringa oleifera* leaf extracts supports plant nutrition as biofertilizer and biostimulant for organic specialty crops. Enhancement of plant yield, shelf life, and the quality of harvested products have been reported.

Abstract

Plant-derived extracts have been intensively researched as a new bioresource to serve the organic certified specialty crops market. In addition to chemical fertilizers, synthetic plant growth promoters and regulators are widely employed in conventional agriculture to achieve better yield-related parameters. *Moringa* (*Moringa oleifera* Lamarck) a fast-growing and nutrient-dense perennial tree that is gaining momentum as a superfood throughout the world. Source of minerals, vitamins, protein, amino acids, glucosinolates, and several bioactive compounds, moringa leaves are reported to be beneficial for plant nutrition enhancing productivity, sanity, and quality of many crops. Regarding the potential benefits for agricultural purposes, moringa leaf extracts can act as an alternative to synthetic plant growth promoters once it's been shown to accumulate phytohormones. As the nutritional value of moringa is well reported, researchers are evaluating the methods that must be employed for achieving the best results with Moringa Leaf Extracts – MLE to promote gains over specific crops. There is a range of possible uses for such extracts in agriculture, that goes from seed priming to mold control of storage foods, covering all stages of plant development until its consumption. Here, we aim to provide an updated review on moringa leaf extracts and their potential as a biofertilizer and plant growth promoter for organic cultivated specialty crops.

Introduction

Food security is a major concern of modern society that can only be achieved in the long term by developing sustainable farming methods. All crops demand considerable amounts of the macronutrients nitrogen (N), phosphorus (P), potassium (K), calcium (Ca), magnesium (Mg), and sulfur (S) (Maathuis, 2009) as well as micronutrients like boron (B), chlorine (Cl), cobalt (Co), copper (Cu), iron (Fe), manganese (Mn), molybdenum (Mo), and zinc (Zn), equally essential for plant development, despite the lower requirements. Respecting plant nutrition, the availability of all essential nutrients is mandatory for plant development, which is limited by the most restricted mineral (Baligar et al. 2001).

According to the USDA specialty crops are fruits and vegetables, tree nuts, dried fruits, horticulture, and nursery crops, including floriculture (Fuchs 2021). The term includes several crops, especially those freshly consumed by humans. Commodity vegetables such as grains, oilseed crops, forages, and fiber crops are not considered specialty crops. As minerals and petroleum-based inputs are both limited sources on which agriculture relies, there is rising demand for bioresources that can substitute the conventional products applied during the development of plants, allowing a less centralized market and its sustainability. Plus, the raising demand for organic certified food products that, as well as the consumption of specialty crops, represents the search for a healthier feeding habit.

Considering Liebig's theory of plant nutrition, where the yield is limited by the nutrient in the smallest amount, the nutritional value of any food equally depends on the soil fertility to reach its potential (Van der Ploeg et al. 1999). In organic farming, the soil food web comprehends organic sources of essential minerals and microorganisms that mediate their availability at the root zone (Ludovic et al. 2015). For a specialty crop to reach its nourishment potential, it is necessary to provide its nutritional demand over all the plant development

Compounds of interest

A healthy plant has all the nutrients available for metabolizing the substances of the species over its development. The attributes of soil, plant and cropping systems affect plant growth. Production or productivity depends on several variables related to the environment, soil, and other factors (Baligar 2001). Seventeen elements are essential for plant growth and development: Carbon (C), Hydrogen

stages. Each nutrient behaves differently when it comes to its mobility in both soil and plant. Some minerals like P, Mg, and Zn are immobile in the soil, while others like Ca and B are immobile within the plant, which needs to be considered when deciding over the method and time of application for specific reasons (Havlin 2020).

Biofertilizers keep the soil web rich in all kinds of macro and micronutrients. The concentrations of nutrients in natural resources are considerably lower than in conventional fertilizers, where the essential minerals are concentrated in the mineral form. Researchers are constantly studying the interactions between plants, soil, and the different nutrients to shed light on their interrelationships, thus providing new possible ways to develop them for agricultural purposes. This agricultural innovations on biofertilizers and the use of microorganisms in agriculture could result in better utilization of soil and natural resources. Thus, improving the use of plant nutrients is a must to secure higher yields and sustainable production of specialty crops.

Moringa (*Moringa oleifera* Lamarck, Moringaceae) is a horticultural tree that is gaining momentum due to its nutrient-dense profile, gathering all the essential nutrients demanded by plants, along with other compounds of interest, such as biostimulants, plant growth promoters, phenolic compounds, and amino acids. Indications of moringa leaf extracts - MLE as growth and yield-enhancing effects along with an amelioration effect on plant physiology under abiotic stresses (e.g. drought and salinity), justifies its consideration as an alternative to synthetic agrochemicals for improving crop yield. Aqueous MLE's are easy to prepare, cheap, and environmentally safe, and have been used effectively by farmers as a biostimulant to enhance the growth and yield of various crops (Malik 2021). MLE is considered a good alternative source for inorganic fertilizers due to the leaves being high in protein, essential amino acids, and minerals (Yasmeen et al. 2013).

(H), Oxygen (O), Nitrogen (N), Phosphorus (P), Potassium (K), Calcium (Ca), Magnesium (Mg), Sulfur (S), Boron (B), Chlorine (Cl), Cuprum (Cu), Iron (Fe), Manganese (Mn), Molybdenum (Mo), Nickel (Ni) and Zinc (Zn). Some elements are beneficial to most plants: Silicon (Si), Selenium (Se), and Cobalt (Co). The essential nutrients are classified into macro and micronutrients due to the quantity in which they're demanded by the crops.

The macronutrients (N, P, K, Ca, Mg, and S) are required in higher amounts than micronutrients (B, Cl, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, and Zn), although being equally important. Each one of these elements performs specific functions on plant development and metabolism (Barker and Pilbeam 2015).

Due to its chemical structure, mineral elements have different forms of absorption. Some of them have great mobility within the plant, going from older leaves to a new one or fruit when needed, while others don't move at all after being absorbed by the plant (Jones and Jacobsen 2005.) Such characteristics justify the employment of foliar applications or fruit spraying over specific stages of plant growth, depending on the nutrient that shall be provided. In general, N, P, K, and Mg are of high mobility and redistribution within the plant, S, Cu, Fe, Mn, Zn, and Mo has low mobility, and Ca, along with B are not movable at all, being only possible to be provided to a developed plant through directly spray (Marschner 2011.).

In addition to mineral fertilizers, several organic compounds have been researched as alternatives to more suitable and sustainable plant nutrition and growth promotion. Such products are known as biostimulants, diverse substances, including microorganisms, that are applied to plant, seed, soil, or other growing media that may enhance the plant's ability to assimilate nutrients or provide benefits to plant development. Plant biostimulants are defined by their functions and the capacity of enhancing nutrition efficiency, abiotic stress tolerance, crop quality. Furthermore, they contribute to sustainable, high input low input productions (Du Jardin 2015).

Moringa leaves and their leaf extracts gather a wide profile of mineral elements, phytochemicals, plant growth promoter hormones, and biostimulants that can perform the enhancement of any crop throughout foliar and or soil applications. Moringa leaves contain all the macronutrients in significant amounts, but the composition of MLE varies with the extraction method (Table 1).

Table 1. Mineral composition of *Moringa oleifera* leaves and the leaf extracts.

Macronutrient (%)	Fresh Leaves	Dried Leaves	Aqueous extract **	Ethanollic extract
Nitrogen *	0.01	4.85	0.31	4.37
Phosphorus	0.07	0.30	0.61	0.39
Potassium	0.26	1.5	2.77	0.11
Calcium	0.44	3.65	0.87	2.4
Magnesium	0.04	0.5	0.6	0.45
Sulfur	0.14	0.63	0.26	
Reference	Godinez-Oviedo et al. (2016)	Moyo et al. (2011)	El-Mageed et al. (2017)	Fuglie, (1999)

* Nitrogen values were adapted from Protein levels according to the conversion factor of Merrill and Watt (1973).

** Approximate components of MLE on a dry weight basis.

The leaf extract composition varies due to the method of extraction, the harvested material, and the storage conditions. Garcia-Beltran et al. (2020) when comparing aqueous and ethanolic *Moringa oleifera* extracts, discovered that total phenolic and cyanogenic glycosides are higher within the aqueous extract, whilst flavonoids, saponins, and tannins concentrations are considerably higher in the ethanolic MLE.

Phytochemical screening of MLE's showed a greater abundance of phenolic and cyanogenic glycosides in aqueous than in ethanolic extracts,

characterized by several flavonoids, condensed tannins, and saponins. In addition, the aqueous extract showed a marked cytotoxic effect on both SAF-1 (at doses above 0.01 mg mL⁻¹) and PLHC-1 (at doses above 0.25 mg mL⁻¹) cell lines. The ethanolic extract improved the viability of SAF-1 cells and decreased the viability of PLHC-1 cells when used at higher concentrations. Ethanolic and, particularly, the aqueous extracts showed significant bactericidal activity on pathogenic *Vibrio anguillarum* and *Photobacterium damsela* strains. Screening of the main bioactive compounds of both aqueous and ethanolic *M. oleifera* leaf extracts, a

marked difference was found on cyanogenic glycosides and phenolic compounds, where aqueous extract had a higher content than the methanolic

extract. However, the ethanolic extract's flavonoid, tannin, and saponin contents were higher than in the aqueous extract.

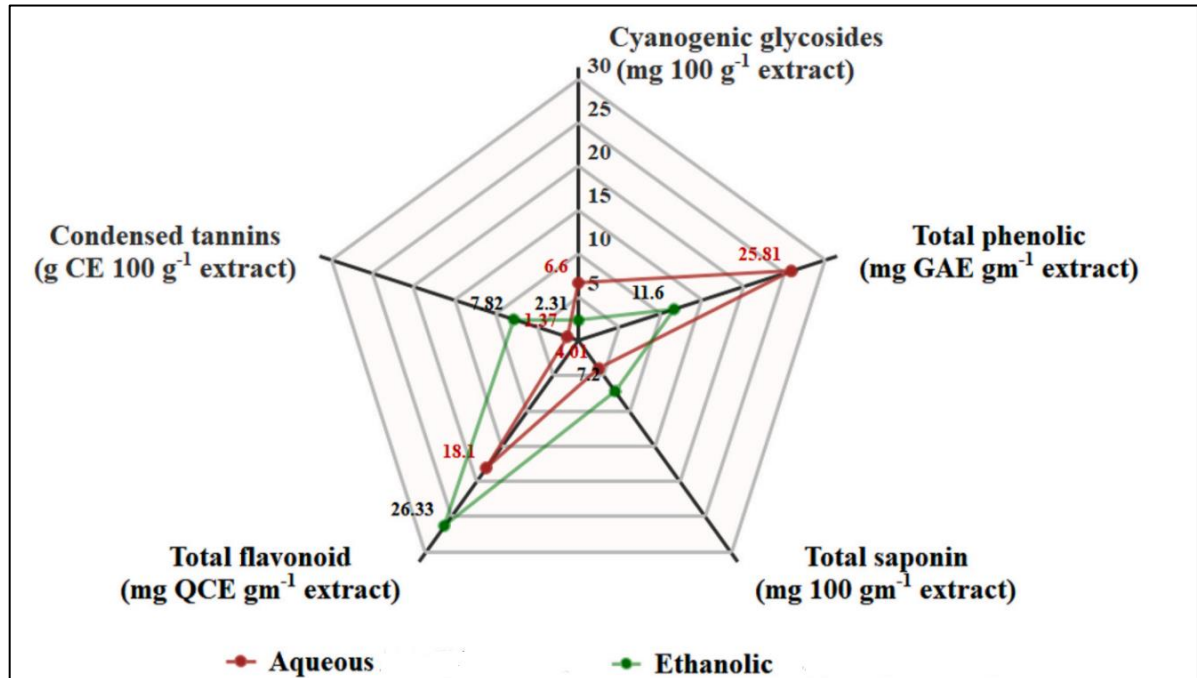


Fig. 1 Phenolic compounds concentration of aqueous and ethanolic *Moringa oleifera* leaf extracts. Adapted from Garcia-Beltran et al (2020).

Phenolic compounds comply with the plant's defense to abiotic stresses, such as the resistance to cold and heat environments. Thermal stresses induce the accumulation of phenolics in the plants, reducing the oxidation and activating the biosynthesis of phenolic compounds (Rivero et al. 2001). The soil application of MLE can stimulate plant growth and the arbuscular mycorrhizal fungus colonization, helping the root system to grow deeper, enhancing the assimilation of nutrients (Fries et al. 1997).

Flavonoids, on the other hand, perform a role as defense compounds against herbivory and fungal diseases. They can behave as toxins, reducing digestibility or as an antifeedant for insects, as well as crosslinking of microbial enzymes. Flavonoids act by inhibiting cellulases, xylanases, and pectinases forming a hard structure that suits as a physical barrier against pathogen attack (Treutter 2006).

It can be advisable to use ethanolic MLE spray over leaves and fruits of specialty crops when the aim is to perform plant's defense against plagues and diseases, whilst the aqueous MLE shall be chosen for the application over the root area, to enhance the plant ability to deal with abiotic stresses. By spraying the aqueous MLE as a biostimulant for

squash plants under deficit irrigation, El-Mageed et al. (2017) found the improvement of water use efficiency and the amelioration of the physio-biochemical attributes. Such result was related to the presence of osmoprotectants components like proline and other amino acids, ascorbic acid, phytohormones (auxin, gibberellin, and cytokinin) combined with the essential nutrients found at the MLE. Phytohormones are Plant Growth Regulators - PGRs interfere directly and specifically with the natural hormone system of higher plants. They are widely used in modern agriculture by their synthetic analogs.

The use of diluted aqueous Moringa Leaf Extract - MLE (3.3%) by foliar application has shown to delay leaf senescence, improving late sown wheat performance (Yasmeen et al. 2013). The growth-promoting role performed by moringa leaves was mentioned in a Preliminary Report by Basra and Lovat (2016), when fully expanded moringa young leaves were investigated for the concentration of cytokinin, gibberellin (GAs), abscisic acids (ABA), and their metabolites. Although the interaction among different hormones added to the complexity of the hormonal system in higher plants makes it difficult to infer over a specific performance of PGR,

the higher concentration of ABAs and auxins suggests the role played by MLE when it comes to their effect over dealing with biotic stresses.

Table 2. Concentrations of Abscisic acids - ABA and their metabolites in young fully expanded moringa leaves.

Abcisic Acid	Abbreviation	Concentration (ppb)
Phaseic acid	PA	2.794
Abscisic acid - glucose ester	ABAGE	1.429
Dihydrophaseic acid	DPA	485
<i>Cis</i> - Abscisic Acid	ABA	838
<i>Neo</i> - Phaseic acid	neo - PA	54
7' - Hydroxy - abscisic acid	7'OH - ABA	13
<i>Trans</i> - Abscisic acid	t-ABA	16

Basra and Lovatt, 2016 (adapted).

The plant hormone Abscisic acid - ABA was found as seven different metabolites within *Moringa oleifera* leaves, they play a major role in protecting plants against drought stress when they influence the stomatal closure mediated by Calcium and Potassium, both nutrients likewise available at moringa leaves and their extracts. ABA regulates many agronomic aspects of plant development by inhibiting the phase transitions of seeds and plants, along with the mediation of physiological responses to environmental stresses by controlling the stomatal closure (Finkelstein 2013).

Phaseic acid can be converted from abscisic acid by the effect of zeatin, which reduces flower abscission. The effect of this plant hormone was reported by applying the aqueous MLE 3% over full bloom stage orange trees, achieving the highest results for both the yield and juice percentage. This extract had significant effects on leaf percentage and its mineral content, although the application has also increased acidity and gave a less firm peel (El-enien et al. 2015).

Amino acids are precursors for many plant hormones, The most common form of auxin within moringa leaves is conjugated with aspartate and glutamate, which are considered the starting point for Indole Acetic Acid catabolism (Basra and Lovatt 2016). As opposed to ABA that acts mainly overgrowth inhibition; the auxin and their metabolites are directly involved with plant tropism. The changes of phytohormonal content (auxins, gibberellins, and cytokinins) have been shown to increase progressively by using aqueous moringa

leaf and twigs extract over rocket plants (Abdalla 2013).

By isolating the Plant Growth Promoters zeatin and auxins from MLE to be used as a foliar spray, Foidl et al (2001) accelerated the growth of several plants, increasing the flowering, dry matter, fruit weight and causing plants to be firmer and more resistant to pests and diseases. This improvement of agronomical parameters was due to the extract obtained from the leaves of moringa in 80% ethanol, which contains growth principles (i.e hormones of the cytokinin type).

Table 3. The concentration of Auxins and Cytokinins and their metabolites in young and fully expanded *Moringa oleifera* leaves.

Auxin	Abbreviation	Concentration
Indole-3-acetic acid	IAA	37
N-(Indole-3-yl-acetyl) - Aspartic acid	IAA - Asp	6955
N-(Indole-3-yl-acetyl) - Glutamic acid	IAA - Glu	194
Cytokinin	Abbreviation	Concentration
Isopentenyladenosine	iPA	305
<i>cis</i> -Zeatin riboside	<i>c</i> -ZR	180
<i>trans</i> -Zeratin riboside	<i>t</i> -ZR	3
Dihydrozeatin riboside	dhZR	3
Isopentenyladenine	2iP	2

Basra and Lovatt, 2016 (adapted).

The presence of polyphenolic compounds, carotenoids, and ascorbic acid (Vitamin C) in moringa leaf extracts was reported to be responsible for a more vigorous life span and longer shelf life of harvested avocado fruits. In a bio fungicidal study on antimicrobial properties, ethanolic MLE suppressed mycelial growth, suggesting the alternative organic post-harvesting coating treatment as a bio fungicide (Kubheka 2020). This attribute is enhanced by minerals like Calcium, which are better incorporated at fruit peel by aerial spraying in comparison to root zone application, thickening the cell wall (Madukwe et al. 2013).

Moringa leaves and their leaf extracts contain vital plant nutrients including all the essential macronutrients, protein and amino acids, less volatile sources of N in comparison with chemical sources like urea and ammonium nitrate. N, P, K, Ca, Mg and S are present in dried moringa leaves (Fuglie 2005; Olagbemide and Alikwe 2014; Verma and Nigam 2014; Gopalakrishnan et al. 2016; Fokwen et al. 2018). All the micronutrients are also found within moringa leaves, including relatively high levels of Fe and Zn that are particularly of interest to biofortified crops, in which genetic breeding or fertilization is performed towards the healthy benefits to human consumption (Stadlander and Becker 2017). Plant protective compounds like flavonoids, glucosinolates, and growth-promoting phytohormones (abscisic acids, auxins, and cytokinins) including *Cis*-Zeatin riboside (*c*-ZR) are also prevalent within moringa leaf extracts.

Glucosinolates - GSL are sulfur and nitrogen-rich, anionic, secondary metabolites converted from myrosinase and found mainly in the plant order Brassicales, such as cauliflower, broccoli, kale,

cabbage, mustard, and moringa (Clark 2010). The role of GSL and their derivatives in plant defense is well documented, as is the use of such bioactive compounds for human health. The amount of GSL in plants is regulated by the sulfur nutritional status, as a decreasing sulfur (S) supply on plants results in a decrease of free sulfates and glucosinolates concentrations. This mineral can be provided efficiently by soil or foliar spraying, as it is mobile in both soil and the plant. GSLs are powerful tools for plants with regard to biological interactions, acting as attractants of certain insects, repellents to plague insects and mammals, insecticides, fungicides, and antimicrobial agents (Schnug 1990). The GSL derivative isothiocyanate - ITC performs toxicity to nematodes as they suppress *Meloidogyne javanica* by the application of plant biomass at 2.9% w/w to soil. Plant material that contains GSL precursors of ITCs is the most toxic to nematodes (Zasada and Ferris 2003). A rapid and efficient method of Moringa leaf concentrate manipulation, made by extracting fresh leaves with water, utilizes naturally occurring myrosinase to convert GSL to ITC, as a bioconversion that results in a 1.66% of ITC level (Waterman 2014).

Methods of moringa leaf extraction

Regardless of the extraction method, it's fundamental to follow post-harvest techniques like sanitation, selection, dehydration, and milling carefully to preserve both quality and concentration of compounds. By comparing the antibacterial properties of different plant extracts, Ibrahim et al. (2020) have concluded that all plants lost their antibacterial activities after exposure to 55°C. Proteins and vitamins can be degraded when

processed in high temperature or stored in sunlight exposure.

Although dried leaf powder contains higher concentrations of the nutrients found within moringa leaves, some authors have been showing better results by using fresh leaves extracts as biofertilizers. Khan et al. (2021), working with a 3% aqueous extract of fresh leaves, significantly improved the gas exchange attributes, physiological responses, enzymatic activity, and productivity of basmati rice under drought stress conditions. The foliar applications of MLE.

Farook and Koul (2020) manipulated an extract with twenty grams of shade-dried leaves powder suspended in 100 ml of solvent (distilled water/ethanol) in conical flasks. The conical flasks were kept on a rotatory shaker set at 200 rpm for 48 h at 30 °C. The extract was filtered through a filter paper (Whatmann no. 1) and the solvent was evaporated by using a rotator evaporator at 40 °C for 24 h and was later collected in labeled vials. The extracts thus obtained were stored at 4 °C and showed antioxidant, antibacterial, and PGP properties.

A Moringa Leaf Ethanol Extract (MLEE) protocol stated by Okechukwu et al. (2021) was prepared by drying washed leaves at room temperature (29–35 °C) for three weeks. The leaves were then crushed using a high-speed milling machine so the leaf powder could be dissolved in absolute ethanol (1:1 w/v) for 48 h, being subsequently filtered twice using a 2- μ m pore sterile filter paper. The resultant ethanol extract was concentrated using a rotary evaporator at leaves with water, utilizes naturally occurring myrosinase to convert GSL to ITC, as a bioconversion that results in a 1.66% of ITC level (Waterman 2014).

Methods of moringa leaf extraction

Regardless of the extraction method, it's fundamental to follow post-harvest techniques like sanitation, selection, dehydration, and milling carefully to preserve both quality and concentration of compounds. By comparing the antibacterial properties of different plant extracts, Ibrahim et al (2020) have concluded that all plants lost their antibacterial activities after exposure to 55°C. Proteins and vitamins can be degraded when processed in high temperature or stored in sunlight exposure.

Although dried leaf powder contains higher concentrations of the nutrients found within moringa

leaves, some authors have been showing better results by using fresh leaves extracts as biofertilizers. Khan et al (2021), working with a 3% aqueous extract of fresh leaves, significantly improved the gas exchange attributes, physiological responses, enzymatic activity, and productivity of basmati rice under drought stress conditions. The foliar applications of MLE

Farook and Koul (2020) manipulated an extract with twenty grams of shade-dried leaves powder suspended in 100 ml of solvent (distilled water/ethanol) in conical flasks. The conical flasks were kept on a rotatory shaker set at 200 rpm for 48 h at 30 °C. The extract was filtered through a filter paper (Whatmann no. 1) and the solvent was evaporated by using a rotator evaporator at 40 °C for 24 h and was later collected in labeled vials. The extracts thus obtained were stored at 4 °C and showed antioxidant, antibacterial, and PGP properties.

A Moringa Leaf Ethanol Extract (MLEE) protocol stated by Okechukwu et al (2021) was prepared by drying washed leaves at room temperature (29–35 °C) for three weeks. The leaves were then crushed using a high-speed milling machine so the leaf powder could be dissolved in absolute ethanol (1:1 w/v) for 48 h, being subsequently filtered twice using a 2- μ m pore sterile filter paper. The resultant ethanol extract was concentrated using a rotary evaporator at 50 °C. The residual dried powder of the obtained MLEE was 7.83%, and the acquired crude concentrated extract was further reconstituted (1 g of extract in 10 mL of distilled water) to be preserved in a refrigerator at 4 °C until use.

Aqueous extract of moringa was prepared by mixing 100 g of fresh leaves with 1 l of distilled water, meanwhile, ethanolic extract of moringa was made by mixing 100 g of fresh leaves with 1 l of 80% ethanol. The obtained suspensions were homogenized, filtered by wringing using a mutton cloth, and re-filtered using No. 2 Whatman filter paper (Fuglie 2000). The extracts were diluted with distilled water at 1:3 (25%) and 1:1 (50%) v:v and then sprayed directly onto plants.

Sequential extractions of MLE used 95% ethanol first in a leaf to ethanol ratio at 1:10 (w/v). Ethanol was removed by evaporation and the volume of the remaining solution was reduced to 500 ml under vacuum at 50°C using a rotary evaporator. The second extraction of the concentrated solution used n-hexane five times for further extraction via a

separation funnel to deliver a solute, which after dilution with deionized water (to the equivalent of 1 ml/g of fresh leaf material) delivered the “undiluted” ethanol-hexane Moringa leaf extract (MLEehex). Further dilutions with rainwater resulted in the 5% (MLE5) and the 10% (MLE10) concentration used in as a single foliar spray (at a rate of 70 l/ha) per plot at tillering on wheat cv. Mace (Brockman et al. 2020).

Basta and Lovatt (2016) showed the efficacy of bimonthly foliar and root applications of a moringa leaf extract MLE (3.3% w/v) was compared with two synthetic types of cytokinin over cherry tomato. The results endorsed the use of moringa as a plant growth promoter, by showing similar results between MLE and one of the synthetic hormones (trans-zeatin). Generally, it appears that foliar application of both aqueous and ethanolic moringa leaf extracts significantly increases plant height, number of branches/plants, and yield.

Moringa leaf extracts applications over organic and specialty crops

Horticulture is an important branch of specialty crops and includes pomology, olericulture, floriculture, nursery, among others (Relf 1992). The employment of MLE over specialty crops was found in all of the phenological stages of crop development, from seed priming to harvest, including post-harvest techniques that aim to improve the product’s shelf-life and quality.

Regarding pomology, the use of a 6% aqueous MLE as a biostimulant increased the yield and fruit quality of adult plum (*Prunus salicina*) trees. Sprayings performed at full bloom stage, fruit setting stage, and fourteen days after fruit setting stage significantly overcome the average of both productive and biochemical fruit quality. The increase of fruit weight, firmness, color, Soluble Solid Content, ascorbic acid, Titratable Acidity ratio, anthocyanin content, antioxidant activity, along with the higher setting and a lower dropping of fruits in comparison to all other treatments was achieved. (ShM. Thanaa 2017). The author attributed the decrease of fruit drop to the content of protein, vitamins, phenolics, sugar, minerals, gibberellins, and cytokinins which specially regulate internal mechanisms for controlling fruit sets and ovarium abscission (Taloon and Zeevaart 1992).

The post-bloom application of a 3% MLE improved the quality of early season matured grapes (*Vitis vinifera*). As a comparison of the spraying

effect over different phenological stages, The application significantly increased leaf potassium, iron, and zinc, cane length, leaf size, berry set, berries per cluster, rachis length, size, and weight of both cluster and berry in all of the tested cultivars (Khan et al. 2020). Peach (*Prunus persica*) responded greatly to the application of a 2% aqueous MLE in matters of both productivity and quality when applied during fruit setting (Bakhsh 2020).

The effect of aqueous MLE on the morphological changes of pineapple (*Ananas cosmus*) seedlings over its initial acclimatization stages. The best morphological results were obtained by 12.5% concentration over 72 hours of seedling immersion, expressing no visible symptoms of diseases (Pérez-Gomes et al. 2019).

Dr. Lowell Fuglie, when visiting the Biomasa agricultural research program in Nicaragua, was able to document the use of aqueous MLE over coffee plants as a “green manure” and a Plant Growth Hormone, as a technique that allows *Coffea arabica* to grow on lowlands. To make the spray, they recommend grinding young moringa shoots together with water at the concentration of 10 kg of biomass per liter of water. After filtered and diluted at a 1:32 ratio, around 25 mL of the solution can be applied over each plant, at every stage of its development (Fuglie 2000). Some of the positive effects caused by such extract over specialty crops, according to project Biomasa, was the greater yield of coffee (*C. arabica*), with a larger bean size with a better formation, peanut (*Arachis hypogea*), onion (*Allium cepa*), cantaloupe (*Cucumis melo var. cantalupensis*) and bell pepper (*Capsicum annum*). They’ve also observed the increase of flowering in cherry tomatoes (*Solanum lycopersicum*).

Edible coating with MLE has shown to be a post-harvest alternative for the organic fruit industry. The use of ethanolic MLE made with young fresh leaves, according to Makker and Becker (1996) methodology was used as coating treatment to extend the shelf life of mango (*Mangifera indica*) fruits up to six weeks. The results provided by El-Razek et al. (2019) showed that a 10% concentration of such extract had a positive effect on reducing fruit weight loss and decay, total acidity, lipid peroxidation (MDA) content and increased both vitamin C and the antioxidant activity, enhancing the total phenols content. The antioxidative criteria, measured by the activity of the PAL enzyme, total phenols, and antioxidant activity were significantly increased by the MLE coating previous to cold storage. The same effect was observed by coating

avocado (*Persea americana*) fruits of two different varieties (Hass and Fuerte) coated with MLE 1% enriched with Chitosan (Carboxymethyl cellulose) (Tesfay et al, 2017).

The bio fungicidal effect of MLE added to carboxymethyl cellulose as a coating to avocado fruits was also observed in ambient temperature. Antimicrobial effect was observed in vitro by the extract against fungi strains of *Colletotrichum gloeosporioides* (Kubheka et al. 2020). Adding the

aqueous MLE to hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) was effective to extend the shelf life of orange (*Citrus sinensis*) storage in environmental temperature (Adetunji 2012). The treatment containing MLE and HPMC reduced the weight loss of the fruits, which kept market value over the seven weeks of the trial. Losses of firmness and ascorbic acid content were lower by using this coating treatment technique.

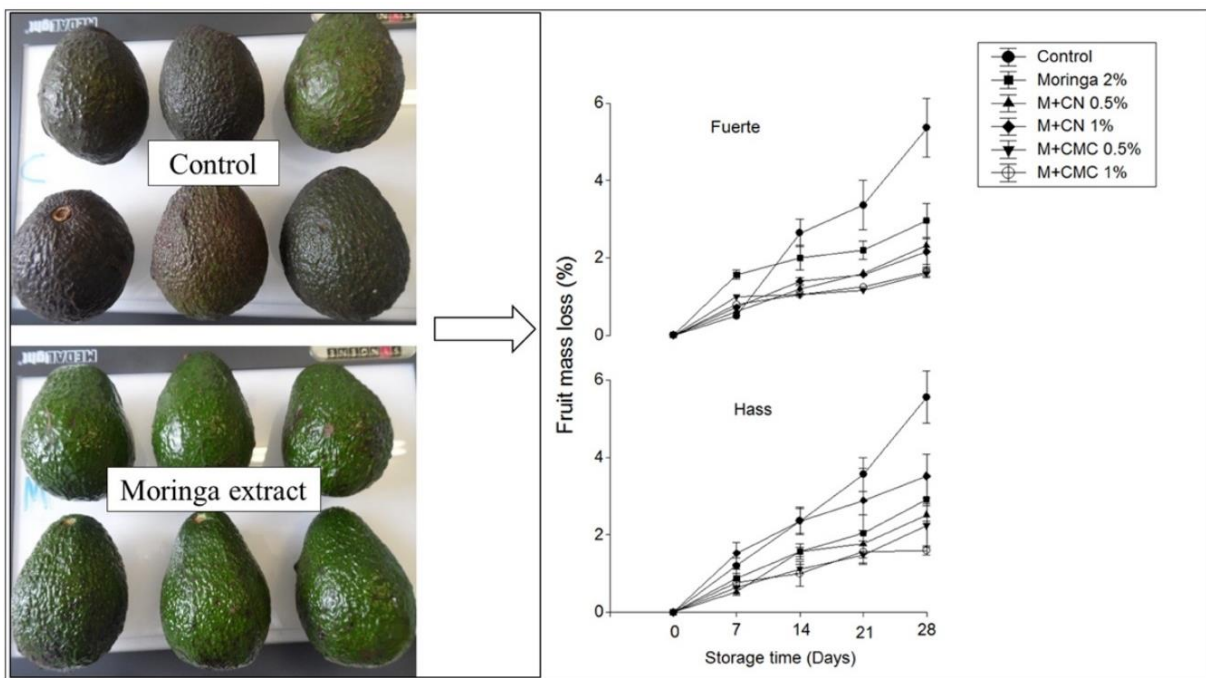


Fig. 2 The effect of Moringa Leaf Extract - MLE as a coating for improving the storage time of avocado fruits (Tesfay et al. 2017).

Horticultural crops concern plants that are used by people for food, medicinal purposes, and for aesthetic gratification. Fruits are usually taken as succulent parts of plants that are eaten as a dessert or a snack, and vegetables are described as herbaceous plants that are eaten raw or cooked during the meal. Common usage can be at odds with botanical nomenclature, and plants like tomato, cucumber, and eggplant are considered vegetables despite the edible portion being indeed a fruit (USDA 2014). Olericulture is the branch of horticulture dealing with the production of vegetables and herbs (Bhattacharyya et al. 2018). There is a special concern of customers to food poisoning when it comes to horticultural crops and fruits, as they are often consumed freshly, organic certified fruits and

vegetables are rising in consumption and there is a search for natural molecules that can efficiently substitute chemicals for plant defense.

The application of MLE over vegetable crops has been constantly published over the last few years. Ahmed and Asmaa (2021) discovered that the foliar application of ethanolic MLE or its combination with gibberellic acid was the more suitable strategy for artichoke (*Cynara cardunculus*) yield improvement in comparison with other natural extracts. Spraying plants with MLE increases vegetative growth, plant height, and the number of shoots. Besides enhancing plant development parameters by applying aqueous MLE at the root zone, El-Nagdi and Youssef (2015) inhibited root-

knot (*Meloidogyne incognita*) in sugar beet (*Beta* sp.). The management of root-knot was also studied on eggplants (*Solanum melongena*) by Doa et al. (2021) and Murslain et al. (2014) when the researchers have reduced the nematode population by associating MLE with *Trichoderma harzianum*, a biocontrol fungus.

Working with post-harvested and water-stressed broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*), a 2% of aqueous MLE application decreased the biomass loss and post-harvest decay compared with the control (Sakr et al. 2021). Ethanolic MLE over *Brassica* genus were also investigated by Culver et al. (2012) on cabbage (*B. oleracea* var. *capitata*) and rape (*B. oleracea* var. *Giant rape*) significantly increasing above-ground dry matter yield, root dry matter weight, and plant height for both of the crops when sprayed two weeks after emergence and then every two weeks thereafter. As to cauliflower (*B. oleracea* var. *botrytis*), MLE as juice (10mL water/100g of fresh leaves) at 1:32 v/v ratio was applied overgrowth stages increasing the gross and marketable yield (Rana et al. 2019).

The influence of aqueous fresh MLE, or leaf juice, at the 50 g/L. as foliar application improved plant growth and yield attributes of cucumber (*Cucumis sativus*) shortening the number of days to the first harvest (Ullah et al. 2019).

Hegazi et al. (2015) improved the growth and seed yield of squash (*Cucurbita* sp.) by foliar applications of MLE at 6g/L and concomitantly enhanced the Nitrogen, Phosphorus, and Potassium seed content leaves chlorophyll and carbohydrate. Squash treated with aqueous MLE as a foliar application, applied twice (20 and 35 days after planting), has also improved water use efficiency and physio-biochemical attributes under deficit irrigation (El-Mageed 2017).

The interaction of simple chemical fertilizers with algae and MLE in garlic (*Allium sativum*) was investigated by Mohamed et al. (2019) increasing the nutrient uptake and the bulb quality as measured by its Total Soluble Solids (TSS). By increasing the yields of grades 1 and 2, bulbs treated with MLE enhanced marketable and exportable yields over the first season of trial. The positive effects of the ethanolic extract at 10g/L as a foliar application to garlic crop were highlighted as a natural substance that can mimic the role of synthetic amino acids in a more sustainable practice for human health and the environment. The use of MLE had the same effect as the application of cysteine (100 ppm) and glutamine

(200 ppm) at the experimental level (Hegazi et al. 2016).

An innovative moringa extract was used by testing moringa leaf, seed, and root extracted by infusing ground powder in hot water (90 °C) for 2 hours. The ethanolic extract was made afterward to investigate its effect over post-harvest tuber rot caused by fungus on sweet potato (*Ipomea batatas*). Ethanolic extract of leaves, roots, and seeds were effective to control *Rhizoctonia solani* and *Fusarium oxysporum*, significantly reducing mycelial growth at 75% w/v concentration (Dania and Thomas 2019).

There are many studies reporting that the application of MLE over tomato (*Solanum lycopersicum*) is highly effective (Bashir et al. 2014) (Culver et al. 2012) (Yasmeen et al. 2014), described as an important alternative to organic certified crops of the Solanaceae family, recognized as plant disease susceptible species. Exogenous applications of a 3.3% MLE were used by Basra and Lovatt (2016), applied bi-monthly at foliar and root zone of cherry tomato. Foliar application has an advantage to the fruit setting stage as the MLE provides calcium directly to the fruits as an alternative to avoid black bottom disease caused by the lack of such macronutrient. The interaction between organic fertilization and MLE application increases yield and quality parameters, that overcame the chemical fertilization production as observed by El-Din et al. (2018). The antifungal effect against *Alternaria solani*, *Botrytis cinerea*,

Lettuce (*Lactuca sativa*) is often used as an indicator plant in agricultural trials. The potential of 6% ethanolic MLE was proven to influence the lettuce vegetation quality such as head structure, head weight, and root weight (Yaseen et al. 2021). The effectiveness of spraying aqueous MLE as an alternative to chemical fertigation under soilless conditions was evaluated by Mohssen Elbagory (2018) reducing the nitrate content of lettuce leaves besides enhancing vegetative parameters.

Conclusion

In this review, it was found evidence that both alcoholic and aqueous Moringa leaf extract - MLE, combined or not with other compounds, showed a great range of applications in agriculture.

Some authors have cleared the potential of using MLE's prior to the cultivations, as previous conditioning of seeds (Priming) for enhancing seedlings vigor. For such purpose, most of the reports have been using water extracts of dried leaf

powder or fresh leaves (juice). MLE's can be used alone or added to other synthetic or natural biostimulants for seed priming, such as coconut water and auxins. Many experiments were carried out during plant development showing the effect of MLE's due to the presence of Plant Growth Promoting (PGP) hormones and minerals that are essential nutrients, improving yields and the quality of vegetables.

As for plant nutrition, aqueous MLE foliar spraying showed significant improvements in several crops, enhancing plant yield and quality. The extracts have also helped the plant on dealing with abiotic stresses, which represents a suitable alternative to neglected semiarid regions facing water deficits where moringa can be widely cultivated, as opposed to many crops.

In post-harvest, there are references showing the potential of MLE's for enhancing the shelf-life of

fruits and the aflatoxins control of stored grains, including the enrichment biofilms with MLE because of its anti-mycotic and anti-aflatoxigenic characteristics. The method of extraction considerably influences the presence of compounds, being relevant to choosing the method that better extracts the compound of interest. In addition, for plant nutrition, it is equally important to decide over the form of application (foliar spray or root dripping) depending on the stage of plant development and the desired outcome.

Although further studies might be carried out for establishing the best protocols for each crop, *Moringa oleifera* and their leaf extracts have great potential as an alternative for specialty crops cultivated under organic farming systems.

Table 4. Statistically significant results of Moringa Leaf Extracts – MLE applications in agriculture

Usage	Crop/Target	Type of extract	Concentration	Reference
Priming	Maize	Aqueous	1:30	Basra et al. (2011)
Priming	Wheat	Aqueous	1:30	Yasmeen et al. (2013)
Priming	Pea	Juice	1:30	Noor et al. (2016)
Priming	Rangeland grass	Aqueous	1:30	Nouman et al. (2012)
Priming	Radish	Juice	1:32	Ashraf et al. (2018)
Priming	Cucumber	Juice**	----	Dunsin et al. (2015)
Priming	Linseed	Juice	1:30	Rehman et al. (2014)
Priming	Garden cress	Aqueous	1:30	Ayub et al. (2015)
Priming	Sesame	Juice	1:50	Shabbir et al. (2014)
Biostimulant	Cilantro	Ethanollic	1:30	Mazrou (2019)
Biostimulant	Cumin	Juice	1:05	Mehmood et al. (2021)
Biostimulant	Pea	Ethanollic (80%)	1:25	Merwad (2018)
Biostimulant	Kale and Broccoli	Aqueous	1:30	Toscano et al. (2021)
Biostimulant	Arugula	Juice	1:32	Abdalla (2013)
Biostimulant	Cabbage	Juice	1:32	Hoque et al. (2020)
Biostimulant	Squash	Juice	1:32	Taia et al. (2017)
Biofertilizer	Soy	Juice	1:30	Hanafy and Rania (2017)
Biofertilizer	Sweet bell pepper	Ethanollic (80%)	1:32	Dunsin and Odeghe (2015)
Biofertilizer	Rice	Juice	1:32	Khan et al. (2021)
Plant Growth Promoter	Stevia	Ethanollic	1:5	Koul and Farooq (2019)
Biopesticide	Wheat	Juice	1:20	Manzoor (2015)
Biopesticide	Mite	Methanollic	1:16	Seifi et al. (2018)
Aflatoxin	Peanut	Methanollic (80%)	1:20	Yehia et al. (2021)
Aflatoxin	Maize	Methanollic	1:64	Ogechukwu et al. (2021)
Aflatoxin	Velvet tamarind	Ethanollic	80ppm	Pepple et al. (2016)
Aflatoxin	Black pepper	Ethanollic	1:10	Mubeen et al. (2020)

References

- Abd El-Razek E, Abd El-Motty EZ, Orabi SA, Abou-Elfotouh A (2019) Improving fruit quality of mango fruits cv. Zebda by coating with moringa and green tea leaves extracts under cold storage. Middle East J. Agric. Res, 8(4), 1325-1343. <https://doi.org/10.36632/mejar/2019.8.4.34>
- Abdalla MM (2013) The potential of Moringa oleifera extract as a biostimulant in enhancing the growth, biochemical and hormonal contents in rocket (*Eruca vesicaria* subsp. *sativa*) plants. International journal of plant physiology and biochemistry, 5(3), 42-49. <https://doi.org/10.5897/IJPPB2012.026>
- Adetunji CO, Fawole OB, Arowora KA, Nwaubani, SI, Ajayi ES, Oloke JK, Majolagbe ON, Ogundele BA, Aina JA, Adetunji J (2012) Quality and safety of Citrus Sinensis coated with Hydroxypropylmethylcellulose edible coatings containing *Moringa oleifera* extract stored at ambient temperature. Global J Sci Front Res Biol Technol Genet, 12, 29-33.
- Ahmed SI, Ezzat AS (2021) Using some antioxidants and natural extracts as a substitutes or supplement for gibberellin for earliness induction in Globe artichoke. Journal of Applied Horticulture, 23(1). <https://doi.org/10.37855/jah.2021.v23i01.13>
- Ashraf R, Sultana B, Riaz S, Mushtaq M, Iqbal M, Nazir A, Muhammad A, Zafar Z (2018) Fortification of phenolics, antioxidant activities and biochemical attributes of radish root by plant leaf extract seed priming. Biocatalysis and agricultural biotechnology, 16, 115-120. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.07.012>
- Ayub M, Ibrahim M, Noorka IR, Tahir M, Tanveer A, Ullah A (2015) Effect of seed priming on seed germination and seedling growth of garden cress (*Lepidium sativum* L.). International Journal of Agriculture and Applied Sciences (Pakistan).
- Baligar VC, NK Fageria, ZL He. (2001). Nutrient use efficiency in plants. Communications in soil science and plant analysis, 32(7-8), 921-950. <https://doi.org/10.1081/CSS-100104098>
- Bakhsh A, Javaad HW, Hussain F, Akhtar A, Raza MK (2020) Application of Moringa oleifera leaf extract improves quality and yield of peach (*Prunus persica*). Journal of Pure and Applied Agriculture, 5(2), 42-51.
- Barker AV, Pilbeam DJ (Eds.). (2015). Handbook of plant nutrition. CRC press.
- Basra SM, Lovatt CJ (2016) Exogenous applications of moringa leaf extract and cytokinins improve plant growth, yield, and fruit quality of cherry tomato. HortTechnology, 26(3), 327-337. <https://doi.org/10.21273/HORTTECH.26.3.327>
- Basra SMA, Iftikhar MN, Afzal, I (2011) Potential of moringa (*Moringa oleifera*) leaf extract as priming agent for hybrid maize seeds. International Journal of Agriculture and Biology, 13(6).
- Bashir KA, Bawa JA, Mohammed I (2014) Efficacy of leaf extract of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.) on the growth of local tomato (*Lycopersicon esculentum*). Journal of Pharmacy and Biological Sciences, 9(4), 74-79.
- Bhattacharyya D, Sarkhel JK, Jana S (2018) Information sources in the field of horticulture with special reference to pomology: a case study of Commonwealth Agricultural Bureau (CAB) Abstracts. International Journal of Research in Social Sciences, 8(6), 186-196.
- Brockman HG, Brennan RF, van Burgel, A (2020) The impact of phytohormone concentration in Moringa oleifera leaf extract on wheat yield and components of yield. Journal of Plant Nutrition, 43(3), 396-406. <https://doi.org/10.1080/01904167.2019.1683195>
- Broyer TC, Stout PR (1959) The macronutrient elements. Annual Review of Plant Physiology, 10(1), 277-300. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.10.060159.001425>
- Calvo P, Nelson L, Kloepper JW, (2014) Agricultural uses of plant biostimulants. Plant and soil, 383(1), pp.3-41. <https://doi.org/10.1007/s11104-014-2131-8>
- Clarke DB (2010) Glucosinolates, structures and analysis in food. Analytical methods, 2(4), 310-325. <https://doi.org/10.1039/B9AY00280D>
- Culver M, Fanuel T, Zvenhamo CA (2012) Effect of Moringa oleifera leaf aqueous extract on growth and yield of rape and cabbage. African Journal of Biotechnology, 11(73), 13796-13800.
- Culver, Mvumi, Tagwira Fanuel, and Albert Z. Chiteka. "Effect of moringa extract on growth and yield of tomato." Greener Journal of Agricultural

- Sciences 2.5 (2012): 207-211.
<https://doi.org/10.5897/AJB12.942>
- Dania VO, Thomas AS (2019) Bioactivity and Phytochemical Composition of Moringa Oleifera in the Management of Fungal Rot Disease of Orange-Fleshed Sweetpotato. Niger. J. Mycol, 11, 26-45.
- Du Jardin P (2015) Plant biostimulants: Definition, concept, main categories, and regulation. Scientia Horticulturae, 196, 3-14.
<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.021>
- Dunsin, Oluwagbenga, and Theo Okiemute Odeghe. "Response of sweet bell pepper to moringa leaf extract and organo-bio degradable fertilizer." Asian J Agri Biol 3.4 (2015): 117-123.
- Elbagory M (2018) Effectiveness of organic fertigation and moringa leaf extract spray as an alternative to chemical fertigation for improving yield and quality of lettuce under soilless condition. Environment, Biodiversity and Soil Security, 2(2018), 175-182.
<https://doi.org/10.21608/JENVBS.2019.6817.1047>
- El-Din MN, El-Koumy HM, El-Bagory MH (2018) Importance of compost fertilization and spraying with moringa leaf extract on yield and quality of cherry tomato under organic soilless system. Menoufia Journal of Plant Production, 3(4), 303-317.
- El-Enien MA, El-Azazy AM, El-Sayed FS (2015) Effect of moringa leaves extract as a natural product compared with other synthetic compounds on yield production and fruit quality of navel orange trees. Egypt J Hortic, 42, 899-911.
- El-Nagdi WM, Youssef MMA (2015) Nematicidal effect of some aqueous extracts of botanicals and a commercial bacterial byproduct for biocontrolling root knot nematode, *Meloidogyne incognita* infecting sugar beet. Sci. Agric, 10(2), 55-58.
<https://doi.org/10.15192/PSCP.SA.2015.10.2.5558>
- Farooq B, Koul B (2020) Comparative analysis of the antioxidant, antibacterial and plant growth promoting potential of five Indian varieties of Moringa oleifera L. South African Journal of Botany, 129: 47-55.
<https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.12.014>
- Finkelstein, Ruth. (2013). Abscisic acid synthesis and response. The Arabidopsis book/American Society of Plant Biologists, 11.
<https://doi.org/10.1199/tab.0166>
- Foidl N, Makkar HPS, Becker K (2001) The potential of *Moringa oleifera* for agricultural and industrial uses. What development potential for Moringa products, 20.
- Fokwen VF, Tsafack HD, Touko BAH, Djopnang J D, Afeanyi TA, Kong AT, Djikeng FT, Womeni H M (2018) Nutrients composition, phenolic content and antioxidant activity of green and yellow Moringa (*Moringa oleifera*) leaves. Journal of Food Stability, 1(1), 46-56.
- Fries LL, Pacovsky RS, Safir GR, Siqueira JO (1997) Plant growth and arbuscular mycorrhizal fungal colonization affected by exogenously applied phenolic compounds. Journal of Chemical Ecology, 23(7), 1755-1767.
- Fuchs M, Almeyda CV, Al Rwahnih M, Atallah S S, Cieniewicz EJ, Farrar K., Foote WR, Golino DA, Gómez MI, Harper SJ, Kelly MK, Martin RR, Martinson T, Osman FM, Park K, Scharlau V, Smith R, Tzanetakis IE, Vidalakis G, Welliver R (2021) Economic studies reinforce efforts to safeguard specialty crops in the United States. Plant disease, 105(1), 14-26. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-20-1061-FE>
- Fuglie, LJ (2000) New uses of Moringa studied in Nicaragua. ECHO Development Notes, 68, 1-25.
- García-Beltrán JM, Mansour AT, Alsaqufi AS, Ali HM, Esteban MA (2020) Effects of aqueous and ethanolic leaf extracts from drumstick tree (*Moringa oleifera*) on gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) leucocytes, and their cytotoxic, antitumor, bactericidal and antioxidant activities. Fish & Shellfish Immunology, 106, 44-55.
<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.06.054>
- Giehl RF, Meda AR, von Wiren N (2009) Moving up, down, and everywhere: signaling of micronutrients in plants. Current opinion in plant biology, 12: 320-327.
<https://doi.org/10.1016/j.pbi.2009.04.006>
- Godinez-Oviedo A, Guemes-Vera N, Acevedo-Sandoval, OA (2016) Nutritional and phytochemical composition of Moringa oleifera Lam and its potential use as nutraceutical plant: a review. Pakistan Journal of Nutrition, 15(4), 397.
- Gopalakrishnan L, Doriya K, Kumar DS (2016) Moringa oleifera: A review on nutritive importance and its medicinal application. Food science and human wellness, 5(2), 49-56.
<https://doi.org/10.1016/j.fshw.2016.04.001>

- Hanafy, R. (2017). Using *Moringa olifera* Leaf Extract as a bio-fertilizer for drought stress mitigation of *Glycine max* L. plants. *Egyptian Journal of Botany*, 57(2), 281-292. <https://doi.org/10.21608/ejbo.2017.596.1027>
- Havlin JL (2020) Soil: Fertility and nutrient management. In *Landscape and Land Capacity* (pp. 251-265). CRC Press.
- Heckman J (2006) A history of organic farming: Transitions from Sir Albert Howard's War in the Soil to USDA National Organic Program. *Renewable Agriculture and Food Systems*, 21(3), 143-150.
- Hegazi AZ, Ismaiel AY, Anany TG (2015) Improving growth and seed yield of squash by foliar applications with moringa leaf extract, ascorbic acid or benzyladenine. *Egypt. J. Hort*, 42(1), 579-590.
- Hegazi AZ, Hasan SKH, El-Said NA (2016) Response of garlic plants to foliar application of moringa leaves extract, glutamine and cysteine. *Journal of Plant Production*, 7(1), 1-6. <https://doi.org/10.21608/jpp.2016.43438>
- Henneron L, Bernard L, Hedde M, Pelosi C, Villenave C, Chenu C, ... & Blanchart, E. (2015). Fourteen years of evidence for positive effects of conservation agriculture and organic farming on soil life. *Agronomy for Sustainable Development*, 35(1), 169-181.
- Hoque TS, Rana MS, Zahan SA, Jahan I, Abedin M A (2020) Moringa leaf extract as a bio-stimulant on growth, yield and nutritional improvement in cabbage. *Asian Journal of Medical and Biological Research*, 6(2), 196-203. <https://doi.org/10.3329/ajmbr.v6i2.48050>
- Ibrahim N, Kebede A (2020) In vitro antibacterial activities of methanol and aqueous leave extracts of selected medicinal plants against human pathogenic bacteria. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27: 2261-2268. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.06.047>
- Jones C, Jacobsen J (2005) Plant nutrition and soil fertility. *Nutrient management module*, 2(11), 1-11.
- Khan AS, Muhammad I, Basra SMA, Sajid A, Almas MH, Muhammad A, Raheel A, Hasan, M. U. (2020). Post-bloom applied moringa leaf extract improves growth, productivity and quality of early-season maturing grapes (*Vitis vinifera*). *International Journal of Agriculture and Biology*, 24(5), 1217-1225. <https://doi.org/10.17957/IJAB/15.1552>
- Kubheka SF, Tesfay SZ, Mditshwa A, Magwaza L S (2020) Evaluating the efficacy of edible coatings incorporated with moringa leaf extract on postharvest of 'Maluma' avocado fruit quality and its biofungicidal effect. *HortScience*, 55(4), 410-415. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI14391-19>
- Maathuis FJ (2009) Physiological functions of mineral macronutrients. *Current opinion in plant biology*, 12: 250-258. <https://doi.org/10.2136/sssabookser4.2ed.c9>
- Madukwe EU, Ezeugwu JO, Eme PE (2013) Nutrient composition and sensory evaluation of dry *Moringa oleifera* aqueous extract.
- Makkar HA, Becker K (1996) Nutritional value and antinutritional components of whole and ethanol extracted *Moringa oleifera* leaves. *Animal feed science and technology*, 63(1-4), 211-228. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(96\)01023-1](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(96)01023-1)
- Malik, A., Mor, V. S., Tokas, J., Punia, H., Malik, S., Malik, K., Sangwan S, Tomar S, Singh P, Singh N, Himangini, Vikram, Nidhi, Singh G, Vikram, Kumar V, Sandhya, Karwasra, A. (2020). Biostimulant-treated seedlings under sustainable agriculture: A global perspective facing climate change. *Agronomy*, 11(1), 14. <https://doi.org/10.3390/agronomy11010014>
- Merrill, A. L., & Watt, B. K. (1955). Energy value of foods: basis and derivation (No. 74). US Department of Agriculture.
- Mohamed, Y. A., El-Ghamriny, E. A., Bardisi, A., & Nawar, D. A. (2019). Growth and productivity of garlic crop under different fertilizers type and some extracts. *Life Sci. J*, 16(3), 79-89.
- Moyo, B., Masika, P. J., Hugo, A., & Muchenje, V. (2011). Nutritional characterization of *Moringa (Moringa oleifera* Lam.) leaves. *African Journal of Biotechnology*, 10(60), 12925-12933. <https://doi.org/10.5897/AJB10.1599>
- Mubeen N, Hassan S M, Mughal S S. (2020). A Biological Approach to Control Aflatoxins by *Moringa oleifera*. *International Journal of Bioorganic Chemistry*, 5(2), 21.
- Noor M A, Ahmad W, Afzal I, Salamh A, Afzal M, Ahmad A, Wei M. (2016). Pea seed invigoration by priming with magnetized water and moringa leaf extract. *Philipp. Agric. Sci*, 99, 171-175.
- Nouman W, Siddiqui M T, Basra S M A. (2012). *Moringa oleifera* leaf extract: An innovative priming

- tool for rangeland grasses. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 36(1), 65-75.
- Okechukwu V U, Eze S O, Omokpariola D O, Okereke J C (2021). Evaluation of phytochemical constituents of Methanol extract of *Moringa oleifera* Lam. whole leaf by Gas Chromatography-Mass Spectrometry and Fourier transform infrared spectroscopy analysis. *World News of Natural Sciences*, 37, 18-30.
- Olagbemide P T, Alikwe P C. (2014). Proximate analysis and chemical composition of raw and defatted *Moringa oleifera* kernel. *Advances in Life Science and Technology*, 24, 92-99.
- Pérez-Gómez L, Capote-Betancourt I, Nápoles-Borrero L, Pina-Morgado D, Linares-Rivero C, Rivas-Paneca M, Pérez-Martínez A T. (2019). Efecto del extracto acuoso foliar de moringa en la fase inicial de aclimatización de piña. *Cultivos Tropicales*, 40(1).
- Rana M S, Hoque T S, Abedin M A. (2019). Improving growth and yield performance of cauliflower through foliar application of moringa leaf extract as a bio-stimulant. *Acta Scientifica Malaysia*, 3(2), 07-11. <https://doi.org/10.26480/asm.02.2019.07.11>
- Rehman H U, Basra S, Rady M M., Ghoneim, A. M., & Wang, Q. (2017). Moringa leaf extract improves wheat growth and productivity by affecting senescence and source-sink relationship. *International Journal of Agriculture & Biology*, 19(3). <https://doi.org/10.17957/ijab/15.0316>
- Relf D. "Human issues in horticulture." *HortTechnology* 2.2 (1992): 159-171.
- Seifi R, Moharrampour S, Ayyari M (2018). Acaricidal activity of different fractions of *Moringa peregrina* on two spotted spider mite *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Industrial Crops and Products*, 125, 616-621. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.09.031>
- Rivero R M, Ruiz J M, García P C, Lopez-Lefebvre L R, Sánchez E, Romero L. (2001). Resistance to cold and heat stress: accumulation of phenolic compounds in tomato and watermelon plants. *Plant science*, 160(2), 315-321. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(00\)00395-2](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(00)00395-2)
- Sakr M T, Ibrahim H. M, ElAwady A E, AboELMakarm A A. (2021). Growth, yield and biochemical constituents as well as post-harvest quality of water-stressed broccoli (*Brassica oleracea* L. var. italica) as affected by certain biomodulators. *Scientia Horticulturae*, 275, 109605. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109605>
- Shabbir I, Ayub M, Tahir M, Bilal M, Tanveer A, Hussain M, Afzal M. (2014). Impact of priming techniques on emergence and seedling growth of sesame (*Sesamum indicum* L.) Genotypes. *Scientia*, 1(3), 92-96. <https://doi.org/10.15192/PSCP.SA.2014.1.3.9296>
- Siddiqui S, Bangerth F. (1995). Effect of pre-harvest application of calcium on flesh firmness and cell-wall composition of apples—influence of fruit size. *Journal of Horticultural Science*, 70(2), 263-269. <https://doi.org/10.1080/14620316.1995.11515296>
- Schnug E. (1990). Glucosinolates—fundamental, environmental, and agricultural aspects. *Sulfur Nutrition and Sulfur Assimilation in Higher Plant; Fundamental, Environmental and Agricultural Aspects*, 97-106.
- ShM T, Kassim N E, AbouRayya M S, Abdalla A M. (2017). Influence of foliar application with moringa (*Moringa oleifera* L.) leaf extract on yield and fruit quality of Hollywood plum cultivar. *J Hortic*, 4(193), 1-7. <https://doi.org/10.4172/2376doi/0354.1000193>
- Taia Abd El-Mageed A, Wael M, Semida and Mostafa M, Rady. "Moringa leaf extract as a biostimulant improves water use efficiency, physio-biochemical attributes of squash plants under deficit irrigation." *Agricultural Water Management* 193 (2017): 46-54. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2017.08.004>
- Talon M, Zeevaart J A. (1992). Stem elongation and changes in the levels of gibberellins in shoot tips induced by differential photoperiodic treatments in the long-day plant *Silene armeria*. *Planta*, 188(4), 457-461.
- Tesfay S. Z, Magwaza L S, Mditshwa A, Mbili N . (2017, September). Carboxyl methylcellulose (CMC) incorporated with moringa leaf and seed extracts as new postharvest organic edible coating for avocado (*Persea americana* Mill.) fruit. In VII International Conference on Managing Quality in Chains (MQUIC2017) and II International Symposium on Ornamentals in 1201 (pp.161-168). <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.08.047>

- Treutter D. (2006). Significance of flavonoids in plant resistance: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 4(3), 147-157. <https://doi.org/10.1007/s10311-006-0068-8>
- Toscano S, Ferrante A, Branca F, Romano D. (2021). Enhancing the Quality of Two Species of Baby Leaves Sprayed with Moringa Leaf Extract as Biostimulant. *Agronomy*, 11(7), 1399. <https://doi.org/10.3390/agronomy11071399>
- Ullah, A., Ullah, A., Amin, F., Ali, B., Ahmad, W., Khan, I, ... & Khan, F. Influence of foliar application of moringa leaf extract and humic acid on growth, yield and chemical composition of cucumber. <http://dx.doi.org/10.12692/ijb/14.1.427-436>
- Van der Ploeg, R R, Böhm W, Kirkham M B. (1999). On the origin of the theory of mineral nutrition of plants and the law of the minimum. *Soil Science Society of America Journal*, 63(5), 1055-1062.
- Verma, K S, Nigam R. (2014). Nutritional assessment of different parts of *Moringa oleifera* Lam collected from central India (No. RESEARCH).
- Yaseen A A, Hájos M. T. "The potential role of moringa leaf extract as bio-stimulant to improve some quality parameters of different lettuce (*Lactuca sativa* L.) genotypes." *Sarhad Journal of Agriculture* 37.4 (2021): 1107-1119. <https://dx.doi.org/10.17582/journal.sja/2021/37.4.1107.1119>
- Yasmeen A, Basra SM, Farooq M, Rehman H, Hussain N. Exogenous application of moringa leaf extract modulates the antioxidant enzyme system to improve wheat performance under saline conditions. *Plant Growth Regulation*. 2013 Apr;69(3):225-33.
- Yasmeen A, Nouman W, Basra S M A, Wahid A, Hussain N, Afzal I. (2014). Morphological and physiological response of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) to natural and synthetic cytokinin sources: a comparative study. *Acta Physiologiae Plantarum*, 36(12), 3147-3155. <https://doi.org/10.1007/s11738-014-1662-1>
- Yasmeen, A., Basra, S. M. A., Wahid, A., Nouman, W., & REHMAN, H. U. (2013). Exploring the potential of *Moringa oleifera* leaf extract (MLE) as a seed priming agent in improving wheat performance. *Turkish Journal of Botany*, 37(3), 512-520.
- Waterman C, Cheng D M, Rojas-Silva P, Poulev A, Dreifus J, Lila M A, Raskin, I. (2014). Stable, water extractable isothiocyanates from *Moringa oleifera* leaves attenuate inflammation in vitro. *Phytochemistry*, 103, 114-122. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2014.03.028>
- Rehman H, Nawaz Q, Basra S M A, Afzal I, Yasmeen, A. (2014). Seed priming influence on early crop growth, phenological development and yield performance of linola (*Linum usitatissimum* L.). *Journal of Integrative Agriculture*, 13(5), 990-996-996. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(13\)60521-3](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(13)60521-3)