A young woman with dark hair, wearing a white lab coat with blue trim, is looking through a black and white compound microscope. She is smiling slightly. The background is a warm orange color with a faint network of orange lines and dots. The text is in white on the right side.

# Atividades de Pesquisa em Biotecnologia e Nanociências

---

Benedito Rodrigues da Silva Neto  
(Organizador)

Benedito Rodrigues da Silva Neto  
(Organizador)

# Atividades de Pesquisa em Biotecnologia e Nanociências

Atena Editora  
2019

2019 by Atena Editora  
Copyright © Atena Editora  
Copyright do Texto © 2019 Os Autores  
Copyright da Edição © 2019 Atena Editora  
Editora Executiva: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Antonella Carvalho de Oliveira  
Diagramação: Natália Sandrini  
Edição de Arte: Lorena Prestes  
Revisão: Os Autores

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

### **Conselho Editorial**

#### **Ciências Humanas e Sociais Aplicadas**

Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas  
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília  
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Cristina Gaio – Universidade de Lisboa  
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia  
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice  
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande  
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

#### **Ciências Agrárias e Multidisciplinar**

Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná  
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista  
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará  
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

#### **Ciências Biológicas e da Saúde**

Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina  
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria  
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará

Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão  
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

### **Ciências Exatas e da Terra e Engenharias**

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto  
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

### **Conselho Técnico Científico**

Prof. Msc. Abrãao Carvalho Nogueira – Universidade Federal do Espírito Santo  
Prof. Dr. Adaylson Wagner Sousa de Vasconcelos – Ordem dos Advogados do Brasil/Seccional Paraíba  
Prof. Msc. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão  
Prof.ª Drª Andreza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico  
Prof. Msc. Carlos Antônio dos Santos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Prof. Msc. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará  
Prof. Msc. Eliel Constantino da Silva – Universidade Estadual Paulista  
Prof.ª Msc. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia  
Prof. Msc. Leonardo Tullio – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof.ª Msc. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal  
Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista

<b>Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)</b>	
A872	Atividades de pesquisa em biotecnologia e nanociências [recurso eletrônico] / Organizador Benedito Rodrigues da Silva Neto. – Ponta Grossa (PR): Atena Editora, 2019.  Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader Modo de acesso: World Wide Web Inclui bibliografia ISBN 978-85-7247-435-1 DOI 10.22533/at.ed.351192506  1. Biotecnologia. 2. Nanotecnologia. I. Silva Neto, Benedito Rodrigues da.  CDD 553.7
<b>Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422</b>	

Atena Editora  
Ponta Grossa – Paraná - Brasil  
[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)  
contato@atenaeditora.com.br

## APRESENTAÇÃO

Quando utilizamos o termo Biotecnologia estamos mencionando um conceito na verdade muito antigo, porém extremamente atual e futurista. A muito tempo a humanidade se utiliza dos processos biotecnológicos para a obtenção de novos produtos, todavia o avanço da tecnologia em todos os seus aspectos tem oferecido estratégias e ferramentas altamente eficientes para maximizar a obtenção desses produtos essenciais para a subsistência do homem.

A revolução tecnológica contribuiu grandemente com a evolução no campo da pesquisa básica e aplicada e as descobertas propiciadas por tecnologias mais apuradas possibilitaram um entendimento mais profundo dos mecanismos moleculares gerando cada vez mais novas perspectivas.

Tudo isso culminou em investimentos públicos e privados, favorecendo o desenvolvimento principalmente de regiões onde a tecnologia é priorizada. Todavia outras regiões também tem crescido e avançado à medida que investem esforços em patentes, aplicações comerciais e prestação de serviços especializados. Assim, destacamos a importância desta literatura aqui publicada, haja vista a diversidade de capítulos que abordam temas e conceitos atuais das nanociências aplicadas.

São diversas as possibilidades de aplicações biotecnológicas em diversos campos, neste livro tentaremos otimizar os conceitos biotecnológicos e das nanociências abordando potencialidades de aplicação da biotecnologia no campo da saúde, nutrição, farmacologia, toxicologia e biologia molecular que têm atraído o interesse de pesquisadores, da indústria, investidores privados e empreendedores e muitos outros visionários.

Nosso profundo desejo é que esta obra seja o “ponta-pé” inicial para que outros livros nessa mesma perspectiva possam ser elaborados pela comunidade científica do nosso país. Parabenizamos cada autor pela teoria bem fundamentada aliada à resultados promissores, e principalmente à Atena Editora por permitir que o conhecimento seja difundido e disponibilizado para que acadêmicos e docentes tenham em mãos material fundamentado nessa área tão promissora.

Benedito Rodrigues da Silva Neto

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>1</b>
AVALIAÇÃO SENSORIAL E MICROBIOLÓGICA NA PRODUÇÃO DE GELEIA TIPO EXTRA DE MANGA COM CRAVO-DA-ÍNDIA	
Raul Felipe de Queiroz Freitas	
Dauany de Sousa Oliveira	
João Paulo do Rêgo Bezerra Travassos	
Pedro Victor Crescêncio de Freitas	
Sinthya Kelly Queiroz Moraes	
Jonnathan Silva Nunes	
Maria Eduarda Dantas Cândido	
Maria Mikalele da Silva Fernandes	
Alfredina dos Santos Araújo	
Maíra Felinto Lopes	
<b>DOI 10.22533/at.ed.3511925061</b>	
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	<b>11</b>
AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DE SORVETE DE MANGA A BASE DE KEFIR ELABORADO COM DIFERENTES TIPOS DE EDULCORANTES	
João Paulo do Rego Bezerra Travassos	
Wisla Kívia de Araújo Soares	
Larissa da Silva Santos Pinheiro	
Alfredina dos Santos Araújo	
Katiane Araújo do Bomfim	
Pedro Victor Crescêncio de Freitas	
Dauany de Sousa Oliveira	
Francisco Bruno Ferreira de Freitas	
Gloria Louine Vital da Costa	
Gleyson Batista de Oliveira	
Ranyelly Wellen Florentino de Oliveira	
Ayla Dayane Ferreira de Sá	
<b>DOI 10.22533/at.ed.3511925062</b>	
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	<b>20</b>
COMO AS TÉCNICAS DE BIOLOGIA MOLECULAR AVANÇAM A PESQUISA SOBRE REGENERAÇÃO EM PLANÁRIAS?	
Reginaldo Ramos de Lima	
Benedito R. Da Silva Neto	
<b>DOI 10.22533/at.ed.3511925063</b>	
<b>CAPÍTULO 4</b> .....	<b>26</b>
ELABORAÇÃO E AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA FARINHA DE CASCAS DO LIMÃO TAHITI	
Katia Davi Brito	
Emmanuel da Paixão Neto	
Antonio Jackson Ribeiro Barroso	
Flavia Cristina dos Santos Lima	
Henrique Bruno Lima de Oliveira	
<b>DOI 10.22533/at.ed.3511925064</b>	

<b>CAPÍTULO 5</b> .....	<b>33</b>
ELABORAÇÃO E AVALIAÇÃO SENSORIAL DE BARRA DE CEREAL ADICIONADA COM SEMENTE DE MORINGA ( <i>Moringa oleífera Lam.</i> )	
Thamires Queiroga dos Santos Ana Paula Costa Câmara Maíra Felinto Lopes Hozana Maria de Figueiredo Silva Robson Rogério Pessoa Coelho Fabrício Alves de Moraes	
<b>DOI 10.22533/at.ed.3511925065</b>	
<b>CAPÍTULO 6</b> .....	<b>40</b>
ESTUDO COMPARATIVO DOS EFEITOS DO USO DE DIFERENTES ADOÇANTES SOBRE AS CARACTERÍSTICAS REOLÓGICAS DE BOLOS TIPO ESPONJA	
Alba Valéria de Oliveira Barbosa	
<b>DOI 10.22533/at.ed.3511925066</b>	
<b>CAPÍTULO 7</b> .....	<b>49</b>
FARMACOGENÉTICA E CÂNCER DE MAMA: PESQUISA INTEGRATIVA	
Marília Silva Marques Benedito R. Da Silva Neto	
<b>DOI 10.22533/at.ed.3511925067</b>	
<b>CAPÍTULO 8</b> .....	<b>63</b>
INFLUÊNCIA DE REGULADORES DE CRESCIMENTO NA DIFERENCIAÇÃO CELULAR <i>IN VITRO</i> DE EXPLANTES FOLIARES DE PEQUIZEIRO ( <i>Caryocar brasiliense</i> )	
Bruno Henrique Gomes Ana Paula Caetano Procópio Mariane Rabelo Coelho Fernandes Maristela Mota Moraes Carolina de Souza Misawa Paula Guimarães Rabelo Mariana Gonçalves Mendes Ana Paula Oliveira Nogueira	
<b>DOI 10.22533/at.ed.3511925068</b>	
<b>CAPÍTULO 9</b> .....	<b>73</b>
INFLUÊNCIA DA SONICAÇÃO NO TAMANHO DE GOTÍCULA DE NANOEMULSÕES CONTENDO EXTRATO DE <i>Physalis Peruviana</i>	
Suelen Santos da Silva Maiara Taís Bazana Cristiane de Bona da Silva César Augusto Bizzi Cristiano Ragagnin de Menezes Cristiane Franco Codevilla	
<b>DOI 10.22533/at.ed.3511925069</b>	

<b>CAPÍTULO 10</b> .....	<b>83</b>
PRODUÇÃO DA ALGA <i>Scenedesmus subspicatus</i> UTILIZANDO EFLUENTE BRUTO DE ABATEDOURO DE AVES COMO MEIO ALTERNATIVO DE CULTIVO	
Elizabeth Venialgo Hotz da Silva	
Luis Fernando Souza Gomes	
Raquel Stroher	
Francielli Fernandes de Assis	
<b>DOI 10.22533/at.ed.35119250610</b>	
<b>CAPÍTULO 11</b> .....	<b>86</b>
NANOTUBOS DE CARBONO – UMA REVISÃO SOBRE PROPRIEDADES, APLICAÇÕES E ASPECTOS TOXICOLÓGICOS	
Carolina Alvarenga Turini	
Paula Cristina Batista de Faria	
<b>DOI 10.22533/at.ed.35119250611</b>	
<b>CAPÍTULO 12</b> .....	<b>99</b>
MEMBRANA DE ULTRAFILTRAÇÃO MODIFICADA COM DIÓXIDO DE TITÂNIO PARA REMOÇÃO DE NITRATO PRESENTE EM SOLUÇÃO AQUOSA	
Eduarda Freitas Diogo Januário	
Taynara Basso Vidovix	
Natália de Camargo Lima Beluci	
Nicole Novelli do Nascimento	
Angélica Marquetotti Salcedo Vieira	
Rosângela Bergamasco	
<b>DOI 10.22533/at.ed.35119250612</b>	
<b>SOBRE O ORGANIZADOR</b> .....	<b>115</b>

## INFLUÊNCIA DE REGULADORES DE CRESCIMENTO NA DIFERENCIAÇÃO CELULAR *IN VITRO* DE EXPLANTES FOLIARES DE PEQUIZEIRO (*Caryocar brasiliense*)

### **Bruno Henrique Gomes**

Bioteecnologista e mestre em Genética e Bioquímica, Universidade Federal de Uberlândia, Instituto de Biotecnologia, Uberlândia – Minas Gerais

### **Ana Paula Caetano Procópio**

Discente do curso de Biotecnologia, Universidade Federal de Uberlândia, Instituto de Biotecnologia, Uberlândia – Minas Gerais

### **Mariane Rabelo Coelho Fernandes**

Bioteecnologista, Universidade Federal de Uberlândia, Instituto de Biotecnologia, Uberlândia – Minas Gerais

### **Maristela Mota Morais**

Discente do curso de Biotecnologia, Universidade Federal de Uberlândia, Instituto de Biotecnologia, Uberlândia – Minas Gerais

### **Carolina de Souza Misawa**

Bioteecnologista, Universidade Federal de Uberlândia, Instituto de Biotecnologia, Uberlândia – Minas Gerais

### **Paula Guimarães Rabelo**

Bioteecnologista e mestranda em Genética e Bioquímica, Universidade Federal de Uberlândia, Instituto de Biotecnologia, Uberlândia – Minas Gerais

### **Mariana Gonçalves Mendes**

Bióloga, e doutoranda em Genética e Bioquímica, Universidade Federal de Uberlândia, Instituto de Biotecnologia, Uberlândia – Minas Gerais

### **Ana Paula Oliveira Nogueira**

Docente e Pesquisadora, Universidade Federal de Uberlândia, Instituto de Biotecnologia, Uberlândia

– Minas Gerais

**RESUMO:** O pequizeiro (*Caryocar brasiliense*) apresenta sementes com baixa taxa de germinação, assim as técnicas de cultivo *in vitro* são importantes para a produção e micropropagação de mudas. O objetivo deste trabalho foi avaliar o comportamento de explantes foliares juvenis de pequizeiro na regeneração *in vitro*. Foram realizados cinco ensaios com diferentes concentrações e combinações entre auxinas (ácido-2,4-diclorofenoxiacético, ácido indol-3-butírico e ácido naftaleno acético) e citocininas (benzilaminopurina e cinetina). Os experimentos foram instalados no delineamento inteiramente casualizado, sendo que cada tratamento foi composto por três repetições e cada repetição por um frasco de cultivo contendo 10 explantes. Ao final dos 60 dias foram avaliados a porcentagem de enraizamento e formação de calos. Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Observou-se a formação de calos nos explantes foliares a partir do 25º dia estabelecimento. A utilização de 2,0 mg L<sup>-1</sup> de cinetina em combinação com 2,0 mg L<sup>-1</sup> de ácido 2,4-diclorofenoxiacético levou a 7,34% de calos induzidos. Para a indução de raízes, a utilização de 4,0 mg L<sup>-1</sup> de ácido indol-3-butírico isolado ou em combinação com 1,0 mg L<sup>-1</sup> ou

2,0 mg L<sup>-1</sup> de cinetina permitiu a formação de maior número de raízes por explante inoculado. Mais estudos são necessários para verificar a competência e totipotência celular para a regeneração *in vitro* de explantes foliares de pequi.

**PALAVRAS-CHAVE:** Calogênese, Rizogênese, reguladores de crescimento,

**ABSTRACT:** The pequi tree (*Caryocar brasiliense*) have seeds with low germination rate, so *in vitro* cultivation techniques are important for the production and micropropagation of seedlings. The aim of this work was to evaluate the behavior of young leaf explants of pequi tree in the regeneration *in vitro*. Five assays with different concentrations and combinations between auxins (2,4-dichlorophenoxyacetic acid, indole-3-butyric acid and naphthalene acetic acid) and cytokinins (benzylaminopurine and kinetin) were carried out. The experiments were installed in the completely randomized design, with each treatment consisting of three replicates and each replicate by petri dish containing 10 explants. At the end of the 60 days the percentage of rooting and callus formation were evaluated. The data were submitted to analysis of variance and the means were compared by the Tukey test ( $p \leq 0.05$ ). Callus formation was observed in leaf explants after 25th day establishment. The use of 2.0 mg L<sup>-1</sup> of kinetin in combination with 2.0 mg L<sup>-1</sup> of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, yielding on average 7.34% of callus. For the induction of roots, the use of 4.0 mg L<sup>-1</sup> of indole-3-butyric acid alone or in combination with 1.0 mg L<sup>-1</sup> or 2.0 mg L<sup>-1</sup> of kinetin allowed the formation of more roots per inoculated explant. More studies are needed to verify cell competence and totipotency for *in vitro* regeneration of leaf explants.

**KEYWORDS:** Calogenesis, Rizogenesis, growth regulators

## 1 | INTRODUÇÃO

O pequi (*Caryocar brasiliense*) é considerada uma espécie de base econômica extrativista, que alimenta diversas famílias e serve como alternativa de renda, principalmente, para o meio rural (SANTOS et al., 2013). O pequi oferece diversas aplicabilidades desde fonte de alimentação, matriz energética, prospecção de moléculas com efeitos farmacológicos, reflorestamento, madeireiro entre outros usos. Os frutos e folhas são muito utilizados tanto para fins de alimentação quanto terapêuticos (VIEIRA; MARTINS, 2000). Na culinária, a polpa do fruto é empregada em diversas preparações, tais como arroz com pequi, frango com pequi, farofas, paçocas, licores, entre outras (CARRAZA; ÁVILA, 2010).

A expansão das fronteiras agrícolas e a exploração intensiva do cerrado para produção de carvão vegetal nativo, pastagens e urbanização têm posto em risco a preservação e a variabilidade do pequi (JÚNIOR et al., 2004). O extrativismo intensivo pode gerar perdas de material genético e genes de interesse agrônomo e farmacológico, em razão da coleta, consumo e/ou comercialização dos pequis de maior qualidade, oriundos de genótipos superiores, o que impede a reprodução natural a partir das sementes destes frutos (SANTOS et al., 2006).

Outro fator importante para a reprodução natural do pequiyeiro é a dormência de suas sementes. A germinação das sementes do pequiyeiro é lenta, com índices de germinação em torno de 30% - 85% (HERINGER, 1970; MIRANDA, 1986; MELO, 1987; MIRANDA et al., 1988; ARAÚJO, 1994; SÁ et al., 1994) em até um ano da sementeira (HERINGER, 1970; SÁ et al., 1994), sendo que essa grande variação se deve ao método de quebra de dormência empregado (PREIRA et al., 2000). A dormência pode ser ocasionada pelo endocarpo rígido, servindo como impedimento mecânico para o desenvolvimento do embrião (DOMBROSKI, 1998; OLIVEIRA, 2002) e pela dormência do próprio embrião (DOMBROSKI, 1998).

Foram desenvolvidas pesquisas de cultivo *in vitro* desta espécie (SANTOS et al., 2006; SANTOS et al., 2011; DAMASCENA et al., 2014; BRANDÃO et al., 2014) para otimizar e estabelecer técnicas de cultivo de baixo custo e grande taxa de sucesso. Os primeiros trabalhos relacionados ao cultivo *in vitro* do pequiyeiro foram realizados por Cardoso (1991) na germinação de sementes *in vitro*. Mais tarde, Dombroski (1997) realizou estudos sobre a oxidação de segmentos nodais e a indução de calogênese a partir de explantes juvenis obtidos de mudas produzidas *ex vitro*.

Em estudos de regeneração *in vitro*, de explantes caulinares de pequiyeiro, Damascena et al. (2014) avaliaram a influência do Ácido Naftalenoacético (ANA) e do 6-Benzilaminopurina (BAP) na indução de brotações em pequiyeiro. Estes autores obtiveram resultados promissores na obtenção de brotos utilizando 0,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP e 3,0 mg L<sup>-1</sup> de ANA (média de 7,15 brotações por explante). Pesquisa desenvolvida por Brandão et al. (2014) visando o alongamento de explantes de pequiyeiro *in vitro*, mostrou que o desenvolvimento foi possível devido utilização de carvão ativado no meio de cultura.

Há a necessidade de estabelecer técnicas de cultivo e micropropagação *in vitro* de forma a garantir o fornecimento de mudas, pois a produção de mudas do pequiyeiro ocorre apenas através do uso de sementes. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho é avaliar as condições de estabelecimento *in vitro* por meio da indução de calos e raízes em explantes foliares de pequiyeiro para subsidiar estratégias de micropropagação da espécie.

## 2 | MATERIAL E MÉTODOS

As folhas dos pequiyeiros cultivados em casa de vegetação foram cortadas em fragmentos de 0,5 cm<sup>2</sup> e estabelecidas em frascos de cultivo. Os explantes foliares foram previamente desinfetados com hipoclorito de sódio 7,5% por 15 minutos antes da inoculação no meio de cultura. Cada frasco de cultivo foi composto por 20 mL do meio de cultura WPM (LLOYD G; MCCOWN B, 1980) acrescido de 30,0 g L<sup>-1</sup> de sacarose e 6,5 g L<sup>-1</sup> de ágar e 800,0 mg L<sup>-1</sup> de polivinilpirrolidona (PVP) suplementados com diferentes concentrações de reguladores de crescimento (Tabela 1). Foram

conduzidos 5 experimentos com combinações de diferentes auxinas e citocininas. O pH do meio de cultura foi ajustado para 5,8 antes da autoclavagem que ocorreu a 121 °C e 1,1 atm de pressão por 20 min. Os explantes foram mantidos em sala de cultivo por 60 dias sob temperatura de 27 °C ± 2 °C e intensidade luminosa de 35 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, fornecida por lâmpadas fluorescentes brancas frias, com fotoperíodo de 16 horas de luz e 8 horas de escuro.

Exp. 1		Exp. 2		Exp. 3		Exp. 4		Exp. 5	
[2,4-D] mg L <sup>-1</sup>	[KIN] mg L <sup>-1</sup>	[2,4-D] mg L <sup>-1</sup>	[BAP] mg L <sup>-1</sup>	[AIB] mg L <sup>-1</sup>	[KIN] mg L <sup>-1</sup>	[BAP] mg L <sup>-1</sup>	[AIB] mg L <sup>-1</sup>	[BAP] mg L <sup>-1</sup>	[ANA] mg L <sup>-1</sup>
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,0	1,0	0,0	1,0	0,0	1,0	0,0	0,5	0,0	0,5
0,0	2,0	0,0	2,0	0,0	2,0	0,0	0,75	0,0	0,75
0,0	4,0	0,0	4,0	0,0	4,0	0,0	1,0	0,0	1,0
1,0	0,0	1,0	0,0	1,0	0,0	0,5	0,0	0,5	0,0
1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	0,5	0,5	0,5	0,5
1,0	2,0	1,0	2,0	1,0	2,0	0,5	0,75	0,5	0,75
1,0	4,0	1,0	4,0	1,0	4,0	0,5	1,0	0,5	1,0
2,0	0,0	2,0	0,0	2,0	0,0	1,0	0,0	1,0	0,0
2,0	1,0	2,0	1,0	2,0	1,0	1,0	0,5	1,0	0,5
2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	1,0	0,75	1,0	0,75
2,0	4,0	2,0	4,0	2,0	4,0	1,0	1,0	1,0	1,0
4,0	0,0	4,0	0,0	4,0	0,0	2,0	0,0	2,0	0,0
4,0	1,0	4,0	1,0	4,0	1,0	2,0	0,5	2,0	0,5
4,0	2,0	4,0	2,0	4,0	2,0	2,0	0,75	2,0	0,75
4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	2,0	1,0	2,0	1,0
						3,0	0,0	3,0	0,0
						3,0	0,5	3,0	0,5
						3,0	0,75	3,0	0,75
						3,0	1,0	3,0	1,0

Tabela 1 – Combinações e concentrações de reguladores de crescimento utilizados na instalação dos 5 experimentos (Exp.) de regeneração in vitro de explantes foliares de pequiheiro. Auxinas: 2,4-D - ácido 2,4 diclorofenoxiacético, AIB – ácido indol-3-butírico, ANA – ácido alfa-naftaleno acético. Citocininas: BAP – benzilaminopurina, KIN – cinetina

Os experimentos foram instalados no delineamento inteiramente casualizado, variando entre 16 ou 20 tratamentos dependendo da condição e disponibilidade de material biológico para a condução do ensaio. Cada tratamento foi composto por três repetições e cada repetição por um frasco de cultivo contendo 10 explantes.

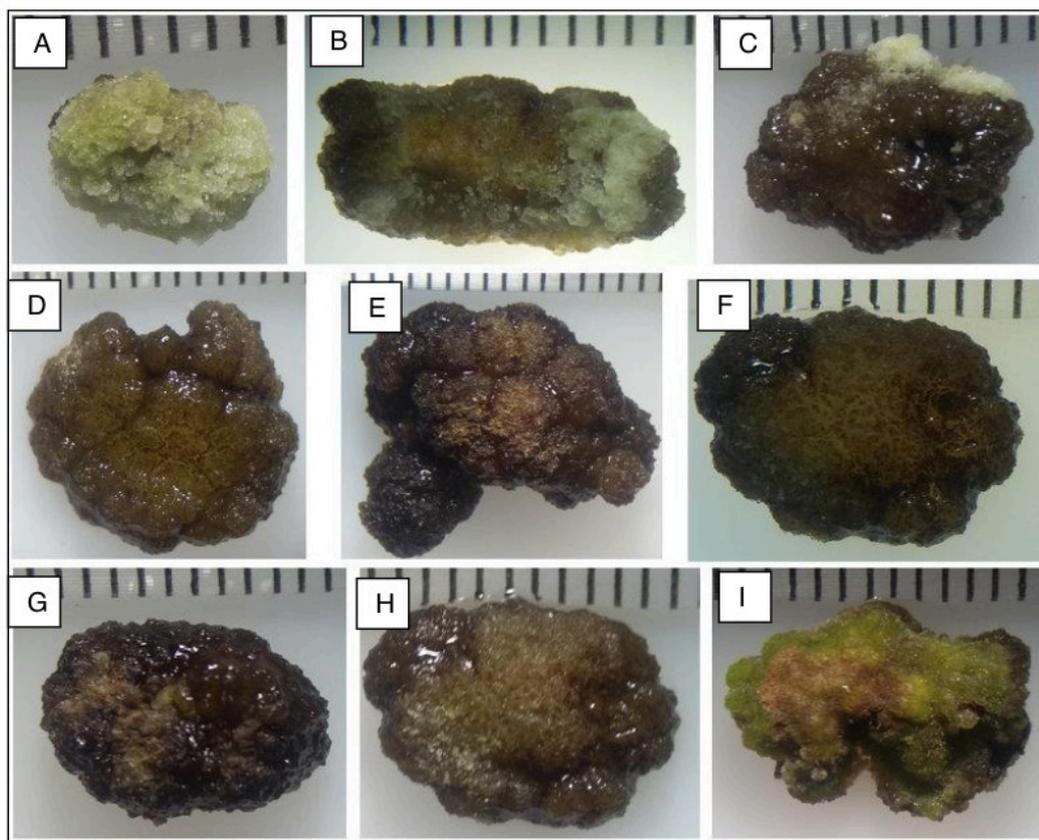
Ao final dos 60 dias foram avaliados o número de brotações, número de raízes, comprimento das raízes, pela medida com régua milimetrada e formação de calos por explante (ausência ou presença). Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Quando necessário os dados foram transformados para  $\sqrt{x + 1}$ .

### 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os reguladores de crescimento exógenos como as auxinas e as citocininas adicionados ao meio de cultura influenciam o metabolismo vegetal e promovem a indução de diferentes rotas metabólicas. A diferenciação do material vegetal *in vitro* culmina no desenvolvimento de raízes, brotos, embriões somáticos e calos, dependendo do estímulo apropriado.

Os experimentos 2, 4 e 5 (Tabela 1) não foram capazes de induzir raízes, calos ou brotos nos explantes foliares de pequiheiro, nas condições testadas. Nestes três experimentos ocorreu a morte do explante e ao final de 60 dias foi possível observar muitos explantes enrugados, entretanto, este enrugamento não se deve às alterações influenciadas pelos reguladores de crescimento, uma vez que foram encontrados explantes enrugados em todos os tratamentos testemunhas (sem adição de reguladores de crescimento).

Foi observada a capacidade de regeneração dos explantes foliares de pequiheiro em formar calos, nas condições do experimento 1 (Figura 1).



**Figura 1** – Calos obtidos a partir de explantes foliares de pequiheiros submetidos a diferentes reguladores de crescimento em meio de cultura WPM. A-B: Calos embriogênicos, C: Calo oxidado com pequenas porções embriogênicas, D-H: Calos oxidados, I: Calo fotossintético.

Fonte: Do autor

A mesma fonte de explante pode apresentar comportamentos diferentes, mesmo quando submetida às condições idênticas. Conforme observado por Landa

et al. (2000), os explantes podem apresentar comportamentos como enrugamento da folha, calos compactos e coloração variando entre o branco, marrom e acinzentado. Estes resultados indicam a ação dos diferentes reguladores de crescimento sobre o metabolismo dos explantes de pequizeiros cultivados *in vitro*, mostrando que o tecido apresenta competência celular.

Observou-se a formação de calos em explantes foliares de pequizeiro a partir do 25º dia estabelecimento *in vitro* no meio de cultivo, em fotoperíodo de 16 horas de luz e 8 horas de escuro. Landa et al. (2000) demonstraram a competência dos explantes foliares na formação de calos, aos 20 dias de cultivo, em meio WPM (LLOYD G; MCCOWN B, 1980) suplementado com 3% de sacarose e 0,65% de ágar e combinação de reguladores de crescimento de ANA (2,0 mg.L<sup>-1</sup>) e BAP (0,5 mg.L<sup>-1</sup> ou 1,0 mg.L<sup>-1</sup>).

Novos órgãos vegetais, como raízes e brotos, podem ser induzidos em tecidos nos quais antes não ocorriam, sendo este processo chamado de morfogênese ou organogênese. Foi verificada a regeneração apenas de raízes nos explantes foliares de pequizeiro (Figura 2).

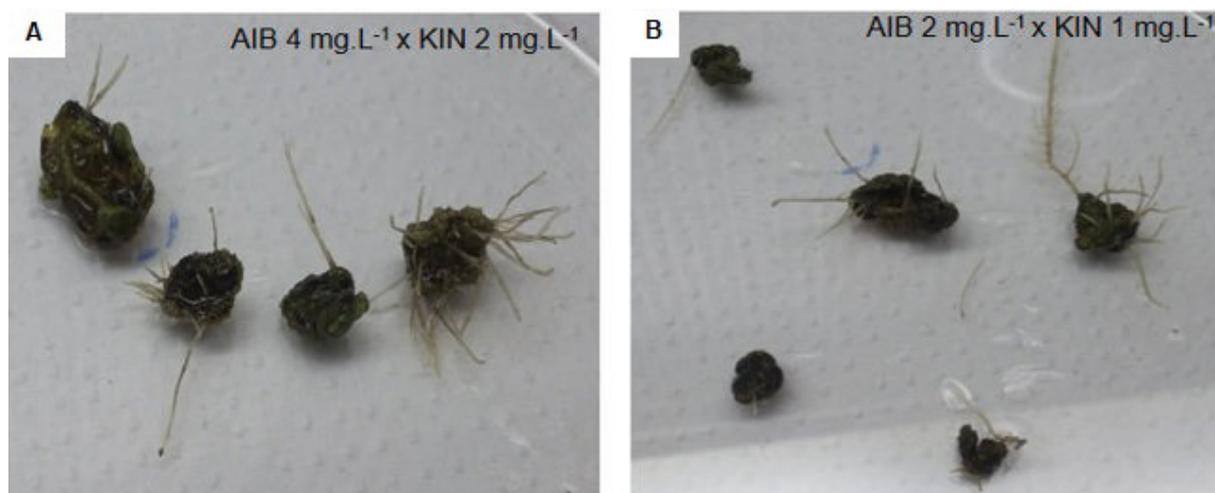


Figura 2 – Organogênese de explantes foliares de pequizeiro submetidos a diferentes concentrações de AIB e KIN para a regeneração de raízes. KIN: Cinetina, AIB: Ácido-3-Indol butírico. Fonte: Do autor

Nos experimentos para a regeneração *in vitro* de explantes foliares de pequizeiro não foi verificada a presença de raízes e/ou brotações nos calos produzidos. As raízes foram induzidas diretamente no explante foliar, sem antes passar pela fase de calo, ou seja, o processo de rizogênese ocorreu de forma direta (Figura 2), e não houve brotações em nenhum dos tratamentos. A tabela 2 mostra a existência de interação significativa (Teste F,  $p < 0,01$ ) para os reguladores de crescimento 2,4-D e KIN na indução de calos, e para AIB e KIN na indução de raízes, bem como para os fatores isoladamente.

Calos - 2,4-D x KIN		
Fatores de variação	GL	QM
2,4-D	3	80,19**
KIN	3	85,65**
2,4-D*KIN	7	65,66**
Resíduo	222	8,04

CV = 136,7%

-----

**Raízes – AIB x KIN**

Fatores de variação	GL	QM
AIB	3	4,28*
KIN	3	12,53**
AIB*KIN	4	7,78**
Resíduo	98	1,17

CV = 86,84%

Tabela 2 – Resumo da análise de variância para indução de calos e raízes em explantes foliares de pequiheiro produtores de frutos sem espinhos no endocarpo, submetidos a diferentes tratamentos com reguladores de crescimento.

2,4-D: Ácido 2,4-Diclorofenoxiacético, KIN: Cinetina, CV: Coeficiente de variação, \* e \*\*: significativo a 5% e 1% de probabilidade, pelo teste de F

Uma vez que houve interação entre os reguladores de crescimento, constatou-se a combinação que promoveu a maior porcentagem de calos foi com a utilização de 2,0 mg L<sup>-1</sup> de KIN em combinação com 2,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D, com obtenção de, em média, 7,34% de calos induzidos, seguido de 2,0 mg L<sup>-1</sup> de KIN em combinação com 1,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D, com 4,62% de calos (Tabela 3).

Calos				
-----2,4-D mg L <sup>-1</sup> -----				
KIN mg L <sup>-1</sup>	0	1	2	4
0	1,00Aa	1,00aA	1,00cA	1,00aA
1	1,00Ba	2,81aAB	1,00bA	2,81aAB
2	1,00Ba	4,62aB	7,34aA	1,00aB
4	1,00Aa	2,81aA	2,81cA	1,00aA

Raízes				
-----AIB mg L <sup>-1</sup> -----				
KIN mg L <sup>-1</sup>	0	1	2	4
0	1,00aA	1,00aC	1,00bA	1,38cA
1	1,00aC	1,00aC	1,69aB	2,13bA
2	1,00aB	1,00aB	1,00bB	2,74cA
4	1,00aA	1,00aA	1,00bA	1,00cA

Tabela 3 – Porcentagem de indução de calos e média de raízes por tratamento, induzidos em explantes foliares de pequiheiro

2,4-D: Ácido 2,4-Diclorofenoxiacético, KIN: Cinetina. Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na horizontal e minúsculas na vertical não diferem estatisticamente entre si.

Para a indução de raízes, a utilização de 4,0 mg L<sup>-1</sup> de AIB isolado ou em combinação com 1,0 mg L<sup>-1</sup> de KIN ou 2,0 mg L<sup>-1</sup> de KIN permitiu a formação de maior número de raízes por explante inoculado (Tabela 3). Pela análise da Tabela 3, pode-se verificar que há dificuldade em se obter um protocolo eficaz e com alto rendimento de diferenciação e regeneração celular, mesmo com a utilização diferentes reguladores de crescimento e em diferentes combinações de doses de auxinas e citocininas. A indução de raízes adventícias tem ocorrido, na maioria das vezes, de forma empírica, a partir da adição de auxinas no meio de cultura, levando a uma alteração na relação auxina/citocinina endógena dos tecidos (LEMOS, 2010).

Santos et al. (2006) obtiveram altos níveis de raízes mediante a utilização de 3 mg L<sup>-1</sup> de AIB, o qual proporcionou a indução de raízes em 100% dos explantes, gerando um número médio de 12,87 raízes por brotação. Para estes autores, as raízes desenvolvidas no meio de cultivo contendo carvão ativado foram maiores (33,16 mm), com maior número de raízes secundárias (média de 19,53).

Apesar da dificuldade para obtenção de plântulas *in vitro* de pequiheiro, pesquisas mostram que é possível estabelecer o cultivo *in vitro* da espécie. Damascena et al. (2014) : “Influência do ácido Naftalenoacético (ANA demonstraram a eficiência da indução de brotações em segmentos nodais, obtidos *in vitro* a partir de sementes de *C. brasiliense*. Estes autores obtiveram indução de brotações de pequiheiro com a utilização de 0,05 mg L<sup>-1</sup> de ANA + 0,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP (com média de 4,79 brotações por explante) e 0,05 mg L<sup>-1</sup> de ANA + 3,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP (com média de 6,59 brotações por explante) em meio de cultivo WPM acrescido de 30 mg L<sup>-1</sup> de sacarose, 7,0 mg L<sup>-1</sup> de ágar e antioxidantes (800 mg L<sup>-1</sup> de ácido ascórbico, 400 mg L<sup>-1</sup> de PVP).

Avaliando a capacidade de formação de brotos e raízes em segmentos nodais, Santos et al. (2006) utilizaram diferentes combinações de BAP e ANA em meio de cultura WPM contendo 800 mg L<sup>-1</sup> de PVP, 30 mg L<sup>-1</sup> de sacarose, 7 mg L<sup>-1</sup> de ágar e carvão ativado (0 g L<sup>-1</sup> e 4 g L<sup>-1</sup>). De acordo com estes autores melhores brotações foram obtidas com 0,05 mg L<sup>-1</sup> de ANA combinada 0,75 mg L<sup>-1</sup> de BAP (média de 6 brotações por explante), induzindo maior número de gemas por explante (17,4), o que proporcionou a maior taxa de multiplicação (8,7).

Conforme verificado nos explantes foliares de pequiheiro no presente estudo, mesmo realizando ensaios em que o objetivo era a indução de brotações, esta rota não foi observada. Isto pode ser explicado pela competência celular. As células competentes possuem a habilidade de se dividir e seguir em direção de um novo caminho de desenvolvimento. Entretanto, esse caminho pode ser limitado, pois as células competentes para formar brotos nem sempre são competentes para formar raízes, e vice-versa (LEMOS, 2010).

A utilização de calos para a multiplicação de espécies é uma alternativa promissora, uma vez que, de uma única massa celular com crescimento desorganizado, pode-se formar um grande número de plantas através da micropropagação. Para o pequiheiro,

esta forma de reprodução se torna importante do ponto de vista comercial, pois pode resultar em plantas uniformes quanto às características de crescimento, floração, frutificação, sendo estas características desejadas do ponto de vista agrônomo.

## CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos e nas condições testadas, explantes foliares de pequi apresentam competência e totipotência celular para a regeneração *in vitro* em calos e raízes, mostrando-se promissores para serem empregados em processos de micropropagação. Estudos devem ser aprofundados para viabilizar esta técnica biotecnológica de produção de mudas *in vitro*.

## AGRADECIMENTOS

Este trabalho faz parte da dissertação de mestrado do primeiro autor. Os autores agradecem à Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo suporte financeiro.

## REFERÊNCIAS

CARDOSO, E. N. Multiplicação de pequi *in vitro* a partir de sementes. In: 1º Encontro de Botânicos do Centro-Oeste, Brasília. **Anais...** Brasília: UNB, 1991. p. 49.

CARRAZA, L.R.; ÁVILA, J.C.C. Manual Tecnológico de aproveitamento integral do fruto do pequi (*Caryocar brasiliense*). **Instituto Sociedade, População e Natureza**. 2ª edição, p.47, 2010.

DAMASCENA, N. D. S. et al. Influência do Ácido Naftalenoacético (ANA) e do 6-Benzilaminopurina (BAP) na indução de brotações em pequi. Anais do XI Seminário de Iniciação Científica e Tecnológica da EPAMIG. **Anais...** Belo Horizonte: 2014, Disponível em: [http://www.epamig.br/index.php?option=com\\_docman&task=cat\\_view&gid=142](http://www.epamig.br/index.php?option=com_docman&task=cat_view&gid=142)

DOMBROSKI, J. L. D. **Estudos sobre a propagação do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.)**. 1997. 80 f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1997.

DOMBROSKI, J. L. D.; PAIVA, R.; CAMARGO, I. P. Efeito da escarificação sobre a germinação do pequi. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 20, p. 68-73, 1998.

HERINGER, E. P. **Pequi (*Caryocar brasiliense* Cambess)**. Brasil Florestal, Rio de Janeiro, v. 1, p. 28-31, 1970.

JÚNIOR, A. F. de M. et al. Genetic structure of natural populations of pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Scientia Forestalis**, n. 66, p. 56-65, 2004.

LANDA, F. DE S. L. et al. Indução *in vitro* de calos em explantes foliares de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 24, n. E, p. 56-63, 2000.

- LEMOS, E. E. P. Oorganogênese. In: CID, L. P. B. Cultivo in vitro de plantas. Embrapa, 2010, p. 104-127
- LLOYD G; MCCOWN B. Commercially feasible micropropagation of mountain laurel *Kalmia latifolia* by use of shoot-tip culture. **Proceedings of International Plant Propagation Society**, v. 30, p. 421–427, 1980.
- MELO, J. T. **Fatores relacionados com a dormência da semente de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.)**. 1987. 91 f. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura de Luiz de Queiroz, Piracicaba, 1987.
- MIRANDA, J. S. **Contribuição ao estudo da cultura do piqui (*Caryocar* sp.): propagação e concentração de nutrientes**. 1986. 103 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal da Paraíba, Areia, 1986.
- MIRANDA, J.S.; SILVA, H.; MATOS, M. A. de O. Emergência e vigor de sementes de pequi submetidas a pré-tratamentos mecânicos e térmicos. In: 9º Congresso Brasileiro de Fruticultura, 1988, Campinas. **Anais...** Campinas: Sociedade Brasileira de Fruticultura, p. 647-651, 1988.
- PREIRA, A. V. et al. **Pequi produção de mudas**. Embrapa Cerrados, 2000. Disponível em: < <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/546754/pequi-producao-de-mudas>>.
- SÁ, C. C. G. et al. Efeito de diferentes tratamentos na germinação do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Acta Botânica Brasileira**, v. 8, n. 1, p. 109-120, 1994.  
<https://doi.org/10.1590/S0102-33061994000100011>
- SANTOS, B. R. et al. Germinação *in vitro* e *ex vitro* de sementes de pequi [*Caryocar brasiliense* Camb. (Caryocaraceae)]. **Naturalia**, v. 34, p. 43–47, 2011.
- SANTOS, B. R. et al. Micropropagação de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 2, p. 293–296, 2006.  
<https://doi.org/10.1590/S0100-29452006000200031>
- SANTOS, F. S. et al. A cultura do pequi (*Caryocar brasiliense* CMB), **Acta Iguazu**, v. 2, n. 3, p. 46-57, 2013.
- VIEIRA, R. F.; MARTINS, M. V. M. Recursos genéticos de plantas medicinais do Cerrado: uma compilação de dados. **Revista Brasileira de Plantas medicinais**, v. 3, n. 1, p. 13–36, 2000.

Agência Brasileira do ISBN  
ISBN 978-85-7247-435-1

