

# DEBATE E REFLEXÃO DAS NOVAS TENDÊNCIAS DA BIOLOGIA

JOSÉ MAX BARBOSA DE OLIVEIRA JUNIOR  
LENIZE BATISTA CALVÃO  
(ORGANIZADORES)

José Max Barbosa De Oliveira Junior  
Lenize Batista Calvão  
(Organizadores)

# Debate e Reflexão das Novas Tendências da Biologia

Atena Editora  
2019

2019 by Atena Editora  
Copyright © Atena Editora  
Copyright do Texto © 2019 Os Autores  
Copyright da Edição © 2019 Atena Editora  
Editora Executiva: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira  
Diagramação: Lorena Prestes  
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  
Profª Drª 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  
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice  
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense  
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Profª Drª 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  
Profª Drª 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  
Profª Drª 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.ª Dr.ª 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>	
D286	Debate e reflexão das novas tendências da biologia [recurso eletrônico] / Organizadores José Max Barbosa de Oliveira Junior, Lenize Batista Calvão. – Ponta Grossa, PR: Atena Editora, 2019.  Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader Modo de acesso: World Wide Web Inclui bibliografia ISBN 978-85-7247-525-9 DOI 10.22533/at.ed.259190908  1. Biologia – Pesquisa – Brasil. 2. Biodiversidade. 3. Seres vivos. I. Oliveira Júnior, José Max Barbosa de. II. Calvão, Lenize Batista.  CDD 570
<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

Caro leitor (a),

Com muita satisfação, apresentamos o novo E-Book intitulado “Debate e Reflexão das Novas Tendências da Biologia”. Esse E-Book apresenta 19 artigos, com informações atualizadas e temas diversificados sobre tendências em Biologia, que em conjunto debatem e refletem sobre práticas, aplicações e novas possibilidades na grande área das Ciências Biológicas.

É importante destacar que muitas profissões dependem da biologia como base para construção de um conhecimento cada vez mais especializado. Considerando ser uma ciência muito heterogênea em suas aplicações e subáreas destacaremos alguns tópicos que merecem cada vez mais atenção.

A complexidade dos seres vivos na natureza varia desde as características morfofisiológicas, seus metabolismos até como eles estão espacialmente distribuídos, bem como, os fatores ambientais que são importantes para manutenção da biodiversidade. Nas últimas décadas as práticas de biotecnologia criaram produtos utilizados pelo homem em larga escala que agregam muitas técnicas aplicadas à pesquisa biológica. Por fim, aspectos inerentes relacionados a crise ambiental englobam a crescimento populacional, o uso de recursos naturais e a poluição ambiental. É extremamente satisfatório encontrar em um volume áreas tão promissoras que abordam bioquímica, biotecnologia, educação, parasitologia, ecologia aplicada, saúde humana, microbiologia, morfologia de invertebrados.

Os 19 capítulos aqui apresentados foram escritos por autores que abordaram temas atuais de grande relevância, por exemplo, a busca de potenciais biológicos atuantes como antioxidantes, técnicas aplicadas a microbiologia e controle ambiental, a biotecnologia para preservação de sementes. Outras técnicas inovadoras aplicadas a manutenção e multiplicação do material biológico, armazenamento de alimentos, ou de produção de mudas são aqui também discutidas.

A saúde humana inclui a aplicação da engenharia biológica, bem como a identificação de produtos com propriedades benéficas que lançam perspectivas ao agronegócio. Interessantemente, outro tema muito importante abordado é a orientação sexual destinada ao público do ensino fundamental, que de forma interativa busca atender as dúvidas dos alunos, bem como motivar os professores de forma prática a continuar a discutir com seus alunos. As extensões de feitos científicos aplicados a educação do ensino básico não se limitam a temas específicos, permeiam também desde aulas práticas de bioquímicas, a exposição de parasitos na educação básica seja de forma dialógica, dinâmica com uso de jogos e de construção de modelos torna-os palpáveis e observáveis aos alunos desde o ensino médio. A compreensão facilitada de temas complexos agregada as práticas diárias dos alunos permitem que eles construam e busquem alternativas particulares no meio em que vivem. Como consequência são capazes de promover melhorias para si e para o coletivo em que

estão inseridos.

Atualmente com a rapidez que a degradação ambiental por diversas pressões antrópicas que aumentam sobre os sistemas naturais há uma necessidade urgente em direcionar medidas eficazes de conservação. Adicionalmente mais do que isso, emerge a necessidade de refletir sobre a educação ambiental cada vez mais crítica que se inicia desde os primeiros anos escolares e busca a indissociabilidade entre desenvolvimento e a sustentabilidade. Por fim, os artigos científicos escritos em língua portuguesa favorecem não somente um público diminuto, mas também envolve estudantes iniciantes a pesquisa. Esses estudantes podem ter contato não somente com estudos especializados em cada área, mas com uma visão holística de novas tendências e possibilidades na grande área da Biologia.

Boa leitura a todos!

José Max Barbosa De Oliveira Junior  
Lenize Batista Calvão

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>1</b>
EFEITO DA INTEGRIDADE AMBIENTAL SOBRE A ABUNDÂNCIA E RIQUEZA DE ESPÉCIES DE ZYGOPTERA (INSECTA: ODONATA) EM IGARAPÉS NO MUNICÍPIO DE SANTARÉM, PARÁ, BRASIL	
Railon de Sousa Marinho José Max Barbosa de Oliveira Junior Tainã Silva da Rocha Everton Cruz da Silva Leandro de Matos Souza	
<b>DOI 10.22533/at.ed.2591909081</b>	
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	<b>9</b>
CRIOPRESERVAÇÃO DE SEMENTES E ÁPICES CAULINARES DE <i>Bauhinia variegata</i>	
Sara Thamires Dias da Fonseca Mairon César Coimbra Ana Hortência Fonseca Castro	
<b>DOI 10.22533/at.ed.2591909082</b>	
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	<b>21</b>
DESNATURAÇÃO PROTEICA: PRÁTICA PEDAGÓGICA APLICADA NO PROGRAMA DE MONITORIA DE ENSINO	
Gabriella Ramos de Menezes Flores Letícia Marques Ruzzi Rafaela Franco Dias Bruzadelli Camila Maria De Souza Silva Wellington Alves Piza Milena Isabela da Silva Alisson Gabriel de Paula Caroline de Souza Almeida Elias Granato Neto Ingridy Simone Ribeiro	
<b>DOI 10.22533/at.ed.2591909083</b>	
<b>CAPÍTULO 4</b> .....	<b>25</b>
AVALIAÇÃO ANTIOXIDANTE E TOXICOLÓGICA DO EXTRATO AQUOSO DO CAULE DE <i>Mesosphaerum suaveolens</i> (L.) KUNTZE	
Adrielle Rodrigues Costa José Weverton Almeida Bezerra Felicidade Caroline Rodrigues Viviane Bezerra da Silva Danúbio Lopes da Silva Francisca Graciele Leite Sampaio de Souza Elys Karine Carvalho da Silva Rayza Helen Graciano dos Santos Maira Honorato de Moura Silva Luciclaudio Cassimiro de Amorim Adjuto Rangel Junior Luiz Marivando Barros	
<b>DOI 10.22533/at.ed.2591909084</b>	
<b>CAPÍTULO 5</b> .....	<b>35</b>
EFEITO DO TAMANHO DA PARTÍCULA NA BIODISPONIBILIDADE DE COMPOSTOS FENÓLICOS E PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DURANTE A DIGESTÃO <i>IN VITRO</i> DE SEMENTES DE CHIA ( <i>Salvia</i>	

Hispanica)

Renata A. Labanca

Marie Alminger

DOI 10.22533/at.ed.2591909085

**CAPÍTULO 6 ..... 44**

IDENTIFICAÇÃO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS VOLÁTEIS DE *Ocimum* sp. E DETERMINAÇÃO DO SEU POTENCIAL ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DO RADICAL ABTS

Carla Larissa Costa Meira

Juliana Lago Leite

Vilisaimon da Silva de Jesus

Djalma Menezes de Oliveira

Rosane Moura Aguiar

DOI 10.22533/at.ed.2591909086

**CAPÍTULO 7 ..... 53**

INFLUÊNCIA DA SECAGEM COM PRÉ-TRATAMENTO DE ULTRASSOM NA COLORAÇÃO DE FOLHAS DE ALECRIM-PIMENTA

Naiara Cristina Zotti Sperotto

Michelle Izolina Lopes de Souza

Evandro de Castro Melo

Mariane Borges Rodrigues de Ávila

Diego Augusto Gonzaga

Maira Christina Marques Fonseca

Juliana Maria de Oliveira

Ana Cláudia Vieira Lelis

DOI 10.22533/at.ed.2591909087

**CAPÍTULO 8 ..... 62**

INVASORES: UM JOGO DIDÁTICO AUXILIAR NO PROCESSO DE ENSINO- APRENDIZAGEM DE PROTOZOÓSES

Patricia de Souza Ricardo Gonçalves

Narcisa Leal da Cunha-e-Silva

DOI 10.22533/at.ed.2591909088

**CAPÍTULO 9 ..... 70**

MONITORAMENTO MICROBIOLÓGICO AMBIENTAL EM SALAS DE PRODUÇÃO DE UM BIOTÉRIO CONVENCIONAL BRASILEIRO

Camila de Souza Brito

Lucas Maciel Cunha

Lucas de Sousa Araujo

DOI 10.22533/at.ed.2591909089

**CAPÍTULO 10 ..... 81**

MORFOLOGIA DO INTESTINO DO *Phragmatopoma caudata* KRØYER IN MÖRCH, 1863 (POLYCHAETA: SABELLARIIDAE) DA PRAIA DE BOA VIAGEM RECIFE-PE

Maria Gabriela Vieira Oliveira da Silva

Betty Rose de Araújo Luz

Júlio Brando Messias

Sura Wanessa Nogueira Santos Rocha

Mônica Simões Florêncio

DOI 10.22533/at.ed.25919090810

**CAPÍTULO 11 ..... 87**

O USO DE MODELOS DIDÁTICOS COMO METODOLOGIA COMPLEMENTAR PARA O PROCESSO DE APRENDIZAGEM DA PARASITOLOGIA NOS DIFERENTES SEGMENTOS

Andréia Carolinne de Souza Brito  
Carlos Eduardo da Silva Filomeno  
Shayane Martins Gomes  
Thainá Melo  
Ludmila Rocha Lima  
Thayssa da Silva  
Luciana Brandão Bezerra  
Aline Aparecida da Rosa  
Bruno Moraes da Silva  
Elisangela Oliveira de Freitas  
Alexandre Ribeiro Bello  
José Roberto Machado-Silva  
Renata Heisler Neves

**DOI 10.22533/at.ed.25919090811**

**CAPÍTULO 12 ..... 102**

ÓLEO DE COCO EXTRAVIRGEM: ALTERAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS E SENSORIAIS ACARRETADAS PELA FRITURA E POR DIFERENTES CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO

Mariana Nunes de Lima Emídio  
Ludmila Fernanda Souza de Oliveira  
Lúcia Helena Esteves dos Santos Laboissière  
Marina Campos Zicker  
Renata Adriana Labanca

**DOI 10.22533/at.ed.25919090812**

**CAPÍTULO 13 ..... 116**

ORIENTAÇÃO SEXUAL, IDENTIDADE DE GÊNERO E SEXISMO NA ESCOLA: DESCONSTRUIR PARA CONSTRUIR

Valéria Lima Marques de Sousa  
Célia Lopes Teixeira

**DOI 10.22533/at.ed.25919090813**

**CAPÍTULO 14 ..... 128**

OTIMIZAÇÃO DA MULTIPLICAÇÃO IN VITRO DE GINSENG-BRASILEIRO [*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen]

Marcelo Silva Passos  
Fabiola Rebouças Rodrigues  
Vânia Jesus Santos Oliveira  
Lília Vieira da Silva Almeida  
Weliton Antonio Bastos de Almeida  
Mariane de Jesus da Silva de Carvalho  
Claudia Cecilia Blaszkowski de Jacobi

**DOI 10.22533/at.ed.25919090814**

**CAPÍTULO 15 ..... 140**

PARASITOLOGIA NA ESCOLA: INTERVENÇÕES EM EDUCAÇÃO E SAÚDE

Carlos Eduardo da Silva Filomeno  
Shayane Martins Rodrigues Gomes  
Aline Aparecida da Rosa  
Karine Gomes Leite  
Thainá de Melo Ubirajara  
Taynara Vieira Teixeira

Bruno Moraes da Silva  
Andréia Carolinne de Souza Brito  
Alexandre Ribeiro Bello  
José Roberto Machado-Silva  
Renata Heisler Neves

**DOI 10.22533/at.ed.25919090815**

**CAPÍTULO 16 ..... 154**

PIMENTA *CAPSICUM*: PROPRIEDADES QUÍMICAS, NUTRICIONAIS, FARMACOLÓGICAS, MEDICINAIS E SEU POTENCIAL PARA O AGRONEGÓCIO

Cleide Maria Ferreira Pinto  
Cláudia Lúcia de Oliveira Pinto  
Sérgio Mauricio Lopes Donzeles

**DOI 10.22533/at.ed.25919090816**

**CAPÍTULO 17 ..... 173**

UMA EDUCAÇÃO AMBIENTAL SOB O VIÉS DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E SOCIEDADE NO ENSINO DE CIÊNCIAS: UMA VISÃO SOBRE O CONSUMO

Mylena Guedes Passeri  
Marcelo Borges Rocha

**DOI 10.22533/at.ed.25919090817**

**CAPÍTULO 18 ..... 183**

USO DO PRÉ-TRATAMENTO DE ULTRASSOM NA SECAGEM DE ERVA-BALEEIRA

Juliana Maria de Oliveira  
Naiara Cristina Zotti Sperotto  
Evandro de Castro Melo  
Diego Augusto Gonzaga  
Mariane Borges Rodrigues de Ávila  
Maira Christina Marques Fonseca  
Michelle Izolina Lopes de Souza  
Ana Cláudia Vieira Lelis

**DOI 10.22533/at.ed.25919090818**

**CAPÍTULO 19 ..... 194**

VIABILIDADE POLÍNICA E INDUÇÃO DE MASSA PRÓ-EMBRIOGÊNICA EM BOTÕES FLORAIS DE *Pyrostegia venusta* (KER GAWL.) MIERS

Alessandra Moraes Pedrosa  
Bruna Cristina Alves  
Vanessa Cristina Stein  
Isabel Rodrigues Brandão  
Camila Bastos Alves  
Mairon César Coimbra  
Ana Hortência Fonseca Castro

**DOI 10.22533/at.ed.25919090819**

**SOBRE OS ORGANIZADORES..... 204**

**ÍNDICE REMISSIVO ..... 205**

## CRIOPRESERVAÇÃO DE SEMENTES E ÁPICES CAULINARES DE *Bauhinia variegata*

**Sara Thamires Dias da Fonseca**

**Mairon César Coimbra**

**Ana Hortência Fonseca Castro**

Universidade Federal de São João del-Rei  
Campus Centro-Oeste, Divinópolis – MG

**RESUMO:** *Bauhinia variegata* (pata-de-vaca) é encontrada no Cerrado brasileiro e possui atividades anti-inflamatória, diurética e hipoglicemiante. Este estudo visou a determinação de uma metodologia para a criopreservação de sementes e ápices caulinares de *Bauhinia variegata*. Para a criopreservação de sementes, as mesmas foram imersas por 7, 14 e 21 dias em nitrogênio líquido, sendo reaquecidas por 60 ou 120 segundos. Cada tratamento foi constituído por 30 sementes, além do grupo controle. As sementes foram inoculadas em meio MS completo e permaneceram 21 dias em sala de crescimento. Após o crescimento, foram medidos comprimento de parte aérea e raiz, massa fresca e seca, número de folíolos e de gemas. Também foram avaliados os teores de fenóis, flavonoides, açúcares e proteínas totais, utilizando-se metodologias usuais. Maiores teores de metabólitos foram observados no grupo controle, enquanto que o que apresentou menores teores foi o tratamento de 14 dias de criopreservação e 60 segundos

de reaquecimento. Para a criopreservação de ápices caulinares, foi utilizado a técnica *droplet vitrification* com PVS2. Os ápices foram criopreservados por 60 minutos e inoculados em meio MS. Não houve retomada de crescimento. **PALAVRAS-CHAVE:** criopreservação; “pata-de-vaca”; biotecnologia

**SEEDS AND STEM APEX CRYOPRESERVATION OF *Bauhinia variegata***

**ABSTRACT:** *Bauhinia variegata* or “pata-de-vaca” is found in Brazilian Cerrado and shows anti-inflammatory, diuretic and hypoglycemic activities. This study aimed the determination of a methodology for the seeds and stem apices cryopreservation of *Bauhinia variegata*. For seeds cryopreservation, it was immersed for 7, 14 and 21 days in liquid nitrogen, being reheated for 60 or 120 seconds. Each treatment consisted of 30 seeds, plus the control group. The seeds were placed on MS medium and remained in growth room for 21 days. After growth, shoot and root length, fresh and dry mass, leaflets and buds number were measured. The contents of phenols, flavonoids, sugars and total proteins were also evaluated using usual techniques. Higher levels of metabolites were observed in the control group, whereas the one with the lowest levels was the treatment of 14 days of cryopreservation and 60 seconds of rewarming.

For the apexes cryopreservation the droplet vitrification technique with PVS2 was used. The apices were cryopreserved for 60 minutes and placed on MS medium. There was no resumption of growth.

**KEYWORDS:** cryopreservation; “pata-de-vaca”; biotechnology

## 1 | INTRODUÇÃO

As plantas do gênero *Bauhinia* (Fabaceae) são encontradas principalmente nas regiões tropicais do planeta e abrangem aproximadamente 300 espécies. As folhas, caules e raízes são comumente utilizados para tratamento de infecções, processos dolorosos e diabetes (SILVA; CECHINEL FILHO, 2002). Dentre as substâncias encontradas, destacam-se os terpenos, alcaloides, flavonoides, lactonas e fenosteróis (LIMA, 2009).

*Bauhinia variegata*, popularmente conhecida como pata-de-vaca, é uma espécie encontrada no Cerrado brasileiro. Apresenta porte médio, sendo caducifólia, com flores com coloração variegada (DURIGAN et al., 1997). Na medicina popular, essa espécie é amplamente utilizada como anti-inflamatório, diurético e hipoglicemiante (DUARTE et al., 2007). Além disso, metabólitos secundários, como alcaloides, compostos fenólicos e flavonoides, presentes no extrato da folha, possuem atividades antibacteriana, antitumoral e antioxidante (MISHRA et al., 2013). *B. variegata* apresenta crescimento moderadamente rápido e é utilizada na recomposição vegetal, no reflorestamento de áreas degradadas e na arborização de ruas (LORENZI, 1992). Entretanto, as sementes apresentam dormência causada basicamente por um bloqueio físico representado pelo tegumento resistente e impermeável que, ao impedir a entrada de água e as trocas gasosas, não permite que o processo germinativo se inicie (LORENZI, 1992; ALVES et al., 2000). Além disso, a produção de sementes ocorre durante poucos meses do ano e é prejudicada pelas condições ambientais desfavoráveis e pelo ataque de patógenos e herbívoros.

Diante das dificuldades de propagação de *B. variegata* devem-se melhorar as técnicas de propagação, encorajar seu cultivo e criar vias alternativas para a produção de metabólitos de interesse farmacêutico, em larga escala. Neste contexto, as técnicas de cultivo *in vitro* são de grande importância ecológica, pois permitem o desenvolvimento de pesquisas que estabeleçam formas alternativas para a conservação e melhoramento do material genético, além de contribuírem para a otimização na produção de princípios ativos vegetais de interesse (GEORGE, 2008), uma vez que, pode fornecer grandes quantidades de materiais vegetais independente da época do ano (PÊGO; PAIVA; PAIVA, 2013). Estudos realizados com espécies da família Fabaceae mostraram que a dormência tegumentar pode ser superada pela excisão mecânica das sementes (ALVES et al., 2000; SMIDERLE; SOUSA, 2003).

A criopreservação é uma técnica utilizada para a conservação de várias espécies vegetais pelo armazenamento de sementes, ápices caulinares, segmentos nodais e

células em suspensão em nitrogênio líquido (NL), por longos períodos (CHEN et al., 2011). Em temperaturas ultrabaixas, os processos metabólicos são interrompidos, o que permite o armazenamento de uma grande quantidade de material em um pequeno espaço, por tempo ilimitado, sem que haja alterações no material armazenado (ENGELMANN, 2004). O sucesso da criopreservação depende da não formação de cristais de gelo no interior dos tecidos (PANIS et al., 2005; ENGELMANN, 2011) e a desidratação é importante para prevenir este processo, que pode ocorrer durante o resfriamento e reaquecimento causando lesões nas células (GONZALEZ-ARNAO et al., 2008). Um bom nível de sobrevivência geralmente é obtido quando as amostras mantêm umidade entre 10 e 20%, após resfriadas (ENGELMANN, 2004).

Para a criopreservação de ápices caulinares, a técnica mais utilizada é a “*droplet vitrification*” onde os ápices são pré-tratados em meios com diferentes concentrações de sacarose e, após são tratados em uma solução chamada de carregamento que é composta por 2 M de glicerol + 0,4 M de sacarose em meio de cultura MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962), antes da imersão em solução de vitrificação (solução de PVS2) a 0°C. O descongelamento é realizado à temperatura ambiente, em solução de diluição rica em sacarose. Após o descongelamento, os ápices são colocados em meio específico de regeneração previamente estabelecido e a retomada do crescimento é avaliada após algumas semanas de cultivo (ENGELMANN, 2011; CHEN et al., 2011).

As dificuldades encontradas na propagação sexuada de *B. variegata*, associadas ao seu potencial medicinal fazem desta espécie uma boa candidata para estudos biotecnológicos, direcionados à conservação da espécie e à avaliação dos efeitos da criopreservação na produção de metabólitos bioativos de interesse. Até o momento, somente Wetzell (2003) demonstrou a possibilidade de se criopreservar sementes de *Bauhinia* sp., que apresentaram altas taxas de germinação após armazenamento em NL. Diante disso, o objetivo deste estudo foi estabelecer uma metodologia de criopreservação de sementes e ápices caulinares de *Bauhinia variegata* e avaliar a influência da criopreservação em características morfológicas e na produção de metabólitos bioativos de interesse.

## 2 | METODOLOGIA

Exsicatas de *Bauhinia variegata* L. (Fabaceae) foram identificadas e depositadas no Herbário PAMG da EPAMIG, localizada em Belo Horizonte (MG), sob o número de registro 5701. Sementes foram coletadas em novembro de 2016, em área de formação campestre com fisionomia de Cerrado *sensu stricto*, localizada em Ijaci (MG). O registro da coleta foi efetuado junto ao SISBIO nº 24542-3, em 19/11/2013. As sementes foram tratadas com solução de Captan a 5%, por 10 minutos, segundo Pires, Bragantini e Costa (2004) e, após secagem foram acondicionadas em sacos plásticos e armazenados em câmara fria. Este estudo foi cadastrado na Plataforma SisGen, sob o número de cadastro A56CD8E, conforme legislação vigente para pesquisas com

## 2.1 Criopreservação de Sementes

As sementes tiveram seu teor de umidade inicial (%UI) determinado tomando-se por base o peso da matéria fresca utilizando a equação  $\%UI (MS) = [(MF - MS) / MF] \times 100$ , onde %UI (MS) é a porcentagem de umidade em uma base de massa seca, MF é a massa fresca (g) e MS é a massa seca (g). As sementes, com exceção do tratamento controle, foram colocadas em tubos tipo Falcon de 50 mL e imersas em nitrogênio líquido por 7, 14 e 21 dias. O descongelamento foi realizado através da imersão das sementes em banho maria a 40° C por 60 e 120 segundos, sendo posteriormente inoculadas em tubos contendo 10 mL de meio MS basal.

## 2.2 Germinação *in vitro*

Sementes provenientes dos tratamentos de criopreservação foram inoculadas em meio de cultura MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962) com 100% de concentração de sais, suplementado com 30 g/L de sacarose, solidificado com 7 g/L de ágar e pH ajustado para 5,8 antes da autoclavagem.

Previamente à inoculação, as sementes foram desinfestadas em etanol 70% por 1 minuto, NaOCl 20% (0,8% de cloro ativo), por 5 minutos e lavadas três vezes seguidas em água destilada e autoclavada. Em seguida, as sementes foram levemente excisadas com o auxílio de um bisturi, para permitir a protusão da radícula e superar a dormência tegumentar. Após desinfestação, as sementes foram inoculadas em tubos contendo 10 mL de meio MS e posteriormente incubadas em sala de crescimento à temperatura de  $25 \pm 2$  °C, fotoperíodo de 18 horas, até a germinação das sementes e desenvolvimento das plântulas.

As taxas de germinação, contaminação e oxidação foram avaliadas todos os dias após inoculação e foi calculado o índice de velocidade de germinação (IVG), segundo Maguire (1962). Após 21 dias foram avaliados os números de folíolos, número de gemas, matéria fresca (MF), matéria seca (MS) da parte aérea e raiz, bem como foram determinados os teores de açúcares totais, proteínas totais, fenóis e flavonoides.

O delineamento empregado foi inteiramente casualizado e os dados foram analisados utilizando o *software* SISVAR (FERREIRA, 2011).

## 2.3 Criopreservação de Ápices Caulinares

Os explantes foram obtidos a partir de plântulas de *Bauhinia variegata* oriundas da germinação de novas sementes *in vitro*.

Em câmara de fluxo laminar, os ápices caulinares com diâmetro de

aproximadamente 1 cm foram excisados e isolados com auxílio de um bisturi. Para o processo de criopreservação, os ápices foram imersos em solução MS de pré cultivo, contendo sacarose a 0,3M e incubadas em sala de crescimento à temperatura de  $25 \pm 2$  °C no escuro, por 24 horas. Após as 24 horas, em câmara de fluxo laminar, os ápices, em câmara de fluxo laminar e em banho de gelo, os ápices foram imersos em solução de carregamento com sacarose a 0,4 M por 10 minutos. Após a retirada da solução de carregamento, os ápices foram imersos em solução PVS2, sacarose 0,4 M, por 30 minutos. Em seguida, os ápices tratados foram acomodados em tiras de papel alumínio (1,5 x 0,5 cm) sobre uma superfície gelada antes da imersão em NL. Após 60 minutos em NL, os ápices criopreservados passaram por reaquecimento em banho maria a 40 °C durante 15 minutos, foram imersos em solução de recuperação com sacarose a 1,2 M por 5 minutos duas vezes e, posteriormente, imersos em solução de lavagem, sacarose 0,4 M, por três vezes durante 5 minutos. Após, os ápices foram inoculados em meio MS contendo BAP 0,5 mg/L e carvão ativado 0,5 mg/L e incubados em sala de crescimento à temperatura de  $25 \pm 2$  °C, fotoperíodo de 18 horas.

O delineamento foi inteiramente casualizado constituído de 1 repetição independente por tratamento, cada repetição composta por dez ápices caulinares criopreservados e 40 do tratamento controle (sem imersão no NL). Os dados serão analisados por regressão ( $p < 0,05$ ), utilizando o *software* SISVAR (FERREIRA, 2011).

## 2.4 Análises Bioquímicas

O extrato vegetal para as análises bioquímicas foi obtido por homogeneização em graal de amostras de 500 mg (massa fresca) de folíolos, com 4 mL de água ultra-pura, banho-maria a 40°C por 30 minutos e posterior centrifugação a 4.800g, durante 30 minutos (SANTOS et al., 2010). O volume dos extratos preparados foi de 4 mL cada. As determinações dos teores de açúcares solúveis totais e proteínas totais foram realizadas segundo as metodologias descritas por Yemm e Willis (1954) e Bradford (1976), respectivamente. Foi montada a curva de calibração utilizando glicose anidra e BSA (Soro albumina bovina) como padrões, respectivamente. As amostras foram lidas no comprimento de onda de 620 nm para açúcares solúveis totais e 595 nm para proteínas totais e os resultados foram expressos em  $\mu\text{g/mL}$ .

## 2.5 Análises Fitoquímicas

As plântulas foram liofilizadas e extraídas por sonicação em solução de etanol 70% sob aquecimento à 35° C, por 40 min. O volume dos extratos preparados foi de 10 mL. Após a análise, foram feitas as correções de concentração. Teores de fenóis e flavonoides totais foram determinados segundo metodologias propostas por Ainsworth e Gillespie (2007) e Kosalec et al. (2005), respectivamente. Foi montada a

curva de calibração utilizando ácido gálico e rutina como padrões, respectivamente. As amostras foram lidas no comprimento de onda de 750 nm para fenóis totais e 425 nm para flavonóides e os resultados foram expressos em microgramas de equivalentes de ácido gálico, por miligrama de extrato seco ( $\mu\text{g EqAG mg}^{-1}\text{ ES}$ ) e microgramas de equivalentes de rutina, por miligrama de extrato seco ( $\mu\text{g EqR mg}^{-1}\text{ ES}$ ), para fenóis e flavonoides totais, respectivamente.

### 3 | RESULTADOS

#### 3.1 Germinação *In Vitro* e Criopreservação de Sementes

O teor de umidade inicial encontrado nas sementes foi de 10,03%. As taxas de germinação, contaminação e oxidação, bem como IVG encontram-se descritos na tabela 1.

Tratamento	Germinação (%)	Contaminação (%)	Oxidação (%)	IVG
BV0	100	7	0	14,54
BV7a	93	10	0	14,20
BV7b	97	10	0	15,73
BV14a	97	7	0	13,20
BV14b	87	13	0	6,69
BV21a	80	10	0	3,99
BV21b	80	23	0	3,23

Tabela 1. Germinação, Contaminação, Oxidação e IVG em sementes de *B. variegata*.

BV0: Tratamento controle (sem criopreservação); BV7a: Tratamento com 7 dias de criopreservação e 1 minuto de reaquecimento; BV7b: Tratamento com 7 dias de criopreservação e 2 minutos de reaquecimento; BV14a: Tratamento com 14 dias de criopreservação e 1 minuto de reaquecimento; BV14b: Tratamento com 14 dias de criopreservação e 2 minutos de reaquecimento; BV21a: Tratamento com 21 dias de criopreservação e 1 minuto de reaquecimento; BV21b: Tratamento com 21 dias de criopreservação e 2 minutos de reaquecimento.

O tratamento sem criopreservação apresentou maior taxa de germinação, bem como menor taxa de contaminação. Já o tratamento com maior tempo de criopreservação e reaquecimento, apresentou a menor taxa de germinação e maior porcentagem de contaminação. Os tratamentos intermediários apresentaram taxas de germinação relativamente semelhantes.

Quanto as análises fitoquímicas (Tabela 2), houve diferença estatística entre os tratamentos. Maiores teores de fenóis totais foram observados em raízes de plântulas provenientes de sementes criopreservadas por 21 dias, com 1 minuto de reaquecimento,

seguidas de raízes de plântulas provenientes de sementes criopreservadas por 14 minutos, com 1 minuto de reaquecimento. Os maiores teores de flavonoides foram observados em raízes de plântulas provenientes de sementes criopreservadas por 21 dias, com 1 minuto de reaquecimento e tratamento controle. Em análise conjunta, as raízes de plântulas provenientes de sementes submetidas ao tratamento BV21a apresentaram maiores concentrações de metabólitos secundários. Os tratamentos “BV7 a” e “BV21 b”, ambos extratos da raiz, não apresentaram material suficiente para que fosse realizada a dosagem.

	Tratamento	Fenóis	Flavonóides	AST ( $\mu\text{g/mL}$ )	PST ( $\mu\text{g/mL}$ )
		( $\mu\text{g EqAG mg EB}^{-1}$ )	( $\mu\text{g RutEQ mg EB}^{-1}$ )		
Parte aérea	BV0	260,5 $\pm$ 13,3 c	229,9 $\pm$ 27,6 b	197,4 $\pm$ 10,8 c	109,2 $\pm$ 80,5 b
	BV7 a	380,1 $\pm$ 64,3 c	279,9 $\pm$ 17,8 b	2079 $\pm$ 20,8 c	164,3 $\pm$ 15,7 a
	BV7 b	388,4 $\pm$ 48,5 c	239,9 $\pm$ 29,5 b	226,4 $\pm$ 43,9 c	152,2 $\pm$ 71,2 a
	BV14 a	364,9 $\pm$ 13,2 c	272,3 $\pm$ 2,9 b	***	207,3 $\pm$ 29,2 a
	BV14 b	296,8 $\pm$ 63,8 c	239,9 $\pm$ 13,9 b	212,7 $\pm$ 40,6 c	199,5 $\pm$ 15,5 a
	BV21 a	274,8 $\pm$ 11,4 c	221,2 $\pm$ 17,1 b	178,3 $\pm$ 19,5 c	147,3 $\pm$ 26,1 a
	BV21 b	***	***	275,4 $\pm$ 25,5 b	98,8 $\pm$ 13,4 b
Raiz	BV0	470,1 $\pm$ 13,6 c	454,8 $\pm$ 19,9 a	3915 $\pm$ 51,1 a	139,5 $\pm$ 33,2 a
	BV7 a	***	***	185,2 $\pm$ 42,8 c	101,3 $\pm$ 7,9 b
	BV7 b	531,6 $\pm$ 141,1 c	244,9 $\pm$ 8,8 b	282,3 $\pm$ 37,2 b	111,6 $\pm$ 4,6 b
	BV14 a	971,7 $\pm$ 135,3 b	175,8 $\pm$ 1,8 c	36,3 $\pm$ 15, d	87,3 $\pm$ 38,9 b
	BV14 b	710,0 $\pm$ 91,4 c	274,4 $\pm$ 10,3 b	214,2 $\pm$ 21,2 c	98,2 $\pm$ 16,9 b
	BV21 a	2331,9 $\pm$ 68,6 a	446,9 $\pm$ 18,6 a	278,9 $\pm$ 35,2 b	107,9 $\pm$ 49,5 b
	BV21 b	***	***	250,9 $\pm$ 46,6 c	135,2 $\pm$ 67,3 a

Tabela 2. Valores médios das concentrações de fenóis, flavonoides, açúcares solúveis totais e proteínas solúveis totais.

\*Médias seguidas pelas mesmas letras não tem diferença estatística significativa ao nível de probabilidade de 5% do teste de Scott Knott. \*\*\*Não houve material suficiente para análise

Maiores teores de açúcares solúveis totais foi observado nas raízes de plântulas provenientes de sementes não criopreservadas e menores concentrações foram observadas nas raízes oriundas do tratamento de 14 dias de criopreservação e 1 minuto de reaquecimento. As proteínas se mantiveram mais uniformes entre parte aérea e raiz.

A criopreservação afetou a produção de metabólitos primários e secundários, sendo as raízes de plântulas provenientes de sementes não criopreservadas apresentaram maiores concentrações de flavonoides e açúcares solúveis e altas concentrações de proteínas solúveis.

As análises morfológicas (Tabela 3) pouco diferiram estatisticamente. Apenas as plântulas oriundas de sementes criopreservadas por 21 dias apresentaram menor crescimento, representado por menores valores de matéria fresca e seca de parte aérea e raiz e comprimento.

T	Parte Aérea			Raiz		
	MF (g)	MS (g)	Comprimento (cm)	MF (g)	MS (g)	Comprimento (cm)
BV0	0,6423 ± 0,13 a	0,1354 ± 0,02 a	14,24 ± 2,22 a	0,3273 ± 0,15 a	0,0344 ± 0,01 a	7,85 ± 1,82 a
BV7 a	0,5772 ± 0,15 a	0,1014 ± 0,03 a	15,37 ± 2,23 a	0,3491 ± 0,14 a	0,0370 ± 0,01 a	7,24 ± 1,82 a
BV7 b	0,6349 ± 0,15 a	0,1105 ± 0,03 a	16,51 ± 3,32 a	0,3888 ± 0,15 a	0,0322 ± 0,01 a	5,26 ± 0,90 b
BV14 a	0,6124 ± 0,12 a	0,1030 ± 0,02 a	16,08 ± 3,02 a	0,3648 ± 0,12 a	0,0341 ± 0,01 a	8,10 ± 0,91 a
BV14 b	0,6694 ± 0,15 a	0,1145 ± 0,03 a	15,40 ± 3,89 a	0,4049 ± 0,18 a	0,0319 ± 0,01 a	6,55 ± 1,21 a
BV21 a	0,4071 ± 0,11 b	0,1572 ± 0,26 a	10,75 ± 3,02 b	0,1825 ± 0,04 b	0,0196 ± 0*** b	6,65 ± 0,74 a
BV21 b	0,3260 ± 0,24 b	0,0504 ± 0,04 a	6,98 ± 4,45 c	0,1558 ± 0,12 b	0,0166 ± 0,01 b	4,96 ± 2,26 b

Tabela 3. Valores médios do comprimento, massa fresca e massa seca da parte aérea e raiz

\*Médias seguidas pelas mesmas letras não tem diferença estatística significativa ao nível de probabilidade de 5% do teste de Scott Knott

\*\*\*Foram padronizadas duas casas decimais para o desvio padrão e este apresentou-se muito baixo

Não houve diferença estatística em relação a número de folíolos, no entanto, quanto ao número de gemas, apenas as plântulas com 14 dias de criopreservação mostraram diferença estatisticamente dignificante, apresentando maior número de gemas que os outros tratamentos.

Tratamento	Número de Gemas	Número de Folíolos
BV0	6,10 ± 1,52 b	6,20 ± 1,48 a
BV7 a	5,50 ± 0,97 b	5,70 ± 1,49 a
BV7 b	5,50 ± 0,97 b	5,70 ± 1,49 a
BV14 a	7,30 ± 1,57 a	7,10 ± 1,97 a
BV14 b	7,50 ± 2,59 a	6,50 ± 1,35 a
BV21 a	6,00 ± 1,31 b	6,38 ± 11,30 a
BV21 b	5,00 ± 2,12 b	5,20 ± 2,49 a

Tabela 4. Valores médios dos números de folíolos e de gemas

\*Médias seguidas pelas mesmas letras não tem diferença estatística significativa ao nível de probabilidade de 5% do teste de Scott Knott

### 3.2 Criopreservação de Ápices

Não houve retomada de crescimento de nenhum dos ápices criopreservados. Quanto aos ápices não criopreservados, houve uma média de crescimento de 5 cm após os 45 dias, bem como houve enraizamento de 50% dos ápices previamente inoculados, com uma taxa de 47,5% de enraizamento.

## 4 | DISCUSSÃO

### 4.1 Germinação *in vitro* e Criopreservação de Sementes

A umidade presente na semente influencia diretamente na germinação, uma vez que as sementes necessitam de uma certa quantidade de água para iniciar o processo de germinação (BRASIL, 2009). O teor de umidade de 10,03% foi relativamente alto, se comparado a estudo realizado por Pinto e colaboradores (2005) que encontrou uma umidade de 3,71%. Martinelli-Seneme e colaboradores (2006), em estudo de dormência de sementes de *Bauhinia variegata*, calculou um teor de umidade de 8,9% e encontrou uma germinação de 98% em método de corte com tesoura, semelhante ao método utilizado neste estudo. Portanto, a umidade calculada no estudo, bem como a leve excisão da semente com intuito de superar dormência tegumentar, mostraram-se eficientes, tendo em vista que as porcentagens de germinação encontradas foram satisfatórias. Não existem relatos de criopreservação de sementes de *Bauhinia variegata*, tornando difícil a análise da variação das taxas de germinação entre as sementes criopreservadas, bem como a análise da maior porcentagem de contaminação. No entanto, essa menor taxa de germinação das sementes criopreservadas, principalmente das sementes do tratamento de 21 dias, podem ter ocorrido devido a possibilidade de cristalização da água contida nas sementes. Possivelmente uma diminuição do teor de umidade dessas sementes ou o uso de um crioprotetor levaria a uma maior germinação, no entanto estudos são necessários para melhor análise dessas sementes criopreservadas. Quanto a análise de comprimento e biomassa, observou-se o menor crescimento das plântulas de maior tempo de criopreservação, o que reforça a teoria de que o tempo de imersão no nitrogênio líquido foi prejudicial ao desenvolvimento das plântulas. A menor biomassa deve-se ao menor crescimento dessas plântulas.

De maneira geral, a maior produção de metabólitos primários e secundários foi observada no tratamento sem criopreservação, com exceção da produção de fenóis em raízes de plântulas do tratamento “BV21 a”, pois a produção de metabólitos secundários pode ser inversamente proporcional ao crescimento celular (ARROO *et al.*, 1995). Esta correlação também pode ser observada no tratamento “BV14 a”, que apresentou maior crescimento de raiz e menor concentração de flavonoides. No entanto, com exceção destes tratamentos, essa correlação não foi regra neste estudo, visto que a produção de flavonóides do tratamento controle foi a maior, mesmo tendo um grande crescimento celular. Pode-se observar uma maior produção de fenóis em raízes, enquanto a produção de flavonoides manteve-se equilibrada entre parte aérea e raiz. Em relação a produção de PST, nota-se maior concentração nas partes aéreas das plântulas, o que pode estar relacionado com a maior síntese de proteína para crescimento celular (SERRA *et al.*, 2000), visto que a taxa de crescimento da parte aérea é superior a raiz. A maior produção de AST foi em tratamentos de raízes, sendo

maior no tratamento controle. O tratamento “BV14 a” apresentou menores níveis de AST e PST, podendo indicar uma redução da capacidade de fotossíntese, que leva a quebra do carboidrato para utilização como material energético (SERRA *et al.*, 2000). Deste modo, com a redução da capacidade anabólica, os níveis de proteínas sintetizadas para expansão celular também diminuem. Possivelmente, estes fatores devem-se ao fato do grande crescimento prévio das raízes das plântulas que levou ao consumo dos nutrientes fornecidos pelo meio, gerando uma necessidade de quebra dos açúcares para utilizar como fonte de energia.

## 4.2 Criopreservação de Ápices

A não retomada de crescimento dos ápices criopreservados, em comparação a retomada de crescimento de 100% dos ápices não criopreservados, pode ser justificada devido ao tempo de exposição ao PVS2, uma vez que este possui fitotoxicidade dependente do tempo de exposição (NOGUEIRA; PASQUAL; SCHERWINSKI-PEREIRA, 2013). Mais estudos devem ser realizados com o objetivo de identificar o tempo ideal de exposição ao PVS2 para que haja retomada de crescimento dos ápices caulinares criopreservados.

## 5 | CONCLUSÕES

O menor Índice de Velocidade de Germinação foi das sementes criopreservadas por 21 dias, bem como o menor crescimento e a menor produção de biomassa.

O tratamento com maior produção de metabólitos, tanto primários quanto secundários, foi observado no tratamento sem criopreservação.

A criopreservação dos ápices caulinares não permitiu retomada de crescimento, devido a toxicidade do PVS2.

Mais estudos são necessários para determinar melhor metodologia de criopreservação para *Bauhinia variegata*.

## 6 | AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG), por meio do edital PIBIC/UFSJ/FAPEMIG pela bolsa de iniciação científica e ao CNPq e CAPES pelo auxílio financeiro ao projeto.

## REFERÊNCIAS

AINSWORTH, E.A.; GILLESPIE, K.M. **Estimation of total phenolic content and other oxidate substrates in plant tissues using Folin-Ciocalteu reagent.** Nature Protocols, v.2, n.4, p.875-877, 2007.

- ALVES, M. C. S. et al. **Superação da dormência em sementes de *Bauhinia monadra* Britt. e *Bauhinia unguolata* L. – Caesalpinoidea.** Revista Brasileira de Sementes, v. 22, n. 2, p. 139-144, 2000.
- ARROO, R.R.J.; DEVELI, A.; MEIJERS, H.; VAN DE WESTERLO, E.; KEMP, A.K.; CROES, A.F.; WULLEMS, G.J. **Effect of exogenous auxin on root morphology and secondary metabolism in *Tagetes patula* hairy root cultures,** Physiologia Plantarum, v.93, p.233-240, 1995.
- BRADFORD, M.M. **A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding.** Analytical Biochemistry, v.72, p.248-254, 1976.
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes /** Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília : Mapa/ACS, 2009. 399 p.
- CHEN, X. L. et al. **Cryopreservation of in vitro-grown apical meristems of *Lilium* by droplet-vitrification.** South African Journal of Botany, Amsterdam, v. 77, p. 397-403, Apr. 2011.
- DUARTE, M. R. et al. ***Bauhinia variegata*: Diagnose Morfoanatômica e Análise Comparativa entre Exemplares de Regiões Climáticas Distintas.** Latin American Journal of Pharmacy. Curitiba, v. 26, n. 6, p. 837-845. 2007.
- DURIGAN, G. et al. **Sementes e mudas de árvores tropicais.** Campinas: Instituto Florestal, CINP/ SMA, 1997.
- ENGELMANN, F. **Plant cryopreservation: progress and prospects.** In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant, Columbia, v. 40, n. 5, p. 427-433, Sept./Oct. 2004.
- ENGELMANN, F. **Use of biotechnologies for the conservation of plant biodiversity.** In vitro & Developmental Biology, Columbia v. 47, p. 5-16, Nov. 2011.
- FERREIRA, D. F. **Sisvar: a computer statistical analysis system.** Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v. 35, n.6, p. 1039-1042, nov./dez. 2011.
- GEORGE, E. F.; HALL, M. A.; KLERK, G. J. de. **Plant propagation by tissue culture.** 3th. ed. Dordrecht: The background, Springer, 2008. v. 1. 520 p.
- GONZALEZ-ARNAO, M. T. et al. **Development and large scale application of cryopreservation techniques for shoot and somatic embryo cultures of tropical crops.** Plant Cell Tissue and Organ Culture, Dordrecht, v.92, p. 1-13, Jan. 2008.
- KOSALEC, I.; PEPELJNJAK, S.; BAKMAZ, M.; VLADIMIR-KNEZEVIC, S. **Flavonoid analysis and antimicrobial activity of commercially available propolis products.** Acta Pharmaceutica, v.55, n.4, p.423-430, 2005.
- LIMA, J. F. **Estabelecimento da cultura de células de *Bauhinia forficata* Link como fonte de metabólitos bioativos.** 2009. 97 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. 2009.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras. Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil.** Nova Odessa: 1992. 352p.
- MARTINELLI-SENEME, Adriana et al. **Germinação e sanidade de sementes de *Bauhinia variegata*.** Revista *Árvore*, [s.l.], v. 30, n. 5, p.719-724, out. 2006. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-67622006000500005>.

- MISHRA, A. et al. ***Bauhinia variegata* leaf extracts exhibit considerable antibacterial, antioxidant, and anticancer activities.** Biomed Research International, v. 2013, p.1-10, 2013.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. **A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures.** Physiologia Plantarum, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, Mar. 1962.
- NOGUEIRA, Gabriela Ferreira; PASQUAL, Moacir; SCHERWINSKI-PEREIRA, Jonny Everson. **Survival of sugarcane shoot tips after cryopreservation by droplet-vitrification.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, [s.l.], v. 48, n. 11, p.1524-1527, nov. 2013. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-204x2013001100014>.
- PANIS, B.; PIETTE, B.; SWENNEN, R. **Droplet vitrification of apical meristems: a cryopreservation protocol applicable to all Musaceae.** Plant Science, Clare, v. 168, n. 1, p. 45-55, Jan. 2005.
- PÊGO, R. G., PAIVA, P. D. O.; PAIVA, R. **Micropropagation of *Syngonanthus elegantulus*.** Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v. 37, n. 1, p.32-39, 2013.
- PINTO, Luciano S. et al. **Caracterização química e bioquímica de sementes de *Bauhinia variegata* L.** Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, [s.l.], v. 9, n. 3, p.385-390, set. 2005.
- PIRES, L. M.; BRAGANTINI, C.; COSTA, J. L. da S. **Armazenamento de sementes de feijão revestidas com polímeros e tratadas com fungicidas.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.39, n.7, p.709-715, jul. 2004.
- SANTOS, D.N.; NUNES, C.F.; PASQUAL, M.; VALENTE, T.C.T.; OLIVEIRA, A.C.L.; SILVEIRA, N.M. **Análises bioquímicas em calos de pinhão-mansão.** Ciência Rural, v. 40, n. 11, p. 2268-2273, 2010.
- SERRA, A.G.P.; PAIVA, R.; PAIVA, P.D.O. **Análises bioquímicas de calos formados de explantes foliares de castanha do Brasil (*Bertholletia excelsa* H. B. K.).** Ciência e Agrotecnologia, v. 24, n. 4, p. 833-840, 2000.
- SILVA, K. L.; FILHO, V. C. **Plantas do gênero *Bauhinia*: Composição química e potencial farmacológico.** Química Nova, Itajaí, v. 25, n.3, p.449-454, 2002.
- SMIDERLE, O. J.; SOUSA, R. de C. P. de. **Dormência em sementes de Paricarana (*Bowdichia virgilioides* Kunth - Fabaceae - Papilionidae).** Revista Brasileira de Sementes, v. 25, n. 2, p.48-52, nov. 2003.
- WETZEL M. M. V. S.; REIS R. B.; RAMOS K. M. **Metodologia para criopreservação de sementes de espécies florestais nativas.** Circular Técnica Embrapa 26: 1–5; 2003.
- YEMM, E.W.; WILLIS, A. J. **The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone.** The Biochemical Journal, v.57, p.508-514, 1954.

## **SOBRE OS ORGANIZADORES**

**JOSÉ MAX BARBOSA DE OLIVEIRA JUNIOR** é doutor em Zoologia (Conservação e Ecologia) pela Universidade Federal do Pará (UFPA) e Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG). Mestre em Ecologia e Conservação (Ecologia de Sistemas e Comunidades de Áreas Úmidas) pela Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT). Graduado em Ciências Biológicas (Licenciatura Plena) pela Faculdade Araguaia (FARA). É professor Adjunto I da Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA), lotado no Instituto de Ciências e Tecnologia das Águas (ICTA). Orientador nos programas de Pós-Graduação *stricto sensu* em Sociedade, Ambiente e Qualidade de Vida (PPGSAQ-UFOPA); Sociedade, Natureza e Desenvolvimento (PPGSND-UFOPA); Biodiversidade (PPGBEES-UFOPA) e Ecologia (PPGECO-UFPA/EMBRAPA). Membro de corpo editorial dos periódicos Enciclopédia Biosfera e Vivências. Tem vasta experiência em ecologia e conservação de ecossistemas aquáticos continentais, integridade ambiental, ecologia geral, avaliação de impactos ambientais (ênfase em insetos aquáticos). Áreas de interesse: ecologia, conservação ambiental, agricultura, pecuária, desmatamento, avaliação de impacto ambiental, insetos aquáticos, bioindicadores, ecossistemas aquáticos continentais, padrões de distribuição.

**LENIZE BATISTA CALVÃO** é pós-doutoranda na Universidade Federal do Pará (UFPA). Doutora em Zoologia (Conservação e Ecologia) pela Universidade Federal do Pará (UFPA) e Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG). Mestre em Ecologia e Conservação (Ecologia de Sistemas e Comunidades de Áreas Úmidas) pela Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT). Graduada em Ciências Biológicas (Licenciatura Plena) pela Faculdade Araguaia (FARA). Possui experiência com avaliação de impactos antropogênicos em sistemas hídricos do Cerrado mato-grossense, utilizando a ordem Odonata (Insecta) como grupo biológico resposta. Atualmente desenvolve estudos avaliando a integridade de sistemas hídricos de pequeno porte na região amazônica, também utilizando a ordem Odonata como grupo resposta, com o intuito de buscar diretrizes eficazes para a conservação dos ambientes aquáticos.

## ÍNDICE REMISSIVO

### A

Análise sensorial 102, 115  
Atividade antioxidante 32, 42

### B

Bamburral 26  
*Bauhinia variegata* 7, 9, 10, 11, 12, 17, 18, 19, 20  
Biotecnologia 130, 138, 169, 194  
Biotério 72, 79, 80

### C

Ciência 19, 20, 21, 23, 24, 32, 35, 60, 69, 138, 139, 168, 171, 172, 173, 182, 202  
Compostos orgânicos 21  
Criopreservação 12, 14, 16, 17, 18  
Cultivo *in vitro* 128

### D

Digestão *In Vitro* 35

### E

Educação 21, 23, 24, 62, 63, 68, 69, 95, 100, 116, 118, 127, 140, 141, 147, 152, 173, 175, 181, 182  
Embriogênese somática 201  
Enteroparasitoses 140, 141, 152

### H

Histologia 81

### L

*Lippia origanoides* 53, 54, 55, 59

### M

Microcrustáceos 26

### O

Ocimum sp 8, 44, 45, 47, 48, 49, 50, 51  
Odonata 1, 2, 3, 7, 8, 204  
Óleo de coco extravirgem 102  
Orientação sexual 9, 116

## P

Parasitologia 87, 88, 91, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 140, 143, 144, 147, 148, 149, 152

*Phragmatopoma caudata* 8, 81, 82, 83

Pimentas 154, 170

Plantas medicinais 33, 60, 192

*Pyrostegia venusta* 10, 194, 195, 197, 199, 200, 201, 202, 203

## S

Saúde 42, 43, 44, 46, 51, 54, 61, 63, 68, 69, 80, 89, 90, 100, 101, 114, 115, 140, 141, 147, 151, 152, 169, 184, 191

## V

Valor nutritivo 154

## Z

Zygoptera 1, 2, 3, 4, 6, 7

Agência Brasileira do ISBN  
ISBN 978-85-7247-525-9

