



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOQUÍMICA

CARACTERIZAÇÃO FÍSICA E BIOQUÍMICA DE FRUTOS DE *Caryocar brasiliense* (PEQUIZEIRO) COM E SEM ESPINHOS NO ENDOCARPO E ABORDAGENS BIOTECNOLÓGICAS PARA A CONSERVAÇÃO E MICROPROPAGAÇÃO *in vitro*

Aluno: Bruno Henrique Gomes

Orientadora: Dra. Ana Paula Oliveira Nogueira

Coorientador: Dr. Robson José de Oliveira Júnior

UBERLÂNDIA - MG
2018



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOQUÍMICA

CARACTERIZAÇÃO FÍSICA E BIOQUÍMICA DE FRUTOS DE *Caryocar brasiliense* (PEQUIZEIRO) COM E SEM ESPINHOS NO ENDOCARPO E ABORDAGENS BIOTECNOLÓGICAS PARA A CONSERVAÇÃO E MICROPROPAGAÇÃO *in vitro*

Aluno: Bruno Henrique Gomes

Orientadora: Dra. Ana Paula Oliveira Nogueira

Coorientador: Dr. Robson José de Oliveira Júnior

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Genética e Bioquímica.

UBERLÂNDIA - MG
2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

G633c Gomes, Bruno Henrique, 1991
2018 Caracterização física e bioquímica de frutos de *Caryocar brasiliense* (Pequizeiro) com e sem espinhos no endocarpo e abordagens biotecnológicas para a conservação e micropropagação *in vitro* [recurso eletrônico] / Bruno Henrique Gomes. - 2018.

Orientadora: Ana Paula Oliveira Nogueira.
Coorientador: Robson José de Oliveira Júnior.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Programa de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica.

Modo de acesso: Internet.

Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.di.2018.812>

Inclui bibliografia.

Inclui ilustrações.

1. Genética. 2. Pequi - Melhoramento genético. 3. Biometria. 4. Cerrados. I. Nogueira, Ana Paula Oliveira, (Orient.). II. Oliveira Júnior, Robson José de, (Coorient.). III. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica. IV. Título.

CDU: 577.1

Angela Aparecida Vicentini Tzi Tziboy – CRB-6/947



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOQUÍMICA

CARACTERIZAÇÃO FÍSICA E BIOQUÍMICA DE FRUTOS DE *Caryocar brasiliense* (PEQUIZEIRO) COM E SEM ESPINHOS NO ENDOCARPO E ABORDAGENS BIOTECNOLÓGICAS PARA A CONSERVAÇÃO E MICROPROPAGAÇÃO *in vitro*

ALUNO: Bruno Henrique Gomes

COMISSÃO EXAMINADORA

Presidente: Dra. Ana Paula Oliveira Nogueira (IBTEC – UFU) (Orientadora)

Examinadores: Dra. Ana Maria Bonetti (IBTEC - UFU)

Dra. Luciana Cardoso Nogueira Londe (EPAMIG)

Data da Defesa: 26/07/2018

As sugestões da Comissão Examinadora e as Normas PGGB para o formato da Dissertação/Tese foram contempladas

Dra. Ana Paula Oliveira Nogueira
(ORIENTADORA)

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Uberlândia.

À Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação.

Ao Instituto de Biotecnologia.

Ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica.

À FAPEMIG (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais) pela bolsa de mestrado concedida.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – MEC), ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) por fomentarem as pesquisas no Brasil.

A todos os orientadores do Programa de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica.

À Professora Dra. Ana Paula Oliveira Nogueira, pela disponibilidade em me orientar. Obrigado pelos conhecimentos transmitidos.

Ao Professor Dr. Robson José de Oliveira Júnior pela Co-orientação.

À Janaína de Souza Mota, pela atenção e competência.

À professora Dra. Ana Maria Bonetti e ao Professor Dr. Carlos Ueira por permitirem o acesso ao Laboratório de Genética - IBTEC/UFU e pela colaboração.

À Professora Dra. Enyara Resende de Morais por permitir o acesso ao Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular – IBTEC/UFU – Patos de Minas.

À professora Dra. Cristina Fürstenau pela colaboração nas análises bromatológicas.

À Carla Ferreira pelo empenho e auxílio nas análises químicas e nutricionais.

À Msc. Lorraine Polloni e à Msc. Mariana Mendes pelos ensinamentos e auxílio em técnicas de Biologia Molecular.

Ao Dr. Marcos pela companhia, pelas idas na Fazenda Experimental coletar material biológico para as análises.

Aos colegas do PPG-Genética e Bioquímica, PPG-Biotecnologia e do PPG-Agronomia. Especialmente à Esther Fernandez, Lorena Polloni, Mariana Mendes, Douglas Alexander, Tamiris, Carollayne, Paula Rabelo, Jéssica! Obrigado pela companhia nesta jornada.

Aos amigos Flávio Vieira, Sarah Braga, Ana Carla, Rafaella Martins, Carolina Misawa! Obrigado por estarem presentes!

Aos membros do Programa de Melhoramento Genético do Pequizeiro.

Aos membros do Laboratório de Genética - IBTEC/UFU pelo acolhimento, conselhos e divisão de nosso desespero. Meu agradecimento especial a Jéssica, Tamiris, Patrícia Thiemi, Mariana e Luiza.

Ao Laboratório de Climatologia Ambiental pelo fornecimento dos dados meteorológicos.

À Fazenda São Lourenço, nas pessoas de Júlia, Ronan e Isabella pela ajuda na condução dos experimentos de '*Avaliação do desempenho agronômico entre genótipos de soja (Glycine max)*'. Ao gerente Sr. Gilberto e ao proprietário Sr. Maurício por ceder o espaço para a execução do experimento. Mesmo não estando no escopo desta dissertação, este experimento foi importante para a minha formação!

Aos BIOTECNOLOGISTAS e futuros biotecnologistas que tive a oportunidade de conhecer; o meu agradecimento especial à Mariane Fernandes, Ana Paula Procópio, Danilo, Tiago e Natieli.

À Família UFU-Campus Patos de Minas, onde dei meus primeiros passos! Vocês estão em meu coração!

Ao Geraldo Figueiredo por sempre me compreender.

À Família Silva.

À Família Gomes.

À Família Figueiredo.

Muito obrigado!

Sumário

1	INTRODUÇÃO GERAL.....	1
1.1	Cerrado, ocorrência e importância do pequi.....	1
1.2	Classificação botânica do pequizeiro	3
1.3	Caracterização morfológica de plantas e frutos de pequizeiro	5
1.4	Constituintes químicos, importância nutricional e farmacológica	7
1.5	Propagação e cultivo <i>in vitro</i> de pequizeiro	13
1.6	Diversidade genética	14
1.7	Objetivo geral	16
1.8	Objetivos específicos.....	16
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	16
2.1	População, amostragem, armazenamento e local de experimentos	
	16	
2.2	Biometria de pequi com e sem espinhos no endocarpo	19
2.3	Caracterizações físico-químicas e nutricionais de pequis com e sem	
	espinhos no endocarpo	24
2.3.1	Potencial hidrogeniônico	25
2.3.2	Determinação do teor de umidade	25
2.3.3	Rendimento de polpa fresca.....	25
2.3.4	Acidez total titulável.....	26
2.3.5	Matéria mineral.....	26
2.3.6	Determinação do teor de compostos fenólicos totais	27
2.3.7	Determinação do teor de proteína bruta.....	29
2.3.8	Determinação dos carboidratos totais	31
2.3.9	Determinação dos teores de lipídios totais.....	32
2.3.10	Determinação dos teores de vitamina C.....	32

2.3.11	Valor energético total.....	33
2.4	Pigmentos	33
2.5	Regeneração <i>in vitro</i> de explantes foliares de pequizeiro	34
2.5.1	Controle da contaminação dos explantes.....	34
2.5.2	Controle da oxidação dos explantes	35
	2.5.3 Interação entre diferentes reguladores de crescimento na diferenciação celular dos explantes foliares.....	37
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
3.1	Análises biométricas de frutos de pequizeiros com e sem espinhos no endocarpo.....	39
3.2	Diversidade genética em pequizeiros produtores de frutos com e sem espinhos 46	
3.3	Relação entre caracteres biométricos de frutos de pequizeiros com e sem espinhos no endocarpo.....	53
3.4	Análises físico-químicas	57
3.5	Composição nutricional	58
3.6	Pigmentos	62
3.7	Cultivo <i>in vitro</i> de pequizeiro	65
3.7.1	Controle da contaminação de explantes foliares	65
3.7.2	Controle da oxidação de explantes foliares.....	67
	3.7.3 Interação entre diferentes reguladores de crescimento na diferenciação celular dos explantes foliares.....	68
4	CONCLUSÕES.....	74
5	REFERÊNCIAS	76

Lista de Figuras

Figura 1 - Morfologia da árvore, inflorescência, flor e fruto do pequizeiro cultivados na Estação Experimental Fazenda Água Limpa - UFU, Uberlândia – MG, 2018.	7
Figura 2 - Temperatura máxima, mínima e precipitação média na Estação Experimental Fazenda Água Limpa – UFU, Uberlândia-MG, abril de 2017 a março de 2018.	17
Figura 3 - Período reprodutivo inicial de pequizeiros (<i>Caryocar brasiliense</i>) produtores de frutos com e sem espinhos no endocarpo. Estação Experimental Fazenda Água Limpa - UFU, Uberlândia – MG, Safra 2017-2018.	18
Figura 4 - Medidas realizadas em frutos de <i>Caryocar brasiliense</i> (pequizeiro) com e sem espinhos no endocarpo. Estação Experimental Fazenda Água Limpa - UFU, Uberlândia – MG, Safra 2017-2018.....	20
Figura 5 - Curva de calibração do ácido gálico utilizada na determinação dos compostos fenólicos pelo método de Folin-Ciocalteu.	28
Figura 6 - Curva de calibração de glicose utilizada na determinação dos carboidratos totais pelo método de Fenol-sulfúrico.	31
Figura 7 - Escala utilizada para avaliar o grau de oxidação dos explantes foliares de <i>Caryocar brasiliense</i> (pequizeiro) submetidos a diferentes agentes antioxidantes no meio de cultura WPM.	37
Figura 8 - Dendrograma da análise das 17 matrizes de pequizeiro pelo método de ligação média entre grupo (UPGMA - Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) obtido a partir da distância euclidiana média padronizada para os onze caracteres morfológicos dos frutos.....	50

Figura 9 - Dispersão gráfica das 17 matrizes de *C. brasiliense* utilizando os dois primeiros componentes principais obtidos com onze caracteres morfológicos dos frutos de prequizeiro com e sem espinhos no endocarpo. Fazenda Estação Experimental Água Limpa – UFU, Uberlândia – MG, Safra 2017/2018..... 52

Figura 10 - Explante de folhas de pequizeiros sem espinhos no endocarpo, contaminadas por fungos e bactérias, cultivado em meio de cultura WPM. 65

Figura 11 - Calos obtidos a partir de explantes foliares de pequizeiros submetidos a diferentes reguladores de crescimento em meio de cultura WPM. 69

Figura 12 – Organogênese de explantes foliares de pequizeiro submetidos as diferentes concentrações de AIB e KIN para a regeneração de raízes. 70

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Taxonomia da espécie <i>Caryocar brasiliense</i>	4
Tabela 2 - Principais efeitos farmacológicos de extratos brutos, frações e metabólitos isolados a partir de diferentes órgãos de <i>C. brasiliense</i> que produz frutos com endocarro espinhoso	12
Tabela 3 - Tratamentos utilizados para o controle da oxidação de explantes foliares de <i>Caryocar brasiliense</i> (pequizeiro) para o cultivo <i>in vitro</i>	36
Tabela 4 - Combinações e concentrações de reguladores de crescimento utilizados na instalação dos 5 experimentos (Exp.) de regeneração <i>in vitro</i> de explantes foliares de pequizeiro	38
Tabela 5 - Características físicas de frutos com e sem espinhos no endocarro. Fazenda Estação Experimental Água Limpa – UFU, Uberlândia – MG, Safra 2017/2018	40
Tabela 6 - Resumo da análise de variância hierárquica para caracteres de frutos de pequizeiros com e sem espinhos no endocarro. Fazenda Estação Experimental Água Limpa – UFU, Uberlândia – MG, Safra 2017/2018.	42
Tabela 7 - Média das diferentes matrizes de pequizeiros produtoras de frutos com e sem espinhos no endocarro de acordo com os caracteres dos frutos.....	44
Tabela 8 - Herdabilidade (H^2) para caracteres de frutos com e sem espinhos no endocarro. Fazenda Estação Experimental Água Limpa – UFU, Uberlândia – MG, Safra 2017/2018.....	45
Tabela 9 - Matriz de dissimilaridade genética com base na distância euclidiana das 17 matrizes de <i>Caryocar brasiliense</i> (pequizeiro) com e sem espinhos no	

endocarpo. Fazenda Estação Experimental Água Limpa – UFU, Uberlândia – MG, Safra 2017/2018..... 48

Tabela 10 - Agrupamento de Tocher obtido a partir da distância euclidiana média padronizada em 17 matrizes pequizeiro para os 11 caracteres dos frutos. Fazenda Estação Experimental Água Limpa – UFU, Uberlândia – MG, Safra 2017/2018.. 49

Tabela 11 - Estimativa dos autovalores associados aos componentes principais e sua variância percentual e acumulada dos 11 caracteres morfológicos em *C. brasiliense*. Fazenda Estação Experimental Água Limpa – UFU, Uberlândia – MG, Safra 2017/2018..... 51

Tabela 12 - Contribuição relativa de caracteres fenotípicos de frutos para divergência genética em 17 matrizes de *C. brasiliense*, pelo método Singh (1981) 53

Tabela 13 - Correlações genética (abaixo da diagonal) e fenotípica (acima da diagonal) entre os caracteres morfológicos de pequis com e sem espinhos no endocarpo. Fazenda Estação Experimental Água Limpa – UFU, Uberlândia – MG, Safra 2017/2018..... 55

Tabela 14 - Análises físico-químicas de casca, polpa e amêndoas de quei com e sem espinhos no endocarpo, em estádio de maturação completa. Estação Experimental Fazenda Água Limpa - UFU, Uberlândia – MG, Safra 2017-2018 . 57

Tabela 15 - Composição nutricional de casca, polpa e amêndoas de frutos de pequizeiro (*C. brasiliense*) com e sem espinhos no endocarpo,em estádio de maturação completa, obtidos em base úmida. Estação Experimental Fazenda Água Limpa - UFU, Uberlândia – MG, Safra 2017/2018..... 59

Tabela 16 - Concentração dos pigmentos encontrados em frutos de quei com e sem espinhos no endocarpo no estádio de maturação completa. Estação Experimental Fazenda Água Limpa - UFU, Uberlândia – MG, Safra 2017/2018 . 63

Tabela 17 - Resumo da análise de variância para contaminação de explantes foliares de pequizeiro aos 15 dias de cultivo em meio de cultura WPM.....	66
Tabela 18 - Porcentagem de contaminação de explantes foliares de pequizeiros para o cultivo <i>in vitro</i>	66
Tabela 19 - Resumo da análise de variância para os dados de oxidação de explantes foliares de pequizeiros submetidos a diferentes tratamentos para o cultivo <i>in vitro</i>	67
Tabela 20 - Porcentagem de oxidação dos explantes foliares de pequizeiros para o cultivo <i>in vitro</i>	68
Tabela 21 - Resumo da análise de variância para indução de calos e raízes em explantes foliares de pequizeiro produtores de frutos sem espinhos no endocarpo, submetidos a diferentes tratamentos com reguladores de crescimento.....	71
Tabela 22 – Porcentagem de indução de calos e média de raízes por tratamento, induzidos em explantes foliares de pequizeiro	72

RESUMO

O pequi apresenta considerável variabilidade em suas características morfológicas, físicas e químicas, contudo, são escassos os dados na literatura para pequis sem espinhos no endocarpo. Objetivou-se avaliar a diversidade genética de uma população de pequizeiros que produzem frutos com e sem espinhos no endocarpo por meio de caracteres morfológicos de frutos, quantificar a composição nutricional de pequis e estudar os processos de regeneração *in vitro* da espécie. Foram estudadas 17 matrizes, sendo 8 produtoras de frutos com espinhos e 9 produtoras de frutos sem espinhos, cultivadas na Estação Experimental Fazenda Água Limpa, da Universidade Federal de Uberlândia. Inicialmente determinou-se a massa, altura, comprimento e largura do fruto; massa, altura, comprimento, diâmetro e rendimento dos pirêniros; massa e espessura da casca, e rendimento de polpa. A casca, polpa e amêndoia tiveram sua composição centesimal, pigmentos e propriedades físico-químicas avaliadas. Para os experimentos de regeneração *in vitro* foram realizados ensaios de desinfecção, controle de oxidação, e a regeneração de explantes foliares por meio da utilização de diferentes concentrações de reguladores de crescimento. Verificou-se que a partir de caracteres de frutos foi possível avaliar a diversidade genética entre as matrizes. Os métodos de agrupamentos utilizados mostraram-se eficientes na caracterização de grupos distintos, classificando em três grupos pelo método de Tocher, cinco grupos pelo método UPGMA e oito grupos pelo método de Componentes Principais. Pela análise dos métodos de agrupamentos evidenciou-se que as matrizes B29 e D8 constituíram grupos individuais, revelando a potencialidade destas matrizes para trabalhos futuros de melhoramento genético. A polpa de pequi é rica em lipídios, carotenoides e carboidratos, possui valor energético de 19,05% e 28,37% para frutos com e sem espinhos, respectivamente. Entre os pigmentos, o β-caroteno foi determinado em maiores quantidades nos frutos com espinhos no endocarpo. Verificou-se diferenças significativas (Teste t, $p \leq 0,05$) entre os grupos de pequis com base nos caracteres morfológicos e na composição nutricional. Observou-se a viabilidade de regeneração *in vitro* dos explantes foliares de pequizeiro para a formação de calos e raízes quando submetidos a diferentes concentrações de auxinas e citocininas em meio de cultura WPM.

Palavras chave: Biometria, Caryocaraceae, Cerrado, Composição nutricional, Diversidade genética.

ABSTRACT

The pequi presents considerable variability in morphological, physical and chemical characteristics, however, there is scarce data in the literature for species without spines in the endocarp. The aim of this study was to evaluate the genetic diversity of a population of pequi trees that produce fruits with and without spines in the endocarp by analysis of morphological characters, to quantify the nutritional composition of pequis and to study the processes of *in vitro* regeneration of the species. 17 matrices were studied, 8 of which produce fruit with spines and 9 fruit producers without thorns, cultivated at Fazenda Água Limpa Experimental Station, Federal University of Uberlândia. Initially the weight, height, length and width of the fruit were determined; weight, height, length, diameter and yield of the pyrenes; weight and peel thickness, and yield of pulp. The peel, pulp and almond had their composition centesimal, pigments and physical-chemical properties evaluated. For *in vitro* regeneration experiments, disinfection, oxidation control and regeneration of leaf explants were carried out using different concentrations of growth regulators. It was verified that from fruit characters it was possible to evaluate the genetic diversity between the matrices. The grouping methods used were efficient in the characterization of distinct groups, classifying in three groups by the Tocher method, five groups by the UPGMA method and eight groups by the Principal Components method. Analysis of the clustering methods showed that the matrices B29 and D8 constituted individual groups, revealing the potential of these matrices for future genetic breeding program. The pequi pulp is high in lipids, carotenoids and carbohydrates, with energy value of 19.05% and 28.37% for fruits with and without spines, respectively. Among the pigments, β -carotene was determined high quantities in fruits with spines in the endocarp. Significant differences (t-test, $p \leq 0.05$) among the groups of pequis based on morphological characters and nutritional composition. Was observed the viability was observed *in vitro* regeneration of the leaf explants for the formation of calluses and roots when submitted to different concentrations of auxins and cytokinins in WPM culture medium.

key words: Biometric, Caryocaraceae, Cerrado, Genetic diversity, Nutritional composition

1 Introdução geral

1.1 Cerrado, ocorrência e importância do pequi

O Cerrado é uma área biogeográfica brasileira considerado um dos *hotspots* mundiais para a conservação e preservação da biodiversidade (BRASIL, 2018a). Sendo o segundo maior bioma do Brasil, com extensão territorial de aproximadamente 21% do território nacional. Possui clima estacional, com período chuvoso (outubro a março) seguido por período seco (abril a setembro) com fauna e flora diversa (KLINK; MACHADO, 2005). O Cerrado é um complexo de formações vegetais, que inclui campos naturais, savanas, veredas, florestas, rios, córregos e cachoeiras. Devido a sua geografia de planaltos na porção central do Brasil, o bioma é uma das mais importantes fontes de água para o país (WORLD WIDE FUND, 2018). A complexa diversidade fitofisionômica torna o Cerrado um ambiente propício para estudos ambientais e de variações espaciais e temporais em populações de plantas.

O processo de fragmentação em decorrência das atividades ligadas ao crescimento populacional e ao desenvolvimento do agronegócio põe em risco a manutenção e o equilíbrio ambiental do Cerrado (FERNANDES; PESSÔA, 2011; RIBEIRO; RODRIGUES, 2006; SANTOS, 2010). As implicações diretas da fragmentação sobre a biodiversidade são a redução indiscriminada das áreas, extinção e comprometimento evolutivo em função da perda de variabilidade genética podendo levar a redução da adaptação das espécies às mudanças ambientais (JÚNIOR et al., 2004; BRASIL, 2018a).

Além da importância ambiental o Cerrado tem grande relevância social. Muitas populações sobrevivem de seus recursos naturais, como indígenas, geraizeiros, ribeirinhos, babaçueiras, vazanteiros e comunidades quilombolas que, juntas, fazem parte do patrimônio histórico e cultural brasileiro, e possuem um conhecimento tradicional de sua biodiversidade (BRASIL, 2018a). Mais de 10 tipos de frutos são regularmente consumidos pela população local e comercializados, como o pequi (*Caryocar brasiliense*), buriti (*Mauritia flexuosa*), mangaba (*Hancornia speciosa*), cagaita (*Eugenia dysenterica*), bacupari (*Salacia crassifolia*), cajuzinho do cerrado (*Anacardium humile*), araticum (*Annona crassifolia*) e as sementes do

barueiro (*Dipteryx alata*) (BRASIL, 2018b). Inúmeras espécies têm uso medicinal, outras podem ser usadas na recuperação de solos degradados, como barreiras contra o vento, proteção contra a erosão, ou para criar habitat de predadores naturais de pragas, como por exemplo o pequizeiro.

Uma das espécies que têm se destacado é o pequizeiro, *Caryocar brasiliense* Cambessedes (Malpighiales: Caryocaraceae). A espécie é uma frutífera de grande importância, principalmente para o extrativismo, posto que seus frutos são destinados à alimentação, além de contribuir como uma importante fonte de renda para as populações carentes das regiões de ocorrência do pequizeiro (ARAUJO, 1995; KERR; SILVA; TCHUCARRAMAÉ, 2007). O extenso período de oferta dos frutos do pequizeiro, aliado à heterogeneidade das regiões produtoras levam a crer na existência de diferenças entre os seus atributos físicos (VERA et al., 2005).

Considerada como 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 pequizeiro oferece diversas aplicabilidades como 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 pequizeiro (JÚNIOR et al., 2004). O extrativismo intensivo pode gerar perdas de material genético e de genes de interesse agronômico 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 pequizeiro é a dormência de suas sementes. A germinação das sementes do pequizeiro é lenta, com índices de germinação em torno de 30% - 85% (ARAÚJO, 1994; HERINGER, 1970; PEREIRA et al., 2000). Neste sentido, há a necessidade de estabelecer

técnicas de cultivo e micropropagação *in vitro* de forma a garantir o fornecimento de mudas.

Saber como os pequizeiros respondem à variação ambiental, por meio de estudos da variabilidade fenotípica, é útil na compreensão destas populações e em futuros programas de manejo, conservação e melhoramento da espécie. Com a existência de plantas de pequizeiros sem espinhos no endocarpo, sobre as quais ainda não existem trabalhos sobre a caracterização de seus frutos, este conhecimento torna-se essencial na busca de características individuais que permitirão a seleção de genótipos superiores. Assim, por meio de estudos sobre características básicas, como a biometria de frutos, é possível caracterizar várias expressões do genótipo da espécie, possibilitadas pelas adaptações dos indivíduos às condições ambientais. Neste contexto, além da análise de diversidade genética a partir de caracteres de frutos de pequizeiros com e sem espinhos no endocarpo, a avaliação da qualidade nutricional e metodologias de cultura de tecidos são temas desta pesquisa.

1.2 Classificação botânica do pequizeiro

As espécies popularmente conhecidas como pequizeiro pertencem a família Caryocaraceae, da ordem Theales (CRONQUIST, 1989), apresenta 26 espécies distribuídas em dois gêneros: *Anthodiscus* G. F. W. Meyer (10 espécies) e *Caryocar* L. (16 espécies) (PRANCE, 1990). No Brasil ocorrem 10 espécies do gênero *Caryocar* e três do gênero *Anthodiscus* (SOUZA, 2005). A de maior prevalência no território brasileiro é a *C. brasiliense*, porém *C. villosum*, *C. coriaceum*, *C. barbinerve*, *C. crenatum* e *C. edulis* são encontradas no país (BORGES, 2011). Ocorre em todo o Cerrado, com ampla distribuição na Bahia, Ceará, Pará, Maranhão, Piauí, Tocantins, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, e São Paulo (SILVA JÚNIOR et al., 2005, LORENZI et al., 2006).

As plantas que caracterizam a família Caryocaraceae são dicotiledônias (Magnoliopsidas) e em sua maioria de porte médio a grande, com folhas estipuladas, trifolioladas (opostas ou alternadas) e flores com simetria radial (actinomorfas) apresentando cálice com cinco sépalas e corola com cinco pétalas.

O androceu apresenta muitos estames longos e unidos na base e gineceu com 3 a 20 lóculos (DICKISON, 1990).

O pequizeiro é uma planta perene, que pode ser classificada como frutífera ou oleaginosa (OLIVEIRA et al., 2008). Sua florescência ocorre durante os meses de agosto a novembro, com a maturação dos frutos no início de novembro, sendo encontrados até fevereiro (ALMEIDA et al., 1998).

Estudos realizados com *C. brasiliense* e *C. villosum*, indicam que as espécies desse gênero são alógamas (GRIBEL; HAY, 1993; MARTINS; GRIBEL, 2007) e pequenos morcegos nectarívoros (*Glossophaga socicina* e *Anoura geoffroyi*) são os principais polinizadores. A protandria (órgãos sexuais masculinos amadurecem antes dos femininos) e a hercogamia (separação espacial de anteras e estigmas) funcionam como principais mecanismos contra a autogamia (GRIBEL; HAY, 1993), porém, a autopolinização pode ocorrer em pequena proporção (GRIBEL; HAY, 1993; MARTINS; GRIBEL, 2007).

A espécie *C. brasiliense* se divide em duas subespécies: *C. brasiliense* subsp. *Brasiliense* de porte arbóreo, com ampla distribuição e *C. brasiliense* subsp. *Intermedium* (pequi-anão), de porte arbustivo, com ocorrência restrita a algumas partes do Cerrado (BARBOSA et al., 2001). Na Tabela 1 encontra-se o enquadramento taxonômico da espécie *C. brasiliense*:

Tabela 1 – Taxonomia da espécie *Caryocar brasiliense*

Taxonomia	Segundo ENGLER (1964)	Segundo (1988)	CRONQUIST
Divisão	Angiospermae (ou Anthophyta)	Magnoliophyta	
Classe	Dicotyledonae	Magnoliopsidae	
Subclasse	Archichlamydeae	Dilleniidae	
Ordem	Guttiferales	Theales	
Família	Caryocaraceae	Caryocaraceae	
Gênero	<i>Caryocar</i>	<i>Caryocar</i>	
Espécie	<i>Caryocar brasiliense</i> Camb.	<i>Caryocar brasiliense</i> Camb.	

1.3 Caracterização morfológica de plantas e frutos de pequizeiro

Os pequizeiros da espécie *C. brasiliense* caracterizam-se por serem árvores de grande porte podendo alcançar mais de 10 metros de altura, possui tronco resistente com diâmetro de até 2 metros, revestido por uma casca escura e gretada (LOPES et al., 2006). A copa é larga e os galhos estendem-se pela lateral inseridos de forma oposta, são longos, grossos e pouco inclinados com ramificação basal (BORGES, 2011).

As folhas do pequizeiro são opostas, longas, pecioladas, trifolioladas e apresentam margens serradas, crenadas, dentadas ou raramente inteiras (PRANCE, 1990). Em relação à inflorescência, elas são caracterizadas por serem paniculadas e inseridas nos racemos terminais (JOLY, 1985). Os pedicelos são articulados próximo à flor que são hermafroditas, cíclicas, grandes e actinomorfas (PRANCE, 1990, JOLY, 1985). O cálice é caracterizado por ser penta-lobado, imbricado e a flor apresenta cinco pétalas, sendo soldadas na base, que caem após a antese juntamente com os estames. As anteras são biloculares, oblongas, longitudinalmente deiscentes (JOLY, 1985).

As flores do pequizeiro têm coloração amarela ou branca, grandes e vistosas, com inflorescência terminais paniculadas, hermafroditas, cíclicas e actinomorfas, com 5 a 6 sépalas e várias pétalas, soldadas na base ou livres, e nectário extrafloral no cálice (OLIVEIRA; PIE, 1998). O androceu é formado por inúmeros estames vermelhos soldados na base ou formando grupos com filetes glandulares e ovário contendo entre 4 a 20 carpelos, e diversos lóculos cada qual com apenas um óvulo (DICKISON, 1990).

O fruto, conhecido como pequi, apresenta tamanho heterogêneo. É constituído pelo exocarpo ou pericarpo (casca externa, verde-acinzentada ou marrom-esverdeada); pelo mesocarpo externo (polpa branca) e pelo mesocarpo interno, oleoso e de coloração variando do amarelo claro ao alaranjado, devido a presença de carotenoides. Sob o mesocarpo interno localiza-se o endocarpo, duro e lenhoso, dentro do qual se aloja uma amêndoia branca, oleaginosa e comestível. O fruto apresenta de um a quatro putâmens (pirênios). O putâmen é a unidade de dispersão que constitui-se pela semente envolta pelo endocarpo (SILVA et al.,

2009) e pelo mesocarpo interno que recobre o endocarpo, constituindo a parte comestível (ALMEIDA et al., 1998; JÚNIOR et al., 2004).

Os espinhos podem estar presentes no endocarpo ou ausentes (KERR; SILVA; TCHUCARRAMAE, 2007). Quando presentes são finos, pretos ou avermelhados, estão dispostos em grupo no endocarpo, apontados em direção à polpa (JÚNIOR et al., 2004, VILAS BOAS, 2004, VALENTE, 2012). São delgados, rígidos com 2 a 5 mm de comprimento e servem como uma proteção para a semente (amêndoas) (JÚNIOR et al., 2004).

As sementes são reniformes ou sub-reniformes, oleaginosas de cor branca (ALMEIDA; SILVA, 1994; ALMEIDA et al., 1998). O embrião expõe uma radícula reta a arqueada. A germinação da semente ocorre de forma criptocotilar, com os primórdios foliares opostos (VALENTE, 2012). A espécie tem um número cromossômico de $2n = 46$ (EHRENDORFER; MORAWETZ; DAWE, 1984; PRANCE, 1990).

Uma única matriz de pequiáceo que não produz espinhos no endocarpo foi relatada por KERR et al. (2007) em São José do Xingu – MT, seus frutos foram levados para Uberlândia – MG para produção de mudas e, atualmente, as matrizes são cultivadas na Estação Experimental Fazenda Água Limpa da Universidade Federal de Uberlândia, localizada no município de Uberlândia – MG (Figura 1).

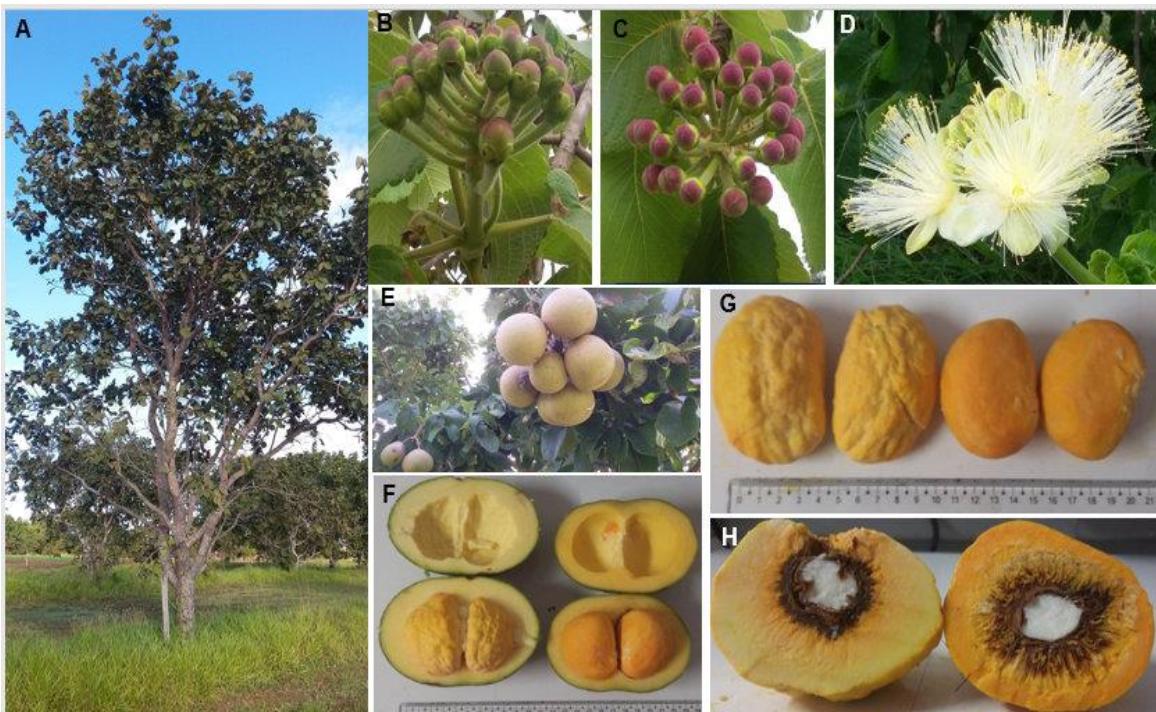


Figura 1 – Morfologia da árvore, inflorescência, flor e fruto do pequizeiro cultivados na Estação Experimental Fazenda Água Limpa - UFU, Uberlândia – MG, 2018. A) pequizeiro B) vista lateral dos botões florais C) vista superior dos botões florais D) flor do pequizeiro E) pequis F) disposição dos pirênios no fruto, à esquerda fruto sem espinhos e à direita fruto com endocarpo espinhoso G) detalhes dos pirênios, à esquerda fruto sem espinhos (cor amarelado) e à direita fruto com endocarpo espinhoso (coloração alaranjada) H) detalhes do endocarpo com (direita) e sem espinhos (esquerda). Fonte: Elaborado pelo autor.

1.4 Constituintes químicos, importância nutricional e farmacológica

Os pequizeiros são fontes importantes de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio e magnésio, principalmente, em suas folhas (MEDEIROS; HARIDASAN, 1985). Nas amêndoas há grandes quantidades de manganês, zinco, cobre, magnésio, fósforo, sódio, ferro e cálcio, estando estes três últimos também em grandes quantidades na polpa (SILVA et al., 2009, ALMEIDA et al., 1998).

Substâncias como a friedelina, friedelanol, ácido oleanólico, β -sitosterol, estigmasterol, ácido elágico, β -amirina e ácido oleanólico estão presentes nas folhas (OLIVEIRA; GILBERT; MORS, 1968). Heterosídeos antociânicos,

saponinas, taninos, flavonoides, esteroides, triterpenos e glicosídeos redutores identificados nas folhas (MAGALHÃES et al., 1988) e botões florais (MARQUES, 2001). O pequi apresenta valores considerados intermediários de carboidratos (19,60%) e acidez titulável de 0,9 a 2,0 (VILAS BOAS, 2004).

O teor proteico e lipídico do pequi se destaca em relação a outras espécies nativas do Cerrado como araticum, baru, buriti, cagaita, jatobá e mangaba (ALMEIDA, 1998) apresentando 2,64% de proteína, valor inferior apenas ao jatobá (6%) e baru (3,87%). O conteúdo de lipídios do pequi é maior (20%) do que das demais espécies, que variam de 5% a menos de 1% (ALMEIDA, 1998). A quantidade de lipídios presente na polpa e na semente de seus frutos (ARAUJO, 1995) fornece elevados valores energéticos. As calorias obtidas pela polpa e óleo de pequi correspondem a 18% das necessidades calóricas de um adulto com uma dieta de 2.000 Kcal (LIMA, 2008).

A polpa e a amêndoia apresentam, predominantemente, ácidos graxos insaturados. O óleo do fruto contém ácido mirístico, ácido palmítico, esteárico, oleico e linoleico (FERREIRA; MOTIDOME, 1962), vitamina A (CAMPOS, 1944), e carotenoides (PECHNIK; GUIMARÃES, 1957, GUEDES et al., 2017). A polpa possui de 36% a 66% de óleo (FARIA-MACHADO et al., 2015) com alto teor de carotenoides (AQUINO et al., 2009) e minerais (SILVA et al., 2009).

O óleo da polpa do pequi contém cerca de 54% a 60% de ácido oleico (MIRANDA-VILELA et al., 2009) que tem importantes finalidades como uso alimentar, cosmético e oleoquímico devido a sua alta estabilidade oxidativa (GUEDES et al., 2017; LIMA et al., 2007; SILVA; FONSECA, 2016). No óleo há cerca de 35% a 42% de ácido palmítico (MIRANDA-VILELA et al., 2009), que o torna adequado para aplicações de margarina e gordura (GUEDES et al., 2017). Em menores quantidades ácido palmitoleico (0,67%), linoleico (1,36%), linolênico (0,51%), esteárico (1,28%) e araquidônico (0,12%) (MIRANDA-VILELA et al., 2009). O óleo da polpa tem um alto teor de carotenoides com concentrações de até 246 mg g⁻¹ e triacilgliceróis (AQUINO et al., 2009).

Os principais triacilgliceróis presentes no óleo de polpa são o 3-dipalmitoil-2-oleil-glicerol, 1,2-dioleil-3-palmitoilglicerol e palmitoil-oleil-estearoilglicerol (FACIOLI; GONÇALVES, 1998; GUEDES et al., 2017). Entre as principais funções dos ácidos graxos estão a conformação das membranas celulares, sendo também

precursores de substâncias como as prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos. No entanto, o consumo de pequi tanto na forma de polpa quanto na forma de óleo, em altas doses não é indicado, pois estudos demonstraram capacidade de elevar o colesterol sanguíneo e desenvolvimento de doenças (RIGUEIRA, 2003).

Os compostos fenólicos compõem a grande classe dos fitoquímicos alimentares, que possuem diversas funções, podendo atuar como antioxidantes, bloqueadores da ação de enzimas específicas que causam inflamação, inibirem a aglomeração plaquetária e a ativação de carcinógenos (MANACH et al., 2004; LIU, 2006). Estudos mostraram que *C. brasiliense* possui alta concentração de fenóis, como flavonoide, quercetina e quercetina 3-O-arabinose, além de componentes ácidos, como ácido gálico e ácido quínico no fruto e na casca, principalmente (K HOURI et al., 2007; ROESLER et al., 2007; MIRANDA-VILELA et al., 2009).

LIMA et al. (2007) relataram que a polpa do pequi possui valores de fenólicos totais superiores aos encontrados na maioria das polpas de frutos consumidos pela população brasileira. No entanto, foi verificado por estes autores que a amêndoia apresenta teor reduzido de compostos fenólicos, demonstrando que a polpa do pequi é um alimento com elevado potencial antioxidante.

O ácido ascórbico (vitamina C) participa dos processos celulares de oxirredução e na biossíntese das catecolaminas. Uma enorme variação nos teores de vitamina C é observada entre os frutos do Cerrado e o pequi se destaca entre as espécies nativas por apresentar 78,72 mg 100g⁻¹ de vitamina C, valor superior ao de frutos tradicionalmente cultivados e consumidos pela população brasileira, como a laranja (40,9 mg 100g⁻¹) e o limão (26,4 mg 100g⁻¹) (MANELAAZULAY, 2003; RIGUEIRA, 2003).

Com relação à composição carotenoídica do fruto, foram identificados e quantificados os principais carotenoides presentes no mesocarpo interno, antes e depois do cozimento convencional. Os frutos apresentaram, antes do cozimento, β-caroteno (9,35 mg g⁻¹), z-caroteno (17,79 mg g⁻¹), criptoflavina (12,14 mg g⁻¹), β-criptoxantina (93,67 mg g⁻¹), anteraxantina (79,14 mg g⁻¹), zeaxantina (4,32 mg g⁻¹) e mutatoxantina (14,68 mg g⁻¹). Após o cozimento, a presença dos carotenoides β-caroteno (12,17 mg g⁻¹), z-caroteno (8,17 mg g⁻¹), criptoflavina (12,65 mg g⁻¹), β-criptoxantina (7,99 mg g⁻¹), anteraxantina (31,28 mg g⁻¹), zeaxantina (79,73 mg g⁻¹) e mutatoxantina (2,07 mg g⁻¹) (RAMOS et al., 2001). Os α e β carotenos juntos

representam 10% dos pigmentos carotenóides totais na polpa do pequi (DELGADO-VARGAS et al., 2000; GOMES et al., 2005; LIMA et al., 2007).

Nos aromas voláteis do pequi há elevados terrores de hexanoato de etila (52,9%) seguido de pequenas quantidades de octanoato de etila (4,6%), álcool tetrahidrofurílico (4,3%), butanoato de etila (4,1%), palmitato de butila (3,7%), estearato de isobutila (2,6%) e ácido 3-metilvalérico (2,6%) (MAIA; ANDRADE; DA SILVA, 2008). Mais de 95% dos constituintes dos óleos essenciais nas polpas foram identificados nos estudos de Geócz et al. (2013). Entre esses componentes químicos, os hidrocarbonetos, ácidos graxos e terpenoides foram identificados e, majoritariamente, hexanoato de etila, octanoato de etila, β -ocimeno de monoterpeno acíclico e ácido hexanoico, além de vários outros componentes em menor quantidade (GEÓCZE et al., 2013).

A polpa do pequi apresenta grande quantidade de fibra (LIMA et al., 2007). As fibras alimentares são um conjunto de substâncias derivadas de vegetais que são resistentes à digestão e absorção no intestino delgado humano. O teor de fibra bruta contida na polpa é considerado alto, aproximadamente 13%. O consumo regular de fibras na dieta está relacionado com a redução do risco de diversos quadros patológicos, inclusive na redução dos níveis de glicemia pós-prandial (LIMA et al., 2007). Além das fibras, a presença considerável de teores de pectina na polpa (BORGES, 2011) torna o fruto viável para o processamento.

A pectina tem como função conferir firmeza, retenção de sabor e aroma (GANCZ; ALEXANDER; CORREDIG, 2006), garantindo a estabilidade da polpa do pequi. Apresenta valor nutritivo, estimula a saliva e tem capacidade de aumentar o tempo necessário para o esvaziamento gástrico devido a seu caráter hidrofílico, levando um aumento da saciedade e, consequentemente, a menor ingestão alimentar (GANCZ, 2000; COPPINI et al., 2002).

O pequi é um alimento altamente nutritivo e de baixo custo (LIMA et al., 2007), apresenta ação tonificante, estimulador de apetite, fonte de vitaminas e vários outros nutrientes (RIGUEIRA, 2003). É muito utilizado em pratos típicos, principalmente cozidos com arroz ou em outros preparos como no feijão, ao leite, licores e extração da manteiga (ALMEIDA et al., 1998; ROESLER, 2007).

Nos últimos anos, pesquisas têm sido realizadas no campo de medicamentos e gêneros alimentícios para o estudo de antioxidantes,

principalmente aqueles de origem natural. Inúmeros fatores afetam a qualidade de vida da sociedade moderna, e o consumo diário de antioxidantes naturais podem proteger contra danos oxidativos causados por espécies reativas de oxigênio, incluindo danos ao DNA, reduzindo o risco de câncer, ateroscleroze e outras doenças degenerativas (MIRANDA-VILELA et al., 2008; ROESLER et al., 2008).

As características peculiares do pequi permitem que a espécie apresente não só importância nutricional, mas também ação farmacológica. Metabólitos secundários são encontrados em diversas partes da planta como nas folhas, flores, cascas, frutos, entre outras. Esses constituintes químicos produzidos pelo metabolismo secundário vegetal, como, por exemplo, os compostos terpenos, alcaloides, glicosídeos, apresentam atividades biológicas cujo mecanismo de ação deve ser objeto investigação (Tabela 2).

Tabela 2 - Principais efeitos farmacológicos de extratos brutos, frações e metabólitos isolados a partir de diferentes órgãos de *C. brasiliense* que produz frutos com endocarpo espinhoso

Metabólito / Extrato	Efeito farmacológico	Referência
Extrato etanoico da casca	Diminuição da cardiotoxicidade crônica induzida pela doxorrubicina	Moura et al., 2013
Quercetina (Flavonoide)	Antioxidante	Roesler et al., 2007
Extrato aquoso da polpa	Antimutagênico e antioxidante	Khouri et al., 2007
Taninos	Cicatrizante, antifúngico	Batista, 2010
Cumarinas	Antimicrobiano, antiviral, anti-inflamatório, antiespasmódico, antitumoral e antioxidante	Dias; Moraes, 2011, Magid et al., 2006
Extratos	Antifúngica sobre <i>Cryptococcus neoformans</i> var. <i>neoformans</i>	Passos et al., 2001
Extratos metanoicos e etanoicos de folhas, botões florais, frutos	Antifúngico sobre <i>Botrytis cinerea</i> , <i>Colletotrichum truncatum</i> e <i>Fusarium oxysporum</i>	Marques et al., 2002
Extrato etanoico de folhas e das cascas	Moluscicida contra <i>Biomphalaria glabrata</i>	Bezerra et al., 2002
Extrato bruto etanoico da casca (400 ppm)	Anti-tripanossomal em camundongos	Herzog-Soares et al., 2002
Taninos condensados presentes na casca do fruto	Nematicida	Iqbal et al., 2007
Extrato das folhas	Antimicrobiano contra cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Staphylococcus aureus</i>	Paula-júnior, 2004
Extrato hidroetanólico das folhas, nas concentrações de 2,5 e 5,0 mg/ml	Inibição da proliferação de formas promastigotas de <i>Leishmania amazonensis</i> <i>in vitro</i>	Paula-junior, 2006
Extrato etanoico da casca	Ação neuroprotetora	Miguel, 2011
Casca do fruto	Atividade citotóxica	Braga, 2016
Casca do fruto	Atividade alelopática	Oliva, 2006
Óleo	Antioxidante	Aguilar et al., 2012
Óleo da semente	Antifúngico	Passos, 2001
Extrato hidroalcóolico do farelo da casca de pequi	Toxicidade aguda	Almeida, 2009
Extrato etanólico da casca	Citotoxicidade e fototoxicidade	Roesler, et al., 2008

Fonte: Elaborado pelo autor

1.5 Propagação e cultivo *in vitro* de pequizeiro

A produção de mudas do pequizeiro ocorre através do uso de sementes, visto que a propagação de forma assexuada ainda não foi aderida (OLIVEIRA et al., 2008). 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.

A germinação das sementes do pequizeiro 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 semeadura (HERINGER, 1970; SÁ et al., 1994), sendo que esta variação se deve ao método de quebra de dormência empregado (PEREIRA 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).

Uma alternativa às técnicas convencionais de propagação vegetativa do pequizeiro é o cultivo *in vitro*. Os primeiros trabalhos relacionados com o cultivo *in vitro* do pequizeiro 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 pequizeiro, Damascena et al. (2014) avaliaram a influência do Ácido Naftalenoacético (ANA) e do 6-Benzilaminopurina (BAP) na indução de brotações em pequizeiro. Estes autores obtiveram resultados promissores na obtenção de brotos utilizando 0,5 mg L⁻¹ de BAP e 3,0 mg L⁻¹ de BAP (média de 7,15 brotações por explante). Pesquisa desenvolvida por Brandão et al. (2014) visando o alongamento de explantes de pequizeiro *in vitro*, mostrou que o desenvolvimento foi possível devido utilização de carvão ativado no meio de cultura.

1.6 Diversidade genética

A análise biométrica de frutos permite que o pesquisador obtenha informações úteis para a conservação e exploração de recursos naturais de forma racional (GUSMÃO; JÚNIOR; VIEIRA, 2006). A biometria contribui com informações importantes para detecção da variabilidade genética dentro e entre populações de uma mesma espécie e permite relacionar a variabilidade genética com os fatores ambientais (CARVALHO; NAZARÉ; NASCIMENTO, 2003).

As diferenças encontradas entre e dentro de populações de uma mesma espécie são influenciadas por fatores ambientais e, quando uma espécie tem grande distribuição geográfica, essas diferenças ocorrem devido a adaptação ao clima destas regiões (RODRIGUES et al., 2006). Com o avanço de ações antrópicas há a necessidade de preservação e uso sustentável de diversas frutíferas, sendo que a utilização de dados biométricos possibilitam estimar a produtividade e rendimento de frutos (RIVAS; BARILANI, 2004), permitindo a seleção das matrizes mais produtivas e adaptadas a determinados ambientes.

As frutíferas do Cerrado apresentam considerável variação morfológica e genética. A ocorrência da variabilidade pode ser observada dentro de uma determinada população ou entre as populações de uma mesma espécie. Esta diversidade explica a relevância em estudar métodos de conservação e manejo sustentável de espécies nativas, em cada região de ocorrência (RIBEIRO; RODRIGUES, 2006). Quando se observa as frequências alélicas em *C. brasiliense*, ela comporta-se de forma variada entre e dentro de populações. No entanto, grande parte da variabilidade observada em pequiros encontra-se dentro das populações e não ocorre a fixação de alelos (JÚNIOR et al., 2004). Como consequência, a variabilidade elevada favorece a existência da seleção em favor dos heterozigotos levando a uma baixa endogamia nas populações (JÚNIOR et al., 2004).

As características morfológicas distintas são comuns em plantas nativas do cerrado mesmo entre frutos de uma mesma área, indicando que a região de ocorrência dos frutos é um fator importante na variabilidade dos caracteres avaliados (CORRÊA et al., 2000; SILVA; CHAVES; NAVES, 2001). A caracterização dos frutos em relação aos seus aspectos físicos permite a obtenção

de informações que possam ser utilizadas na determinação da variabilidade genética, parâmetros de qualidade, rendimento e, principalmente, em programas de melhoramento genético (OLIVEIRA et al., 2009).

Informações como massa, tamanho de frutos e sementes e, número de sementes por fruto, por exemplo, são características próprias de cada espécie, com alta influência do ambiente (ALVES et al., 2005). Devido à variabilidade de caracteres morfológicos nas espécies arbóreas, a análise de frutos por meio de caracteres físicos e químicos permitem diferenciar os indivíduos de uma população (MELO et al., 2001; CRUZ; CARVALHO, 2003) e espécies de um mesmo gênero (CRUZ; MARTINS; CARVALHO, 2001), além da classificação de grupos ecológicos (CASTELLANI, 2003), caracterização de germoplasma (ALVES et al., 2003) e diversas outras aplicações.

Graças a esta variação individual há a possibilidade de seleção de progênies visando a melhoria de alguma característica de interesse comercial (PAULA, 2007). As sementes, por serem órgãos reprodutivos, apresentam grande estabilidade em relação aos caracteres vegetativos, devido ao maior controle genético e pela pressão de seleção exercidos durante o processo evolutivo (ALVES et al., 2010). Os padrões de variação genética que ocorrem entre e dentro de população permitem a seleção, conservação e técnicas de manejo apropriadas, principalmente, em relação às populações de ocorrência natural (KAGEYAMA; GANDARA 1993).

Estudos da diversidade genética em populações naturais têm sido continuamente desenvolvidos na tentativa de mensurar o nível de informações herdáveis em indivíduos, espécies e populações. Além disso, o conhecimento da diversidade permite o estudo da extensão e distribuição da variação genética entre espécies e de investigações taxonômicas e evolutivas (MARTINS, 2008).

Diante do exposto, justifica-se que o estudo da diversidade e da estrutura genética em populações de pequizeiros é importante para entender como esta diversidade é distribuída e quais as características do ambiente ou da espécie influenciam na diversidade genética.

1.7 Objetivo geral

Avaliar a diversidade genética por meio de análises morfológicas e a composição nutricional de frutos de *Caryocar brasiliense* oriundos de uma população que apresenta frutos com e sem espinhos no endocarpo, e estudar como a espécie se comporta em processos de regeneração *in vitro*, para subsidiar estratégias de prospecção, preservação e utilização da variabilidade genética da espécie.

1.8 Objetivos específicos

- Avaliar a diversidade genética do pequizeiro, produtores de frutos com e sem espinhos no endocarpo, por meio de caracteres morfológicos de frutos
- Avaliar os parâmetros físico-químicos dos frutos do pequizeiro com e sem espinhos no endocarpo
- Analisar a composição nutricional dos frutos com e sem espinhos no endocarpo
- Quantificar a concentração de pigmentos presentes nos frutos com e sem espinhos no endocarpo
- Realizar estudos de regeneração *in vitro* a partir de explantes foliares juvenis de pequizeiro

2 Material e métodos

2.1 População, amostragem, armazenamento e local de experimentos

As análises foram realizadas em frutos de *Caryocar brasiliense* (pequizeiro), com e sem espinhos no endocarpo, cultivados na Estação Experimental Fazenda Água Limpa, pertencente à Universidade Federal de Uberlândia (UFU) no Município de Uberlândia-MG, na região do Triângulo Mineiro, com coordenadas geográficas de latitude 19° 05'09" S, longitude de 48° 21'04" W e altitude de aproximadamente

802m, em área de Cerrado sentido amplo. Os dados de precipitação e temperatura da estação experimental estão na Figura 2, os quais correspondem ao período de abril de 2017 a março de 2018.

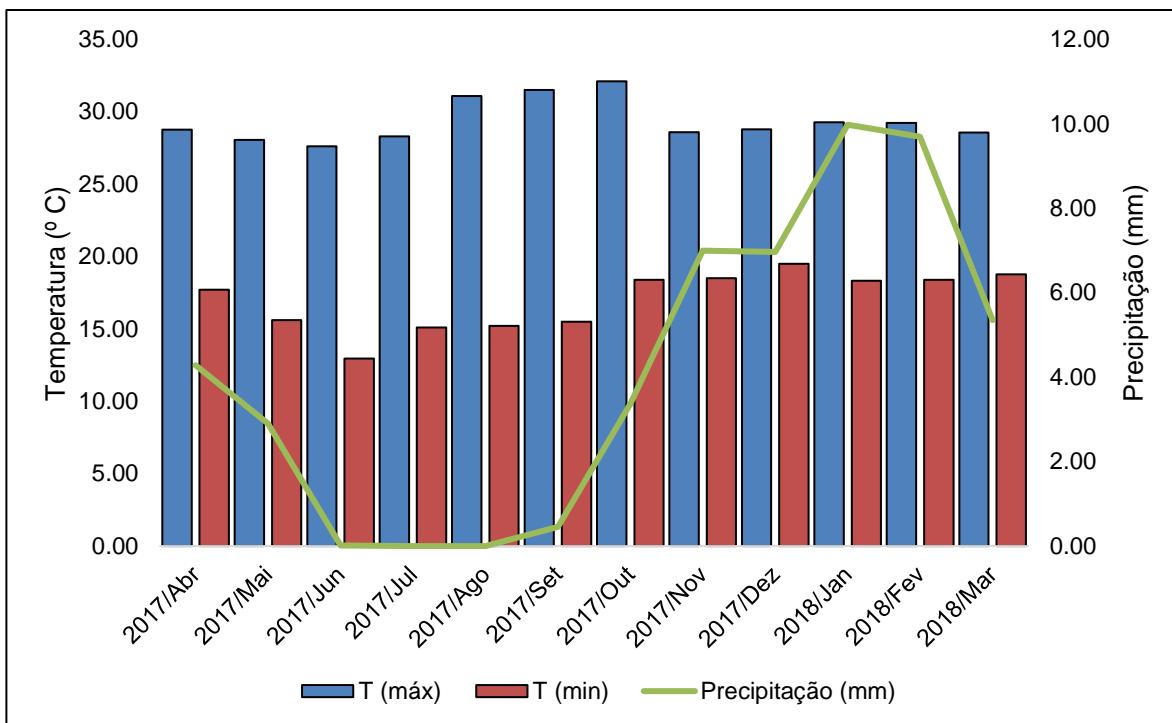


Figura 2 - Temperatura máxima, mínima e precipitação média na Estação Experimental Fazenda Água Limpa – UFU, Uberlândia-MG, abril de 2017 a março de 2018. Dados cedidos pelo Laboratório de Climatologia Ambiental da Universidade Federal de Uberlândia (CLIMA - UFU). Fonte: Elaborado pelo autor.

Na Figura 3 estão representados os períodos de emergência dos botões florais e florescimento das matrizes por mês, após a identificação de pelo menos um conjunto de botões e/ou uma flor completamente aberta nos períodos avaliados. A população iniciou o processo de florescimento em meados de agosto, com picos em setembro, terminando a fase de florescimento em outubro, em ambos os grupos.

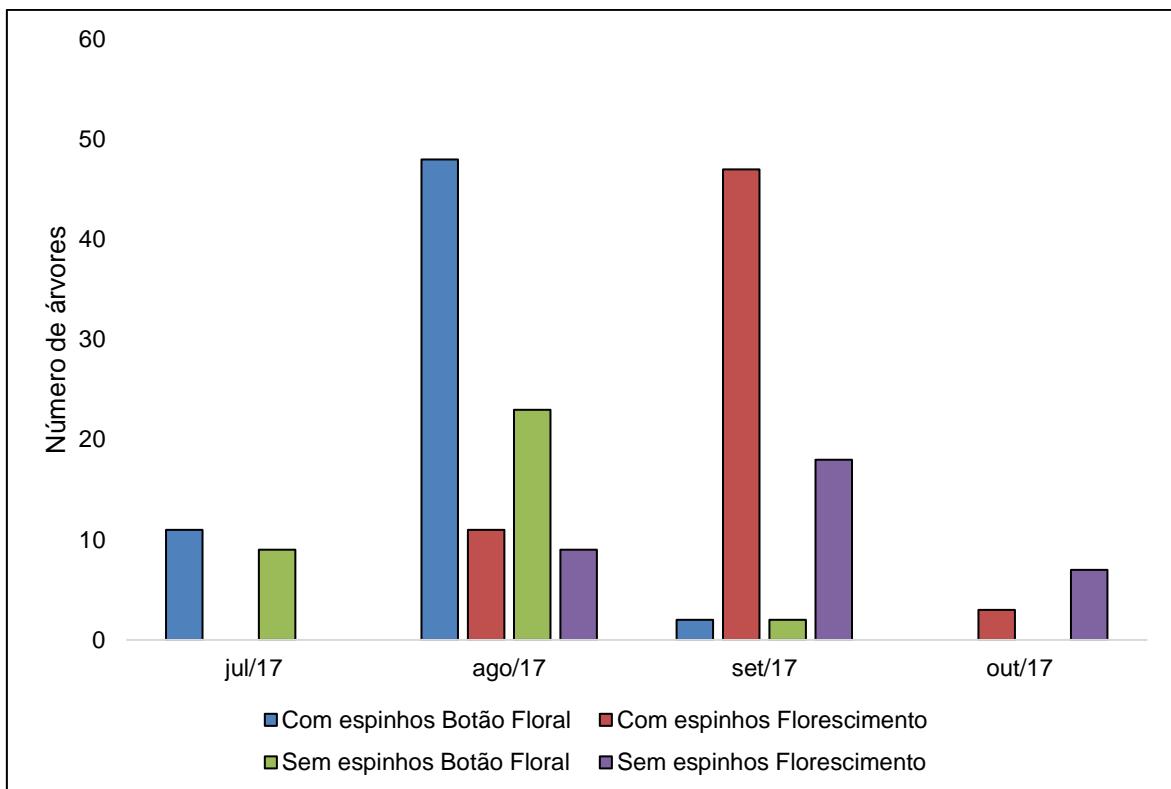


Figura 3 – Período reprodutivo inicial de pequizeiros (*Caryocar brasiliense*) produtores de frutos com e sem espinhos no endocarpo. Estação Experimental Fazenda Água Limpa - UFU, Uberlândia – MG, Safra 2017-2018.

Fonte: Elaborado pelo autor

Os frutos foram coletados em janeiro 2018, em estádio de maturação completa, após se desprenderem do pedúnculo. Após a coleta, foram armazenados em sacos plásticos devidamente identificados e transportados em caixas de madeira até o Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do Instituto Biotecnologia (IBTEC - UFU), onde foram lavados, secos e armazenados em condições de qualidade, no mesmo laboratório até o momento das análises.

As análises físico-químicas e biométricas foram realizadas no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, Laboratório de Genética e Melhoramento de Plantas, e Laboratório de Genética, do Instituto de Biotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia campus Umuarama, Uberlândia – MG. As análises de composição nutricional foram realizadas no Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular, do Instituto de Biotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia campus Patos de Minas - MG.

2.2 Biometria de pequi com e sem espinhos no endocarpo

Foram colhidos aleatoriamente 20 frutos completamente maduros de cada matriz, previamente identificada. As matrizes para coleta compreenderam 10 árvores produtoras de frutos com espinhos (Grupo 1) e 10 árvores produtoras de frutos sem espinhos (Grupo 2). Devido à grande variação do número de pirênios por fruto, para as análises multivariadas, foram tomados aleatoriamente conjuntos de frutos com 1, 2 e 3 pirênios de forma a representar, igualmente, os números de pirênios encontrados por fruto e por matriz. Desta forma a análise multivariada foi constituída por um subconjunto de 8 matrizes produtoras de frutos com espinhos (4 frutos com 1 pirênio, 4 frutos com 2 pirênios e 2 frutos com 3 pirênios). A mesma quantidade de frutos para o grupo sem espinhos, porém, constituída por 9 matrizes. Esta abordagem foi necessária para aferir de forma mais acurada os valores reais das medidas para os dois grupos em análise.

As medidas aferidas foram Massa de Fruto (g), Altura de Fruto (mm), Comprimento de Fruto (mm), Largura de Fruto (mm), Altura de Pirênio (mm), Comprimento de Pirênio (mm), Diâmetro de Pirênio (mm), Massa de Pirênio (g), Massa da Casca (g) e Espessura da Casca (mm) (Figura 4). As medidas foram realizadas utilizando paquímetro manual e balança digital. Os valores de altura, comprimento, largura e diâmetro foram aferidos nas posições medianas. A espessura da casca (EC) foi a média de 4 medidas, por apresentar diferença na espessura em diferentes porções da casca.

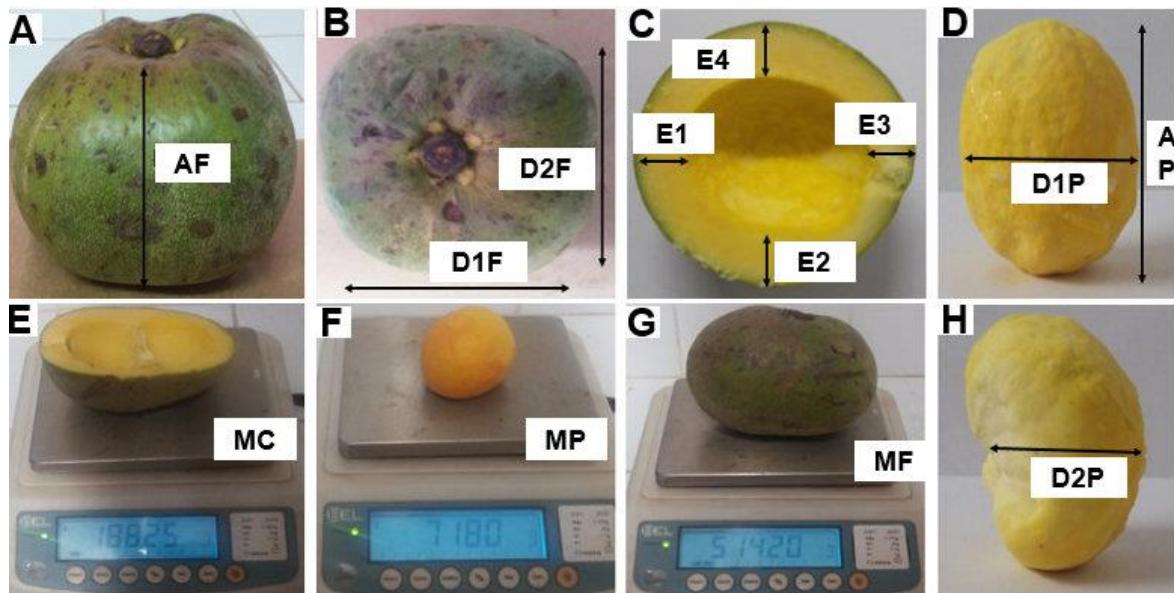


Figura 4 – Medidas realizadas em frutos de *C. brasiliense* (pequizeiro) com e sem espinhos no endocarpo. Estação Experimental Fazenda Água Limpa - UFU, Uberlândia – MG, Safra 2017-2018. AF: altura do fruto, D1F: comprimento do fruto, D2F: largura do fruto; e1, e2, e3, e4: espessura da casca, D1P: comprimento do pirênio, D2P: diâmetro do pirênio, AP: altura do pirênio, MC: massa da casca, MP: massa do pirênio, MF: massa do fruto. Fonte: Elaborado pelo autor.

Os dados foram submetidos à estatística descritiva e, posteriormente, à análise de variância com base em modelo hierárquico:

$$y_{ij} = \mu + G_i + m_j/G_i + e_{ij}$$

Em que:

μ : média geral;

G_i : efeito da i-ésima matriz;

m_j/G_i : efeito da i-ésima matriz dentro do grupo;

e_{ij} : erro experimental.

Foram estimados os componentes de variância associados aos efeitos do modelo e as estimativas das proporções da variação fenotípica total que se deve a diferença entre grupos (com e sem espinhos), diferença entre matrizes dentro de cada grupo, diferença entre frutos dentro de matrizes e dentro de grupos.

Também foram estimados os coeficientes de correlação fenotípica e genotípica entre os caracteres avaliados, pelas seguintes expressões:

$$r_f = \frac{\text{C}OV(Y_{ij}, Y_{ij'})}{\sqrt{\hat{V}(Y_j)\hat{V}(Y_{j'})}}$$

Em que:

$\text{C}OV(Y_{ij}, Y_{ij'})$: covariância fenotípica do caráter X avaliado nos grupos j e j';

$\hat{V}(Y_j)$: variância fenotípica do caráter X no grupo i;

$\hat{V}(Y_{j'})$: variância fenotípica do caráter X no grupo j.

O coeficiente de correlação genotípico foi estimado utilizando a seguinte expressão:

$$r_g = \frac{\hat{\theta}_{g(XY)}}{\hat{\theta}_{g(X)} + \hat{\theta}_{g(Y)}}$$

Em que:

$\hat{\theta}_{g(X)}$: variabilidade genética do caráter X estimada nos pares dos grupos j e j'

$\hat{\theta}_{g(Y)}$: variabilidade da interação de matrizes e grupos

A significância estatística do coeficiente de correlação fenotípica foi testada pelo Teste t, ao nível de 1% e 5% de probabilidade. Posteriormente foram estimadas as correlações em todos os pares de caracteres para cada grupo, conforme os seguintes estimadores:

a) Fenotípica:

$$r_f = \frac{\text{PMG}_{xy}}{\sqrt{\text{QMG}_x \text{QMG}_y}}$$

Em que:

r_f : estimador da correlação fenotípica;

PMG_{xy} : produto médio entre as matrizes para os caracteres X e Y;

QMG_x : quadrado médio entre as matrizes para o caráter X;

QM Gy: quadrado médio entre as matrizes para o caráter Y.

b) Genotípica

$$r_g = \frac{(PMG_{XY} - PMR_{XY})/r}{\sqrt{\hat{\theta}_{g(X)} \hat{\theta}_{g(Y)}}} = \frac{\hat{\theta}_{g(XY)}}{\sqrt{\hat{\theta}_{g(X)} \hat{\theta}_{g(Y)}}}$$

$$\hat{\theta}_{g(X)} = \frac{QMG_x - QMR_x}{r}$$

$$\hat{\theta}_{g(Y)} = \frac{QMG_y - QMR_y}{r}$$

Em que:

$\hat{\theta}_{g(XY)}$: estimador da covariância genotípica;

$\hat{\theta}_{g(X)}$ e $\hat{\theta}_{g(Y)}$: estimadores dos componentes quadráticos associados a variabilidade genotípica para os caracteres X e Y, respectivamente.

A significância da correlação fenotípica foi estimada pelo Teste t com $(n-2)$ graus de liberdade, em que n corresponde ao número de matrizes de pequi-eiro avaliadas. A significância das correlações genotípicas foi avaliada pelo *bootstap* com 5.000 simulações.

Foram utilizadas técnicas multivariadas (componentes principais, análise de agrupamento e medida de dissimilaridade) para os dados morfológicos de frutos de pequi-eiro com e sem espinhos no endocarpo, a fim de realizar o agrupamento de matrizes.

O componente principal Y_{ij} foi uma função linear da combinação do conjunto de variáveis analisadas para cada grupo de pequi-eiros. Considerando os dois primeiros componentes principais, tem-se:

$$Y_{i1} = a_1 x_{i1} + a_2 x_{i2} + \dots + a_n x_{in}$$

$$Y_{i2} = b_1 x_{i1} + b_2 x_{i2} + \dots + b_n x_{in}$$

Em que:

Y_{i1} e Y_{i2} : componente principal 1 e 2;

a_1 e b_1 : coeficiente de ponderação no 1º e 2º componente principal;

x_{in} : variáveis originais padronizadas.

Admitindo que:

- a) $\sum_j a_j^2 = \sum_j b_j^2 = 1$
- b) $\sum_j a_j b_j = 0$
- c) $\widehat{V}(Y_i) = \lambda_i$ em que $\widehat{V}(Y_1) > \widehat{V}(Y_2) > \widehat{V}(Y_n)$

$$\sum \widehat{V}(x_i) = \sum \lambda_i = \sum \widehat{V}(Y_i)$$

$C\hat{O}V(Y_{i1}, Y_{i2}) = 0$ desde que $\sum_{j=2}^n a_j b_j = 0$

A importância de cada componente principal foi calculada em termos de variância:

$$\text{Importância } Y_j = \frac{V(Y_j)}{\sum V(Y_j)} = \frac{\lambda_i}{\sum \lambda_i} = \frac{\lambda}{\text{trace}(R)}$$

Sendo R a matriz de correlação entre as características analisadas.

A medida de dissimilaridade entre as matrizes foi obtida pela distância euclidiana:

$$d_{ij} = \sqrt{\sum_{j=i}^n (y_{ij} - y_{i'j})^2}$$

Em que:

y_{ij} : é o valor da variável de ordem j na unidade alternativa i;

$y_{i'j}$: é o valor da variável de ordem j na unidade alternativa i';

n: é o número de variáveis.

A partir da matriz de dissimilaridade foi gerado o dendrograma pelo método UPGMA com bases na distância euclidiana, em que a distância entre a matriz k e o grupo formado pelas matrizes i e j foi dada por:

$$d_{(ij)k} = \frac{d_{ik} + d_{jk}}{2}$$

Utilizando a matriz de dissimilaridade, procedeu-se o método de agrupamento de otimização de Tocher. O primeiro grupo foi constituído por matrizes cuja medida de dissimilaridade foi menor; posteriormente, outras matrizes foram incluídas neste grupo, por meio da comparação entre o acréscimo no valor médio da distância dentro do grupo em um nível máximo permitido pré-estabelecido (θ) da medida de dissimilaridade, encontrado no conjunto de menores distâncias que envolviam cada matriz. A inclusão ou não de cada matriz foi dada por:

$$\frac{d_{(grupo)k}}{n} \leq \theta, \text{ inclui-se a matriz } k \text{ no grupo}; \frac{d_{(grupo)k}}{n} > \theta, \text{ a matriz } k \text{ não é incluída}$$

Em que, n=número de matrizes de pequizeiro do grupo original.

A distância entre a matriz k e o grupo formado pelas matrizes i e j foi dada por:

$$d_{(ij)k} = d_{ik} + d_{jk}$$

As análises foram realizadas com base em procedimento genético estatístico do software Genes (CRUZ, 2016).

2.3 Caracterizações físico-químicas e nutricionais de pequis com e sem espinhos no endocarpo

Para o preparo das amostras, os frutos foram higienizados, descascados e despolpados manualmente com auxílio de faca de aço inoxidável. Foram preparadas alíquotas de casca (mesocarpo externo), polpa (mesocarpo interno) e amêndoas de pequis com e sem espinhos no endocarpo, que foram mantidas congeladas até o momento das análises. Para o rendimento de polpa fresca as amostras foram constituídas de 10 frutos com espinhos e 10 frutos sem espinhos de matrizes previamente identificadas e tomadas aleatoriamente para esta medida.

2.3.1 Potencial hidrogeniônico

As medidas do potencial hidrogeniônico (pH) foram realizadas na casca e polpa de frutos com e sem espinhos por meio de PHmetro de bancada digital (Tecnopon - MPA-210), calibrado com soluções tampão de pH 7,0 e pH 4,0. O pH foi eferido por imersão direta dos eletrodos na amostra (INSTITUTO ADOLFO LUTZ - método 017/IV, 2008).

Para o preparo das amostras, foram macerados 50 g de casca ou da polpa em tubos plásticos de 50 mL (tubos Falcon) com o auxílio de um bastão de vidro até a completa homogeneização. De cada amostra de polpa (cinco matrizes com espinhos e cinco sem espinhos) e casca (cinco matrizes com espinhos e cinco sem espinhos) foram retiradas três alíquotas para a leitura do pH.

2.3.2 Determinação do teor de umidade

Foi feita a desumidificação das amostras de casca, polpa e amêndoia de pequis com e sem espinhos no endocarpo através do método de aquecimento direto a 105 °C, em estufa de secagem com circulação de ar forçada, até a obtenção de massa constante (INSTITUTO ADOLFO LUTZ - método 012/IV, 2008). A massa constante foi determinada por pesagem da amostra em balança semianalítica (BK-4000) em intervalos de 1 hora, totalizando 6 pesagens. Foram utilizados 10 repetições para cada amostra de casca e polpa e os resultados analisados pelo teste de comparação de médias (Teste t). As análises foram realizadas com base em procedimento genético estatístico do software Genes (CRUZ, 2016).

2.3.3 Rendimento de polpa fresca

Para a análise do rendimento de polpa fresca, os pirêniós com e sem espinhos foram pesados em balança semianalítica (BK-4000) para a obtenção da massa bruta total (MBT). Após a pesagem foi retirado o mesocarpo interno, com o auxílio de uma faca de aço inoxidável, e pesado. O rendimento de polpa fresca foi

obtido pela relação entre massa da polpa fresca (MPF) e a massa bruta total, com conversão posterior para percentagem, conforme expressão:

$$RPF = \left(\frac{MPF}{MBT} \right) * 100$$

2.3.4 Acidez total titulável

A acidez total titulável das amostras de casca, polpa e amêndoas dos pequis com e sem espinhos foi determinada por meio da titulação em solução de hidróxido de sódio 0,1N padronizada, até obtenção de coloração rósea (INSTITUTO ADOLFO LUTZ - método 016/IV, 2008). Para a determinação de acidez titulável foi adicionada 1,0 g de cada amostra diluída em 100 mL de água destilada. Depois de homogeneizada a solução foi filtrada em papel filtro qualitativo e adicionadas 2 gotas de indicador fenolftaleína 1%. Em seguida, foi realizada a titulação com solução de hidróxido de sódio (NaOH 0,1 N) até a mudança de cor para rosa claro. A acidez titulável foi expressa em gramas de ácido por 100 g de amostra, pela seguinte expressão:

$$ATT = \frac{n \times N \times Eq}{10 \times P}$$

Em que

n: volume da solução de hidróxido de sódio gastos na titulação em mL;

N: normalidade da solução de hidróxido de sódio;

Eq: equivalente-gramo do ácido;

P: massa da amostra em grama;

As análises foram realizadas em triplicata com base em procedimento genético estatístico do software Genes (CRUZ, 2016).

2.3.5 Matéria mineral

Os teores de matéria mineral (cinzas) foram determinados por incineração em mufla a 550 °C por seis horas (INSTITUTO ADOLFO LUTZ - método 018/IV,

2008). Inicialmente os cadinhos de porcelana foram secos em estufa de secagem a 105 °C durante 2 horas e, na sequência, resfriados em dessecador, ao longo de 1 hora. Os cadinhos foram pesados em balança analítica e sua massa anotada. Três gramas de cada amostra (casca, polpa e amêndoas de pequi com e sem espinhos) foram colocadas em cadinhos de porcelana, previamente secos.

As amostras foram submetidas à queima em mufla até a obtenção de cinza clara, por 6 horas após a temperatura da mufla ter atingido 550 °C. Ao final do processo, os cadinhos com as amostras foram resfriados à temperatura ambiente em dessecador e a massa (cadinho + cinzas) foi registrada. O teor de cinzas foi determinado pela diferença entre a massa da amostra fresca e a massa da amostra carbonizada, descontando-se a massa do cadinho vazio. As análises foram realizadas em triplicata com base em procedimento genético estatístico do software Genes (CRUZ, 2016).

2.3.6 Determinação do teor de compostos fenólicos totais

2.3.6.1 Construção da curva padrão de ácido gálico

Para a curva padrão de ácido gálico ($C_7H_6O_5$), foi preparada uma solução estoque de ácido gálico na concentração de 200 mg L⁻¹. A partir da solução estoque foram preparados os pontos da curva (0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, e 100 mg L⁻¹). Para cada concentração da curva padrão, foram retiradas alíquotas de 0,5 mL da solução estoque de ácido gálico e inseridas em tubos de ensaio. Em cada alíquota, foram adicionados 2,5 mL da solução Folin-Ciocalteau a 10% (v/v) e 2 mL de carbonato de cálcio (Na_2CO_3) a 7,5% (m/v). Os tubos de ensaio, contendo as três soluções foram mantidos em banho maria, pré-aquecido a uma temperatura de 50 °C, onde permaneceram por 5 minutos. Posteriormente, as amostras foram resfriadas naturalmente até atingirem a temperatura ambiente (25 °C). Após o resfriamento, foi realizada a medida de absorbância a 760 nm em espectrofotômetro (UV 340G - Gehaka). Os valores de absorbância foram anotados e plotados em planilha do Microsoft Office Excel 2016, para a elaboração da curva analítica (Figura 5).

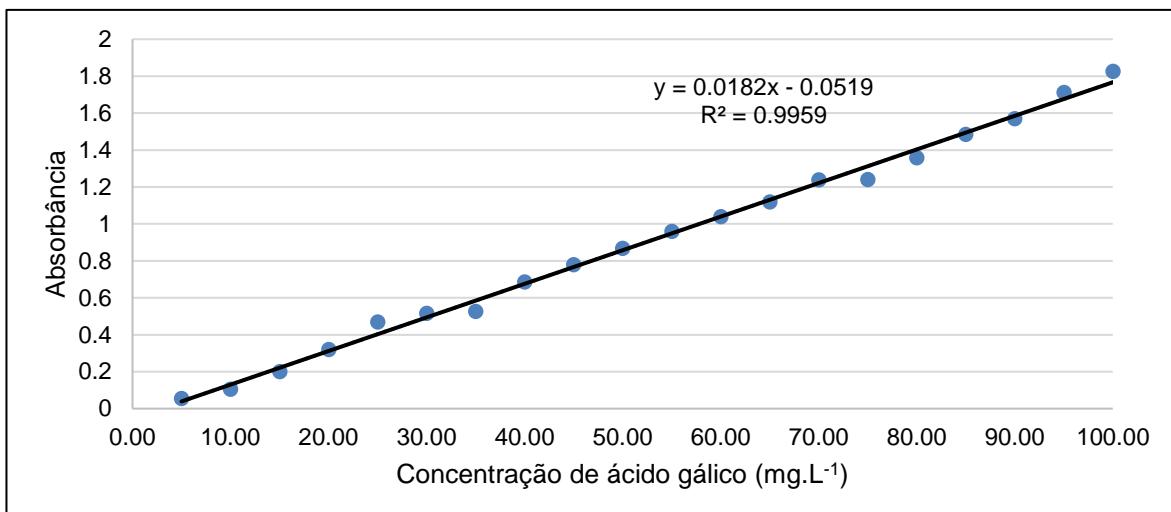


Figura 5 - Curva de calibração do ácido gálico utilizada na determinação dos compostos fenólicos pelo método de Folin-Ciocalteu. Fonte: Elaborado pelo autor

2.3.6.2 Obtenção do extrato fenólico

A fim de extrair a fração fenólica das amostras de casca, polpa e amêndoas de pequis com e sem espinhos no endocarpo, foi pesado 1,0 g de cada amostra completamente triturada, e dispostas em béquer de vidro com capacidade para 100 mL. Foram adicionados 40,0 mL de etanol 95% e o conjunto permaneceu sob agitação magnética por 2 horas, em ausência de luminosidade. Em seguida, as amostras permaneceram em repouso por 48 horas, de acordo com a metodologia descrita por Bertoldi (2006). As análises foram realizadas em triplicata com base em procedimento genético estatístico do software Genes (CRUZ, 2016).

2.3.6.3 Quantificação

A partir do extrato fenólico obtido de casca, polpa e amêndoas dos frutos de pequis com e sem espinhos no endocarpo, previamente preparados conforme descrito acima, foi retirada uma alíquota de 0,5 mL e inserida em tubos de ensaio. Sobre cada alíquota foi acrescido 2,5 mL da solução de Folin-Ciocalteau a 10% (v/v) e 2 mL de Na₂CO₃ a 4% (m/v). A mistura foi mantida em banho-maria a temperatura de 50 °C por 5 minutos. As amostras foram retiradas do banho-maria

e resfriadas até atingirem a temperatura ambiente (25 °C). Após o resfriamento cada mostra teve sua medida de absorbância determinada a 760 nm em espectrofotômetro (UV 340G - Gehaka). A quantificação dos compostos fenólicos foi realizada em triplicata e os resultados foram expressos em equivalentes de ácido gálico por 100 g de amostra ($\text{EAG.}100\text{g}^{-1}$), em peso úmido.

2.3.7 Determinação do teor de proteína bruta

Foi utilizado o método Kjeldahl (ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS - AOAC, 2016) modificado (AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS – AACC, Método 46-11, 1995) no qual o sulfato de cobre (CuSO_4) é usado como catalisador. O método tem como princípio a transformação do nitrogênio da amostra em sulfato de amônio ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) por meio da digestão com ácido sulfúrico (H_2SO_4) até que o carbono e hidrogênio sejam oxidados e posterior destilação com liberação da amônia (NH_3). O nitrogênio da proteína é reduzido e transformado em sulfato de amônio ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$). É adicionado NaOH concentrado e a solução aquecida para a liberação de NH_3 dentro de um volume conhecido de uma solução de ácido bórico (H_3BO_3), formando borato de amônia ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{BO}_3$). O $\text{NH}_4\text{H}_2\text{BO}_3$ formado é dosado com uma solução de ácido clorídrico (HCl) padronizada.

Para a quantificação de proteína bruta em pequi com e sem espinhos foi pesado 1,0 g de amostra fresca de casca, polpa e amêndoas em balança analítica. Cada amostra foi acondicionada em tubos de digestão, sobre as quais foram adicionados 2,0 g da mistura digestora composta por Na_2SO_4 e CuSO_4 (1:10) e 5 mL de H_2SO_4 .

Os tubos de digestão contendo as amostras e a mistura digestora foram inseridos no bloco digestor (Solab SL – 25/40) em capela de exautão. A digestão foi iniciada a 50 °C, com aumento gradativo da temperatura em intervalos de 50 °C até atingir 350 °C para evitar a formação de espuma. Atingida a temperatura, a digestão continuou até que as paredes internas dos tubos ficassem completamente limpas (aproximadamente 6 horas), a fumaça branca de dióxido de enxofre (SO_2) praticamente cessar e o líquido apresentar coloração verde-esmeralda límpida.

Após ser resfriado, o tubo digestor contendo a amostra foi transferido para o conjunto de destilação de notrogênio (Marconi®), ao qual foram adicionados 5 mL de NaOH ou até o aparecimento de óxido cúprico (CuO), um precipitado preto. Em erlenmeyer, foram adicionados 50 mL de água destilada e 50 mL de H₃BO₃ a 4% acrescidos de 3 gotas do indicador misto de Tashiro (TASHIRO, 1922) [0,1% de vermelho de metila (C₁₅H₁₅N₃O₂) e 0,1% de azul de metíleno (C₁₆H₁₈N₃SCl), 2:1 p/p]. A destilação foi feita por arraste, mantendo o terminal do condensador mergulhado na solução receptora até que toda a amônia fosse liberada, com um volume de aproximadamente 100 mL. A solução receptora foi titulada com HCl 0,1 N até o ponto de viragem do indicador misto. Um teste em branco foi feito com o objetivo de eliminar a interferência e contaminação dos reagentes.

Para a determinação da proteína bruta presente na casca, polpa e amêndoas dos pequis com e sem espinhos no endocarpo, foi levado em consideração o fator de 5,75 de conversão de nitrogênio em proteína (BRASIL, 2003.) o que possibilitou a sua determinação pelo método Kjeldahl. Considerando o fator de conversão do HCl de 1,013 e a normalidade de 0,1, transformou-se o resultado em proteína bruta utilizando a equação:

$$\%PB = \frac{[(V' - V) * Fc * N * 5,75 * 0,014]}{P} * 100$$

Em que:

V': volume de HCl 0,1 N gasto na titulação;

V: volume de HCl 0,1 N gasto no teste em branco;

Fc: Fator de correção do HCl 0,1N;

N: normalidade;

P: peso da amostra em gramas;

5,75: fator de conversão do nitrogênio em proteína (para proteínas vegetais);

0,014: miliequivalente-grama do nitrogênio.

2.3.8 Determinação dos carboidratos totais

A quantificação de carboidratos totais foi feita pelo método fenol-sulfúrico (DUBOIS et al., 1951). Este método é não estequiométrico e, portanto, é necessário preparar uma curva de calibração. Para a curva padrão de glicose, foi preparada uma solução estoque de D-glicose a 200 mg L^{-1} . A partir desta solução estoque, foram construídos os pontos da curva (0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75 e 80 mg L^{-1}). Para cada concentração da curva padrão, foram retiradas alíquotas de 1,0 mL da solução de glicose e acrescentados 1,0 mL de fenol ($\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$) 5% e 5,0 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado. Posteriormente, as amostras foram resfriadas naturalmente até atingirem a temperatura ambiente (25°C) antes da medida de sua absorbância a 490 nm em espectrofotômetro (UV 340G – Gehaka). Os valores de absorbância foram anotados e plotados em planilha do Microsoft Office Excel 2016, para a elaboração da curva analítica (Figura 6).

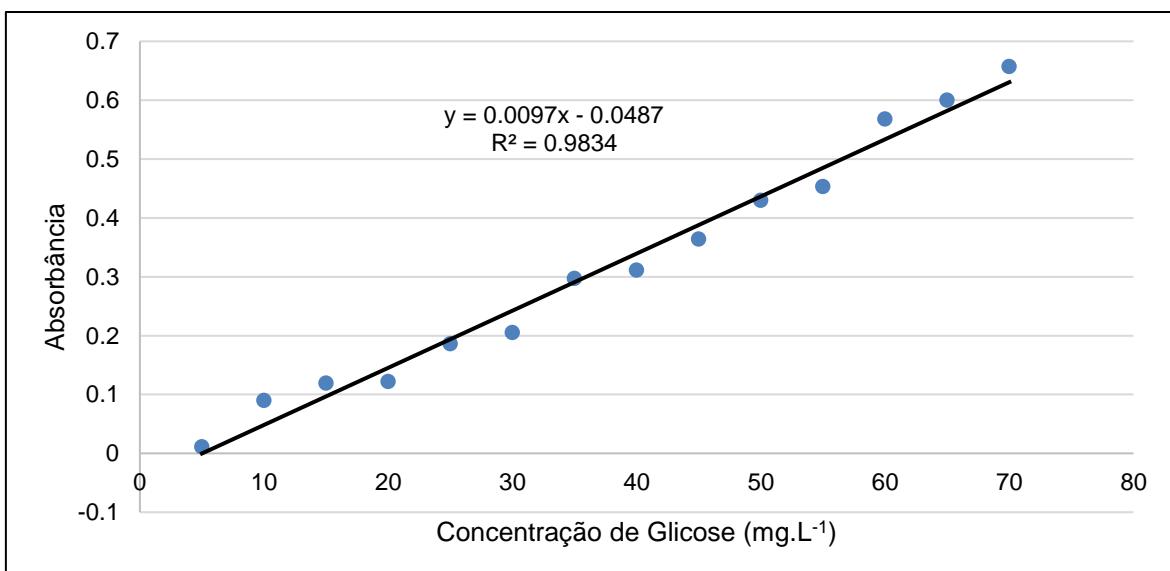


Figura 6 - Curva de calibração de glicose utilizada na determinação dos carboidratos totais pelo método de Fenol-sulfúrico. Fonte: Elaborado pelo autor

Para a quantificação de carboidrato total presente na casca, polpa e amêndoas do pequi com e sem espinhos no endocarpo foi pesado 1,0 g de cada amostra em balança analítica, diretamente em bêquer de 250 mL. As amostras foram diluídas

em 100 mL de água destilada e filtradas em papel filtro quantitativo de 125 mm. Foram retirados 250 µL da amostra filtrada, transferida para um tubo de ensaio contendo 750 µL de água destilada e 1 mL de C₆H₅OH 5% (m/v). A solução foi homogeneizada e em capela de exaustão foram adicionados 5 mL de H₂SO₄ concentrado. Uma vez que a reação é exotérmica, as amostras foram resfriadas naturalmente em temperatura ambiente (25°C) antes da leitura da absorbância a 490 nm em espectrofotômetro (UV 340G - Gehaka). As análises foram realizadas em triplicata com base em procedimento genético estatístico do software Genes (CRUZ, 2016).

2.3.9 Determinação dos teores de lipídios totais

Para a quantificação do teor de lipídios em pequis com e sem espinhos no endocarpo, foi utilizado a metodologia descrita por Bligh e Dyer (1959) com algumas modificações. Inicialmente foi pesado 1,0 g de cada amostra (casca, polpa e amêndoas) em balança analítica. Em cada amostra foram adicionados 100 mL de metanol e 50 mL de clorofórmio, formando uma fase, que foi agitada em agitador magnético por 10 minutos. Após o período de agitação, foram adicionados 50 mL de clorofórmio e 50 mL de água em cada amostra de maneira a formar duas fases, uma de clorofórmio contendo os lipídios e outra hidrometanólica contendo as substâncias não lipídicas. A fase de clorofórmio com a gordura foi isolada e, após a evaporação do clorofórmio, foi obtido a quantidade de gordura por gravimetria. As análises foram realizadas em triplicata com base em procedimento genético estatístico do software Genes (CRUZ, 2016).

2.3.10 Determinação dos teores de vitamina C

Os teores de vitamina C foram quantificados pela metodologia baseada na oxidação do ácido ascórbico (C₆H₈O₆) com iodato de potássio (KIO₃) (INSTITUTO ADOLFO LUTZ - método 364/IV, 2008). Para a determinação dos teores de vitamina C em frutos de pequizeiro com e sem espinhos no endocarpo, foram pesados em balança analítica, 2,0 g de amostras da casca externa (exocarpo), casca interna (mesocarpo externo), polpa (mesocarpo interno) e amêndoas,

diretamente em béquer de 100 mL. As amostras foram homogeneizadas, adicionados 50 mL de água destilada, as quais foram mantidas em agitação magnética por 5 minutos. Transcorrido o período de agitação, foi retirada uma alíquota de 10 mL, colocada em Erlenmeyer de 250 mL. Adicionados 10 mL de solução de H₂SO₄ 20% e 1 mL da solução de iodeto de potássio (KI) a 10 % (m/v) e 1 mL da solução de amido a 1 % (m/v) e titulado com solução de iodato de potássio (KIO₃) 0,002 mol L⁻¹ até coloração azul. As análises foram realizadas em triplicata com base em procedimento genético estatístico do software Genes (CRUZ, 2016).

2.3.11 Valor energético total

O valor energético total (VET) foi calculado pela soma das calorias fornecidas por carboidratos, lipídios e proteínas multiplicando-se seus valores em gramas pelos fatores de Atwater (1910) 4 Kcal g⁻¹, 9 Kcal g⁻¹ e 4 Kcal g⁻¹ respectivamente, conforme a Resolução Nº 360, de 23 de Dezembro de 2003, do Ministério da Saúde (BRASIL, 2003). A energia em quilojoules (kJ) foi determinada pela multiplicação da energia em kcal pelo fator 4,2.

2.4 Pigmentos

Os pigmentos analisados foram β-caroteno, licopeno, clorofila-a e clorofila-b, após extração com acetona e hexano, utilizando o método espectrofotométrico descrito por Nagata e Yamashita (1992).

Inicialmente, foi pesado 1,0 g de casca, polpa e amêndoas de pequis com e sem espinhos no endocarpo. Cada amostra foi inserida em tubos de ensaio protegidos da luz com folhas de papel alumínio. Sobre cada amostra foi adicionada uma solução de extração contendo acetona:hexano (4:6). Os tubos com a amostra e a solução extratora foram agitados vigorosamente e posteriormente mantidos em repouso por 1 hora, ao abrigo da luz. Transcorrido o período de repouso, as amostras foram homogeneizadas e a densidade ótica do sobrenadante foi mensurada em espectrofotômetro (UV 340G – Gehaka) nos comprimentos de

ondas 663 nm, 645 nm, 505 nm e 453 nm. Os teores de clorofila-a, clorofila-b, licopeno e β-caroteno foram estimados em mg 100 mL⁻¹ pelas equações abaixo:

$$\text{Crolofila a} = 0,999A_{663} - 0,0989A_{645}$$

$$\text{Crolofila b} = 0,328A_{663} + 1,77A_{645}$$

$$\text{Licopeno} = -0,0458A_{663} + 0,204A_{645} + 0,372A_{505} - 0,0806A_{453}$$

$$\text{b-caroteno} = 0,216A_{663} - 1,22A_{645} - 0,304A_{505} + 0,452A_{453}$$

2.5 Regeneração *in vitro* de explantes foliares de pequizeiro

Foram utilizados como material vegetal folhas jovens de pequizeiro sem espinhos no endocarpo cultivados em casa de vegetação na própria Universidade. Os experimentos foram realizados no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do Instituto de Biotecnologia - UFU.

2.5.1 Controle da contaminação dos explantes

As folhas de pequizeiro, com 6 meses de idade e cultivadas em casa de vegetação, foram desinfestadas superficialmente em água corrente e posteriormente imersas em água destilada contendo duas gotas de detergente neutro para cada 100,0 mL de água, onde permaneceram sob agitação mecânica em agitador magnético por 10 minutos. Após o tempo de agitação, as folhas foram enxaguadas em água corrente e levadas para a câmara de fluxo laminar horizontal previamente esterilizada com etanol 70,0% e radiação ultravioleta por 20 minutos.

As folhas foram imersas em solução de álcool etílico 70% por 30 segundos e lavadas por 3 vezes com água destilada autoclavada. As folhas foram cortadas em fragmentos de 0,5 cm² com o auxílio de lâmina de bisturi, previamente esterilizada. Os explantes obtidos seguiram para o processo de desinfecção com hipoclorito de sódio (NaClO). Foram avaliadas diferentes concentrações de NaClO (0,0%, 2,5%, 5,0%, 7,5% e 10%) obtidos a partir de solução comercial de hipoclorito de sódio 10% (Start Química®), e diferentes períodos de imersão (5, 10, 15, 20 e 30 minutos) dos explantes.

Após o período de exposição em NaClO os explantes foram lavados 3 vezes com água destilada autoclavada para a remoção do NaClO. Os explantes permaneceram em contato com solução de ácido cítrico ($150,0 \text{ mg L}^{-1}$) para evitar a oxidação. O excesso de ácido cítrico foi removido com o auxílio de papel filtro esterilizado por autoclavagem sob pressão, tempo e temperatura conforme descrito abaixo.

O meio de cultura utilizado foi o WPM (*Woody Plant Medium*) (LLOYD G; MCCOWN B, 1980) acrescido de $6,5 \text{ g L}^{-1}$ de ágar e $30,0 \text{ g L}^{-1}$ de sacarose. O pH foi ajustado para 5,8 antes da autoclavagem, que foi feita a 121°C sob pressão de 1,1 atm por 20 minutos. Os explantes foram inoculados em tubos de ensaio contendo 10 mL do meio de cultura, tampados com papel alumínio (Royal Pack®) e vedados com Filme PVC (Resinite Aderent 10 Micra). Os tubos contendo os explantes permaneceram em sala de cultivo sob temperatura de $27^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e intensidade luminosa de $35 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, fornecida por lâmpadas fluorescentes brancas frias, com fotoperíodo de 16 horas de luz e 8 horas de escuro, por 15 dias.

O delineamento experimental utilizado foi o Inteiramente Casualizado (DIC) em esquema fatorial 5×5 (cinco concentrações de NaClO e cinco períodos de imersão) totalizando 25 tratamentos com 10 repetições cada, sendo cada repetição composta por 1 tubo de ensaio com um explante, totalizando 250 unidades experimentais. As variáveis analisadas foram a porcentagem de contaminação por fungos e bactérias e ausência de contaminação, por meio da atribuição de valores para unidades experimentais contaminadas (1) e não contaminadas (0). Todos os dados foram transformados para $\sqrt{x+1}$, analisados pelo programa estatístico Genes (CRUZ, 2016).

2.5.2 Controle da oxidação dos explantes

Após a determinação das melhores condições para a assepsia dos explantes foliares, foi realizado um experimento para controlar a oxidação e viabilizar o processo de regeneração *in vitro*.

Folhas de plantas de pequi com 5 meses de idade, mantidas em casa de vegetação foram coletadas e lavadas em água corrente e sabão neutro por 1 minuto. Em seguida foram imersas em água destilada contendo duas gotas de

detergente neutro para cada 100,0 mL de água, onde permaneceram sob agitação mecânica em agitador magnético por 10 minutos e enxaguadas com água destilada.

Em câmara de fluxo laminar, as folhas foram cortadas em fragmentos de 0,5 cm² com o auxílio de lâmina de bisturi previamente esterilizada e imersas em álcool 70% por 1 minuto e em seguida, transferidas para NaClO 10% por 10 minutos e posteriormente realizada a tríplice lavagem com água destilada autoclavada.

O meio de cultura foi composto pelos sais do meio WPM (LLOYD G; MCCOWN B, 1980) acrescido de 6,5 g L⁻¹ de ágar, 30,0 g L⁻¹ de sacarose e 10,74 µM de ANA + 4,44 µM de BAP (LANDA et al., 2000). O pH do meio foi ajustado para 5,8 e autoclavado a 121° C por 20 minutos. Os explantes foram estabelecidos em tubos de ensaio com 10,0 mL de meio de cultura, com a face abaxial voltada para a solução nutritiva. Os tubos contendo os explantes permaneceram em sala de cultivo sob temperatura de 27 °C ± 2 °C e intensidade luminosa de 35 µmol m⁻² s⁻¹, fornecida por lâmpadas fluorescentes brancas frias, com foto período de 16 horas de luz e 8 horas de escuro, por 30 dias.

O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado, com 11 tratamentos e 20 repetições (Tabela 3), sendo cada repetição constituída por um tubo de ensaio com um explante por tubo. As condições analisadas foram ausência e presença de luz, uso de carvão ativado, polivinilpirrolidona (PVP) e ácido cítrico.

Tabela 3 – Tratamentos utilizados para o controle da oxidação de explantes foliares de *Caryocar brasiliense* (pequizeiro) para o cultivo *in vitro*

Tratamento	Condições de meio WPM
1	1,0 mg L ⁻¹ de carvão ativado
2	2,0 mg L ⁻¹ de carvão ativado
3	3,0 mg L ⁻¹ de carvão ativado
4	50,0 mg L ⁻¹ de ácido cítrico
5	100,0 mg L ⁻¹ de ácido cítrico
6	200,0 mg L ⁻¹ de ácido cítrico
7	200,0 mg L ⁻¹ de PVP
8	400,0 mg L ⁻¹ de PVP
9	800,0 mg L ⁻¹ de PVP
10	Sem antioxidantes no escuro
11	Sem antioxidantes no claro

Foi realizada a avaliação visual da oxidação na fase de estabelecimento dos explantes. A avaliação foi realizada por escala de porcentagem (Figura 7), gerando um índice de oxidação segundo metodologia adaptada de Silva et al. (2001).

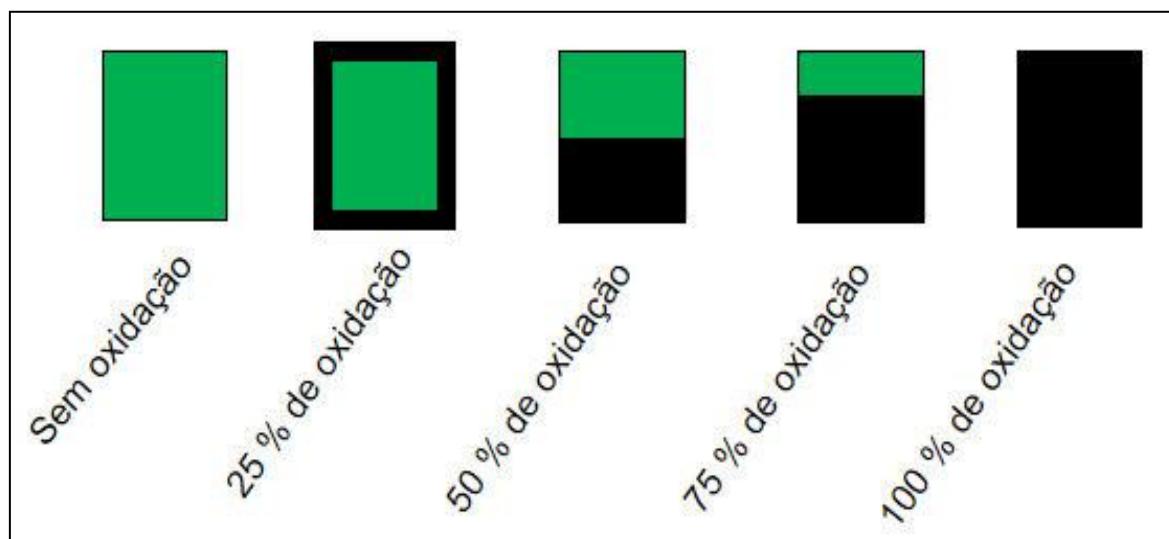


Figura 7 - Escala utilizada para avaliar o grau de oxidação dos explantes foliares de *Caryocar brasiliense* (pequizeiro) submetidos a diferentes agentes antioxidantes no meio de cultura WPM. 0%: Sem oxidação, 25%: Pouco oxidado, 50%: Medianamente oxidado, 75%: Muito oxidado, 100%: Totalmente oxidado.

Fonte: Elaborado pelo autor

Os dados de grau de oxidação foram submetidos à análise de variância e teste de médias de Tukey ($p \leq 0,05$). As análises foram realizadas no programa estatístico Genes (CRUZ, 2016).

2.5.3 Interação entre diferentes reguladores de crescimento na diferenciação celular dos explantes foliares

As folhas dos pequizeiros cultivados em casa de vegetação foram cortadas em fragmentos de $0,5 \text{ cm}^2$ e estabelecidas em frascos de cultivo. A desinfecção e controle de oxidação dos explantes foram realizadas conforme metodologias estabelecidas nos ensaios descritos acima. 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⁻¹ de sacarose e 6,5 g L⁻¹ de ágar e 800,0 mg L⁻¹ de PVP suplementados com diferentes concentrações de reguladores de crescimento (Tabela 4). 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 a 121 °C e 1,1 atm 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⁻² s⁻¹, fornecida por lâmpadas fluorescentes brancas frias, com foto período de 16 horas de luz e 8 horas de escuro, no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais.

Tabela 4 – Combinações e concentrações de reguladores de crescimento utilizados na instalação dos 5 experimentos (Exp.) de regeneração *in vitro* de explantes foliares de pequizeiro

Exp. 1		Exp. 2		Exp. 3		Exp. 4		Exp. 5	
[2,4-D] mg L ⁻¹	[KIN] mg L ⁻¹	[2,4-D] mg L ⁻¹	[BAP] mg L ⁻¹	[AIB] mg L ⁻¹	[KIN] mg L ⁻¹	[BAP] mg L ⁻¹	[AIB] mg L ⁻¹	[BAP] mg L ⁻¹	[ANA] mg L ⁻¹
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

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 $\sqrt{x+1}$. As análises foram realizadas no programa estatístico Genes (CRUZ, 2016)

3 Resultados e discussão

3.1 Análises biométricas de frutos de pequizeiros com e sem espinhos no endocarpo

A caracterização morfológica dos frutos de pequizeiro é importante para contribuir com estudos de germinação e produção de mudas e auxiliar com técnicas de cultivo para a espécie (BATTILANI et al, 2012). O peso dos frutos, por exemplo, é uma característica importante para a comercialização *in natura*, uma vez que os frutos de maior tamanho apresentam maior polpa e, portanto, mais interessante economicamente (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

As características físicas de frutos de pequizeiro sem espinhos no endocarpo foram, predominantemente, superiores as características de frutos com espinhos no endocarpo, com exceção do diâmetro de pirênio (D2P) e rendimento de pirênio (RP) (Tabela 5). O rendimento de pirênio por fruto para grupo sem espinhos apresentou média de 17%, e para o grupo com espinhos de 20%, evidenciando predominância de casca em relação à massa do fruto (Tabela 5), ou seja, 80% e 83% da massa total dos frutos com e sem espinhos respectivamente, correspondem a casca.

No geral observou-se ampla variação para o mínimo e máximo em todos os caracteres, em ambos os grupos de pequis, evidenciando a elevada variabilidade entre os frutos (Tabela 5).

Tabela 5 – Características físicas de frutos com e sem espinhos no endocarpo. Fazenda Estação Experimental Água Limpa – UFU, Uberlândia – MG, Safra 2017/2018

Caracteres	Com espinhos				Sem espinhos			
	N.	Média	Mínimo	Máximo	N.	Média	Mínimo	Máximo
MF (g)	80	394,50	161,15	1212,65	90	504,61	162,55	1215,70
AF (mm)	80	77,42	63,00	103,00	90	85,55	64,00	135,00
D1F (mm)	80	98,48	65,00	140,00	90	104,62	71,50	135,00
D2F (mm)	80	78,40	35,00	135,00	90	87,92	67,00	119,00
AP (mm)	80	57,55	45,50	82,00	90	63,60	48,00	80,00
D1P (mm)	80	45,61	35,17	61,00	90	46,75	33,50	60,00
D2P (mm)	80	41,00	33,75	53,50	90	39,17	30,00	47,50
MP (mm)	80	59,52	32,70	156,80	90	71,41	29,10	117,75
MC (g)	80	277,66	108,05	892,10	90	382,62	86,20	1068,25
EC (mm)	80	13,70	8,00	24,00	90	18,66	11,00	36,50
RP	80	0,20	0,09	0,38	90	0,17	0,06	0,51

MF: Massa de Fruto; AF: Altura de fruto; D1F: Comprimento de Fruto; D2F: Largura de Fruto; AP: Altura de Pirênios; D1P: Comprimento de Pirênios; D2P: Diâmetro de Pirênios; MP: Massa de Pirênios; MC: Massa da Casca; EC: Espessura da Casca; RP: Rendimento dos Pirênios; N: Número de amostras.

Notou-se ampla variação quanto à massa de pequi com e sem espinhos no endocarpo (Tabela 5) e superior à relatada por Giulia et al. (2008) que, em estudo de frutos com espinhos no endocapo relatou variação de 126,0 a 512,0 g. Os valores encontrados por estes autores estão bem abaixo do valor máximo encontrado para frutos com e sem espinhos no endocarpo em nossa pesquisa.

Vera et al. (2005) observaram que a média do comprimento dos frutos de pequizeiros com espinhos no endocarpo foi de 5,80 cm e a da largura de 6,50 cm. Almeida et al. (1998) mostraram que o comprimento dos frutos variou de 4,20 cm a 6,40 cm e a largura de 6,50 cm a 7,80 cm. Em ambos os trabalhos, as medidas dos frutos foram inferiores às encontradas nesta pesquisa, na qual observou-se média

de 10,46 cm de comprimento e 8,79 cm de largura para frutos sem espinhos e 9,85 cm de comprimento e 7,84 cm de largura para frutos com endocarpo espinhoso (Tabela 5).

O comprimento e largura de frutos, tanto com espinhos quanto sem espinhos, nesta pesquisa foram superiores aos descritos por Luz et al. (2011) que relataram para o comprimento do fruto uma variação de 4,30 cm a 5,40 cm e para a largura de 5,70 cm a 6,90 cm em pequis com espinhos procedentes de três regiões do Norte de Minas Gerais.

As médias para o comprimento e a largura dos pirênios no presente estudo análise foram de 4,67 cm e 3,91 cm em pequis sem espinhos e 4,45 cm e 4,10 cm para pequis com espinhos no endocarpo. Esses valores foram superiores aos obtidos por Almeida et al. (1998), que expressaram faixa de variação de 2,10 cm a 2,90 cm para o comprimento e 2,80 cm a 3,80 cm para a largura dos pirênios de frutos com espinhos.

Com relação ao caráter massa de fruto, houve variação de 161,15 g a 1215,70 g com média de 504,61 g para frutos com endocarpo sem espinhos e 394,50 g em frutos com espinhos no endocarpo (Tabela 5). Estes valores foram superiores aos relatados por Silva et al. (1994), que obtiveram entre 100 e 300 g para frutos com espinhos. Soares Júnior et al. (2010) obtiveram valores para a massa dos frutos variando de 81,59 g a 198,13 g, com média de 142,50 g, em frutos com espinhos no endocarpo oriundos de São Miguel do Araguaia – Goiás. Em estudos com frutos do pequizeiro (*Caryocar coriaceum* Wittm.) procedentes dos estados do Maranhão e Piauí, Ramos e Souza (2011) observaram uma elevada variabilidade entre os caracteres físicos estudados.

Notou-se diferença significativa, pelo teste F ($p \leq 0,01$), para os caracteres biométricos de frutos em relação ao grupo de matrizes produtoras de pequi com e sem espinhos no endocarpo (Tabela 6). Constatou-se, também, a existência de variabilidade genética dentro de cada grupo, especialmente para o grupo de matrizes produtoras de frutos sem espinhos.

Tabela 6 – Resumo da análise de variância hierárquica para caracteres de frutos de pequizeiros com e sem espinhos no endocarpo. Fazenda Estação Experimental Água Limpa – UFU, Uberlândia – MG, Safra 2017/2018.

Fonte de Variação	Quadrado Médio					
	MF	AF	D1F	D2F	AP	RPF
Grupos	513521,70 **	2795,95**	2163,51**	3845,30**	1545,42**	14441,31**
Gen/G	187876,66 **	1007,23 *	326,96 ^{NS}	370,97**	222,62**	374,48**
Gen/G1	75030,38*	156,06**	118,94 ^{NS}	151,01 ^{NS}	220,83**	691,18**
Gen/G2	286617,16**	1752,01**	508,97 ^{NS}	563,43**	224,17**	57,77**
Resíduo	34664,79	64,41	277,30	120,17	30,69	81,37
CV (%)	41,12	9,82	16,44	13,14	9,12	13,45
	D1P	D2P	MP	MC	EC	RP
Grupos	54,57 ^{NS}	136,86**	151,36**	466764,54**	1047,62**	0,03*
Gen./G	163,37**	80,06**	1828,15 ^{NS}	159102,43**	106,18**	0,01 ^{NS}
Gen./G1	169,99**	88,04**	2519,29**	45414,33 ^{NS}	20,81 ^{NS}	0,010 ^{NS}
Gen/G2	157,59**	73,07**	1223,41**	258579,53**	180,88**	0,01 ^{NS}
Resíduo	19,71	12,03	358,95	23065,00	13,49	0,00
CV (%)	9,60	8,67	26,87	45,57	22,50	46,22

MF: Massa de Fruto; AF: Altura de fruto; D1F: Comprimento de Fruto; D2F: Largura de Fruto; AP: Altura de Pirênios; D1P: Comprimento de Pirênios; D2P: Diâmetro de Pirênios; MP: Massa de Pirênios; MC: Massa da Casca; EC: Espessura da Casca; RP: Rendimento dos Pirênios, RPF: Rendimento de Polpa Fresca, G: grupos; Gen.: genótipo; G1: com espinhos; G2: sem espinhos; CV: Coeficiente de variação; ^{NS}: Não significativo; * e **: significativo a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente.

O coeficiente de variação permite comparação entre variáveis de natureza distinta e fornece uma ideia de precisão dos dados. A princípio, quanto menor o coeficiente de variação, mais homogêneos são os dados. Altos coeficientes de variação foram encontrados para massa de fruto (41,12%), massa de casca (45,57%) e rendimento de pirênios (46,22%) (Tabela 6).

Para todos os caracteres observou-se que as matrizes de pequizeiro produtoras de frutos sem espinhos no endocarpo tiveram médias superiores ao grupo de matrizes que produzem frutos com espinhos, exceto para RP (Rendimento de Pirênios). Estes resultados evidenciam o potencial do pequizeiro produtores de

frutos sem espinhos para o cultivo comercial, visando tanto o consumo *in natura* quanto processamento industrial, uma vez que o rendimento de polpa fresca (RPF) foi de aproximadamente 51% superior ao obtido com fruto com espinhos no endocarpo.

Verificou-se que as matrizes dos grupos com e sem espinhos foram agrupadas de 2 a 4 grupos, demonstrando o potencial de seleção de genótipos superiores para programas de melhoramento genético. Entre as matrizes produtoras de frutos sem espinhos no endocarpo, a matriz B29 mostrou-se superior às demais em relação a todos os caracteres exceto para o RPF (rendimento de polpa fresca) e RP (Rendimento de pirênios), que não apresentaram diferenças significativas, pelo teste T, ao nível de 5% de probabilidades, entre as matrizes, o que pode ser explicado pela elevada quantidade de casca (Tabela 7).

Tabela 7 – Média das diferentes matrizes de pequizeiros produtoras de frutos com e sem espinhos no endocarpo de acordo com os caracteres dos frutos

Matriz	Pequis com espinhos											
	MF	AF	D1F	D2F	AP	D1P	D2P	MP	MC	EC	RP	RPF
B6	316,86b	75,95a	91,50a	75,64a	57,72b	45,95c	40,51b	69,76b	198,08b	11,50a	0,24a	57,45a
B7	553,52a	85,20a	102,35a	83,50a	65,50a	54,51a	45,53a	98,49a	395,42a	15,80a	0,19a	62,97a
A8	319,38b	74,70b	95,65a	74,40a	48,66c	37,08e	35,54c	41,10c	248,59b	14,80a	0,14a	58,28a
B13	344,89b	73,10b	99,60a	74,35a	57,06b	43,60d	42,54b	64,76b	234,24b	12,35a	0,21a	55,61a
B25	424,64a	79,40a	100,60a	81,70a	56,17b	45,88c	41,85b	65,69b	309,11a	14,60a	0,17a	41,01b
B3	372,93b	74,95b	97,40a	83,20a	56,17b	47,80b	38,40c	67,58b	362,87b	14,00a	0,20a	--
D6	337,38b	75,85b	95,00a	75,20a	59,57b	46,08c	41,33b	70,70b	225,27b	12,55a	0,23a	--
D14	486,65a	80,25a	97,70a	78,15a	59,59b	46,98b	42,03b	78,11b	347,71a	13,95a	0,21a	--
Média	394,50B	77,42B	98,48B	78,40B	57,55B	45,61B	41,0A	69,52B	277,66B	13,70B	0,20A	55,06A
Pequis sem espinhos												
B29	869,05a	114,25a	114,75a	101,10a	68,76a	44,25b	39,17b	73,92a	742,84a	27,25a	0,09a	78,20a
A14	400,15c	77,80c	99,50a	84,85b	57,89b	46,21b	38,90b	65,09a	288,55c	16,85b	0,08a	80,65a
C9	440,70c	80,30c	103,10a	85,65b	63,98a	50,74a	39,40b	76,72a	303,30c	17,71b	0,19a	85,26a
B26	273,83c	69,50d	89,85a	73,80c	53,79b	37,92c	33,31c	45,67b	200,91c	15,15b	0,17a	81,82a
B20	469,22c	80,80c	107,60a	85,90b	66,15a	47,69b	43,63a	81,45a	327,02c	16,05b	0,19a	77,49a
C10	405,42c	80,40c	103,20a	85,80b	64,60a	49,45a	39,92b	73,23a	284,83c	15,40b	0,21a	--
A17	531,1c	85,90c	108,45a	91,85a	66,77a	49,78a	40,69a	82,52a	400,10c	19,05a	0,19a	--
C6	520,10c	82,30c	104,85a	89,15a	64,99a	49,45a	38,86b	74,67a	379,20c	16,30b	0,16a	--
D8	631,84b	98,70b	110,30a	93,90a	65,72a	45,57b	38,25b	69,47b	512,01b	24,25a	0,15a	--
Média	504,61A	85,55A	104,62A	87,92A	63,60A	46,75A	39,17B	71,41A	382,64A	18,66A	0,17B	80,68B

MF: Massa de Fruto; AF: Altura de fruto; D1F: Comprimento de Fruto; D2F: Largura de Fruto; AP: Altura de Pirênios; D1P: Comprimento de Pirênios; D2P: Diâmetro de Pirênios; MP: Massa de Pirênios; MC: Massa da Casca; EC: Espessura da Casca; RP: Rendimento dos Pirênios, RPF: Rendimento de Polpa Fresca. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na vertical não diferem estatisticamente entre si (teste t, p≤0,05).

Observou-se superioridade da matriz B7 (grupo de plantas produtoras de frutos com espinhos no endocarpo) para a maioria dos caracteres avaliados, com maiores médias para massa e altura do fruto; massa, comprimento, diâmetro e altura de pirênios e massa de casca. Outra matriz que merece destaque é a D8, no entanto esta ainda necessita de avaliação com relação ao rendimento de polpa fresca (Tabela 7).

Um parâmetro avaliado foi a herdabilidade (H^2) que, reflete a proporção da variância fenotípica que é atribuída às causas genéticas (FALCONER; MACKAY, 1996) e expressa a confiabilidade do valor fenotípico que influencia a próxima geração. A herdabilidade elevada expressa alta correlação entre o valor fenotípico e o valor genotípico. De acordo com Cruz et al. (2012) a herdabilidade é de alta magnitude quando as estimativas são iguais ou superiores a 70%. Neste estudo constatou-se H^2 variando de 0,0 a 88,40% no grupo de frutos com espinhos e 0,0 a 96% no grupo de frutos sem espinhos (Tabela 8).

Tabela 8 - Herdabilidade (H^2) para caracteres de frutos com e sem espinhos no endocarpo. Fazenda Estação Experimental Água Limpa – UFU, Uberlândia – MG, Safra 2017/2018

Caracteres	Pequis com espinhos		Pequis sem espinhos	
		H^2 (%)		H^2 (%)
MF	53,79		87,90	
AF	58,72		96,32	
D1F	0,00		45,51	
D2F	20,41		78,67	
AP	86,10		86,31	
D1P	88,40		87,49	
D2P	86,33		83,53	
MP	85,75		70,65	
MC	49,21		91,08	
EC	35,15		92,53	
RP	28,15		38,66	
RPF	88,22		0,00	

RPF: Rendimento de polpa fresca, PF: Massa de Fruto, AF: Altura de Fruto, D1F: Comprimento de Fruto, D2F: Largura de Fruto, AP: Altura de Pirênios, D1P: Comprimento de Pirênios, D2P: Diâmetro de Pirênios, MP: Massa de Pirênios, MC: Massa da Casca, EC: Espessura da Casca, RP: Rendimento de Pirênios.

Os caracteres com alta herdabilidade foram altura de pirêniros (AP), comprimento de pirêniros (D1P), diâmetro de pirêniros (D2P), massa de pirêniros (MP), e rendimento de polpa fresca (RPF) para os frutos com espinhos no endocarpo e massa de fruto (MF), altura de fruto (AF), largura de fruto (D2F), massa de pirêniros (MP), comprimento de pirêniros (D1P), diâmetro de pirêniros (D2P), massa da casca (MC) e espessura da casca (EC) para os frutos sem espinhos no endocarpo (Tabela 8).

Predizer valores de herdabilidade é útil ao considerar a seleção favorecendo certos fenótipos, principalmente, na seleção para o melhoramento de plantas. Nos caracteres de frutos de pequizeiros com alta herdabilidade descritos acima, há uma alta resposta de seleção, indicando que as matrizes apresentam valores altos para um caráter. Deve-se considerar que os valores de herdabilidade são específicos para caracteres individuais de cada população de pequizeiros, sob condições bióticas e abióticas exclusivas.

3.2 Diversidade genética em pequizeiros produtores de frutos com e sem espinhos

O pequizeiro é uma planta nativa do cerrado, cuja exploração ocorre de forma extrativista. Sendo assim, a oferta de frutos desta espécie pode ser colocada em risco, tanto pela coleta contínua dos frutos, nos períodos de produção, quanto pela não reposição de matrizes na natureza. A incidência de perdas do habitat natural do pequizeiro é um fato agravante. Nesta perspectiva a criação de bancos de germoplasma para a preservação da variabilidade genética torna-se fundamental. Além disso, o melhoramento genético da espécie favorece a criação e estímulo de investimentos em cultivos comerciais, a partir do desenvolvimento de novos genótipos que agreguem características favoráveis para o cultivo, bem como rendimento *in natura* e industrial e características organolépticas.

A caracterização e a quantificação da diversidade genética de um banco de germoplasma são essenciais para definir estratégias de ampliação da base genética da coleção em conservação, bem como o uso do germoplasma para fins de melhoramento. Neste estudo, a dissimilaridade genética expressa pela distância

euclidiana entre as 17 matrizes de pequizeiro produtores de frutos com e sem espinhos oscilou de 0,066 e 0,908 entre as matrizes B6-D6 e A14-B3, respectivamente, demonstrando a elevada diversidade genética entre os acessos (Tabela 9).

Tabela 9 - Matriz de dissimilaridade genética com base na distância euclidiana das 17 matrizes de *Caryocar brasiliense* (pequizeiro) com e sem espinhos no endocarpo. Fazenda Estação Experimental Água Limpa – UFU, Uberlândia – MG, Safra 2017/2018

Matrizes	B7	A8	B13	B25	B3	D6	D14	B29	A14	C9	B26	B20	C10	A17	C6	D8
B6	0,368	0,372	0,144	0,219	0,161	0,066	0,177	0,774	0,220	0,286	0,328	0,324	0,247	0,398	0,348	0,526
B7		0,600	0,351	0,287	0,327	0,323	0,220	0,562	0,311	0,208	0,599	0,163	0,227	0,201	0,232	0,374
A8			0,323	0,325	0,335	0,373	0,408	0,763	0,321	0,469	0,145	0,507	0,460	0,555	0,473	0,554
B13				0,151	0,175	0,105	0,161	0,726	0,193	0,277	0,322	0,273	0,243	0,375	0,323	0,484
B25					0,129	0,184	0,135	0,605	0,098	0,193	0,350	0,211	0,188	0,279	0,214	0,370
B3						0,152	0,156	0,665	0,908	0,184	0,318	0,260	0,167	0,300	0,231	0,414
D6							0,133	0,736	0,194	0,246	0,342	0,272	0,208	0,356	0,310	0,488
D14								0,628	0,163	0,179	0,400	0,192	0,164	0,264	0,225	0,395
B29									0,592	0,551	0,803	0,534	0,587	0,448	0,478	0,270
A14										0,155	0,318	0,222	0,155	0,255	0,185	0,340
C9											0,456	0,143	0,073	0,139	0,106	0,301
B26												0,510	0,440	0,555	0,472	0,576
B20													0,137	0,138	0,158	0,308
C10														0,167	0,138	0,334
A17															0,120	0,218
C6																0,243

Valores em negrito correspondem a menor (0,066) e maior (0,908) distâncias genéticas.

O método de Tocher permitiu a divisão das matrizes em três grupos (Tabela 10). Notou-se que o grupo I reuniu o maior número de matrizes, incluindo pequizeiros produtores de frutos com e sem espinhos. Os grupos II e III apresentam apenas duas matrizes cada, sendo que no grupo III concentrou-se apenas árvores produtoras de frutos sem espinhos.

Tabela 10 - Agrupamento de Tocher obtido a partir da distância euclidiana média padronizada em 17 matrizes pequizeiro para os 11 caracteres dos frutos. Fazenda Estação Experimental Água Limpa – UFU, Uberlândia – MG, Safra 2017/2018

Grupo	Matrizes
I	B6 D6 B13 D14 B3 B25 A14 C10 C9 B20 C6 A17 B7
II	A8 B26
III	B29 D8

A utilização do método de Tocher na análise da divergência genética foi também utilizado por Ramos (2010) em populações de *C. coriaceum*, revelando 6 grupos distintos. Em estudos com populações de pequizeiros do estado do Ceará, Oliveira (2009) avaliou a diversidade genética com método de Tocher, utilizando caracteres físicos do fruto.

Ainda com o objetivo de analisar o padrão de agrupamento das matrizes de pequizeiro, adotou-se o método UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean), o qual permitiu a geração do dendrograma. A correlação cofenética foi de 0,83, significativa pelo teste t ($p \leq 0,01$) indicando adequada representação gráfica das distâncias, uma vez que foi superior a 0,7 conforme sugerido por Cruz, Ferreira e Pessoni (2011). Segundo estes autores, para identificar o padrão de agrupamento a partir de um dendrograma deve-se estabelecer um ponto de corte que deve ser realizado em locais onde existe alta mudança de nível.

Ao adotar o corte em 50% das distância genéticas, o dendrograma mostrou as matrizes distribuídas em cinco grupos (Figura 8), sendo que as matrizes B29 e D8 (ambas produtoras de frutos sem espinhos) constituíram grupos individuais, revelando a potencialidade delas para trabalhos futuros de melhoramento genético.

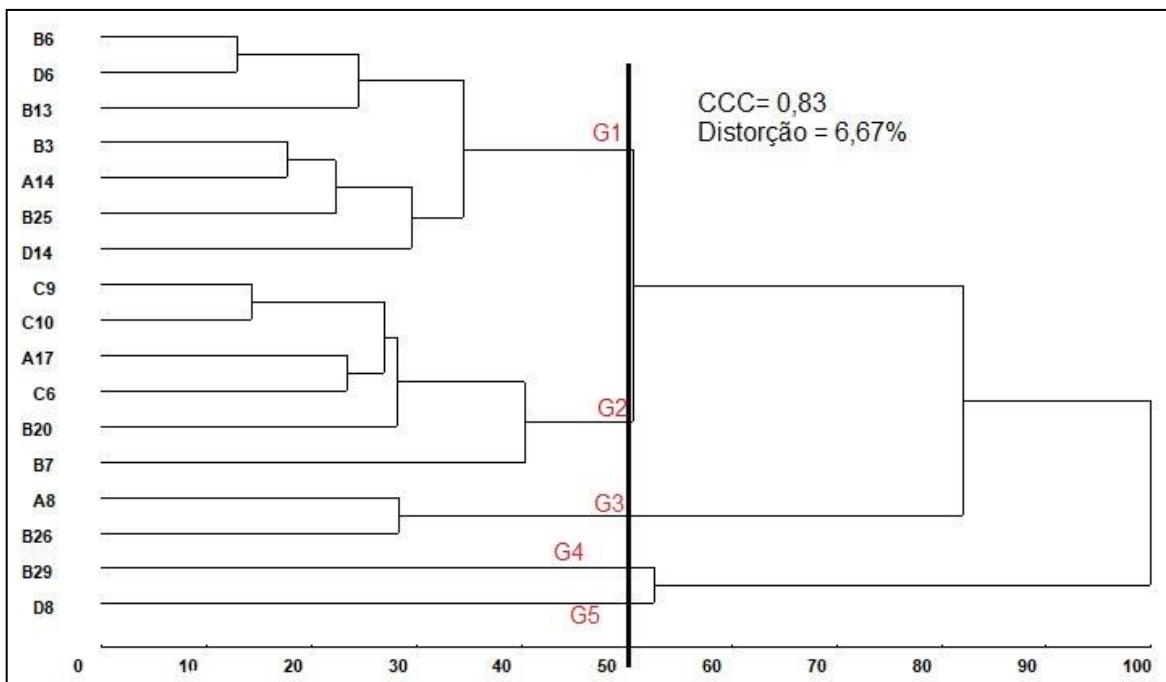


Figura 8 - Dendrograma da análise das 17 matrizes de pequi pelo método de ligação média entre grupo (UPGMA - Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) obtido a partir da distância euclidiana média padronizada para os onze caracteres morfológicos dos frutos. CCC: Coeficiente de correlação cofenética. Fazenda Estação Experimental Água Limpa – UFU, Uberlândia – MG, Safra 2017/2018.

A correlação cofenética mede o grau de ajuste entre a matriz de similaridade original e a matriz resultante da simplificação proporcionada pelo método de agrupamento (BUSSAB et al., 1990). Nesta pesquisa, o valor do coeficiente de correlação cofenética ($CCC = 0,83$) foi de elevada magnitude (Figura 8). Isto mostra que há uma boa representação das matrizes de dissimilaridade para os dados morfológicos de frutos de pequiços com e sem espinhos no endocarpo.

Visando analisar o padrão de agrupamento, foi empregada a técnica de componentes principais, a qual permite, pela dispersão gráfica dos dois primeiros componentes principais (CP1 e CP2), a distribuição das matrizes em um plano cartesiano. Para que isto seja possível é necessário que CP1 e CP2 retenham no mínimo 80% da variabilidade dos dados (CRUZ, FERREIRA, PESSONI, 2011) conforme foi obtido neste estudo (Tabela 11).

Tabela 11 - Estimativa dos autovalores associados aos componentes principais e sua variância percentual e acumulada dos 11 caracteres morfológicos em *C. brasiliense*. Fazenda Estação Experimental Água Limpa – UFU, Uberlândia – MG, Safra 2017/2018

Componente Principal	Autovalor	Variância	Variância Acumulada (%)
		(%)	
1	0,98	63,43	63,43
2	2,99	27,22	90,65
3	0,48	4,42	95,07
4	0,20	1,87	96,94
5	0,16	1,46	98,41
6	0,09	0,81	99,22
7	0,041	0,37	99,60
8	0,20	0,18	99,78
9	0,17	0,16	99,94
10	0,05	0,050	99,99
11	0,0004	0,0043	100,0

A dispersão gráfica no espaço bidimensional revelou a formação de oito grupos de pequi-eiro produtores de frutos com e sem espinhos no endocarpo (Figura 9). Em semelhança ao padrão de agrupamento obtido pelo método de UPGMA, as matrizes B29 e D8 isolaram-se em grupos individuais.

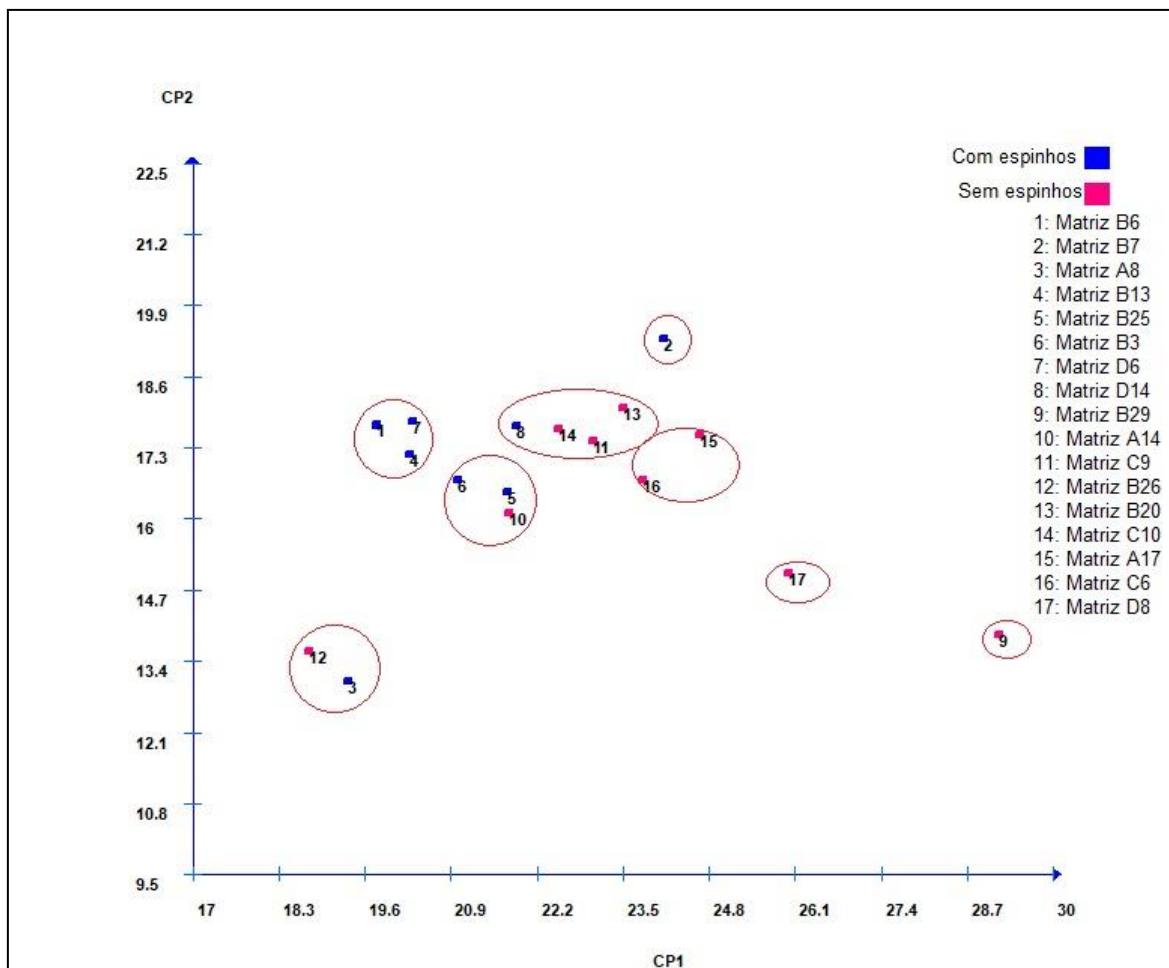


Figura 9 - Dispersão gráfica das 17 matrizes de *C. brasiliense* utilizando os dois primeiros componentes principais obtidos com onze caracteres morfológicos dos frutos de prequizeiro com e sem espinhos no endocarpo. Fazenda Estação Experimental Água Limpa – UFU, Uberlândia – MG, Safra 2017/2018

A contribuição relativa de cada caráter na divergência genética consta na Tabela 12. Pode-se verificar que os caracteres massa de fruto e massa de casca foram os mais importantes para a diversidade genética, contribuindo com 53,24% e 45,60%, respectivamente.

Tabela 12 - Contribuição relativa de caracteres fenotípicos de frutos para divergência genética em 17 matrizes de *C. brasiliense*, pelo método Singh (1981)

Caracteres	Sj	Valor (%)
Massa do Fruto	5.663.818,04	53,24
Altura do Fruto	304.437,66	0,28
Comprimento do Fruto	12.015,36	0,11
Largura do Fruto	16.996,70	0,15
Altura do Pirênio	8.304,26	0,08
Comprimento do Pirênio	4.258,84	0,04
Diâmetro de Pirênio	2.272,27	0,02
Massa do Pirênio	46.875,23	0,44
Massa da casca	4.850.628,67	45,60
Espessura da casca	4.488,82	0,04
Rendimento de Pirêniros	0,35	0,0

Sj= Diversidade

Nas análises realizadas por Ramos e Souza (2011) em *C. coriaceum*, os caracteres que apresentaram maior importância para a divergência entre e dentro das populações foram massa da casca, com contribuição de 87,72% e massa do fruto, com 8,91%, concordantes com os resultados obtidos nesta pesquisa.

Os agrupamentos gerados pelos diferentes métodos permitiram a classificação das matrizes em conjuntos distintos baseado na similaridade genética avaliada a partir de diferentes caracteres de frutos e pirêniros. Permitiram ainda identificar parentais potencialmente produtores, que poderão ser utilizados em programa de melhoramento genético da espécie.

3.3 Relação entre caracteres biométricos de frutos de pequizeiros com e sem espinhos no endocarpo

O estudo das correlações entre caracteres permite o conhecimento das alterações que ocorrem em um caráter quando se realiza a seleção em outro que lhe é correlacionado. Essa informação é útil ao geneticista, especialmente quando a seleção para um caráter é dificultada pela baixa herdabilidade ou empecilho na sua mensuração e identificação (CRUZ; REGAZZI; CARNEIRO, 2012).

A correlação fenotípica é estimada com base em dados diretamente mensurados, podendo ser de causa genética ou ambiental. A causa da correlação genética pode ser o pleiotropismo, fenômeno pelo qual um gene influencia dois ou mais caracteres. As ligações gênicas também podem ser causa de correlação genética, no entanto essa correlação é transitória e ocorre principalmente em populações derivadas de cruzamentos entre genótipos divergentes (FALCONER; MACKAY, 1996). As regulações epigenéticas também podem contribuir com a diversidade genética observada em diferentes populações de pequizeiros e entre frutos de uma mesma população.

Na Tabela 13 estão as correlações genética e fenotípica para os caracteres avaliados em frutos de *C. brasiliense* com e sem espinhos no endocarpo. Para sua interpretação, deve-se levar em consideração a magnitude, a significância e a direção (CRUZ; REGAZZI; CARNEIRO, 2012).

Tabela 13 – Correlações genética (abaixo da diagonal) e fenotípica (acima da diagonal) entre os caracteres morfológicos de pequis com e sem espinhos no endocarpo. Fazenda Estação Experimental Água Limpa – UFU, Uberlândia – MG, Safra 2017/2018.

Frutos de pequizeiro com espinhos no endocarpo											
	MF	AF	D1F	D2F	AP	D1P	D2P	MP	MC	EC	RP
MF		0,9322**	0,7311*	0,6808	0,7034	0,6866	0,6950	0,7906*	0,9776**	0,6843	-0,1027
AF	1,0000++		0,5598	0,6479	0,7018	0,6646	0,6665	0,4806*	0,9010**	0,6509	-0,0781
D1F	---	---		0,5525	0,3895	0,3818	0,5660	0,4404	0,7715*	0,6948	-0,3820
D2F	---	---	-0,5385		0,4666	0,7263*	0,3540	0,5847	0,6627	0,6028	-0,0823
AP	0,8747	0,7506	---	---		0,9168**	0,9112**	0,9831**	0,5490	0,0789	0,5737
D1P	0,8334	0,7097	---	---	0,9423+		0,7740*	0,9405**	0,5417	0,1380	0,5396
D2P	0,7985	0,6674	---	---	0,9379	0,7529		0,8800**	0,5608	0,0793	0,4402
MP	0,9769+	0,8673	---	---	1,0000++	0,9531	0,8931		0,6510	0,2012	0,4830
MC	0,9695+	0,9937+	---	---	0,6151	0,6037	0,5726	0,7384		0,8092*	-0,3054
EC	0,8183	0,7202	---	---	-0,2340	-0,0514	-0,2633	-0,0388	0,9881++		-0,7425*
RP	0,5655	0,1460	---	---	0,9756+	0,8601	0,7691	0,7634	0,247	-1,8227++	

Frutos de pequizeiro sem espinhos no endocarpo											
	MF	AF	D1F	D2F	AP	D1P	D2P	MP	MC	EC	RP
MF		0,9828**	0,8896**	0,9581**	0,7672*	0,1135	0,2920	0,4498	0,9933**	0,9186**	-0,8363**
AF	1,0000++		0,8523**	0,9322**	0,7109*	0,0310	0,2116	0,3560	0,9902**	0,9602**	-0,8421**
D1F	1,0000++	1,0000++		0,9554**	0,9506**	0,4653	0,6541	0,7754*	0,8392**	0,7380*	-0,5007
D2F	0,9896+	0,9672	1,0000++		0,8637**	0,3573	0,4498	0,6274	0,9292**	0,8441**	-0,6744*
AP	0,8494	0,7298	1,0000++	0,9299		0,6141	0,7242*	0,8710**	0,6988*	0,5515	-0,3148
D1P	0,1368	0,0188	0,7352	0,4001	0,6053		0,7403*	0,8591**	0,0097	-0,1154	0,3392
D2P	0,3132	0,2029	0,9687+	0,4887	0,7237	0,7449		0,9176**	0,1937	0,0379	0,2098
MP	0,5409	0,3709	1,0000++	0,7244	0,8932	0,8764	0,9497		0,3497	0,1911	0,0707
MC	0,9959++	1,0224++	0,9845+	0,9568	0,7569	0,0131	0,1930	0,4049		0,9459**	-0,8796**
EC	0,9772+	0,9818	0,9995++	0,8930	0,5686	-0,1395	0,0181	0,1843	0,9910+		-0,8606**
RP	-1,0000++	-1,0000++	-0,2566	-1,0000++	-0,7750	0,3738	0,2042	-0,2367	-1,0000++	-1,0000++	

MF: Massa de Fruto; AF: Altura de fruto; D1F: Comprimento de Fruto; D2F: Largura de Fruto; AP: Altura de Pirênios; D1P: Comprimento de Pirênios; D2P: Diâmetro de Pirênios; MP: Massa de Pirênios; MC: Massa da Casca; EC: Espessura da Casca; RP: Rendimento dos Pirênios. ** e * Significativo a 1% e 5% de probabilidade pelo teste t; ++ e + Significativo a 1% e 5% pelo método de Bootstrap com 500 simulações

Observou-se a ocorrência de 15 correlações significativas, pelo Teste t ($p \leq 0,05$), para caracteres de frutos de pequizeiros com espinhos no endocarpo e 31 correlações significativas, pelo Teste t ($p \leq 0,05$), para carateres de frutos de pequizeiros sem espinhos no endocarpo (Tabela 13). Estes resultados indicam um alto grau de associação entre alguns caracteres avaliados.

Correlações genotípicas acima de 0,70 são consideradas altas, porém é possível realizar seleção indireta quando elas se encontram acima de 0,50 (LOPES et al., 2002). Verificou-se coeficientes de correlação iguais a zero entre alguns dos caracteres estudados (Tabela 13) em frutos de pequizeiros com espinhos no endocarpo. No entanto isso não demonstra falta de relação, mas sim a ausência de relação linear entre eles (CRUZ; REGAZZI; CARNEIRO, 2012).

As correlações fenotípicas e genotípicas são úteis ao melhorista na definição das estratégias de seleção, especialmente para os de baixa herdabilidade. Notou-se que o rendimento de pirênios (RP) apresentou baixa herdabilidade em ambos os grupos de pequizeiros (Tabela 8) e este caráter foi correlacionado negativamente com espessura da casca (EC) (Tabela 8). Assim para a seleção de frutos com maior rendimento de polpa deve-se selecionar frutos com menores estimativas de espessura de casca. Para a maioria dos caracteres, as correlações genotípicas foram superiores às fenotípicas e tiveram a mesma direção para os caracteres de frutos de pequizeiros com ou sem espinhos no endocapo (Tabela 13).

3.4 Análises físico-químicas

As análises físico-químicas realizadas foram pH, acidez titulável total (ATT) e umidade. O pH e a acidez titulável total tem sido determinada para avaliar a qualidade de alimentos de origem vegetal destinados ao processamento industrial. Ao passo que a umidade está relacionada com a qualidade microbiológica em processos de armazenamento. Em frutos de pequizeiros com e sem espinhos no endocarpo, os caracteres físico-químicos apresentaram diferenças significativas (Teste t, $p \leq 0,05$) apenas para o pH da casca (Tabela 14). Os demais parâmetros avaliados não apresentaram diferenças significativas, pelo Teste t, ao nível de 5% de probabilidades, entre os grupos com e sem espinhos.

Tabela 14 – Análises físico-químicas de casca, polpa e amêndoas de pequi com e sem espinhos no endocarpo, em estádio de maturação completa. Estação Experimental Fazenda Água Limpa - UFU, Uberlândia – MG, Safra 2017-2018

Parâmetros físicos	Com espinhos		Sem espinhos		t_{cal}
	CV(%)	Média	CV(%)	Média	
Casca					
pH	0,13	4,70±0,36	0,09	4,11±0,30	5,08*
Umidade	2,76	83,88±1,72	2,17	85,30±1,56	2,02 NS
ATT	0,008	2,76±0,09	0,003	2,78±0,05	0,33 NS
Polpa					
pH	0,08	7,03±0,29	0,034	7,00±0,18	0,30 NS
Umidade	54,96	55,48±8,50	36,02	61,65±5,86	2,04 NS
ATT	0,01	0,65±0,11	0,00	0,75±0,00	1,63 NS
Amêndoas					
Umidade	2,11	49,04±1,44	4,20	50,04±2,41	1,26 NS
ATT	0,04	0,98±0,21	0,01281	1,24±0,11	1,87 NS

ATT: Acidez total titulável, CV: Coeficiente de variação; *: significativo a 5% pelo teste t, NS: Não significativo a 5% pelo teste t.

O pH da casca foi de 4,70 para pequis com espinhos e 4,11 para pequis sem espinhos (Tabela 14), sendo a casca considerada de média acidez, resultados próximos ao reportado por Costa et al. (2017) que verificaram valor de pH de 4,25.

Os valores de pH determinados para a polpa (7,03 e 7,0), em ambos os grupos de frutos estão de acordo com o descrito por Paz et al. (2014) em frutos com espinhos no endocarpo.

A porcentagem de umidade encontrados para a casca, em ambos os grupos, de 83,88% e 85,30% para frutos com e sem espinhos no endocarpo (Tabela 14), respectivamente, estão próximos ao determinado por Costa et al. (2017) que obtiveram 88,60% de umidade. A umidade da polpa de frutos com endocarpo espinhoso (Tabela 14) foi próximo ao relatado por Vera et al. (2007) e Paz et al. (2014), os quais verificaram teores de umidade de 54,4% e 52,4%, em frutos com espinhos no endocarpo. Para a amêndoa, os valores de umidade de 49,04% e 50,04% para frutos com e sem espinhos no endocarpo, respectivamente, foram superiores ao descrito por Damiani et al. (2013) e Lima et al. (2007) os quais relataram, respectivamente, 25,1% e 8,68% de umidade em frutos com espinhos.

Em razão do teor de umidade dos frutos de pequi, tanto com espinhos quanto sem espinhos no endocarpo, serem elevados (Tabela 14), o caráter deve ser avaliado ao considerar tecnologias de armazenamento e processamento dos frutos de forma a garantir a sua estabilidade (RIGUEIRA, 2003). Considerando a umidade um parâmetro importante, altas concentrações de água no alimento resultam na diminuição do tempo de prateleira e no comprometimento da sua qualidade (PEREIRA et al., 2003).

A determinação da acidez total em alimentos é importante, pois a partir dela pode-se obter dados para a apreciação do processamento e do estado de conservação dos alimentos, enquanto que umidade das amostras vegetais está relacionada com as estabilidades física, química e microbiológica (MOURA et al., 2013). Os valores de acidez total (Tabela 14) verificados em frutos de pequi, com e sem espinhos no endocarpo foram relativamente próximos ao determinado por Paz et al. (2014) para polpa (0,70) de pequis com espinhos.

3.5 Composição nutricional

O pequi por ser fonte de nutrientes é importante para a alimentação, principalmente para populações carentes. Entretanto, o período de oferta dos frutos e as diferentes épocas de maturação associados à variabilidade das condições

ambientais, sobretudo a temperatura e umidade relativa do ar nas regiões do Cerrado, conferem aos frutos diferentes propriedades físicas e químicas (VERA et al., 2005; VERA et al., 2007). Diante disso, avaliou-se o teor nutricional de casca, polpa e amêndoas dos pequis com e sem espinhos no endocarpo.

Observou-se diferenças significativas, pelo teste t ($p \leq 0,05$) para o teor de carboidratos na casca; carboidratos, compostos fenólicos e cinzas na polpa e carboidratos na amêndoas (Tabela 15).

Tabela 15 – Composição nutricional de casca, polpa e amêndoas de frutos de pequizeiro (*C. brasiliense*) com e sem espinhos no endocarpo, em estádio de maturação completa, obtidos em base úmida. Estação Experimental Fazenda Água Limpa - UFU, Uberlândia – MG, Safra 2017-2018

Composição Nutricional	Com espinhos		Sem espinhos
	Média	Média	t_{cal}
CASCA			
Carboidratos (%)	21,10±19,04	31,06±14,63	5,40*
Compostos fenólicos (EAG)	602,30±37,31	531,68±62,85	1,35 NS
Lipídios (%)	0,54±0,38	0,48±0,43	0,19 NS
Cinzas (%)	0,76±0,79	0,54±0,08	0,49 NS
Proteínas (%)	1,50±0,05	1,14±0,37	1,68 NS
POLPA			
Carboidratos (%)	21,10±3,14	42,95±2,92	8,81*
Compostos fenólicos (EAG)	902,12±15,52	566,59±74,67	7,62*
Lipídios (%)	37,90±10,6	56,51,25	1,35 NS
Cinzas (%)	0,55±0,06	1,27±0,14	8,17*
Proteínas (%)	5,01±0,37	4,55±0,40	1,45 NS
Vitamina C (mg.100g ⁻¹)	12,04±4,17	17,25±4,27	1,51 NS
AMÊNDOA			
Carboidratos (%)	7,74±1,87	19,99±3,02	5,97*
Lipídios (%)	49,31±3,19	49,34±2,26	0,013 NS
Cinzas (%)	5,10±1,21	6,00±1,47	0,79 NS
Proteínas (%)	26,59±6,99	30,88±1,73	1,02 NS
Vitamina C (mg.100g ⁻¹)	22,57±4,88	19,41±4,80	0,80 NS
Valor energético		VET pequim com espinhos	VET pequim sem espinhos
energético	Polpa	Casca	Amêndoas
VET (Kcal)/100g	445,62	105,93	581,13
VET (KJ)/100g	1864,47	443,22	2431,46

VET: Valor energético total; EAG: equivalente de ácido gálico; t_{cal} : Valor T calculado (5%); *:

Significativo a 5% pelo teste T, NS: Não significativo a 5% pelo teste t

A quantidade de carboidratos encontrados na polpa de pequis sem espinhos foi, aproximadamente, duas vezes maior do que na polpa de pequi com espinhos

(Tabela 15). O resultado encontrado para carboidratos em polpa de pequi com espinho (21,10%) está de acordo com os obtidos por Macedo et al. (2011) que determinaram 19,8%, também em polpa de pequis com espinhos no endocarpo, pelo mesmo método empregado (fenol-sulfúrico) nesta pesquisa. Entretanto, estes autores obtiveram 23,8% de carboidratos por diferença. Paz et al. (2014) obtiveram 3,4% de carboidratos (por diferença) e 9,4% (fenol sulfúrico) em base úmida e 7,2% (por diferença) e 19,8% (método fenol sulfúrico) em base seca, em polpas de pequi com espinhos.

Os frutos de pequizeiros, tanto os que apresentam frutos com endocarpo espinhoso quanto os sem espinhos, apresentaram grandes quantidades de compostos fenólicos totais. Nas polpas foram obtidos 902,12 mg 100g⁻¹ (equivalentes de ácido gálico - EAG) em frutos com espinhos e 566,59 mg 100g⁻¹ (EAG) em frutos sem espinhos. As menores concentrações de compostos fenólicos foram obtidos nas cascas, sendo 21,10 mg 100g⁻¹ (EAG) em frutos com espinhos e 31,06 mg 100g⁻¹ (EAG) em frutos sem espinhos no endocarpo (Tabela 15). Lima et al. (2007), em pesquisa desenvolvida com pequi proveniente do estado do Piauí, constataram teores apreciáveis de fenólicos no fruto (209,0 mg 100g⁻¹) e Paz et al (2014) encontraram quantidade de 531,5 mg 100g⁻¹.

Os teores de lipídios na polpa de pequis com (37,90%) e sem (56,51%) espinhos não mostraram diferenças significativas, pelo teste t, ao nível de 5% de probabilidades (Tabela 15), no entanto os valores obtidos foram superiores aos descritos por Macedo et al. (2011) e Paz et al. (2014) em frutos com espinhos, 29,7% e 31,5%, em base úmida. O óleo de pequi é um componente químico presente em grande quantidade e que, devido a suas propriedades químicas e ação antioxidante, o torna matéria prima para a indústria cosmética (SILVA, 1994).

O alto teor de cinzas nas amêndoas dos pequis com (5,10%) e sem espinhos (6,0%) foram superiores aos descritos por Ramos e Souza (2011) nas amêndoas dos frutos de *Caryocar coriaceum*, média de 2,44%. O teor de cinzas foi de 0,5% e 1,2% para pequis com e sem espinhos, respectivamente. Valor similar ao obtido por Macedo et al. (2011) e Paz et al. (2014) os quais obtiveram 0,5% e 0,7% de matéria mineral em polpa de pequi com espinhos. Na casca foi verificado 0,7% e 0,5% do teor de cinzas, respectivamente, nos frutos com e sem espinhos, valores próximos aos relatados por Costa et al. (2017) de 0,43%.

Como os minerais foram encontrados predominantemente nas amêndoas (Tabela 15), é importante a atenção para seu aproveitamento na nutrição humana. Os teores de cinzas representam a quantidade de minerais essenciais para a formação do vegetal. Além disso, podem representar possíveis contaminações com impurezas inorgânicas, a exemplo de metais e sílica (MOURA et al., 2013).

O valor de proteínas na polpa de ambos os grupos de frutos com e sem espinhos foram de 5,01% e 4,55%, respectivamente (Tabela 15), inferiores ao valor encontrado por Ferreira et al. (1987) que verificaram 6,71% de proteínas em polpas de pequis com espinhos. A concentração de proteínas foi levemente superior às descritas por Santos et al. (2005) e Paz et al. (2014), os quais analisaram polpa de pequi com espinhos e encontraram, respectivamente, 2,6% e 2,4%. Oliveira et al. (2006) determinaram os teores proteicos da polpa do pequi com espinhos e constataram uma variação de 3,54 a 4,04%.

As amêndoas, tanto dos pequis com espinhos quanto dos pequis sem espinhos, mostraram altas concentrações de proteínas, sendo 26,59% (com espinhos) e 30,88% (sem espinhos) (Tabela 15), valores relativamente próximos ao descrito por Ferreira et al. (1987) para amêndoas de pequi com espinhos (24,6%).

Os teores de vitamina C (ácido ascóbico) foram obtidos na polpa e nas amêndoas, na casca não foi possível identificar teores de vitamina C pelo método empregado. Na polpa foram encontrados 12,04 mg 100g⁻¹ em pequis com espinhos e 17,25 mg 100g⁻¹ em pequi sem espinhos (Tabela 15). Esses valores inferiores aos obtidos por Santos et al. (2005) e Paz et al. (2014), que encontraram 78,7 mg 100g⁻¹ e 45,0 mg 100g⁻¹ em polpas de pequis com espinhos no endocarpo, em base úmida.

O pequi é considerado uma importante fonte de nutrientes e valor energético (Tabela 15). Ao considerar para um humano adulto uma dieta de 2.000 Kcal, 100 g de polpa de pequi com ou sem espinhos podem fornecer, respectivamente, 22,28% e 34,93% das recomendações energéticas diárias. Os resultados da presente pesquisa mostram que a contribuição energética da polpa do fruto do pequi foi de 4,22% de carboidratos, 17,05% de lipídios e 1,00% de proteínas nos frutos com espinhos e na polpa do pequi sem espinhos 8,59% correspondem aos carboidratos, 25,43% aos lipídios e 0,91% às proteínas.

As amêndoas dos pequis com e sem espinhos também são fontes importantes de energia podendo fornecer, respectivamente, 19,05% e 28,37% do valor energético total. Nas amêndoas do pequi com espinhos 1,53% corresponde aos carboidratos, 22,19% aos lipídios e 5,32% às proteínas e nas amêndoas do pequi sem espinhos, 0,89% de carboidratos, 22,20% de lipídios e 6,17% de proteínas.

A casca dos frutos são resíduos que, em sua grande maioria, são descartados sem nenhum aproveitamento. A casca corresponde a maior parte da massa total dos frutos (Tabela 7) e, devido a sua composição nutricional, pode ser utilizada para o processamento em produtos com valor agregado, como por exemplo, fabricação de farinhas para a complementação ou substituição de ingredientes em panificações, alimentação animal ou fertilizantes.

Pesquisas relacionadas ao uso da farinha da casca de pequi indicam valor considerável de cinzas (2,32%), compostos fenólicos ($1,16 \text{ mg g}^{-1}$) (COSTA; PINTO; SOARES, 2017). O teor de carboidratos totais na farinha (50,94%) também é superior ao da polpa (19,66%) (COUTO, 2007). Segundo este autor o teor de proteína na farinha de casca de pequi (5,76%) é superior ao da farinha de mandioca (1,76%) e o teor de lipídios na farinha de casca de pequi (1,54%) apresenta valores próximos ao da farinha de trigo (1,3%).

3.6 Pigmentos

A coloração da polpa do pequi varia do amarelo claro ao alaranjado intenso, tendo como preferência para o consumo os frutos com coloração mais escura. Os pigmentos responsáveis pela tonalidade da polpa do pequi são os carotenoides (OLIVEIRA, 2006). Neste estudo notou-se que há diferença de cor entre os dois grupos de pequis, sendo que pirênios sem espinhos apresenta coloração amarela clara enquanto que os frutos com espinhos possuem cor alaranjada (Figura 1G).

No pequi, além do tamanho e espessura dos pirênios, a coloração da polpa é utilizada como critério de seleção dos frutos mais vistosos. Os pigmentos são substâncias com diferentes estruturas químicas, que estão presentes sob a forma de pigmentos de porfirina, carotenoides, antocianinas e flavonas (COSTACHE et

al., 2012). Entre os carotenoides identificados em frutos e legumes, o β-caroteno é o mais predominante.

Foram encontradas altas concentrações de β-caroteno nas polpas de pequi, especialmente nos frutos com endocarpo espinhoso, cuja média foi de 21,50 mg 100g⁻¹, significativamente (Teste t, p≤0,05) superior aos frutos de endocarpo sem espinhos (8,70 mg 100g⁻¹) (Tabela 16). Os demais caracteres avaliados não apresentaram diferença significativa, pelo Teste t ao nível de 5% de significância, entre os grupos de pequis com e sem espinhos no endocarpo.

Tabela 16 – Concentração dos pigmentos encontrados em frutos de pequi com e sem espinhos no endocarpo no estádio de maturação completa. Estação Experimental Fazenda Água Limpa - UFU, Uberlândia – MG, Safra 2017-2018

Caracteres	Com espinhos		Sem espinhos		
	Variância	Média	Variância	Média	t _{cal}
-----Polpa-----					
β-caroteno	42,74	21,50	8,70	9,17	2,97*
Licopeno	9,49	9,59	--	--	
-----Casca interna-----					
β-caroteno	1,36	1,34	0,60	1,95	0,094 ^{NS}
Clorofila a	0,17	0,92	0,02	0,95	1,09 ^{NS}
-----Casca Externa-----					
β-caroteno	0,21	1,65	1,15	3,52	0,76 ^{NS}
Clorofila a	25,84	19,30	2,37	32,89	1,62 ^{NS}
Clorofila b	31,30	22,50	34,08	39,46	0,88 ^{NS}

*: significativo a 5% pelo teste t, ^{NS}: não significativo a 5% pelo teste t, --: não quantificado

Vilas Boas et al. (2013) encontraram concentrações de 3,0 mg 100g⁻¹ e Paz et al. (2014) 5,4 mg 100g⁻¹ de β-caroteno em polpa de pequi com endocarpo espinhoso, valor inferior ao apontado no atual estudo. O β-caroteno é um antioxidante precursor da vitamina A, está presente de forma abundante em alimentos de coloração amarelo-alaranjada, como nos frutos do pequizeiro.

Tanto na casca interna (mesocarpo externo) quanto na casca externa (pericarpo) evidenciou-se a presença de pequena quantidade de β-caroteno. Teores de licopeno foram encontrados apenas na polpa dos frutos com endocarpo espinhoso, que foi, em média de 9,59 mg 100g⁻¹ (Tabela 16). Oliveira et al. (2006)

verificaram concentrações de β -caroteno variando de 6,26 mg 100g⁻¹ a 11,4 mg 100g⁻¹ e licopeno de 1,12 mg 100g⁻¹ a 2,08 mg 100g⁻¹ em polpas de pequis que possuem espinhos no endocarpo.

As clorofilas são os pigmentos naturais mais abundantes presentes nas plantas e ocorrem nos cloroplastos das folhas e em outros tecidos vegetais, como nas cascas do pequi, sendo responsáveis pela sua coloração. A clorofila-a está presente em todos os organismos que realizam fotossíntese, enquanto que a clorofila-b é um pigmento acessório que auxilia na absorção de luz e na transferência da energia aos centros de reação (STREIT et al., 2005).

Pela Tabela 16, evidencia-se os teores de clorofilas (a e b) nas cascas externas e internas dos frutos, sendo a clorofila-b presente apenas na casca externa. Uma aplicação prática das clorofilas é sua utilização como corante natural, tanto em alimentos como em produtos farmacêuticos e suplementos alimentares (GOLDBERG, 1994; VOLP et al., 2009).

Do ponto de vista biológico, estudos têm demonstrado que as clorofilas apresentam propriedades antimutagênicas, antigenotóxicas (FERRUZZI et al., 2002; Lila, 2004; OSUNA-RUIZ et al., 2016) e antioxidantes (HSU et al., 2005; VOLP et al., 2009; WANG; WINK, 2016; KANG et al., 2017). Fahey et al. (2005) demonstraram que as clorofilas têm a capacidade de induzir genes citoprotetores, os quais protegem as células contra os danos oxidativos provocados pelos radicais livres.

A casca do pequi é um subproduto que não apresenta valor comercial, sendo descartada como resíduo. As pesquisas apontam o uso da casca para a produção de farinha, mas ela pode ser aproveitada, também, para a extração da clorofila. Mesmos maduros os frutos possuem a casca com coloração verde, assim a alternativa de aproveitamento da casca para extração das clorofilas pode ser viável.

3.7 Cultivo *in vitro* de pequizeiro

3.7.1 Controle da contaminação de explantes foliares

As sementes de pequizeiros possuem baixa taxa de germinação e para obter metodologia de propagação *in vitro*, realizou-se procedimentos de regeneração de explantes foliares de pequizeiro produtores de frutos sem espinhos no endocarpo. Inicialmente, otimizou-se um protocolo para a desinfecção dos explantes foliares oriundos de matrizes cultivadas em casa de vegetação. Verificou-se que em alguns tratamentos a presença de fungos e bactérias (Figura 10).



Figura 10 – Explante de folhas de pequizeiros sem espinhos no endocarpo, contaminadas por fungos e bactérias, cultivado em meio de cultura WPM. Fungos (A-B), bactérias (C). Fonte: Do autor

O resumo da análise de variância para os dados de contaminação dos explantes foliares de pequizeiro encontra-se na Tabela 17. Foi possível identificar diferença significativa apenas para a concentração de hipoclorito de sódio, pelo Teste F ao nível de 5 % de significância.

Tabela 17 - Resumo da análise de variância para contaminação de explantes foliares de pequizeiro aos 15 dias de cultivo em meio de cultura WPM

Fatores de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr > Fc
Concentrações de hipoclorito	4	0,20123	0,050308	28,8529	0,0000**
Tempo de imersão	4	0,01260	0,003151	1,8069	0,12840 ^{NS}
Hipoclorito x Tempo	16	0,02031	0,001269	0,7279	0,76402 ^{NS}
Resíduo	225	0,39231	0,001744		
Total	249	0,62645			
CV = 2,75%					

NS: não significativo; ** significativo a 5% de probabilidade pelo teste de F.

Os tratamentos de descontaminação foram satisfatórios e eficientes quando utilizou-se concentrações de hipoclorito de sódio 7,5% e 10,0%, independente do tempo de imersão (Tabela 18).

Tabela 18 – Porcentagem de contaminação de explantes foliares de pequizeiros para o cultivo *in vitro*

[NaClO]	Tempo de imersão					
	5 min	10 min	15 min	20 min	30 min	Média
NaClO 0,0%	90,00	80,00	100,00	100,00	100,00	94,0%a
NaClO 2,5%	90,00	90,00	50,00	60,00	60,00	70,0%ab
NaClO 5,0%	70,00	50,00	40,00	30,00	40,00	48,0%ab
NaClO 7,5%	30,00	30,00	30,00	10,00	30,00	26,0%b
NaClO 10,0%	40,00	20,00	20,00	10,00	0,000	18,0%b
Média	64,0%A	54,0%A	48,0%A	42,0%A	46,0%A	

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na horizontal e minúsculas na vertical não diferem estatisticamente entre si ($p \leq 0,05$), pelo teste Tukey.

O estabelecimento *in vitro* de espécies florestais tem como obstáculo a contaminação, pois na maioria das vezes o material vegetal utilizado como fonte de explantes pode vir direto do campo, contendo altas concentrações de microrganismos. Em explantes foliares de pequizeiro destinado ao cultivo *in vitro* Landa et al. (2000) utilizaram hipoclorito de sódio 30% por 15 minutos para a desinfecção. Em estudos desenvolvidos por Andrade (2002), foi verificado o efeito negativo da competição por nutrientes entre plantas e microrganismos, bem como

pelas substâncias tóxicas liberadas pelos patógenos no meio de cultura. O uso do hipoclorito de sódio como prática no controle de contaminações é recomendado, no entanto, o período de imersão do explante e a concentração do hipoclorito de sódio podem variar conforme o tipo e idade do explante (ANDRADE, 2002).

3.7.2 Controle da oxidação de explantes foliares

A presença de compostos fenólicos em espécies lenhosas dificulta os processos de regeneração *in vitro* por promoverem a oxidação dos explantes (CARVALO; VIDAL, 2003). Em pequizeiro, o processo de oxidação torna-se mais intenso, pois este tipo de planta é rico em compostos fenólicos, que estão relacionados com a produção de lignina (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998). Desta forma, a determinação de protocolos para o controle da oxidação é essencial para o sucesso do cultivo *in vitro* de determinadas espécies (MELO et al., 2001).

Neste estudo verificou-se efeito significativo, pelo Teste F ao nível de 5 % de significância, entre os antioxidantes empregados para o estabelecimento *in vitro* de explantes foliares de pequizeiro sem espinhos (Tabela 19).

Tabela 19 – Resumo da análise de variância para os dados de oxidação de explantes foliares de pequizeiros submetidos a diferentes tratamentos para o cultivo *in vitro*

Fonte de variação	G.L.	QM
Tratamento	10	10719,70**
Resíduos	99	275,00
CV (%) = 27,38		

**: significativo a 5% de probabilidade pelo teste de F

Observou-se diminuição da oxidação à medida que foram aumentadas as concentrações dos antioxidantes carvão ativado, ácido cítrico e PVP (Tabela 20).

Tabela 20 – Porcentagem de oxidação dos explantes foliares de pequizeiros para o cultivo *in vitro*

Tratamentos	Médias
1,0 g L ⁻¹ de carvão ativado	42,12b
2,0 g L ⁻¹ de carvão ativado	40,37bc
3,0 g L ⁻¹ de carvão ativado	18,25c
50,0 mg L ⁻¹ de ácido cítrico	100,00a
100,0 mg L ⁻¹ de ácido cítrico	96,50a
200,0 mg L ⁻¹ de ácido cítrico	43,02b
200,0 mg L ⁻¹ de PVP	55,75b
400,0 mg L ⁻¹ de PVP	52,37b
800,0 mg L ⁻¹ de PVP	17,82c
Sem antioxidantes no escuro	100,00a
Sem antioxidantes no claro	100,00a

PVP: Polivinilpirrolidona. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Teste t, p ≤ 0,05)

O uso de 3,0 g L⁻¹ de carvão ativado e 800,0 mg L⁻¹ de PVP foram os tratamentos mais eficientes para a diminuição da oxidação dos explantes foliares de pequizeiro produtores de frutos sem espinhos no endocarpo, quando submetidos às condições de cultivo *in vitro*. O tratamento com a utilização de 50,0 g L⁻¹ de ácido cítrico, o tratamento sem oxidantes no escuro e o tratamento sem oxidantes no claro foram os que apresentaram 100% dos explantes oxidados (Tabela 20).

3.7.3 Interação entre diferentes reguladores de crescimento na diferenciação celular dos explantes foliares

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 4) realizados não mostraram a capacidade dos explantes foliares de pequizeiros em formar raízes, calos ou brotos, nas condições testadas. Este resultado pode ter sido observado pela falta de sensibilidade do explante em responder aos estímulos induzidos pelas auxicinas e citocininas, adicionadas ao meio de cultura. Nestes três experimentos ocorreu a morte do explante e ao final de 60 dias foi possível observar muitos explantes enrugados, entretanto, este enrugamento não foi devido 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). No entanto foi observado a capacidade de regeneração dos explantes foliares de pequizeiro em formar calos, nas condições do experimento 1 (Figura 11).

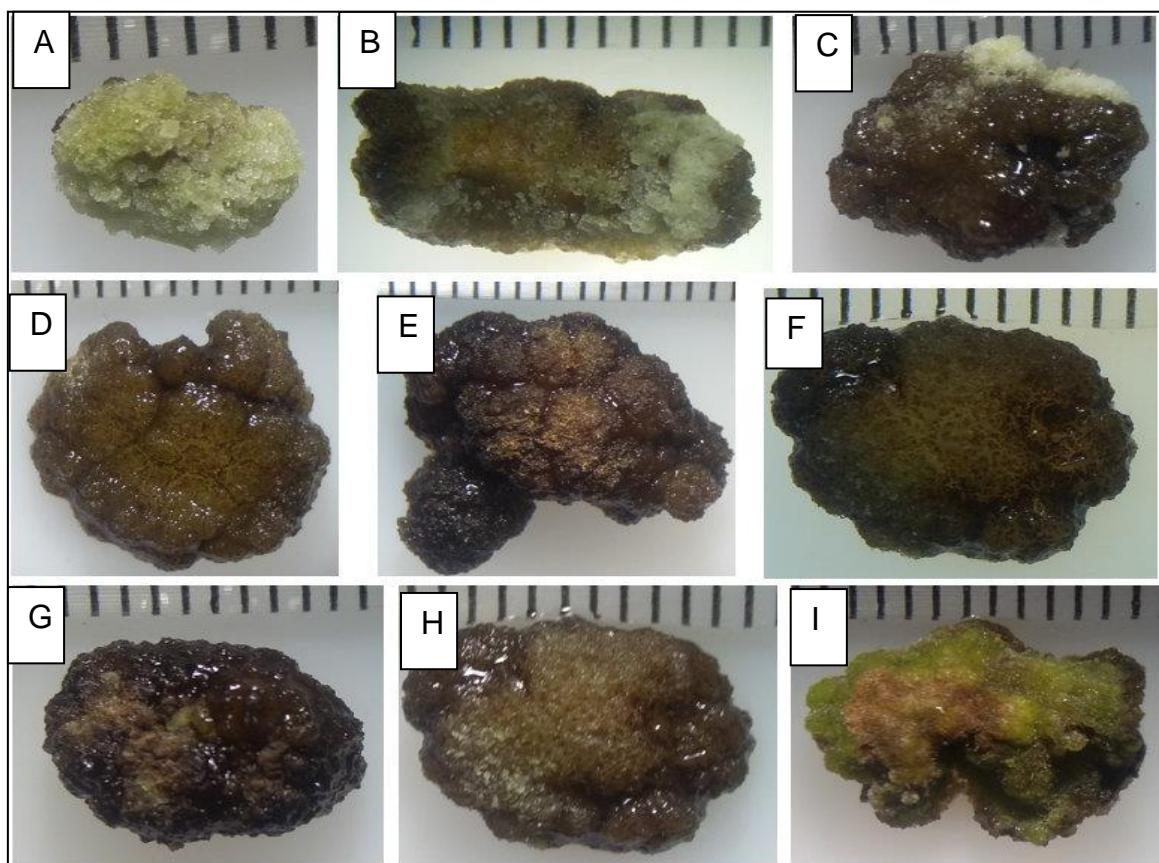


Figura 11 – Calos obtidos a partir de explantes foliares de pequizeiros submetidos a diferentes reguladores de crescimento em meio de cultura WPM. A-B: Calos embriogênicos, C: Calo oxidado com pequenas porções embriogênicas, D-H: Calos oxidados, I: Calo fotossintético. Fonte: Do autor

A mesma fonte de explante pode apresentar comportamentos diferentes, mesmo quando submetida às condições idênticas. Conforme observado por Landa et al. (2000), os explantes apresentaram comportamentos como enrugamento da folha, calos compactos e coloração variando entre o branco, verde, marrom e acinzentado (Figura 11). Estes resultados mostram a ação dos diferentes reguladores de crescimento sobre o metabolismo dos explantes foliares de pequizeiros no estabelecimento *in vitro*, mostrando que o tecido apresenta competência celular.

Observou-se a formação de calos em explantes foliares de pequizeiro produtores de frutos sem espinhos a partir do 25º dia de estabelecimento *in vitro* no meio de cultivo WPM, 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 ($2,0 \text{ mg.L}^{-1}$) e BAP ($0,5 \text{ mg L}^{-1}$ ou $1,0 \text{ mg L}^{-1}$).

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 de raízes a partir de explantes foliares de pequizeiro (Figura 12).

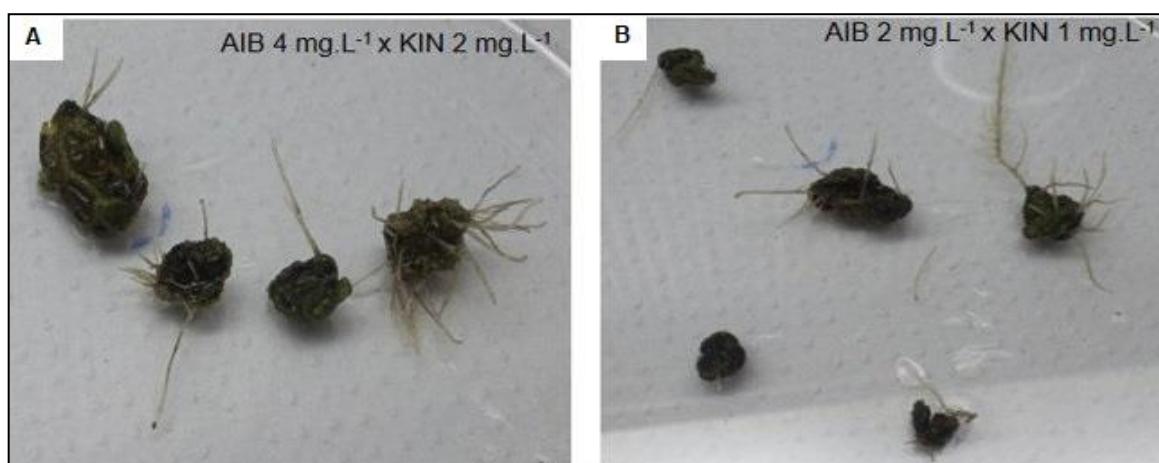


Figura 12 – Organogênese de explantes foliares de pequizeiro submetidos as diferentes concentrações de AIB e KIN para a regeneração de raízes. KIN: Cinetina, AIB: Ácido-3-Indol butírico. Fonte: Do autor

Nos experimentos para a regeneração *in vitro* de explantes foliares de pequi-eiro produtores de frutos sem espinhos no endocarpo, não foi verificada a presença de raízes e/ou brotações a partir dos 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 12).

Pela tabela 21 pode-se verificar a interação significativa (Teste F, $p < 0,01$) para os reguladores de crescimento 2,4-D e KIN, bem como para os fatores isoladamente.

Tabela 21 – Resumo da análise de variância para indução de calos e raízes em explantes foliares de pequi-eiro produtores de frutos sem espinhos no endocarpo, submetidos a diferentes tratamentos com reguladores de crescimento.

Calos - 2,4-D x KIN		
Fonte 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%		

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

Constatou-se interação significativa entre os reguladores de crescimento conforme observado na Tabela 22. A combinação que promoveu a maior porcentagem de calos foi com a utilização de $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ de KIN em combinação com $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ de 2,4-D, com obtenção de, em média, 7,34% de calos induzidos, seguido de $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ de KIN em combinação com $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ de 2,4-D, com 4,62% de calos (Tabela 22).

Tabela 22 – Porcentagem de indução de calos e média de raízes por tratamento, induzidos em explantes foliares de pequizeiro

Calos				
-----2,4-D mg L ⁻¹ -----				
KIN mg L ⁻¹	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 ⁻¹ -----				
KIN mg L ⁻¹	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

2,4-D: Ácido 2,4-Diclorofenoxyacético, KIN: Cinetina. Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na horizontal e minúsculas na vertical não diferem estatisticamente entre si, de acordo com o test t, a 5% de significância.

Para a indução de raízes, a utilização de 4,0 mg L⁻¹ de AIB isolado ou em combinação com 1,0 mg L⁻¹ de KIN e 2,0 mg L⁻¹ de KIN permitiu a formação de maior número de raízes por explante inoculado (Tabela 22).

Pela análise da Tabela 22, 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 elevadas quantidades de raízes mediante a utilização de 3 mg L⁻¹ 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 pequizeiro, pesquisas mostram que é possível estabelecer o cultivo *in vitro* da espécie. Damascena et al. (2014) 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 pequizeiro com a utilização de 0,05 mg L⁻¹ de ANA + 0,5 mg L⁻¹ de BAP (com média de 4,79 brotações por explante) e 0,05 mg L⁻¹ de ANA + 3,0 mg L⁻¹ de BAP (com média de 6,59 brotações por explante) em meio de cultivo WPM acrescido de 30 mg L⁻¹ de sacarose, 7,0 mg L⁻¹ de ágar e antioxidantes (800 mg L⁻¹ de ácido ascórbico, 400 mg L⁻¹ 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⁻¹ de PVP, 30 mg L⁻¹ de sacarose, 7 mg L⁻¹ de ágar e carvão ativado (0 g L⁻¹ e 4 g L⁻¹). De acordo com estes autores melhores brotações foram obtidas com 0,05 mg L⁻¹ de ANA combinada 0,75 mg L⁻¹ 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 pequizeiro, 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 ser formado um grande número de plantas por meio da micropropagação. Para o pequizeiro, 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, características desejadas do ponto de vista agronômico, no entanto deve-se considerar as variações somacloniais.

4 Conclusões

Os frutos de pequi-zeiro constituem objetos de muitas pesquisas em relação as suas características físicas devido à grande variabilidade de caracteres de frutos encontrados. Os resultados obtidos neste estudo são úteis para disponibilizar à sociedade e à comunidade científica, informações importantes que poderão ser utilizadas no manejo e conservação da espécie, bem como para a exploração comercial e racional dos frutos. A análise das características físicas e bioquímicas de pequi com e sem espinhos no endocarpo e a abordagem biotecnológica para micropopulação *in vitro* de *Caryocar brasiliense* (pequi-zeiro) permitiram concluir que:

1. Existe ampla variabilidade de caracteres biométricos nos pequis com e sem espinhos endocarpo e isso permitiu avaliar a diversidade genética existente entre as matrizes de pequi-zeiro produtoras de frutos com e sem espinhos no endocarpo.
2. A análise multivariada identificou que a matriz B29 e D8 são as mais divergentes entre as plantas analisadas.
3. A maioria dos caracteres avaliados nos frutos de pequi-zeiros com e sem espinhos no endocarpo apresentaram alta herdabilidade e são correlacionados.
4. A diversidade genética observada nas matrizes de pequi-zeiro a partir de características morfológicas de frutos pode ser, em grande parte, de origem genética, devido aos altos valores de herdabilidade observados
5. Em relação aos caracteres físico-químicos, os dois grupos de pequis, apresentam diferenças apenas em relação ao pH da casca.
6. Os valores de carboidratos, proteínas, compostos fenólicos e cinzas mostraram diferenças significativas entre os frutos com e sem espinhos no endocarpo.

7. Em relação às técnicas de cultivo *in vitro*, o hipoclorito de sódio é eficiente na desinfecção e, a utilização de carvão ativado e polivinilpirrolidona são eficientes no controle da oxidação do explantes foliares de pequizeiro.

9. As combinações de auxinas e citocininas promovem a rizogênese e calogênese *in vitro* de explantes foliares de pequizeiro, no entanto não foram eficientes, nas concentrações testadas, a indução de brotações.

5 Referências

AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. **Crude Protein - Improved Kjeldahl Method, Copper Catalyst Modification**, 1995. Disponível em <<http://methods.aaccnet.org/summaries/46-11-02.aspx><, acessado em: 23. Mar 2018.

AGUILAR, E. C. et al. Paradoxical effect of a pequi oil-rich diet on the development of atherosclerosis: balance between antioxidant and hyperlipidemic properties. Brazilian journal of medical and biological research. **Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas**, v. 45, n. 7, p. 601–9, 2012.

ALMEIDA, A. C. et al. Toxicidade aguda dos extratos hidroalcoólicos das folhas de alecrim-pimenta, aroeira e barbatimão e do farelo da casca de pequi administrados por via intraperitoneal. **Revista Ciência Rural. Santa Maria**, v. 39, 2009.

ALMEIDA, S. P. de. Frutas nativas do cerrado: caracterização físico-química e fonte potencial de nutrientes. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. DE (Ed.). **Cerrado: ambiente e flora**. Planaltina: Embrapa Cerrados, p. 247–285. 1998.

ALMEIDA, S. P. de. et al. **Cerrado: espécies vegetais úteis**. Embrapa Cerrados, 464p, 1998.

ALMEIDA, S. P. de; SILVA, J. A. da. **Pequi e Buriti: importância alimentar para a população dos Cerrados**. Embrapa Cerrados, 1994. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/548665/piqui-e-buriti-importancia-alimentar-para-a-populacao-dos-cerrados>>. Acesso em 06 jul. 2017.

ALVES, E. U. et al. Influência do tamanho e da procedência de sementes *Mimosa caesalpiniifolia* Benth sobre a germinação e vigor. **Revista Árvore**, v. 29, n. 6, p. 877–885, 2005.

<https://doi.org/10.1590/S0100-67622005000600006>

ALVES, R. M. et al. Avaliação e seleção de progênies de cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum*), em Belém, Pará. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 1, p. 204–212, 2010.

<https://doi.org/10.1590/S0100-29452010005000010>

ALVES, R. M. et al. Seleção de descritores botânico-agronômicos para caracterização de germoplasma de cupuaçuzeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 38, n. 7, p. 807–818, 2003.

<https://doi.org/10.1590/S0100-204X2003000700004>

ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of AOAC international**, 20th ed. 3172p. 2016.

ANDRADE, S. R. M. **Princípios da cultura de tecidos vegetais**. Embrapa Cerrados, 2002, 16p. Disponível em: <

<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/546466/1/doc58.pdf>>.

Acessado em :12 jun. 2018

AQUINO, L. P. et al. Influência da secagem do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) na qualidade do óleo extraído. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 2, p. 354–357, 2009.

<https://doi.org/10.1590/S0101-20612009000200018>

ARAUJO, F. DE. A review of *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae): an economically valuable species of the central Brazilian cerrados. **Economic Botany**, v. 49, n. 1, p. 40-48, 1995.

<https://doi.org/10.1007/BF02862276>

ATWATER, W.O. **Principles of nutrition and nutritive value of foods**. Washington, D.C.: U.S. Department of Agriculture, 1910. (Farmer's Bulletin, 142).

BARBOSA, D. da S. et al. Avaliação do potencial de produção do “pequizeiro-anão” sob condições naturais na região sul do estado de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 23, n. 37200, p. 726–729, 2001.

BATTILANI, J. L.; SANTIAGO, E. F.; DIAS, E. S. **Morfologia de frutos, sementes, plântulas e plantas jovens de Guibourtia hymenifolia (Moric.) J. Leonard (Fabaceae)**. Revista Árvore, v.35, n.5, p.1089-1098, 2011.

BERTOLDI, M. C. **Atividade antioxidante *in vitro* da fração fenólica, das oleorresinas e do óleo essencial de pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius*)**. 2006, 96f. Dissertação (Mestrado em Ciência eTecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

BEZERRA, J. C. B. et al. Molluscicidal activity against *Biomphalaria glabrata* of Brazilian Cerrado medicinal plants. **Fitoterapia**, v. 73, n. 5, p. 428-430, 2002.

[https://doi.org/10.1016/S0367-326X\(02\)00121-1](https://doi.org/10.1016/S0367-326X(02)00121-1)

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, n. 8, p. 911–917, ago. 1959.

BORGES, J. C. de A. **Características botânicas, aspectos nutricionais e efeitos terapêuticos do pequi (*Caryocar brasiliense*) Revisão da Literatura**. 2011. 31 f. Seminários (Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal) - Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2011.

BRAGA, K. M. S. **Atividade citotóxica do extrato etanólico da casca de pequi (*Caryocar brasiliense*) em células de osteossarcoma canino *in vitro***. 2016. 50 f. Dissertação, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás, 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. **Guia alimentar para a população brasileira**. Brasília, DF, 2006. Disponível em <

http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_alimentar_populacao_brasileira_2ed.pdf. Acessado em: 18 mai. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. 2003. **Regulamento Técnico sobre Rotulagem de Alimentos Embalados: Resolução - RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003.** Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/res0360_23_12_2003.pdf/5d4fc713-9c66-4512-b3c1-afee57e7d9bc>. Acessado em: 16 jun. 2018.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Impactos sobre a Biodiversidade.** 2018a. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/biodiversidade/biodiversidade-global/impactos>>. Acesso em: 9 jun. 2018.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **O Bioma Cerrado.** 2018b. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/biomas/cerrado>>. Acesso em: 20 jun. 2018.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Plano de Ação para prevenção e controle do desmatamento e das queimadas: cerrado.** 2010. Disponível em <http://www.mma.gov.br/estruturas/201_arquivos/ppcerrado_201.pdf>. Acesso em: 05 mai. 2018

BUSSAB, W. O.; MIAZAKI, E. S.; ANDRADE, D. **Introdução à análise de agrupamentos. São Paulo: Associação Brasileira de Estatística,** 1990. 105p.

CARDOSO, E. N. Multiplicação de pequi no *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.

CARVALHO, J. E. U. de; NAZARÉ, R. F. R. de; NASCIMENTO, W. M. O. do. Características físicas e físico-químicas de um tipo de bacuri (*Platonia insignis* Mart.) com rendimento industrial superior. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, n. 2, p. 326–328, 2003.

<https://doi.org/10.1590/S0100-29452003000200036>

CASTELLANI, E. D. **Caracterização e ecofisiologia de sementes de três espécies arbóreas do gênero Solanum L.** 2003. 200p. Tese (Doutorado em Produção e Tecnologia de Sementes) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2003.

COPPINI, L. Z.; WAITZBERG, D. L.; CAMPOS, F. G.; HABR-GAMA, A. Fibras Alimentares e Ácidos Graxos de Cadeia Curta. In: WAITZBERG, D. L. (Org). **Nutrição oral, enteral e parenteral na prática clínica**. 3.ed. São Paulo: Atheneu, 2005.

CORRÊA, G. DE C. et al. Caracterização física de frutos de baru (*Dipteryx alata* Vog.) em três populações nos Cerrados do Estado de Goiás. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 30, n. 2, p. 5–11, 2000.

COSTA, A. P. F. da; PINTO, E. G.; SOARES, D. S. B. Obtenção de farinha do mesocarpo de pequi. **Revista Agrarian**. v. 10, n. 38, p. 349-354, 2017.

<https://doi.org/10.30612/agrarian.v10i38.7051>

COSTACHE, M.A.; CAMPEANU, G.; NEATA, G. Studies concerning the extraction of chlorophyll and total carotenoids from vegetables. **Romanian Biotechnological Letters**, v.17, n. 5, 7703-7708, 2012.

COUTO, E. M. **Utilização da farinha de casca de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) na elaboração de pão de forma**. 2007. 107f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.

CRONQUIST, A. The Evolution and Classification of Flowering Plants. In: BEAMAN, J. H. (Ed.). **The Quarterly Review of Biology**. Stony Brook Foundation, Inc. v. 64. 497 - 499, 1989.

CRUZ, C. D.; FERREIRA, F. M.; PESSONI, L. A. **Biometria aplicada ao estudo da diversidade genética**. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2011. 620p.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa, MG: UFV, 2012. v. 1, 514 p.

CRUZ, E. D.; CARVALHO, J. E. U. DE. Fruit and seed biometry and germination of *Micropholis* cf. *venulosa* Mart. & Eichler (Sapotaceae). **Acta Amazonica**, v. 33, n. 3, p. 389–398, 2003.

<https://doi.org/10.1590/S0044-59672003000300005>

CRUZ, E. D.; CARVALHO, J. E. U. DE; LEÃO, N. V. M. Métodos para superação da dormência e biometria de frutos e sementes de *Parkia nitida* Miquel. (Leguminosae - Mimosoideae). **Acta Amazonica**, v. 31, n. 2, p. 167–167, 2001.

<https://doi.org/10.1590/1809-43922001312177>

CRUZ, E. D.; MARTINS, F. D. O.; CARVALHO, J. E. U. DE. Biometria de frutos e sementes e germinação de jatobá-curuba (*Hymenaea intermedia* Ducke, Leguminosae - Caesalpinoideae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 24, n. 2, p. 161–165, 2001.

<https://doi.org/10.1590/S0100-84042001000200005>

DAMASCENA, N. D. S. et al. Influência do Ácido Naftalenoacético (ANA) e do 6-Benzilaminopurina (BAP) na indução de brotações em pequizeiro. 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

DAMIANI, C. et al. Perfil de ácidos graxos e fatores antinutricionais de amêndoas de pequi crua e torrada. **Pesquisa Agropecuária Tropical**. v. 43, n. 1, p. 71-78, 2013.

<https://doi.org/10.1590/S1983-40632013000100004>

DELGADO-VARGAS, F.; JIMÉNEZ, A. R.; PAREDES-LÓPES, O. Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains--characteristics, biosynthesis, processing, and stability. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. 40, p.173, 2000.

<https://doi.org/10.1080/10408690091189257>

DICKISON, W. C. A Study of the Floral Morphology and Anatomy of the Caryocaraceae. **Bulletin of the Torrey Botanical Club**, v. 117, n. 2, p. 123, 1990.
<https://doi.org/10.2307/2997051>

DOMBROSKI, J. L. D. **Estudos sobre a propagação do pequizeiro (*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 pequizeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 20, p. 68-73, 1998.

DUBOIS, M. et al. A colorimetric method for the determination of sugars. **Nature**, v. 168, n. 4265, p. 167, 1951.

<https://doi.org/10.1038/168167a0>

EHRENDORFER, F.; MORAWETZ, W.; DAWE, J. The Neotropical Angiosperm Families Brunelliaceae and Caryocaraceae: First Karyosystematical Data and Affinities. **Plant Systematics and Evolution Springer**, 1984. Disponível em: <http://www.jstor.org/stable/23669986>. Acesso em: 2 mai. 2018

FACIOLI, N. L.; GONÇALVES, L. A. G. Modificação por via enzimática da composição triglicerídica do óleo de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb). **Química Nova**, v. 21, n. 1, p. 16–19, 1998.

<https://doi.org/10.1590/S0100-40421998000100003>

FAHEY, J. et al. Chlorophyll, chlorophyllin and related tetrapyrroles are significant inducers of mammalian phase 2 cytoprotective genes. **Carcinogenesis**, v. 26, n. 7, p. 1247-1255, 2005

<https://doi.org/10.1093/carcin/bgi068>

FALCONER, D. S.; MACKAY, T.F.C. **Introduction to quantitative genetics**, 4.ed. Longmans Green, Harlow, Essex, UK, 1996, 464p.

FARIA-MACHADO, A. F. et al. Discrimination of Pulp Oil and Kernel Oil from Pequi (*Caryocar brasiliense*) by Fatty Acid Methyl Esters Fingerprinting, Using GC-FID and Multivariate Analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 45, p. 10064–10069, 2015.

<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b03699>

FERNANDES, P. A.; PESSÔA, V. L. S. O Cerrado e Suas Atividades Impactantes: Uma Leitura Sobre o Garimpo, a Mineração e a Agricultura Mecanizada. **Revista Eletrônica de Geografia**, n. 37, p. 19–37, 2011.

FERREIRA, F.R. et al. Caracterização física e química de frutos maduros de pequi. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 9., 1987. Campinas. **Anais...** Campinas: Sociedade Brasileira de Fruticultura, v.2, p.643-646, 1987.

FERREIRA, P. C., MOTIDOME, M. Estudo químico do óleo de pequi. **Anais da Faculdade de Farmácia e Odontologia da Universidade de São Paulo**. v. 19, n. 1, p. 25-30, 1962.

FERRUZZI, M. et al. Antioxidant and antimutagenic activity of dietary chlorophyll Derivatives determined by radical scavenging and bacterial reverse mutagenesis assays. **Journal of Food Science**, v. 67, n. 7, p. 2589-2595, 2002

<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb08782.x>

FOLIN, O.; CIOCALTEU, V. On tyrosine and tryptophane determinations in proteins. **The journal of biological chemistry**, v. 73, n. 2, p. 627–650, 1927.

GANCZ, K.; ALEXANDER, M.; CORREDIG, M. In situ study of flocculation of whey protein-stabilized emulsions caused by addition of high methoxyl pectin. **Food Hydrocolloid**; v.20, p. 293-298, 2006.

<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2005.02.022>

GEÓCZE, K. C. et al. Essential oils from pequi fruits from the Brazilian Cerrado ecosystem. **Food Research International**, v. 54, n. 1, p. 1–8, 2013.

<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.06.005>

GOLDBERG, I. **Functional foods: designer foods, pharmafoods, nutraceuticals**. New York, Chapman & Hall, pp.406, 1994

<https://doi.org/10.1007/978-1-4615-2073-3>

GOMES, M. M.; SAUNDERS, C.; ACCIOLE, E. Papel da vitamina A na prevenção do estresse oxidativo em recém-nascidos. Revista brasileira de saúde materno infantil. Recife, v.5, n.3, p. 275-282, 2005.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropopulação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Embrapa, 1998. v. 1, p. 133-145

GRIBEL, R.; HAY, J.D. Pollination ecology of Caryocar brasiliense (Caryocaraceae) in Central Brazil cerrado vegetation. **Journal of Tropical Ecology**, Cambridge, v.9, p.199-211, 1993.

<https://doi.org/10.1017/S0266467400007173>

GUEDES, A. M. M. et al. Length-scale Specific Crystalline Structural Changes Induced by Molecular Randomization of Pequi Oil. **Journal of Oleo Science**, v. 66, n. 5, p. 469–478, 2017.

<https://doi.org/10.5650/jos.ess16192>

GUSMÃO, E.; JÚNIOR, É. M. DA F.; VIEIRA, F. Fruits and endocarps biometry of murici (*Byrsonima verbascifolia* Rich. ex A. Juss). **Cerne**, v. 12, n. 1, p. 84–91, 2006.

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

HSU, C. et al. Effects of chlorophyll-related compounds on hydrogen peroxide induced DNA damage within human lymphocytes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n.7, p. 2746-2750, 2005

<https://doi.org/10.1021/jf048520r>

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo: Instituto Adolf Lutz. 4^a edição, p.1020, 2008.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Mapa de Biomas e de Vegetação**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/21052004biomashtml.shtml>>. Acesso em: 25 jun. 2017.

JOLY, A. B. **Botânica: introdução à taxonomia vegetal**. 7.ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1985. p. 324-329.

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

KAGEYAMA, P.Y.; GANDARA, F.B. Dinâmica de populações de espécies arbóreas: Implicações para o manejo e a conservação. **III Simpósio de Ecossistemas da Costa Brasileira**. v. 2. 1993.

KANG, R. et al. Synthesis, characterization, and functional properties of chlorophylls, pheophytins, and Zn-pheophytins. **Food Chemistry**, v. 245, p. 943-950, 2017.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.079>

KERR, W. E.; SILVA, F. R. DA; TCHUCARRAMAE, B. Pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.): informações preliminares sobre um pequi sem espinhos no caroço. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 29, n. 1, p. 169–171, 2007.

<https://doi.org/10.1590/S0100-29452007000100035>

KHOURI, J. et al. Anticlastogenic potential and antioxidant effects af an aqueous extract of pulp from the pequi tree (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Genetics and Molecular Biology**, v.30, p.442-48, 2007.

<https://doi.org/10.1590/s1415-47572007000300024>

KLINK, C.A.; MACHADO, R.B. A conservação do Cerrado brasileiro. **Megadiversidade**, v.1, n.1, p.147-155, 2005

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

LEMOS, E. E. P. Oeganogenese. In.CID, L. P. B. Cultivo *in vitro* de plantas. Embrapa, 2010, p. 104-127

LILA, M. Plant pigments and human health. *In:* Davis, S. **Plant pigments and their manipulation**. Oxford, CRC Press/Blackwell Publ, pp. 248-274, 2004

LIMA, A. DE et al. Composição química e compostos bioativos presentes na polpa e na amêndoia do pequi (*Caryocar brasiliense*, Camb.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 29, n. 3, p. 695–698, 2007.

LIMA, A. de. **Caracterização química, avaliação da atividade antioxidante *in vitro* e *in vivo*, e identificação dos compostos fenólicos presentes no pequi (*Caryocar brasiliense*)**. 2008. 219 f. Tese (Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos) - Faculdade de Ciências Farmaceuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

LIU, R. H. Health benefits of fruits: implications for disease prevention and health promotion. In: 19º Congresso Brasileiro de Fruticultura, **Palestras e resumos...** Cabo frio: RJ, p. 36-44, 2006.

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.

LOPES, P.S.N. et al. Pequi. In: Vieira, R.F. Costa, T.S.A. Silva, D.B. Ferreira, F.R. Sano, S.M. (eds.): **Frutas Nativas da Região Centro-Oeste do Brasil**. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, p. 248- 287, 2006.

LOPES, A. C. A.; et al. Variabilidade e correlações entre caracteres em cruzamentos de soja **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 59 n. 2 p. 341-348, 2002.

LORENZI, H. et al. **Frutas brasileiras e exóticas cultivadas de consumo *in natura***. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2006. 640p.

LUZ, R. R. et al. Caracterização física de frutos e putâmens e taxa de ataque por Carmenta sp. A pequizeiros (*Caryocar brasiliense* camb.) no Norte de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 3, p. 746-756, 2011.

<https://doi.org/10.1590/S0100-29452011005000088>

MACEDO, A. L; SANTOS, R.S.; PANTOJA, L.; SANTOS, A.S. Pequi cake composition, hydrolysis and fermentation to bioethanol **Chemical Engineenring**. v.28, n.01, p.9-15, 2011.

MAGALHÃES, H. G. Estudo estrutural do pequizeiro *Caryocar brasiliense* Camb. Caryocaraceae, sob o aspecto farmacoquímico e botânico. **Revista Brasileira de Farmácia**. v. 69, n. 3, p. 31-41, 1988.

MAIA, J. G. S.; ANDRADE, E. H. A.; SILVA, M. H. L. Aroma volatiles of pequi fruit (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, n. 7, p. 574–576, 2008.

<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2008.05.006>

MANACH, C. et al. Polyphenols: food sources and bioavailability. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 79, n. 5, p. 727-747, 2004.

<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2008.05.006>

MARQUES, M. C. S. **Estudo fitoquímico e biológico dos extratos de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.)**. 2001. 91 p. Dissertacao (Mestrado em Agroquimica/Agrobioquimica) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2001.

MARTINS, R.L; GRIBEL, R. Polinização de *Caryocar villosum* (Aubl.) Pers. (Caryocaraceae) uma árvore emergente da Amazônia Central. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 30, n.1, p.37- 45, 2007.

MEDEIROS, A. DE; HARIDASAN, R. M. Seasonal variations in the foliar concentrations of nutrients in some aluminium accumulating and non-accumulating species of the cerrado region of central Brazil. **Plant and Soil**, v. 88, n. 3, p. 433–436, 1985.

<https://doi.org/10.1007/BF02197499>

MELO, C. M. C. et al. Use of morphoagronomical characters and molecular markers to evaluate genetic divergence among maize hybrids. **Ceres**, v. 48, n. 276, p. 195–207, 8 abr. 2001.

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.

MIRANDA-VILELA, A. L. et al. Characterization of the major nutritional components of *Caryocar brasiliense* fruit pulp by nmr spectroscopy. **Química Nova**, v. 32, n. 9, p. 2310–2313, 2009.

<https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000900013>

MOURA, L. R. et al. Ação do extrato etanólico da casca do pequi (*Caryocar brasiliense*) na cardiototoxicidade crônica induzida por doxorrubicina em ratos. **Pesquisa Veterinária brasileira**, v. 37, n. 7, p. 713–724, 2013.

<https://doi.org/10.1590/s0100-736x2017000700011>

NAGATA, M.; YAMASHITA, I. Simple Method for Simultaneous Determination of Chlorophyll and Carotenoids in Tomato Fruit. **Nippon shokuhin kogyo gakkaishi**, v. 39, n. 10, p. 925–928, 15 out. 1992.

OLIVA, K. M. F. **Atividade alelopática de extratos de *Caryocar brasiliense* (Camb) sobre a germinação, crescimento e aspectos bioquímicos e**

fisiológicos em *Bidens pilosa*, *Glycine max* e *Zea mays*. 2006. 82 f. Tese. (Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Viçosa, 2006.

OLIVEIRA, K. A. K. B. Variabilidade genética entre e dentro de populações de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) do Estado de Goiás. 1998. 105 f. Dissertação (Mestrado) -Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 1998.

OLIVEIRA, M. E. B. DE et al. Aspetos Agronômicos e de Qualidade do Pequi. Embrapa, v. 113, p. 33, 2008. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/426706/1/Dc113.pdf>>

OLIVEIRA, M. E. B. de et al. Caracterização física de frutos do pequizeiro nativos da chapada do Araripe-CE. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, n. 4, p. 1196–1201, 2009.

OLIVEIRA, M. M.; GILBERT, B.; MORS, W. B. Triterpenes in *Caryocar brasiliense*. In: Anais da Academia Brasileira de Ciências, 1968, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: academia, p. 451- 452, 1968.

OLIVEIRA, P. S.; PIE, M. R. Interaction between ants and plants bearing extrafloral nectaries in cerrado vegetation. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 27, n. 2, p. 161–176, 1998.

<https://doi.org/10.1590/S0301-80591998000200001>

OLIVEIRA, S. S. Efeito de giberelinas, fungicida, tratamentos mecânicos e período de armazenamento sobre a germinação de sementes de pequizeiro. 2002. Dissertação (Propagação e Manejo de Plantas Nativas) - Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, 2002.

OSUNA-RUIZ, I. et al. Antioxidant, antimutagenic and antiproliferative activities in selected seaweed species from Sinaloa, Mexico. **Pharmaceutical Biology**, v. 54, n. 10, p. 2196-210, 2016.

<https://doi.org/10.3109/13880209.2016.1150305>

PASSOS, X. S. et al. Antifungal activity of *Caryocar brasiliensis* against *Paracoccidioides brasiliensis* and *Histoplasma capsulatum*. XXI Congresso Brasileiro de Microbiologia. **Anais...** Foz do Iguaçu, p. 60-71, 2001.

PAULA. R. C. **Repetibilidade e divergência genética entre matrizes de *Pterogyne nitens* Tul. (Fabaceae - Caesalpinioideae) por caracteres biométricos de frutos e de sementes e parâmetros da qualidade fisiológica de sementes.** 2007. 128f. Tese (Livre-Docência em Silvicultura) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2007.

PAULA-JÚNIOR, W. **Atividades biológicas *in vitro* de extratos hidroetanólicos de folhas e do mesocarpo interno de *Caryocar brasiliense Cambess.*** 2004. 82 f. Dissertação (Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2004.

PAZ, J. G. da; PACHECO, P.; SILVA, C. O.; PASCOAL, G. B. Análise da composição nutricional e de parâmetros físico-químicos do pequi (*Caryocar brasiliense camb*) in natura. **Linkania.** V.1, N. 8, p. 76-86, 2014.

PECHNIK, E., GUIMARÃES, L. R. Alguns representantes do reino vegetal portadores do elevado potencial provitamínico A. **Arquivos Brasileiros de Nutrição,** v. 13, n.1, p. 9-19, 1957.

PEREIRA, L. M. et al. Vida de prateleira de goiabas minimamente processadas adicionadas em embalagens sob atmosfera modificada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos.** v.23, n.3, p.427- 433, 2003.

<https://doi.org/10.1590/S0101-20612003000300023>

PEREIRA, A. V.; SALVIANO, A.; PEREIRA, E. B. C.; SILVA, J. A. da; SILVA, D. B. da; JUNQUEIRA, N.T.V. **Pequi: produção de mudas.** Planaltina: Embrapa

Cerrados, 2000. 2 p. (Embrapa Cerrados. Recomendações Técnicas, 1). Disponível em: < <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/546754/pequi-producao-de-mudas>>. Acesso em: 02 de maio de 2018

PRANCE, G. T. The genus *Caryocar* L. (Caryocaraceae): an underexploited tropical resource. **Advances in Economic Botany**, v. 8, p. 177–188, 1990.

RAMOS, K. M. C.; SOUZA, V. A. B. DE. Características físicas e químico-nutricionais de frutos de pequi (Caryocar *coriaceum* Wittm.) em populações naturais da região meio-norte do Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 2, p. 500–508, 2011.

<https://doi.org/10.1590/S0100-29452011005000072>

RAMOS, M. I. L. et al. Efeito do cozimento convencional sobre os carotenoides pró-vitamínicos A; da polpa do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 19, n. 1, 2001.

RIBEIRO, R. A.; RODRIGUES, F. M. Genética da conservação em espécies vegetais do cerrado. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 5, n. 3, p. 253–260, 2006.

RIGUEIRA, J. A. **Pequi: cultivo, caracterização físico-química e processamento**. 2003. 62 f. Monografia (Especialização em Qualidade em Alimentos) Universidade de Brasília, Brasília, 2003.

RIVAS, M.; BARILANI, A. Diversidad, potencial productivo y reproductivo de Los Palmares de *Butia capitata* (Mart.) becc. de Uruguay. **Agrociencia**, v. 8, n. 1, p. 11–20, 2004.

RODRIGUES, A. C. DA C. et al. Biometria de frutos e sementes e grau de umidade de sementes de angico (*Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan var. cebil (Griseb.)

Altschul) procedentes de duas áreas distintas. **Revista Eletronica Científica de Engenharia Florestal**, v. 6, n. 8, p. 1–15, 2006.

ROESLER, R.; CATHARINO, R. R., MALTA, L. G., EBERLIN, M. N., PASTORE, G. Antioxidant activity of *Caryocar brasiliense* (pequi) and characterization of components by electrospray ionization mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 110, p. 711–717, 2008.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.02.048>

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. Micropromoção de pequizeiro (*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* CAMB), **Acta Iguazu**, v. 2, n. 3, p. 46-57, 2013.

SANTOS, M. A. dos. **A influência da dinâmica demográfica e domiciliar no processo de ocupação do Cerrado Brasileiro: o caso do Programa de Assentamento Dirigido do Alto Paranaíba, Minas Gerais, Brasil.** 2010. 168f. Tese (Demografia do Centro de Desenvolvimento e Planejamento Regional) - Universidade Federal de Minas Gerais, 2010.

SILVA, C. A. de A.; FONSECA, G. G. Brazilian savannah fruits: Characteristics, properties, and potential applications. **Food Science and Biotechnology**, v. 25, n. 5, p. 1225–1232, 2016.

<https://doi.org/10.1007/s10068-016-0195-3>

SILVA, E. C. **Desenvolvimento de emulsões cosméticas utilizando o óleo do pequi *Caryocar brasiliense* Camb.**). 1994. 120f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 1994.

SILVA, K. M. da et al. Utilização de antioxidantes na micropropagação de bananeira CV. pioneira. **Magistra**, v. 13, n. 1, p. 5–8, 2001.

SILVA, R. S. M.; CHAVES, L. J.; NAVES, R. V. Caracterização de frutos e árvores de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) no sudeste do estado de Goiás, Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 23, n. 2, p. 330–334, 2001.

SILVA, S. M. da et al. Chemical characteristics of pequi fruits (*Caryocar brasiliense* Camb.) native of three municipalities in the State of Goiás - Brazil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 4, p. 771–777, 2009.

SINGH, D. The relative importance of characters affecting genetic divergence. **Indian Journal of Genetic and Plant Breeding**, New Delhi, v.41, p.237-245, 1981.

SOARES JÚNIOR, M. S. et al. Development and chemical characterization of flour obtained from the external mesocarp of “pequizeiro” fruit. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 4, p. 949-954, 2010.

<https://doi.org/10.1590/S0101-20612010000400017>

SOUZA, C.V. **Botânica Sistemática**: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseada em APG II. São Paulo: Instituto Plantarum, 2005. p.382-383.

STREIT, N. M.; CANTERLE, L. P.; CANTO, M. W.; HECKTHEUER, L. H. H. As Clorofilas. **Ciencia Rural**, vol.35 no.3, p.748-755, 2005.

<https://doi.org/10.1590/S0103-84782005000300043>

TASHIRO, S. Studies on alkalogenesis in tissues. **American Journal of Physiology-Legacy Content**, v. 60, n. 3, p. 519–543, maio 1922.
<https://doi.org/10.1152/ajplegacy.1922.60.3.519>

VALENTE, P. M. R. **Potencial fungicida de extrato foliar de *Caryocar villosum* (AUBL.) PERS (Caryocaraceae)**. 2012. 87f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia e Recursos Naturais da Amazônia) - Universidade do Estado do Amazonas, 2012.

VERA, R. et al. Caracterização física de frutos do pequi (Caryocar brasiliense Camb.) no estado de Goiás. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v.35, n.2, p.71-79, 2005.

VERA, R. et al. Caracterização física e química de frutos do pequi (Caryocar brasiliense Camb.) oriundos de duas regiões no estado de Goiás, Brasil. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 37, n. 2, p. 93-99, 2007.

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.

VILAS BOAS, B. M. et al. Caracterização física, química e bioquímica do mesocarpo interno de frutos do pequi colhidos em diferentes estágios de desenvolvimento. **Ciência Rural**. v.43, n.12, p.2285-2290, 2013.

<https://doi.org/10.1590/S0103-84782013001200027>

VILAS BOAS, E. V. B. Frutos minimamente processados: pequi. 3º Encontro Nacional Sobre Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças. **Anais...** Viçosa. Viçosa: UFV, 2004.

VOLP, A., RENHE, I. STRINGUETA, P. Pigmentos Naturais Bioativos. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v.20, n. 1, pp. 157-166, 2009

WANG, E.; WINK, M. Chlorophyll enhances oxidative stress tolerance in *Caenorhabditis elegans* and extends its lifespan. **PeerJ**, v. 4, p 1-17, 2016.