

INDUÇÃO *IN VITRO* DE CALOS ATRAVÉS DE EXPLANTES EXTRAÍDOS DE PLÂNTULAS DA CATINGUEIRA (*Poincianella pyramidalis* Tul.)

Cássia Ferreira Rodrigues¹

Deisiane Carlos Fernandes²

Luiz Ferreira Aguiar Ponte³

Resumo – *Poincianella pyramidalis* Tul. é conhecida popularmente como catingueira por ser uma planta endêmica da região norte do Estado do Ceará (Bioma Caatinga). Essa planta possui importância econômica por causa do seu uso na medicina popular. Ela apresenta vários compostos com propriedades terapêuticas, sendo utilizada principalmente para o tratamento de anemia, infecções intestinais e respiratórias. O cultivo *in vitro* consiste em técnicas que permitem a multiplicação de células, em menor escala de tempo e com maior controle de fitossanidade devido às condições assépticas. Os calos podem ser usados para obter plantas resistentes a condições adversas, como fungicidas e herbicidas. Além disso, os calos são considerados fonte de células para extração de moléculas específicas de importância para a pesquisa. O presente trabalho teve como objetivo estabelecer protocolos de indução *in vitro* de calos utilizando explantes de *P. pyramidalis* (Fabaceae), indicando as concentrações dos fitorreguladores utilizados no meio de cultura. Inicialmente, para a obtenção de plântulas, realizou-se a germinação das sementes de catingueira *in vitro* em meio de germinação denominado de Meio AA, e em substrato vermiculita. A partir das plântulas obtidas, retiraram-se os explantes (epicótilos e folhas) que foram submetidos a um processo denominado desinfecção e, em seguida, foram inoculados no meio de cultura (MS), suplementados com os fitorreguladores e incubados na câmara de germinação (B.O.D.). Observou-se o tamanho das amostras e o índice de oxidação a cada três dias. Os resultados mostraram um aumento de calos. Portanto, os resultados sugerem que os tipos de fitorreguladores e concentrações avaliadas nesse estudo possuem capacidade de induzir calos a partir de explantes da catingueira.

Palavras-chave: Catingueira; Cultivo *in vitro*; Fitorreguladores.

INTRODUÇÃO

O bioma Caatinga possui um aspecto de deserto, com índices pluviométricos baixos, em torno de 500 a 700 mm anuais, com poucas variações durante o ano, por isso a maioria das espécies vegetais são caducifólias, ou seja, as folhas caem na época da seca devido à escassez de água (LOIOLA et al., 2012). Esse bioma possui cerca de 800 mil km², onde 11% corresponde ao território nacional e 70% ao território nordestino, abrangendo os estados do Ceará, Rio Grande do Norte, Sergipe, Pernambuco, Paraíba, Alagoas, Bahia, sul e leste do Piauí e norte de Minas Gerais (LIMA, 1996; LOIOLA et al., 2012).

Poincianella pyramidalis Tul. (Fabaceae: Caesalpinoideae), conhecida popularmente como catingueira por ser uma árvore endêmica da Caatinga, e amplamente difundida no Nordeste Semiárido Brasileiro (ALVES et al., 2007). É resistente a seca, de médio porte, com 4-6 m de altura, mas pode atingir 12 m de altura em condições favoráveis. Sua característica importante é a capacidade de rebrotar

¹ Programa de Pós-Graduação *stricto sensu* em Biotecnologia de Recursos Naturais, Universidade Federal do Ceará – UFC, Fortaleza, Ceará. E-mail: cassya.rodriques@hotmail.com

² Laboratório de Bioquímica, Universidade Estadual Vale do Acaraú – UVA, Sobral, Ceará. E-mail: deisianefernandes22@hotmail.com

³ Docente do curso de Ciências Biológicas, Universidade Estadual Vale do Acaraú – UVA, Sobral, Ceará. E-mail: luizaguair2000@yahoo.com.br

quando cortada, o que pode garantir a sua sustentabilidade. Em solos profundos com maior suprimento de água, a catingueira possui um caule retilíneo, com 30-35 cm de circunferência. O tronco oco por sua vez, serve de abrigo para abelhas sem ferrão, pequenos insetos e pássaros (MAIA, 2004).

Durante o período seco, as folhas mortas caem no chão, o que serve de forragem para muitos rebanhos. Estas, quando submetidas ao processo de fenação, oferecem uma massa forrageira bem mais nutritiva. As folhas mais jovens liberam um cheiro desagradável, sendo rejeitadas pelos animais (MAIA, 2004; SILVA, 2012). Sua madeira é utilizada para a produção de varas e estacas que, por sua vez, são utilizadas para a confecção de cercas (MAIA, 2004), além disso sua madeira possui grande quantidade de celulose e lignina, sendo assim utilizada para carvão e álcool combustível (MAIA, 2004; SILVA et al., 2009).

P. pyramidalis é explorada pela população também para fins medicinais: as folhas, flores e cascas são usadas contra hepatite, infecções catarrais, diarreia e infecções respiratórias (ALBUQUERQUE et al., 2007; PEREIRA et al., 2006). Segundo Salvati et al. (2004) a catingueira possui propriedades medicinais cientificamente comprovadas, devido à presença de compostos produzidos por ela, pois de acordo com Bahia et al. (2005) a espécie possui uma variedade de biflavonoides, flavonoides, triterpenos e fenilpropanoides. Diversas partes da catingueira possuem extratos aquosos e etanólicos, que apresentam atividade antibacteriana, em especial contra *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (LIMA et al., 2006; ALVIANO et al., 2008), antifúngica (CRUZ et al., 2007) e anti-inflamatória (SANTOS et al., 2011; SANTANA et al., 2012). Esses diversos usos da catingueira proporcionam uma exploração intensa e indiscriminada de suas cascas, folhas e flores. Assim, sente-se a necessidade de estratégias para a sua multiplicação (TEXEIRA et al., 2007).

Então as técnicas de cultivo de tecido ou cultivo *in vitro* que permitem o crescimento e a multiplicação de células, tecidos ou órgãos de uma determinada planta, sobre um meio nutritivo e em condições apropriadas, são consideradas uma boa estratégia para multiplicar a espécie em questão. Estas técnicas de cultivo *in vitro* são baseadas na totipotência que as células vegetais possuem, ou seja, uma única célula é capaz de dar origem a um organismo inteiro (CARVALHO; VIDAL, 2003). O cultivo de tecidos iniciou-se nos anos 30, porém só obteve ênfase nos anos 70, devido ao grande interesse tanto na micropropagação como para auxiliar nos programas de melhoramento genético (AMMIRATO et al., 1984), e somente com o cultivo *in vitro* pode-se obter novos genótipos (CARVALHO, 1999). As técnicas de engenharia genética estão ligadas ao cultivo *in vitro*, visto que a engenharia genética requer células transformadas para que possa originar novas plantas, e a transformação dessas células se dá devido às técnicas do cultivo *in vitro* (GYVES, 1994).

O cultivo *in vitro* pode ser feito a partir de qualquer parte (órgão) da planta, parte essa denominada de explante, que será determinada pelo pesquisador de acordo com os objetivos da pesquisa em questão (CARVALHO; VIDAL, 2003). Observar o estado fitossanitário, fisiológico e nutricional do explante é importante para a obtenção de bons resultados na pesquisa. Explantes muito

lenhosos são facilmente contaminados devido ao maior tempo de exposição no ambiente e os mais jovens proporcionam melhores resultados (LAMEIRA et al., 2000).

As técnicas do cultivo de tecido exigem uma assepsia rigorosa do explante e também dos materiais a serem utilizados, e o controle criterioso de alguns fatores ambientais, tais como a luz e a temperatura (CID, 2001). Os meios de cultura diferem entre si devido às distintas concentrações de sais, nutrientes e vitaminas (REZENDE et al., 2008), isso porque uma planta cultivada in vitro irá possuir um metabolismo heterotrófico necessitado de vários nutrientes como fonte de carbono (PIERIK, 1988). Os meios de cultura são definidos pelo pesquisador, baseado nos seus objetivos (REZENDE et al., 2008).

A cultura de tecidos pode ser empregada para diversos fins, dentre eles vale ressaltar a micropropagação ou clonagem de tecidos, em que se pode obter indivíduos idênticos a partir de um único explante. É empregada nos programas de melhoramento genético, por sua capacidade de aumentar a variabilidade genética além de ser utilizada para a multiplicação de espécies que possuem uma difícil propagação (ANDRADE, 2002).

Massa de tecido desorganizado ou o cultivo de célula isolada é denominado de calo (CARVALHO; VIDAL, 2003), que pode ser compacto quando as células que o constituem estão firmemente unidas entre si, ou friável quando o calo se fragmenta com facilidade (CID, 2001). A formação de calos é controlada pelo nível dos reguladores de crescimento no meio de cultura. A cultura de calos deve ser usada para uma variedade de experimentos como isolamento de protoplastos, organogênese, embriogênese somática e produtos secundários (LAMEIRA et al., 2000). Além disso, através da indução de calos pode-se obter plantas que sejam resistentes a condições adversas como fungos, bactérias e herbicidas (AMMIRATO et al., 1990).

Diante do exposto, o presente estudo teve como objetivo estabelecer protocolos de indução de calos in vitro a partir de explantes de *Poincianella pyramidalis* Tul.

METODOLOGIA

Os experimentos foram conduzidos nos laboratórios de Bioquímica, Biologia Experimental e Biologia Vegetal da Universidade Estadual Vale do Acaraú, Ceará (UVA).

As sementes de catingueira (*Poincianella pyramidalis* Tul.), coletadas no período de julho/2014 e julho/2015, foram fornecidas pelo Banco de Mudas pertencente à cidade de Sobral, Ceará e armazenadas em frascos de vidro sob refrigeração no laboratório de Biologia Vegetal da Universidade Estadual Vale do Acaraú.

Os meios de germinação in vitro das sementes de catingueira são denominados de Meios AA por serem constituídos de água destilada estéril e ágar a 0,7%. Foram preparados 300 ml de meios AA e esterilizados a 121°C por 15 minutos, em seguida foram distribuídos 50 ml do meio em cada frasco de

vidro de 500 ml no interior da câmara de fluxo laminar, em seguida, aguardou-se 30 minutos para o meio gelificar tornando-o sólido, para posterior germinação das sementes in vitro.

Antes de serem inoculadas, as 18 sementes de catingueira foram embebidas em 100 ml de água destilada estéril por 24 horas, em frascos de vidro de 500 ml. Em seguida, foram imersas em hipoclorito de sódio 2% (IDEAL®), logo após transferidas para o álcool etílico 100% (SANTA CRUZ®) por três minutos, sendo em seguida lavadas três vezes com água destilada estéril para a desinfecção das sementes. Posteriormente, foram inoculadas nos meios AA, em que cada frasco continha três sementes. Os frascos foram lacrados com plástico filme de PVC (MAJIPACK®) e transferidos para o interior da câmara incubadora (B.O.D.), sendo avaliados diariamente quanto à emergência da radícula.

Foi preparada também a germinação das sementes em substrato vermiculita, com bandeja (32 x 23 cm) contendo 15 sementes em cada, em experimento inteiramente ao acaso. A germinação foi analisada diariamente quanto à emergência dos cotilédones e do hipocótilo. Ambas as germinações foram feitas para a obtenção de plântulas como fonte de explantes para a realização dos demais experimentos.

Os meios de indução de calos embriogênicos (MICE) consistem no meio MS completo (MURASHIGE; SKOOG, 1962), suplementados com três concentrações diferentes de fitorreguladores do tipo Picloram e 2,4-D (Tabela 1) e gelificados com ágar a 0,7%. Foram preparados 225 ml de meio de indução de calos embriogênicos, divididos igualmente em três erlenmeyer identificados como tratamento 1, tratamento 2 e tratamento 3. A partir de então, foram adicionadas a cada erlenmeyer concentrações diferentes de Picloram e 2,4-D, o que caracteriza cada tipo de tratamento. Os três tratamentos foram esterilizados a 121°C por 15 minutos. Em seguida, no interior da câmara de fluxo laminar, foram distribuídos 25 ml de meio de indução de calos embriogênicos em cada placa de petri e aguardou-se 30 minutos para o meio gelificar, posteriormente as placas de petri foram lacradas com plástico filme de PVC (MAJIPACK®) para evitar contaminação dos meios de indução de calos.

Tabela 1 - Concentrações dos fitorreguladores (2,4-D e Picloram) utilizados nos meios de indução.

2,4-D	Picloram	Picloram
	1,0 mg. L ⁻¹	2,0 mg. L ⁻¹
1,0 mg. L ⁻¹	T1	T3
1,5 mg. L ⁻¹	T2	-

Nota: T1: tratamento 1; T2: tratamento 2; T3: tratamento 3.

Então, foram retirados das plântulas de catingueira germinadas no substrato vermiculita os tecidos (epicótilos e folhas) que foram submetidos a um processo de desinfecção, no qual os explantes foram imersos em hipoclorito de sódio 2% (IDEAL®) por cinco minutos, posteriormente foram lavados com água destilada e transferidos para o álcool etílico 100% (SANTA CRUZ®) por um minuto. Logo após, os explantes foram lavados três vezes com água destilada estéril, fragmentados em

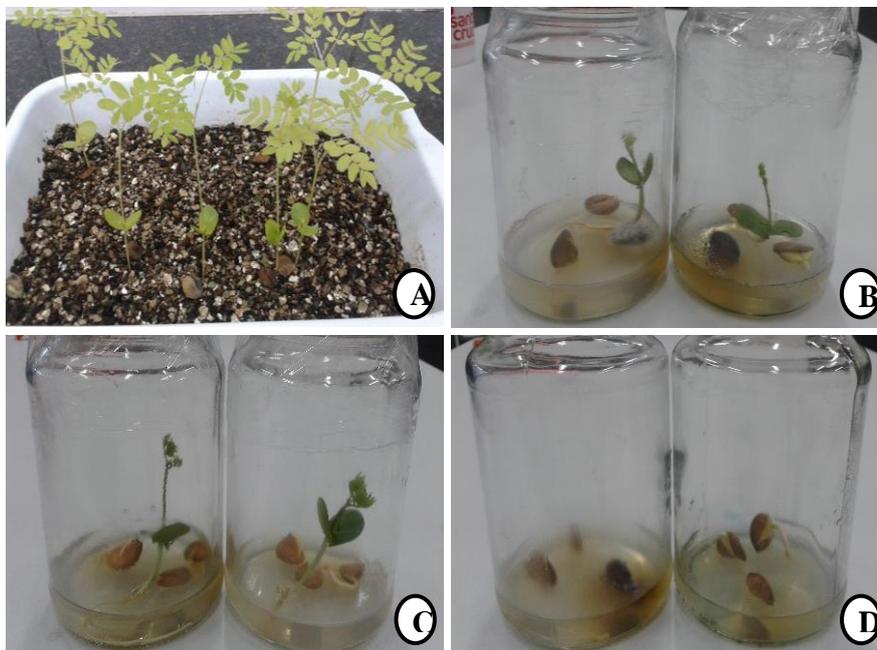
tamanhos menores e inoculados no meio de indução de calos embriogênicos nas placas de petri, que foram lacradas com plástico filme de PVC (MAJIPACK®) e transferidas para o interior da câmara incubadora (B.O.D.), com fotoperíodo de 16 horas a 28°C, por tempo indeterminado e a cada três dias as amostras foram avaliadas quanto ao tamanho, oxidação e friabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os experimentos realizados, foi observado que durante a germinação *in vitro* das sementes de *P. pyramidalis* ocorrem contaminação causada por fungos que são provenientes das próprias sementes. Essa contaminação ocorre independente do tempo em que elas ficam imersas no hipoclorito de sódio 2% (IDEAL®) durante a etapa de desinfecção (Figura 1). De acordo com estudos realizados por Borges et al. (2011), foi adicionado fungicida ao meio de cultura para evitar a contaminação mas causou nele um alto índice de oxidação. Segundo Julliatti (2002), isso ocorre porque alguns fungicidas são indutores de resistência e assim estimulam o sistema de defesa da planta, produzindo compostos fenólicos que conseqüentemente levam a oxidação do meio de germinação.

No entanto, de acordo com os resultados obtidos, a germinação das sementes em vermiculita mostrou-se viável visto que ocorreu em menor escala de tempo e obteve-se plântulas suficientes para a extração dos explantes utilizados nos demais experimentos (Figura 1).

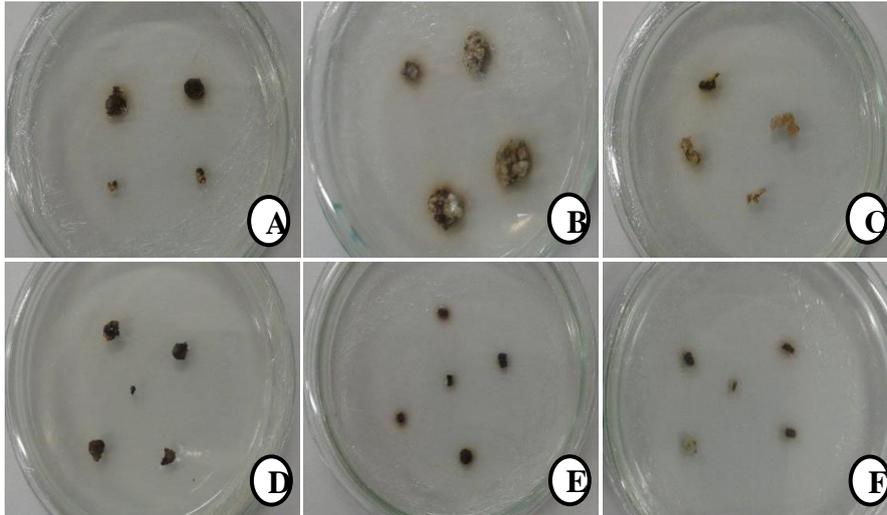
Figura 1 - Germinação de sementes da catingueira em vermiculita e *in vitro* utilizando o meio de germinação AA.



FONTE: Própria/**Nota:** **A.** Germinação em vermiculita; **B.** Sementes imersas no hipoclorito de sódio 2% por 10 minutos; **C.** Sementes imersas no hipoclorito de sódio 2% por 20 minutos; **D.** Sementes imersas no hipoclorito de sódio 2% por 30 minutos.

A Figura 2 representa os resultados obtidos a partir da inoculação feita com folhas e epicótilos de plântulas da catingueira germinadas em vermiculita, nos meios de indução de calos embriogênicos.

Figura 2 - Indução de calos a partir de folhas e epicótilos de *P. pyramidalis*, expostos a luminosidade.

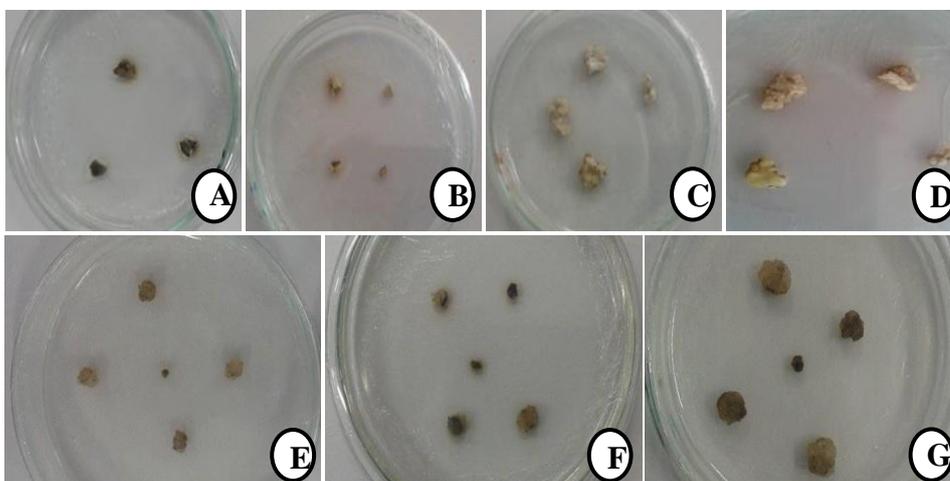


FONTE: Própria/**Nota:** **A.** Folhas no tratamento 1; **B.** Folhas no tratamento 2; **C.** Folhas no tratamento 3; **D.** Epicótilos no tratamento 1; **E.** Epicótilos no tratamento 2; **F.** Epicótilos no tratamento 3.

De acordo com os resultados obtidos, observou-se que houve um alto índice de oxidação a partir do terceiro dia após a inoculação. A oxidação consiste no escurecimento do explante devido à liberação de compostos fenólicos inibindo o seu crescimento, (MELO et al., 2001). São vários os fatores que causam a oxidação, dentre eles está a exposição à luz, pois, segundo Adams, Koenigsberg e Langhans (1979) a atividade das enzimas relacionadas a biossíntese e oxidação de fenóis é aumentada pela luz. Então novos experimentos foram realizados e isolados da luminosidade, sendo avaliados a cada três dias e os resultados obtidos estão ilustrados na Figura 3.

Com base nas repetições que foram realizadas, observou-se que o tratamento que melhor induziu calos foi o tratamento 3, composto por 1,0 mg. L⁻¹ de 2,4-D e 2,0 mg. L⁻¹ de Picloram, independentemente do tipo de explante utilizado, como pode-se observar na figura 3. Verificou-se que houve uma diminuição no índice de oxidação e um aumento no número de calos formados, nas amostras que ficaram isoladas da luminosidade.

Figura 3 - Indução de calos a partir de folhas e epicótilos de *P. pyramidalis*, isolados da luminosidade.



FONTE: Própria/**Nota:** **A.** Folhas inoculadas no tratamento 1; **B.** Folhas inoculadas no tratamento 2; **C-D.** Folhas inoculadas no tratamento 3; **E.** Epicótilos inoculados no tratamento 1; **F.** Epicótilos inoculados no tratamento 2; **G.** Epicótilos inoculados no tratamento 3.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A germinação *in vitro* das sementes de *P. pyramidalis* em meio de germinação AA não foi viável devido à contaminação causada por fungos provenientes da própria semente. Então as plântulas de *P. pyramidalis* foram obtidas por meio da germinação em vermiculita, pois ela ocorreu em menor escala de tempo. Foi verificado que nas amostras isoladas da luminosidade houve um aumento no número de calos induzidos e diminuiu o índice de oxidação dos explantes e as concentrações dos fitorreguladores utilizadas induziram calos, porém o tratamento 3 foi o mais eficiente.

INDUCTION IN VITRO CALOS THROUGH EXPLANTS TAKEN FROM SEEDLINGS OF CATINGUEIRA (*Poincianella pyramidalis* Tul.)

Abstract - *Poincianella pyramidalis* Tul. is popularly known as “catingueira” because it is an endemic plant of the northern region from State of Ceará (Caatinga). This plant has economic importance because of their use in home medicine. It shows the presence of various compounds with therapeutics proprieties, it has been utilized mainly for treatment of anemia and intestinal and respiratory infections. The culture *in vitro* consists in techniques that allow cells proliferation in a less period and with bigger control of plant health due the aseptic conditions. The callus can be used for obtain resistant plants to adverse conditions as fungicides and herbicides. Furthermore, the callus is considered a source of cells for extraction of specific molecules of importance for the research. The present work aimed to establish protocols of callus induction *in vitro* using explants of *P. pyramidalis* (Fabaceae), indicating the phyto regulators concentrations used in culture. Initially, to obtain seedlings, we performed the germination of catingueira seeds *in vitro* in germination medium (AA), and germinated in vermiculite substrate. From the seedlings obtained, we removed the explants (leaves and epicotyl) to be inoculated in the culture mediums. They were submitted to a process denominated disinfection, in which the explants (leaves and epicotyl) from catingueira were then inoculated into the culture medium (MS) supplemented with the phyto regulators and incubated in a growth chamber (B.O.D). The results showed an increase of callus. Therefore, the results suggest that the types of phyto regulators and their concentrations evaluated in this study have ability to induce callus to explants from catingueira.

Keywords: *Catingueira*; *Cultive in vitro*.; *Phyto regulators*.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, R.M.; KOENIGSBERG, S.S.; LANGHANS, R.W. *In vitro* propagation of *Cephalotus folicularis* (Australian patcher plant). *Horticultura Science*, Ashford, Kent, v. 14, n. 1, p. 512-513, jan. 1979.
- ALBUQUERQUE, V.P.; MENDEIROS, P.M.; ALMEIDA, A.L.; MONTEIRO, J.M.; NETO, E. M. F. L.; MELO, J. G.; SANTOS, J. P. Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil. A quantitative approach. *Journal of Ethnopharmacology*, Philadelphia, v. 14, p. 325-354, 2007.
- ALVES, E. V.; CARDOSO, E. A.; BRUNO, R. L. A.; ALVES, A. V.; GALINDO, E. A.; JUNIOR, J. M. B. Superação da dormência em sementes de *Caesalpinia pyramidalis* Tul. *Revista Árvore*, Viçosa, v. 31, n. 3, p. 405-415, 2007.

- ALVIANO, W.S.; ALVIANO, D.S.; DINIZ, C.G.; ANTONIOLLI, A.R.; ALVIANO, C. S.; FARIAS, L. M.; CARVALHO, M.A.A; SOUZA, M.M.G.; BOROENESE, A.M. *In vitro* antioxidante potential of medicinal plant extracts and their activities against oral bacteria based on Brazilian folk medicine. *Archives of Oral Biology*, Amsterdam, v. 53, p. 545-552, 2008.
- AMMIRATO, P. V.; EVANS, D. A.; SHARP, W. R.; YAMADA, Y. *Handbook of plant cell culture*. 3 ed. New York: Macmillan, 1984. 620 p.
- AMMIRATO, P.V.; EVANS, D.A.; SHARP, W.R; BAJAJ, Y.P.S. *Handbook of plant cell culture*. 5 ed. New York (NY): Macmillan, 1990. 141 p.
- ANDRADE, S.R.M. *Princípios da cultura de tecidos vegetais*. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2002.16 p.
- BAHIA, M. V.; SANTOS, J.B.; DAVID, J.P.; DAVID, J.M. Biflavonoides and other Phenolics from *Caesalpinia pyramidalis* (Fabaceae). *Journal of the Brazilian thermal Society*, Campinas, v. 16, n. 6B, p. 1402-1405, 2005.
- BORGES, B.P.S; SILVA, T.S; NEPOMUCENO, C.F.; SANTANA, J.R.F. *Estabelecimento in vitro de Caesalpinia pyramidalis Tul.* Disponível em: <<http://www2.uefs.br/semic/upload/2011/2011XV-032Bá828-220.pdf>>. Acesso em 16 de janeiro 2016.
- CARVALHO, J. M. F. C. *Técnicas de micropropagação*. Campina Grande (PB): EMBRAPA-CNPA, 1999. 39 p.
- CARVALHO, J.M.F.C.; VIDAL, M.S. *Noções de Cultivo de Tecidos Vegetais*. Campina Grande (PB): Embrapa Algodão, 2003. 41 p.
- CID, L. P. B. A propagação *in vitro* de plantas. O que é isso? *Bio-tecnologia Ciência & Desenvolvimento*, v. 19, n. 19, p. 16-21, 2001.
- CRUZ, M.C.S.; SANTOS, P.O.; BARBOSA JR, A.M.; MELO, D.L.F.M.; ALVIANO, D.S.; TRINDADE, R.C. Antifungal activity of Brazilian medicinal plants involved in popular treatment of mycoses. *Journal of Ethnopharmacology*, Philadelphia, v. 111, p. 409-412, 2007.
- GYVES, E. M. *Agrobiotecnologia*. México: Editorial Granica, 1994. 78 p.
- JULIATTI, F.C. 2002. *Modo de ação dos fungicidas sobre plantas e fungos*. Departamento de Fitopatologia, ICIAG/ Universidade Federal de Uberlândia. Disponível em: <<http://www.ipni.net>>. Acesso em 16 de janeiro 2016.
- LAMEIRA, O.A.; LEMOS, O.F.; MENEZES, I.C; PINTO, I.E.B.P. *Cultura de Tecidos (manual)*. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2000. 41 p.
- LIMA, J. L. S. *Plantas forrageiras da caatinga: usos e potencialidades*. Petrolina (PE): EMBRAPA-CPATSA, 1996. 44 p.
- LIMA, M.R.F.; et al. Anti-bacterial activity of some Brazilian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, Philadelphia, v. 105, p. 137-147, 2006.
- LOIOLA, M.I.B.; ROQUE, A.A; OLIVEIRA, A.C.P. Caatinga: Vegetação do semi-árido brasileiro. *Ecologia – Revista Online da Sociedade Portuguesa de Ecologia*. Campina Grande, n. 4, p. 14-19, jan./abr. 2012.

- MAIA, G. N. *Caatinga: árvores e arbustos e suas utilidades*. São Paulo (SP): D&Z Computação Gráfica e Editora, 2004. 413 p.
- MELO, B.; PINTO, J.E.B.P.; LUZ, J.M.Q.; PEIXOTO, J.R.; JULIATTI, F.C. Diferentes antioxidantes no controle da oxidação, germinação e desenvolvimento das plântulas na cultura *in vitro* de embriões da guarirubeira [*Syagrus oleracea* (MART.) BECC.]. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 25, n. 6, p. 1301-1306, 2001.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, G. F. A revised médium for rapid growth and biossays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, v. 15, n. 1, p. 437-497, 1962.
- PEREIRA, M.S.V; RODRIGUES, O.G.; FEIJÓ, F.M.C.; ATHAYDE, A.C.R.; LIMA, E.Q; SOUSA, M.R.Q. Atividade antimicrobiana de extratos de plantas no Semi-Árido Paraibano. *Agropecuária Científica no Semi-Árido*, Patos, v. 2, n. 1, p. 37-43, set./dez. 2006.
- PIERIK, R.L.M. *Cultivo in vitro de las plantas superiores*. Madrid: Mundi-Prensa, 1988. 326 p.
- REZENDE, J.C.; PASCOAL, M.; PEREIRA, R; VILLA, F. Influência do meio de cultura e concentração de ágar no crescimento e desenvolvimento de plântulas de café oriundas da embriogênese somática direta. *Scientia Agrária*, Curitiba, v. 9, n. 1, p. 21-26, 2008.
- SALVATI, A.; ANTONALLI CCI, L.; FORTUNATO, R. H., SUAREZ, E. Y.; GODO, H. M. Antimicrobial activity in methanolic extracts of several plants species from northern Argentina. *Phytomedicine*, Alemanha, v. 11, p. 230-234, 2004.
- SANTANA, D.G.; SANTOS, C.A.; SANTOS, A.D.C.; NOGEUIRA, P.C.C.; THOMAZZI, S.M.; ESTEVAM, C.S.; ANTONIOLLI, A.R.; CAMARGO, E.A. Beneficial effects of the etanol extract of *Caesalpinia pyramidalis* on the inflammatory response in abdominal hyperalgesia in rats with acute pancreatitis. *Journal of Ethnopharmacology*, Philadelphia, v. 142, p. 445-455, 2012.
- SANTOS, C.A.; PASSOS, A.M.P.R.; ANDRADE, F.C.; CAMARGO, E.A.; ESTEVAM, C.S.; SANTOS, M.R.V.; THOMAZZI, S.M. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Caesalpinia pyramidalis* in rodents Brazilian. *Journal of Pharmacognosy*, Curitiba, v. 21, n. 6, p. 1077-1083, 2011.
- SILVA, L. B. SANTOS, F. A. R. de; GASSON, P.; CUTLER, D. Anatomia e densidade básica da madeira de *Caesalpinia pyramidalis* Tul. (Fabaceae), espécie endêmica da caatinga do Nordeste do Brasil. *Acta Botânica Brasileira*, São Paulo, v. 23, n. 2, p. 436-445, abr./jun. 2009.
- SILVA, T. S. *Morfogênese e Conservação in vitro de Caesalpinia pyramidalis Tul.* 2012. 88 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Programa de pós-graduação em Biotecnologia, Universidade Estadual Feira de Santana, Feira de Santana – BA. 2012.
- TEIXEIRA, N.C; et al. Efeito do estresse hídrico sobre a viabilidade e o vigor de sementes de *Caesalpinia pyramidalis* Tul. (Leguminosae-Caesalpinioideae). In: Congresso de Ecologia do Brasil. *Anais*. Caxambu – MG: SEB 1-3. p. 1-3, 2007.