

## CULTIVO *IN VITRO* DE *ACCA SELLOWIANA* (O. BERG.) BURRET. EM SISTEMA DE VENTILAÇÃO NATURAL COM TAMPAS COMERCIAIS

Dara Damiana Souza Guanais<sup>1</sup>, Francielle Kern de Moraes<sup>1</sup>, Paulo Cesar Poeta Fermينو Junior<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Graduação em Agronomia. Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Rurais. Curitibanos, SC.

<sup>2</sup>Biólogo. Professor. Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Rurais, Departamento de Ciências Naturais e Sociais. Curitibanos, SC.  
(paulo.fermino@ufsc.br)

Recebido em: 15/11/2022 – Aprovado em: 15/12/2022 – Publicado em: 30/12/2022  
DOI: 10.18677/EnciBio\_2022D16

### RESUMO

A goiabeira-serrana ou feijoa é uma espécie nativa brasileira com amplas aplicações na indústria alimentícia e farmacêutica. A reprodução por micropropagação consiste numa estratégia com elevado potencial para a produção de mudas em larga escala. O uso de tampas que permitem as trocas gasosas em sistema de ventilação natural é um fator chave para a obtenção de mudas de alta qualidade, possibilitando plântulas mais responsivas e vigorosas. O objetivo do trabalho foi comparar a multiplicação *in vitro* de *Acca sellowiana* em sistema de cultivo com ventilação natural e convencional por meio do uso de tampas comerciais. Segmentos nodais de plantas jovens germinadas *in vitro* foram cultivadas em meio MS, isento de regulador de crescimento, com tampas fechadas (convencionais) e com tampas de trocas gasosas (Samavidros®, modelo BioSama), subcultivados por dois ciclos de multiplicação de sessenta dias cada. O percentual de segmentos nodais que tiveram resposta morfogênica em sistema de ventilação natural foi maior do que em sistema convencional, bem como o número de nós por broto regenerado no primeiro ciclo. O número de brotos regenerados não apresentou diferenças significativas. A altura dos brotos regenerados foi menor no sistema de ventilação natural. O uso de sistema de ventilação natural é uma estratégia de micropropagação de *A. sellowiana* adequada para aumentar a taxa de propagação.

**PALAVRAS-CHAVE:** Micropropagação. Regeneração de brotos. Trocas gasosas.

### *IN VITRO* CULTURE OF *ACCA SELLOWIANA* (O. BERG.) BURRET. IN NATURAL VENTILATION SYSTEM WITH COMMERCIAL LIDS

### ABSTRACT

The “goiabeira serrana” or feijoa is a native Brazilian species with wide applications in the food and pharmaceutical industry. Reproduction by micropropagation is a strategy with high potential for the production of seedlings on a large scale. The use of lids that allow gas exchange in a natural ventilation system is a key factor in obtaining high quality seedlings, allowing for more responsive and vigorous seedlings. The objective of this work was to compare the *in vitro* multiplication of *Acca sellowiana* in a cultivation system with natural and conventional ventilation through the use of commercial lids. Nodal segments of young plants germinated *in*

*in vitro* were cultivated in MS medium, growth regulator free, with closed lids (conventional) and with gas exchange lids (Samavidros®, model BioSama), subcultured for two multiplication cycles of sixty days each. The percentage of nodal segments that had a morphogenic response in a natural ventilation system was higher than in a conventional system, as well as the number of nodes per shoot regenerated in the first cycle. The number of regenerated shoots did not show significant differences. The height of regenerated shoots was lower in the natural ventilation system. The use of a natural ventilation system is a suitable *A. sellowiana* micropropagation strategy to increase the propagation rate.

**KEYWORDS:** Gas Exchange. Micropropagation. Shoot regeneration.

## INTRODUÇÃO

A goiabeira-serrana ou Feijoa (*Acca sellowiana* (O. Berg.) Burret.) é uma espécie nativa do sul do Brasil, Paraguai, norte do Uruguai e Argentina (RAMÍREZ; KALLARACKAL, 2017). Em razão do seu fruto e de seu aspecto ornamental, a goiabeira-serrana foi adaptada para cultivo em algumas outras partes do mundo, como EUA, França, Itália, Turquia, Irã, Austrália e Nova Zelândia (TUNCEL; YILMAZ, 2015). O fruto de Feijoa é comumente consumido fresco, e na indústria alimentícia vários produtos foram desenvolvidos, tais como sorvete, chocolate, doce, vinho, pão, geléia, iogurte, muffin, purê, suco (ZHU, 2018). Durante a última década, várias atividades biológicas da feijoa têm sido relatadas, como ação antioxidante, antimicrobiana, e antiinflamatória (AOYAMA *et al.*, 2018).

Os métodos de propagação vegetativa convencional (enxertia e estaquia) são pouco satisfatórios para a produção de mudas de *A. sellowiana*, assim como a viabilidade, conservação e vigor das sementes, razão pela qual se torna necessário a otimização de meios para a propagação e conservação (CAETANO *et al.*, 2021). A propagação também é feita por meio de sementes e de micropropagação (PASA *et al.*, 2018). Um protocolo de micropropagação para *A. sellowiana* foi estabelecido por Oltramari *et al.* (2000) a partir de segmentos nodais.

A cultura de tecidos vegetais convencionalmente envolve um sistema heterotrófico com uso de filme de policloreto de vinila (PVC) para selar os frascos e tubos com tampas de polipropileno, que restringem as trocas gasosas entre a plântula e o ambiente externo (FORTINI *et al.*, 2021). Isso leva a anomalias morfológicas e fisiológicas em plantas regeneradas *in vitro*, uma questão crucial em espécies lenhosas (NUNEZ-RAMOS *et al.*, 2021), como *A. sellowiana*. Já os cultivos mixotróficos permitem a ventilação natural dos frascos de cultura pelo uso de membranas permeáveis a gases (comerciais ou alternativas), aumentando assim a taxa de crescimento, aspectos anatômicos e fisiológicos, melhorando o controle da transpiração e a sobrevivência e desenvolvimento das plântulas na aclimatização (OLIVEIRA JUNIOR *et al.*, 2022). Estudos recentes sugerem que a composição gasosa *in vitro* é um fator chave para a obtenção de mudas de alta qualidade, possibilitando plântulas mais responsivas e vigorosas (FERNANDES *et al.*, 2020).

A comparação de características anatômicas de folhas de *A. sellowiana* em sistema de cultivo com ventilação natural foi realizada por Caetano *et al.* (2021), entretanto, dados de respostas de parâmetros fitotécnicos na micropropagação de *A. sellowiana* nesse sistema ainda não foram reportados na literatura.

O objetivo do trabalho foi comparar a multiplicação *in vitro* de *Acca sellowiana* em sistema de cultivo com ventilação natural e convencional (sem trocas gasosas) por meio do uso de tampas comerciais.

## MATERIAL E MÉTODOS

Sementes de *Acca Sellowiana* (O.Berg.) Burret. doadas pela Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI), da cidade de São Joaquim – SC, oriundas de Banco de Germoplasma no campo foram utilizadas para o estabelecimento do cultivo *in vitro*.

Inicialmente as sementes foram removidas manualmente dos frutos maduros, lavadas em água corrente com detergente para a remoção da mucilagem e armazenadas em geladeira (5°C) por 15 dias. Para o estabelecimento *in vitro* foi utilizado protocolo de desinfecção com imersão em etanol (70%) por 2 min, seguido de imersão em hipoclorito de sódio 2,5% por 30 minutos, e finalmente em água destilada esterilizada, por três vezes consecutivas para a remoção das substâncias de assepsia. Foi utilizado o meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), com suplementação de 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose e 6 g L<sup>-1</sup> de agar-agar. Antes da adição do agar-agar foi realizado o ajuste de pH do meio (5,8 ± 0,2). Todos os procedimentos de inoculação *in vitro* foram feitos em câmara de fluxo laminar horizontal.

As sementes após o protocolo de desinfecção foram então inoculadas em 20 frascos de 250 mL cada, contendo 30 mL de meio de cultura e cada frasco recebeu oito sementes, e em seguida as tampas foram devidamente vedadas com plástico filme em PVC nas bordas. Foram utilizadas tampas com trocas gasosas (SV) e tampas convencionais (sem trocas gasosas - SC). As tampas com trocas gasosas foram provenientes da Samavidros®, modelo BioSama com um orifício de borracha, com furo de 1 mm de diâmetro preenchido com algodão hidrófilico e um filtro millipori com porosidade de 22 µm (BRAGA *et al.*, 2010). As culturas foram mantidas em sala de crescimento a 25 ± 3 °C, com lâmpadas fluorescentes brancas (50 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> de fótons), com fotoperíodo de 16 horas.

Após 60 dias de cultivo *in vitro* as plantas jovens (com metafílos) tiveram seus eixos caulinares separados, em câmara de fluxo laminar, para a excisão de segmentos nodais (2 cm) e inoculação em frascos de 250 mL considerando o sistema convencional e sistema de ventilação natural, contendo 30 mL de meio de multiplicação. O meio de multiplicação foi composto por sais de MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), com suplementação de 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose e 2 g L<sup>-1</sup> de phytigel®. O experimento ocorreu com análises de parâmetros fitotécnicos no primeiro ciclo (C1) e no segundo ciclo (C2) sucessivos, consistindo no percentual de resposta morfogênica, no número de brotos regenerados, no número de nós por broto regenerado, e na altura dos brotos regenerados.

O experimento foi organizado em delineamento completamente casualizado, em esquema fatorial 2 x 2 (dois sistemas de cultivo e dois ciclos de multiplicação), com quatro tratamentos e oito repetições, e cada parcela composta por dois frascos, contendo cinco explantes em cada frasco. Os dados de contagens foram transformados para  $x^{1/2} + 0,5$ . Os dados foram avaliados pelo teste F de análise de variância, e quando o valor F indicou que havia diferença entre os tratamentos, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância para os efeitos isolados e a interação entre os fatores estudados.

Após dois ciclos de multiplicação de sessenta dias cada, microbrotos regenerados no meio de multiplicação (±2,5 cm) foram transferidos para o enraizamento *ex vitro*, conforme metodologia de Oltramari *et al.* (2000). Bases de microbrotos foram imersas em solução de 100 µM de ácido indolbutírico (AIB) por 60 minutos. Posteriormente, as microestacas foram transplantadas potes de polipropileno com tampa, contendo como substrato uma mistura de vermiculita e

casca de arroz carbonizada, na proporção de 1:1 (v:v), mantidas em sala de crescimento (Figura 1).

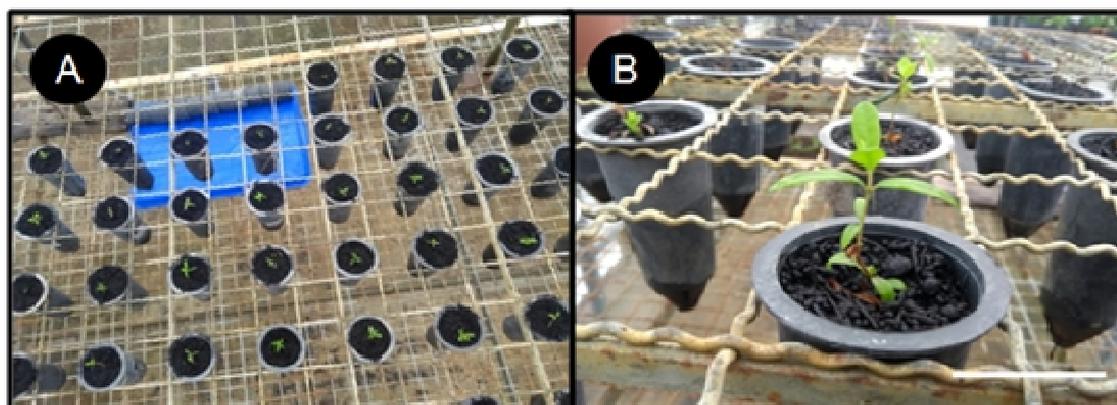
**FIGURA 1.** Enraizamento *ex vitro* de *Acca sellowiana* (O.Berg.) Burret. (A) Bases dos microbrotos imersas em ácido indolbutírico (AIB) em Becker de 50 ml; (B) Transplântio das microstacas para potes de polipropileno. Barra = 1 cm.



Fonte: os autores (2022)

As plantas regeneradas *in vitro* foram transferidas para a casa de vegetação tecnológica para a aclimatização, com irrigação automática, e acondicionadas em tubetes plásticos (6,5 cm de diâmetro x 14 cm de altura) contendo substrato comercial Mecplant® (Figura 2).

**FIGURA 2.** Aclimatização de *Acca sellowiana* (O.Berg.) Burret. em casa de vegetação tecnológica. (A) Tubetes em estante suspensa; (B) Detalhe do tubete. Barra= 3 cm.



Fonte: Os autores (2022)

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância não indicou interação entre os fatores (sistemas de cultivo e ciclo de multiplicação) para a resposta morfogênica, para o número de brotos regenerados e para a altura dos brotos regenerados. Para esses parâmetros fitotécnicos apenas os efeitos isolados foram encontrados (Tabela 1). Para o número de nós/broto existiu interação entre o sistema de cultivo e o ciclo de multiplicação.

Após dois ciclos de multiplicação sucessivos *in vitro* em média, o percentual de segmentos nodais que tiveram resposta morfogênica (formação de brotos) em sistema de ventilação natural foi maior (90,7%) do que em sistema convencional (83,7%) (Figura 3). No primeiro ciclo de multiplicação (C1), as respostas morfogênicas foram maiores do que no segundo ciclo (C2).

**TABELA 1.** Multiplicação *in vitro* de *Acca sellowiana* (O.Berg.) Burret. em sistema de ventilação natural (SV) e sistema convencional (SC) no primeiro ciclo (C1) e segundo ciclo (C2) sucessivos.

		<b>C1 (Primeiro ciclo)</b>	<b>C2 (Segundo ciclo)</b>	<b>Média</b>
<b>Resposta Morfogênica (%)</b>	<b>SC</b>	88,6± 12,7	78,8 ± 10,4	83,7 B
	<b>SV</b>	93,1 ± 9,7	88,3 ± 8,6	90,7 A
<b>Média</b>		90,85 A	83,55 B	
<b>Número de Brotos</b>	<b>SC</b>	1,0 ± 0	1,2 ± 0,4	1,1 A
	<b>SV</b>	1,2 ± 0,4	1,5 ± 0,5	1,3 A
<b>Média</b>		1,1 A	1,35 A	
<b>Número de nós/broto</b>	<b>SC</b>	4,0 ± 1,3 bB	5,3 ± 1,3 aA	5,2
	<b>SV</b>	5,7 ± 1,3 aA	4,8 ± 1,0 aA	5,6
<b>Média</b>		4,85	5,05	
<b>Altura dos brotos (cm)</b>	<b>SC</b>	1,7 ± 0,5	2,7 ± 0,5	2,2 A
	<b>SV</b>	1,5 ± 0,6	1,9 ± 0,6	1,7 B
<b>Média</b>		1,6 B	2,3 A	

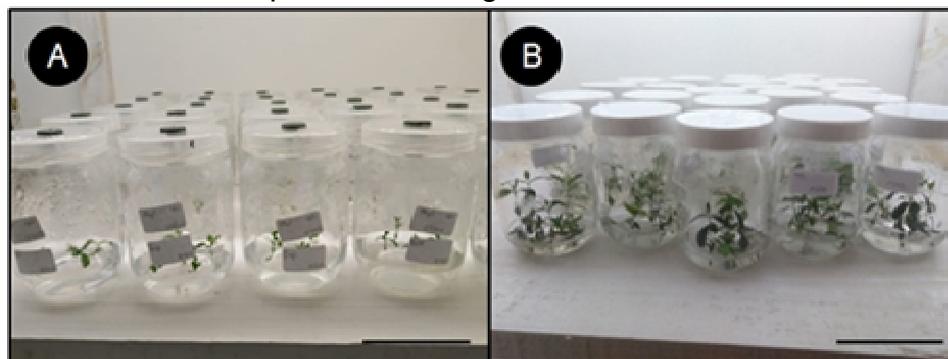
\*Dados transformados para  $x^{1/2} + 0,5$ . Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na vertical e letras minúsculas na horizontal não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% ( $p \leq 0,05$ ) de significância.

O número de brotos regenerados após dois ciclos de multiplicação, em média, não apresentou diferenças estatisticamente significativas (Tabela 1). Não foram registradas diferenças significativas entre os sistemas no primeiro ciclo comparativamente, nem mesmo no segundo ciclo.

A análise do número de nós por broto regenerado no primeiro ciclo indicou maiores valores no sistema de ventilação natural em comparação ao sistema convencional, entretanto, no segundo ciclo de multiplicação não existiu diferenças significativas. No sistema convencional, o número de nós/broto regenerado foi maior no segundo ciclo comparativamente ao primeiro ciclo.

A altura dos brotos regenerados após dois ciclos de multiplicação sucessivos, em média, apresentou valores menores no sistema de ventilação natural (1,7 cm) em comparação ao sistema convencional (2,2 cm). No primeiro ciclo de multiplicação a altura dos brotos foi menor (1,6 cm) do que no segundo ciclo de multiplicação (2,3 cm).

**FIGURA 3.** Multiplicação *in vitro* de *Acca sellowiana* (O.Berg.) Burret. (A) Sistema de cultivo de ventilação natural (SV) com tampas Samavidros®, modelo BioSama; (B) Sistema convencional de cultivo com tampas sem troca gasosa. Barras = 5 cm.



Fonte: os autores (2022)

Os efeitos dos fatores ambientais no desenvolvimento, crescimento e morfogênese de plantas regeneradas *in vitro* dependem do ambiente de cultivo (FORTINI *et al.*, 2021), conforme observado nesse estudo com *A. sellowiana*. Estudos recentes sugerem que a composição gasosa *in vitro* é um fator chave para a obtenção de mudas de alta qualidade, possibilitando plântulas mais responsivas e vigorosas (BATISTA *et al.*, 2017). A biotecnologia vegetal provou ser uma ferramenta valiosa na produção massiva de espécies arbóreas em um tempo relativamente curto (NUNEZ-RAMOS *et al.*, 2021).

No estudo com a organogênese *in vitro* de diferentes cultivares de tomate, Fernandes *et al.*, (2020) afirmam que o uso de sistema de cultivo com trocas gasosas aumenta as respostas morfogênicas, concordando com os resultados obtidos para *A. sellowiana* no presente trabalho.

No estudo com *Jasminanthes tuyetanhae* em sistema de micropropagação com ventilação natural foram registrados aumento na eficiência de enraizamento, maior crescimento e formação de raízes secundárias (NAM *et al.*, 2022). Resultados semelhantes no estudo com micropropagação de *Caesalpinia spinosa* (Mol.) O. Kuntz em sistema de ventilação natural foram obtidos, onde o número de brotos e de folhas não apresentou diferenças significativas (NUNEZ-RAMOS *et al.*, 2021). Ainda no mesmo estudo de *C. spinosa*, a altura dos brotos regenerados não apresentou diferenças significativas com o uso do sistema de ventilação, diferindo dos resultados do presente estudo com *A. sellowiana*, onde os brotos foram menores em altura no sistema de ventilação natural.

De acordo com Ševčíková *et al.*, (2018), o ambiente de cultivo com ventilação natural (filtros de trocas gasosas) favorece a dinâmica de gases dentro do frasco, incluindo o aumento da transpiração. Nesse contexto, o uso de frascos com sistema de ventilação natural em *A. sellowiana* promoveu menor crescimento da parte aérea em razão da menor disponibilidade de água. Resultados contrastantes aos obtidos nesse estudo com *A. sellowiana* para a altura dos brotos foram registrados para a pimenteira ornamental *Capsicum annuum*, uma vez que o uso de sistema de trocas gasosas na micropropagação dessa espécie promoveu aumento na altura dos brotos regenerados (BATISTA *et al.*, 2017).

No estudo com *Croton lechleri* em sistema de cultivo *in vitro* com ventilação natural por meio de uso de filtro de máscaras cirúrgicas (com três camadas) adaptadas aos frascos, Oliveira Junior *et al.* (2022) não registraram diferenças no

número de folhas dos brotos regenerados e no comprimento das raízes regeneradas em comparação ao sistema convencional. Diferenças foram observadas apenas no maior número de raízes adventícias regeneradas em sistema de ventilação natural, indicando o favorecimento desse sistema de cultivo, informação também verificada para *A. sellowiana*.

A análise das modificações anatômicas de folhas de *A. sellowiana* em cultivo no sistema de ventilação natural indica que o sistema promove ajustes morfofisiológicos que favorecem a transição do cultivo *in vitro* para o *ex vitro* (CAETANO *et al.*, 2021), expressos nesse presente trabalho pelo aumento nas respostas morfogênicas no cultivo *in vitro* de segmentos nodais, sem aumentar o número de brotos regenerados.

### CONCLUSÃO

O cultivo *in vitro* de *Acca sellowiana* em sistema de ventilação natural promoveu aumento no percentual de respostas morfogênicas e no número de nós/broto no primeiro ciclo de multiplicação. O número de brotos regenerados não sofreu alterações significativas em sistema de ventilação natural.

O uso de sistema de ventilação natural é uma estratégia de micropropagação de *A. sellowiana* adequada para aumentar a taxa de propagação.

### REFERÊNCIAS

AOYAMA, H.; SAKAGAMI, H.; HATANO, T. Three new flavonoids, proanthocyanidin, and accompanying phenolic constituents from *Feijoa sellowiana*. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 82, p. 31–41, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/09168451.2017.1412246>>

BATISTA, D.S., DIAS, L.L.C., RÊGO, M.M., SALDANHA, C.W., OTONI, W.C. Flask sealing on *in vitro* seed germination and morphogenesis of two types of ornamental pepper explants. **Ciência Rural**, v. 47, p. 1-6, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20150245>>

CAETANO, A.P.; GUANAIS, D.D.S.; GUERRA, M.P.; FERMINO JUNIOR, P.C.P. Leaf anatomy plasticity of *Acca sellowiana* (O. Berg.) Burret. *in vitro* cultured in natural ventilation system and *ex vitro* acclimatized. **Plant Cell Culture & Micropropagation**, v.17, e173, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.46526/pccm.2021.v17.173>>

FERNANDES, D.; FREITAS, D.M.S.; BATISTA, D.S.; SALDANHA, C.W.; SANTOS, J.C.; POMPELLI, M.F.; OTONI, W.C. *In vitro* organogenesis in tomato cultivars is enhanced by gas exchange and application of ultrasound. **Brazilian Journal of Development**, v.6, n. 1, p. 679-696, 2020. Disponível em: <<http://doi.org/10.34117/bjdv6n1-047>>

FORTINI, E.A.; BATISTA, D.S.; MAMEDES-RODRIGUES, T.C.; FELIPE, S.H.S.; CORREIA, L.N.F.; *et al.*; Gas exchange rates and sucrose concentrations affect plant growth and production of flavonoids in *Vernonia condensata* grown *in vitro*. **Plant Cell, tissue and Organ Culture**, v. 144, p. 593–605, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s11240-020-01981-5>>

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A.A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiology Plantarum**, v.15, p.473-497, 1962.

NAM, N.B.; TRIEU, L.N.; VU, N.T.; TRUNG, L.H.; TRA, T.T.H.; *et al.*; Micropropagation of *Jasminanthes tuyetanhiae*: na endemic and valuable herb in Vietnam. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 148, p. 35-44, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s11240-021-02158-4>>

NUNEZ-RAMOS, J.E.; QUIALA, E.; POSADA, L.; MESTANZA, S.; SARMIENTO, L.; *et al.*, Morphological and physiological reponses of tara (*Caesalpinia spinosa* (Mol.) O. Kuntz) microshoots to ventilation and sucrose treatments. **In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant**, v. 57, p. 1-14, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s11627-020-10104-w>>

OLIVEIRA JUNIOR, J.B.; PESSOA, C.M.P.; SCHERWINSKI-PEREIRA, J.E.; LOPES, H.S.; COSTA, F.H.S. A simple, alternative and efficient sealing system to improve natural ventilation in culture vessels and the morphophysiological and anatomical quality of *Croton lechleri* (Muell. Arg.) grown *in vitro*. **Biologia**, v. 77, p. 1-10, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s11756-022-01140-5>>

OLTRAMARI, A. C.; DAL VESCO, L. L.; PEDROTTI, E. L. Protocolo de micropropagação da goiabeira serrana (*Acca sellowiana* (Berg) Burret). **Ciência Rural**, v. 30, p. 61-68, 2000.

PASA, M.S; SOUZA, A. N; SCHIMITZ, J. D; BRIGHENTI, A. F; SILVA, C. P; *et al.*; Propagação. In: CIOTTA, M. N; ARIOLI, C. J; PINTO, F. A. M. F; DOS SANTOS, K. L; ARAUJO, L; PASA, M. S. **A cultura da goiabeira serrana**. Florianópolis: Epagri, 2018. p 79-87.

RAMÍREZ, F.; KALLARACKAL, J. Feijoa [*Acca sellowiana* (O. Berg) Burret] pollination: A review. **Scientia Horticulturae**, v. 226, p. 333–34, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2017.08.054>>

ŠEVČÍKOVÁ, H.; LHOTÁKOVÁ, Z.; HAMET, J.; LIPAVSKÁ, H. Mixotrophic *in vitro* cultivations: the way to go astray in plant physiology. **Physiology Plant**, v. 167, p. 365–377, 2018. Disponível em: < <https://doi.org/10.1111/ppl.12893>>

TUNCEL, N. B.; YILMAZ, N. Optimizing the extraction of phenolics and antioxidants from feijoa (*Feijoa sellowiana*, Myrtaceae). **Journal of Food Science & Technology**, v. 52, p.141–150, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s13197-013-0968-0>>

ZHU, F. Chemical and biological properties of feijoa (*Acca sellowiana*). **Trends in Food Science & Technology**, v. 81, p.121-131, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.09.008>>