

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E AMBIENTAIS
CURSO DE BIOTECNOLOGIA - BACHARELADO

GEISIANNY PEREIRA NUNES

**GERMINAÇÃO, CALOGÊNESE E MICROPROPAGAÇÃO DE *Syzygium
cumini* (L.) SKEELS**

DOURADOS
MATO GROSSO DO SUL
2018

GEISIANNY PEREIRA NUNES

GERMINAÇÃO, CALOGÊNESE E MICROPROPAGAÇÃO DE *Syzygium cumini* (L.) SKEELS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais da Universidade Federal da Grande Dourados, como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia, sob a orientação do Prof. Dr. Rodrigo Kelson Silva Rezende.

Dourados
Mato Grosso Do Sul
2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

N972g Nunes, Geisianny Pereira

GERMINAÇÃO, CALOGÊNESE E MICROPROPAGAÇÃO DE
Syzygium cumini (L.) SKEELS / Geisianny Pereira Nunes -- Dourados:
UFGD, 2018.

53f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Kelson Silva Rezende

TCC (Graduação em Biotecnologia)-Universidade Federal da Grande
Dourados

Inclui bibliografia

1. jamelão. 2. cultura de tecidos. 3. bioestimulante. I. Título.

**Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os
dados fornecidos pelo(a) autor(a).**

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.

GERMINAÇÃO, CALOGÊNESE E MICROPROPAGAÇÃO DE *Syzygium cumini* (L.) SKEELS

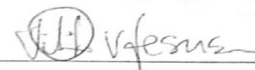
por


Geisianny Pereira Nunes

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais da Universidade Federal da Grande Dourados, como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

Aprovada em: 29 / 11 / 2018


MSc. Guilherme Cardoso Oba


MSc. Mailson Vieira Jesus


Prof. Dr. Rodrigo Kelson Silva
Rezende
Orientador – UFGD/FCA

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por permitir a concretização desta importante etapa em minha vida.

Aos meus pais Lisnei e Ramão, e a minha irmã Geisielly, por sempre estarem ao meu lado, pelo amor, amizade, dedicação, incentivo e pela torcida durante todo esse tempo. Nada disso seria possível sem o apoio de vocês. **MUITO OBRIGADA POR TUDO, AMO VOCÊS!**

Ao meu orientador, professor Dr. Rodrigo Kelson Silva Rezende, por todo conhecimento, ajuda e dedicação durante todos estes anos, pela oportunidade de trabalho, confiança e por seu exemplo de profissionalismo e caráter. Obrigada por me receber no laboratório de portas abertas e sempre estar à disposição, respondendo minhas dúvidas.

Ao técnico do Laboratório de Biotecnologia Vegetal, Ederson Marcelo Klein, pelos ensinamentos, paciência e principalmente pela grande amizade ao longo destes anos.

À professora Dr.^a Fernanda Pinto e ao Maílson, por toda paciência, carinho, incentivo, pelos conselhos e correções, pela disponibilidade para responder todos os meus questionamentos, só tenho a agradecer.

Aos meus colegas de laboratório, em especial Ana Maria, Luciely, Mariany e Thiago, pela colaboração e boa vontade em ajudar em meus experimentos, pela amizade e por todos os momentos que compartilhamos juntos.

À professora Dr.^a Cláudia Roberta Damiani, “mãe” da Biotec, uma pessoa maravilhosa, excelente profissional, sempre me deu assistência quando precisei, desde o início conseguiu fazer eu me apaixonar pela área de estudo. Obrigada por todo carinho e amizade.

A todos os meus professores que ajudaram a construir o conhecimento que hoje possuo, cada um de uma forma especial transmitiu seus ensinamentos.

Aos meus amigos Carol, Guilherme, Kelli, Lucas, em especial Claudia e Endy que sempre me ouviram e me apoiaram. Obrigada pelos incentivos, ajuda, amizade em todos os momentos, pelas risadas que amenizavam o stress diário. Esse pouco tempo de convivência foi o suficiente para reconhecer uma amizade verdadeira, cada um de uma forma particular de ser, diferentes personalidades que acabaram me conquistando, vocês foram minha família em Dourados.

E, por fim, agradeço a todos aqueles que de alguma maneira contribuíram para minha formação.

SUMÁRIO

RESUMO	7
ABSTRACT	8
1. INTRODUÇÃO.....	13
2. OBJETIVOS.....	15
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
3.1. Jamelão (<i>Syzygium cumini</i> (L.) Skeels)	16
3.2. Germinação	18
3.3. Calogênese	19
3.4. Micropropagação	20
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	22
4.1. Germinação <i>in vitro</i> e desenvolvimento inicial de plântulas	22
4.2. Germinação sob condições de casa de vegetação	23
4.3. Calogênese <i>in vitro</i>	24
4.4. Micropropagação <i>in vitro</i>	26
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	28
5.1. Experimento 1: Germinação <i>in vitro</i> e desenvolvimento inicial de plântulas .	28
5.2. Experimento 2: Germinação sob condições de casa de vegetação	32
5.3. Experimento 3: Calogênese <i>in vitro</i>	35
5.4. Experimento 4: Micropropagação <i>in vitro</i>	42
6. CONCLUSÃO.....	46
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46

RESUMO

NUNES, Geisianny Pereira. **Germinação, calogênese e micropropagação de *Syzygium cumini* (L.) Skeels** 2018. 53f. (Graduação em Biotecnologia) – Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados - MS.

Syzygium cumini (L) Skeels é uma frutífera pertencente à família Myrtaceae, conhecida popularmente como “jamelão” ou “jambolão”. As plantas de jamelão são conhecidas por seus efeitos hipoglicemiantes e o chá de suas folhas é normalmente utilizado por pacientes diabéticos. Visando as limitações na propagação da espécie, o cultivo *in vitro* é uma importante alternativa para a produção de mudas e conservação desse recurso genético, destacando-se a micropropagação, que permite obter plantas com características genéticas idênticas, em larga escala e em curto espaço de tempo. Objetivou-se estabelecer um protocolo eficiente de germinação, calogênese e micropropagação de jamelão. As atividades foram desenvolvidas no Laboratório de Biotecnologia Vegetal, pertencente ao Centro de Biotecnologia e Melhoramento Genético da Cana-de-Açúcar, da Universidade Federal da Grande Dourados. Realizou-se quatro experimentos distintos: no primeiro e segundo experimento, avaliou-se o efeito de diferentes concentrações de bioestimulante (0,0; 5,0; 10,0; 15,0; 20,0; 25,0 e 30,0 mL kg⁻¹ de semente) na germinação *in vitro* e *ex vitro* de sementes de jamelão. No terceiro experimento, avaliou-se o efeito de diferentes concentrações de reguladores de crescimento ANA (ácido naftaleno acético) 0,0; 2,0 e 4,0 mg L⁻¹, TDZ (thidiazuron) 0,0; 1,0 e 2,0 mg L⁻¹ e 2,4-D (ácido diclorofenoxiacético) 0,0; 1,0 e 2,0 mg L⁻¹ na organogênese *in vitro* a partir de explantes foliares e no quarto experimento avaliou-se o efeito de diferentes concentrações de BAP (6-benzilaminopurina) 0,0; 0,25; 0,5; 1,0 e 2,0 mg L⁻¹ e ANA 0,0 e 0,5 mg L⁻¹ na micropropagação a partir de segmentos nodais. Para o primeiro experimento, concluiu-se que as sementes de *Syzygium cumini* tratadas com o bioestimulante resultaram em maiores porcentagens de germinação *in vitro* e no experimento *ex vitro* houve 100% de germinação, tendo como provável influência o substrato utilizado. Na organogênese, concluiu-se que as combinações 0,0 mg L⁻¹ de ANA, 2,0 mg L⁻¹ de TDZ e 1,0 mg L⁻¹ de 2,4-D induziram elevadas intensidades calogênicas para segmentos foliares e a combinação 2,0 mg L⁻¹ de BAP e 0,5 mg L⁻¹ de ANA favoreceu no aumento do número de folhas, altura (cm) e massa fresca (g) das plântulas, sendo esse o tratamento mais indicado para micropropagação *in vitro* de segmentos nodais de *Syzygium cumini*.

Palavras-chave: jamelão, cultura de tecidos, bioestimulante.

ABSTRACT

NUNES, Geisianny Pereira. **Germination, calogenesis and micropropagation of *Syzygium cumini* (L.) Skeels** 2018. 53f. (Graduation in Biotechnology) - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados - MS.

Syzygium cumini (L) Skeels is one of the fruitful species belonging to the Myrtaceae family, commonly known as “jamelão”. The jamelão plants are fairly known for their hyperglycemic agents and the tea from its leaves is normally used by diabetic patients. Aiming at the limitations on species propagation, the *in vitro* cultivation is an important alternative for the production of seedlings and conservation of genetics resources, highlighting the micropropagation, which allows the achievement of plants with identical genetic characteristics, in large scale and in a short time. The aim was to establish an efficient germination protocol, callogenesis and jamelão micropropagation. The activities were developed at the Plant Biotechnology Laboratory, belonging to the Center of Biotechnology and Sugar Cane Genetic Enhancement, of the Universidade Federal da Grande Dourados. Four different experiments were carried out: in the first and second experiment, the effect of different concentrations of biostimulant (0,0; 5,0; 10,0; 15,0; 20,0; 25,0 e 30,0 mL kg⁻¹ of seed) on the *in vitro* and *ex vitro* germination of jamelão seeds was evaluated. In the third experiment, the effect of different concentrations of growth regulators ANA (0,0; 2,0 e 4,0 mg L⁻¹), TDZ (0,0; 1,0 e 2,0 mg L⁻¹) and 2,4-D (0,0; 1,0 e 2,0 mg L⁻¹) on the *in vitro* organogenesis from leaf explants was evaluated and on the fourth experiment, the effect of different concentrations of BAP (0,0; 0,25; 0,5; 1,0 e 2,0 mg L⁻¹) and ANA (0,0 e 0,5 mg L⁻¹) on the micropropagation from nodal segments was evaluated. In the first experiment, *Syzygium cumini* seeds treated with biostimulant resulted on higher percentages of *in vitro* germination and in the *ex vitro* experiment, there was 100% germination. About organogenesis, the combination of 0,0 mg L⁻¹ of ANA, 2,0 mg L⁻¹ of TDZ and 1,0 mg L⁻¹ of 2,4-D induced elevated callogenic intensity for leaf segments and the combination of 2,0 mg L⁻¹ of BAP and 0,5 mg L⁻¹ of ANA favored the increase of the number of leaves, the height (cm) and fresh mass (g) of the plants, being the most suitable treatment for *in vitro* micropropagation of nodal segments of *Syzygium cumini*.

Key-words: jamelão, tissue culture, biostimulant.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Tratamentos com diferentes concentrações de Stimulate[®] (mL Kg⁻¹ de semente) para germinação *in vitro* de sementes de *Syzygium cumini*. Dourados – MS, 2018.

Tabela 2. Tratamentos com diferentes concentrações de Stimulate[®] (mL Kg⁻¹ de semente) para germinação *ex vitro* de sementes de *Syzygium cumini*. Dourados – MS, 2018.

Tabela 3. Tratamentos com diferentes combinações de fitorreguladores (mg L⁻¹) para calogênese de explante do tipo foliar de *Syzygium cumini*. Dourados – MS, 2018.

Tabela 4. Tratamentos com diferentes combinações de fitorreguladores (mg L⁻¹) para micropropagação de explante do tipo segmentos nodais de *Syzygium cumini*. Dourados – MS, 2018.

Tabela 5. Resumo do quadro de análise de variância para germinação *in vitro* das sementes de *Syzygium cumini*, obtidas sobre efeitos de diferentes concentrações de Stimulate[®]. Dourados-MS, 2018.

Tabela 6. Resumo do quadro de análise de variância da altura (ALT) em cm e número de folhas (NF) de plântulas de *Syzygium cumini* cultivadas *in vitro* sobre efeitos de diferentes concentrações Stimulate[®]. Dourados-MS, 2018.

Tabela 7. Resumo do quadro de análise de variância para germinação *ex vitro* das sementes de *Syzygium cumini*, obtidas sobre efeitos de diferentes concentrações de Stimulate[®]. Dourados-MS, 2018.

Tabela 8. Resumo do quadro de análise de variância do número de folhas (NF), altura (ALT) em cm, massa (MF) e massa seca (MS) em g de plântulas de *Syzygium cumini*, cultivadas em casa de vegetação sobre efeitos de diferentes concentrações de Stimulate[®]. Dourados-MS, 2018.

Tabela 9. Efeito de diferentes concentrações de fitorreguladores (em mg L⁻¹) utilizadas na fase de organogênese, expresso pelas variáveis calogênese, cor e textura de calos. Dourados – MS, 2018.

Tabela 10. Resumo do quadro de análise de variância de massa (MF) e massa seca (MS) em g de calos de *Syzygium cumini*, oriundos de calogênese *in vitro* de explante do tipo foliar sobre efeitos de diferentes concentrações de reguladores de crescimento. Dourados-MS, 2018.

Tabela 11. Resumo do quadro de análise de variância do número de folhas (NF), altura (ALT) em cm, massa fresca (MF) e massa seca (MS) em g de plântulas de *Syzygium cumini*, oriundas da micropropagação *in vitro* de segmentos nodais sobre efeitos de diferentes concentrações de reguladores de crescimento. Dourados-MS, 2018.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Aspecto visual de uma planta adulta de *Syzygium cumini* em período de frutificação.

Figura 2. Porcentagem de contaminação fúngica e bacteriana durante a germinação *in vitro* de sementes *Syzygium cumini* em meio de cultura com diferentes concentrações de Stimulate[®]. Dourados – MS, UFGD, 2018.

Figura 3. Plântulas de *Syzygium cumini* oriundas de germinação *in vitro* de sementes submetidas a diferentes concentrações de Stimulate[®]. Dourados – MS, UFGD, 2018.

Figura 4. Porcentagem de germinação *in vitro* de sementes *Syzygium cumini* em meio de cultura com diferentes concentrações de Stimulate[®]. Dourados – MS, UFGD, 2018.

Figura 5. Efeito de diferentes concentrações de Stimulate[®] (em mL Kg⁻¹ de sementes) usadas na fase *in vitro*, sobre o desenvolvimento de plântulas de *Syzygium cumini* após 30 dias de cultivo expresso pelas variáveis altura de plântula (ALT) (cm) e número de folhas (NF). Dourados – MS, UFGD, 2018.

Figura 6. Plantas de *Syzygium cumini* oriundas de germinação *ex vitro* de sementes submetidas a diferentes concentrações de Stimulate[®]. Dourados – MS, UFGD, 2018.

Figura 7. Efeito de diferentes concentrações de Stimulate[®] (em mL kg⁻¹ de semente) utilizadas na fase de germinação de sementes de *Syzygium cumini*, expresso pelas variáveis (NF) número de folhas, (ALT) altura, (MF) massa fresca e (MS) massa seca de plântulas cultivadas em casa de vegetação. (Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de erro). Dourados – MS, 2018.

Figura 8. Porcentagem de intensidade de calogênese, coloração e textura de calos obtidos por meio de segmentos foliares de *Syzygium cumini* em função dos níveis de ANA, TDZ e 2,4-D (1 = moderada, marrom, liso; 2 = alta moderada, verde, pouco granuloso; 3= alta, branco, granuloso). Dourados – MS, UFGD, 2018.

Figura 9. Aspecto visual de calos induzidos a partir de explantes foliares de *Syzygium cumini* submetidos em diferentes concentrações de reguladores. Dourados – MS, UFGD, 2018.

Figura 10. Estimativa de A) massa fresca B) massa seca (g) de calos formados em explantes foliares de *Syzygium cumini*, sobre efeitos de diferentes concentrações de reguladores de crescimento: ANA (0,0; 2,0 e 4,0 mg L⁻¹), TDZ (0,0; 1,0 e 2,0 mg L⁻¹) e 2,4-D (0,0; 1,0 e 2,0 mg L⁻¹). Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade para análise de desdobramento de ANA dentro de cada nível de TDZ e 2,4- D. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade para análise de desdobramento de TDZ dentro de cada nível de ANA e 2,4- D. Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas em itálico não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade para análise de desdobramento de 2,4- D dentro de cada nível de ANA e TDZ. Dourados – MS, UFGD, 2018.

Figura 11. Plântulas de *Syzygium cumini* oriundas de micropropagação submetidas a diferentes concentrações de reguladores. Dourados – MS, UFGD, 2018.

Figura 12. Análise de regressão da interação entre as concentrações de reguladores de crescimento BAP (0,0; 1,0 e 2,0 mg L⁻¹) e ANA (0,0 e 0,5 mg L⁻¹) para as variáveis A) número de folhas B) altura (cm) C) massa fresca (g) de plântulas de *Syzygium cumini*. Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade Dourados – MS, UFGD, 2018.

Figura 13. Efeito de concentrações de ANA (mg L⁻¹) na massa seca de plântulas de *Syzygium cumini*. Dourados – MS, UFGD, 2018.

LISTA DE ABREVIATURAS

2,4- D - ácido diclorofenoxiacético

TDZ - thidiazuron

BAP - 6-benzilaminopurina

ANA - ácido naftaleno acético

AIB - ácido indolbutírico

AIA - ácido indolacético

NaClO - hipoclorito de sódio

MS - meio de cultura de Murashige e Skoog (1962)

1. INTRODUÇÃO

A família Myrtaceae apresenta cerca de 5600 espécies, distribuídas em 132 gêneros com ocorrência na Austrália, sudeste da Ásia e América (WILSON et al., 2005; GOVAERT et al., 2012). No Brasil, Myrtaceae está entre as dez famílias com maior riqueza de espécies, com 23 gêneros e 976 espécies (SOBRAL et al., 2012).

O gênero *Syzygium*, pertencente à família das Myrtaceae, compreende cerca de 500 espécies, de ampla distribuição, muitas das quais são abundantes em óleos essenciais e taninos, o que as tornam importantes fontes de pesquisas e de utilização medicinal e farmacêutica, onde está incluída a espécie *Syzygium cumini*, conhecida popularmente como jamelão, jambolão ou jambeiro rosa (LATTUADA, 2010).

Além das espécies vegetais nativas do Brasil, há também algumas espécies exóticas que ao chegarem no país encontraram clima favorável e acabaram se adaptando e se disseminando. A *Syzygium cumini* é um exemplo, ela é uma planta de origem asiática de clima tropical, muito frequente na Índia, China e Antilhas, que aos poucos foi se espalhando para o mundo chegando até o Brasil onde se adaptou bem (SIQUEIRA-NUNES; MARTINS, 2010).

Normalmente, a propagação do jamelão é feita por sementes, o que acarreta variabilidade nas plantas descendentes, aliado a um desenvolvimento lento e baixa taxa de germinação, implicando em um problema quando o objetivo é a formação de pomar comercial (LORENZI, 2000). Diante das dificuldades encontradas na propagação sexuada, faz-se necessário o estudo de novos métodos de produção destas plantas, onde a micropropagação ou propagação *in vitro* torna-se uma alternativa para a obtenção de mudas de alta qualidade, com características desejáveis, em curto período de tempo e em escala comercial (FERNANDES et al., 2013).

O cultivo *in vitro* é conhecido por ser um método viável para propagação de diversas espécies, incluindo as frutíferas. Pode ser utilizado também com as espécies nativas, proporcionando a formação de pomares com populações homogêneas, além de acelerar os métodos de propagação convencional (SOUZA et al., 2007), e é utilizado para a manutenção, propagação e regeneração de partes da planta (células ou tecidos) em ambiente asséptico, constituindo uma das áreas de maior êxito da biotecnologia vegetal (MROGINSKI e ROCA, 1991).

A regeneração de plantas *in vitro* é considerada complexa, pois diversos fatores, tanto externos quanto internos, estão envolvidos como o genótipo, a fonte e as condições fisiológicas em que se encontra material vegetal, a associação de reguladores vegetais, principalmente o balanço de auxinas e citocininas presentes no meio de cultivo, as características do meio de cultura empregado e as condições do ambiente (HUSSEIN e AQLAN 2011; LIMA et al., 2012). No entanto, para o início desse processo, é fundamental a elaboração de um protocolo que é específico para cada cultura, e que venha suprir as necessidades e exigências no cultivo *in vitro*.

2. OBJETIVOS

Objetivo geral

- Estabelecer um protocolo eficiente de micropropagação de jamelão.

Objetivos específicos

- Estabelecer um protocolo de germinação de sementes de jamelão em diferentes ambientes: *in vitro* e *ex vitro*;
- Determinar um protocolo para indução de calos a partir de explantes foliares;
- Determinar um protocolo de micropropagação a partir de segmentos nodais;
- Estabelecer os tipos e concentrações ideais de reguladores de crescimento.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Jamelão (*Syzygium cumini* (L.) Skeels)

O jamelão ou jambolão é uma árvore nativa das regiões dos trópicos, particularmente da Índia, Filipinas, Madagascar e Tailândia (MIGLIATO et al., 2006). A planta foi introduzida em muitos países tropicais pertencentes à África e à América Latina, podendo também ser localizada em algumas regiões subtropicais como Flórida, Califórnia, Argélia e Israel (SA, 2008). No Brasil, encontra-se em diversos estados das regiões Sudeste, Centro-Oeste, Nordeste e Norte (DANADIO et al., 1998).

O jambolão adaptou-se bem às condições de solo e clima do Brasil, tornando-se espécie subespontânea na região Nordeste. As árvores dessa espécie crescem rapidamente, mas o tamanho final máximo é normalmente atingido em 40 anos. A altura média dessas plantas gira em torno de 10 m e 3 a 4,5 m de diâmetro de projeção da copa, com folhagem abundante, ramos de cor cinza-claro, com fissuras escuras e cicatrizes foliares bastante aparentes. O caule é aéreo, ereto, com tronco lenhoso e cilíndrico, com ramificação caulinar do tipo simpodial e ramos retorcidos (MORTON, 1987; LANDROUM e KAWASKI, 1997; MIGLIATO, 2006).

Os ramos retorcidos apresentam folhas simples, dispostas em filotaxia oposta, pecioladas, lanceoladas ou lanceoladas oblongas até elípticas, com margens onduladas, de nervação penínérvea, com nervura marginal, são aromáticas, de coloração verde-brilhantes, de 8 a 14 cm de comprimento por 3 a 5 cm de largura, com pecíolo de 1,5 a 2,5 cm (LORENZI et al., 2003).

As flores são hermafroditas (com cálice gamossépalo e corola dialipétala) de coloração branca a creme, axilares, racemosas, plurifloras dispostas em inflorescência, com pedúnculo e pedicelos pouco retorcidos, assim como nos ramos (MORTON, 1987; LANDROUM e KAWASKI, 1997; MIGLIATO, 2005). No Brasil, as flores de jamelão são encontradas nos intervalos dos meses de setembro a novembro, e o fruto encontrado nos meses de dezembro a fevereiro (ALBERTON et al., 2001; ALMEIDA et al., 1998; LORENZI et al., 2003).

Os frutos são tipo baga, muito parecidos às azeitonas, sua coloração quando madura é preta, as sementes ficam envolvidas por uma polpa carnosa e comestível, doce, mas adstringente, sendo agradável ao paladar (VIZZOTTO e FETTER, 2009). Apesar dos poucos plantios comerciais, o jamelão apresenta inúmeras possibilidades de

comercialização, que inclui desde o mercado de frutas frescas até o processamento como compotas, licores, vinagre, geleias, tortas e doces (BENHERLAL, 2007).



Figura 1. Aspecto visual de uma planta adulta de *Syzygium cumini* em período de frutificação.

As plantas de jamelão, são conhecidas na medicina popular indiana por seus efeitos hipoglicemiantes (PRINCE et al., 1998). No Brasil vem sendo cultivada como planta ornamental e o chá de suas folhas é normalmente utilizado por pacientes diabéticos (SILVA NETO et al., 1987; TEIXEIRA et al., 1990; SOARES et al., 2000).

Os frutos também apresentam alta atividade antioxidante, destaca-se a presença do ácido elágico que confere características antioxidantes e anticarcinogênicas (VIZZOTO e FETTER, 2009). Alguns pesquisadores também relatam o seu alto teor de pigmentos, o que tem despertado interesse por apresentar efeitos nutricionais e terapêuticos (DAMODARAN et al., 2009; RODRIGUES et al., 2015).

A propagação do jambolão é normalmente realizada por sementes, no qual apresenta a característica da poliembrionia (CAVALCANTI, 2010). Em estudo realizado por Gurgel et al. (1951), algumas plantas apresentam valores de 81,62 a 96,27% de poliembrionia e sementes com 9 a 10 embriões, assim a produção de mudas requer muito cuidado no momento da repicagem, visto que os embriões são ligados entre si.

3.2. Germinação

A germinação pode ser conceituada botanicamente como a emergência e desenvolvimento das estruturas essenciais do embrião, demonstrando sua aptidão para produzir uma plântula normal sob condições favoráveis de campo (Ferraz e Calvi, 2010).

Segundo Mayer e Poljakoff- Mayber (1989), o processo de germinação é controlado por fatores intrínsecos e extrínsecos, os quais podem ser representados pela composição química da semente, seu balanço hormonal e fatores ambientais (temperatura, disponibilidade de água e luz).

A germinação das sementes inicia-se com a embebição de água e desencadeia uma sequência de mudanças metabólicas que culminam com a emergência da raiz primária. Para Bewley e Black (1994) a embebição de água pelas sementes, sob condições ótimas, ocorre de acordo com um padrão trifásico, onde a fase I, ou embebição, é uma consequência das forças matriciais; a fase II é uma fase estacionária e é função do balanço entre o potencial osmótico e o potencial de pressão e, no início da fase III, ocorre a emissão da raiz primária.

Uma estratégia para minimizar os efeitos decorrentes de sementeiras desuniformes é a utilização de bioestimulantes, que contém em sua formulação a mistura de vários reguladores de crescimento, que podem incrementar o crescimento e desenvolvimento vegetal estimulando a divisão celular, a diferenciação e o alongamento das células (CASTRO et al., 1998). Esses produtos favorecem a expressão do potencial genético das plantas mediante alterações dos processos vitais e estruturais, promovendo um equilíbrio hormonal e estimulando o desenvolvimento do sistema radicular (CASTRO e VIEIRA, 2001; SILVA et al., 2008).

O Stimulate[®] é um bioestimulante vegetal comercial, que, nos últimos anos, vem sendo alvo de pesquisas para utilização em diversas culturas, como olericultura e fruticultura (BALDO, 2009), o mesmo, induz respostas positivas no crescimento de raiz e parte aérea das plantas, simultaneamente, assim como na germinação das sementes (SANTOS, 2014).

Resultados positivos da aplicação de bioestimulante diretamente na semente foram observados por Moraes et al. (2006), que ao estudarem o efeito do Stimulate[®] aplicado via sementes na formação de mudas de maracujazeiro (*Passiflora edulis*) verificou um maior acúmulo de massa seca, com área foliar e sistema radicular bem desenvolvido. Em tamarindeiro (*Tamarindos indica*), Dantas et al. (2012) observaram

que o Stimulate[®] promoveu incremento em altura e nas massas secas da parte aérea e da raiz das plantas.

3.3. Calogênese

A indução de calos é uma técnica muito utilizada na cultura de tecidos, pois pode ser um indicativo das condições de cultura que o explante requer para crescer (SIQUEIRA e INOUE, 1992). É amplamente utilizada também para estudar os processos de diferenciação e o desenvolvimento das células, obter suspensões celulares e alcançar a formação de brotações múltiplas (LANDA et al., 2000; SANTOS et al., 2010).

O calo é uma resposta comum quando um tecido, cultivado *in vitro*, passa por injúrias físicas ou químicas, podendo se diferenciar em órgãos ou tecidos (TORRES e CALDAS, 1990). Para a indução de calos, praticamente qualquer parte da planta pode ser utilizada como explante. Entretanto, tecidos e órgãos contendo células não diferenciadas, como as que ocorrem em regiões meristemáticas, são mais adequados (HANDRO e FLOH, 1990).

A calogênese é diretamente influenciada por fatores como a idade da planta mãe, o tamanho do explante, os reguladores de crescimento e a composição do meio de cultura, sendo a frequência de sobrevivência e a velocidade de desenvolvimento dos calos, diretamente relacionadas com o seu tamanho inicial (MURASHIGE, 1974). Explantes oriundos de tecidos jovens, não lignificados, são mais apropriados para a cultura de calo (PIERIK, 1990).

O tipo de calo formado, seu grau de diferenciação celular e o potencial morfogenético dependem do explante e dos constituintes do meio de cultura (GEORGE e SHERRINGTON, 1984). Os calos também diferem em textura, friabilidade e coloração. Alguns são compactos e crescem vagarosamente, outros são friáveis e desintegram-se facilmente, quando manipulados (AITCHISON et al., 1977); também a friabilidade é importante para o cultivo de células em suspensão (CID, 1992).

De acordo com Vietez e San-José (1996), muitas vezes é necessário o suprimento exógeno de reguladores de crescimento para a indução de calo. Segundo Pierik (1987), a formação de calos pode ser promovida por concentrações semelhantes de auxinas e citocininas, podendo variar em função do balanço hormonal de cada espécie.

Ozias-Akins e Vasil (1985) mencionam que citocininas exógenas nem sempre são necessárias e que muitos tecidos se desenvolvem *in vitro* apenas com suprimento de

auxinas. Dentre os reguladores de crescimento, mais utilizados na indução de calo, destacam-se o ácido diclorofenoxiacético (2,4-D) e, mais recentemente, o Thidiazuron (TDZ). Segundo Lu (1993), o TDZ estimula a divisão celular e, conseqüentemente, o crescimento de calos dependentes de citocininas em algumas espécies.

Estudos com calos podem servir como ponto de partida para a determinação de condições necessárias ao desenvolvimento das plantas, bem como, à obtenção de produtos oriundos do metabolismo secundário (LANDA et al., 2000). A regeneração, a partir de tecidos calogênicos é fundamental para trabalhos posteriores de transformação genética, já que, nestas técnicas, apenas um grupo de células é transformado. De acordo com Pasquali e Zanettini (2007), a cultura de tecidos é fundamental para estes processos.

3.4. Micropropagação

A micropropagação tem sido ferramenta útil para a propagação vegetativa nas mais diversas espécies vegetais, sendo a modalidade dentro da cultura de tecidos, que mais tem difundido e encontrado aplicações práticas comprovadas (ERIG, 2005).

Essa técnica é adequada aos programas de introdução, armazenamento e intercâmbio de germoplasma, contribuindo para prevenir a perda de variabilidade genética (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998). Se baseia no princípio da chamada totipotencialidade, que é a propriedade das células reproduzirem uma planta inteira, sendo considerada como reprodução assexuada (TORRES et al., 1998). Além de ser utilizada, como mecanismo para germinar sementes de difícil propagação pelos métodos convencionais (PASQUAL et al., 1998).

Um dos objetivos da micropropagação é a maximização da multiplicação de gemas, podendo ser alcançado na fase de multiplicação *in vitro* (ERIG et al., 2002). Além de propiciar rápida multiplicação, a micropropagação pode ser realizada durante o ano todo, em grande quantidade, sem problemas de sazonalidade (CROCOMO, 1989).

Segundo Fachinello et al. (1994), na maioria dos trabalhos envolvendo espécies frutíferas, os explantes escolhidos são obtidos de gemas apicais ou axilares, fatores como meio de cultura, tipo e concentração de reguladores de crescimento são importantes de serem observados (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998).

Estudos preliminares de micropropagação da cultura de pitangueira, Oliver (1997) inoculou gemas axilares juvenis e segmentos nodais oriundos de sementes germinadas, em meio de cultura contendo 1/2 MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) e MS na

concentração total sendo suplementados, com diferentes concentrações de BAP (0,6 e 1,12 μM) e ANA (0,15 e 0,3 μM). Os melhores resultados foram obtidos no meio MS completo contendo as concentrações de 1,12 μM de BAP e 0,3 μM de ANA. Por outro lado, Bassi e Cossio (1993) testaram diferentes formulações salinas para a micropropagação de *F. sellowiana* e constataram a superioridade nos resultados, quando foi utilizado meio básico WPM (LLOYD e McCOWN, 1980), isento de fitorreguladores

Erig e Schuch (2005) descreveram que, além das formulações básicas dos meios de cultura normalmente utilizados, o emprego de fitorreguladores é imprescindível para o sucesso na propagação de culturas *in vitro*. Como fitorreguladores, o uso de 6-benzilaminopurina (BAP) tem revelado eficiência no processo de multiplicação, tanto de estruturas aéreas como na indução de gemas adventícias em diversas espécies (LEITZKE et al., 2009).

Na etapa de enraizamento, a maioria das plantas lenhosas apresentam grande dificuldade de estabelecimento, e para isso são utilizados as auxinas, para desenvolvimento específico destas raízes, sendo os mais utilizados os hormônios sintéticos ácido naftaleno acético (ANA) e o ácido indolbutírico (AIB), já que o ácido indolacético (AIA), auxina natural, possui elevado custo, e maior possibilidade de ocasionar efeitos fitotóxicos, porém pode ser utilizado em plantas de difícil enraizamento (DZAZIO et al., 2002).

4. MATERIAL E MÉTODOS

As atividades foram desenvolvidas no Laboratório de Biotecnologia Vegetal, pertencente ao Centro de Biotecnologia e Melhoramento Genético da Cana-de-Açúcar de Mato Grosso do Sul, da Universidade Federal da Grande Dourados. Os frutos de *Syzygium cumini* foram coletados de uma planta matriz localizada na região rural de Guia Lopes da Laguna/ MS (Latitude: 21° 26' 56" Sul, Longitude: 56° 6' 16" Oeste).

4.1. Germinação *in vitro* e desenvolvimento inicial de plântulas

No laboratório, os frutos foram despulpados e as sementes passadas em peneira para a retirada da mucilagem, sendo deixadas por 24 horas em água corrente, com objetivo eliminar todas as impurezas superficiais. Após esse período as sementes foram pesadas para a determinação correta da concentração de bioestimulante utilizado nos diferentes tratamentos que foram realizados.

Em câmara de fluxo laminar horizontal, o protocolo de desinfestação das sementes foi constituído por: 1 minuto em álcool etílico 70% (v/v), 20 minutos em solução de hipoclorito de sódio (NaClO) a 2,5% de cloro ativo, seguido de 3 lavagens com água destilada autoclavada. Posteriormente, as sementes foram imergidas durante 30 minutos em soluções de Stimulate[®] (bioestimulante) de diferentes concentrações (0,0; 5,0; 10,0; 15,0; 20,0; 25,0 e 30,0 mL Kg⁻¹ de semente).

As sementes foram inoculadas individualmente em frascos contendo 30,0 mL de meio MS (30,0 g L⁻¹ de sacarose, 6,0 g L⁻¹ de ágar) (MURASHIGE e SKOOG, 1962). O pH do meio foi ajustado para $5,8 \pm 0,1$ antes da autoclavagem, a qual foi realizada a 120°C por 20 minutos.

O material foi levado à sala de crescimento onde permaneceu por sete dias no escuro, à temperatura de 25°C. Após esse período, foi transferido para fotoperíodo de 16 horas ($43 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) à temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, constituído por sete tratamentos, com cinco repetições de seis frascos, totalizando trinta frascos por tratamento (Tabela 1).

Tabela 1. Tratamentos com diferentes concentrações de Stimulate® (mL Kg⁻¹ de semente) para germinação *in vitro* de sementes de *Syzygium cumini*. Dourados – MS, 2018.

Tratamento	Stimulate® (mL Kg ⁻¹)
T1	0,0
T2	5,0
T3	10,0
T4	15,0
T5	20,0
T6	25,0
T7	30,0

Foram avaliadas a cada sete dias, durante um mês: porcentagem de contaminação fúngica e bacteriana, porcentagem de germinação, comprimento de plântula (cm) e número de folhas. Os dados foram submetidos à análise de variância e de regressão, utilizando-se o programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2000) e as médias foram comparadas pelo Teste de Tukey, ao nível de 5 % de probabilidade.

4.2. Germinação sob condições de casa de vegetação

No laboratório, os frutos foram despolidos manualmente e realizada lavagem das sementes com auxílio de peneira para a retirada da mucilagem, sendo posteriormente deixadas por 24 horas em água corrente. As sementes foram pesadas para a determinação correta da concentração de bioestimulante utilizado nos diferentes tratamentos que foram realizados.

O protocolo de desinfestação das sementes foi constituído por: 5 minutos em solução de hipoclorito de sódio (NaClO) a 2,5% de cloro ativo, seguido de 3 lavagens com água destilada e autoclavada. Posteriormente, as sementes foram mantidas durante 30 minutos em diferentes concentrações de Stimulate® (0,0; 5,0; 10,0; 15,0; 20,0; 25,0 e 30,0 mL Kg⁻¹ de semente).

A semeadura foi realizada em copos plásticos de 700 mL, contendo substrato comercial (Carolina Soil[®]) em casa de vegetação. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, constituído por sete tratamentos, com quarenta repetições e cada parcela experimental constituída por um copo contendo uma semente (Tabela 2).

Tabela 2. Tratamentos com diferentes concentrações de Stimulate[®] (mL Kg⁻¹ de semente) para germinação *ex vitro* de sementes de *Syzygium cumini*. Dourados – MS, 2018.

Tratamento	Stimulate [®] (mL Kg ⁻¹)
T1	0,0
T2	5,0
T3	10,0
T4	15,0
T5	20,0
T6	25,0
T7	30,0

Após 40 dias, foram avaliadas: porcentagem de germinação, comprimento de plântula, número de folhas, massa fresca e seca de plântulas. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos comparadas estatisticamente pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade, utilizando-se o software Genes (CRUZ, 2013).

4.3. Calogênese *in vitro*

Após 30 dias de estabelecimento, as plântulas cultivadas *in vitro* com aproximadamente 10 cm de comprimento foram utilizadas como doadoras de explantes para os experimentos de calogênese. Os explantes do tipo foliar, com aproximadamente 1cm² foram inoculados com a porção abaxial em contato com meio, em tubos de ensaio contendo 15 ml de meio MS (30,0 g L⁻¹ de sacarose, 6,0 g L⁻¹ de ágar) (MURASHIGE e SKOOG, 1962), suplementado com diferentes concentrações de ANA (0,0; 2,0 e 4,0 mg L⁻¹), TDZ (0,0; 1,0 e 2,0 mg L⁻¹) e 2,4-D (0,0; 1,0 e 2,0 mg L⁻¹). O pH foi ajustado para 5,8 ± 0,1 antes da autoclavagem, realizada a 120°C por 20 minutos.

O material foi levado à sala de crescimento onde permaneceu por sete dias no escuro, à temperatura de 25°C. Após esse período foram transferidos para a luz, com fotoperíodo de 16 horas a $25 \pm 2^\circ\text{C}$. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, constituído por vinte e sete tratamentos, com vinte repetições e cada parcela experimental constituída por um tubo contendo um explante (Tabela 3).

Tabela 3. Tratamentos com diferentes combinações de fitorreguladores (mg L^{-1}) para calogênese de explante do tipo foliar de *Syzygium cumini*. Dourados – MS, 2018.

Tratamento	ANA (mg L^{-1})	TDZ (mg L^{-1})	2,4-D (mg L^{-1})
T1	0,0	0,0	0,0
T2	0,0	0,0	1,0
T3	0,0	0,0	2,0
T4	0,0	1,0	0,0
T5	0,0	1,0	1,0
T6	0,0	1,0	2,0
T7	0,0	2,0	0,0
T8	0,0	2,0	1,0
T9	0,0	2,0	2,0
T10	2,0	0,0	0,0
T11	2,0	0,0	1,0
T12	2,0	0,0	2,0
T13	2,0	1,0	0,0
T14	2,0	1,0	1,0
T15	2,0	1,0	2,0
T16	2,0	2,0	0,0
T17	2,0	2,0	1,0
T18	2,0	2,0	2,0
T19	4,0	0,0	0,0
T20	4,0	0,0	1,0
T21	4,0	0,0	2,0
T22	4,0	1,0	0,0
T23	4,0	1,0	1,0
T24	4,0	1,0	2,0
T25	4,0	2,0	0,0
T26	4,0	2,0	1,0
T27	4,0	2,0	2,0

Aos 45 dias de cultivo foram avaliadas as variáveis: porcentagem da área do explante coberta por calos, bem como coloração, textura, massa fresca e seca destes. Foram aplicadas notas de 0 a 3, onde 0 correspondeu a ausência de calos e 3 a maior formação de calos. Do mesmo modo, foram dadas notas referentes a coloração (1 = marrom; 2 = verde; e 3 = branco) e textura (1 = liso; 2 = pouco granulado e 3 = granulado). Os dados das variáveis massa fresca e seca foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2000) e as médias foram comparadas pelo Teste de Tukey, ao nível de 5 % de probabilidade. As demais variáveis foram analisadas pelo teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis (SIEGEL, 1977) a 5% de probabilidade, pelo programa estatístico SPSS® IBM® versão 23.

4.4. Micropropagação *in vitro*

Após 30 dias de estabelecimento, as plântulas cultivadas *in vitro* com aproximadamente 10 cm de comprimento foram utilizadas como doadoras de explantes para os experimentos de multiplicação. Os explantes do tipo segmentos nodais, com aproximadamente 1cm foram inoculados em tubos de ensaio contendo 15 ml de meio MS (30,0 g L⁻¹ de sacarose, 6,0 g L⁻¹ de ágar) (MURASHIGE e SKOOG, 1962), suplementado com diferentes concentrações de BAP (0,0; 0,25; 0,5; 1,0 e 2,0 mg L⁻¹) e ANA (0,0 e 0,5 mg L⁻¹). O pH foi ajustado para $5,8 \pm 0,1$ antes da autoclavagem, realizada a 120°C por 20 minutos.

O material foi levado à sala de crescimento onde permaneceu por sete dias no escuro. Após esse período foram transferidos para a luz, com fotoperíodo de 16 horas a $25 \pm 2^\circ\text{C}$. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5x2, constituído por dez tratamentos, com vinte repetições e cada parcela experimental constituída por um tubo contendo um explante (Tabela 4).

Tabela 4. Tratamentos com diferentes combinações de fitorreguladores (mg L^{-1}) para micropropagação de explante do tipo segmentos nodais de *Syzygium cumini*. Dourados – MS, 2018.

Tratamento	BAP (mg L^{-1})	ANA (mg L^{-1})
T1	0,0	0,0
T2	0,25	0,0
T3	0,5	0,0
T4	1,0	0,0
T5	2,0	0,0
T6	0,0	0,5
T7	0,25	0,5
T8	0,5	0,5
T9	1,0	0,5
T10	2,0	0,5

Aos 45 dias de cultivo foram avaliadas as variáveis: altura de plântula (cm), número de folhas, massa fresca e seca (g). Os dados foram submetidos à análise de variância e de regressão, utilizando-se o programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2000) e as médias foram comparadas pelo Teste t de Bonferroni, ao nível de 5 % de probabilidade.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Experimento 1: Germinação *in vitro* e desenvolvimento inicial de plântulas

Referente ao tipo de contaminação durante a germinação das sementes de jamelão, tomando-se como base à média geral, 18% das contaminações foram de origem bacteriana enquanto que 14% foram de origem fúngica (Figura 2).

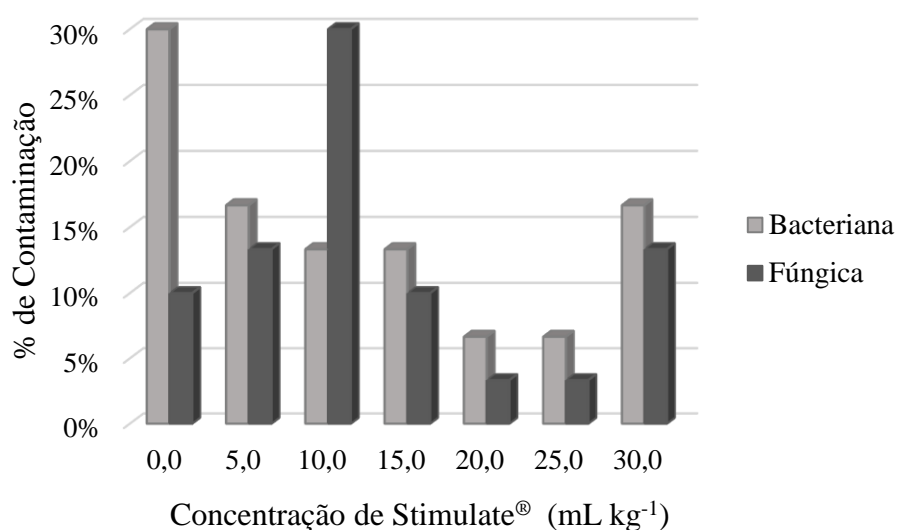


Figura 2. Porcentagem de contaminação fúngica e bacteriana durante a germinação *in vitro* de sementes *Syzygium cumini* em meio de cultura com diferentes concentrações de Stimulate®. Dourados – MS, UFGD, 2018.

Durante o período de cultivo, foi observado uma baixa contaminação fúngica e bacteriana, indicando que para a germinação *in vitro*, o tipo, a concentração e o tempo da exposição das sementes de jamelão foram eficientes para a desinfestação. O hipoclorito de sódio é um efetivo agente antimicrobiano, é utilizado para desinfestação de microrganismos existentes em superfícies inertes, por isso é utilizado na limpeza e manutenção da qualidade em todo o material exposto à contaminação (ARAÚJO et al., 2012).

Garcia et al. (2008) em trabalho realizado com uvaia (*Eugenia pyriformis*), concluíram que a desinfestação por 15 minutos em hipoclorito de sódio, na concentração de 2,5% de cloro ativo, foi eficiente no controle da contaminação fúngica e bacteriana e não interferiu no desenvolvimento das folhas, gema e brotações, além de apresentar menor oxidação.

O resumo da análise de variância para a variável germinação *in vitro* das sementes de jamelão encontra-se na Tabela 5.

Tabela 5. Resumo do quadro de análise de variância para germinação *in vitro* das sementes de *Syzygium cumini*, obtidas sobre efeitos de diferentes concentrações de Stimulate[®]. Dourados-MS, 2018.

FV	GL	SQ	QM	F	Probabilidade (%)
Tratamentos	6	4,1238	0,6873	3,602	0,0020 ^{**}
Resíduo	203	38,7333	0,1908		
Total	209	42,8571			
Média geral			1,7142		
CV (%)			25,48		

^{**} significativo, ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste F.

Pode-se verificar que houve diferença significativa na germinação quando as sementes foram colocadas nas diferentes concentrações do bioestimulante. Estes resultados indicaram que a germinação foi influenciada pela embebição das sementes em Stimulate[®] (Figura 3).



Figura 3. Plântulas de *Syzygium cumini* oriundas de germinação *in vitro* de sementes submetidas a diferentes concentrações de Stimulate[®]. Dourados – MS, UFGD, 2018.

Em relação à germinação, foi observado efeito em todos os tratamentos. Porém, os tratamentos com Stimulate[®] resultaram em maiores porcentagens de germinação e não se diferiram estatisticamente entre si (Figura 4).

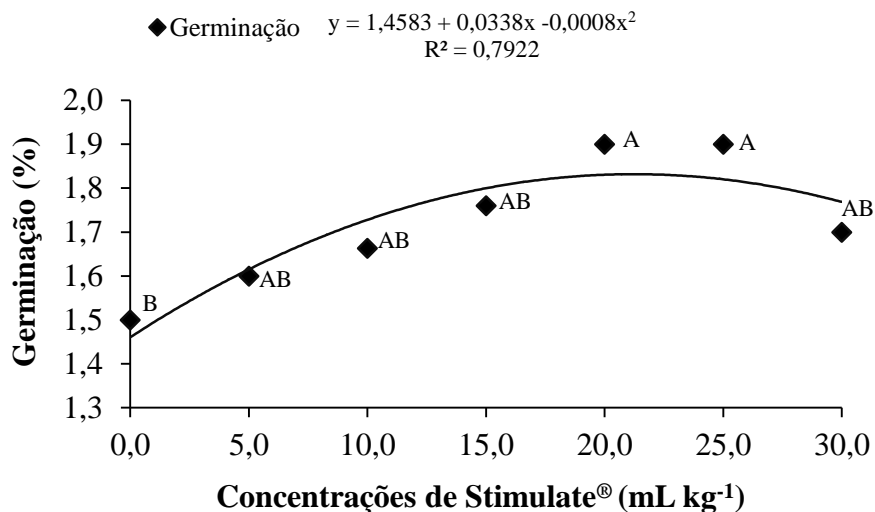


Figura 4. Porcentagem de germinação *in vitro* de sementes *Syzygium cumini* em meio de cultura com diferentes concentrações de Stimulate®. Dourados – MS, UFGD, 2018.

Os bioestimulantes são complexos que promovem o equilíbrio hormonal das plantas, favorecendo a expressão do seu potencial genético, estimulando o desenvolvimento do sistema radicular (ONO et al., 1999). Esses produtos agem na degradação de substâncias de reserva das sementes, na diferenciação, divisão e alongamento celulares (CASTRO e VIEIRA, 2001).

O bioestimulante Stimulate® é composto por uma combinação de hormônios, o ácido indolbutírico a 0,005%; citocinina a 0,009%; e ácido giberélico a 0,005%. Segundo Castro et al. (1998), este é um produto com fitorreguladores: a citocinina está relacionada diretamente ao crescimento das plantas, e a multiplicação celular; o ácido giberélico apresenta efeitos no desenvolvimento de órgãos vegetativos, promove a germinação de sementes e induz a formação de flores masculinas e femininas (DAVIES, 2012).

Em relação ao comprimento da plântula e ao número de folhas, os resultados demonstraram que houve diferença significativa para as diferentes concentrações de bioestimulante utilizado. Os tratamentos com Stimulate® resultaram em maiores médias e não se diferem estatisticamente, tanto para altura de plântulas, quanto para número de folhas (Tabela 6 e Figura 5).

Tabela 6. Resumo do quadro de análise de variância da altura (ALT) em cm e número de folhas (NF) de plântulas de *Syzygium cumini* cultivadas *in vitro* sobre efeitos de diferentes concentrações Stimulate®. Dourados-MS, 2018.

FV	GL	Quadrados médios	
		ALT	NF
Tratamentos	6	16,7138**	36,1142**
Resíduo	35	2,5403	5,7988
Média Geral		5,8169	8,7714
CV (%)		27,40	27,45

** significativo, ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste F.

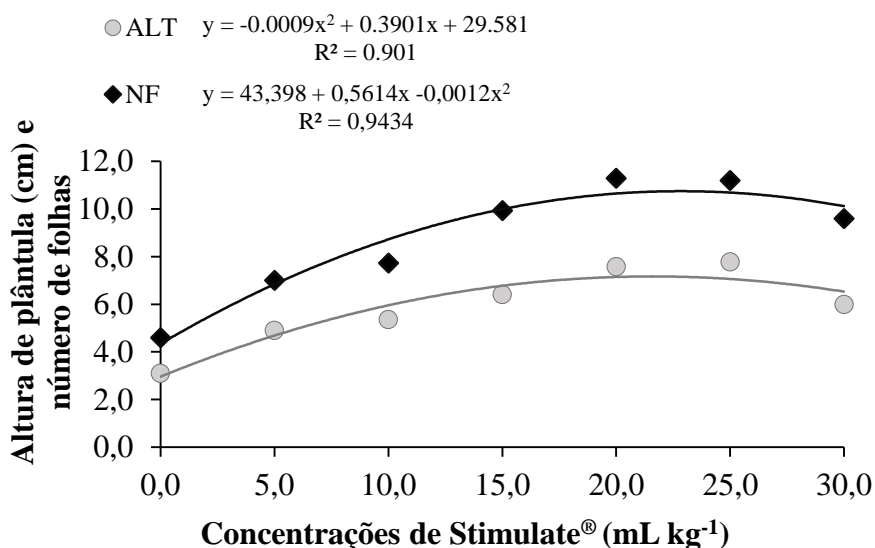


Figura 5. Efeito de diferentes concentrações de Stimulate® (em mL Kg⁻¹ de sementes) usadas na fase *in vitro*, sobre o desenvolvimento de plântulas de *Syzygium cumini* após 30 dias de cultivo expresso pelas variáveis altura de plântula (ALT) (cm) e número de folhas (NF). Dourados – MS, UFGD, 2018.

O Stimulate® apresenta um efeito sinérgico podendo ser o principal responsável pelos melhores resultados obtidos nas variáveis altura da plântula, número de folhas, massa fresca e seca, o mesmo incrementa o crescimento e desenvolvimento vegetal, estimulando a divisão celular, diferenciação e alongamento celular (VIEIRA e CASTRO, 2004) e também aumenta a absorção e a utilização dos nutrientes sendo especialmente eficiente quando aplicado com fertilizantes foliares (CASTRO et al., 1998).

A presença de ácido giberélico na composição do Stimulate[®] é a mais provável justificativa para que as mudas tratadas com esse bioestimulante tenham atingido alturas médias superiores às do tratamento controle. O ácido giberélico, que constitui o grupo hormonal das giberelinas, quando em baixas concentrações, tem a capacidade de ativar a produção das enzimas XET (xiloglucana endotransglicosilase), que promovem o afrouxamento da parede celular, e, por consequência, o crescimento do tecido; esse crescimento, contudo, é inibido, quando o ácido giberélico se encontra em concentrações mais elevadas (TAIZ e ZEIGER, 2013).

5.2. Experimento 2: Germinação sob condições de casa de vegetação

Com relação ao experimento realizado em casa de vegetação, houve 100% de germinação das sementes de jamelão (Figura 6).



Figura 6. Plantas de *Syzygium cumini* oriundas de germinação *ex vitro* de sementes submetidas a diferentes concentrações de Stimulate[®]. Dourados – MS, UFGD, 2018.

O resumo da análise de variância para a variável germinação *ex vitro* das sementes de jamelão encontra-se na Tabela 7.

Tabela 7. Resumo do quadro de análise de variância para germinação *ex vitro* das sementes de *Syzygium cumini*, obtidas sobre efeitos de diferentes concentrações de Stimulate®. Dourados-MS, 2018.

FV	GL	SQ	QM	F	Probabilidade (%)
Tratamentos	6	0,3064	0,0510	0,885	100,0 ^{ns}
Resíduo	63	3,6363	0,0577		
Total	69	3,9428			
Média geral			1,9714		
CV (%)			12,18		

^{ns} não significativo.

Pode-se verificar que não houve diferença significativa na germinação quando as sementes foram colocadas nas diferentes concentrações do bioestimulante. Sendo assim, estes resultados indicaram que o substrato utilizado no processo de germinação das sementes, é o provável fator que favoreceu na variável analisada.

O substrato é responsável pela retenção de água, pela oferta de nutrientes e tem influência direta na germinação e na formação inicial de mudas (MARQUES, 2017). Exerce influência significativa na muda, para que o sistema radicular da planta possa se expandir e a muda possa vir a expor o seu potencial, sendo então fundamental a escolha do melhor substrato (SAMPAIO et al., 2016).

O sucesso do substrato Carolina Soil® deve-se à sua formulação, pois o mesmo contém na sua composição turfa de sphagnum, que segundo Ristow et al. (2012), esse tipo de turfa traz muitos benefícios, como uma melhor retenção de água com baixa drenagem. Ainda na composição do substrato existe vermiculita, que conforme Ramos et al. (2003), traz ganhos com uma boa relação água/ar devido à sua porosidade mais elevada.

Em relação ao número de folhas, massa fresca e massa seca, os resultados analisados, demonstraram que as três variáveis apresentaram diferenças significativas nas plântulas de *Syzygium cumini* submetidas aos tratamentos com o bioestimulante (0,0; 5,0; 10,0; 15,0; 20,0; 25,0 e 30,0 mL kg⁻¹ de semente de Stimulate®). Já para a variável altura de plântula não houve diferenças significativas, ou seja, os tratamentos apresentaram o mesmo efeito (Tabela 8 e Figura 7).

Tabela 8. Resumo do quadro de análise de variância do número de folhas (NF), altura (ALT) em cm, massa (MF) e massa seca (MS) em g de plântulas de *Syzygium cumini*, cultivadas em casa de vegetação sobre efeitos de diferentes concentrações de Stimulate®. Dourados-MS, 2018.

FV	GL	Quadrados médios			
		NF	ALT	MF	MS
Tratamentos	6	117,1904*	316,8638 ^{ns}	3,5290**	0,2178**
Resíduo	28	36,7857*	678,9980 ^{ns}	0,5704**	0,0196**
Média Geral		20,2857	46,6542	1,9943	0,7381
CV (%)		29,89	10,55	37,86	18,99

** significativo, ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste F; * significativo, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste F; ^{ns} não significativo.

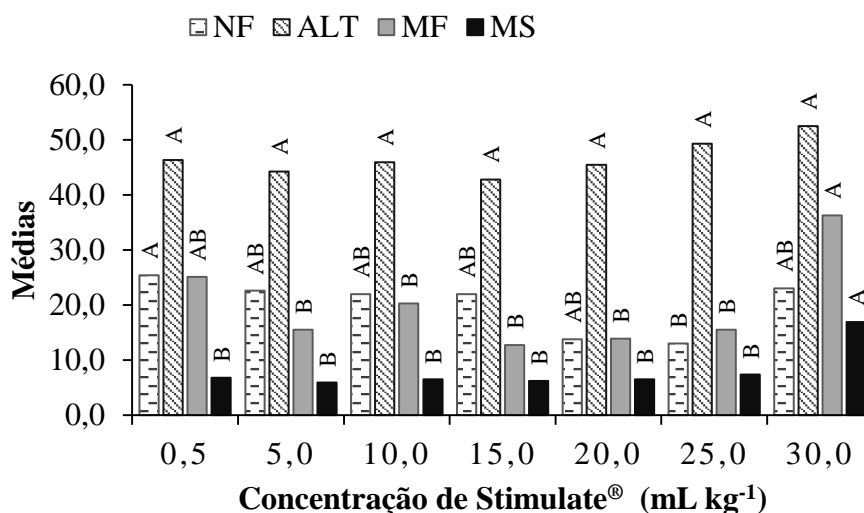


Figura 7. Efeito de diferentes concentrações de Stimulate® (em mL kg⁻¹ de semente) utilizadas na fase de germinação *ex vitro* de sementes de *Syzygium cumini*, expresso pelas variáveis (NF) número de folhas, (ALT) altura, (MF) massa fresca e (MS) massa seca de plântulas cultivadas em casa de vegetação. (Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade). Dourados – MS, 2018.

Para a variável número de folhas, os únicos tratamentos que se diferem estatisticamente foram os tratamentos 1 e 6, sendo que, com os demais os mesmos não

apresentam diferença estatística. Em relação à altura de plântulas, os tratamentos não apresentaram diferença estatística. Para a massa fresca o tratamento 7 é igual estatisticamente ao tratamento 1 e diferente dos demais e para a variável massa seca o tratamento 7 também apresentou a maior média e foi diferente dos demais.

O Stimulate[®] tem sido utilizado em diversas culturas, com resultados satisfatórios, atuando no crescimento da parte aérea de algumas culturas, como amoreira-preta (*Morus celtidifolia*) (DIAS et al., 2012) e fumo (*Nicotiana tabacum* L.) (VIEIRA e ALMEIDA, 2010); e no sistema radicular das plantas, como em três espécies de Annonaceae (SILVA et al., 2008).

O uso de produtos que possuem em sua composição reguladores como giberelina, citocinina e auxina na fase de germinação pode melhorar o desempenho de sementes de inúmeras espécies. A giberelina faz com que a raiz primária rompa os tecidos que restringem o seu crescimento, como o endosperma, o tegumento da semente e/ou do fruto, enquanto que as citocininas e auxinas, completam a ação das giberelinas, caracterizadas por induzir a divisão celular e na promoção do crescimento da radícula e da parte aérea (CROZIER et al, 2001; TAIZ e ZEIGER, 2013).

5.3. Experimento 3: Calogênese *in vitro*

Quanto ao experimento de calogênese, a taxa de indução de calos foi considerada elevada, havendo 100% de indução na maioria dos tratamentos, com exceção dos tratamentos constituídos de 0,0 mg L⁻¹ de ANA, TDZ e 2,4-D e 0,0; 1,0 e 0,0 mg L⁻¹ de ANA, TDZ e 2,4-D respectivamente, os quais apresentaram oxidação e contaminação total do material e, portanto, foram excluídos da análise estatística.

A oxidação fenólica é um fator comum em cultivo de espécies lenhosas, sendo estes compostos, muitas vezes, produzidos em áreas injuriadas dos explantes (ANDRADE et al., 2000). No cultivo *in vitro* o processo de oxidação pode ser desencadeado por injúrias causadas aos tecidos vegetais, como o corte dos explantes com bisturi (CID e TEIXEIRA, 2010) ou devido à utilização de agentes químicos na esterilização superficial.

A oxidação dos explantes ocorre através da liberação de compostos fenólicos, a qual é indicada através do escurecimento das superfícies seccionadas dos explantes e pela

modificação da coloração, ou seja, o escurecimento do meio de cultura. Esse acúmulo de polifenóis e produtos de oxidação, como melanina, suberina, lignina, cutina e calose em torno da superfície excisada, modificam a composição do meio de cultivo e a absorção de metabólitos (ANDRADE et al., 2000).

Para Ledo et al. (2002), além de ferimentos e outros fatores inerentes ao explante, a oxidação pode ser provocada pelos próprios reguladores de crescimento. Além disso, a atividade da fenilalanina amoniliase (PAL), enzima que atua no metabolismo de compostos fenólicos, é aumentada pela exposição de tecidos a injúrias (TAIZ; ZEIGER, 2004).

A indução de calos foi categorizada por meio de intensidade de calos formados na área do tecido, coloração e textura. Para a categoria de calogênese, a maior intensidade obtida foi de calos moderados correspondendo a 42%. Com relação a coloração, as combinações de ANA, TDZ e 2,4-D utilizadas nos tratamentos propiciaram três colorações diferentes, porém observou-se que a coloração verde apresentou uma maior porcentagem 49,2%, já em relação a textura observou-se que 70,2% dos calos obtidos foram de textura granulosa (Figura 8 e 9).

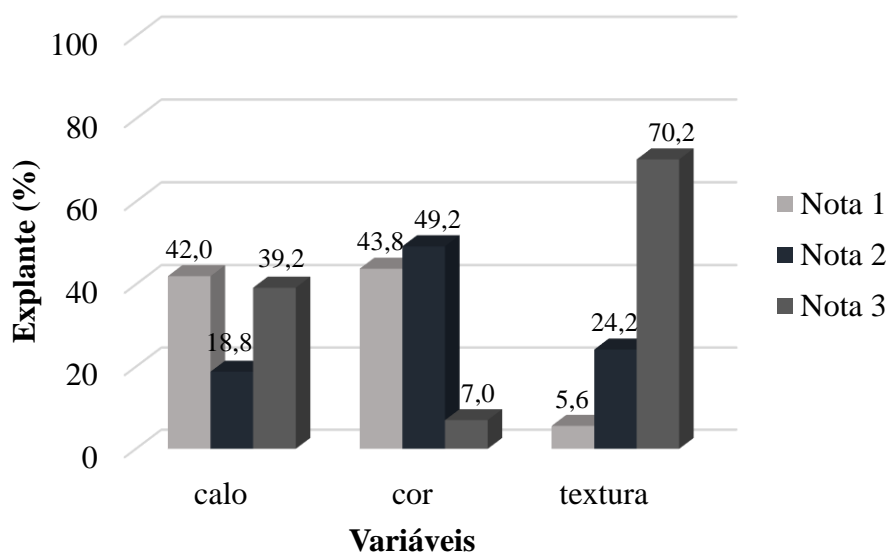


Figura 8. Porcentagem de intensidade de calogênese, coloração e textura de calos obtidos por meio de segmentos foliares de *Syzygium cumini* em função dos níveis de ANA, TDZ e 2,4-D (1= moderada, marrom, liso; 2= alta moderada, verde, pouco granuloso; 3= alta, branco, granuloso). Dourados – MS, UFGD, 2018.



Figura 9. Aspecto visual de calos induzidos a partir de explantes foliares de *Syzygium cumini* submetidos em diferentes concentrações de reguladores. Dourados – MS, UFGD, 2018.

Quanto a indução de calos, segundo o teste de Kruskal- Wallis, houve diferença estatística entre os tratamentos realizados com as combinações dos três fitorreguladores utilizados. As diferentes combinações estabelecidas entre os fitorreguladores favoreceram a indução calogênica, os tratamentos 1, 2, 3, 4, 6, 7, 12, 19, 21 e 24 apresentaram as maiores médias e não se diferiram estatisticamente. Estes resultados indicam que para a indução de calos, houve uma tendência maior nos tratamentos constituídos por 2 mg L⁻¹ de TDZ e 1 mg L⁻¹ de 2,4- D (Tabela 8).

Quanto a coloração, os tratamentos 1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 15, 17, 18, 20, 24 e 25 apresentaram as maiores médias e foram iguais estatisticamente, já os demais tratamentos não diferem entre si e apresentaram médias estatisticamente inferiores. Em relação a textura dos calos obtidos, os tratamentos 2, 3, 4, 6, 7, 9, 10, 12, 13, 15, 16, 17, 18, 19, 21, 22, 23, 24 e 25 apresentaram médias superiores, foram iguais estatisticamente e diferentes entre os demais tratamentos (Tabela 9).

Tabela 9. Efeito de diferentes concentrações de fitorreguladores (em mg L⁻¹) utilizadas na fase de organogênese, expresso pelas variáveis calogênese, cor e textura de calos. Dourados – MS, 2018.

Nº dos Tratamentos	Concentração mg L ⁻¹				Variáveis	
	ANA	TDZ	2,4- D	Calo	Cor	Textura
T1	0,0	0,0	1,0	365,6 A	237,9 A	160,4 B
T2	0,0	0,0	2,0	322,1 A	317,1 A	242,4 A
T3	0,0	1,0	1,0	299,3 A	214,6 B	277,8 A
T4	0,0	1,0	2,0	321,0 A	303,0 A	289,6 A
T5	0,0	2,0	0,0	120,3 C	289,2 A	55,50 B
T6	0,0	2,0	1,0	373,1 A	256,5 A	258,6 A
T7	0,0	2,0	2,0	365,6 A	303,0 A	313,2 A
T8	2,0	0,0	0,0	105,5 C	251,9 A	153,0 B
T9	2,0	0,0	1,0	261,9 B	249,5 A	242,4 A
T10	2,0	0,0	2,0	239,2 C	233,3 B	277,8 A
T11	2,0	1,0	0,0	120,3 C	237,9 A	97,10 B
T12	2,0	1,0	1,0	276,4 A	240,3 B	277,8 A
T13	2,0	1,0	2,0	247,4 B	231,1 B	289,6 A
T14	2,0	2,0	0,0	151,1 C	191,4 B	144,9 B
T15	2,0	2,0	1,0	225,7 B	237,9 A	313,2 A
T16	2,0	2,0	2,0	255,1 B	233,3 B	313,2 A
T17	4,0	0,0	0,0	143,5 C	263,6 A	215,1 A
T18	4,0	0,0	1,0	307,2 B	256,5 A	301,4 A
T19	4,0	0,0	2,0	344,1 A	163,5 B	309,5 A
T20	4,0	1,0	0,0	189,1 B	298,4 A	199,6 B
T21	4,0	1,0	1,0	343,8 A	221,7 B	289,6 A
T22	4,0	1,0	2,0	255,4 B	175,2 B	325,0 A
T23	4,0	2,0	0,0	135,6 C	226,3 B	313,2 A
T24	4,0	2,0	1,0	328,6 A	272,8 A	277,8 A
T25	4,0	2,0	2,0	165,6 C	356,8 A	325,0 A

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, ao nível de 5% de probabilidade de erro.

Para Nogueira et al. (2007) a indução de calo é dependente de um balanço hormonal intermediário de auxina e citocinina. As auxinas são capazes de iniciar a divisão celular e controlar os processos de crescimento e alongação celular. George (1996) comenta que o 2,4-D tem efeito no metabolismo do RNA, induzindo a transcrição de RNA mensageiro capaz de decodificar proteínas para o crescimento e que podem induzir a proliferação celular desordenada. Os parâmetros coloração e textura de calos têm sido utilizados como indicativos de material vegetal com capacidade regenerativa (RODRIGUES et al., 2009).

A caracterização morfológica dos calos pode apontar mudanças nas diferentes fases de seu crescimento e morfogênese *in vitro*. Uma vez que, faz-se necessário novos estudos visando a obtenção de calos com consistência friável e coloração verde, os quais permitem maior tempo de cultivo *in vitro*, cultura de células em suspensão e de protoplastos, sendo então um material mais adequado para o trabalho de transformação e melhoramento genético de plantas (OLIVEIRA, 2013).

A análise de variância revelou uma interação tripla entre as concentrações de reguladores de crescimento para as variáveis massa fresca e seca (Tabela 10).

Tabela 10. Resumo do quadro de análise de variância de massa (MF) e massa seca (MS) em g de calos de *Syzygium cumini*, oriundos de calogênese *in vitro* de explante do tipo foliar sobre efeitos de diferentes concentrações de reguladores de crescimento. Dourados-MS, 2018.

FV	GL	Quadrados médios	
		MF	MS
ANA	2	0,0091	0,0003
TDZ	2	0,0351	0,0009
2,4- D	2	1,1500	0,0241
ANA x TDZ	4	0,0534	0,0010
ANA x 2,4- D	4	0,0331	0,0024
TDZ x 2,4- D	4	0,0155	0,0011
ANA x TDZ x 2,4- D	8	0,1425**	0,0028**
Erro	108	0,0058	0,0001
CV (%)		34,12	32,03
Média Geral		0,2234	0,0370

** significativo a 1% de probabilidade, pelo teste de F.

Procedendo-se a decomposição da interação tripla, o desdobramento das diferentes concentrações dos reguladores de crescimento mostrou-se significativo. A interação demonstrou que as diferentes concentrações de reguladores influenciaram na massa fresca e seca dos calos obtidos (Figura 10 A e B).

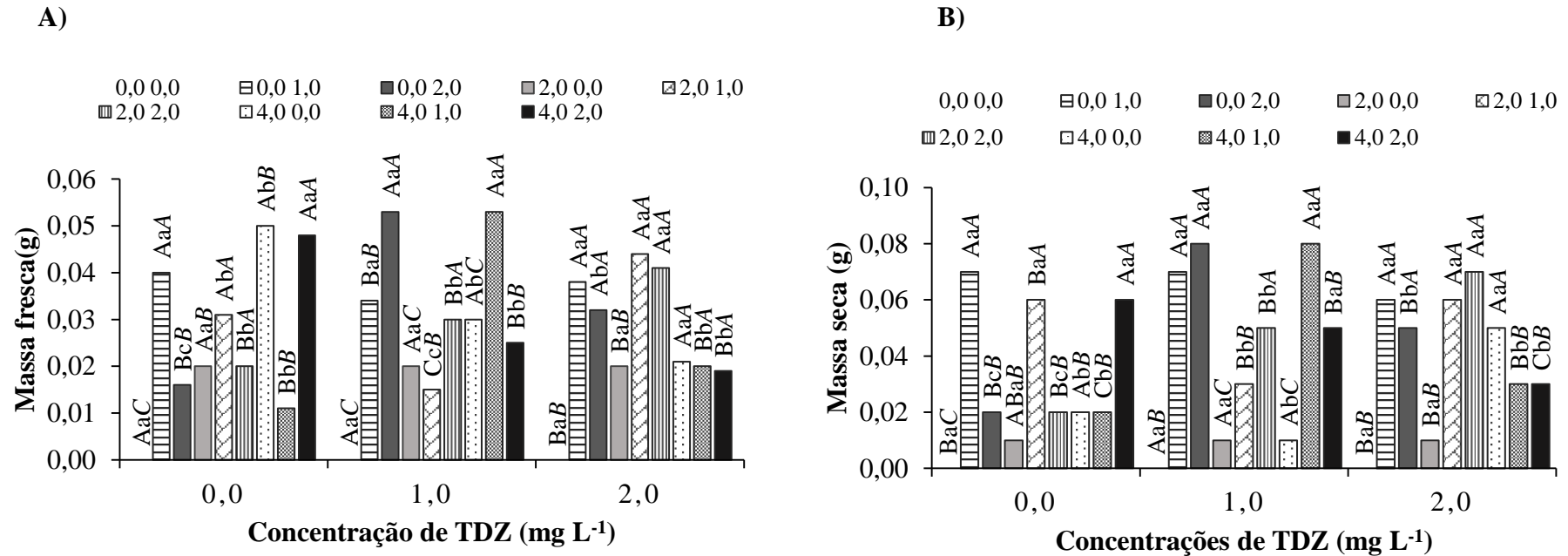


Figura 10. Estimativa de A) massa fresca B) massa seca (g) de calos formados em explantes foliares de *Syzygium cumini*, sobre efeitos de diferentes concentrações de reguladores de crescimento: ANA (0,0; 2,0 e 4,0 mg L⁻¹), TDZ (0,0; 1,0 e 2,0 mg L⁻¹) e 2,4-D (0,0; 1,0 e 2,0 mg L⁻¹). Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade para análise de desdobramento de ANA dentro de cada nível de TDZ e 2,4- D. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade para análise de desdobramento de TDZ dentro de cada nível de ANA e 2,4- D. Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas em itálico não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade para análise de desdobramento de 2,4- D dentro de cada nível de ANA e TDZ. Dourados – MS, UFGD, 2018.

Para a variável massa fresca, o tratamento combinando 0,0; 2,0; 1,0 e 4,0; 1,0; 1,0 mg L⁻¹ de ANA, 2,4- D e TDZ apresentaram as maiores médias e não diferem estatisticamente entre si. Com isso, verificou-se que as concentrações de reguladores utilizados influenciaram diretamente na variável analisada, promovendo o maior acúmulo de matéria fresca de calos formados em explantes foliares.

O desenvolvimento de calo pode ser independente de auxinas e citocininas, dependente de auxinas, dependente de citocininas ou dependente de ambas (JAIN et al., 1995). Com isso, dentre os tratamentos que apresentaram as maiores médias, seria recomendado o tratamento onde os explantes foliares foram submetidos ao meio nutritivo, contendo somente a combinação de 2,0 mg L⁻¹ de 2,4- D e 1,0 mg L⁻¹ de TDZ, pois o mesmo apresenta a ausência de ANA e, conseqüentemente, isso acarretaria em uma redução de custos.

Segundo Grattapaglia e Machado (1990), alta razão de auxina combinado com citocinina estimula a proliferação celular, culminando na formação de calos. O balanço entre as duas categorias de reguladores de crescimento implica em diferentes efeitos, sendo que, muitos aspectos da diferenciação e organogênese de tecidos cultivados *in vitro* estão relacionados com a interação entre a auxina e citocinina inclusas no meio de cultura, (GEORGE e SHERRINGTON, 1984).

Com relação à massa seca de calos formados em explantes foliares de *Syzygium cumini*, o tratamento contendo a combinação de 2,0 mg L⁻¹ de 2,4-D e 1,0 mg L⁻¹ de TDZ com ausência de ANA, apresentou o maior acúmulo de matéria seca. Sendo assim, é provável que a combinação de 2,4- D (auxina) combinado com TDZ (citocinina) favoreceu no aumento da variável analisada.

Dentre as auxinas existentes, o 2,4-D e o ANA são as mais frequentemente empregadas, sendo que o 2,4-D tem sido mais utilizado na indução de calos e em culturas em suspensão, enquanto o ANA é usado quando a organogênese é requerida (COSTA, 2008). Já o TDZ pode atuar na proliferação de calos de duas maneiras: com efeito de citocinina, na proliferação de diferenciação celular ou com ação similar à auxina, atuando na indução da competência embriogênica (SINGH et al., 2003). Apesar de potente indutor de embriogênese somática quando utilizado isoladamente, o TDZ pode atuar como potente elicitador na produção de etileno endógeno, o que pode estimular o aumento de calos e a proliferação celular (FENG et al., 2012).

5.4. Experimento 4: Micropropagação *in vitro*

Quanto a micropropagação *in vitro* de segmentos nodais de jamelão, a análise de variância revelou uma interação significativa entre as concentrações de reguladores de crescimento (ANA e BAP) para as variáveis número de folhas, altura de plântula e massa fresca, já para a variável massa seca, apenas as concentrações de ANA foram significativas (Tabela 11).

Tabela 11. Resumo do quadro de análise de variância do número de folhas (NF), altura (ALT) em cm, massa fresca (MF) e massa seca (MS) em g de plântulas de *Syzygium cumini*, oriundas da micropropagação *in vitro* de segmentos nodais sobre efeitos de diferentes concentrações de reguladores de crescimento. Dourados-MS, 2018.

FV	GL	Quadrados Médios			
		NF	ALT	MF	MS
BAP	4	34,1314	3,3233	0,0044	0,0000
ANA	1	14,3862	6,0830	0,0512	0,0019**
BAP x ANA	4	8,8690**	1,5459*	0,0062**	0,0001
Erro	40	2,1549	0,5718	0,0003	0,0000
CV (%)		16,23	20,12	18,21	36,02
Média geral		9,0432	3,7584	0,0984	0,0242

** significativo a 1% de probabilidade, pelo teste de F; * significativo a 5% de probabilidade, pelo teste de F.

Para explicar a interação, o modelo quadrático de regressão foi o que melhor se ajustou aos dados. A interação demonstrou que a utilização dos reguladores de crescimento influenciou diretamente nas variáveis analisadas: número de folhas, altura e massa fresca de plântulas de jamelão (Figura 11 e 12).



Figura 11. Plântulas de *Syzygium cumini* oriundas de micropropagação submetidas a diferentes concentrações de reguladores. Dourados – MS, UFGD, 2018.

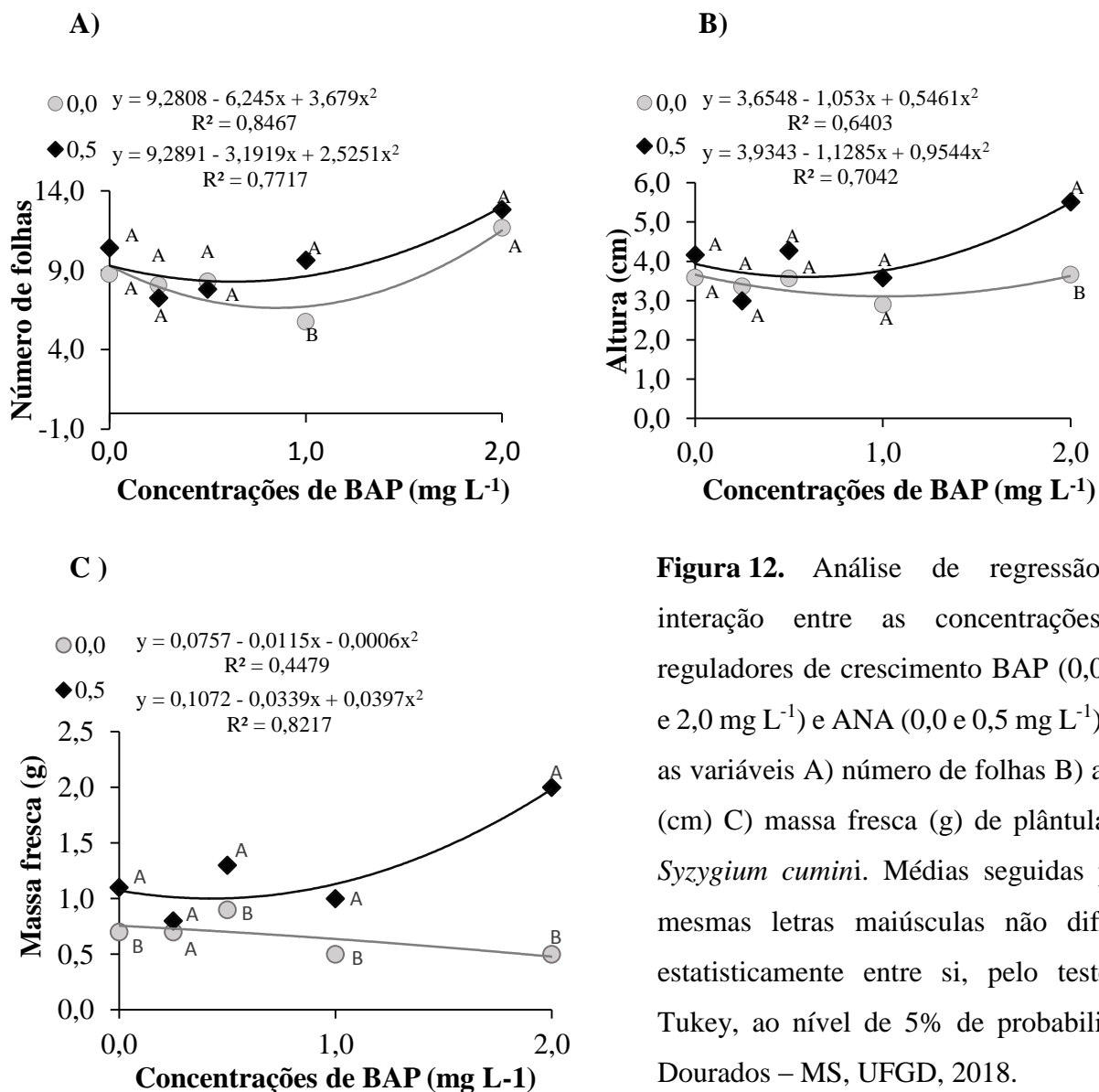


Figura 12. Análise de regressão da interação entre as concentrações de reguladores de crescimento BAP (0,0; 1,0 e 2,0 mg L^{-1}) e ANA (0,0 e 0,5 mg L^{-1}) para as variáveis A) número de folhas B) altura (cm) C) massa fresca (g) de plântulas de *Syzygium cumini*. Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade Dourados – MS, UFGD, 2018.

Para a variável número de folhas o tratamento utilizando a combinação de 2 mg L⁻¹ de BAP com 0,5 mg L⁻¹ ANA não diferenciou estatisticamente do tratamento que continha somente BAP, porém nas outras variáveis o mesmo tratamento diferiu significativamente dos demais, cujas médias foram relativamente inferiores. É provável que a utilização de 2 mg L⁻¹ de BAP combinado com ANA favoreceu no aumento do número de folhas, altura e massa fresca das plântulas.

Das citocinas comercialmente disponíveis, o BAP tem sido mais utilizado para estimular a formação de brotações *in vitro* (HU e WANG 1983). A fonte de citocinina, assim como sua concentração, são os fatores que mais influenciam o processo de desenvolvimento *in vitro* (MANTOVANI et al. 2001, CORDEIRO et al. 2004). As auxinas, de maior ocorrência natural nas plantas, têm função de estimular o início da divisão celular. Para a sua substituição no cultivo *in vitro* são utilizadas auxinas sintéticas, dentre as quais está o ANA (SILVEIRA et al. 2002).

De acordo com Lundergan e Janick (1980), a presença de ANA no meio de multiplicação anula o efeito inibitório das citocininas no alongamento dos explantes, diminuindo o efeito do rosetamento ou entufamento causados pelas citocininas. Já o BAP é importante para induzir a formação de grande número de brotações e aumentar a taxa de multiplicação em muitos sistemas de micropropagação (HU e WANG, 1983). Tem sido muito eficaz para promover multiplicação de partes aéreas e indução de gemas adventícias, além de ser o mais barato de todos (HASEGAWA, 1980; ZAERR e MAPES, 1982).

Com relação a massa fresca, pode-se dizer que é uma variável de extrema importância, pois a mesma mostra o quanto uma plântula acrescentou de biomassa durante um determinado período de tempo (SIQUEIRA, 2014). No experimento realizado, foi possível observar um aumento gradativo quando os explantes foram submetidos aos tratamentos utilizando-se a combinação dos reguladores, provavelmente isso ocorreu devido as plantas conseguirem absorver mais água para seus tecidos nesta concentração de regulador e, portanto, incrementaram sua massa fresca.

Para a variável massa seca de plântulas, não ocorreu interação significativa para a combinação dos reguladores de crescimento, houve diferenças significativas apenas para o efeito isolado de ANA. (Figura 13).

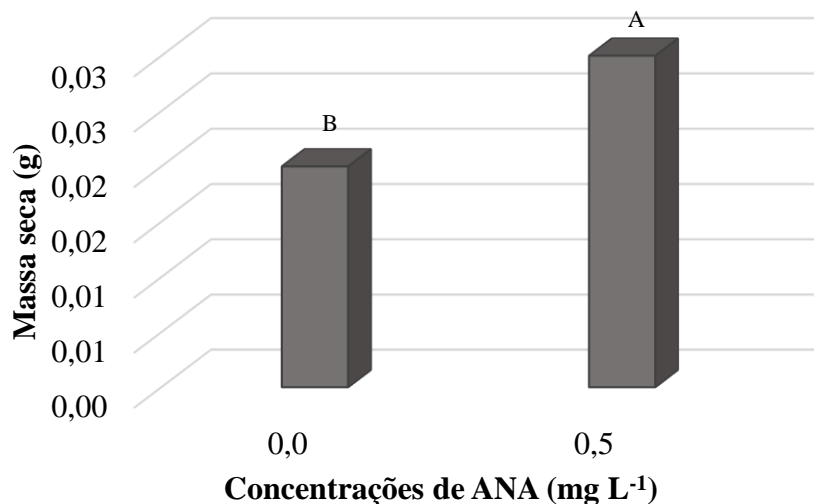


Figura 13. Efeito de concentrações de ANA (mg L⁻¹) na massa seca de plântulas de *Syzygium cumini*. Dourados – MS, UFGD, 2018.

O maior acúmulo de matéria seca ocorreu em plântulas cultivadas em meio nutritivo contendo 0,5 mg L⁻¹ de ANA, isso significa que a presença de auxina no meio nutritivo favoreceu para o aumento da biomassa, sendo que, as auxinas promovem crescimento do caule, folhas e raízes, além de serem responsáveis pela dominância apical, importante condição a ser considerada nos cultivos *in vitro* (COSTA, 2010).

6. CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos nos experimentos realizados, concluiu-se que, o protocolo de micropropagação de jamelão foi eficiente.

As sementes de *Syzygium cumini* tratadas com Stimulate[®] resultaram em maiores porcentagens de germinação *in vitro*.

Para a altura e número de folhas, os tratamentos pré-germinativos nas concentrações de 20,0 e 25,0 mL Stimulate[®] kg⁻¹ de semente resultaram em maiores médias.

As sementes tratadas com diferentes concentrações de bioestimulante apresentaram 100% de germinação quando as mesmas foram colocadas para germinar sob condições de casa de vegetação.

A combinação (2,0 mg L⁻¹ de TDZ e 1,0 mg L⁻¹ de 2,4- D) induziram elevadas intensidades calogênicas para segmentos foliares.

A combinação (2,0 mg L⁻¹ de 2,4- D e 1,0 mg L⁻¹ de TDZ) promoveu o maior acúmulo de massa fresca e seca de calos formados em segmentos foliares.

A combinação (2,0 mg L⁻¹ de BAP e 0,5 mg L⁻¹ de ANA favoreceu no aumento do número de folhas, altura e massa fresca das plântulas oriundas da micropropagação *in vitro*.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBERTON, J. R.; RIBEIRO, A.; SACRAMENTO, L. V. S. Caracterização farmacognóstica do jambolão (*Syzygium cumini* (L.) Skeels). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.11, n.1, p.37-50, 2001.

ALMEIDA, S. P. D; PROENÇA, C. E. B.; SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F. Cerrado: espécies vegetais úteis. **Planaltina: EMBRAPA-CPAC**, v.464, p.182-186, 1998.

ANDRADE, M. W.; LUZ, J. M. Q.; LACERDA, A. S.; MELO, P. R. A. Micropropagação da aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All.). **Ciência e Agrotecnologia**, v.24, n.1, p.174-180, 2000.

ARAÚJO, M.; CASTRO, A.; CHAGAS, E. A.; da SILVA, M. L.; FLORES, P. S.; e SILVA, S. D. Desinfestação e estabelecimento *in vitro* de segmentos caulinares de camu-camuzeiro. In **Embrapa Roraima-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura. Bento Gonçalves. Anais, Bento Gonçalves: SBF, 2012.

BALDO, R.; SCALON, S. de P. Q.; ROSA, Y. B. C. J.; MUSSURY, R. M.; BETONI, R.; BARRETO, W. dos S. Comportamento do algodoeiro cultivar Delta Opal sob estresse hídrico com e sem aplicação de bioestimulante. **Ciência e Agrotecnologia**, v.33, p.1804-1812, 2009.

BASSI, G.; COSSIO, F. Risultati di ricerche sulla micropropagazione della feijoa (Feijoa sellowiana Berg.). **Informatore Agrario**, v.569, p.79-80, 1993.

BENHERLAL, P. S.; ARUMUGHAN, C. Chemical composition and *in vitro* antioxidant studies on *Syzygium cumini* fruit. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.87, n.14, p.2560-2569, 2007.

CASTRO, P. R. C.; PACHECO, A. C.; MEDINA, C. L. Efeitos de Stimulate[®] e de micro-citros no desenvolvimento vegetativo e na produtividade da laranjeira 'Pêra' (*Citrus sinensis* L. Osbeck). **Scientia Agricola**, v.55, n.2, p.338-341, 1998.

CASTRO, P. R. C.; VIEIRA, E. L. **Aplicações de reguladores vegetais na agricultura tropical**. Guaíba: Agropecuária, p.132, 2001.

CAVALCANTI, N. B. **Influência de diferentes substratos na emergência e crescimento de plântulas de jambolão (*Syzygium jambolanum* lam.)**. Engenharia Ambiental –Espírito Santo do Pinhal, v.7, n.2, p.241-251, 2010.

CID, L. P. B.; TEIXEIRA, J. B. Oxidação fenólica, vitrificação e variação somaclonal. In: CID, L. P. B. (Ed.) **Cultivo *in vitro* de plantas**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, p.303, 2010.

COSTA, A. E. L. **Estabelecimento do meio de cultura para o desenvolvimento *in vitro* de ápices caulinares da variedade cítrica 'baía-catarina' visando a limpeza de vírus**, 72.f. (Graduação em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Catarina, 2010.

COSTA, F. H. S.; DA SILVA LOUREIRO, T.; PEREIRA, J. E. S. Influência de auxinas e tipos de explantes na indução de calos friáveis em *Piper hispidinervum* C. DC. **Revista Ciência Agronômica**, v.39, n.2, p.269-274, 2008.

CORDEIRO, I. M. C. C.; LAMEIRA, O. A.; OHASHI, S. T. E.; ROSAL, L. F. Efeito de BAP sobre a proliferação de brotos de *Schizolobium amazonicum* Huber ex Ducke (Paricá). **Cerne**, v.10, n.1, 2004.

CROCOMO, O. J. Biotechnological approaches for the control of plant morphogenesis and their applications in agriculture. **Genome**, v.31, n.2, p.1034-1041, 1989.

CROZIER, A.; KAMIYA, K.; BISHOP, G.; YOKOTA, T. Biosynthesis of hormones and elicitor molecules. In: Buchanan, B. B.; Grissem, W. e Russel, L. J. (eds). **Biochemistry Molecular Biology of Plants**. Courier Companies Inc., Philadelphia, USA, p.850-929, 2001.

CRUZ, C. D. GENES: a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v.35, n.3, p.271-276, 2013.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema**, 4ª Edição. Artmed Editora, 2009.

DANADIO, L. C.; NACHITIGAL, J. C.; SACRAMENTO, C. K. **Frutas exóticas**. Funep, Jaboticabal, p.119-120, 1998.

DANTAS, A. C. V. L.; QUEIROZ, J. M. O.; VIEIRA, E. L.; ALMEIDA, V. O. Effect of gibberellic acid and the bioestimulant Stimulate® on the initial growth of tamarind. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.34, n.1, p.8-14, 2012.

DAVIES, P. J. (Ed.). **Plant hormones and their role in plant growth and development**. Springer Science e Business Media, 2012.

DIAS, J. P. T.; PALANGANA, F. C.; FILHO, J. D.; ONO, E. O.; FERREIRA, G.; RODRIGUES, J. D. Bioestimulante e substratos na propagação da amoreira- preta. **Revista Tropica: Ciências Agrárias e Biológicas**, v.6, n.3, p.102-110, 2012.

DZAZIO, P. M.; BIASI, L. A.; ZANETTE, F. Micropropagação do porta-enxerto de videira '420-A'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.24, n.3, p.759-764, 2002.

ERIG, A. C.; ROSSI, A. D.; LUCES, G. 6-benzilaminopurina e ácido indolbutírico na multiplicação *in vitro* da amoreira- preta (*Rubus idaeus* L.), cv. Tupy. **Ciência Rural**, v.32, n.5, p.765-770, 2002.

ERIG, A. C.; SCHUCH, M. W. Micropropagação fotoautotrófica e uso da luz natural. **Ciência Rural**, v.35, n.4, 2005.

FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C.; KERSTEN, E.; FORTES, G. R. L. **Propagação de plantas frutíferas de clima temperado**. Pelotas: UFPEL, p.179, 1994.

FENG, B. H.; WU, B.; ZHANG, C. R.; HUANG, X.; CHEN, Y. F.; e HUANG, X. L. Cloning and expression of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase cDNA induced by thidiazuron during somatic embryogenesis of alfalfa (*Medicago sativa*). **Journal of Plant Physiology**, v.169, n.1, p.176-182, 2012.

FERNANDES, D. Á.; SOUZA, R. S.; COSTA, R. B. Cultivo *in vitro* de teca (*Tectona grandis* Lf): uma revisão. **BRAZILIAN JOURNAL OF AGRICULTURE-Revista de Agricultura**, v.86, n.1, p.32-46, 2013.

FERRAZ, I. D. K., CALVI, G. P. Teste de germinação in: manual de análise de sementes. Cap 5. In: **Manual de procedimentos para análise de sementes florestais**. Manaus: UFAM, p.55-122, 2010.

FERREIRA, D. F. **SISVAR (Sistema para análise de variância)**. Lavras: Universidade Federal de Lavras (Departamento de Ciências Exatas DEX), 2000. (CD-ROM).

GARCIA, M. M.; FIGUEIREDO, G. S.; DAMIANI, C. R.; SCHUCH, M. W. **Estabelecimento *in vitro* de uvaia: tempo de desinfestação, desinfestante e meio de cultura**. In: Congresso de Iniciação Científica e Encontro de Pós-Graduação, 17 e 10, 2008, Pelotas. Anais. Pelotas: FAEM/UFPEL, Laboratório de Micropropagação de Plantas Frutíferas, Departamento de Fitotecnia. 2008.

GEORGE, E. F.; SHERRINGTON, P. D. **Plant propagation by Tissue Culture**. Basingstoke, England: Handbook and directory of commercial laboratories, p.709, 1984.

GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture: part 1: the technology**. Edington: Exegetics, p.574, 1996.

GOVAERTS, R.; SOBRAL, M.; ASHTON, P.; BARRIE, F.; HOLST, B. K.; LANDRUM, L. L.; MATSUMOTO, K.; MAZINE, F. F.; LUGHADHA, E. N.; PROENÇA, C.; SOARES-SILVA, L. H.; WILSON, P; G.; LUCAS, E. **World Check-List of *Myrtaceae***. Facilitado pelo Royal Botanic Gardens, Kew, 2012. Disponível em: <<http://apps.kew.org/wcsp/>>. Acesso em: 28 ago. 2018.

GURGEL, J. T. A.; SOUBIHE SOBRINHO, J. Poliembrião em mirtáceas frutíferas. **Bragantia**, v.11, n.4-6, p.141-163, 1951.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. (Eds.). **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: ABCTP/Embrapa-CNPq, p.99-169, 1990.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. **Cultura de Tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: ABCTP/EMBRAPA CNPq, p.183-260, 1998.

HANDRO, W.; FLOH, E. I. S. Aspectos básicos do controle da morfogênese *in vitro*. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. (Ed.). **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: ABCTP/ EMBRAPA-CNPq, p.203-212, 1990.

HASEGAWA, P. M. Factors affecting shoot and root initiation from cultured rose shoot tips. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v.105, p.216-220, 1980.

HU, C. Y.; WANG, P. J. Meristem, shoot tip, and bud culture. In: EVANS, D. A.; SHARP, W. R.; AMMIRATO, P. V.; YAMADA, Y. (Ed.). **Handbook of plant cell culture**. New York: Macmillan, v.1, p.177-227, 1983.

- HUSSEIN, E. A.; AQLAN, E. M. Regeneration of *Solanum villosum* Mill., via direct organogenesis *in vitro*: A novel study. **International Journal of Botany**, v.7, ed.2, p.177- 182, 2011.
- JAIN, S. M.; GUPTA, P. K.; NEWMAN, R. J. **Somatic embryogenesis in woody plants**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, v.2, 1995
- LEDO, A. S.; LAMEIRA, O. A.; BENBADIS, A. K. Explantes de cupuaçuzeiro submetidos a diferentes condições de cultura *in vitro*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.24, n.3, p.604 - 607, 2002.
- LANDA, F. D. S. L.; PAIVA, R.; PAIVA, P. D. O.; BUENO-FILHO, J. S. S. **Indução *in vitro* de calos em explantes foliares de pequi (Caryocar brasiliense Camb.)**. Tese de Doutorado, Lavras, 2000.
- LANDROUM, L. R. e KAWASAKI, M. L. The genera of Myrtaceae in Brazil: na illustrated synoptic treatment and identification keys. **Brittonia**, v.49, n.4, p.508-536, 1997.
- LATTUADA, D. S. **Micropropagação e miniestaquia de pitangueira (*Eugenia uniflora* L.)**. Dissertação (Mestrado em fitotecnia) – UFRGS- Porto Alegre, 2010.
- LEITZKE, L. N.; DAMIANI, C. R.; SCHUCH, M. W. Meio de cultura, concentração de AIB e tempo de cultivo no enraizamento *in vitro* de amora-preta e framboeseira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.31, n.2, p.582-587, 2009.
- LIMA, C. O. D. C.; MARCHI, M. N. G.; LIMA-BRITO, A.; CARNEIRO, C. E.; BELLINTANI, M. C.; SANTANA, J. R. F. D. Organogênese direta de *Orthophytum mucugense*. **Ciência Rural**, v.42, n.2, p.249-254, 2012.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil**. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, São Paulo, 2ªed, v.2, p.266, 2000.
- LORENZI, H.; SOUZA, H. M. D.; TORRES, M. A. V.; BACHER, L. B. **Árvores exóticas do Brasil, madeireiras, ornamentais e aromáticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, São Paulo, v.1, p.297, 2003.
- LU, C. Y. The use of thidiazuron in tissue culture. **In vitro, Cellular and Developmental Biology Plant**, v.29, n.2, p.92-96, 1993.
- LUNDERGAN, C. A.; JANICK, J. Regulation of apple shoot proliferation and growth *in vitro*. **Horticultural Research**, n.20, p.19-24, 1980.
- MANTOVANI, N. C.; TEREZINHA, H. F., Elci, V. S. Regeneração *in vitro* de louro-pardo (*Cordia trichotoma* (Vellozo) Arrabida ex Steudel). **Ciência Florestal**, v.11, n.2, 2001.
- MARQUES, L. O. D.; MELLO-FARIAS, P.; DE LIMA, A. Y. B.; MALGARIM, M. B.; e DOS SANTOS, R. F. Desempenho de diferentes substratos e influência do frio na germinação de sementes de araçá amarelo. **14ª Jornada de Pós-Graduação e Pesquisa-congrega urcamp-2017**, p.1169-1180, 2017.

- MAYER, A. M; POLJAKOFF-MAYBER, A. **The germination of seeds**. New York: Pergamon Press, p.210, 1989.
- MIGLIATO, K. F.; BABY, A. R.; ZAGUE, V.; VELASCO, M. V. R.; CORRÊA, M. A.; SACRAMENTO, L. V. S.; SALGADO, H. R. N. Ação Farmacológica de *Syzygium cumini* (L.) Skeels. **Acta Farmacêutica Bonaerense**, v.25, n.2, p.310-314, 2006.
- MORAES, M. E.; GUIMARÃES, V. F.; KRIESER, C. R.; ABUCARMA, V. M.; KLEIN, J.; DOS SANTOS, L. e DALLABRIDA, W. R. Uso de bioestimulante na formação de mudas de maracujazeiro amarelo. **Semina: Ciências Agrárias**, v.27, n.3, p.351-360, 2006.
- MORTON, J. F. **Fruits of warm climates**. Miami: AgScience, p.559, 1987.
- MROGINSKI, L. A.; ROCA, W. M. Establecimiento de cultivos detejidos vegetales *in vitro*. In: ROCA, W. M; MROGINSKI, L. A., (Ed.). **Cultivo de tejidos en la agricultura: fundamentos y aplicaciones**. Cali: CIAT. P., p.19-40, 1991.
- MURASHIGE, T. Plant regeneration through tissue cultures. **Annual Review Plant Physiology**, Palo Alto, v.25, p.135-166, 1974.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.
- NOGUEIRA, R. C., PAIVA, R., OLIVEIRA, L. M. D., SOARES, G. D. A., SOARES, F. P., CASTRO, A. H. F., e PAIVA, P. D. D. O. Calli induction from leaf explants of murici-pequeno (*Byrsonima intermedia* A. Juss.). **Ciência e Agrotecnologia**, v.31, n.2, p.366-370, 2007.
- Oliveira, C. M., Zambon, C. R., Boas, A. V., de Oliveira Menino, G. C., & Pinto, J. E. B. P. Efeito de reguladores de crescimento na micropropagação *in vitro* de batata doce. **Global Science and Technology**, v.6, n.3, 2013.
- ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D.; SANTOS, S. O. Efeito de fitorreguladores sobre o desenvolvimento de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) cv Carioca. **Revista Biociências**, Taubaté, v.5, n.1, p.7-13, 1999.
- OZIAS-AKINS, P.; VASIL, I. K. Nutrition of plant tissue cultures. In: VASIL, I. K. (Ed.). **Cell culture and somatic cell genetics of plants: cell growth, nutrition, cytodifferentiation and cryopreservation**. Florida: Academic, v.2, p.128-147, 1985.
- PASQUAL, M.; HOFFMAN, A.; RAMOS, J. D. **Cultura de tecidos vegetais: tecnologia e aplicações. Introdução – Fundamentos básicos**. Lavras-MG: UFLA/FAEPE, p.159, 1998.
- PASQUALI, G.; ZANETTINI, M. H. B. Transgênese florestal. In: BORÉM, A. (Ed.) **Biotechnologia florestal**. Viçosa: Ed. UFV, p.317-334, 2007.
- PIERIK, R. L. M. **In vitro culture of higher plants**. Dordrecht: Martinus Nijhoff, p.344, 1987.

- PIERIK, R. L. M. **Cultivo *in vitro* de las plantas superiores**. Martins: Nijoff, p.326, 1990.
- PRINCE, P. S. M.; MENON, V. P.; PARI, L. Hypoglycaemic activity of *Syzygium cumini* seeds: effect on lipid peroxidation in alloxan diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v.61, n.1, p.1-7, 1998.
- RAMOS, J. D.; MATOS, L. E. S.; GONTIJO, T. C. A.; PIO, R.; JUNQUEIRA, K. P.; SANTOS, F. C. Enraizamento de estacas herbáceas de Mirabolano (*Prunus cerasifera*) em diferentes substratos e concentrações de ácido indolbutírico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.25, n.1, p.189-191, 2003.
- RIBAS, L. L. F.; ZANETTE, F.; KULCHETSCKI, L.; e GUERRA, M. P. Micropropagação de *Aspidosperma polyneuron* (peroba-rosa) a partir de segmentos nodais de mudas juvenis. **Revista Árvore**, v.29, n.4, p.517-524, 2005.
- RISTOW, N. C.; ANTUNES, L. E. C.; CARPENEDO, S. Substratos para o enraizamento de microestacas de mirtilheiro cultivar Georgiagem. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.34, n.1, p.262-268, 2012.
- RODRIGUES, M.; PAIVA, R.; CRAVO NOGUEIRA, R.; MARTINOTTO, C.; E MARQUES SILVA JÚNIOR, J. Morfogênese *in vitro* de nim a partir de explantes cotiledonares. **Revista Árvore**, v.33, n.1, 2009.
- RODRIGUES, K. A. F.; AMORIM, L. V.; DIAS, C. N.; MORAES, D. F. C.; CARNEIRO, S. M. P.; CARVALHO, F. A. A. *Syzygium cumini* (L.) Skeels essential oil and its major constituent α -pinene exhibit anti-leishmania activity through immunomodulation *in vitro*. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v.1, n.160, p.32–40, 2015.
- SA, A. P. C. S. **Potencial antioxidante e aspectos químicos e físicos das frações comestíveis (polpa e cascas) e sementes de Jamelão (*Syzygium cumini*, L. Skeels)**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – UFRRJ - Seropédica, 2008.
- SAMPAIO, M. F.; DO COUTO, S. R.; SILVA, C. A.; SILVA, A. C. A.; DA SILVA, A. A. S.; TEIXEIRA, A. L. Influência de diferentes substratos associados a métodos de superação de dormência na germinação e emergência de sementes de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.). **Revista Farociência**, v.2, n.1, p.11-27, 2016.
- SANTOS, D. N.; NUNES, C. F.; PASQUAL, M.; VALENTE, T. C. T.; OLIVEIRA, A. C. L.; SILVEIRA, N. M. Análise bioquímica de calos de pinhão-manso. **Ciência Rural**, v.40, n.11, p.2268-2273, 2010.
- SANTOS, R. K. A. **Bioestimulante vegetal na produção de mudas de *Eucalyptus urophylla* e no seu crescimento inicial em diferentes regimes hídricos**. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – UESB - Vitória da Conquista – BA, 2014.
- SIEGEL, S. **Estatística não paramétrica para ciências do comportamento**. Rio de Janeiro: McGraw, p. 350, 1977.

SILVA, M. A. V.; NOGUEIRA, R. J. M. C.; OLIVEIRA, A. F. M.; SANTOS, V. F. Resposta estomática e produção de matéria seca em plantas jovens de aroeira submetidas a diferentes regimes hídricos. **Revista Árvore**, v.32, n.2, p.335-344, 2008.

SILVA NETO, C. R.; LOPES, R. A.; CONTRERA, M. G.; POZETTI, G. L. Efeitos antagônicos de plantas medicinais na diurese de ratos. **Pesquisa Homeopática**, São Paulo, v.1, n.4, p.17-21, 1987.

SILVA, T. T. A.; VON PINHO, É. V. D. R.; CARDOSO, D. L.; FERREIRA, C. A.; DE OLIVEIRA ALVIM, P.; COSTA, A. A. F.; Qualidade fisiológica de sementes de milho na presença de bioestimulantes. **Ciência e Agrotecnologia**, v.32, n.3 p.840-846, 2008.

SILVEIRA, C. A. P., FORTES, G. R. D. L., FACHINELLO, J. C., RODRIGUES, A. C., CITADIN, I., QUEZADA, A. C., DA SILVA, J. B. Multiplicação *in vitro* de porta enxertos do gênero *Prunus* sob baixas concentrações e diferentes tipos de auxinas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.24, n.3, p.608-610, 2002.

SIQUEIRA, E. R. D.; INOUE, M. T. Propagação vegetativa do coqueiro através da cultura de tecidos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v.27, n.4, p.639-646, 1992.

SIQUEIRA, J.; DE FREITAS, E. M.; PÉRICO, E. Influência de reguladores de crescimento no cultivo *in vitro* de *Dolichandra unguis-cati* (L.) LG Lohmann a partir de estacas caulinares. Iheringia. **Série Botânica**. v.69, n 2, p.341-346, 2014.

SIQUEIRA-NUNES, A.; MARTINS, M. B. G. Estudo anatômico de folhas de *Syzygium Cumini* (L.) Skeels. **Revista Biociência**, v.16, n.2, p.116-122. 2010.

SINGH, N. D. The effect of TDZ on organogenesis and somatic embryogenesis in pigeonpea (*Cajanus cajan* L. Millsp). **Plant Science**, v.164, n.1, p.341-347, 2003.

SOARES, J. C. M.; DA COSTA, S. T.; CECIM, M. Níveis glicêmicos de colesterol em ratos com *Diabetes Mellitus* aloxano induzido, tratados com infusão de *Bauhinia candicans* ou *Syzygium jambolanum* glucose and cholesterol plasma levels in rats with alloxan-induced *Diabetes Mellitus* treated with infusion of *Bauhinia candicans* or *Syzygium jambolanum*. **Ciência Rural**, v.30, n.1, p.113-118, 2000.

SOBRAL, M.; PROENÇA, C.; SOUZA, M.; MAZINE, F.; LUCAS, E. **Myrtaceae in Flora do Brasil 2020 em construção**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2012. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB10338>>. Acesso em: 12 out. 2018.

SOUZA, J. A.; SCHUCH, M. W.; SILVA, L. C.; FERRI, J.; SOARES, G. C.; Solidificante no meio de cultura e tamanho do explante no estabelecimento da propagação *in vitro* de pitangueira (*Eugenia uniflora* L.), **Revista Brasileira Agrociência**, v.13, n.1, p.115-118, 2007.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, p.719, 2004.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5.ed. Porto Alegre: ArtMed, p.954, 2013.

TEIXEIRA, C. C.; FUCHS, F. D.; BLOTTA, R. M.; KNIJNIK, J.; DELGADO, I. C.; NETTO, M. S.; GASTALDO, G. Effect of tea prepared from leaves of *Syzygium*

jambos on glucose tolerance in non-diabetes subjects. **Diabetes Care**, v.13, n.8, p.907-908, 1990.

TERMIGNONI, R. R. **Cultura de tecidos vegetais**. Porto Alegre: Ed. UFRGS, p.182, 2005.

TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. **Técnicas e aplicações de cultura de tecidos em plantas**. Brasília: ABCTP/Embrapa-CNPH, p.443, 1990.

TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Embrapa-SPI; Embrapa Hortaliças, 1998.

VIEIRA, E. L.; CASTRO, P. R. **Ação de bioestimulante na cultura da soja (*Glycine max* (L.) Merrill)**. Stoller do Brasil, 2004.

VIEIRA, E. L.; ALMEIDA, A. de Q. Plant stimulant effect on Brasil-Bahia tobacco growth and production. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.40, n.4, p.468-475, 2010.

VIETEZ, A. M.; SAN-JOSÉ, M. C. Adventitious shoot regeneration from *Fagus sylvatica* leaf explants *in vitro*. **In vitro Cellular e Developmental Biology**, v.32, n.3, p.140-147, 1996.

VIZZOTTO, M., FETTER, M. R. D. Jambolão: o poderoso antioxidante. **Pelotas-RS: Embrapa Clima Temperado**, 2009.

ZAERR, J. B.; MAPES, M. O. Action of growth regulators. In: **Tissue culture in forestry**. Springer, Dordrecht, p.231-255, 1982.

WILSON, P. G.; O'BRIEN, M. M.; HESLEWOOD, M. M.; QUINN, C. J. Relationships within Myrtaceae sensu lato based on a matK phylogeny. **Plant Systematics and Evolution**, v.251, n.1, p.3-19, 2005.