

## GERMINAÇÃO *IN VITRO* DE SEMENTES DE ROMÃZEIRA

SAMILA SILVA CAMARGO<sup>1</sup>; LAURA REISDÖRFER SOMMER<sup>1</sup>; ROSEANE MAIDANA MOREIRA<sup>2</sup>, DANIELE BRANDSTETTER RODRIGUES<sup>3</sup>, GABRIELA DOS SANTOS RODRIGUES<sup>4</sup>, MÁRCIA WULLF SCHUCH<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Eng<sup>a</sup> Agr<sup>a</sup>, Mestranda do PPGA, Pós-Graduação em Agronomia - Área de concentração em Fruticultura de Clima Temperado. FAEM/UFPEL. [samilasc@yahoo.com.br](mailto:samilasc@yahoo.com.br), [laurarsommer@hotmail.com](mailto:laurarsommer@hotmail.com)

<sup>2</sup> Bióloga, Mestranda do PPGA, Pós-Graduação em Agronomia - Área de concentração em Fruticultura de Clima Temperado. FAEM/UFPEL. [roseane\\_moreira@hotmail.com](mailto:roseane_moreira@hotmail.com)

<sup>3</sup> Eng<sup>a</sup> Agr<sup>a</sup>, Mestranda do SPAF, Sistemas de Produção Agrícola Familiar. FAEM/UFPEL. [ufpelbrandstetter@hotmail.com](mailto:ufpelbrandstetter@hotmail.com)

<sup>4</sup> Estagiária, graduanda do curso de Agronomia FAEM/UFPEL. [gabrielarodrigues2094@gmail.com](mailto:gabrielarodrigues2094@gmail.com)

<sup>5</sup> Eng<sup>a</sup> Agr<sup>a</sup>, Dr<sup>a</sup> Prof<sup>a</sup>. Adjunta do Departamento de Fitotecnia, FAEM/UFPEL. [marciaws@ufpel.edu.br](mailto:marciaws@ufpel.edu.br)

### 1. INTRODUÇÃO

A romãzeira, cujo nome científico é *Punica granatum*, pertence à família Punicaceae e é rara na Europa Central, mas cultiva-se em grande quantidade na Europa do Sul e no Norte de África.

A romã está sendo cada vez mais explorada devido ao seu valor nutricional e propriedades medicinais, além de ser utilizada como uma planta ornamental. (PARMAR & KAUSHAL, 1982; NAOVI *et al.*, 1991; JAYESH & KUMAR, 2004; JOHANNINGSMEIER & HARRIS, 2011). Acrescido a isso, é uma fruta rica em ácidos fenólicos, flavonóides e antioxidantes que lhe dão a cor avermelhada, além disso, é rica em vitaminas A e E, potássio, ácido fólico e polifenóis.

A germinação de sementes de romãzeira pode ser feita *in vitro*, controlando-se mais este processo e dando início à micropropagação. Essa técnica, durante os últimos anos, tem sido amplamente utilizada para a propagação de diversas espécies de plantas.

Este trabalho propõe avaliar a germinação e o crescimento de plântulas de romãzeira, em diferentes meios de cultura e presença ou não de sacarose.

### 2. METODOLOGIA

O experimento foi realizado no Laboratório de Propagação de Plantas Frutíferas, da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, da Universidade Federal de Pelotas (FAEM/UFPEL).

O delineamento experimental usado foi inteiramente casualizado e os tratamentos abrangeram dois meios de cultura (MS e WPM) e estes, com a presença e ausência de sacarose, sendo um fatorial 2 x 2, com cinco repetições, com vinte explantes cada.

Realizou-se a desinfestação das sementes em câmara de fluxo laminar, onde foram imersas em álcool 70%, sob agitação por 30 segundos, para posterior imersão em hipoclorito de sódio na concentração de 2,5% de cloro ativo, com adição de duas gotas de Tween 20, durante 15 minutos. Na sequência, o material desinfestado passou por tríplice lavagem em água destilada e autoclavada.

As sementes foram transferidas para dois tipos de meio de cultura: MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962) e WPM - Wood Plant Media (LLOYD & McCOWN, 1980). Além dos sais e vitaminas característicos de cada meio de cultivo; 100 mg.L<sup>-1</sup>

mio-inositol; em ambos tratamentos que continham sacarose, adicionou-se 30 g.L<sup>-1</sup> da mesma.

Nos quatro tratamentos, o pH foi ajustado para 5,8 antes da inclusão do ágar na concentração de 6,0 g.L<sup>-1</sup>. E, posteriormente, realizou-se a autoclavagem dos meios de cultura a 121°C e 1,5 atm de pressão, por 20 minutos.

Após a inoculação, as sementes foram mantidas no escuro, com temperatura de 25 ± 2°C, por um período de sete dias, visando à redução da oxidação fenólica. Posteriormente, foram transferidas para sala de crescimento, com fotoperíodo de 16 horas, temperatura de 25 ± 2°C e intensidade luminosa de 27 μmol.m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>.

Os dados foram submetidos à análise de variação e as médias dos tratamentos comparadas estatisticamente pelo teste de Tukey com 5% de probabilidade de erro, através do programa estatístico WINSTAT (MACHADO *et al.*, 2007). Os dados em porcentagem foram transformados em arco seno da raiz quadrada de x/100, e os valores provenientes de contagem foram transformados na raiz quadrada de x+0,5, onde x, em ambos os casos, é o percentual obtido de cada variável.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve efeito da interação entre os fatores para as variáveis presença de radícula e comprimento médio de brotações, sendo as demais variáveis analisadas levando em conta os fatores principais. Quando avaliado o meio de cultura, o MS proporcionou um maior comprimento das brotações (Tabela 1), entretanto o número médio dessas brotações não diferiram estatisticamente entre os dois meios de cultura. Da mesma forma, não houve diferença quanto a presença de folhas verdadeiras e número de explantes com brotação.

**Tabela 1.** Variáveis da parte aérea de explantes de romãzeira *in vitro*: presença de cotilédones (C) e folhas verdadeiras (FV), número de explantes com brotações (NB), número médio de brotações (NMB) e comprimento da maior brotação (CMB). Pelotas, RS – 2013.

	FV (%)	NB	NMB	CMB (cm)
<b>MS</b>	1,52 a	1,60 a	2,80 a	3,59 a
<b>WPM</b>	1,59 a	1,50 a	2,59 a	3,06 b
<b>Sem sacarose</b>	1,36 b	1,24 b	2,42 b	3,05 b
<b>Com sacarose</b>	1,75 a	1,86 a	2,98 a	3,59 a
<b>CV</b>	12,87	13,54	12,14	14,13

Entretanto, no que diz respeito à presença de sacarose no meio de cultura, as variáveis: presença de folhas verdadeiras, número de explantes com brotações, número médio de brotações e comprimento da maior brotação apresentaram valores superiores no meio de cultura com sacarose. Respostas semelhantes foram obtidas com *Passiflora giberti*, onde Faria *et al.* (2006) observaram maior crescimento *in vitro* na presença de sacarose. Isso ocorre, já que sacarose favorece um maior desenvolvimento das brotações *in vitro*, já que é uma fonte de carbono prontamente disponível.

Ao avaliar a parte radicular dos explantes constatou-se que os meios MS e WPM não apresentaram diferenças significativas para as variáveis em estudo

(Tabela 2). Em contra partida, visando o número de explantes com radículas e o comprimento da maior radícula, o meio de cultivo sem sacarose foi mais favorável para o desenvolvimento radicular. Fato este, que se contrapõe a dados encontrados por Pio *et al.*, (2002) relataram que o enraizamento é dependente de um nível adequado de carboidratos.

**Tabela 2.** Número de explantes com radícula (NER), comprimento médio das radículas (CMR) e comprimento da maior radícula (CM) de explantes de romãzeira estabelecidos *in vitro*. Pelotas, RS – 2013.

	NER		CMR (cm)		CR (cm)	
<b>MS</b>	1,09	a	2,22	a	2,34	a
<b>WPM</b>	1,12	a	2,00	a	2,10	a
<b>Sem sacarose</b>	1,01	b	1,95	a	1,95	b
<b>Com sacarose</b>	1,19	a	2,27	a	2,49	a
<b>CV</b>	6,40		17,57		19,39	

Como pode ser visualizado na Tabela 3, tanto no meio MS quanto no WPM, houve maior emissão de radículas com a presença de sacarose. Entretanto, com uso de sacarose, obteve-se maior número de radículas no meio de cultivo WPM. Resultados semelhantes foram encontrados em 2002, por Pio *et al.*, onde concluíram que a adição de sacarose ao meio de cultura atua como substrato para o processo de respiração celular, fornecendo energia para o processo de rizogênese.

**Tabela 3.** Presença de radículas (PR) e comprimento médio de brotações (CMB) de explantes de romãzeira estabelecidos *in vitro*. Pelotas, RS – 2013.

	PR (%)				CMB (cm)				
	Sacarose				Sacarose				
	Sem		Com		Sem		Com		
<b>MS</b>	1,06	Ab	1,22	Ba	<b>MS</b>	2,83	Ab	3,47	Aa
<b>WPM</b>	1,04	Ab	1,42	Aa	<b>WPM</b>	2,67	Aa	2,65	Ba
<b>CV</b>	5,42				<b>CV</b>	11,35			

\*Médias seguidas de mesma letra minúscula nas linhas e maiúscula nas colunas, dentro de cada tratamento, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

Considerando o comprimento médio de brotações dos explantes, no meio WPM não houve diferença no uso ou não de sacarose, porém, no meio MS houve maior comprimento em meio com sacarose. Dessa forma, nas condições do trabalho, o meio MS com sacarose, proporcionou o maior desenvolvimento das brotações e das raízes, condições essas, desejadas para o cultivo *in vitro*.

#### 4. CONCLUSÕES

O meio de cultivo com sacarose é mais favorável para a germinação *in vitro* de sementes de romãzeira.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- FARIA, G. A. *et al.* Efeito da sacarose e do sorbitol na conservação *in vitro* de *Plassiflora giberti* N. E. Brown. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 02, p. 267-270, 2006.
- JAYESH K. C., KUMAR R. Crossability in pomegranate (*Punica granatum* L.). **Indian J. Hort.** 61(3): 209-210, 2004.
- JOHANNINGSMEIER, S.D.; HARRIS, G.K. Pomegranate as a functional food and nutraceutical source. **Annu Rev Food Sci Technol**; 2:181-201, 2011.
- LLOYD, G.; MCCOWN, B., 1980. Commercially feasible micropropagation of mountain laural (*Kalmia latifolia*) by use of shoot tip cultures. **Ccmb. Proc. Intl. Soc.**, 30:421 - 427.
- MACHADO, A. A.; CONCEIÇÃO, A.R. **Sistema de análise estatística para Windows**. Winstat. Versão 2.0. UFPel, 2007.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and biossay with tabacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Kobenhavn, v. 15, p.473-497, 1962.
- NAOVI, S.A.H., KHAN, M.S.Y.; VOHORA, S.B. **Antibacterial, antifungal and anthelmintic investigations on Indian medicinal plants**. 62: 221-228, 1991.
- PARMAR C.; KAUSHAL M. K. Wild fruit of subhimalayan region.: **Kalyani Publishers**, New Delhi, 74p, 1982.
- PIO, R.; RAMOS, J.D.; PIO, L.A.S.; MENDONÇA, V.; SILVA, A.B.; PASQUAL, M. Enraizamento *in vitro* de brotações do porta-enxerto de citros citros Tangerina sunki x Trifoliata english 63-256 com o uso de sacarose e ácido indolbutírico. **Ciência agrotécnica**, Lavras, v.26, n.1, p.66-70, jan./fev., 2002.