

**ESTABELECIMENTO *IN VITRO* DE SEMENTE DE *Eugenia uniflora*****Marília Poton Arcobeli Cola<sup>1</sup>, Geovana Poton Arcobeli Cola<sup>2</sup>, Elisângela Knoblauch V. de Andrade<sup>1</sup>, Nina Cláudia Barboza da Silva<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>-Centro de Ciências Agrárias- UFES/Departamento de Produção Vegetal, Alto Universitário s/n Cx Postal 16, Guararema, Alegre-ES, 29500-000, e-mail: marilia\_agronomia@yahoo.com.br; elisangelak\_agronomia@hotmail.com; ninacbs@terra.com.br.

<sup>2</sup>- Pos-graduanda em agroecologia- IFES- Campus Alegre, Fazenda Caixa D'Água s/n - Distrito Rive, Alegre, ES. CEP 29520-000, e-mail: geovanacola@hotmail.com

**Resumo-** O objetivo deste trabalho foi estabelecer um protocolo de desinfestação de sementes de *Eugenia uniflora* L., espécie nativa do Brasil pertencente à família Myrtaceae, usada na medicina popular e na culinária com grande potencial para exploração econômica. Sementes foram submetidas a diferentes tempos e concentrações de hipoclorito de sódio: (T1- 2,5%/10min; T2- 2,5%/20min; T3- 5%/10min e T4- 5%/20 min) e inoculadas em água destilada acrescida de 7g/l Agar. O material foi mantido sob iluminação do tipo luz do dia e avaliados semanalmente quanto porcentagem de contaminação, oxidação, emissão de radícula e formação de parte aérea. Ao final de 65 dias os quatro tratamentos foram igualmente eficientes no controle da contaminação resultando em apenas 1,25% de sementes contaminadas. A maior porcentagem de germinação e a menor porcentagem de oxidação foram observadas no tratamento T4 (83,75%) seguido do T2 (77,5%). Aos 70 dias o maior comprimento de parte aérea (3,15 cm) foi observado no T1 e o menor (2,74 cm) no T2.

**Palavras-chave:** *Eugenia uniflora* L., Myrtaceae, semente, germinação *in vitro*.

**Área do Conhecimento: Ciências Agrárias****Introdução**

A pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) é uma espécie nativa do Brasil, cujo nome provém do tupi pi'tãg, que significa vermelho. É uma árvore que mede entre 6 e 12 m de altura dotada de copa mais ou menos piramidal. Seus frutos são utilizados não só no preparo de polpa e suco, mas na fabricação de sorvetes, refrescos, geléias, licores e vinhos (LEDERMAN et al., 1992; BEZERRA et al., 2000). Levantamento etnobotânicos realizados previamente apontam a pitanga como espécie amplamente utilizada na medicina popular de diversas comunidades (VENDRUSCOLO e MENTZ, 2006; ALVES et al., 2008) como anti-hipertensiva, antirreumática, antipirética, contra diarreia, no tratamento de bronquite e gripes tendo comprovada atividade antimicrobiana (FIÚZA et al., 2009).

Todavia, apesar da sua importância comercial, a maioria dos pomares existentes não utiliza cultivares definidas e são geralmente oriundos de plantas

propagadas por sementes, o que tem refletido negativamente na condução dos pomares, resultando em plantas desuniformes, de baixa produtividade e dando origem a frutos de má qualidade (BEZERRA et al., 2002; BEZERRA et al., 2004).

Devido a desuniformidade, logo sua germinação *in vitro* proporciona obter plântulas selecionadas de acordo com parâmetros que proporcionem maior produtividade em campo. As plântulas selecionadas podem ser multiplicadas para a produção de mudas monoclonais com homogeneidade.

A pitangueira é uma planta prioritária para estudos segundo a Relação Nacional de Plantas Mediciniais de Interesse ao SUS (Renuis) por precisar de estudos para confirmar a possibilidade de cultivo e produção (MS, 2009). O presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito de diferentes concentrações de hipoclorito de sódio e tempos variados na desinfestação de sementes de pitangueira.

**Metodologia**

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Biotecnologia Vegetal, do Departamento de Produção Vegetal, no Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), Alegre/ES. Frutos coletados em campo foram despulpadas em água corrente e as sementes foram secas à sombra por uma semana. As mesmas foram lavadas com água e sabão de côco sob agitação por 10 min. e enxaguadas em água corrente para retirar o sabão. Em câmara de fluxo foram imersas em álcool 70% por 30 seg., enxaguadas uma vez em água destilada autoclavada e imersas nos seguintes tratamentos: NaOCl 2,5% 10 min.(T1) e 20 min.(T2) e NaOCl 5% 10min.(T3) e 20 min.(T4) acrescido de 2 gotas de tween 20 e após lavadas três vezes em água destilada autoclavada e inoculadas em tubos de ensaios contendo água destilada acrescida de Agar (7g/L), pH 5,8 ± 0,1, previamente esterilizados em autoclave a 120° C e 1.1 Kgf/ cm2. As sementes foram mantidas em sala de cultivo sob iluminação artificial com luz branca do tipo luz do dia (tubos fluorescentes), com fluência de 1,6 W/ m<sup>2</sup>, fotoperíodo diário de 16 horas e temperatura a 25 ± 2 °C. O experimento foi inteiramente casualizado com fatorial 2 X 2 (duas concentrações de NaOCl X dois tempos), com quatro repetições e unidade experimental constituída de 20 tubos/ 1 semente (n=80). As culturas foram avaliadas semanalmente quanto aos seguintes parâmetros: porcentagem de contaminação, oxidação e germinação (emissão de radícula). Ao final de 70 dias foi avaliado o comprimento (cm) da parte aérea.

**Resultados**

Os quatro tratamentos foram igualmente eficientes no controle da contaminação resultando em apenas 1,25% sementes contaminadas. A germinação iniciou a partir do 14º dia (Figura 1).

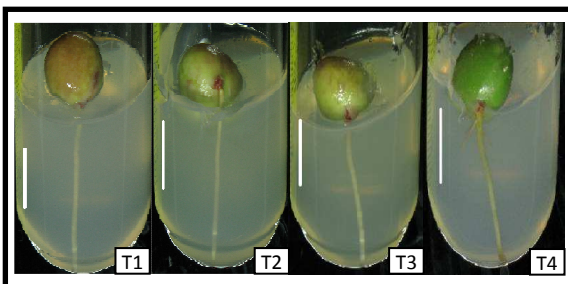


Figura 1: Emissão de radícula após 14 dias de inoculação em água-ágar.

A germinação foi mais rápida inicialmente no tratamento com maior concentração (5%), e a partir 35 dias obteve-se uma maior porcentagem nos tratamentos com maior tempo de exposição ao hipoclorito de sódio (20min), como pode ser visto na tabela 1.

	NaOCl 2,5% 10 min	NaOCl 2,5% 20 min	NaOCl 5% 10 min	NaOCl 5% 20 min
7 dias	0%	0%	0%	0%
14 dias	15%	30%	53,7%	57,5%
21 dias	26,2%	45%	62,5%	72,5%
28 dias	43,7%	58,7%	71,2%	78,7%
35 dias	50%	75%	72,5%	81,2%
50 dias	62,5%	76,2%	76,2%	83,7%
65 dias	66,2%	77,5%	76,2%	83,7%

Tabela1: porcentagem de germinação ao longo de 65 dias.

A maior porcentagem de germinação ao final de 65 dias foi observada no tratamento T4 (83,75%) seguido do T2 (77,5%). O menor percentual foi obtido no tratamento T1 (66,25%) (Figura 2).

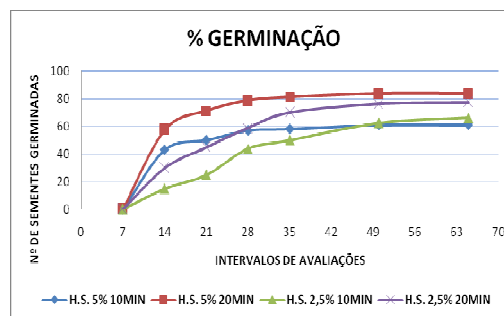


Figura 2: Porcentagem de germinação das sementes de pitanga submetidas aos diferentes tratamentos ao final de 65 dias.

Com relação à oxidação das sementes o menor percentual de sementes oxidadas foi nos tratamentos com maior tempo (20 min)

submetido ao NaOCl (16,2%), e o pior resultado, com maior oxidação, foi nos tratamentos T1 (25%) e T3 (20%), como pode ser visualizado na figura 3.

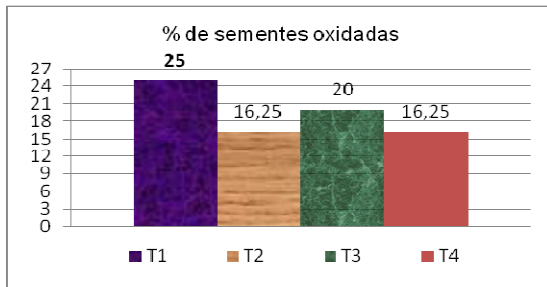


Figura 3: porcentagem de sementes oxidadas após 65 dias de cultivo *in vitro*.

Aos 70 dias o maior comprimento de parte aérea (3,15 cm) foi observado no T1, seguido dos tratamentos 3 e 4 (3,05 cm) e 2,74cm para T2, onde não houve diferença estatística pelo teste de Tukey ao nível de 5%. (Figura 4).

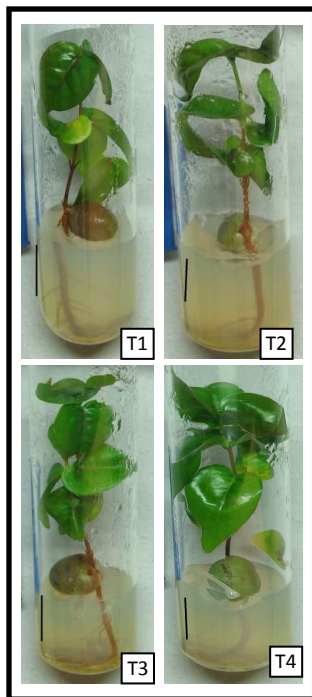


Figura 4: Plântulas desenvolvidas após 70 dias de inoculação em água-ágar.

### Discussão

As plantas germinaram após 14 dias e obtiveram crescimento e desenvolvimento satisfatórios. De acordo com Melo *et al.* (1979), tratamento de sementes com giberelinas e citocininas pode promover a germinação. Neste estudo, observou-se

que meio com água destilada acrescida de Agar (7g/L) foi suficiente para obter mais de 80% de germinação e uniformidade das plântulas *in vitro*. A contaminação foi praticamente nula, Couto *et al.* (2004) testando a desinfestação de sementes de *Swietenia macrophylla*, verificaram 89 % de contaminação quando as sementes não eram submetidas ao tratamento com hipoclorito de sódio. Segundo Corder e Borges Junior (1999), diversos fatores podem afetar o potencial germinativo das sementes e promoverem a formação de plântulas anormais, dentre eles, a presença de microrganismos, especialmente fungos e bactérias. Conforme Couto *et al.* (2004) e Sousa *et al.* (1999) o etanol e os compostos à base de cloro são as substâncias com ação germicida mais utilizadas neste processo e o hipoclorito de sódio ou de cálcio vem mostrando grande eficiência na desinfestação de sementes, eliminando fungos e bactérias, assim como a utilização de fungicidas e bactericidas, promovendo aumento no total de plântulas germinadas a partir de sementes tratadas.

### Conclusão

A partir dos resultados obtidos pode-se concluir que todos os tratamentos foram eficientes na desinfestação de sementes de pitangueira, porém a maior concentração (5%) e tempo (20 min.) propiciaram uma germinação mais rápida em relação a concentração (2,5%) e tempo (10 min.) podendo ter agido na quebra de dormência da semente.

Perspectivas futuras: novos ensaios com meios de diferentes composição.

Pode-se concluir que é possível iniciar a cultura *in vitro* de pitanga a partir de sementes, visto que as plântulas germinadas permanecem uniformes no decorrer do desenvolvimento.

### Referências

- ALVES. E.O. MOTA, J.H.; SOARES, T.S.; VIEIRA, M. C.; SILVA, C.B. Etnobotanical survey and medicinal plants characterization in forest fragments in Dourados-MS. *Ciênc. agrotec., Lavras*, v. 32, n. 2, p. 651-658, mar./abr., 2008;
- BEZERRA, J.E.F.; LEDERMAN, I.E.; SILVA JÚNIOR, J.F. da *et al.* Comportamento da pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) sob irrigação na região do vale

do rio moxotó, Pernambuco. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.26, n.1, p.177-179, 2004.

- BEZERRA, J.E.F.; LEDERMAN, I.E.; FREITAS, E.V. et al. Propagação de genótipos de pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) pelo método de enxertia de garfagem no topo em fenda cheia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.24, n.1, p.160-162, 2002.

- BEZERRA, J.E.F.; SILVA JÚNIOR, J.F. da; LEDERMAN, I.E. **Pitanga (*Eugenia uniflora* L.)**. (Série Frutas Nativas, 1). Jaboticabal: FUNEP, 2000. 30p.

- CORDER, M. P. M.; & BORGES JUNIOR, N. Desinfestação e quebra de dormência de sementes de *Acacia mearnsii* de Will. **Ciência Florestal**, v. 9, n. 2, p. 1-7, 1999.

- COUTO, J. M. F.; OTONI, W. C.; PINHEIRO, A. L.; FONSECA, E. P. 2004. Desinfestação e germinação in vitro de sementes de mogno (*Swietenia macrophylla* King). **Revista Árvore**, Viçosa, v. 28, n.5, p. 633-642.

- FIÚZA, T.S.; SABÓIA-MORAIS, S.M.T.; PAULA, J.R.; TRESVENZOL, L.M.F.; PIMENTA, F.C.. Evaluation of antimicrobial activity of the crude ethanol extract of *Eugenia uniflora* L. leaves **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v. 29, n.3, p. 245-250, 2009.

- LEDERMAN, I.E.; BEZERRA, J.E.F.; CALADO, G. **A pitangueira em Pernambuco**. (IPA. Documentos, 19) Recife, PE: IPA, 1992. 20 p..

- MELO, J. T.; RIBEIRO, J. F; LIMA, V. L. G. F. Germinação de sementes de algumas espécies arbóreas nativas do Cerrado. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.1, p.8-12, 1979.

- MS. **Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS**. Disponível em <portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/RENISUS.pdf >. Acesso 23 de março de 2009. MS. **Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS**. Disponível em <portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/RENISUS.pdf >. Acesso 23 de março de 2009.

- SOUSA, P. B. L.; SANTANA, J. R. F.; CREPALDI, I. C. & LIMA, A. R. 1999. Germination in vitro of seeds of a threatened arboreal specie in the municipal district of Abaíra (BA). **Sitientibus**, n.20, p.89-99.

- VENDRUSCOLO, G.S.; MENTZ, L.A. Estudo da concordância das citações de uso e importância das espécies e famílias utilizadas como medicinais pela comunidade do bairro Ponta Grossa, Porto Alegre, RS, Brasil. **Acta bot. Brás.**, 20(2): 367-382. 2006.