



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA**

**CAMPUS CURITIBANOS**

**JONAS RAFAEL VARGAS**

Influência de Substrato e Dormência Na Germinação De Sementes de *Polygala  
sabulosa* A. W. Bennett

CURITIBANOS, SC

2013

JONAS RAFAEL VARGAS

Influência de Substrato e Dormência Na Germinação De Sementes de *Polygala  
sabulosa* A. W. Bennett

Projeto de conclusão submetido à disciplina de Projetos em Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Catarina – Campus Curitibanos para a obtenção do Grau de Bacharel em Ciências Rurais. Orientadora: Profa. Liliann Kelly Granemann

CURITIBANOS, SC

2013

## Resumo

A *Polygala sabulosa* A. W. Bennet é uma espécie pertencente à família Polygalaceae encontrada na região Sul do país. Essa espécie é muito estudada quanto o seu potencial medicinal, tendo várias pesquisas envolvendo a mesma para obtenção de metabólitos secundários; porém, não são encontrados na literatura dados ou estudos sobre suas características favoráveis a germinação como melhor substrato, se a espécie apresenta dormência ou não e ainda testes revelando o vigor e viabilidade das sementes. Devido a essa ausência de dados o presente projeto tratará de comparar três tipos de substratos (papel-filtro, vermiculita e substrato comercial), concomitante com um teste de quebra de dormência fisiológica através da aplicação de giberilina no processo de germinação assim como realizar com as sementes testes de tetrazólio e de condutividade elétrica para determinar a viabilidade e o vigor das sementes respectivamente. Esperando com os resultados determinar o índice de velocidade de germinação, a porcentagem de germinação, presença ou não de dormência fisiológica e se as sementes coletadas a campo em seu lugar de desenvolvimento natural apresentam ainda viabilidade e vigor; gerando assim dados básicos para fundamentação de um protocolo de germinação para a espécie, permitindo futura criação de banco de germoplasma assim como e melhoramento genético. Os testes ocorrerão em câmara B.O.D e em casa de vegetação no município de Curitibanos- Santa Catarina no Campus Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina.

**Palavras Chaves:** *Polygala sabulosa*, germinação, substrato, dormência, vigor e viabilidade.

## Sumário

1. Introdução.....	5
2. Justificativa.....	7
3. Objetivo geral .....	8
3.1. Objetivos específicos .....	8
4. Referencial Teórico .....	9
4.1. A Família Polygalaceae .....	9
4.2. A Espécie <i>Polygala sabulosa</i> .....	9
4.3. Germinação .....	10
4.4. Curitibaanos .....	14
4.5. Rancho Queimado.....	15
5. Materiais e Métodos .....	15
5.1. Coleta e Preparo da Amostra .....	15
5.2. Quebra de Dormência .....	16
5.3. Teste de Germinação .....	16
5.4. Teste de tetrazólio .....	17
5.5. Teste de Condutividade Elétrica .....	18
6. Cronograma.....	19
7. Orçamento.....	20
8. Resultados Esperados .....	21
8.1. Quebra de Dormência para sementes de <i>Polygala sabulosa</i> .....	21
8.2. Teste de Germinação .....	21
8.3. Teste de Tetrazólio.....	21
8.4. Teste de Condutividade Elétrica .....	21
9. Referências Bibliográficas .....	22

## 1. Introdução

A espécie *Polygala sabulosa* A. W. Bennet pertence à família Polygalaceae. Essa família é encontrada em quase todo o mundo com mais frequência nas regiões tropicais e temperadas não sendo visualizada apenas nas zonas Antártica e Ártica (Paiva 1998, Marques & Peixoto 2007, apud LÜDTKE, 2008). A família Polygalaceae é representada atualmente por 19 gêneros que compreendem cerca de 1300 espécies (LÜDTKE, 2008).

Sobre a *Polygala sabulosa* se sabe que a mesma possui grande potencial medicinal sendo que seus metabolitos secundários agem de maneira antinociceptiva, tripanocida, anticonvulsivante, ansiolítica, neuroprotetora e citotóxica (Ribas et al., 2008; Pizzolatti et al., 2008; Duarte et al., 2008; Franco et al., 2007; Duarte et al., 2007; Meotti et al., 2006; Pizzolatti et al., 2003; Montanher et al., 2002 apud MENDES, 2008). Porém nada se sabe quanto suas características específicas necessárias para germinação, sendo uma planta com alto potencial medicinal, conhecer tais características são de grande importância, pois, o conhecimento de características da germinação pode auxiliar em futuros estudos sobre a espécie, auxiliar na formação de banco de germoplasma, e facilitar o trabalho de melhoramento genético na espécie.

Mediante a falta desses conhecimentos se faz necessário a realização de testes de germinação da espécie. No Brasil, os métodos indicados para a realização do teste de germinação podem ser encontrados no livro Regas de Análise de Sementes do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). As RAS como são chamadas descrevem para várias espécies as características ideais para a germinação, quando porém as RAS não trazem características da espécie ou da família a ser estudada como é o caso da *Polygala sabulosa*, deve-se atentar para as características básicas e mínimas para que o teste de germinação se encaixe nos padrões nacionais e internacionais.

O teste de germinação compreende a coleta das sementes, preparação do lote, padronização do mesmo, análise de pureza, obtenção das amostras de trabalho e realização do teste (RAS, 2009). Dentre esses testes, além do teste de germinação em si, pode-se contar com os testes rápidos para determinar a viabilidade e o vigor das sementes testadas, esses testes são os teste de tetrazólio e o da condutividade elétrica respectivamente (RAS, 2009).

Há fatores que devem ser levados em consideração quando se realiza testes de germinação, entre eles encontram-se os substratos a serem utilizados, a umidade e aeração, temperatura ideal, fotoperíodo, câmeras onde se realizará o teste entre outros (PESKE, ROSENTHAL E ROTA, 2003).

Através de testes de germinação como esses pode-se coletar diferentes dados que podem ser trabalhados de várias maneiras para determinar diferentes parâmetros. Os principais parâmetros são o índice de velocidade de germinação e porcentagem de germinação, que são medidos conforme o número de sementes germinadas por dia que geram plântulas normais e a classificação como plântula normal, se faz de acordo com as Regras de Análise de Sementes.

O seguinte projeto tem como objetivo determinar qual o melhor substrato é melhor para a germinação da espécie, testar a presença ou não de dormência fisiológica através de tratamento com ácido giberélico e determinação da viabilidade e vigor das sementes através de testes como tetrazólio e condutividade elétrica.

## 2. Justificativa

O número de plantas usadas com fins medicinais aumenta a cada dia assim como a descoberta de medicamentos fitoterápicos. De acordo com Rodrigues e Carlini, (2002) fitoterápicos são medicamentos originados exclusivamente de material botânico integral ou seus extratos e que são usados com propósito de tratamento médico.

Segundo a ANVISA,

Todo o medicamento tecnicamente obtido e elaborado, empregando-se, exclusivamente, matérias-primas ativas vegetais com finalidade profilática, curativa ou para fins de diagnóstico, com benefício para o usuário. É caracterizado pelo conhecimento da eficácia e dos riscos de seu uso, assim como pela reprodutibilidade e constância de sua qualidade; é o produto final acabado, embalado e rotulado. Na sua preparação podem ser utilizados adjuvantes farmacêuticos permitidos pela legislação vigente. Não podem estar incluídas substâncias ativas de outras origens, não sendo considerado produto fitoterápico quaisquer substâncias ativas, ainda que de origem vegetal, isoladas ou mesmo suas misturas. (BRASIL, PORTARIA n.6, DE 31 DE JANEIRO DE 1995; VIGILÂNCIA SANITÁRIA 2000).

No Brasil há várias portarias quando se trata da produção de novos medicamentos etnofármacos. E Sheldon *et al.*, (1997) apud Rodrigues e Carlini (2002) destacam a necessidade da criação de programas de conservação que garantam o cultivo de espécies medicinais, visando a exploração e conservação das mesmas.

A *Polygala sabulosa* A. W. Bennet tem eficácia comprovada como antinociceptiva, tripanocida, anticonvulsivante, ansiolítica, neuroprotetora e citotóxica (Ribas et al., 2008; Pizzolatti et al., 2008; Duarte et al., 2008; Franco et al., 2007; Duarte et al., 2007; Meotti et al., 2006; Pizzolatti et al., 2003; Montanher et al., 2002 apud MENDES, 2008),

Além disso a espécie é encontrada em quase todos os lugares do mundo, principalmente nas regiões tropicais e subtropicais; no Brasil é encontrada com maior intensidade no sul do País nos estados no Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná (LÜDTKE,2008).

Características como essas geram a pergunta de porque essa planta que apresenta grande potencial medicinal e se desenvolve de forma natural no estado não é estudada mais profundamente quanto suas características de germinação, para que através desses estudos a *Polygala sabulosa* possa ser introduzida nas propriedades da região de Curitiba de forma a servir futuramente como fonte de renda ao pequeno produtor e ainda como bancos de germoplasma da espécie? Com o intuito de dar o primeiro passo nessa pesquisa esse projeto realizará testes de germinação para determinar a viabilidade e vigor das sementes de maneira a gerar dados básicos para a futura implantação de protocolos e mais pesquisas com a *Polygala sabulosa* A. W. Bennet.

### **3. Objetivo geral**

Avaliar a influência de vermiculita, papel filtro e substrato comum como substrato e tratamento com giberilina como método de quebra de dormência fisiológica, para teste de germinação com *Polygala sabulosa* A. W. Bennett.

#### **3.1. Objetivos específicos**

- Avaliar a influência de vermiculita, papel filtro e substrato comercial na germinação;
- Identificar a existência ou não de dormência fisiológica nas sementes através do tratamento com ácido giberélico;
- Avaliar a necessidade de tratamento das sementes com giberilina antes da semeadura;
- Criar bases iniciais para o estabelecimento de protocolo de germinação;
- Avaliar o índice de velocidade de germinação das sementes;
- Avaliar a porcentagem de germinação das sementes; através da contagem de plântulas normais e anormais;
- Realizar teste de tetrazólio e condutividade elétrica das sementes para determinar sua viabilidade e vigor;



## 4. Referencial Teórico

### 4.1. A Família Polygalaceae

Pertencente à ordem Fabales, a família Poligalaceae é encontrada em quase todos os lugares do mundo, com mais frequência em regiões tropicais e temperadas, não tendo sido visualizada nas zonas Antártica e Ártica (Paiva 1998, Marques & Peixoto 2007, apud LÜDTKE, 2008). Atualmente a família é formada por 19 gêneros e 1300 espécies.

No Brasil a família Poligalaceae é representada por cerca de 240 espécies divididas em sete gêneros, sendo que o gênero com maior número de espécies é o *Polygala* que apresenta sozinho, 110 espécies e 30 variedades. Na região sul do país, que compreende Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, são encontrados os gêneros *Bredemeyera*, *Monnina*, *Polygala* e *Securidaca* sendo que o *Polygala* se destaca com maior número de espécies identificadas (LÜDTKE, 2008).

O gênero *polygala* como já descrito acima lidera em número de espécies. Porém esse gênero não se destaca apenas pelo número de espécies e também pelo volume de estudos realizados quanto ao isolamento de metabólitos uma vez que as espécies desse gênero possuem grande potencial medicinal.

### 4.2. A Espécie *Polygala sabulosa*

A *Polygala sabulosa* A. W. Bennett também é conhecida como Timutu - pinheirinho (MENDES, 2008). Em A Família Poligalaceae no Sul do Brasil Lüdtkke, (2008) descreve a espécie como, formada por subarbustos eretos ou decumbentes de 9 a 46 cm de altura, com caule folioso quadrangular estriado, ou circular na base e quadrangular no ápice, escassamente piloso, com tricomas curtos, com ramificação basal, mediana ou terminal, umbeliforme. As folhas são sesséis, alternas, subcarnosas ou carnosas, os racemos são pedunculados, terminais densifloros, as flores são rosadas ou lilases com sépalas externas glabras, glandulosas e pétalas laterais, com ou sem glândulas; as sementes são pubérulas ou pubescentes, elipsoides, apresentando de 1,2 a 2,2 mm de comprimento com apêndice profundamente bilobado que pode chegar a 1/5 ou ultrapassar a semente 0,22 mm em comprimento.

A *Polygala sabulosa* A. W. Bennett; aponta Lüdtkke, (2008), pode ser encontradas com frequência em lugares úmidos, beiras de banhado, turfeiras, brejos e depressões úmidas

ou ainda em campos limpos, secos que beiram as escarpas dos aparados da serra e estradas de acesso. No Brasil ocorre nos estados de Santa Catarina, Minas Gerais, Rio Grande do Sul, Paraná e São Paulo (Wurdack & Smith 1971, Marques 1988, Bernardi 2000, Marques & Gomes 2002, Lüdtke & Miotto 2004 apud LÜDTKE, 2008). A espécie ainda apresenta característica higrófila e heliófila, é largamente encontrada na “zona dos campos” do planalto meridional catarinense, local onde apresenta grande e expressiva dispersão nos campos úmidos e beira de banhados, junto à vegetação arbustiva ou a vegetação graminácea alta (Wurdack; Smith, 1971 apud MENDES, 2008).

As espécies do gênero *Polygala* tem vasto uso na etnofarmacologia (VIEIRA, 2011).

Quando se trata de *Polygala sabulosa* A. W. Bennett se tem estudos confirmando seu potencial medicinal como antinociceptiva, tripanocida, anticonvulsivante, ansiolítica, neuroprotetora e citotóxica (Ribas et al., 2008; Pizzolatti et al., 2008; Duarte et al., 2008; Franco et al., 2007; Duarte et al., 2007; Meotti et al., 2006; Pizzolatti et al., 2003; Montanher et al., 2002 apud MENDES, 2008)

### 4.3. Germinação

O conceito de germinação difere de acordo com o ponto de vista que se toma. Em termos fisiológicos se entende por germinação o processo que inicia com a embebição de água pela semente e formação e protrusão da raiz primária através do tegumento da planta, porém as Regras de Análises de Sementes discordam e conceituam como germinação a formação da plântula, classificando a germinação de acordo com as plântulas que são geradas, dessa forma sementes que não geram plântulas não germinaram. (FRANZIN; ROVERS, 2013).

A germinação da semente envolve a superação da dormência da semente quando a mesma a apresenta, e a retomada de crescimento pelo embrião, durante a germinação se reinicia a transcrição de genes e a síntese de proteínas; ocorre também grande aumento das taxas respiratórias e metabólicas da semente para que ocorra a transformação do embrião da semente em plântula (PESKE; ROSENTHAL; ROTA, 2003).

Quando se testa a germinação em sementes precisam-se saber alguns conceitos envolvidos na mesma; a viabilidade das sementes é expressa pelo número de sementes presentes em um lote com capacidade de germinar.

O vigor de sementes não é uma propriedade única e mensurável, como a germinação, mas sim um conceito descrevendo vários aspectos de representação no campo (FRANZIN;

ROVERS, 2013). De maneira mais prática o vigor de sementes pode ser descrito quando se compara dois lotes de sementes em condições diferentes e se analisa qual dos lotes apresentou maiores taxas de germinação sob mesmas condições, o lote que apresenta maior taxa de germinação em ambas as condições tem sementes com maior vigor que o outro.

Segundo o RAS, (2009), para que ocorra a germinação é necessário o fornecimento de condições favoráveis como temperatura, umidade, luz e aeração.

Segundo Peske; Rosenthal; Rota, (2003) em Sementes: Fundamentos Técnicos e Científicos descrevem três temperaturas na germinação, temperatura mínima, máxima e ótima, sendo o ótimo para a maioria de espécies a temperatura constante de 20° C ou temperaturas alternadas de 20 – 30° C.

O fotoperíodo da espécie é um fator importante a se considerar durante o teste de germinação, para a espécie *Polygala sabulosa* A. W. Bennett não se encontra na literatura descrição de fotoperíodo ideal para a germinação das suas sementes, Peske; Rosenthal; Rota, (2003) apontem que existem espécies que dependem de luz para a germinação das sementes e espécies que não precisam, assim como existem espécies que não apresentam menores taxas de germinação com ou sem luz, para essas espécies se recomenda a germinação com luz uma vez que se pode assim avaliar problemas nas plântulas como deficiência de clorofila, e ainda pode-se evitar o desenvolvimento de plântulas estioladas ou hialinas que são mais susceptíveis ao ataque que microrganismos.

Uma vez que não se encontra descrições sobre fotoperíodo para a espécie testada, o fotoperíodo usado será fixado em 10 horas.

Outro fator que se deve levar em consideração quando se realiza um teste de germinação é a presença ou não de dormência na semente da espécie testada. A RAS, (2009) descreve dois tipos de dormência de sementes a dormência fisiológica e a dormência física. A dormência física geralmente é observada em sementes maiores onde o embrião apresenta grande parte das reservas necessárias para que ocorra a germinação, porém o tegumento da semente é impermeável devido ação de camadas simples ou duplas de material lignificado. A dormência fisiológica por sua vez tem total relação com o embrião, já que o mesmo apresenta restrições fisiológicas que impedem a formação da raiz primária, quando o embrião não se desenvolve ou ainda ano gera ou gera plântulas anormais (VIVIAN et al., 2008).

No RAS, (2009) são apresentados vários métodos testados e certificados para realizar a quebra das dormência física e fisiológica das sementes para dormência física que é relacionada com a impermeabilidade do tegumento um dos métodos indicados é a embebição da semente em água pelo período de 24 – 48 horas, o teste de germinação deve se iniciar logo

após o período de embebição. Em alguns casos a água onde as sementes devem ser embebida pode sofrer variação de temperatura para fria ou quente. Conforme especificidades da espécie.

Para a quebra da dormência fisiológica um dos métodos indicados pelo RAS, (2009) é o tratamento das sementes com ácido giberélico ( $GA_3$ ). Esse tratamento se baseia no fato de que o embrião precisa produzir giberilina para que ocorra o estímulo de sintetização e secreção de alfa-amilase pelas células de aleurona, que inicia a quebra do amido no endosperma para o fornecimento de energia usada no crescimento e desenvolvimento do embrião em plântula. Sementes com dormência fisiológica muitas vezes podem apresentar dificuldades para germinar devido à insuficiência de giberilina.

O tratamento com ácido giberélico citado na RAS se reduz ao umedecimento do substrato usado para germinação com solução de 0,05% de  $GA_3$  alguma culturas requerem concentrações maiores, assim com outras requerem concentrações menores, na literatura não há descrição de métodos de quebra de dormência para a *Polygala sabulosa* sendo assim fixaremos a concentração da solução de 0,05% para o teste de germinação dessa espécie.

O substrato é parte fundamental em testes de germinação uma vez que são eles que servem como base onde as plântulas desenvolvidas vão lançar e firmar suas raízes, assim como serve de fonte de nutrientes para as mesmas (MELO, BORTOLOZZO E VARGAS, 2013).

Segundo Kanashiro, 1999 apud Júnior et al. (2006) o substrato pode ser formado por matéria orgânica mineral, orgânica ou sintética, com apenas um material ou mistura de diversos materiais que podem ou não ter características desejáveis de qualidade.

A germinação depende muito do substrato, pois cada tipo de substrato apresenta características como aeração, estrutura, capacidade de retenção de água, infestação por patógenos. Diferenças nessas características podem favorecer ou prejudicar a germinação. (JÚNIOR et al., 2006)

O substrato a ser escolhido para a germinação deve ser de fácil disponibilidade e transporte, deve apresentar ausência de agentes patógenos e plantas daninhas, pH adequado, boa textura e estrutura além de ser rico em nutrientes (SILVA et al., 2001) e manter uma proporção adequada entre umidade e aeração (POPINIGIS, 1985 apud JÚNIOR et al., 2006).

Os melhores substratos recomendados variam de acordo com as condições em que se realiza o teste de germinação. Quando se realizado em laboratório em câmaras de germinação os substratos recomendados são segundo Peske; Rosenthal e Rota, (2003), o papel toalha, papel mata-borrão, papel filtro, pano, areia e solo. O solo tem uso limitado nos testes de

germinação por razões de fitossanidade, e quando se utiliza de areia ou solo as sementes não devem ser cobertas apenas comprimidas contra os mesmos.

Quando em campo existem vários substratos disponíveis no mercado com diferentes formulações. Entre eles encontramos a casca de arroz carbonizada que apresenta alta estabilidade física, resistência à decomposição, porém, uma vez que apresenta alta porosidade deve ser misturado com outros substratos para melhor retenção de água. A turfa é um substrato de origem vegetal, com baixo peso, alta capacidade de retenção de água, elevada CTC a pH entre 3,5 a 8,5. A vermiculita é muito utilizada e é um mineral com a estrutura da mica expandida a altas temperaturas; apresenta alta retenção de água, elevada porosidade e baixa densidade, além de alta CTC e pH próximo a 8,0. A perlita tem alta porosidade, retém água em até cinco vezes o seu peso e apresenta pH entre 7,0 a 7,5 e apresenta preço elevado quando comparado com os demais substratos (EMBRAPA UVA E VINHO, 2013).

Ainda são encontrados no mercado vários substratos, os quais são compostos por diferentes materiais como os citados acima e ainda casca de pinus compostada, carvão, espuma fenólica, fibra de coco e linhito. Esses substratos podem ser utilizados em misturas com proporções diversas de acordo com o padrão que cada empresa produtora segue. (MAIORANO, 2003).

Nesse projeto pretende-se utilizar três substratos, sendo eles papel filtro, vermiculita e substrato comercial.

O RAS, (2009) indica que quando se realiza testes de germinação é recomendada, a aplicação de testes como o de tetrazólio e condutividade elétrica das sementes para determinar a viabilidade e vigor das sementes respectivamente.

O teste de tetrazólio é um teste bioquímico no qual se utiliza o indicador incolor 2,3, 5 trifenil cloreto ou brometo de tetrazólio para corar os tecidos vivos da sementes buscando a indicar a viabilidade da mesma, esse teste se baseia na taxa de redução que supostamente ocorre durante a respiração dos tecidos vivos da semente, durante esse processo ocorre liberação de íons de hidrogênio que quando em contato com o tetrazólio fazem com que o mesmo seja reduzido a um composto vermelho, estável e não difusível chamado trifenil formazam (RAS, 2009).

O teste de condutividade elétrica por sua vez ajuda a determinar o vigor das sementes através da integridade do sistema de membranas celulares. Quando mergulhados em água devidamente deionizada, ocorre liberação de solutos citoplasmáticos, a intensidade dessa liberação depende do grau de desorganização das membranas. Quanto maior a quantidade de eletrólitos liberados maior o grau de desorganização celular da membrana, menor a

capacidade da mesma de se regenerar de danos leves ou extensos, e menor o seu vigor e vice versa. (PESKE; ROSENTHAL e ROTA, 2003).

Segundo Peske; Rosenthal e Rota, (2003) a interpretação do teste de germinação consiste em separar e contabilizar as plântulas normais que são capazes de gerar plantas normais em condições favoráveis, das anormais que não são capazes de gerar plântula normal em condições favoráveis de desenvolvimento. A classificação em plântula normal e anormal varia de acordo com as características da família. Para a classificação de plântulas normais e anormais pode se levar em consideração dados como as dimensões da parte aérea e radicular que, por exemplo, deve ser proporcional em plântulas intactas com exceção para certas espécies florestais que apresentam raízes muito compridas em relação com a parte aérea.

O índice de velocidade de germinação ou IVG, outro parâmetro que auxilia na interpretação do teste de germinação é calculado a partir de dados de contagem de plantas germinadas, e tem como objetivo determinar as diferentes velocidades nos tratamentos aplicados (BRASILEIRO; CARVALHO; KARIA, 2008).

A porcentagem de germinação deve ser calculada seguindo os passos estipulados no RAS, (2009) que indica a fórmula matemática usada assim como conceitua o cálculo de porcentagem de germinação, como a proporção de sementes que produzem plântulas normais em condições e período especificados no teste de germinação.

#### **4.4. Curitibaanos**

O município de Curitibaanos está localizado no centro geográfico do estado de Santa Catarina mais precisamente na encosta do planalto catarinense, nas coordenadas de latitude 27°16'58" sul e longitude 50°35'04" oeste. O município conta com uma população de 37748 habitantes e uma área de 949 km<sup>2</sup>.

Situado no Bioma Mata Atlântica, a paisagem predominante é a mata das araucárias. Curitibaanos conta com relevo na maior parte suavemente ondulado e ondulado. O clima da cidade é temperado úmido, apresentando verão fresco e frio predominando na maior parte do ano, o inverno é muito rigoroso com ocorrência de muitas geadas e algumas vezes neve. As temperaturas média da cidade são de 16 a 17° C (SECRETARIA DE ESTADO DE DESENVOLVIMENTO REGIONAL, 2013), chegando a alcançar temperaturas médias nos meses frios de 10,6°C (AGÊNCIA EMBRAPA DE INFORMAÇÃO TECNOLÓGICA,

2013). A primavera é a estação das chuvas. Quando se trata de hidrografia o município está situado na bacia do rio Uruguai e é cortado por seis rios (IBGE, 2013).

#### **4.5. Rancho Queimado**

Apresentando latitude 27°40'21" sul e longitude 49°01'18" oeste, o município de Rancho Queimado se localiza a uma altitude de 810 metros, apresenta população de 2748 habitantes e área de 286432 km<sup>2</sup> (IBGE, 2013). O bioma presente na cidade é a Mata Atlântica sendo encontrado na mesma os ecossistemas, floresta ombrófila mista, ou floresta das araucárias, floresta estacional semidecidual, campos de altitude e matas nebulares. O clima na região é temperado, com chuvas regulares e estações mais relativamente definidas, durante o inverno onde predominam temperaturas frias, normalmente ocorre geadas e em raras ocasiões neva. O verão é ameno e o inverno rigoroso (JARDIM, 2013). A média anual de temperatura segundo Sebrae (2013) é de 10 a 25°C.

Os dois municípios citados apresentam características semelhantes quando se trata de seus relevos, clima, biomas entre outros. Dessa maneira visa-se realizar o teste de germinação com a espécie de *Polygala sabulosa* A. W. Bennett em Curitiba, visto que essa é uma planta encontrada naturalmente no município de Rancho Queimado, para averiguar se a mesma pode se desenvolver e se propagar de maneira sexuada nas condições do município.

### **5. Materiais e Métodos**

#### **5.1. Coleta e Preparo da Amostra**

A coleta das sementes será realizada durante os meses de agosto e setembro. As sementes serão coletadas de uma população natural da espécie na Serra da Boa Vista no município de Rancho Queimado, Santa Catarina, Brasil as margens da rodovia BR 282, e no morro da Antena conforme descrito por Mendes, (2008). Serão coletados os órgãos reprodutivos das plantas e os mesmos serão levados para o laboratório onde se procederá a padronização da amostra de trabalho.

A amostra de trabalho deve ser separada de um lote de sementes, esse lote possui características específicas para cada espécie. O Ras, (2009). Traz especificações sobre como

proceder a obtenção do lote, da amostra média, amostra de trabalho, amostra para análise de pureza.

Uma vez que não se encontra informações sobre esses lotes para a espécie *Polygala sabulosa*, recomenda-se a aplicação de táticas usadas para espécies que apresentem os mesmo tamanhos de sementes. As regras de análise de sementes descreve que para a espécie *Celosia argentea L* a qual apresenta sementes de dimensões muito próximas a da *Polygala sabulosa* deve-se adotar os seguintes valores: para peso máximo do lote de sementes, 5.000 kg; amostra média de no mínimo 10g; análise de pureza, peso mínimo da amostra de 2g. Em um grama de sementes espera-se encontrar aproximadamente 1280 sementes. Ras, (2009), ainda indica que sementes excessivamente pequenas ou excessivamente grandes podem ter a amostra de trabalho baseadas no peso da amostra. A amostra de trabalho deve contar com no mínimo 2500 sementes e apresentar o peso entre 0,1g e 1000g.

Após realizado os pré-testes descritos na Regras para Análise de Sementes. O próximo passo será realizar teste de germinação. Não há literatura sobre os padrões necessários para a germinação de *Polygala sabulosa*. As Ras, (2009), indica que após deve-se tomar aleatoriamente da porção semente pura o total de 400 sementes em 4 repetições de 100, 8 de 50 ou 16 de 25, nesse caso usaremos 4 repetições de 100 sementes.

## **5.2. Quebra de Dormência**

A quebra de dormência se fará através de tratamento com ácido giberélico. O tratamento com giberilina será realizado da seguinte maneira; primeiramente deve-se preparar a solução de 0,05% de giberilina através da dissolução de 500 mg de GA<sub>3</sub> em um litro de água. Depois de preparada a solução os substrato no qual serão semeadas as sementes, deve ser regado com essa solução e só após umedecido deve-se proceder a semeadura. Essa prática se repete para cada repetição. Os substratos que não serão tratados com GA<sub>3</sub> não devem ser regados com a solução.

## **5.3. Teste de Germinação**

O teste de germinação ocorrerá em Biochemical Oxygen Demand (B.O.D.) regulada com temperatura fixa de 25°C e fotoperíodo de 10 horas. O teste será realizado em caixas de acrílico tipo gerbox; como serão quatro repetições de 100 e serão comparados os efeitos de dois substratos em sementes tratadas com ácido giberélico e sementes não tratadas serão



necessárias 16 caixas. O substratos utilizados no teste em B.O.D serão papel filtro e vermiculita. As caixas de acrílico, os substratos, os materiais que serão utilizados no teste de germinação e principalmente a B.O.D, devem ser desinfestados para evitar a contaminação e proliferação de agentes infecciosos no experimento (RAS, 2009)

Simultaneamente o teste de germinação será realizado em casa de vegetação onde o fotoperíodo também é de 10 horas e a temperatura fica em torno de 25°C, há a necessidade de realizar 4 repetições com 100 sementes para cada tratamento e uma vez que são dois substratos e dois tratamentos para quebra de dormência com ácido giberélico são necessárias 8 bandejas de 200 células cada uma. Os substratos utilizados na casa de vegetação serão vermiculita e substrato comercial.

A irrigação ocorrerá sempre que se fizer necessária de maneira a manter os substratos sempre úmidos, porém nunca encharcados.

A coleta de dados será realizada diariamente após a semeadura até o início da germinação e depois a cada três dias afim de determinar o dia de início e fim do teste de germinação para a espécie. Para a contagem de sementes germinadas serão consideradas germinadas as sementes que formarem radícula e parte aérea. Após estabilização da germinação, seguindo a formula descrita nas Regras de Análises de Sementes, será realizada a determinação da porcentagem de germinação que levará em consideração apenas plântulas normais, seguindo as instruções das RAS,(2009) A determinação do índice de velocidade de germinação será calculado através da contagem de sementes germinadas por dia como citado por Miranda et al. (2012). O teste de germinação necessitará de 3200 sementes.

#### **5.4. Teste de tetrazólio**

Para testar a viabilidade das sementes, será realizado o teste de tetrazólio. Não há ocorrência de teste de tetrazólio para a espécie *Polygala sabulosa* sendo assim a concentração da solução de tetrazólio será fixada em 0,5%.

Para o preparo da solução de sal Brometo de 2,3,5-trifenil tetrazólio a 0,5% serão preparadas duas soluções distintas; na primeira ocorre a dissolução de 9,078g de fosfato de potássio (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) em 1000 mL da água destilada, e na segunda ocorre a dissolução de 11,876 g de fosfato monoácido de sódio diidratado (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O) em 1000 mL de água destilada. Depois de preparadas separadamente, as duas soluções são misturadas seguindo a proporção de duas partes da primeira solução para três partes da segunda (ORTIZ, 2013).

Uma vez que não existem estudos preexistentes quanto ao teste de tetrazólio com a espécie estudada, as regras de análise de sementes descrevem o padrão de 4 repetições de 100 sementes para o teste de tetrazólio. Totalizando 400 sementes para o teste de tetrazólio.

### **5.5. Teste de Condutividade Elétrica**

Para determinar o vigor das sementes será realizado o teste da condutividade elétrica.

De acordo com as regras para análise de sementes esse teste pode ser realizado pelo sistema de condutividade de massa (bulk), ou pelo emprego de células individuais. O sistema de condutividade é medido com uso de equipamento condutivímetro, esse aparelho oferece resultados em  $\mu\text{s/cm/g}$ .

Para o teste de condutividade elétrica pelo sistema de massa 4 amostras de 100 sementes devem ficar por 24 horas imersas em água a  $25^{\circ}\text{C}$ . Após essas 24 horas o aparelho, condutivímetros, deve ser calibrado com solução de cloreto de potássio (KCl), a condutividade dessa solução deve ser de  $1,273 \mu\text{s/cm}$  a  $20^{\circ}$ . Após calibrado deve-se proceder uma padronização da água onde as sementes serão depositadas para medir a condutividade, para isso depois de calibrado tem que ser observado se o aparelho está limpo e então medir a condutividade da água. Essa condutividade deve ser de no máximo  $2 \mu\text{s/cm}$  para água deionizada e no máximo  $5 \mu\text{s/cm}$  para água destilada ambas a  $20^{\circ}$  se as águas apresentarem condutividades maiores que as descritas não devem ser utilizadas.

Serão tomadas 4 repetições de 100 sementes, as quais serão pesadas em balança de precisão  $0,0001\text{g}$  e colocadas em copos plásticos contendo  $75\text{ml}$  de água destilada ou deionizada. As leituras serão realizadas de duas em duas horas, em condutivímetro até a estabilização da condutividade. Os valores obtidos para cada material serão expressos em  $\mu\text{s/cm/g}$  de sementes. Método adaptado de Eustáquio, (1999). No total serão necessárias 400 sementes para o teste de condutividade elétrica.



## 7. Orçamento

Tabela 2- Orçamento Detalhado do Projeto

Materiais e Utensílios	Quantidade (unidade)	Valor unidade (R\$)	Total (R\$)
Casa de vegetação Van Der Hoeven	1	R\$ 120.000,00	R\$ 120.000,00
Câmara Incubadora – Tipo B.O.D. - Modelo SP-500	1	R\$ 6.000,00	R\$ 6.000,00
Auto clave vertical linha AV 75 litros	1	R\$ 8.547,90	R\$ 8.547,90
Caixas gerbox 11x11x3,5cm c/ alumínio	40	R\$ 40,30	R\$1.612,00
Placa de Petri de vidro Borosilicato 60x15mm	100	R\$ 3,20	R\$ 320,00
Papel filtro 60x60cm Quadrado	1pac.100unid.	R\$ 435,00	R\$ 435,00
Estereomicroscópio	1 unid.	R\$ 5.300,00	R\$ 5.300,00
Brometo de Tiazolil Azul Tetrazólio 000397HX , em pó	5g	R\$ 445,05	R\$ 2.225,25
Cloreto de sódio 0019032391HX, em pó	1 kg	R\$ 128,61	R\$ 128,61
Álcool 100%	10L	R\$ 16,00	R\$ 160,00
Fosfato de potássio monobásico anidro 000187HX, em pó	500g	R\$ 210,06	R\$ 210,06
Fosfato de sódio 000404HX em pó	500g	R\$ 247,56	R\$ 247,56
Substrato vermiculita	1 sc. 100L	R\$ 50,00	R\$ 50,00
Substrato mecplant	2sc. (25kg)	R\$ 8,00	R\$ 16,00
Bandejas de isopor	8	R\$ 10,00	R\$ 80,00
Tampão fosfato Salino (PBS) 10X concentrado, em pó	197,6g	R\$ 240,77	R\$ 240,77
Kit Historesina marca Leica	1 unid.	R\$ 897,74	R\$ 897,74
Kit Ácido Periódico de Schiff (PAS)	1 unid.	R\$ 750,00	R\$ 750,00
Despesas transporte	-	-	R\$ 1.000,00
Encargos extras	-	-	R\$ 500,00
Total			R\$ 148.720,9

## **8. Resultados Esperados**

### **8.1. Quebra de Dormência para sementes de *Polygala sabulosa***

Espera-se que haja diferença significativa na germinação entre as repetições que receberem tratamento com ácido giberélico e as quais não foram submetidas ao mesmo processo de maneira a propiciar interpretar a existência ou não de dormência fisiológica nas sementes da espécie.

### **8.2. Teste de Germinação**

Deseja-se identificar após o teste qual substrato garante melhores características de germinação a *Polygala sabulosa* assim como através da coleta de dados determinar o índice de velocidade de germinação, a porcentagem de germinação o vigor e a viabilidade das sementes, tanto na casa de vegetação como em laboratório na B.O.D. com o teste ainda pretende-se determinar dados como data inicial de contagem de germinação e data final de coleta de dados. Através do teste de germinação espera-se determinar qual o efeito da temperatura de 20°C e do fotoperíodo de 10 horas na germinação de *Polygala sabulosa* A. W. Bennet. Obtendo-se assim dados com os quais tornam possível a elaboração de metodologia correta para o teste de germinação para a espécie uma vez que a Regras de Análise de Sementes não descreve métodos para *Polygala sabulosa*.

### **8.3. Teste de Tetrazólio**

Com o teste de tetrazólio se pretende confirmar os resultados obtidos no teste de germinação quanto a viabilidade, diferenciando as sementes viáveis das inviáveis e ainda gerar uma metodologia própria e eficaz para o teste para essa espécie já que não há metodologias descritas nas Regras de Análise de sementes.

### **8.4. Teste de Condutividade Elétrica**

Com a realização do teste de condutividade elétrica se pretende descobrir qual o vigor das sementes testadas. Para determinar a capacidade das sementes de formar plântulas normais e saudáveis em diferentes condições. Também criando uma metodologia própria para esse teste com essa espécie uma vez que o RAS, não cita metodologia de teste de condutividade elétrica para a mesma.

## 9. Referências Bibliográficas

AGÊNCIA EMBRAPA DE INFORMAÇÃO TECNOLÓGICA (Brasil). Paulo Ernani Ramalho Carvalho. **ÁRVORE DO CONHECIMENTO Espécies Arbóreas Brasileiras: Clima.** Disponível em: <[http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/especies\\_arboreas\\_brasileiras/arvore/CONT000fx7sbvql02wyiv80u5vcsvr320a46.html](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/especies_arboreas_brasileiras/arvore/CONT000fx7sbvql02wyiv80u5vcsvr320a46.html)>. Acesso em: 24 maio 2013.

BRASIL, PORTARIA n.6, DE 31 DE JANEIRO DE 1995; VIGILÂNCIA SANITÁRIA 2000.

BRASILEIRO, Mara Souza; CARVALHO, Marcelo Ayres; KARIA, Claudio Takao. CORREÇÃO ENTRE PESO DE SEMENTES E VIGOR E VELOCIDADE DE GERMINAÇÃO EM STYLOSANTHES GUIANENSIS (aubl.) Sw. In: SIMPÓSIO NACIONAL CERRADO, 9. 2008, Parlamundi. **Artigo Científico.** Parlamundi: S.n, 2008. p. 1 - 6.

EMBRAPA UVA E VINHO (Brasil). João Dimas Garcia Maia (Ed.). **Produção de Morangos no Sistema Semi-Hidropônico.** Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Morango/MorangoSemiHidropnico/substratos.htm>>. Acesso em: 16 maio 2013.

FRANZIN, Simone Medianeira; ROVERS, Teresinha. **O que é vigor de sementes?** Disponível em: <<http://coral.ufsm.br/sementes/textos/vigor.pdf>>. Acesso em: 09 maio 2013.

IBGE (Brasil). **IBGE Cidades: Curitibaanos.** Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/painel/painel.php?codmun=421430>>. Acesso em: 23 maio 2013.

IBGE (Brasil). **IBGE Cidades: Rancho Queimado.** Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/painel/painel.php?codmun=421430>>. Acesso em: 23 maio 2013.

JARDIM, Saty. **A VEGETAÇÃO DE RANCHO QUEIMADO.** Disponível em: <<http://www.portaldorancho.com.br/colunistas/saty-matos/a-vegetacao-de-rancho-queimado>>. Acesso em: 23 maio 2013.

LÜDTKE, Raquel. **A Família Polygalaceae no Sul do Brasil**. 2008. 277 f. Tese (Doutorado) - Curso de Botânica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

MAIORANO, José Augusto. **UTILIZAÇÃO DE SUBSTRATOS ORGÂNICOS COMERCIAIS NA OBTENÇÃO DE MUDAS MICORRIZADAS DE LIMOEIRO 'CRAVO' EM AMBIENTE PROTEGIDO**. 2003. 73 f. Dissertação (Mestrado) - Instituto Agronômico, Campinas, 2003.

MELO, George Wellington Bastos de; BORTOLOZZO, Adriane Regina; VARGAS, Leandro. **Produção de Morangos no Sistema Semi-Hidropônico**. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Morango/MorangoSemiHidropnico/substratos.htm>>. Acesso em: 10 maio 2013

MENDES, Beatriz Garcia. **Polygala sabulosa A. W. Bennett: obtenção de estilpironas e cumarinas, preparo de análogos e ensaios de atividades biológicas**. 2008. 192 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química, Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO SECRETARIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA (Brasil) (Org.). **Regras para Análise de Sementes**. S.l: S.n, 2009. 399 p.

MIRANDA, Cristiana do Couto et al. Germinação de Sementes de *Anadenanthera peregrina* (L.) Speg. com Diferentes Substratos em Condições Laboratoriais. **Floresta e Ambiente**, Rio de Janeiro, n., p.26-31, 19 jan. 2012.

ORTIZ, Jacqueline. **BIODIVERSIDADE DOS CAMPOS SULINOS E SUAS POTENCIALIDADES: CONSERVAÇÃO E UTILIZAÇÃO DA ESPÉCIE *Trichocline catharinensis* NA REGIÃO DE CURITIBANOS-SC**. 2013. 29 f. Projeto (Bacharel) - Curso de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Catarina, Curitiba, 2013.

PESKE, Silmar Teichert; ROSENTHAL, Mariane D'ávila; ROTA, Gladis Rosane Medeiros (Ed.). **SEMENTES: FUNDAMENTOS CIENTÍFICOS E TECNOLÓGICOS**. Pelotas: S.n, 2003. 415 p.

RODRIGUES, Eliana; CARLINI, Elisaldo L. de Araújo. A Importância dos Levantamentos Etnofarmacológicos no Desenvolvimento de Fitomedicamentos. **Revista Racine**, São Paulo, n. 70, p.30-35, 2002.

SA, Marco Eustáquio de. CONDUCTIVIDADE ELÉTRICA EM SEMENTES DE TOMATE (*Lycopersicon lycopersicum* L.). **Sci. agric.**, Piracicaba, v. 56, n. 1, 1999 . Available from <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-90161999000100003&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-90161999000100003&lng=en&nrm=iso)>. access on 11 June 2013. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-90161999000100003>.

SEBRAE (Santa Catarina). **SANTA CATARINA EM NÚMEROS: Rancho Queimado**. Disponível em: <<http://www.sebrae-sc.com.br/scemnumero/arquivo/Rancho-Queimado.pdf>>. Acesso em: 24 maio 2013

SECRETARIA DE ESTADO DE DESENVOLVIMENTO REGIONAL (Santa Catarina). Murilo Collaço (Org.). **CURITIBANOS: Caracterização Regional**. Disponível em: <<http://cepa.epagri.sc.gov.br/Publicacoes/diagnostico/CURITIBANOS.pdf>>. Acesso em: 24 maio 2013.

SILVA, R. P. da; PEIXOTO, J. R.; JUNQUEIRA, N. T. V. Influência de diversos substratos no desenvolvimento de muda de maracujazeiro-azedo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg). **Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal**, v. 23, n. 2, p. 377-381, 2001.

VIEIRA, Roberto Ferreira. **AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIDEPRESSIVO DE DERIVADOS SEMISSINTÉTICOS DA ESCOPOLETINA OBTIDA DA *Polygala sabulosa***. 2011. 78 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Neurociências, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2011. Disponível em: <<http://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/95703/290986.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 17 maio 2013.

VIVIAN, R et al. Dormência em sementes de plantas daninhas como mecanismo de sobrevivência: Breve revisão. **Planta Daninha, Viosa**, v. 26, n. 3, p.695-706, 05 mar. 2008.

WAGNER JÚNIOR, Américo et al. INFLUÊNCIA DO SUBSTRATO NA GERMINAÇÃO E DESENVOLVIMENTO INICIAL DE PLANTAS DE MARACUJAZEIRO AMARELO (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg). **Ciência Agrotécnica, Lavras**, v. 30, n. 4, p.643-647, 1 ago. 2006.