



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ

PRÓ-REITORIA DE GRADUAÇÃO, PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE BOLSAS DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

PIBIC - 2010/11

***PADRONIZAÇÃO DO TESTE DE GERMINAÇÃO E DO TESTE DE
TETRAZÓLIO PARA MYRCIANTHES PUNGENS (O. BERG.) D. LEGRAND***

PROJETO DE ORIGEM:

***PROPAGAÇÃO DE ESPÉCIES FRUTÍFERAS NATIVAS DA REGIÃO OESTE
DO PARANÁ***

PLANO DE TRABALHO DE PESQUISA DO ALUNO

PIBIC 2010 - 2011

**Curitiba
Abril de 2010**

SUMÁRIO

1. Introdução e contextualização	1
2. Objetivo	4
3. roteiro de atividades do aluno	4
4. Cronograma	Erro! Indicador não definido.

1. INTRODUÇÃO E CONTEXTUALIZAÇÃO

O desenvolvimento urbano, agrícola e industrial, relacionado com a intervenção do homem vem acarretando inúmeras alterações ecológicas no ambiente, modificando a paisagem, diminuindo a biodiversidade dos ecossistemas e levando inúmeras espécies da flora e da fauna em extinção (KAGEYAMA; GÁNDARA; OLIVEIRA, 2008).

Com o objetivo de diminuir o impacto causado por esses desequilíbrios ambientais, uma das atitudes tomadas pelos órgãos públicos, foi à vigência da lei que submete o dever de reservar uma área da propriedade para a preservação de espécies nativas, consideradas importantes para o equilíbrio ambiental (SPVS, 1996).

A recuperação de matas nativas estabelece interações entre a fauna e a flora. Os animais são os responsáveis, através da dispersão de sementes (conhecida como zoocoria), pela variabilidade de espécies e pelo restabelecimento de áreas degradadas (SILVA; KAGEYAMA, 2008).

As frutíferas nativas permitem o mutualismo entre plantas e animais, porque os atraem através de seus frutos, permitindo abrigar e suprir as necessidades da fauna, além de reduzir a proliferação de pragas e doenças relacionadas à agricultura, oferecendo também proteção ao solo e a água (CARVALHO, 2009).

Embora as frutíferas auxiliem na recuperação destas áreas, e possam se destacar com importância no mercado e no manejo sustentável, poucos são os exemplares destas espécies encontrados na região oeste do Paraná. Contudo, algumas ainda encontradas, podem apresentar grande utilidade para o produtor rural, como é o caso dos exemplares da família Myrtaceae (BLUM, OLIVEIRA, 2009).

Segundo Souza e Lorenzi (2008), esta família seria uma das mais comuns da flora brasileira, que reúne aproximadamente 70 gêneros e 2400 espécies. Várias espécies frutíferas pertencem a esta família, mas são pouco estudadas, sendo vistas apenas como plantas silvestres e com pouco uso comercial.

Entre a infinidade de espécies pertencentes a esta família, destaca-se o guabijú *Myrcianthes pungens* (O.Berg.) D.Legrand, característico das florestas semidecíduas, sendo encontrado desde o estado de São Paulo até o norte do Uruguai, também na Bolívia e Argentina. Considerada uma planta de porte médio a grande atingindo cerca de até 20 m de altura, pode ser utilizada na ornamentação, arborização urbana e rural (LORENZI, 2002).

Segundo estudos realizados com o gênero *Myrcianthes*, SANTAROSA et al., (2008) relata que os frutos desta espécie podem ser utilizados para o consumo *in natura* ou, industrializados na forma de doces em pastas, cristalizados ou geléias.

Além de produzir frutos, os quais são de tamanho pequeno (1,5 a 2,0 cm) apresentam cor escura, com característica morfológica arredondada e pedúnculo longo, o guabijú também é uma planta melífera e apresenta características relacionadas à baixa suscetibilidade a doenças e pragas. O florescimento ocorre entre outubro e novembro, sendo seus frutos produzidos entre janeiro e fevereiro (CARVALHO, 2009). Suas sementes foram classificadas por Santos et al. (2004), como recalcitrantes, com 68% de umidade.

As sementes, em condições ambientais favoráveis, possuem um período de vida, ou seja, podem suportar a desidratação por um curto ou longo período de tempo. A semente recalcitrante é aquela que apresenta sensibilidade à perda de água e quando liberadas em ambientes úmidos e temperatura ótima, germinam rapidamente. Isso representa uma vantagem com relação à competição entre outras espécies (MARCOS FILHO, 2005).

Para a produção de mudas por sementes é necessária a padronização das metodologias adotadas visando melhorar a qualidade dos resultados obtidos. Essa padronização deve ocorrer desde a análise do lote de sementes utilizado (SANTOS; AGUIAR, 2000), e por isso o aperfeiçoamento do teste de germinação é importante, determinando o substrato, temperatura e luminosidade ideais para cada espécie. Para que a germinação ocorra de forma ideal para cada espécie, é levado em consideração fatores internos e externos. Para fatores internos, pode

oser citada a qualidade da semente. Já para fatores externos, as principais condições são temperatura, luminosidade e substrato (FACHINELLO et al., 2005).

A luminosidade é importante para o desenvolvimento da planta, indicando a atuação do ambiente em relação ao processo germinativo de cada espécie (KERBAUY, 2009).

O fitocromo é um pigmento presente no citoplasma das células de eixo embrionário, que em concentrações suficientes de luminosidade ativa a germinação através da síntese de hormônio, controlando a respiração, a permeabilidade dos tegumentos e o metabolismo dos lipídeos da semente (MARCOS FILHO, 2005).

O substrato é importante na germinação, pois fornece quantidades ideais de água e oxigênio para cada tipo de sementes (SILVA; AGUIAR, 2004; MACHADO et al., 2002). A escolha do substrato depende do tamanho da semente e o seu grau de infestação por agentes patogênicos que pode ajudar ou prejudicar a germinação.

Para avaliar a qualidade da semente de forma mais rápida, o teste de tetrazólio é o mais indicado, pois agiliza os procedimentos para a produção de mudas (PINTO et. al, 2008).

Este teste é caracterizado pela ação da enzima desidrogenase que é responsável por catalisar reações respiratórias, onde reduz o sal de tetrazólio nos tecidos vivos resultando na formação de um composto vermelho conhecido por trifetilformazan, indicando assim a viabilidade do embrião (FRANÇA NETO et al., 1998).

Estudos com florestais nativas tais como Ferreira et al.,(2004), Fogaça et al.,(2006) e Pinto et al., (2008) revelam que o teste do tetrazólio é o mais indicado pois, além de ser um procedimento relativamente rápido e de indicar a qualidade da semente, possibilita a verificação de possíveis danos causados ao embrião, como ação de patógenos, umidade, danos mecânicos, a temperatura, entre outros.

2. OBJETIVO

Verificar o substrato, a luminosidade e qual a temperatura ideal na germinação de sementes de (*Myrcianthes pungens* (O.Berg.) D.Legrand), assim como padronizar o teste de tetrazólio para verificar a viabilidade em um curto espaço de tempo.

3. ROTEIRO DE ATIVIDADES DO ALUNO

O experimento será realizado no laboratório de Biotecnologia de sementes da Pontifícia Universidade Católica do Paraná – Campus Toledo, no período de agosto de 2010 a julho de 2011. Serão coletados frutos na região oeste do Paraná nos meses de janeiro a fevereiro de 2011, época de frutificação. Amostras de folhas e flores serão coletadas e herborizadas para identificação botânica.

Após a coleta, as sementes serão beneficiadas com o auxílio de lavagem em água corrente sob peneira. Em seguida serão submetidos ao teste de germinação.

No teste de germinação, serão testados os substratos vermiculita, papel germiteste e areia, à temperatura de 20°C a 30°C e alternada entre 15°C–30°C, sendo 10 horas de luz e 14 horas de escuro. Serão utilizadas 100 sementes divididas em quatro amostras, com 25 sementes dispostas em gerbox e acondicionadas em câmara de germinação do tipo BOD.

Paralelamente, as sementes serão submetidas à avaliação da curva de embebição, onde quatro repetições de 5g de sementes serão colocadas para embeber em caixas gerbox, entre três folhas de germiteste saturados com água destilada. As amostras serão acondicionadas na BOD regulados na temperatura alternada de 30-20°C, com 10 horas de luz a 30°C, seguidas de 14 horas de escuro a 20°C (TONETTI, DAVIDE, AMARAL DA SILVA, 2006). A cada duas

horas as sementes serão removidas dos gerbox e pesadas em balança analítica até serem detectadas as fases I, II e III de embebição.

Para o teste de germinação a avaliação será realizada por meio da contagem diária das sementes germinadas até a estabilização da germinação, considerando sementes com raiz igual ou maior de 2 mm (HADAS, 1976), obtendo a porcentagem de germinação, também será determinado o tempo médio de germinação (t) e velocidade média de germinação (v), calculados segundo Labouriau (1983). Para a curva de embebição os resultados serão expressos em porcentagem de aumento de peso, em relação ao peso da matéria fresca inicial.

O teste de germinação será determinado com arranjo fatorial, sendo 3 diferentes substratos para diferentes condições de luminosidade (com luz e sem luz), testando a temperatura ideal constante e alternada, sendo 4 repetições de 25 sementes por unidade experimental, para cada tratamento.

Será usado o teste de Bartlett para testar as variâncias dos tratamentos quando à homogeneidade e, as que se mostrarem homogêneas, serão submetidas à análise de variância (teste F) e, pelo teste de Tukey, suas médias serão comparadas em nível de 5% de probabilidade.

O mesmo lote de sementes será utilizado para o teste do tetrazólio, quando as sementes serão submetidas aos seguintes pré-tratamentos: controle, escarificação mecânica (lixa nº 80) seguida por 24 horas de embebição e escarificação mecânica (lixa nº 80) seguida por 48 horas de embebição. Decorrido as preparações descritas acima, as sementes serão imersas em solução de 2,3,5 Trifenil Cloreto de Tetrazólio por 9 e 11 horas nas concentrações de 0,50; 0,75 ou 1,00%, em câmara BOD a 30°C, no escuro (BRASIL, 2009).

Após a finalização da coloração, as sementes serão lavadas em água corrente e mantidas submersas até o momento da análise. As sementes serão seccionadas longitudinalmente, com o cuidado para não lesionar o embrião.

O teste de tetrazólio será avaliado com ajuda de um microscópio estereoscópico, onde poderão ser observadas as estruturas das sementes, depois de cortadas longitudinalmente com auxílio de estilete. A viabilidade das sementes será determinada segundo as classes descritas por Fogaça, et. al. (2006).

4. CRONOGRAMA

Atividades	2010					2011						
	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul
Rev. Bibliográfica	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Localização e seleção de outras matrizes	X	X	X	X	X	X	X					
Coleta de sementes e beneficiamento						X	X					
Curva de embebição						X	X					
Teste de germinação							X	X	X			
Teste de tetrazólio							X	X	X			
Análise e interpretação dos resultados				X	X						X	X
Publicação do projeto relatório						X						X