

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA

CARACTERIZAÇÃO DAS SEMENTES E PROPAGAÇÃO SEXUADA DE
Hypericum caprifoliatum Cham. & Schlecht. (CLUSIACEAE).

Rosemarí Driemeier Kreimeier
Engenheira Agrônoma (UDESC)

Dissertação apresentada como um dos
requisitos à obtenção do Grau de
Mestre em Fitotecnia
Área de concentração Horticultura

Porto Alegre – RS, Brasil Fevereiro, 2005.

Aos meus queridos:
Renato, Felipe e Augusto
com carinho e admiração.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela Sua palavra e por ser fonte única de vida e amor.

À Prof^ª. Dr.^a Ingrid Bergman Inchausti de Barros, pelo incentivo, orientação e amizade.

À Prof^ª. Dr.^a Lúcia Brandão Franke, pela co-orientação.

Ao Prof^º. Dr. José Maria Wiest, pelas sugestões no estudo da planta.

Aos colegas Itamar, Rodrigo, Francisco, Sergiomar, Anderson e demais colegas da pós-graduação, pelo estudo de estatística e outros auxílios.

Aos colegas, professores e funcionários do Departamento de Horticultura e Silvicultura (DHS), pela excelente convivência.

À CAPES pela bolsa de estudos.

Ao Senhor Hércio Leonhard e família, que disponibilizou sua propriedade para fazer as coletas necessárias.

À CERTEL (Felipe), pelo georreferenciamento.

À Feltrin Sementes, pela doação das sementes de *Hypericum perforatum* "erva-de-são-joão".

Aos bolsistas Rodrigo, Gustavo e Aline, pelo auxílio nos experimentos.

As amigas Elaine Mayer e Iolanda H. Gräbin, pela amizade.

Aos pais, pelo exemplo de vida.

Ao irmão David e Rosane, pelo apoio e moradia.

Ao José Astor e Sandra Roth, por cuidarem da casa e filhos, na minha ausência.

À cunhada Márcia pelo auxílio nas correções de português.

Ao filho Augusto (três anos), por abanar alegremente na hora da saída.

Ao filho Felipe (10 anos), por sempre me telefonar.

Ao esposo Renato, pelo incentivo, amor e apoio emocional.

E a todas as demais pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

CARACTERIZAÇÃO DAS SEMENTES E PROPAGAÇÃO SEXUADA DE *Hypericum caprifoliatum* Cham. & Schlecht. (CLUSIACEAE).¹

Autora: Rosemarí Driemeier-Kreimeier

Orientadora: Prof^a Dr^a Ingrid Bergman Inchausti de Barros

Co-orientadora: Prof^a Dr^a Lúcia Brandão Franke

RESUMO

A espécie *Hypericum caprifoliatum* é nativa do sul do Brasil. Devido a suas propriedades fitoterápicas é importante estabelecer seu cultivo e evitar sua exploração de forma extrativista. Os objetivos do trabalho foi caracterizar as sementes, avaliar a germinação, comparada à *Hypericum perforatum* e a sua propagação sexuada. Os experimentos foram conduzidos nos Departamentos de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia e no de Horticultura e Silvicultura da Faculdade de Agronomia da UFRGS. Os estudos foram feitos com um lote de sementes de *H. caprifoliatum* obtido em Teutônia-RS, e um lote comercial de *H. perforatum* e incluíram: caracterização das sementes de *H. caprifoliatum* (peso de mil sementes - PMS, cor, tamanho); comparação da germinação com *H. perforatum*, em BOD e sobre papel, aos 34 dias, quanto à necessidade de luz (sem luz - 7 e 21 dias); tratamentos para superação de dormência (KNO₃ - 0,2%, ácido giberélico - 0,5g/l, imersão em água à 70°C - 15 minutos); temperatura para teste de germinação em meio ágar-água - 6g/l (20°C, 25°C, 30°C e 20 - 30°C); emergência de plântulas aos 30 e 52 dias sob cultivo protegido e BOD, utilizando substrato comercial, sob diferentes temperaturas (20 - 30°C, 25°C, 30°C); comparação do cultivo protegido e condições de campo para obtenção de mudas. Foram obtidos os seguintes resultados: As sementes apresentam PMS de 0,0205g, cor parda e 0,4 mm de comprimento. A germinação aos 34 dias com luz, foi 18%, e em *H. perforatum* 57 %; sem luz até 21 dias, foi 15% e, em *H. perforatum*, 55% com plântulas estioladas. A superação de dormência resultou em: testemunha 9%, KNO₃ (0,2%) - 1%, ácido giberélico - 26%, água (70°C - 15 minutos) - 0%. A germinação em meio ágar-água, aos 60 dias: 20°C 64%, 20-30°C - 86%, 25°C - 18% e 30°C 17%. A emergência (%) de plântulas em cultivo protegido, aos 30 dias, foi 33% e, em BOD: 20-30°C - 18%, 25°C - 36% e 30°C - 5%. A alteração da temperatura 30°C para 20°C, mantendo os outros tratamentos resultou, na contagem aos 52 dias: 20-30°C - 18%, 25°C - 42 % e 20°C - 29%. Mudas mais vigorosas foram obtidas em condições de campo. Os resultados indicam necessidade de luz, superação de dormência e temperatura inferior à 25°C para germinação de *H. caprifoliatum*, sendo possível sua propagação sexuada.

¹ Dissertação de mestrado em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS, Brasil. (64 p.) Fevereiro, 2005.

SEED CHARACTERIZATION AND SEXUATED PROPAGATION OF *Hypericum caprifoliatum* Cham. & Schlecht. (CLUSIACEAE).²

Author: Rosemarí Driemeier-Kreimeier

Adviser: Prof^a Dr^a Ingrid Bergman Inchausti de Barros

Co-Adviser: Prof^a Dr^a Lúcia Brandão Franke

ABSTRACT

Hypericum caprifoliatum is a native plant of southern Brazil. Due to its phytotherapeutic properties it is important to work on establishing its cultivation, avoiding the plant extractivism. The aims of this study were to characterize the seeds of *Hypericum caprifoliatum*, to evaluate its germination process in comparison with the germination of *Hypericum perforatum*, and to assess the use of its sexuited propagation. The experiments were conducted in the Departamentos de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia and in the Horticultura e Silvicultura of the Faculdade de Agronomia of UFRGS. Our analysis were performed on both, a lot of *H. caprifoliatum* seeds obtained from Teutônia-RS, and a commercial lot of *H. caprifoliatum* seeds and included: the characterization of the *H. caprifoliatum* seeds (weight of a thousand seeds - PMS, color, size); comparisons between the germination processes of *H. perforatum*, and *H. caprifoliatum*, in BOD and on paper, at 34 days, measuring the necessity for lighting (without light - 7 and 21 days); treatments for to outdo dormancy (KNO₃ - 0,2%, Giberelic Acid - 0,5g/l, immersion in water at 70°C - 15 minutes); temperature testing for germination in agar-water - 6g/l (20°C, 25°C, 30°C and 20-30°C); emergence of seedlings at 30 and 52 days at protected cultivation and BOD, using commercial substrate under different temperatures (20 - 3)°C, 25°C, 30°C); and evaluation of protected cultivation and the field conditions for obtaining seedlings. Characteristics of seeds were 0,0205g (WTS), brown color and 0,4 mm length. The germination at 34 days under light exposure was 18% for *H. caprifoliatum* compared with 57% for *H. perforatum*. The germination up to 21 days without lighting was 15 % for *H. caprifoliatum* and 55% with estiolated seedlings. The superation of dormancy resulted in 9% for the witness group, 1% for KNO₃ (0,2%), 26% for giberelic acid , and 0% for water (70°C - 15 minutes). The germination in the means agar-water, at 60 days was 64% at 20°C, 86% between 20-30°C and 18% at 25°C and 17% at 30°C. The percentage of seedlings emergence under protected cultivation at 30 days was 33% and in BOD was 18% between 20-30°C, 36% at 25°C and 5% at 30°C. Changing the temperature from 30°C to 20°C, in maintenance of other treatments the results at 52 days were 18% between 20-30°C, 42% at 25°C, 29% at 20°C. More vigorous seedlings were obtained in field conditions. The results indicate that lighting, dormancy outdo and a temperature inferior to 25°C are associated with a superior percentage of *H. caprifoliatum*, germination including for its sexuited propagation.

² Master of Science dissertation in Agronomy, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS, Brazil. (64 p.) February, 2005.

SUMÁRIO

	Página
CAPÍTULO I	1
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
1. 1. Importância sócio-econômica das plantas medicinais.....	1
1.2. Importância da qualidade e padronização das plantas medicinais	2
1. 3. O gênero <i>Hypericum</i>	3
1. 4. <i>Hypericum caprifoliatum</i> Chamisso et Schlechtendal, orelha-de-gato	5
1.5. Equívoco quanto a nomenclatura de <i>Hypericum caprifoliatum</i> :	6
CAPÍTULO II	11
2. CARACTERIZAÇÃO E FENOLOGIA DAS SEMENTES DE <i>Hypericum caprifoliatum</i> Cham. & Schlecht (Clusiaceae).	11
2.1. Introdução	11
2. 2. Material e Métodos.....	13
2. 3. Resultados e Discussão.....	15
2. 4. Conclusões	20
CAPÍTULO III	21
3. GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE <i>Hypericum caprifoliatum</i> Cham. & Schlecht. (CLUSIACEAE) SOB DIFERENTES CONDIÇÕES DE LUZ, SUPERADORES DE DORMÊNCIA E TEMPERATURA.....	21
3.1. Introdução	21
3. 2. Material e Métodos.....	25
3. 3. Resultados e Discussão.....	29
3. 4. Conclusões	40
CAPÍTULO IV.....	41

4. EMERGÊNCIA DE <i>Hypericum caprifoliatum</i> Cham. & Schlecht. (CLUSIACEAE) EM SUBSTRATO COMERCIAL.	41
4. 1. Introdução	41
4. 2. Material e Métodos	42
4. 3. Resultados e Discussão	44
4. 4. Conclusões	48
CAPÍTULO V	50
5. DESENVOLVIMENTO DE PROTOCOLO PARA PRODUÇÃO DE MUDAS DE <i>Hypericum caprifoliatum</i> Cham & Schlecht. (CLUSIACEAE).	50
5.1. Introdução	50
5. 2. Material e Métodos	51
5. 3. Resultados e Discussão	52
CAPÍTULO VI	56
CAPÍTULO VII	57
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	57
CAPÍTULO VIII	58
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58
CAPÍTULO IX	63
9. APÊNDICES	63

RELAÇÃO DE TABELAS

- TABELA 1. Número médio de sementes por fruto de *Hypericum caprifoliatum*, de uma amostra de sete frutos coletados em Westfália, RS. Porto Alegre 2004. 18
- TABELA 2. Peso de mil sementes do lote de sementes de *Hypericum caprifoliatum* coletado em Westfália, RS. Porto Alegre, 2004. 18
- TABELA 3 - Médias de porcentagem de germinação de sementes de *Hypericum perforatum* e *Hypericum caprifoliatum*, avaliadas aos sete, 21 e 34 dias, em presença e ausência de luz até sete dias e ausência de luz até 21 dias. Porto Alegre, 2004. 30
- TABELA 4. Viabilidade de sementes de *Hypericum caprifoliatum* segundo o teste de germinação (%) e teste de tetrazólio (tz) (%) de sementes não germinadas em quatro tratamentos de superação de dormência. Porto Alegre 2004. 35
- TABELA 5. Porcentagem de germinação de *Hypericum caprifoliatum* em ágar-água sob diferentes temperaturas aos 29 dias e 60 dias. Porto Alegre 2004. 37
- TABELA 6. Emergência de plântulas de *Hypericum caprifoliatum* em substrato comercial sob cultivo protegido. Porto Alegre, 2004. 45
- TABELA 7 Porcentagem de emergência de *Hypericum caprifoliatum* em substrato comercial, sob diferentes temperaturas em duas contagens, com modificação de uma das temperaturas na segunda contagem. Porto Alegre 2004. 47
- TABELA 8. Etapas e duração, em dias, para a produção de mudas de *Hypericum caprifoliatum*, em condições de cultivo protegido e a céu aberto. Porto Alegre 2004. 53

RELAÇÃO DE FIGURAS

- FIGURA 1. A - *Hypericum connatum*; B – *Hypericum caprifoliatum* Cham. & Schlecht. (Flora Illustrada Catarinense, 1980).7
- FIGURA 2. Distribuição de *Hypericum caprifoliatum* Cham. & Schlecht. no Rio Grande do Sul, segundo Herbário ICN. Janeiro de 2005.8
- FIGURA 3. Planta de *Hypericum caprifoliatum* Cham. & Schlecht. em floração. Janeiro 2005.9
- FIGURA 4. Fenologia do florescimento de *Hypericum caprifoliatum* A - Botões florais um dia antes da antese, B - Flores em antese, C - Flor senescendo ao final da antese D - Flor em processo de frutificação um dia após a antese. ...16
- FIGURA 5. Desenvolvimento de fruto de *Hypericum caprifoliatum* A - Ramo com frutos em diversos estágios, B - Frutos fisiologicamente maduros, C - Frutos deiscentes, D - Fruto cujas sementes já caíram.17
- FIGURA 6. A - Sementes de *Hypericum caprifoliatum* Cham & Schlecth e B - Sementes de *Hypericum perforatum* L. Feltrin Sementes. Janeiro de 2005. ...20
- FIGURA 7 Teste de Viabilidade de Sementes de *Hypericum caprifoliatum* remanescentes de teste de germinação: A - plântulas de *H. caprifoliatum* sobre papel; B - Sementes de *H. caprifoliatum* viáveis pelo teste de tetrazólio; C - Sementes de *H. caprifoliatum* não viáveis pelo teste de tetrazólio. Porto Alegre RS.32
- FIGURA 8. Porcentagem de sementes viáveis e inviáveis de *Hypericum caprifoliatum*, determinada pelo teste de tetrazólio, em sementes remanescentes de teste de germinação, em presença de luz (A), ausência de luz até sete dias (B) e ausência de luz até 21 dias (C). Porto Alegre, 2004.33
- FIGURA 9. Porcentagem de germinação de sementes de *Hypericum caprifoliatum* com diferentes tratamentos para superação de dormência. Porto Alegre, 2004. Médias seguidas de letra distinta diferem significativamente pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$).34
- FIGURA 10. A - Plântulas saudias de *Hypericum caprifoliatum* com 38 dias de germinação, B - Hifas do fungo *Aspergillus niger* e C - Picnídio de fungo *Phyllosticta* sp.39
- FIGURA 11. Protocolo de produção de mudas de *Hypericum caprifoliatum* a céu aberto. A - Plântulas em sementeira, B - Plântulas transplantadas para embalagem definitiva e C - Mudas prontas aos 205 dias.54

FIGURA 12. Protocolo de produção de mudas de *Hypericum caprifoliatum* em cultivo protegido. A - Plântulas em sementeira, B - Plântulas transplantadas para bandeja multicelular, C - Mudas transplantadas para embalagem definitiva e D - Mudas prontas aos 295 dias.54

CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO GERAL

1. 1. Importância sócio-econômica das plantas medicinais

No Brasil, o crescimento do mercado de medicamentos fitoterápicos é da ordem de 15% ao ano, enquanto o crescimento anual do mercado de medicamentos sintéticos gira em torno de 3 a 4%. O setor movimenta um milhão de reais por ano e emprega 100 mil pessoas. Como se investe pouco em pesquisas com plantas do país, cerca de 80% dos fitoterápicos registrados no Brasil são de plantas estrangeiras (Abifito, 2001).

Estima-se que o número de espécies vegetais superiores que foram descritas varia de 250.000 a 500.000; cerca de 5% têm sido estudadas fitoquimicamente e uma porcentagem menor, avaliada sob os aspectos biológicos. No Brasil, com 30% das florestas tropicais do planeta, existem entre 40 mil e 200 mil espécies vegetais, das quais em torno de 10 mil são medicinais. Atualmente, apenas 119 substâncias derivadas de plantas usadas para fins medicinais são obtidas de cerca de 90 espécies. Desses 119 compostos químicos, 74% têm efeito comparável ao das plantas na medicina popular (Castro et al., 2004).

Os trabalhos de pesquisa com plantas medicinais, normalmente, originam medicamentos em menor tempo, com custo muitas vezes inferior e,

conseqüentemente, mais acessíveis à população, que em geral, tem poucas condições financeiras para arcar com custos elevados da aquisição de medicamentos que possam ser utilizados como parte do atendimento das necessidades primárias de saúde. Por esses motivos ou pela deficiência da rede pública de assistência primária de saúde, cerca de 80% da população brasileira não tem acesso aos medicamentos ditos essenciais (Plantas, 2004).

1.2. Importância da qualidade e padronização das plantas medicinais

Através do cultivo de plantas medicinais e condimentares, é possível aumentar a disponibilidade de matéria prima, controlar a flutuação na oferta, controlar a qualidade, diminuir o extrativismo, evitar adulterações, fazer a correta identificação botânica e implementar o melhoramento genético. A falta de padronização da matéria-prima tem, muitas vezes, dificultada a expansão do uso de plantas medicinais, em larga escala. Há poucos cultivos racionais de plantas nativas, sendo grande parte da matéria-prima oriunda do extrativismo (Corrêa Júnior et al., 1994).

Na obtenção da matéria-prima, as técnicas de propagação e cultivo das espécies selecionadas devem atender ao objetivo de aumentar a produção de biomassa/área, sem comprometer o valor terapêutico da planta (Castro et al., 2004).

Por outro lado, o potencial fitoterápico da droga vegetal está definido ao sair da lavoura, não sendo possível melhorá-lo pelo beneficiamento, podendo apenas modificar aspecto e formas de apresentação do produto. Assim, o sucesso do uso das plantas medicinais, tem início na identificação correta da espécie e, posteriormente, no seu cultivo, colheita e beneficiamento. Diversos fatores influenciam a qualidade final do produto, e estes incluem: variações

climáticas, solo, época de colheita, características da planta, condições de secagem, tempo de armazenamento (Castro et al., 2004).

Objetivando disponibilizar matéria-prima de alta qualidade, a pesquisa fitotécnica tem envidado esforços no sentido de ampliar os conhecimentos sobre a biologia de espécies de uso medicinal, exóticas e, principalmente, nativas, com ênfase na propagação e no estabelecimento de cultivos.

Na 1ª Reunião Técnica Sobre Recursos Genéticos de Plantas Medicinais e Aromáticas - Estratégias para Conservação e Manejo Sustentável, espécies foram listadas e para a discussão agrupadas segundo bioma de ocorrência: Amazônia, Caatinga, Cerrado e Pantanal, Mata Atlântica e o grupo das ruderais, invasoras e cultivadas, no qual encontra-se o gênero *Hypericum*, sendo justificada sua inclusão, pela enorme demanda e potencial de uso e mercado no Brasil (Vieira et al, 2002)

1. 3. O gênero *Hypericum*

O gênero *Hypericum*, pertence à família Clusiaceae (Cronquist, 1981) (Guttiferae), também conhecida como Hypericaceae, em alguns sistemas de classificação. Suas espécies contêm vários constituintes com atividades biológicas diversas. Recentemente, este gênero tem recebido atenção devido à ação antiviral de hypericina e pseudohypericina. O gênero *Hypericum* (tribo Hypericaceae, sub-família Hypericoideae) abriga mais de 400 espécies acomodadas em 30 seções. As espécies que crescem no Rio Grande do Sul, Sul do Brasil, pertencem às seções Brathys e Trigynobrathys (Ferraz et al., 2002).

A espécie *Hypericum perforatum* L. nativa da europa, Ásia e norte da África (Campbell, 1985) é uma planta medicinal tradicional com um amplo espectro de aplicações, entre elas destaca-se a atividade antidepressiva de

extratos obtidos das plantas em floração, bem como a ação antiviral da hypericina. Em contraste a muitas outras espécies sugeridas pela fitoterapia tradicional, foi apresentada forte evidência clínica para provar a eficácia dos extratos do *H. perforatum*. De fato, *H. perforatum* pertence às plantas medicinais mais amplamente investigada na Europa ocidental. Seu cultivo a campo na Europa ocidental, gradualmente, se expandiu durante os últimos anos. Na Alemanha, a área de produção chegou a aproximadamente 300 ha em 1997, comparados a 15 ha em 1992. Apesar disso, pouca pesquisa foi conduzida em relação aos fatores que afetam o sucesso do cultivo de campo do gênero *Hypericum*. Como uma espécie perene, *H. perforatum*, geralmente, é mantida em cultivo por 2 a 3 anos (Bruneton, 1993; Büter et al., 1998).

Preparos de *H. perforatum*, usados para o tratamento da depressão, tiveram um valor estimado de \$170 milhões nos Estados Unidos, em 2000, onde são comercializados como suplemento alimentar. Na Alemanha, onde os fitoterápicos apresentam o mesmo “status” dos medicamentos sintéticos, preparações contendo extratos padronizados deste vegetal correspondem a cerca de 50% das prescrições médicas para o tratamento de depressão leve a moderada. Outro dado que denota o alto índice de consumo de produtos fitoterápicos à base de *H. perforatum*, são as 66 milhões de doses diárias consumidas no ano de 1994 (De Smet & Nollen, 1996; Bennett & Lee, 1989).

No Brasil, *H. perforatum* também é amplamente utilizado como medicamento, conforme Resolução Específica n.º 357, 28.2.2002, (Brasil, 2002), mas a matéria-prima é toda importada de outros países, pois a planta não

completa o seu ciclo adequadamente, já que necessita de mais frio e latitude maior (Magalhães, 2003).³

Além do *H. perforatum*, existem outras espécies do gênero, com potencial terapêutico. No Rio Grande do Sul, estas espécies encontram-se nativas e estão em avaliação: *Hypericum brasiliense*, *H. caprifoliatum*, *H. connatum*, *H. cordatum* e *H. myrianthum*, coletadas em várias regiões do Estado. Verificou-se que o extrato de *H. caprifoliatum* foi o mais ativo como antimicrobiano, seguido pelos extratos de *H. brasiliense* e *H. myrianthum* (Nör et al., 2001 ; Schmitt et al. 2001).

Recentes estudos sobre as propriedades fitoquímicas de *H. caprifoliatum* vem salientar seu potencial como recurso terapêutico alternativo ao uso do *H. perforatum*. Conseqüentemente a espécie *H. caprifoliatum* está sujeita a grande procura e conseqüente extrativismo por ser uma planta silvestre (Nör et al., 2001). Sendo o potencial fitoterápico do *H. caprifoliatum* conhecido, tornando-se mais acirrada a coleta extrativista é necessário um estudo detalhado sobre a propagação desta espécie nativa do Rio Grande do Sul.

1. 4. *Hypericum caprifoliatum* Chamisso et Schlechtendal, orelha-de-gato

A espécie está descrita na Flora Ilustrada Catarinense (1980) como sendo um subarbusto de 0,40 a 1 m, com caule avermelhado, ramificado, cilíndrico na base; os internódios apresentam 0,7-2 cm; suas folhas são perfoliado-conatas, membranosas, às vezes levemente coriáceas, deltóides, (2-3 X1-2 cm), com limbo com glândulas amarelas. Cimas compostas, laxas, 3-12-floras, e as brácteas são lineares (mais ou menos 2mm).

Apresenta flores com 0,9 a 1,2 cm, pedicelo 2-3 mm, com sépalas levemente coriáceas, elípticas até lanceoladas, acuminadas (mais ou menos 4,5

³ MAGALHÃES PM, Comunicação pessoal, IV Jornada catarinense, 2003.

mm), 7-9 nervados. As pétalas são alaranjadas (mais ou menos nove mm). Os estames medem 30-50 mm soldados na base em grupos de dois até seis. O ovário é 5-carpelado. Cinco estiletos (2-2,5 mm). Estigmas capitados. O florescimento ocorre durante os meses de outubro até abril. O fruto é uma cápsula globosa de mais ou menos cinco mm, do mesmo comprimento que o cálice. As sementes são oblongas (0,5-0,6 mm) pardas, alveoladas, alvéolos hexagonais.

Em observações ecológicas, a espécie apresenta-se como subarbusto de 0,4 a 1 metro de altura, característico do planalto meridional, no Estado de Santa Catarina, onde, não obstante, ocorre de forma esporádica e descontínua.

Espécie heliófita e seletiva higrófito; desenvolve-se em solos recentemente revolvidos, em capoeirinhas, barrancos de estrada, clareiras de florestas ou beira de rios, situadas em altitudes compreendidas entre 300 e 1000 m. Subarbusto muito raro no Estado de Santa Catarina, bem como em todo o sul do Brasil, cujo nome vulgar é orelha-de-gato (Flora Ilustrada Catarinense, 1980).

1.5. Equívoco quanto a nomenclatura de *Hypericum caprifoliatum*:

Dados do ICN Porto Alegre - RS:

Primeira excicata coletada:

Data: 25/10/1945

Local: Bairro Teresópolis Porto Alegre

Det.: Emrich Rambo

Desde a primeira coleta, em 1945, até 1983 *H. connatum* e *H. caprifoliatum* eram ambos classificados como: *H. connatum* e nome vulgar orelha-de-gato, de onde vem o nome comum que, em alguns casos, ainda é usado, também, para *H. caprifoliatum*, por causa das folhas do *H. connatum* (Figura 1A).

Em 1983, foi classificado como *H. caprifoliatum* (Figura 1B), por S.R. Slusarski, sendo seus nomes vulgares Escadinha e Sinapismo.

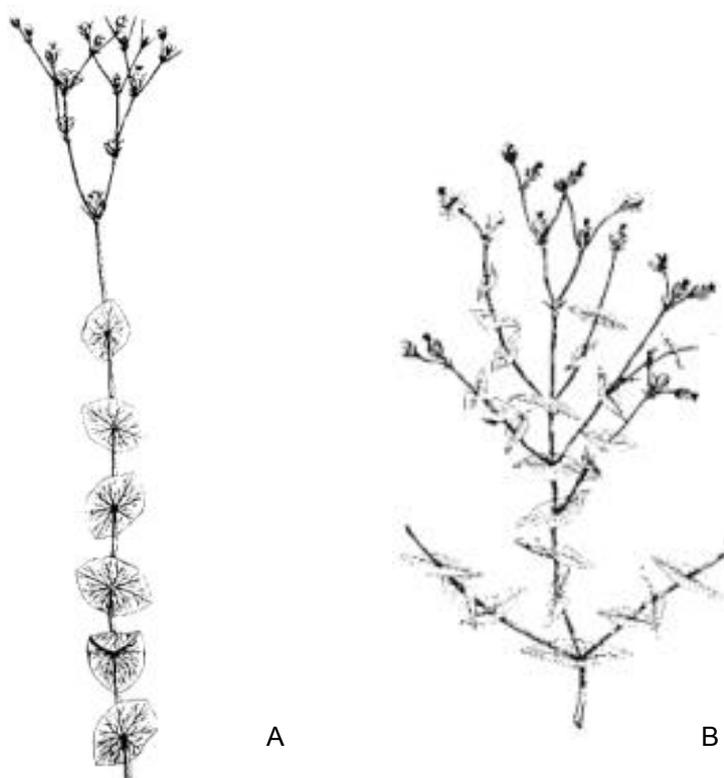


FIGURA 1. A - *Hypericum connatum*; B – *Hypericum caprifoliatum* Cham. & Schlecht. (Flora Illustrada Catarinense, 1980).

As coletas feitas pelo ICN, no Estado do Rio Grande do Sul estão localizados no mapa da Figura 2.

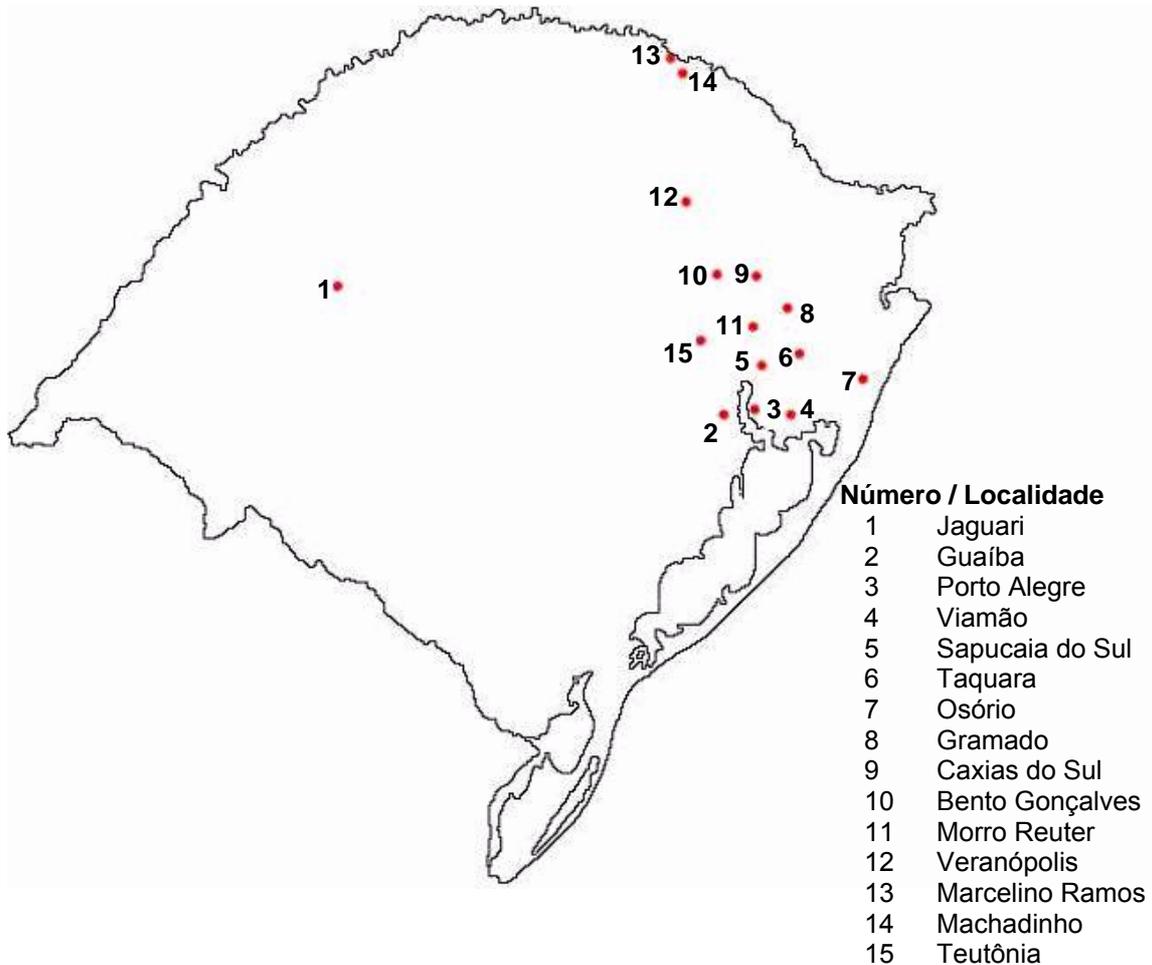


FIGURA 2. Distribuição de *Hypericum caprifoliatum* Cham. & Schlecht. no Rio Grande do Sul, segundo Herbário ICN. Janeiro de 2005.

Sabendo-se das potencialidades da espécie *H. caprifoliatum*, (Figura 3), torna-se importante proteger esta espécie, com vistas à sua futura disponibilização passível de ser cultivada por produtores rurais, e obter subsídios que permitam uma futura domesticação. Justifica-se um estudo detalhado sobre o comportamento das suas sementes, como primeiro passo para o estabelecimento de métodos de propagação sexuada. Priorizando a propagação sexuada, proteger-se-á a variabilidade genética que será fundamental para futuros programas de melhoramento genético.



FIGURA 3. Planta de *Hypericum caprifoliatum* Cham. & Schlecht. em floração. Janeiro 2005.

Em observações de campo, verifica-se que *H. caprifoliatum* ocorre mais em beiras de estrada, como planta ruderal, onde há presença de luz. Este habitat é muito vulnerável à eliminação das plantas por roçadas constantes. Por outro lado, quando colhido extrativamente, há o risco do comprometimento da qualidade, em função da deposição de poeira e de resíduos tóxicos, oriundos dos pneus e do escapamento dos veículos que transitam nas estradas ou de agroquímicos aplicados em lavouras, cuja deriva atinge estas plantas.

A diversidade genética que *H. caprifoliatum*, como planta silvestre apresenta, bem como suas potencialidades terapêuticas, a categorizam como espécie promissora na indústria de fitoterápicos, e daí na área fitotécnica, o desafio de obtenção de matéria-prima de alto padrão de qualidade e uniformidade.

Com base no exposto e pela necessidade de ampliar o conhecimento sobre a biologia de espécies de uso medicinal, nativas do sul do Brasil, e desenvolver tecnologia de cultivo e preservação, o presente trabalho teve por objetivo estudar a propagação sexuada de *H. caprifoliatum*, para cultivo e conservação.

CAPÍTULO II

2. CARACTERIZAÇÃO E FENOLOGIA DAS SEMENTES DE *Hypericum caprifoliatum* Cham. & Schlecht (Clusiaceae).

2.1. Introdução

As flores de *H. caprifoliatum* são muito ornamentais e distribuídas ao longo de toda a planta, com florescimento na primavera no Rio Grande do Sul, BR. As folhas possuem um formato e textura que corroboram ainda mais para dar este aspecto tão ornamental.

Além disso, o valor medicinal de *H. caprifoliatum*, já comprovado e que continua sendo estudado (Nör et al., 2001; Avancini, 2002), e, a conseqüente necessidade de matéria-prima, torna-a promissora para o setor agrícola, como uma espécie a ser cultivada por produtores rurais, para obtenção de matéria-prima. Desta forma, é necessário um estudo detalhado sobre a biologia e propagação desta espécie.

Entre outras características, as espécies pioneiras apresentam produção abundante de sementes, sementes pequenas e com pouca reserva energética, sementes com dormência, produção de plântulas pequenas, necessidade de luz solar direta para germinação, desenvolvimento e sobrevivência de plântulas, indivíduos jovens e adultos (Melo et al., 2004).

A principal interpretação destas características em espécies pioneiras e, entre elas, *H. caprifoliatum*, são a adaptação à colonização de habitats efêmeros como clareiras naturais, deslizamentos, solos recentemente revolvidos, barrancos desnudos, entre outros. Sendo assim, muito vulnerável à eliminação por roçadas e práticas de lavouras vicinais, como aplicação de herbicidas (Flora Ilustrada Catarinense, 1980; Driemeier-Kreimeier et al., 2004).

O estudo de formas de propagação é uma das etapas iniciais para manutenção do germoplasma, domesticação e o estabelecimento de cultivos racionais de espécies nativas.

Segundo Popinigis (1977), a maturação das sementes se inicia no momento da fertilização do óvulo e termina com o acúmulo máximo de matéria seca. Este estágio é definido como o ponto de maturidade fisiológica e, genericamente, é considerado o momento em que as sementes desligam-se da planta-mãe e apresentam seu maior peso de matéria seca, germinação e vigor.

Para o estabelecimento de métodos de propagação sexuada é primordial conhecer características e comportamento do florescimento e frutificação das espécies e de suas sementes. Finalmente, para iniciar um estudo sobre propagação de uma espécie, é necessário saber coletar suas sementes e, para tal é necessário conhecer o desenvolvimento das plantas no estágio reprodutivo. Assim, torna-se importante, definir protocolo de análise de sementes.

Segundo as Regras para Análise de Sementes (RAS) (Brasil, 1992), o Peso de Mil Sementes (PMS) é, em geral, utilizado para calcular a densidade de semeadura e o peso da amostra de trabalho, para análise de pureza. É uma informação que dá idéia da qualidade das sementes assim como seu estado de maturidade e sanidade. O PMS também é influenciado pelo grau de umidade.

Este estudo objetivou caracterizar morfológicamente a floração, frutificação e as sementes da espécie *H. caprifoliatum*, visando levantar subsídios para sua futura propagação sexuada.

2. 2. Material e Métodos

Teutônia e Westfália são os dois municípios do Vale do Taquari mais diretamente envolvidos na pesquisa da espécie *Hypericum caprifoliatum*, através da coleta de sementes, plantas e observações de campo. Estão localizados a 100 km de Porto Alegre e à mesma distância de Caxias do Sul.

O material foi um acesso de *H. caprifoliatum* coletado no município de Teutônia RS. O local de coleta cujo georreferenciamento é Latitude Sul 29° 27' 36", Longitude Oeste 51° 48' 51" e Altitude de 57,2 m foi obtido por GPS da Cooperativa Regional de Eletrificação Teutônia Ltda. - CERTEL. Uma excisata deste material foi catalogada no Herbário ICN do Departamento de Botânica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, sob número 135340. Seis plantas jovens dessa população espontânea foram transplantadas, para canteiro em horta doméstica, situada em Westfália/RS, em dezembro de 2002, para possibilitar o acompanhamento de seu desenvolvimento e crescimento, fez-se a observação das características morfológicas da floração e frutificação, bem como a coleta de sementes.

Para o estudo do florescimento de *H. caprifoliatum*, diversos botões florais, prestes a desabrochar, empiricamente escolhidos, foram marcados com fios coloridos para verificar o período até a antese das flores. Periodicamente, os botões foram observados, duas vezes ao dia anotando-se a data da abertura das flores. Estas, já sinalizadas enquanto botões foram, igualmente, observadas para determinar o período de duração da antese.

Através da observação visual e de registro fotográfico, foram feitas inferências sobre os caracteres morfológicos das flores e a dinâmica fenológica da antese. A dimensão das flores foi mensurada através de régua milimetrada.

Para avaliação preliminar do período de florescimento, as plantas foram observadas periodicamente, de dois em dois dias, de setembro a janeiro (2004/2005).

Foram realizadas observações visuais dos frutos, frente aos princípios genéricos de maturação das sementes, para definir o melhor ponto de colheita. Coletou-se todos os frutos próximos à deiscência natural, de seis plantas de *H. caprifoliatum*, em 24/10/04 e, destes, tomou-se uma amostra de frutos. Estes foram separados, individualmente, em vidrinhos, que permaneceram abertos até estarem secos. As sementes de cada fruto foram contadas, individualmente, com o auxílio de estereomicroscópio manual.

Após secas à sombra sobre papel toalha, as sementes foram guardadas em frascos de vidro, hermeticamente fechados à 5°C, até o momento da realização do teste.

Na impossibilidade técnica de realizar o PMS conforme as Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992), foram contadas quatro amostras de 1000 sementes e pesadas em balança analítica. Para a média obtida, verificou-se o coeficiente de variação (CV).

O estudo das sementes de *H. caprifoliatum* foi realizado no Laboratório de Análises de Sementes do Departamento de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia da FA/FRGS.

As sementes foram observadas em estereomicroscópio e fotos, para verificação da coloração, formato e tamanho.

2. 3. Resultados e Discussão

Estudo do florescimento de *H. caprifoliatum*

O aparecimento das primeiras flores ocorreu em 25 de setembro de 2004 no município de Westfália.

Observou-se que os botões florais completamente desenvolvidos expõem as suas pétalas no decorrer do dia, anterior à antese tornando-se mais visíveis ao anoitecer (Figura 4A).

Todas as flores em antese, marcadas (Figura 4B), tiveram comportamento único abrindo pela manhã e fechando-se ao anoitecer do mesmo dia (Figura 4C), permanecendo fechadas no dia seguinte (Figura 4D).

O diâmetro das flores, como pode ser visualizado pela Figura 4B, é de 2,0 cm, os demais atributos corroboram aos descritos em Flora Ilustrada Catarinense, (1980).



FIGURA 4. Fenologia do florescimento de *Hypericum caprifoliatum* A - Botões florais um dia antes da antese, B - Flores em antese, C - Flor senescendo ao final da antese D - Flor em processo de frutificação um dia após a antese.

Estudo da frutificação de *H. caprifoliatum*

Durante o desenvolvimento dos frutos (Figura 5) observou-se mudanças de forma e cor até o momento da deiscência das sementes (Figura 5D), desta maneira definindo-se o ponto de colheita com os frutos mostrados na figura 5B.

Portanto, observações preliminares mostraram que os frutos de *H. caprifoliatum* são deiscentes, conforme (Figura 5C), com dispersão das sementes (Figura 5D), possivelmente abiótica, como é característico de plantas silvestres (Melo et al, 2004).



FIGURA 5. Desenvolvimento de fruto de *Hypericum caprifoliatum* A - Ramo com frutos em diversos estágios, B - Frutos fisiologicamente maduros, C - Frutos deiscentes, D - Fruto cujas sementes já caíram.

Os frutos medem aproximadamente 0,5 cm de comprimento e 0,4 cm de largura (Figura 5B).

Estudo das sementes de *H. caprifoliatum*

Dos frutos amostrados para este estudo alguns foram descartados, sendo que sete foram considerados e suas sementes contadas. Assim obteve-se um número médio de 392 sementes por fruto. A amplitude variou de 335 a 492 sementes/fruto conforme a Tabela 1.

TABELA 1. Número médio de sementes por fruto de *Hypericum caprifoliatum*, de uma amostra de sete frutos coletados em Westfália, RS. Porto Alegre 2004.

Fruto nº	Número de sementes contadas por fruto
01	492
02	382
03	441
04	347
05	336
06	335
07	408
Média	392
CV%	55

Os resultados do peso de mil sementes *H. caprifoliatum*, estão na Tabela 2, e o coeficiente de variação de 2,44% está de acordo, conforme (Brasil, 1992).

TABELA 2. Peso de mil sementes do lote de sementes de *Hypericum caprifoliatum* coletado em Westfália, RS. Porto Alegre, 2004.

Amostras	Peso de 1000 sementes (g)
A	0,0200
B	0,0210
C	0,0210
D	0,0200
Média	0,0205
CV%	2,44

O PMS é usado para estimar o número de sementes por grama. Assim, um peso de mil sementes igual a 0,0205g permite estimar que 1g de sementes de *H. caprifoliatum* possui aproximadamente 48.800 unidades.

Este dado é importante para calcular a densidade de semeadura, principalmente, por serem sementes pequenas, dificultando a contagem. Também, é utilizado para determinar a amostra de trabalho na análise de pureza. Segundo Brasil (1992), o peso da amostra de trabalho para análise de pureza deve basear-se sobre uma amostra contendo no mínimo 2000 sementes e o mínimo de 0,1 g para sementes pequenas, que é o caso de *H. caprifoliatum*.

Pode-se comparar o número de sementes/g de *H. caprifoliatum* com algumas espécies medicinais e outra cultura bem conhecida como o fumo, que também tem sementes pequenas: *H. perforatum* (erva-de-são-joão): 7.500 sementes/g (Plantas, 2005); *Thymus vulgaris* (tomilho): 6.000 sementes/g e *Nicotiana tabacum* (fumo): 15.625 sementes/g (Brasil, 1992) com *H. caprifoliatum* (escadinha): 48.800 sementes/g. Entre as sementes ditas pequenas, ainda se pode fazer relações como: três sementes de *H. caprifoliatum* correspondem a, aproximadamente, o peso de uma semente de fumo e 6,5 sementes de *H. caprifoliatum* correspondem ao peso de uma semente de *H. perforatum*, que podem ser visualizadas nas Figuras 6A e B.

A caracterização morfológica das sementes de *H. caprifoliatum* são a cor parda e formato oblongo, confirmando a descrição da Flora Ilustrada Catarinense, (1980). A coloração parda ocorre de forma uniforme entre as sementes e em toda sua superfície, medindo, aproximadamente, 0,4 mm de comprimento, estriadas no sentido longitudinal, como pode ser visualizado na Figura 6A. Há uma variação bastante grande entre o tamanho das sementes observadas (Figura 6A). Esta variabilidade do tamanho, só é visível sob observação com estereomicroscópio ou fotos ampliadas. Por outro lado, as sementes da sua congênere *H. perforatum* são de coloração preta e com rugosidades em sua superfície.

Segundo Baskin & Baskin (2001), a produção de um grande número de sementes por algumas espécies é uma estratégia biológica que aumenta a probabilidade de algumas delas alcançarem os sítios favoráveis à germinação ou permanecerem dormentes no solo, enquanto não há ambiente favorável para sua germinação e estabelecimento. Como *H. caprifoliatum* ocorre de forma esporádica e descontínua, preferencialmente, em barrancos, partes mais altas de valetas e

beiras de lavouras, suas sementes podem estar sendo levadas pelas águas das chuvas e ventos, permanecendo, ali, até o momento oportuno para a germinação.

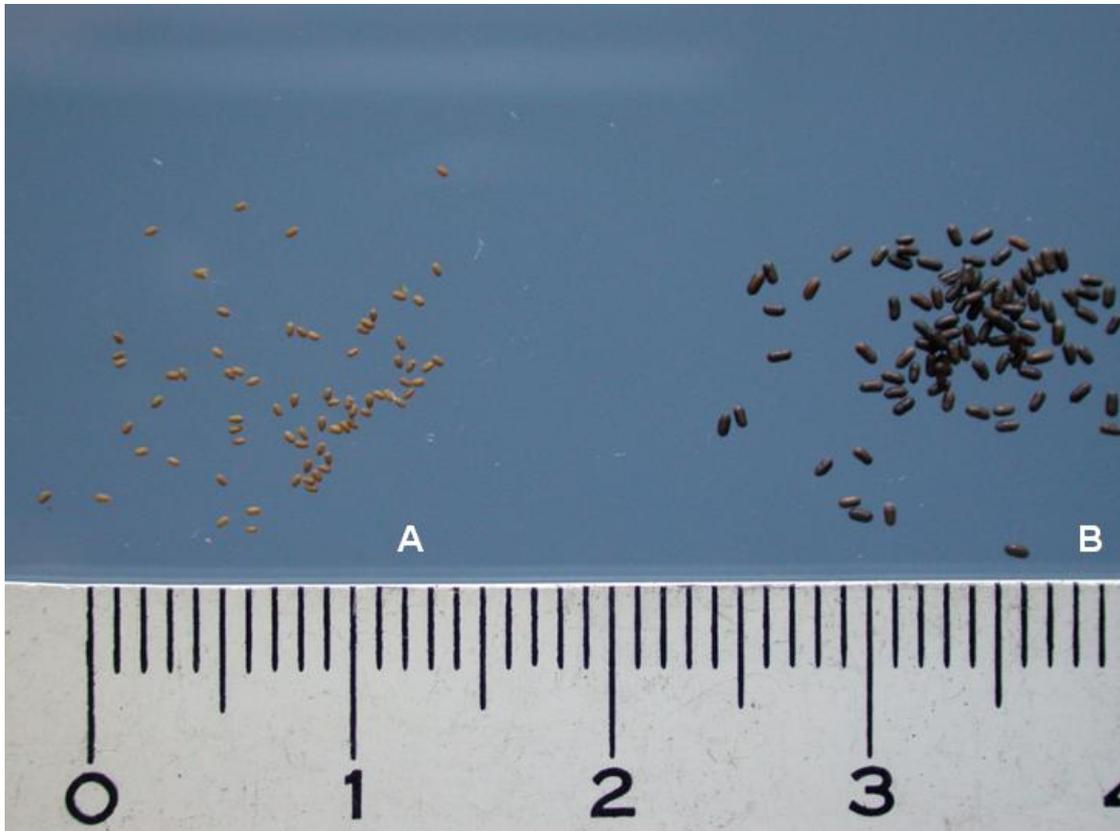


FIGURA 6. A - Sementes de *Hypericum caprifoliatum* Cham & Schlecht e B - Sementes de *Hypericum perforatum* L. Feltrin Sementes. Janeiro de 2005.

2. 4. Conclusões

- 1 - A antese das flores de *H. caprifoliatum* dura um dia;
- 2 - O número de sementes por fruto de *H. caprifoliatum* é, em média, de 392 unidades;
- 3 - As sementes de *H. caprifoliatum* da amostra estudada são de cor parda e medem aproximadamente 0,4mm na dimensão longitudinal
- 4 - O peso de mil sementes de *H. caprifoliatum* é, em média 0,0205g.

CAPÍTULO III

3. GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *Hypericum caprifoliatum* Cham. & Schlecht. (CLUSIACEAE) SOB DIFERENTES CONDIÇÕES DE LUZ, SUPERADORES DE DORMÊNCIA E TEMPERATURA.

3.1. Introdução

Ao considerar a importância de espécies nativas como anti-microbianas e os recentes conhecimentos sobre as propriedades medicinais importantes de *Hypericum caprifoliatum* Cham. & Schlecht. (Clusiaceae), relacionadas ao seu uso como anti-viral, anti-bacteriano e anti-depressivo (Neves et al., 2001; Avancini, 2002), observa-se a necessidade de estudo do comportamento e propagação de *H. caprifoliatum*, como recurso terapêutico alternativo ao *Hypericum perforatum* L. O aumento de demanda de matéria prima necessária para o uso, justifica seu cultivo adequado, para evitar o simples extrativismo no seu habitat natural, minimizando as possibilidades de desequilíbrio da flora nativa no sul do Brasil.

Em mais de cinco anos de pesquisas realizadas no Estado do Paraná, sobre o cultivo de *H. perforatum*, não foi observado o seu florescimento, pois a espécie necessita de temperaturas mais baixas, o que ocorre em latitudes mais altas, característica de seu habitat (Correia Jr., 2003)⁴.

⁴ CORREIA Jr, C. Comunicação pessoal. EMATER Paraná, 2003.

A matéria-prima de *H. perforatum*, comercializada e consumida no Brasil, é totalmente importada de outros países (Magalhães, 2003)⁵.

Como *H. caprifoliatum* carece de estudos sobre a biologia de sua propagação, tratar-se-á de resgatar as informações nas RAS (Brasil, 1992), em protocolos de sua congênera *H. perforatum* que possui informações disponíveis.

A presença ou ausência de luz no processo germinativo está relacionada com as condições ambientais onde as espécies desenvolvem-se, ou seja, com o seu habitat. Algumas espécies não germinam se não forem expostas à luz. A radiação luminosa atua, ativando ou desativando o fitocromo presente no eixo embrionário. A forma ativa desse pigmento, que é convertida pelo comprimento de onda de 660nm (luz vermelha), libera ou induz a formação de citocinina que, agindo de modo antagônico aos inibidores, permite as giberelinas desempenharem várias funções relacionadas ao processo germinativo, como a mobilização de reservas para o embrião (Bartley & Frankland, 1982; Carvalho & Nakagava, 2000).

Entretanto, dependendo da capacidade de adaptação às condições ambientais, as plantas podem ter diferentes graus de respostas à luz, tanto em termos de quantidade quanto de qualidade. As plantas podem ser fotoblásticas positivas ou negativas, conforme a germinação seja estimulada ou inibida pela luz, havendo ainda espécies cujas sementes são indiferentes à presença ou ausência de luz (Santos & Pereira 1987; Givnish, 1988; Seemann, 1989).

O emprego de testes rápidos, em programas de controle de qualidade, torna-se uma ferramenta imprescindível para a avaliação da qualidade fisiológica de um lote de sementes. Dentre esses, o teste de tetrazólio tem sido considerado como uma alternativa promissora, devido à rapidez e à eficiência na

⁵ MAGALHÃES, P. M. Comunicação pessoal, IV Jornada Catarinense, 2003.

caracterização da viabilidade, do vigor e do grau de deterioração por umidade, de danos mecânicos, do ataque de insetos (percevejos) e de secagem. Os dados obtidos através do teste auxiliam no processo de controle de qualidade durante as etapas de colheita, transporte, beneficiamento e armazenamento de sementes (Carvalho, 1986).

O teste de tetrazólio baseia-se na atividade de enzimas desidrogenases, as quais catalisam reações respiratórias nas mitocôndrias, durante a glicólise e o ciclo de Krebs. Estas enzimas, particularmente a desidrogenase do ácido málico, reduzem o sal de tetrazólio (2,3,5- trifenil cloreto de tetrazólio ou TCT) nos tecidos vivos. Quando a semente é imersa na solução incolor de TCT, esta é difundida através dos tecidos, ocorrendo nas células vivas a reação de redução que resulta na formação de um composto vermelho, estável e não-difusível, conhecido por trifenilformazan. Quando o TCT é reduzido, forma o trifenilformazan, indica que há atividade respiratória nas mitocôndrias, significando que há viabilidade celular e de tecido. Portanto, a coloração resultante da reação é uma indicação positiva da viabilidade, através da detecção da respiração a nível celular. Tecidos não viáveis não reagem e, conseqüentemente, não são coloridos (Moore, 1985; França Neto et al. 1998).

A obtenção de plantas a partir de sementes depende, em grande parte, destas se encontrarem em uma condição fisiológica apropriada para germinar e em local e momento adequados para o desenvolvimento da futura planta. Para algumas espécies, a estratégia de regeneração é germinar logo após a semente ser dispersa da planta-mãe, bastando que os requisitos básicos em termos de água e temperatura sejam satisfeitos (Borghetti, 2004).

Para outras espécies, entretanto, mesmo que as condições ambientais estejam apropriadas para a germinação, as sementes podem sobreviver por longos períodos no solo, apresentando uma germinação lenta e intermitente de partes da população. Para que esse padrão de germinação aconteça, mecanismos internos devem modular a germinação, não apenas em função de características intrínsecas, espécie-específicas, que permitirão a germinação em momentos mais apropriados para o desenvolvimento do futuro indivíduo. Esse mecanismo de controle da germinação tem sido chamado de dormência (Bewley & Black, 1984; Borghetti, 2004).

A dormência das sementes pode ser decorrente de vários fatores, tais como impermeabilidade do tegumento à água e a gases, embriões imaturos ou rudimentares, presença de inibidores ou ausência de promotores de germinação, restrições mecânicas que impedem o crescimento do embrião ou exigências especiais de luz e temperatura (Popinigis, 1985; Mayer & Poljakoff-Mayer, 1989).

A superação de dormência pode ser feita utilizando escarificação térmica, química e mecânica ou através de técnicas de estratificação, que visam permitir ao embrião completar seu desenvolvimento (Labouriau, 1983; Simon, 1974).

A utilização do ácido giberélico na superação de dormência tem se mostrado eficiente para muitas espécies. As giberelinas têm papel importante na germinação de sementes estando envolvida na mobilização de reservas do endosperma; esse evento é seguido pela síntese de hormônios, promovendo a divisão celular e por uma série de processos que resultam no aparecimento da radícula (Larcher, 2000)

Para a obtenção de dados que possam elucidar a germinabilidade de *H. caprifoliatum*, torna-se importante estudar o comportamento desta espécie frente

a presença e ausência de luz, diferentes temperaturas e substratos para otimizar o potencial de germinação.

O presente estudo teve por objetivos:

1. Avaliar a germinabilidade de sementes de *H. caprifoliatum*, na presença e ausência de luz, comparativamente às de *H. perforatum*;
2. Avaliar a viabilidade de sementes de *H. caprifoliatum* remanescentes do teste de germinabilidade;
3. Identificar, ocorrência de dormência em *H. caprifoliatum*;
4. Caso detectada possível dormência através do teste padrão de germinação em sementes, avaliar métodos de superação da mesma
5. Verificar a germinabilidade de sementes de *H. caprifoliatum*, em meio ágar-água, sob diferentes temperaturas.

3. 2. Material e Métodos

As sementes de *H. caprifoliatum* foram coletadas em 18/02/2004, de uma população ocorrente no município de Teutônia, RS. As sementes foram retiradas de frutos deiscentes e fisiologicamente maduros que foram colhidas e, após secos à sombra. As sementes de *H. perforatum* foram obtidas junto à empresa Sementes Feltrin, em 11/08/2003. As sementes de ambas as espécies foram guardadas em frascos de vidro fechados, mantidos sob refrigeração à 5°C, no Laboratório de Análises de Sementes do Departamento de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia da Faculdade de Agronomia da UFRGS, até o momento da avaliação.

O experimento foi conduzido de 24/03/04 à 27/04/04.

O delineamento experimental foi o completamente casualizado (DCC), com quatro repetições 100 sementes em cada repetição e os seguintes tratamentos:

- 1- Sementes de *H. caprifoliatum* - com luz
- 2- Sementes de *H. caprifoliatum* - sem luz até sete dias
- 3- Sementes de *H. caprifoliatum* - sem luz até 21 dias
- 4- Sementes de *H. perforatum* - com luz
- 5- Sementes de *H. perforatum* - sem luz até sete dias
- 6- Sementes de *H. perforatum* - sem luz até 21 dias

As sementes foram depositadas sobre papel umedecido com água destilada, em proporção de 1:2,5 (peso/volume). As caixas tipo Gerbox com papel germitest foram previamente esterilizadas por uma hora, na presença de luz UV. Após, as caixas com as sementes foram armazenadas em incubadora do tipo BOD, Ética, modelo 411 FP, iluminada com lâmpadas General Eletric - luz do dia, com um fluxo luminoso interno 281,95 lux, à temperatura de 25°C. As sementes na presença de luz foram umedecidas sempre que necessário, com água destilada.

A condição com luz foi definida por fotoperíodo de oito horas de escuro e 16 horas de luz e a condição sem luz foi obtida por isolar e vedar as caixas com papel alumínio e sobre este foi passado filme de PVC flexível, visando a manutenção da umidade interna.

O critério adotado para a avaliação do teste de germinação foi baseado nas Regras para Análises de Sementes (Brasil, 1992), seguindo-se as normas da espécie *H. perforatum*, com contagens aos sete e aos 21 dias.

Quatro caixas foram abertas aos sete dias e outras quatro caixas abertas aos 21 dias, sendo mantidas, na presença de luz, até o 34º dia, o dobro do tempo desde a primeira contagem, quando se encerrou o estudo. Foram consideradas

germinadas, aquelas sementes que apresentavam plântulas normais com todas as estruturas essenciais à mostra (Brasil, 1992).

Verificada a baixa germinabilidade de *H. caprifoliatum*, procedeu-se o teste de tetrazólio (TZ). Para efetuar o teste, coletaram-se as sementes remanescentes de cada tratamento e acrescentou-se os sais de tetrazólio a 0,5 %, permanecendo em BOD sob 30°C, por quatro horas (Brasil, 1992). Não constatando resultado, manteve-se por mais 72 h.

As sementes utilizadas para avaliar métodos de superação de dormência de *H. caprifoliatum* tiveram os mesmos procedimentos e origem descritos para o experimento anterior.

O delineamento experimental utilizado foi o completamente casualizado, com quatro tratamentos e quatro repetições de 100 sementes.

Os tratamentos empregados na superação da dormência foram: (1) sementes sem tratamento (testemunha); (2) umedecimento do substrato de papel com uma solução a 0,2% de nitrato de potássio (KNO₃); (3) umedecimento do substrato com uma solução 0,05% de ácido giberélico (GA₃) e (4) imersão das sementes em água a 70°C por 15 minutos. As repetições foram, efetuadas em caixas tipo gerbox, sobre duas folhas de papel germitest. Utilizou-se a temperatura de 30°C e fotoperíodo de oito horas de escuro e 16 horas de luz. A desinfecção dos gerbox e incubadora utilizados foram as mesmas do estudo anterior. O tempo de realização foi de 60 dias e foram efetuadas seis leituras aleatórias de germinação (%), durante o período.

Para avaliação, foram consideradas germinadas aquelas sementes que apresentavam plântulas normais com todas as estruturas essenciais intactas à mostra (Brasil, 1992).

O teste de tetrazólio foi conduzido da mesma forma do primeiro estudo.

As sementes utilizadas para avaliar a emergência de *H. caprifoliatum* em ágar-água foram do mesmo lote descrito para os estudos anteriores.

O ágar utilizado foi Agar Agar puro em pó, da marca Vetec.

Inicialmente, preparou-se a solução de ágar e água (6g/l), que foi autoclavada, juntamente com as placas de petri e os palitos de madeira usados na semeadura.

As sementes foram desinfestadas com hipoclorito a 1% por um minuto e lavadas, em seguida, com água deionizada autoclavada. As sementes, as placas de petri, o ágar e a água 6g/l e os palitos foram levados para a câmara de fluxo contínuo, onde se procedeu a semeadura. As placas foram envolvidas com PVC transparente e, devidamente identificadas e levadas para as devidas BODs. Tratamentos: (1) 20° C; (2) 25° C; (3) 30° C e (4) 20 -30°C. Neste último tratamento, as sementes ficaram oito horas à 20°C e 16 horas à 30° C. O fotoperíodo, em todos os tratamentos, foi de oito horas de escuro e 16 horas de luz.

O delineamento experimental utilizado foi o completamente casualizado, com quatro repetições de 100 sementes em cada tratamento.

O presente estudo compreendeu o período de 13/10/04 a 09/12/04, com um total de 57 dias, com 12 leituras aleatórias da germinação.

Para os três estudos, os dados obtidos em porcentagem foram transformados em arco seno $\sqrt{x}/100$, para a normalização da sua distribuição. Quando houve significância estatística no teste F, as médias foram comparadas pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$). Para o processamento das análises estatísticas foi utilizado o programa estatístico SAS for windows 6.1 (SAS, 1996).

3. 3. Resultados e Discussão

Sete dias após o início do experimento não houve sementes germinadas de nenhuma das duas espécies, nem na presença e nem ausência de luz (tabela3). Na avaliação dos 21 dias, a espécie *H. perforatum* teve a média de 57% de sementes germinadas na presença de luz e a média de 46% de sementes germinadas na ausência de luz até sete dias e 55% de sementes germinadas na ausência de luz até 21 dias. As demais sementes, desta espécie nos três tratamentos, estavam mortas. As plântulas na presença de luz, apresentaram-se normais, com 0,5 a 1,0 cm de comprimento e, na ausência de luz, apresentaram-se estioladas, com um a três cm de comprimento. As sementes de *H. caprifoliatum* não germinaram aos 21 dias, nem na presença e nem na ausência de luz. As sementes desta espécie somente germinaram a partir do 26º dia (Figura 7A), sendo que no final do experimento, aos 34 dias, (Tabela 3) apresentavam 18% de germinação, naquelas que ficaram sempre em presença da luz, 5% de sementes germinadas que ficaram sete dias no escuro e 15% de sementes germinadas que ficaram 21 dias no escuro.

TABELA 3 - Médias de porcentagem de germinação de sementes de *Hypericum perforatum* e *Hypericum caprifoliatum*, avaliadas aos sete, 21 e 34 dias, em presença e ausência de luz até sete dias e ausência de luz até 21 dias. Porto Alegre, 2004.

Tratamentos	% de Germinação									
	<i>H. caprifoliatum</i>					<i>H. perforatum</i>				
	7* dias	21** dias	34 dias	Total Germ.	Não Germ.	7* dias	21** dias	34 dias	Total Germ.	Não Germ.
Presença de Luz	0	0	18	18a	82	0	57	0	57a	43
Ausência de Luz até sete dias	0	0	5	5a	95	0	46	0	46b	54
Ausência de Luz até 21 dias	0	0	15	15a	85	0	55	0	55a	45
Média Geral				13	87				53	47
CV%				41					4,8	

*Primeira e **Segunda leitura, segundo indicação Brasil, (1992) para *Hypericum perforatum*.

Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$).

Segundo Bartley & Frankland (1982), a presença ou ausência de luz no processo germinativo está relacionada com as condições ambientais onde as espécies desenvolvem-se, ou seja, com o seu habitat. A proporção de sementes que germinam dentro de um lote pode ser influenciada, em muitas espécies, pela luz, sendo que, para algumas espécies, a luz é considerada como requerimento para germinação, sendo consideradas fotoblásticas positivas ou negativas, conforme a germinação seja estimulada ou inibida pela luz, havendo ainda espécies cujas sementes são indiferentes à presença ou ausência de luz (Santos & Pereira, 1987; Seemann, 1989).

Pelos resultados apresentados, a germinação das sementes da espécie *H. perforatum* independe da presença ou ausência da luz, uma vez que não houve diferença significativa nos percentuais de germinação de *H. perforatum* nos tratamentos na presença de luz e ausência de luz até 21 dias. A ausência de luz influenciou no desenvolvimento das plântulas, que apresentaram-se estioladas.

No caso de *H. caprifoliatum*, por esta não apresentar germinação enquanto na ausência de luz em todos os tratamentos (Tabela 3), a ausência de luz pode ter influenciado na germinação.

Das sementes remanescentes de *H. caprifoliatum* que não germinaram em cada tratamento até o 34º dia se realizou o teste de tetrazólio (Figura 8). No tratamento em presença de luz, 66% das sementes reagiram ao teste de tetrazólio, colorindo-se de vermelho e, portanto, estando viáveis (Figura 7B). No tratamento ausência de luz até sete dias, das sementes não germinadas, 68% apresentaram-se viáveis e do tratamento ausência de luz até 21 dias, 69% apresentaram-se viáveis.

Para as sementes de *H. perforatum*, que não germinaram, não foi necessário fazer o teste de tetrazólio, pois à pressão da pinça, verificou-se que estavam mortas.

Segundo Moore (1985), sementes com tecido vigoroso apresentarão coloração vermelho carmin claro, sendo que o resultado do teste mostrou que houve sementes que coloriram desta forma, (Figura 7B) inferindo-se que sejam as mais vigorosas e viáveis. Por outro lado, os tecidos inviáveis não reagem, conseqüentemente não são coloridos (Brasil, 1992) (Figura 7C).

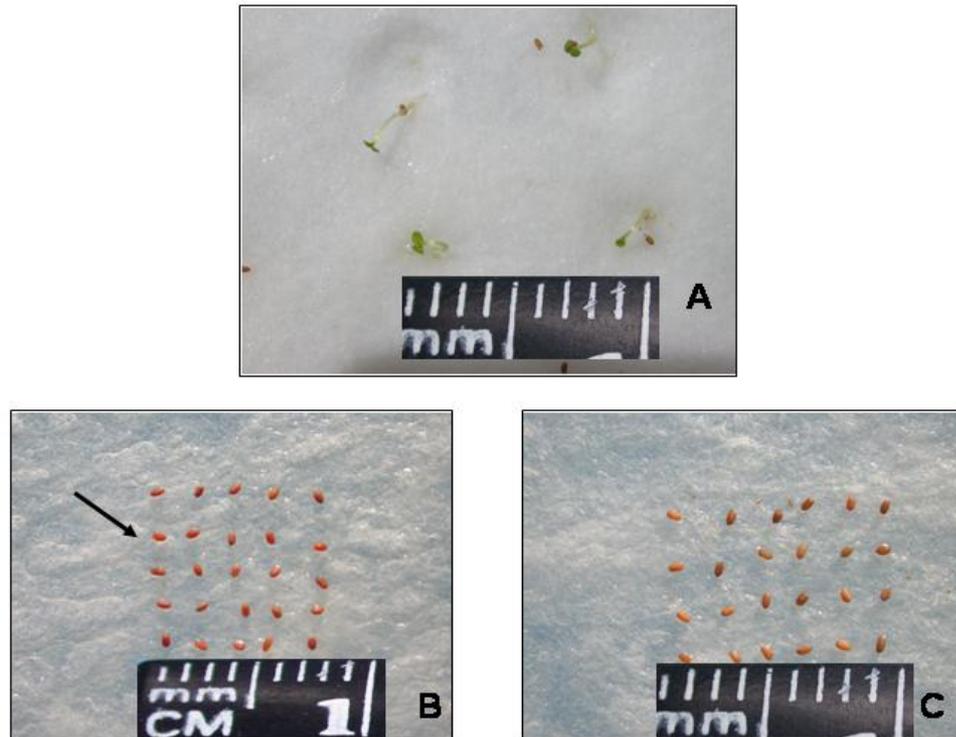


FIGURA 7 Teste de Viabilidade de Sementes de *Hypericum caprifoliatum* remanescentes de teste de germinação: A - plântulas de *H. caprifoliatum* sobre papel; B - Sementes de *H. caprifoliatum* viáveis pelo teste de tetrazólio; C - Sementes de *H. caprifoliatum* não viáveis pelo teste de tetrazólio. Porto Alegre RS.

Pela alta viabilidade das sementes remanescentes do teste de germinabilidade, constatada pelo teste de tetrazólio nos três tratamentos de *H. caprifoliatum*, pode-se inferir que a espécie nativa *H. caprifoliatum* possui algum grau de dormência ou, ainda, que a temperatura utilizada não tenha sido adequada para a germinação desta espécie (Figura 8).

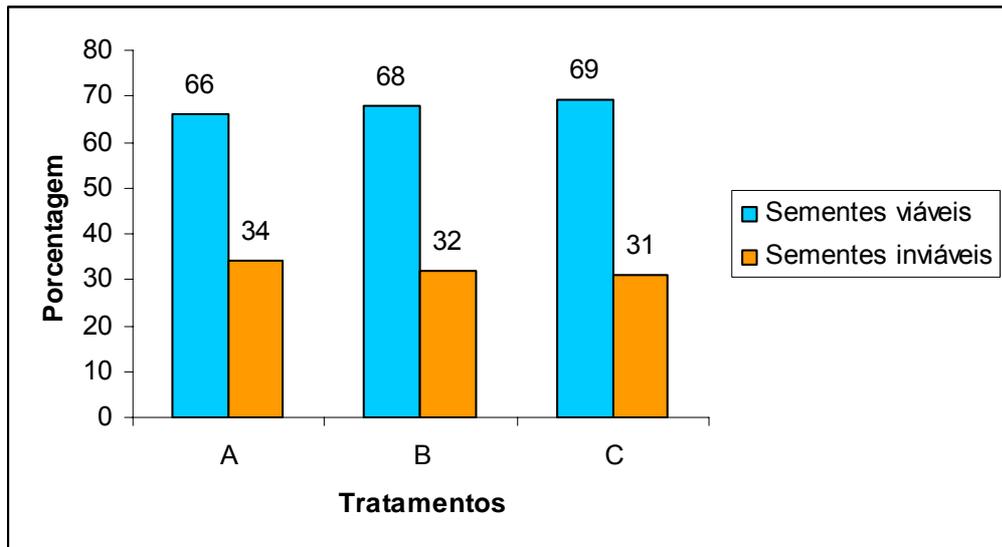


FIGURA 8. Porcentagem de sementes viáveis e inviáveis de *Hypericum caprifoliatum*, determinada pelo teste de tetrazólio, em sementes remanescentes de teste de germinação, em presença de luz (A), ausência de luz até sete dias (B) e ausência de luz até 21 dias (C). Porto Alegre, 2004.

H. perforatum, por ser uma espécie domesticada, apresentou maior uniformidade na germinação. Além disto, todas as sementes não germinadas apresentavam-se mortas.

Conforme Bewley & Black (1984) a dormência de sementes é considerada como o fracasso de uma semente intacta viável para completar a germinação sob condições favoráveis. Em algumas espécies a germinação é impedida em razão de o embrião estar reprimido pelas estruturas que o cercam e, em outras espécies, o próprio embrião é dormente.

No experimento de comparação de métodos para superação de dormência de *H. caprifoliatum*, o início do processo germinativo ocorreu aos 32 dias e obteve-se 9% de germinação na testemunha, 1% utilizando-se 0,2% de KNO_3 , 26% utilizando-se 0,5 gr./L de GA_3 e 0% utilizando-se água a 70°C, por 15 minutos, sendo que todos os tratamentos foram diferentes entre si, pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$) (Figura 9).

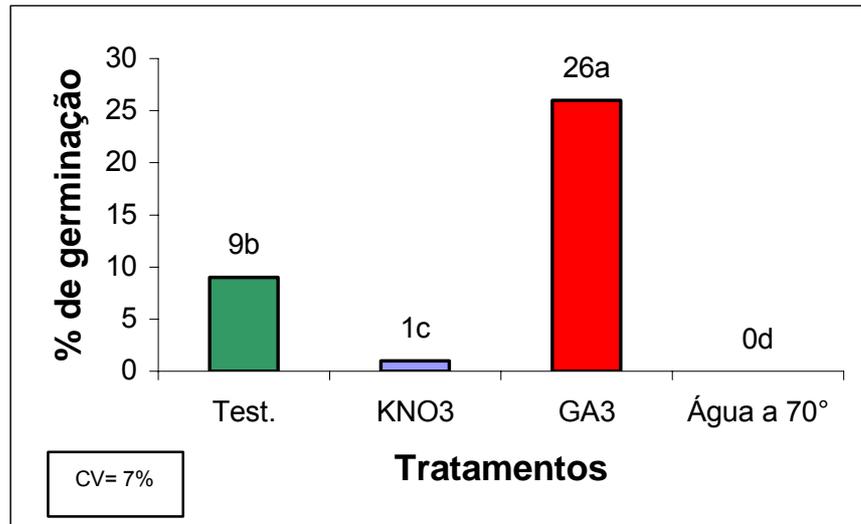


FIGURA 9. Porcentagem de germinação de sementes de *Hypericum caprifoliatum* com diferentes tratamentos para superação de dormência. Porto Alegre, 2004. Médias seguidas de letra distinta diferem significativamente pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$).

Dos métodos utilizados, o GA₃ apresentou o melhor resultado. O uso de giberelinas pode promover a germinação das sementes, aumentando a uniformidade da germinação, por ativar o crescimento do embrião, enfraquecer a camada de endosperma que envolve e que restringe seu crescimento ou mobilizar reservas energéticas do endosperma (Taiz & Zeiger, 2004). A testemunha com 9% de germinação, segundo melhor resultado, não foi satisfatória, pois foi menor que do estudo anterior, inferindo-se que a temperatura de 30 ° C seja inadequada para a germinação de *H. caprifoliatum*.

Segundo Amaral et al. (1995) a água quente tem sido utilizada com sucesso para promover a germinação de sementes, cuja testa é impermeável à água. Entretanto, para *H. caprifoliatum*, a água quente inibiu o processo germinativo, sugerindo que o embrião dessa espécie seja sensível à temperatura de 70° C, por 15 minutos. Esta hipótese foi confirmada pelo teste de tetrazólio, em que se observou a menor viabilidade remanescente (Tabela 4).

TABELA 4. Viabilidade de sementes de *Hypericum caprifoliatum* segundo o teste de germinação (%) e Teste de tetrazólio (TZ) (%) de sementes não germinadas em quatro tratamentos de superação de dormência. Porto Alegre 2004.

Tratamentos	Germinação (%)	TZ (%)	Sementes mortas(%)
Testemunha	9	48	43
KNO ₃	1	56	43
GA ₃	26	48	26
Água a 70°	0	6	94

Embora o tratamento GA₃ tenha promovido a germinabilidade, com diferença significativa (Figura 9) em relação aos demais tratamentos pode-se inferir que algum fator, como a temperatura, pode ter levado as sementes à dormência secundária (Vidaver & Hsiao 1975). Através do teste de tetrazólio confirma-se esta suposição, pois as sementes mantiveram alta viabilidade. (Tabela 4).

A viabilidade indica a longevidade e o grau de deterioração das sementes havendo espécies de plantas nativas, cujas sementes permanecem viáveis apenas alguns dias (Labouriau, 1983). Pelos resultados do teste de tetrazólio, observa-se que *H. caprifoliatum* manteve a viabilidade nas sementes submetidas aos três tratamentos: testemunha, KNO₃ e GA₃, após 60 dias, não sendo, portanto, o caso desta espécie.

Na realização dos testes de tetrazólio em sementes de *H. caprifoliatum* constatou-se a possibilidade de avaliar a viabilidade das sementes sem cortá-las. O que favoreceu esta metodologia foi a coloração clara das sementes. Portanto, este método, poderá ser adotado em futuros estudos de viabilidade para a espécie *H. caprifoliatum*.

Com estes estudos, constatou-se a necessidade de se testar diferentes temperaturas para verificar os níveis de respostas para a espécie *H. caprifoliatum*.

Para o terceiro estudo, aos 29 dias, o melhor resultado foi o do tratamento de 20° C, com 41% de germinação, não diferindo estatisticamente de 20-30°C, com 26% de germinação. Aos 60 dias, o melhor resultado, com 86% de germinação, foi obtido no tratamento de 20–30 °C. Na seqüência, o segundo melhor tratamento foi de 20°C, tendo estas duas temperaturas de 20°C fixa e 20-30°C se destacado nos dois períodos. Aos 29 dias, mesmo sem diferença estatística entre elas, há uma diferença numérica considerável.

Percebeu-se uma germinação inicial mais rápida no tratamento a 20°C e uma germinação acentuada no tratamento 20-30° C, após 29 dias. E, ao final do experimento, houve uma diferença significativa a favor do tratamento 20-30°C. Resultado semelhante foi obtido por Faron et al., (2004) com a espécie *H. brasiliense* sendo 27,5% de germinação para a temperatura 20-30°C.

As temperaturas de 25 e 30 °C mostraram, tanto aos 29 dias como aos 60 dias, não serem favoráveis para a germinação de sementes de *H. caprifoliatum* (Tabela 5) confirmando as suposições do estudo anterior. Aos 29 dias, o tratamento a 25° C teve 4% de germinação e o tratamento a 30° C, 5% de germinação, sem diferença estatística. Aos 60 dias, o tratamento a 25°C teve 18% de germinação e o tratamento a 30°C teve 17% de germinação, não diferenciando, estatisticamente, entre eles. Observou-se um padrão semelhante de germinação entre os dois períodos e tratamentos.

TABELA 5. Porcentagem de germinação de *Hypericum caprifoliatum* em ágar-água sob diferentes temperaturas aos 29 dias e 60 dias. Porto Alegre 2004.

Tratamentos	Porcentagem média de germinação aos 29 dias	Porcentagem média de germinação aos 60 dias
20° C	41a	64b
20 - 30° C	26a	86a
25°C	4b	18c
30° C	5b	17c
CV%	25	15

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$).

Considerando-se que a germinação das sementes pode ser encarada como um somatório de reações parciais envolvendo enzimas diversas, a velocidade desse processo fisiológico será também dependente da temperatura de incubação das sementes, apresentando temperaturas nas quais a velocidade de germinação é máxima e outras nas quais a velocidade é reduzida ou em que a germinação quase não ocorre (Borghetti, 2004). Assim, este experimento de diferentes temperaturas, em meio ágar-água foi o que mais pode isolar a variável disponibilidade de água, pois as placas de petri estavam vedadas mantendo a umidade constante.

Sendo o processo inicial de absorção de água pela semente, essencialmente físico (Castro & Hilhorst, 2004), a característica que corroborou foi a umidade do substrato ágar-água que permaneceu constante e contínua ao longo do tempo, possivelmente, proporcionando melhores condições de germinação para as temperaturas que se destacaram.

O estudo também constatou que o ágar-água (6g/l), como agente solidificante do meio, para a semeadura de *H. caprifoliatum*, sendo sementes muito pequenas (PMS = 0,0205 g, conforme capítulo II), mostrou ser

concentração apropriada, proporcionando um posicionamento adequado da semente no substrato, ou seja, em torno de 1mm de profundidade.

O efeito da alternância de temperatura é uma resposta difícil de ser quantificada na natureza, pois pode ser extremamente variável em termos de tempo de exposição, magnitude da variação entre a temperatura alta e a baixa, número de ciclos de exposição (Zaidan & Barbedo 2004). Neste estudo, a alternância de temperaturas pode ter beneficiado a germinação em si e também o somatório de eventos diários (20-30 °C), promovendo o "start" da germinação. Segundo Hartmann et al (1990), a temperatura alterna de 20-30° é ótima para sementes de espécies que requerem temperaturas maiores para a germinação e toleram temperaturas baixas.

O maior percentual de germinação aos 60 dias, confirma, segundo Heydecker (1972), o fato de muitas sementes germinarem melhor em temperaturas alternas, devido à oscilação entre temperaturas que ocorre próximo da superfície do solo e que assegura germinação a sementes pequenas, onde a temperatura é variável, ao contrário das zonas mais profundas, onde a temperatura é mais constante.

O percentual de germinação, aos 29 dias, é um dado importante, pois considerando o percentual de germinação obtido até então, poder-se-á reduzir o tempo para obtenção de mudas.

Pelos dados obtidos, pode-se especular que 20°C poderia ser a temperatura ideal para a espécie *H. caprifoliatum*. Assim sendo, as sementes programadas geneticamente para germinarem podem ter se beneficiado com esta temperatura. Posteriormente, a temperatura alternada de 20-30° C funcionou superando a dormência das sementes através do choque térmico.

Houve infestação de dois fungos no substrato utilizado, sendo que sua ocorrência deu-se igualmente, nos quatro tratamentos. Os fungos presentes foram: *Aspergillus niger* e *Phyllosticta* sp. conforme laudo de diagnóstico fitossanitário número 3292/2004-LODF, em Apêndice nº1. Suspeita-se que estes fungos tenham vindo com as sementes, pela desinfestação deficiente para não danificar as sementes. *Aspergillus niger* (Figura 10B), se espalhou em manchas sobre o substrato, aparentemente, não comprometeu a germinabilidade (Figura 10A e B). Já o fungo *Phyllosticta* sp impediu a germinação ou matou a plântula, (pontos pretos) antes da sua contagem, como pode ser observado pela Figura 10C. A ocorrência deste fungo assemelha-se muito ao fungo *Phoma* sp. Observou-se também que no tratamento de 25°C, a ocorrência foi um pouco mais severa e pode ter afetado os resultados.

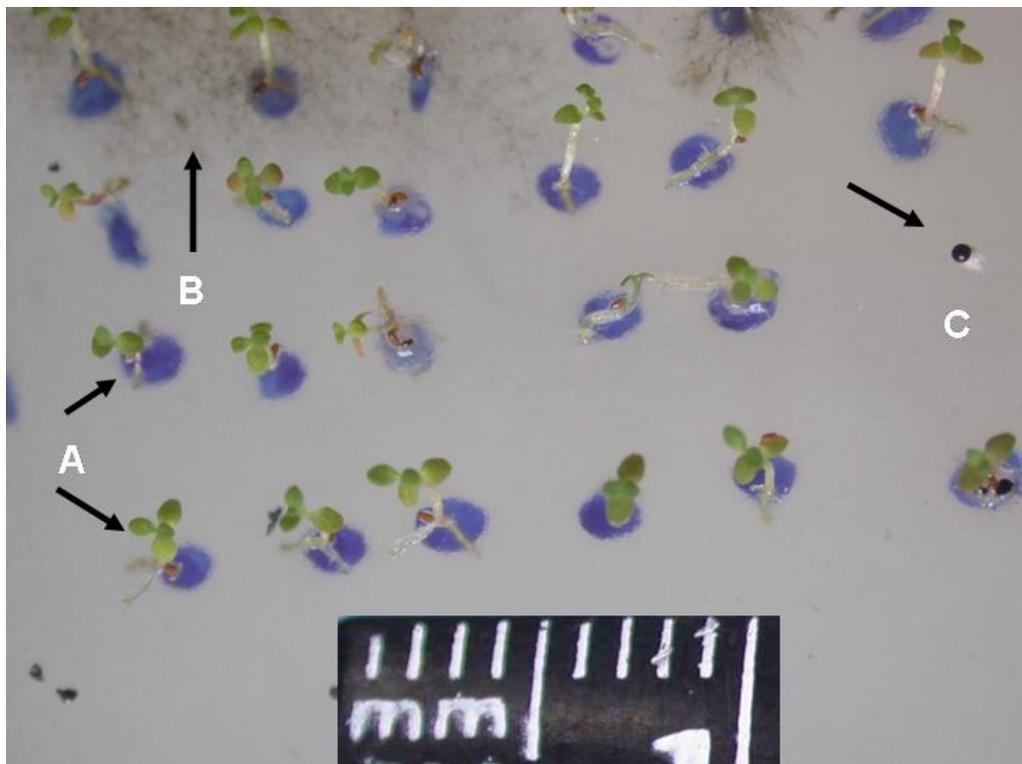


FIGURA 10. A - Plântulas saudáveis de *Hypericum caprifoliatum* com 38 dias de germinação, B - Hifas do fungo *Aspergillus niger* e C - Picnídio de fungo *Phyllosticta* sp.

3. 4. Conclusões

1 - A germinação das sementes de *H. perforatum* independe da presença ou ausência da luz;

2 - A germinação de sementes de *H. perforatum* é mais uniforme, pois estas não apresentam dormência, germinando até o 21º dia. As sementes que não germinaram dentro deste período, mostraram ser inviáveis;

3 - As sementes de *H. caprifoliatum* apresentaram dormência;

4 - O ácido giberélico mostrou-se o tratamento mais promissor em promover a germinação de *H. caprifoliatum*;

5 - As sementes de *H. caprifoliatum* que apresentaram baixa germinabilidade sobre papel, tiveram viabilidade significativa ao teste de tetrazólio;

6 - Para a germinação de *H. caprifoliatum*, a temperatura constante de 30° C é limitante sendo que a maior porcentagem de germinação foi obtida sobre substrato ágar-água, à temperatura alternada de 20 - 30 ° C.

CAPÍTULO IV

4. EMERGÊNCIA DE *Hypericum caprifoliatum* Cham. & Schlecht. (CLUSIACEAE) EM SUBSTRATO COMERCIAL.

4. 1. Introdução

Tendo em vista a produção e comercialização de plantas medicinais, aromáticas e condimentares, é fundamental o desenvolvimento de técnicas que garantam a qualidade das sementes destas espécies, pois sementes de má qualidade podem representar um risco para a atividade agrícola (Chavagnat, 1984).

Por outro lado, a propagação por sementes é o principal método pelo qual as plantas se reproduzem na natureza, sendo a maneira mais usual de propagação nos cultivos agrícolas (Hartmann et al., 1990).

Se por um lado na natureza, a dormência das sementes se apresenta vantajosa para a perpetuação das espécies, ampliando a possibilidade de estabelecimento de novos indivíduos ou colonização de áreas por distribuir a germinação no espaço e no tempo, por outro, pode trazer desvantagens, principalmente, considerando a exploração vegetal (Carvalho & Nakagava, 2000).

Como a dormência das sementes é um processo complexo, regulado por fatores genéticos, sob forte efeito ambiental, a temperatura é um dos principais fatores que regula este processo nas sementes. Influencia principalmente, a

superação da dormência primária estabelecida durante a maturação do diásporo, ainda aderido à planta-mãe. Mas, também, afeta a dormência secundária estabelecida após a dispersão da semente (Bewley & Black, 1984; Egley, 1986; Borghetti, 2004).

Pelos estudos anteriores verificou-se que *Hypericum caprifoliatum* possui algum grau de dormência ou estado quiescente, que para torná-la uma planta cultivada, devem ser superados da forma mais econômica e eficaz.

A presente pesquisa que envolve dois estudos teve por objetivos:

- 1- Determinar a emergência das plântulas de *H. caprifoliatum*, em substrato comercial, sob condições de cultivo protegido, reconhecendo seus limites biológicos, à fim de permitir a propagação desta espécie, em sistemas de cultivo.
- 2- Determinar a emergência em substrato comercial, frente a diferentes condições de temperatura.

4. 2. Material e Métodos

As sementes utilizadas para avaliar a emergência de *H. caprifoliatum* foram do mesmo lote das descritas no capítulo III.

O primeiro experimento foi implantado no Departamento de Horticultura e Silvicultura da Faculdade de Agronomia da UFRGS e conduzido de 05/08 a 03/09/04. O delineamento experimental foi o completamente casualizado, constando de quatro repetições. Foram amostradas e pesadas quatro alíquotas de sementes: 0,012 g; 0,014 g; 0,013 g e 0,013 g. As sementes foram semeadas a lanço, sem cobri-las, uma amostra em cada caixa tipo gerbox, com furos para drenagem, contendo substrato comercial previamente umedecido. O substrato

utilizado foi Hortimix[®] para folhosas, com pH em água 5,0 a 6,0, e condutividade elétrica de 1,0 - 1,5 mS/cm.

As caixas gerbox foram mantidas em bancada, em condições de ambiente protegido, sem controle da temperatura ambiente. Permaneceram 29 dias, sob nebulização intermitente, com duração de 2,5 minutos a cada 30 minutos, controlado por temporizador automático.

Aos 29 dias após a semeadura foi realizada a avaliação da emergência final pela contagem e eliminação das plântulas. Os dados de contagem foram transformados em percentual estimado.

Para avaliação, foram consideradas emergidas aquelas plântulas definidas como normais, com todas as estruturas essenciais (Brasil, 1992). Esta foi uma forma indireta de avaliar a porcentagem de germinação.

Para avaliar a emergência de *H. caprifoliatum* sob diferentes temperaturas, as sementes foram amostradas do mesmo lote do estudo anterior, bem como semeadas sobre o mesmo substrato.

O segundo experimento foi instalado em câmaras BOD, com regulação de temperatura e fotoperíodo, no Laboratório de Análises de Sementes do Departamento de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia da FA/UFRGS. Usou-se delineamento completamente casualizado com quatro tratamentos e quatro repetições de 100 sementes e os seguintes tratamentos:

- 1) 20 - 30° C, sendo 30° por 16 horas e 20° C por oito horas,
- 2) 25° C e
- 3) 30° C.

O fotoperíodo foi regulado para 16 horas de luz e oito horas de escuro.

Para a semeadura, utilizaram-se bandejas quadradas de 17X17 cm e três cm de altura de PVC, preenchidas com substrato comercial, Hortimix[®], onde, em cada bandeja, foram semeadas quatro linhas com 100 sementes cada, sem cobri-las. Cada bandeja foi introduzida em um saco plástico transparente (20 X 30 cm) e levada às BODs, nas diferentes temperaturas. Na primeira contagem, foram mantidas as condições de 19/07/2004 a 18/08/2004, por 30 dias. Após os primeiros 30 dias, a BOD com a temperatura de 30° C fixa, foi regulada para 20° C, permanecendo de 19/08/2004 a 09/09/2004, 21 dias.

Para avaliação, foram consideradas emergidas aquelas plântulas definidas como normais, com todas as estruturas essenciais (Brasil, 1992). Como uma forma indireta de avaliar a porcentagem de germinação.

Os dados de contagem obtidos em porcentagem estimada de germinação, no segundo estudo, foram transformados em arco seno $\sqrt{x}/100$, para a normalização da sua distribuição. Quando houve significância estatística no teste F, as médias foram comparadas pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$). Para o processamento das análises estatísticas foi utilizado o programa estatístico SAS for windows 6.1 (SAS, 1996).

4. 3. Resultados e Discussão

Os resultados de emergência de plântulas, que foram usados indiretamente para avaliar a germinação das sementes, apresentados na Tabela 6, permitiram verificar que nas condições do estudo obteve-se a média 33 % de germinação. O início do processo de emergência ocorreu aos 19 dias.

TABELA 6 Emergência de plântulas de *Hypericum caprifoliatum* em substrato comercial sob cultivo protegido. Porto Alegre, 2004.

Amostra	Peso de* amostra de sementes (%)	N. ° estimado de sementes semeadas	Número de plântulas emergidas	Plântulas emergidas (%)
A	12	585	188	32
B	14	683	211	31
C	13	634	311	49
D	13	634	119	19
Média	13	634	207	33
CV%				33

*Amostra de sementes pesada e semeada por repetição.

Para estimar a quantidade de sementes a ser semeada, utilizou-se o peso de mil sementes (0,0205g) obtido no capítulo II.

A média de 33 % de emergência pode ser considerada um resultado promissor para *H. caprifoliatum*, por ser uma espécie ruderal. Posteriormente, com aplicação de tecnologias, este resultado poderá ser otimizado em período relativamente curto.

O uso de uma alíquota média de 13 mg permitiu estimar o percentual de emergência que indiretamente avalia o percentual de germinação. Esta é uma referência inicial importante, como ponto de partida para tecnologia de sementes a serem obtidas para *H. caprifoliatum* em futuros estudos fitotécnicos que serão adotados.

Segundo Zaidan & Barbedo (2004) os tratamentos térmicos utilizados experimentalmente na superação de dormência ocorrem de forma natural no ambiente onde a semente encontra-se. Isto foi constatado em parte, nos resultados deste estudo, onde as condições dadas foram similares às encontradas na natureza, como, por exemplo, as oscilações naturais de

temperatura, sendo os resultados em termos de germinação maiores que os obtidos no estudo anterior (18%), sobre papel em BOD.

Sendo o processo inicial de embebição da semente puramente físico (Castro & Hilhorst, 2004), o que pode ter corroborado, foi a umidade que permaneceu o tempo todo próximo de 100%, pela irrigação intermitente, simulando uma estação adequada para germinação e estabelecimento da planta.

No estudo sobre emergência de *H. caprifoliatum*, em substrato comercial, sob diferentes temperaturas, o início da emergência ocorreu aos 21 dias, sendo que, aos 30 dias, a melhor temperatura foi de 25° C, com 36% de emergência, diferenciando-se estatisticamente do segundo melhor tratamento 20 - 30° C, com 18% de germinação (Tabela 7). Este último tratamento simulou o período noturno, 20°C por oito horas e diurno, 30°C por 16 horas. Mesmo assim, não favoreceu o processo germinativo.

O menor desempenho foi observado quando utilizou-se a de 30°C, com apenas 5% de germinação. Tendo em vista que a temperatura de 30°C determinou a menor porcentagem de germinação até os 30 dias, decidiu-se regular a temperatura da BOD para 20° C.

TABELA 7 Porcentagem de emergência de *Hypericum caprifoliatum* em substrato comercial, sob diferentes temperaturas em duas contagens, com modificação de uma das temperaturas na segunda contagem. Porto Alegre 2004.

Tratamentos 1ª contagem	% de emergência aos 30 dias	Tratamentos 2ª contagem	% de emergência aos 52 dias
20 - 30° C ¹	18 b A	20 - 30° C	18 b A
25°C	36 a B	25°C	42 a A
30°C	5 c B	20°C	29 ab A
CV%	14		15

¹ 20° C por 8 horas e 30° C por 16 horas.

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna, não diferem significativamente pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$).

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha, não diferem significativamente pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$).

Na segunda contagem, simulando uma alternância de temperatura para o tratamento a 30°C, regulado posteriormente para 20°C, obteve-se um acréscimo de 24% sobre a porcentagem de emergência, passando de 5 para 29% de emergência, aos 52 dias, conforme mostra a Tabela 7.

Supõe-se que a temperatura de 30°C tenha sido limitante para a emergência das sementes de *H. caprifoliatum*, mantendo-as em estado quiescente, aguardando uma temperatura mais adequada para seu estabelecimento, emergindo tão logo o ambiente apresentasse temperatura mais favorável (Tabela 7).

Pode-se inferir que as sementes de *H. caprifoliatum* podem permanecer em estado quiescente, no solo, aguardando condições para a sua emergência e estabelecimento. Resultados semelhantes foram obtidos por Theisen & Vidal (1999), para a espécie *Brachiaria plantaginea*.

Em relação aos outros tratamentos que permaneceram na temperatura inicial, os resultados mostraram que embora a temperatura de 25°C manteve o maior percentual de emergência, 42% não se diferenciou estatisticamente de

20°C, com 29% de emergência. Na temperatura de 20-30°C, não houve emergência na segunda contagem.

Ao realizar análise entre as médias geradas na primeira e segunda contagem, obteve-se diferença significativa para as médias dos tratamentos a 25°C e 30° C (1ª contagem); a 20° C (2ª contagem). Para o tratamento a 20 - 30°C, não houve diferença estatística significativa entre as médias, pois permaneceu inalterada, na segunda contagem.

Segundo Mayer & Poljakoff-Mayer (1989), a temperatura ótima é aquela na qual ocorre o maior percentual de germinabilidade em menor espaço de tempo. Neste sentido, o tratamento a 25° C teve comportamento superior aos demais na primeira contagem, com 36% de emergência aos 30 dias conforme a Tabela 7. A germinação rápida é desejável para as espécies cultivadas, mostrando seu vigor, ante as condições. Assim, as sementes permanecem menos tempo sujeitas às condições adversas para o estabelecimento no campo.

Segundo Bryant (1989), a relação entre o comportamento da germinação e a temperatura está associada às temperaturas a que normalmente as plantas ficam expostas durante a estação de crescimento. A estação de pleno desenvolvimento de *H. caprifoliatum* são os meses de setembro à março, no Rio Grande do Sul. Em observações de campo, verificou-se que a emergência natural ocorreu, no final de agosto, onde naturalmente, ocorre uma alternância de temperatura.

4. 4. Conclusões

1 - A semeadura de *H. caprifoliatum* em substrato comercial sob ambiente protegido proporcionou uma condição favorável para a emergência de plântulas.

2 – A temperatura de 25°C em BOD foi mais eficiente para a emergência das plântulas.

CAPÍTULO V

5. DESENVOLVIMENTO DE PROTOCOLO PARA PRODUÇÃO DE MUDAS DE

Hypericum caprifoliatum Cham & Schlecht. (CLUSIACEAE).

5.1. Introdução

No ciclo de vida das plantas com sementes, o recrutamento, o desenvolvimento e a sobrevivência das plântulas são eventos cruciais para o crescimento e/ou manutenção das populações. Recrutamento significa o ingresso de indivíduos em uma categoria qualquer e, no caso de plântulas, esse evento depende da germinação de sementes, emissão da radícula e emissão das superfícies fotossintéticas (Melo et al., 2004).

Para as espécies nativas sujeitas ao extrativismo, como é o caso de *Hypericum caprifoliatum*, segundo Melo et al. (2004), torna-se cada dia mais importante o estudo da propagação via sementes, no contexto da biologia da conservação. Isso é, particularmente, verdade para o Brasil, o país com a maior riqueza de plantas com sementes do mundo.

Por outro lado, a propagação por sementes é o principal método pelo qual as plantas se reproduzem na natureza, e é a maneira mais usual de propagação nos cultivos agrícolas (Hartmann et al., 1990). Para as espécies medicinais ruderais, como é o caso de *H. caprifoliatum*, a reprodução sexuada toma especial

importância, pois é uma maneira de propagá-la, mantendo a variabilidade genética.

Segundo Pereira et al. (1995), também, deve-se considerar que a propagação por sementes é mais fácil e econômica, se comparada à micropropagação e propagação vegetativa, pois esta última depende de uma grande disponibilidade de plantas em estado vegetativo.

O sucesso de qualquer sistema de produção de mudas está associado à semente de boa qualidade. A idade, o estado fisiológico, variedade, conteúdo de reserva, tamanho do embrião e outros parâmetros de qualidade influem na germinação e emergência. O que se deseja das sementes é que elas germinem e emerjam simultaneamente, em curto espaço de tempo, para que se tenha uniformidade, obtendo-se as mudas padronizadas em tamanho e desenvolvimento fisiológico (Minami, 1995).

Em face da não existência de resultados científicos para subsidiarem o cultivo de *H. caprifoliatum*, o presente trabalho teve por objetivo elaborar um protocolo mínimo para o início da sua propagação, em fase experimental.

5. 2. Material e Métodos

As sementes utilizadas na semeadura de *H. caprifoliatum* foram obtidas do mesmo lote das sementes descritas no capítulo III.

O experimento foi implantado no Departamento de Horticultura e Silvicultura da Faculdade de Agronomia da UFRGS.

Como sementeira, utilizaram-se dois vasos de plástico preto, com 11 cm de diâmetro de boca e 8 cm de altura, preenchidos com substrato comercial Hortimix[®] para folhosas, com pH em água 5,0 a 6,0 e condutividade elétrica de 1,0 - 1,5 mS/cm. Os vasos foram mantidos em cultivo protegido, sobre bancada,

sob nebulização intermitente, com duração de 2,5 minutos, a cada 30 minutos, controlado por temporizador automático. A semeadura foi feita a lanço, no dia 03/03/04, sem cobrir as sementes.

A partir da sementeira (105 dias) as plântulas foram repicadas para duas condições diferentes. Na primeira, a repicagem para bandejas multicelulares, com volume de 22 ml por célula, preenchidas com o mesmo substrato descrito anteriormente, permanecendo em cultivo protegido, no mesmo local das sementeiras. A outra condição foi o transplântio de 16 plântulas, diretamente para saquinhos plásticos pretos de seis cm de diâmetro de boca e 10 cm de altura, preenchidos com o mesmo substrato, permanecendo a céu aberto, com regas somente quando necessário. Esta operação foi feita aos 98 dias de emergência, das plântulas quando as mesmas mediam de 1,5 - 2,5 cm de comprimento e apresentavam 8 - 10 folhas. As mudas repicadas em bandejas foram transplantadas para saquinhos aos 168 dias após início da emergência.

5. 3. Resultados e Discussão

O início da germinação ocorreu em tempo recorde de sete dias, com 10 plântulas por vaso. Se comparado aos outros períodos de germinação obtidos, depois deste, o menor tempo obtido foi de 19 dias, visto nos capítulos III e IV. O meio utilizado no capítulo III foi ágar-água, e obteve-se este resultado em todas as temperaturas. Da mesma forma, ocorreu em substrato comercial (cap. IV), em cultivo protegido, sem controle sobre a temperatura, na condição de irrigação intermitente.

O tempo de três meses em que as mudas permaneceram na sementeira foi longo, sendo que o transplante poderia ter sido feito bem antes (Tabela 8).

TABELA 8. Etapas e duração, em dias, para a produção de mudas de *Hypericum caprifoliatum*, em condições de cultivo protegido e a céu aberto. Porto Alegre 2004.

Condição de cultivo	Etapas		Mudas prontas (total dias)
	Semeadura - Repicagem (dias)	Repicagem - Transplante (dias)	
Céu aberto	105	-	162
Protegido	105	100	295

A germinação rápida é uma característica desejável para as espécies cultivadas (Borghetti, 2004). Pode-se inferir para o presente estudo, que dadas as condições de manutenção da umidade constante, por vários dias consecutivos, e temperatura com oscilação natural, obteve-se o estabelecimento de plântulas de *H. caprifoliatum* em menor tempo, característica importante para a produção de mudas em menor intervalo de tempo.

As mudas transplantadas logo para as embalagens definitivas e colocadas a céu aberto, em 18/06/04 (Figura 11B), tiveram um desenvolvimento bem melhor, se comparadas às repicadas e posteriormente transplantadas em cultivo protegido, como pode ser constatado pelas Figuras 11C e 12D.

Através da repicagem direta das plântulas para embalagens, colocadas a céu aberto, obteve-se mudas consideradas prontas para o transplante em 15 de agosto 162 dias, com em torno de 12 cm de altura. Em 28/09, apresentaram em torno de 23 cm de altura (Figura 11B).

As mudas que permaneceram em cultivo protegido foram repicadas em 18/06 (Figura 12B), transplantadas para vasos em 28/09 (Figura 12C) e levadas para adaptação a céu aberto em 17/11, estando prontas para transplante no final de dezembro (Figura 12D). Nesta modalidade foram efetuadas duas operações, o que pode ter ocasionado estresse e conseqüente menor desenvolvimento.



FIGURA 11. Protocolo de produção de mudas de *Hypericum caprifoliatum* a céu aberto. A - Plântulas em sementeira, B - Plântulas transplantadas para embalagem definitiva e C - Mudas prontas aos 205 dias.



FIGURA 12. Protocolo de produção de mudas de *Hypericum caprifoliatum* em cultivo protegido. A - Plântulas em sementeira, B - Plântulas transplantadas para bandeja multicelular, C - Mudas transplantadas para embalagem definitiva e D - Mudas prontas aos 295 dias.

As mudas que permaneceram em cultivo protegido estiolaram (Figura 12C) e foram atacadas por Oídio, causado pelo fungo *Erysiphe cichoracearum* DC.

Conforme laudo de diagnose fitossanitária número 2856/2004-LODF no Apêndice nº 2. Este fato atrasou o desenvolvimento das mudas em cultivo protegido.

As condições de viveiro são ideais para o desenvolvimento do patógeno: alta umidade durante a noite, baixa umidade durante o dia e temperaturas amenas, entre 22 a 27° C. O excessivo sombreamento e a pouca luz intensificam e favorecem a doença (Floriculture, 2004).

Com a ocorrência da doença, as mudas tiveram que se recuperar ficando mais ramificadas (Figura 12D)

CAPÍTULO VI

6. CONCLUSÕES

- 1 - A antese das flores de *H. caprifoliatum* dura um dia;
- 2 – As sementes de *H. caprifoliatum* são de cor parda, medem 0,4mm de comprimento e o peso de mil sementes é 0,0205g
- 3 - A germinação das sementes de *H. perforatum* independe da presença ou ausência da luz;
- 4 – As sementes de *H. perforatum* tiveram uma germinação mais uniforme que as sementes de *H. caprifoliatum*, pois as sementes de *H. perforatum* não apresentaram dormência, germinando até o 21º dia. As sementes que não germinaram dentro deste período, mostraram ser inviáveis;
- 5 - As sementes de *H. caprifoliatum* apresentaram dormência;
- 6 - O ácido giberélico mostrou-se o tratamento mais promissor em promover a germinação de *H. caprifoliatum*;
- 7 - A maior porcentagem de germinação de *H. caprifoliatum* foi obtida sobre substrato ágar-água à temperatura alternada de 20 - 30 ° C;
- 9 - A semeadura de *H. caprifoliatum* em substrato comercial sob ambiente protegido e temperatura de 25°C proporcionou uma condição favorável para a emergência de plântulas;

CAPÍTULO VII

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Desde o início do projeto o foco principal foi a aplicabilidade dos resultados aqui obtidos em relação à propagação sexuada de *H. caprifoliatum*. Mesmo sendo uma espécie sem estudos agronômicos até então, o desafio sempre foi voltado para possibilitar o seu cultivo, antes mesmo de ser domesticada. Este desafio foi alcançado em grande parte, embora seja apenas o começo do estudo da sua propagação. Como perspectivas para estudos posteriores sugere-se a continuidade das investigações sobre a propagação sexuada, por mostrar-se promissora, bem como, também, a propagação vegetativa, para que, ao encontrar-se um genótipo fitoquimicamente superior, seja possível obter plantas matrizes sem segregação genética.

CAPÍTULO VIII

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIFITO - Associação Brasileira de Indústrias de Fitoterápicos. Perspectivas do setor de fitoterápicos. In: REUNIÃO TÉCNICA SOBRE RECURSOS GENÉTICOS DE PLANTAS MEDICINAIS E AROMÁTICAS: - Estratégias para conservação e manejo sustentável. **Relatório** Brasília: IBAMA:CENARGEM, 2001.

AMARAL, L. I. V.; PEREIRA, M. F.; CORTELAZZO, A. L. Quebra de dormência em sementes de *Bixa orellana*. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v.12, p.151-157, 1995.

AVANCINI C. A. M. **Saneamento aplicado em saúde e produção animal: etnografia, triagem da atividade antibacteriana de plantas nativas no sul do Brasil e teses de avaliação do decocto de *Hypericum caprifoliatum* Cham. e Schlecht. (Guttiferae) - ("escadinha"/ "sinapismo") - para uso como desinfetante e antisséptico.** 2002. 309 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2002.

BARTLEY, M. R.; FRANKLAND, B. Analysis of the dual role of phytochrome in the photo-inhibition of seed germination. **Nature**, New York, v. 300, p. 750-752, 1982.

BASKIN, C. C.; BASKIN, J. M. **Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination.** New York: Academic Press, 2001. 666p.

BENNETT, G. J.; LEE, H. H. Xanthonenes from Guttiferae. **Phytochemistry**, Oxford, v. 28, p. 967-998, 1989.

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination.** New York: Plenum Press, 1984. 367p.

BORGHETTI, F. Dormência embrionária. In: GUI FERREIRA A.; BORGHETTI, F.(orgs) **Germinação: do básico ao aplicado.** Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 109.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução Específica** - RE nº 356, de 26.2.2002. **Diário Oficial** [da República Federativa do Brasil], Brasília, DF, 04 mar. 2002.

- BRASIL, Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 1992. p.141-144.
- BRYANT, J. A. **Fisiologia da semente**. São Paulo: EPU,1989. 86p.
- BRUNETON, J. **Pharmacognosie phytochemie plantes medicales**. Paris: Lavoisier, 1993.
- BÜTER B.; ORLACCHIO C.; SOLDATI A.; BERGER K. Significance of genetic and environmental aspects in the field cultivation of *Hypericum perforatum*. **Planta Medica**, New York, v. 64, p. 431- 437, 1998.
- CAMPBELL, M. H. Germination, emergence and seedling growth of *Hypericum perforatum* L. **Weed Research**, Oxford, v.25, p. 259-266, 1985.
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAVA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. p.588.
- CARVALHO, N.M. Vigor de sementes. In: SEMANA DE ATUALIZAÇÃO EM PRODUÇÃO DE SEMENTES, 1986, Piracicaba. **Anais**. Campinas: Fundação Cargill, 1986. p.207-223.
- CASTRO, H. G. et al. **Contribuição ao estudo das plantas medicinais: metabólitos secundários**. 2 ed. Viçosa: Suprema, 2004. p.4 - 7.
- CASTRO, R. D.; HILHORST, H. W. M. Embebição e reativação do metabolismo In: FERREIRA A. G.; BORGHETTI, F.(orgs) **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 149 - 142.
- CHAVAGNAT, A. Importance et determination de la valeur technologique des semences: application aux plantes médicinales, aromatiques et épices. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v.144, p.85-89, 1984.
- CORRÊA JÚNIOR, C.; MING, L. C.; SCHEFFER, M. C. **Cultivo de plantas medicinais, condimentares e aromáticas**. 2 ed Jaboticabal: FUNEP, 1994. 162 p.
- CRONQUIST, A. **An Integrated System of Classification of Flowering Plants**. New York : Columbia University Press, 1981.
- DE SMET, P. A. G.; NOLLEN, W. A. St.John's wort as an antidepressant. **British Medical Journal**, London, v.313, p.241-242,1996.
- DRIEMEIER-KREIMEIER, R.; BARROS, I. B. I.; FRANKE, L. B. Viabilidade de sementes de *Hypericum caprifoliatum* Cham. e Schlecht. (Clusiaceae) via teste de tetrazólio. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 44., 2004, Campo Grande. **Resumos...** Campo Grande, 2004.
- EGLEY, G. H. Stimulation of weed seed germination in soil. **Reviews of Weed Science**, Champaign, v.2,p.67-89, 1986.

- FARON, M. L. B. et al. Temperatura, nitrato de potássio e fotoperíodo na germinação de sementes de *Hypericum perforatum* L. E *Hypericum brasiliense* Choisy. **Bragantia**, Campinas, v. 63 n. 2, p.193-199, 2004.
- FERRAZ, A. et al. Screening for the presence of hypericins in southern Brazilian species of *Hypericum*. **Pharmaceutical Biology**, Philadelphia, v. 40, p.294-297, 2002.
- FLORA Ilustrada Catarinense. Itajaí: Editora "Herbário Barbosa Rodrigues", 1980. I Parte: Fascículo: As Plantas, HIPE, p.21-22.
- FLORICULTURE and ornamental nurseries. Powdery mildew Disponível em: <www.ipm.uedavis.edu/PMG?r280101011.html> Acesso em: 01 nov de 2004.
- FRANÇA NETO, J. B.; KRYZANOWSKI, F. C.; COSTA, N. P. **Princípios do teste**: o teste de Tetrazólio em Sementes de Soja. Brasília: Embrapa, 1998 . 72 p.
- GIVNISH, T.J. Adaptation to seen and shad: a whole-plant perspective. **Australian Journal Plant Physiology**, Collinwood, v.15, n.1, p.63-92, 1988.
- HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES Jr., F.T. **Plant propagation**: principles and practices. 5. ed. New Jersey: Prentice-hall International, 1990. 700p.
- HEYDECKER, W. **Vigour in viability of seeds**. London: Chapman & Hall, 1972. p.209 –252.
- LABOURIAU, L. G. **A germinação de sementes**. Washington: Organização dos Estados Americanos, 1983. 173p.
- LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: Rima Artes e Textos, 2000. 531p.
- MAYER, A. M.; POLJAKOFF-MAYER, A. **The germination of seeds**. 4 ed. Oxford: [s.n.], 1989. p. 38 - 56.
- MELO, F. P. L. et al Recrutamento e estabelecimento de plântulas. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F.(orgs) **Germinação**: do básico ao aplicado. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 242 - 243.
- MINAMI, K. **Produção de mudas de alta qualidade em horticultura**. São Paulo: [s,n.], 1995. 136 p.
- MOORE, R. P. **Handbook on tetrazolium testing**. Zurich: International Seed Testing Association, 1985. 99p.
- NEVES, G. et al. Envolvimento do sistema dopaminérgico na atividade antidepressiva de *Hypericum caprifoliatum* Cham & Schlecht em roedores. In: SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 13.,2001, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre, 2001.

NÖR, C. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos e frações obtidos de *Hypericum caprifoliatum*, *H. myrianthum* e *H. brasiliense*. In: SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 13., 2001, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre, 2001.

PEREIRA, M. L.; ZANON, A.; SCHEFFER, M. C. Germinação de sementes de guaco - *Mikania glomerata* Spreng. (Asteraceae). **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.13, n.1, p. 104, 1995.

PLANTAS Mediciniais, Aromáticas e Condimentares. Disponível em: <<http://www.sitioduascachoeiras.com.br/reinos/vegetal/plantasm.htm/>> Acesso em 14 out 2004.

PLANTAS Aromáticas e Condimentares. Disponível em: <<http://www.sementesfeltrin.com.br>> Acesso em: 21 jan 2005.

POPINIGIS, F. **Conceitos**. Fisiologia da semente. Brasília: Agiplan, 1985 p.44.

POPINIGIS, F. **Conceitos**. Fisiologia da semente. Brasília: Agiplan, 1977. 289 p.

SANTOS, S.D.S.; PEREIRA, M. F.A. Germinação de dois cultivares de beterraba açucareira: efeito de luz e temperatura. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.10, p.15-20, 1987.

SAS INSTITUTE. **SAS user guide**: Statistics. Cary: SAS Institute, 1996. 1CD-ROM.

SEEMANN, J. R. Light adaptation acclimation of photosynthesis and carboxylase active in sun and shade plants. **Plant Physiology**, Rockville, v. 91, n.3, p.379-386, 1989.

SCHMITT, A. C.; RAVAZZOLO, A. P.; VON POSER G., Investigation of some *Hypericum* species native to southern Brazil for antiviral activity. **Journal Ethnopharmacology**, Leiden, v. 77, p.239 - 245, 2001.

SIMON, E.W. Phospholipids and plant membrane permeability. **New Phytologist**, London, v.73, n.3, p.377- 420, 1974.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. As giberelinas promovem a germinação de sementes. In: FISILOGIA vegetal. 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. p.488-489.

THEISEN, G.; VIDAL, R. A. Viabilidade de sementes de papuã (*Brachiaria plantaginea*) e a cobertura do solo com palha. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 28, n. 3, p.449-452, 1999.

VIEIRA, R. F. et al. Estratégias para a conservação e manejo de recursos genéticos de plantas medicinais e aromáticas. In: REUNIÃO TÉCNICA DE BRASÍLIA, 2002, Brasília. **Resultados...** Brasília: EMBRAPA, 2002. 184 p.

VIDAVER, W.; HSIAO, A. I. Secondary dormancy in light sensitive lettuce seeds incubated anaerobically or at elevated temperature. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.53, p.2557-2560, 1975.

ZAIDAN, L. B. P.; BARBEDO, J. C. Quebra de dormência em sementes. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F.(orgs) **Germinação**: do básico ao aplicado. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 141 – 142.

CAPÍTULO IX

9. APÊNDICES

APÊNDICE 1. Resultado de diagnose de *Aspergillus niger* e *Phyllosticta* sp em plântulas de *Hypericum caprifoliatum*

APÊNDICE 2. Resultado de diagnose de *Erysiphe cichoracearum* DC. Em plantas de *Hypericum caprifoliatum*