

MARISETE INÊS SANTIN CATAPAN

**INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA, SUBSTRATO
E LUZ NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES
DE *Ilex paraguariensis* St. Hil.**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de "Mestre em Ciências Florestais". Curso de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Antonio C. Nogueira

CURITIBA

1998



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E DO DESPORTO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA FLORESTAL

P A R E C E R

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Curso de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, reuniram-se para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado, apresentada pela candidata **MARISETE INÊS SANTIN CATAPAN**, sob o título "**INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA, SUBSTRATO E LUZ NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *Ilex paraguariensis* St. Hil.**", para obtenção do grau de **Mestre** em Ciências Florestais, no Curso de Pós-Graduação em Engenharia Florestal do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, Área de Concentração **SILVICULTURA**.

Após haver analisado o referido trabalho e arguido a candidata são de parecer pela "**APROVAÇÃO**" da Dissertação, com média final: (*10,0*), correspondente ao conceito: (*A*).

Curitiba, 24 DE ABRIL DE 1998

Pesq. Dr. João Antonio Pereira Fowler
Primeiro Examinador
EMBRAPA

Resq. Dr. Antonio Carlos de Souza Medeiros
Segundo Examinador
EMBRAPA/CNPF

Prof. Dr. Antonio Carlos Nogueira
Orientador e Presidente da Banca
UFPR

Nenhum ser vivo
nasce igual a outro,
cada ser que nasce
é uma aventura biológica,
um risco que a vida assume, um pioneiro ...

Dedico

Aos meus pais Eurir e Luisa, meus
irmãos Marilsa, Cleide, Carlos e
Claimar pela compreensão e
carinho, aos meus sobrinhos
Júnior, Fernando e João Pedro,
pelo sorriso ingênuo.

AGRADECIMENTOS

Expresso aqui o meu agradecimento a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho:

- à Universidade Federal do Paraná, que me recebeu no Curso de Pós-Graduação em Engenharia Florestal;
- à CAPES, pela bolsa de estudos;
- ao Instituto Ambiental do Paraná (IAP), pelo lote de sementes cedido;
- ao Prof. Antonio Carlos Nogueira, orientador, pela paciência, incentivo e tranquilidade com que conduziu a orientação;
- a Pesquisadora Dra. Doris Amaral e Prof. Yoshiko Kuniyoshi, co-orientadoras pela confiança e correções;
- ao Pesquisador Dr. Edilson Batista Oliveria pela ajuda e paciência na análise dos dados;
- a Bibliotecária Aimara Riva de Almeida pela revisão das referências bibliográficas e a Clóvis Assumpção pela revisão do texto;
- aos funcionários do laboratório de sementes, D. Marli e João, e do viveiro Sr. Vivaldo;
- a amiga Jane, pelo carinho e estímulo nesse momento de vida;
- ao Otávio, Magali, Ana, Guilherme, Leonan, Leide, Renata, Adalberto e aos demais colegas pela amizade e convívio nessa caminhada.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	v
LISTA DE FIGURAS	vii
RESUMO	ix
ABSTRACT	x
1 INTRODUÇÃO	01
2 REVISÃO DA LITERATURA	03
2.1 CARACTERIZAÇÃO DA ESPÉCIE	03
2.1.1 Taxonomia	03
2.1.2 Morfologia	04
2.1.3 Distribuição geográfica	07
2.1.4 Aspectos Reprodutivos	08
2.2 GERMINAÇÃO DE SEMENTES	11
2.2.1 Fatores que afetam a germinação	12
2.2.2 Testes de viabilidade	18
2.2.3 Dormência de Sementes	20
3 MATERIAL E MÉTODOS	25
3.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS	25
3.2 CARACTERIZAÇÃO DO LOTE DE SEMENTES	26
3.3 TESTE DE GERMINAÇÃO	27
3.4 TESTE DE TETRAZÓLIO	28
3.5 AVALIAÇÃO DA FORMA E TAMANHO DOS EMBRIÕES	30
3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA	31
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
4.1 CARACTERIZAÇÃO DO LOTE DE SEMENTES	33
4.2 TESTE DE GERMINAÇÃO	34
4.2.1 Velocidade de germinação	43

4.2.2	Frequência acumulada	46
4.3	TESTE DE TETRAZÓLIO	50
4.4	AVALIAÇÃO DA FORMA E TAMANHO DOS EMBRIÕES	60
5	CONCLUSÃO	68
ANEXO 1 -	69
ANEXO 2 -	71
ANEXO 3 -	77
ANEXO 4 -	79
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	86

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Padrões de classificação para avaliação das sementes de <i>I. paraguariensis</i> no teste de tetrazólio	30
TABELA 2 - Dimensões (mm) dos pirenos de <i>I. paraguariensis</i> , com os valores máximo, mínimo e a média para a altura, largura e espessura	33
TABELA 3 - Porcentagem de sementes germinadas de <i>I. paraguariensis</i> sob temperatura constante de 20° C, em três substratos e na presença e ausência de luz, em três épocas	34
TABELA 4 - Porcentagem de sementes germinadas de <i>I. paraguariensis</i> , sob temperatura constante de 25° C, em três substratos e na presença e ausência de luz, em três épocas	34
TABELA 5 - Porcentagem de sementes germinadas de <i>I. paraguariensis</i> sob temperatura constante de 30° C, em três substratos e na presença e ausência de luz, em três épocas	35
TABELA 6 - Porcentagem de sementes germinadas de <i>I. paraguariensis</i> sob temperatura alternada 20-30° C, em três substratos e na presença e ausência de luz, em três épocas	35
TABELA 7 - Médias das porcentagens de germinação das sementes de <i>I. paraguariensis</i> , em temperatura alternada de 20-30° C para os fatores substrato e luz, na avaliação efetuada na época	36
TABELA 8 - Médias das porcentagens de germinação das sementes de <i>I. paraguariensis</i> , em temperatura alternada de 20-30° C para os fatores substrato e luz, na avaliação efetuada na época 2	37
TABELA 9 - Médias das porcentagens de germinação das sementes de <i>I. paraguariensis</i> , em temperatura alternada de 20-30° C para os fatores substrato e luz, na avaliação efetuada na época 3	38
TABELA 10 - Médias da velocidade de germinação dos tratamentos sob temperatura alternada 20-30°C para os fatores substrato e luz, na época 1	44
TABELA 11 - Médias da velocidade de germinação dos tratamentos sob temperatura alternada 20-30°C para os fatores substrato e luz, na época 2	44
TABELA 12 - Médias da velocidade de germinação dos tratamentos sob temperatura alternada 20-30°C para os fatores substrato e luz, na época 3	44

TABELA 13 - Médias das porcentagens de sementes germinadas sob temperatura alternada 20-30 °C, em diferentes substatos e na presença e ausência de luz, e porcentagem de sementes viáveis (tz), no início dos testes de germinação para as três épocas	55
TABELA 14 - Classificação dos embriões segundo medidas de seu maior eixo.....	62

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Flores femininas e masculinas de <i>I. paraguariensis</i>	5
FIGURA 2 - Frutos e sementes de <i>I. paraguariensis</i>	6
FIGURA 3 - Fases de desenvolvimento do embrião de <i>I. paraguariensis</i>	31
FIGURA 4 - Médias das percentagens de sementes germinadas sob temperatura alternada 20-30° C, para o fator substrato nas épocas 1, 2 e 3.....	41
FIGURA 5 - Médias das percentagens de sementes germinadas de <i>I. paraguariensis</i> , sob temperatura alternada 20-30° C, para o fator época.....	43
FIGURA 6 - Médias da velocidade de germinação das sementes de <i>I. paraguariensis</i> , sob temperatura alternada 20-30° C, em função dos fatores época e substratos	45
FIGURA 7 - Frequência acumulada de sementes germinadas de <i>I. paraguariensis</i> , submetidas à temperatura alternada 20-30° C, na época 1, com três substratos e na ausência e presença de luz	46
FIGURA 8 - Frequência acumulada de sementes germinadas de <i>I. paraguariensis</i> , submetidas à temperatura alternada 20-30° C, na época 2, com três substratos e na ausência e presença de luz	47
FIGURA 9 - Frequência acumulada de sementes germinadas de <i>I. paraguariensis</i> , submetidas à temperatura alternada 20-30° C, na época 3, com três substratos e na ausência e presença de luz	47
FIGURA 10 - Frequência acumulada de sementes germinadas de <i>I. paraguariensis</i> , submetidas a temperatura alternada (20-30° C), em substrato areia e presença de luz, nas três épocas de semeadura.....	49
FIGURA 11 - Aspecto geral do pireno, com semente completamente colorida e tecidos firmes, correspondendo a sementes viáveis	52
FIGURA 12 - Aspecto geral do pireno, com semente completamente colorida e tecidos firmes, correspondendo a sementes viáveis	52
FIGURA 13 - Pireno com duas sementes. sementes completamente coloridas, com tecidos firmes correspondendo à sementes viáveis	53
FIGURA 14 - Semente colorida, com tecidos deteriorados (endosperma e embrião necrosados), correspondendo à sementes não viáveis	53

FIGURA 15 - Semente não colorida, com tecidos deteriorados (endosperma e embrião necrosados), correspondendo à sementes não viáveis	54
FIGURA 16 - Semente vazia, sem endosperma e sem embrião, sementes não viáveis.....	54
FIGURA 17 - Médias das percentagens de germinação para as sementes sob temperatura alternada 20-30°C, no substrato areia e na presença de luz e de sementes viáveis (tz).....	57
FIGURA 18 - Porcentagem de sementes viáveis (tz), nos diferentes tratamentos, após o encerramento dos testes de germinação para a época 3, época 2 e época 1	59
FIGURA 19 - Porcentagem de embriões nas diferentes fases de desenvolvimento, nas três épocas de instalação dos testes de germinação	61
FIGURA 20 - Embriões nas fases de desenvolvimento coração e pós-coração	63
FIGURA 21 - Embriões nas fases de desenvolvimento coração, torpedo e maduro.....	64
FIGURA 22 - Número de embriões nas diferentes fases de desenvolvimento, nos diferentes tratamentos após o encerramento dos testes de germinação para a época 1.....	65
FIGURA 23 - Número de embriões nas diferentes fases de desenvolvimento, nos diferentes tratamentos após o encerramento dos testes de germinação para a época 2.....	65
FIGURA 24 - Número de embriões nas diferentes fases de desenvolvimento, nos diferentes tratamentos após o encerramento dos testes de germinação para a época 3.....	66

RESUMO

Sementes de *Ilex paraguariensis* St. Hil. apresentam dormência, devido a imaturidade embrionária associada à dureza de seu endocarpo, por se tratar de pireno, ocorrendo, desta forma, uma germinação desuniforme. As sementes de erva-mate foram submetidas a três épocas de semeadura (135, 179 e 221 dias de estratificação), em quatro níveis de temperaturas (constantes de 20° C, 25° C, 30° C e alternada de 20 e 30° C), três tipos de substratos (areia, vermiculita e ágar), sob ausência e presença de luz, com o objetivo de avaliar o comportamento germinativo da espécie. Os dados de germinação foram analisados, segundo um delineamento completamente ao acaso usando um fatorial 4 x 3 x 3 x 2 (temperatura x época x substrato x luz), com 5 repetições de 100 sementes por tratamento. Para estimar a capacidade germinativa das sementes para cada época de semeadura foi aplicado o teste de tetrazólio em 500 sementes, subdivididas em cinco subamostras. Quanto ao grau de maturidade da semente no momento da semeadura foram avaliados 50 embriões, em relação a forma e tamanho. Os testes de germinação demonstraram que a temperatura é um fator preponderante na germinação. As percentagens de germinação sob temperatura alternada 20-30° C chegaram a atingir 52%, enquanto nas temperaturas constantes de 20° C e 25° C não ultrapassaram a 4,4% e 1,0%, respectivamente e na de 30° C foi de zero. O substrato areia proporcionou os melhores resultados de germinação nas três épocas. Com relação à luz não houve influência deste fator no processo germinativo para as épocas 1 e 2, mas na época 3 a presença de luz influenciou positivamente. Quanto ao fator época, a maior percentagem de germinação (44,56%) e velocidade de germinação (69,9 dias) ocorreu na época 3, independente do substrato. Observou-se uma diminuição do período compreendido entre a semeadura e o início da germinação na época 3 (31 dias). Nas três épocas, a estabilização na curva de germinação foi aos 100 dias, após a primeira contagem, podendo-se encerrar os testes de germinação. As médias de sementes viáveis obtidas pelo teste de tetrazólio foi de 42% na época 1; 39% na época 2 e 41,6% na época 3, indicando que não ocorreu aumento no grau de deterioração das sementes, durante o período de estratificação. Na comparação das médias percentuais entre os testes de tetrazólio e de germinação, observou-se variação na diferença, havendo, de modo geral, incremento nas médias de germinação. O teste de tetrazólio, é ainda recomendado para a obtenção de uma estimativa rápida (3 dias) da capacidade germinativa das sementes. Na avaliação do desenvolvimento embrionário, verificou-se que ocorreu crescimento dos embriões. Sendo que a fase de coração foi 28%, 30% e 8%, respectivamente para a época 1, 2 e 3. Enquanto que a fase pós-coração foi de 72%, 68% e 90%, respectivamente para a época 1, 2 e 3. Porém, para a fase de torpedo foi 2% para as épocas 2 e 3. Esses dados demonstram a mudança na quantidade de embriões da fase de coração para a fase de pós-coração e a desuniformidade no desenvolvimento destes.

ABSTRACT

Seeds of *Ilex paraguariensis* St. Hil. present dormancy, caused by embryonic immaturity and wood endocarp, leading to irregular germination. In order to evaluate the germination behaviour of this species, three seeding times were tested (135, 179 and 221 days of stratification), at four different temperatures (constant 20°C, 25°C, 30°C and alternating 20-30°C), in three different substrates (sand, vermiculite, and agar), and in the absence or presence of light. According to a completely random design, the data were analyzed using a factorial 4 x 3 x 3 x 2 (temperature x seeding time x substrate x light), with five repetitions of 100 seeds per treatment. To estimate the germinating capacity of the seeds for each seeding time, the tetrazolium test was performed on 500 seeds, divided in 5 subsamples. The size and shape of 50 embryos were evaluated, in order to access the degree of maturity of the seeds at the time of seeding. The germination tests have shown that temperature is a main factor. Germination under alternate temperature 20-30°C reached 52%, whereas under the constant temperatures of 20°C and 25°C reached only 4.4% and 1.0% was obtained, respectively, and at 30°C no germination was seen. Sand was the best substrate at all three seeding times. There was no effect of light at the first two seeding times, but at the third seeding time light had a positive influence on germination. Regarding seeding time, the greatest percentage (44.56%) and speed (69.9 days) of germination were observed at time 3, regardless of substrate. The reduction of the interval between seeding and actual germination was also seen at time 3 (31 days). At all three times, the germination curve reached a plateau at 100 days after the first count, allowing the end of the germination tests. The average number of viable seeds, as a result of the tetrazolium test, was 42% at time 1, 39% at time 2 and 41.6% at time 3, suggesting that there was no significant progress in deterioration of the seeds during the stratification period. When comparing the percent average of both the tetrazolium and the germination tests, a variation in the difference was seen, with an overall increase in the germination average. The tetrazolium test is though still recommended for a fast estimate (3 days) of the germinating capacity of the seeds. When evaluating embryonic development, embryo growth was verified. The embryo heart stage represented 28%, 30% and 8%, respectively, at times 1, 2 and 3, whereas the post-heart stage represented 72%, 68% and 90%, respectively, at times 1, 2 and 3. However, the embryo torpedo stage was 2% at times 2 and 3. These data show the change in the amount of embryos from the heart stage to the post-heart stage and their irregular development.

1 INTRODUÇÃO

Ilex paraguariensis St. Hil., popularmente conhecida como erva-mate, é uma espécie arbórea da América do Sul. Dela são retiradas as folhas e galhos finos para a fabricação da erva-mate, que é utilizada como insumo no preparo do chimarrão, bebida tradicionalmente consumida na região sul do Brasil. A erva-mate apresenta um vasto campo de aplicação industrial, desde bebidas, insumo de alimentos e medicamentos, mas atualmente concentra-se na área de bebidas por infusão.

Há décadas apresenta-se como uma espécie de grande importância sócio-econômica no Sul do Brasil, Nordeste da Argentina e grande parte do Paraguai.

No Brasil, a economia ervateira está baseada, em grande parte, na indústria extrativa, dependente de ervais nativos e, em menor escala, dos ervais plantados. Por ser uma espécie nativa e facilmente encontrada, principalmente na região da Floresta Ombrófila Mista (Floresta com Araucária), não houve preocupação em desenvolver técnicas adequadas para seu manejo e produção. Isto levou à diminuição das áreas produtoras e a conseqüente transformação do setor ervateiro de exportador para importador de matéria-prima (DA CROCE *et al.*, 1994).

Alguns aspectos da biologia reprodutiva da erva-mate são pouco conhecidos, apesar de ser uma espécie de uso secular. Os estudos sobre essa espécie mostraram que as sementes apresentam dormência, por imaturidade embrionária, necessitando de um período após a maturação dos frutos para

iniciar o processo de germinação. Isto geralmente leva a uma germinação desuniforme e distribuída ao longo de um extenso período, o que se constitui no principal problema para a análise de sementes e a produção de mudas.

Desta forma, são necessários estudos que visem estabelecer quais as condições mais favoráveis para a superação das causas que levam as sementes de *I. paraguariensis* a entrarem em dormência com a conseqüente germinação das sementes e redução do tempo de produção de mudas.

O presente trabalho tem por objetivo:

- avaliar o comportamento germinativo das sementes de erva-mate, quando submetidas à diferentes temperaturas, substratos, presença e ausência de luz, e tempos de estratificação;
- verificar a relação entre os dados obtidos nos testes de tetrazólio e de germinação em laboratório, e
- estabelecer a relação entre os resultados do teste de germinação em laboratório e o desenvolvimento embrionário nos diferentes tempos de estratificação.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 CARACTERIZAÇÃO DA ESPÉCIE

2.1.1 Taxonomia

Ilex paraguariensis pertence à família Aquifoliaceae. Esta é constituída por 3 gêneros: *Ilex*, *Nemopanthus* e *Phelline*. Na América do Sul ocorre apenas o gênero *Ilex*, amplamente distribuído nas zonas tropicais e temperadas, exceto nas regiões áridas e árticas (EDWIN; REITZ, 1967; DIMITRI, 1959; SCHULTZ, 1984; GIBERTI, 1993). GIBERTI (1995), em revisão do *Index Kewensis* e seus 19 suplementos, além da *Monografia Aquifoliacearum* e outros trabalhos, contabilizou, preliminarmente, 705 espécies do gênero *Ilex* no mundo, 318 para as três Américas e Caribe e, especificamente, 218 espécies para a América do Sul, citando para 68 o Brasil. EDWIN e REITZ (1967) citam 9 espécies para Santa Catarina e COELHO (1995) cita 8 espécies para o Rio Grande do Sul. *Ilex paraguariensis* foi classificada pelo naturalista francês August de Saint Hilaire e publicada em 1822, nas memórias do Museu de História Natural de Paris (MATTOS, 1985).

Nomes vulgares: erveira, erva, congonha, erva-verdadeira, erva-mate, mate, erva-congonha, congonha grande, orelha-de-burro, erva piriquita; yerba-mate, árbol-del-mate, mate, caá, caá-guazú, palo-de-yerba-mate, yerba-sénorita, ka'a (INOUE; RODERJAN; KUNIYOSHI, 1984; EDWIN; REITZ, 1967; REITZ; KLEIN; REIS, 1988; GIBERTI, 1979; CARVALHO, 1994).

2.1.2 Morfologia

I. paraguariensis, caracteriza-se por ser uma espécie de hábito arbóreo, que pode atingir até 15 m de altura, tronco reto ou pouco tortuoso, casca marrom ou acinzentada, áspera até rugosa. A ramificação é racemosa, com copa alongada ou irregular, perenifolia, folhas verde-escuro (GIBERTI, 1979; EDWIN; REITZ, 1967; REITZ; KLEIN; REIS, 1988; INOUE; RODERJAN; KUNIYOSHI, 1984; MATTOS, 1985). Vários autores salientam a grande diversidade na morfologia foliar, como EDWIN; REITZ (1967), GIBERTI (1979), MATTOS (1985), WINGE (1995).

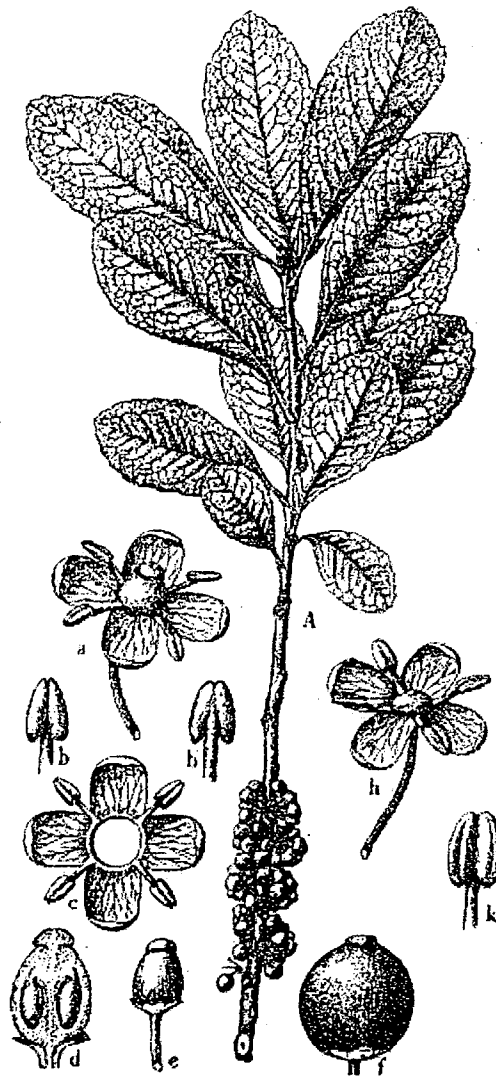
Planta dióica, com um dos sexos abortivos. As flores estaminadas possuem ovário rudimentar (não funcional) e as flores carpeladas têm estaminódios (não funcional), como mostra a figura 1 (FERREIRA, 1983; HEUSER, 1990). Nas flores masculinas as anteras são tetrasporangiadas com deiscência longitudinal (SANTOS; MARIATH; COCUCI, 1992). As flores femininas, apresentam rudimento seminal único ou excepcionalmente dois por lóculo (HEUSER; MARITH; COCUCI, 1992).

O fruto é classificado, diferentemente, como baga-drupa por EDWIN; REITZ (1967), como drupa por MELLO (1980), como drupóide por KUNIYOSHI (1983), ou ainda como nukulânio por GIBERTI (1979) e AYUB *et al.* (1992), para quem este termo é o mais indicado devido ao seu aspecto morfoanatômico. FONT QUER (1953), define nukulânio como fruto tetralocular, tetraspérmico, com mesocarpo carnoso ou coriáceo, com endocarpo endurecido e geralmente lenhoso. Já, SPJUT (1994) considera os frutos de *Ilex* como drupa, baseado na morfologia de *Ilex*

opaca. Este autor, define drupa como fruto constituído por um ou mais (geralmente 1-5) pirenos, os quais contém uma ou mais sementes.

Externamente o fruto é globoso e de superfície lisa. O pericarpo apresenta-se constituído por uma epiderme de cutícula espessa e um parênquima de preenchimento não-especializado. Durante o processo de maturação o fruto muda sua coloração, variando de verde, branco, várias tonalidades de rosa e o vermelho arroxeadado quando maduro (HEUSER, 1990; MARIATH *et al.*, 1995).

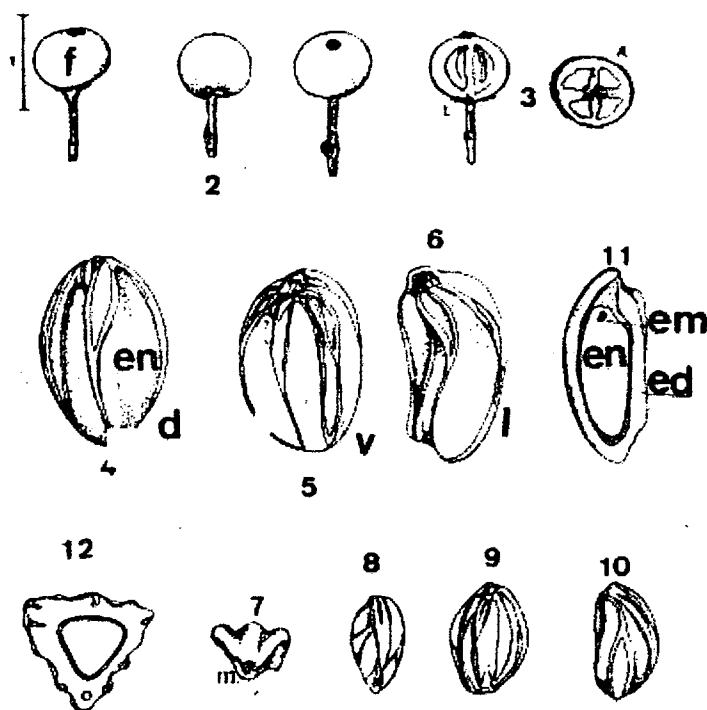
FIGURA 1 - FLORES FEMININAS E MASCULINAS DE *I. paraguariensis*



LEGENDA: A - Ramo com frutificação; a - flor feminina; b - estaminódios; c - corola com estaminódios; d - ovário (corte longitudinal); e - ovário; f - fruto; h - flor masculina; k - estame fértil.
 FONTE: DIMITRI, 1959.

O pireno (fig. 2) tem consistência lenhosa e coloração parda. Os envoltórios compreendem, aproximadamente, entre 6 a 25 estratos lignificados, com cristas características na zona do endocarpo, formadas por feixes vasculares lignificados (AYUB *et al.*, 1992). A semente é trigona, de 3,5 a 4,0 mm de comprimento, de 2,0 a 2,5 mm de largura, com dois envoltórios, inclui endosperma e embrião. O endosperma apresenta reserva de natureza lipoprotéica. O embrião está localizado na região micropilar do endosperma, ocupando uma pequena área no interior deste tecido (MELLO, 1980; HEUSER, 1990).

FIGURA 2 - FRUTOS E SEMENTES DE *I. paraguariensis*



LEGENDA: 1-5 - Frutos em várias posições e detalhes da posição dos pirenos (f= fruto); 6-12 - Pirenos em várias posições (m= micropila); 11- Corte longitudinal e semente (en=endosperma, em=embrião, ed=endocarpo); 12- Corte transversal e semente.

FONTE: KUNIYOSHI, 1983.

2.1.3 Distribuição geográfica

A distribuição geográfica de *I. paraguariensis*, situa-se entre as coordenadas 21° a 30° S e 48° 30' a 56° 10' W, com preferência pelas regiões de maiores altitudes, entre 500 e 1500 m e clima do tipo Cfb, segundo a classificação de W. Köppen (OLIVEIRA; ROTTA, 1985). Devido à dependência da interação temperatura-umidade, sua ocorrência fica limitada entre as isotermas de 15,5° C e 25,5° C, onde a precipitação pluviométrica varia entre 1.500 a 2.500 mm por ano (ARANDA, 1986).

É uma espécie da América do Sul, com área de dispersão compreendendo Bolívia, Paraguai, Argentina, Uruguai e Brasil, perfazendo aproximadamente 540.000 Km² (3% da América do Sul). Em território brasileiro encontra-se na região centro-oeste do Rio Grande do Sul, em quase todo o estado de Santa Catarina e região centro-sul do estado do Paraná, além de uma pequena zona do sudeste do estado de São Paulo e região sul do estado do Mato Grosso do Sul, abrangendo uma área de 450.000 Km² (OLIVEIRA; ROTTA, 1985).

I. paraguariensis é característica da Floresta Ombrófila Mista (Floresta com Araucária), sempre em associação nitidamente evoluída com *Araucaria angustifolia* (CARVALHO, 1994) e onde também predominam *Ocotea pulchella* e a *Slonea lasiocoma* (REITZ; KLEIN; REIS, 1988; EDWIN; REITZ, 1967).

Espécie esciófita e seletiva higrófito, por vezes formando agrupamentos bastante densos e muito característicos (REITZ; KLEIN; REIS, 1988). A classificação como espécie clímax, é evidenciada pela necessidade de sombreamento para sua sobrevivência e desenvolvimento na fase inicial de

crescimento, seja em condições naturais ou em plantios (KASPARY, 1985; FLOSS, 1994).

2.1.4 Aspectos reprodutivos

Fenologia - *I. paraguariensis* apresenta um ciclo anual, caracterizado por uma seqüência de fases, cada uma com exigências particulares em relação aos fatores climáticos. O processo de floração ocorre durante os meses de setembro a dezembro, sendo que o período predominante é o mês de outubro. A frutificação ocorre entre os meses de janeiro e abril, preferencialmente, em fevereiro e março (EDWIN; REITZ, 1967; AMARAL, 1979; INOUE; RODERJAN; KUNIYOSHI, 1984; ZANON, 1988; REITZ; KLEIN; REIS, 1988). Esta espécie é de fecundação cruzada obrigatória (WOLLHEIM, 1991). FERREIRA *et al.* (1983), examinaram 1.290 plantas e encontraram a proporção aproximada de 7:5 plantas estaminadas para pistiladas. Enquanto, RESENDE, STURION e MENDES (1995) encontraram a proporção média de 8:5 plantas, avaliando 427 plantas de três procedências do Paraná.

FERREIRA *et al.* (1983) observando plantas de erva-mate na região de Venâncio Aires e Cruzeiro do Sul - RS, constataram que é uma espécie entomófila, sendo visitada por inúmeros insetos (Hymenoptera, Coleoptera, Hemiptera e Diptera), sem especificidade de polinizadores. Já, FLOSS e KAGEYAMA, citados por FLOSS (1994, p. 7), concluíram que das 119 espécies de insetos que visitaram as flores de erva-mate, somente *Apis mellifera* e três dípteros (famílias Sciaridae, Syrphidae e Muscidae), seriam efetivos polinizadores, na região de Chapecó em Santa Catarina.

A produção e a maturação dos frutos é heterogênea, havendo grande variabilidade inter e intra populações. A maturação dos frutos e sementes varia em um mesmo indivíduo e entre indivíduos, sendo encontrados na mesma época frutos verdes e maduros (ZANON, 1988).

A quantidade de frutos produzidos por uma árvore adulta varia com a condição a que ela está exposta. A pleno sol, a produção é maior, em torno de 10 kg, enquanto que na sombra diminui para aproximadamente 5 kg. Para a obtenção de 1 kg de sementes são necessários 6 a 9 kg de frutos (ZANON, 1988).

A dispersão dos pirenos é zoocórica, principalmente por aves (CARVALHO, 1994). Estes permanecem no solo até a primavera, quando iniciam o processo de germinação, dando origem a uma nova planta.

Produção de mudas - A produção de mudas de erva-mate pode ser feita a partir de semente, de cultura de embriões (propagação sexuada) ou por estaquia (propagação assexuada).

A produção de mudas, a partir de sementes, inicia-se com a coleta dos frutos, quando estes atingem coloração vermelho-arroxeadado. Posteriormente, são macerados em peneiras com água corrente para a despolpa e lavados para retirar as impurezas (CHRISTIN, 1988).

Alguns trabalhos indicam que as sementes podem ser armazenadas por um reduzido período de tempo. CUNHA e FERREIRA (1987), sugeriram que a estocagem a baixa temperatura (4° C), com baixa tensão de oxigênio, retardaria os processos degenerativos, prolongando a viabilidade. FONTANA *et al.* (1990), observaram que as sementes podem ser conservadas à temperatura ambiente até 60 dias, com o máximo de poder germinativo aos 30 dias, prolongando-se até 150

dias a viabilidade, quando armazenadas a 5° C (+ ou - 1). Já, ZANON (1993), recomenda o armazenamento em saco de papel em câmara seca (15° C e 40% U.R.).

A erva-mate necessita de um longo período para iniciar o processo de germinação. Para proteger as sementes durante o período de espera e uniformizar a germinação, os agricultores adotam a estratificação (CORREIA FILHO, 1957; ALENCAR, 1960), técnica desenvolvida para degradar o endocarpo e facilitar a germinação.

Esse processo consiste em deixar as sementes em camadas de até 2 cm, entre duas camadas de areia de 8 a 10 cm, em um recipiente, por um período de aproximadamente cinco a seis meses. É importante a manutenção da umidade no recipiente (ZANON, 1988).

A semeadura pode ser efetuada em sementeira ou diretamente nos recipientes, com diversos tipos de substrato, sendo que a mistura de areia com terra de mato, na proporção de 2:1, apresenta as melhores condições para o desenvolvimento das mudas (STURION, 1988). Quando em sementeira, a semeadura deve ser feita à lanço, entre os meses de setembro a novembro, na quantidade de 350 a 400 g de sementes estratificadas por metro quadrado, cobrindo-as com uma camada fina de terra peneirada. Após a germinação as mudas devem ser repicadas para recipientes apropriados quando atingirem a altura de 3 a 5 cm (DA CROCE, 1992).

O processo de produção de mudas por este método pode chegar a durar até 30 meses, desde a coleta da semente até o momento do plantio definitivo a campo

(SCHUCH, 1985). É a forma de propagação mais comum, pois tem a vantagem da obtenção de grande variabilidade na descendência, com indivíduos adaptados a diferentes regiões (GIBERTI, 1992b).

A cultura de embriões, ainda é utilizada somente de forma experimental. FERREIRA *et al.* (1984, 1991) demonstraram que a excisão dos embriões e seu cultivo em meio de cultura com ágar, pode levar à maturação embrionária e à germinação, obtendo uma germinação normal em 15 dias, após o início do cultivo dos embriões em *in vitro*, observando ainda, que há respostas diferentes de acordo a árvore matriz. CUNHA (1990) definiu as melhores condições de cultura dos embriões de erva-mate *in vitro*.

A produção de mudas por estaquia, apresenta a vantagem de reduzir o tempo de produção de mudas para 6 meses (GRAÇA *et al.*, 1988, 1989). A obtenção de estacas enraizadas é relativamente difícil e geralmente utilizam-se ramos jovens, independente da aplicação ou não de hormônios. Esta técnica ainda requer mais estudos para aumentar a percentagem de enraizamento (GIBERTI, 1992b).

2.2 GERMINAÇÃO DE SEMENTES

A germinação é um fenômeno biológico essencial para perpetuação das espécies, sendo que nos vegetais superiores, a semente é o meio mais comum para a reprodução (POPINIGIS, 1977; KRAMER; KOZLOWSKI, 1979).

O conceito de germinação é utilizado de forma ampla mas, segundo BEWLEY e BLACK (1984), o processo de germinação inicia com a entrada de água na semente e encerra com o início da elongação do eixo embrionário. Entretanto,

existem diferenças de conceituação entre as diversas áreas que estudam este processo. FONT QUER (1953) conceitua germinação como a retomada da atividade vital, interrompida durante um certo tempo, promovendo o crescimento do embrião, com o conseqüente rompimento do tegumento pela radícula. Do ponto de vista tecnológico, a germinação é reconhecida como tal, desde que as plântulas apresentem tamanho suficiente para que se possa avaliar a normalidade de suas partes e sua possibilidade de sobrevivência. Para a fisiologia, a germinação é simplesmente o início da atividade metabólica após o período de repouso (POPINIGIS, 1977; CARVALHO; NAKAGAWA, 1983; BORGES; RENA, 1993).

2.2.1 Fatores que afetam a germinação

A germinação é uma seqüência de eventos fisiológicos influenciada por vários fatores intrínsecos e extrínsecos às sementes. Cada fator pode atuar por si ou em interação com os demais. Os fatores externos exercem influência decisiva sobre o processo de germinação, sendo considerados como essenciais, a água, a temperatura e o oxigênio, além da luz para determinadas espécies (POPINIGIS, 1977; CARVALHO; NAKAGAWA, 1983; CÍCERO, 1986; BORGES; RENA, 1993)

Água - é um fator imprescindível, pois é com a absorção de água que se inicia o processo de germinação. Cada espécie possui um nível adequado de hidratação, a qual permite a reativação dos processos metabólicos (POPINIGIS, 1977; BORGES ; RENA, 1993).

A água também atua no tegumento, amolecendo-o, favorecendo a penetração do oxigênio e permitindo a transferência de nutrientes solúveis para as diversas partes da semente (TOLEDO; MARCOS FILHO, 1977). O aumento de volume provocado pela entrada de água, também contribui para o rompimento da casca, facilitando a emergência do eixo embrionário. Se a casca não se romper, a estrutura emergente, ainda frágil, poderá não conseguir rompê-la (CARVALHO; NAKAGAWA, 1983).

A rapidez de absorção de água pela semente depende de alguns fatores, como: espécie (composição química diferentes), disponibilidade de água, área de contato e temperatura de embebição (CARVALHO; NAKAGAWA, 1983, POPINIGIS, 1977).

Em geral, as sementes viáveis absorvem água do solo quando este estiver na capacidade de campo (KRAMER; KOZLOWSKI, 1979). Em laboratório, para a realização de teste de germinação, é necessário escolher o material adequado para o substrato, levando em consideração o tamanho da semente, sua exigência de água e sensibilidade ou não à luz, além da facilidade que este oferece para o desenvolvimento das plântulas (FIGLIOLIA; OLIVEIRA; PIÑA-RODRIGUES, 1993).

As Regras de Análise de Sementes (BRASIL, 1992) indicam os seguintes materiais para uso como substrato: pano, papel-toalha, papel filtro, papel mata-borrão, terra e areia. Para as espécies florestais nativas existem poucas recomendações e prescrições, sendo testados outros materiais para substrato, tais como: vermiculita, carvão, esfagno (FIGLIOLIA; OLIVEIRA; PIÑA-RODRIGUES, 1993) e ágar (MEDEIROS, 1996). A areia e a vermiculita são substratos com excelentes qualidades, pois apresentam baixos índices de contaminação por

microorganismos e proporcionam bom contato entre a semente e a água, sendo recomendados para as sementes com prolongado período de germinação, como: *Pinus caribea*, *Quercus* spp, *I. paraguariensis*, *Araucaria angustifolia*, *Lecythis pisonis*, *Nectandra* spp (FAO, 1991; FIGLIOLIA; OLIVEIRA; PIÑA-RODRIGUES, 1993). Outro material que está sendo testado é o ágar, pois segundo SMITH e PROBERT (1996), este é inerte e eficiente, além de liberar a água de forma lenta e contínua, provocando baixo nível de estresse nas sementes.

É importante observar, que o excesso de umidade, geralmente, provoca decréscimo na germinação, por impedir a penetração do oxigênio, reduzindo todo o processo metabólico resultante. Da mesma forma, a deficiência hídrica também é prejudicial à germinação, já que interfere nas condições metabólicas da semente (POPINIGIS, 1977).

Temperatura - é um fator que influencia todos os processos bioquímicos e fisiológicos, interferindo na percentagem, na velocidade e na uniformidade da germinação (POPINIGIS, 1977).

O efeito da temperatura pode ser expresso em termos de temperaturas cardeais, isto é, uma mínima, uma ótima e uma máxima. A temperatura ótima é considerada aquela em que ocorre o máximo de germinação, no menor tempo; a máxima e a mínima é quando não há germinação. Acima e abaixo dos limites máximo e mínimo, respectivamente, pode ocorrer a morte das sementes (POPINIGIS, 1977; KRAMER; KOZLOWSKI, 1979; BORGES; RENA, 1993).

Algumas sementes germinam em uma amplitude maior de temperatura, ao contrário, outras o fazem dentro de limites estreitos. Para um grande número de

espécies subtropicais e tropicais, a faixa de 20° C a 30° C mostrou-se adequada (BORGES; RENA, 1993). ANDRADE *et al.* (1995) verificaram que *Bowdichia virgilioides* (sucupira-preta), germina dentro de uma ampla faixa de temperatura (15° C a 35° C), sendo de 25° C a temperatura ótima. Para as sementes de *Miconia cinnamomifolia* (jacatirão), a faixa de temperatura é de 20° C a 35° C, sendo que 25-35° C, 30° C e 20-30° C apresentaram os maiores valores na percentagem de germinação (PEREIRA; ANDRADE, 1995).

Embora sementes de muitas espécies germinem em temperaturas constantes, outras necessitam de alternância de temperatura, sendo provavelmente uma adaptação às oscilações de temperaturas relativas aos períodos diurnos/noturnos que ocorrem na natureza (KRAMER; KOZLOWSKI, 1979; CARVALHO; NAKAGAWA, 1983). Algumas, germinam melhor sob temperaturas noturnas mais baixas que as diurnas, apresentando resultados satisfatórios nas temperaturas alternadas de 20-30° C e outras em 10 -15° C, correspondendo aos períodos noturno e diurno, respectivamente (BORGES; RENA, 1993). ALBRECHT e COLLI (1995), testando várias temperaturas (25° C, 30° C, 35° C, 25-30° C e 30-35° C) e substratos (terra preta, areia, papel filtro, vermiculita e rolo de papel), constataram que a temperatura alternada de 25-30° C, independente do substrato, mostrou-se a melhor condição para a germinação de *Astronium urundeuva* (aroeira). As sementes de *Trema micrantha* (crindiúba), com diferentes idades, não responderam à oscilação de 5° C, quando a temperatura mais baixa foi 20° C. Mas à oscilação de 5 a 15° C (20-30° C, 20-35° C, 25-30° C e 25-35° C), apresentaram efeito favorável na germinação (CASTELLANI; AGUIAR, 1997). Em sementes de *Myroxylon peruiferum* (cabreúva-vermelha), FIGLIOLIA (1997) observou o efeito

positivo da temperatura alternada 20-30° C na germinação, associado à susceptibilidade em presença de luz branca, demonstrando sua adaptação para germinar e desenvolver-se em áreas de grandes clareiras.

Oxigênio - para POPINIGIS (1977), as plantas evoluíram ao ponto onde suas sementes germinam bem nas concentrações de gases disponíveis no ar atmosférico, em condições normais.

Os efeitos do oxigênio na germinação de sementes são complexos e não são bem entendidos. Muitas sementes necessitam de oxigênio para germinar, mas essa necessidade depende da espécie e do grau de dormência da semente (CORBINEAU; CÔME, 1995).

O oxigênio é necessário para a promoção de reações metabólicas importantes na semente, especialmente a respiração. Ainda que, nos primeiros momentos, a respiração seja geralmente anaeróbica, logo passa a ser dependente do oxigênio, mesmo antes que a radícula rompa o tegumento (BORGES; RENA, 1993). Durante esse período, se a concentração de O₂ for baixa, haverá o retardamento do processo, com influência na formação da plântula (FIGLIOLIA; OLIVEIRA; PIÑA-RODRIGUES, 1993).

A velocidade de absorção de oxigênio, durante a germinação, é diferente entre as espécies e é afetada pelo tamanho da semente, estrutura do tegumento e a distância da semente em relação ao oxigênio disponível (CARVALHO; NAKAGAWA, 1983; BORGES; RENA, 1993). CORBINEAU e CÔME (1995), salientam a importância da influência dos fatores ambientais como a temperatura, pressão osmótica no substrato e luz para a concentração de oxigênio no processo de

germinação. Em algumas sementes não dormentes, a necessidade de oxigênio diminui com o decréscimo da temperatura, como no caso das sementes de *Lycopersicon esculentum* (tomate) e de *Cyclamen persicum* (ciclame).

Luz - a luz nem sempre é um fator imprescindível e limitante para a germinação de sementes, pois a sensibilidade destas à luz é variável, de acordo com a espécie. As sementes podem ser classificadas em três grupos: fotoblásticas positivas; fotoblásticas negativas e indiferentes (POPIGINIS, 1977; FIGLIOLIA; OLIVEIRA; PIÑA-RODRIGUES, 1993).

A ativação das sementes pela luz está ligada a um sistema de pigmentos denominados fitocromo. Em geral, a luz vermelha (600-700 nm) promove a germinação, ao passo que a luz vermelho-distante (720-760 nm) a inibe. A luz branca, devido à sua composição espectral e às características de absorção do fitocromo, tem efeito semelhante ao da luz vermelha (KRAMER; KOZLOWSKI, 1979; KENDRICK; FRANKLAND, 1981).

A ação do fitocromo ainda não foi completamente esclarecida, mas, aparentemente, ele está associado ao funcionamento das membranas biológicas. Provavelmente, modulando sua permeabilidade, controlando o fluxo de inúmeras substâncias das células e entre elas, participando também da expressão gênica de vários caracteres. Como por exemplo, sua própria biossíntese e a cor verde da planta que se dá concomitantemente com processo de germinação (BORGES; RENA, 1993). Nas sementes sensíveis à luz, a atividade metabólica e a mitose no embrião, são estimuladas pela luz vermelha e inibidas pela luz vermelha-distante (KRAMER; KOZLOWSKI, 1979).

O processo de embebição permite avaliar a sensibilidade das sementes à luz, e esta, é proporcional ao aumento do tempo de embebição, alterando a velocidade e o resultado final da germinação (CARVALHO; NAKAGAWA, 1980; MAYER; POLJAKOFF-MAYBER, 1982). Essa sensibilidade também é freqüentemente dependente da temperatura, como por exemplo, no caso das sementes fotobláticas negativas de *Amaranthus caudatus*, em que a germinação é favorecida por altas temperaturas (KENDRICK; FRANKLAND, 1981).

De modo geral, as espécies pioneiras, como *Cecropia cineræa*, reconhecem a luz do tipo vermelha, enquanto que espécies de estádios sucessionais mais avançados, podem ou não germinar em resposta à luz direta (KAGEYAMA; VIANA, 1991).

2.2.2 Testes de viabilidade

Os testes de viabilidade visam determinar se a semente é ou não capaz de germinar, e conseqüentemente, a qualidade fisiológica da semente, podendo ser diretos ou indiretos. Os testes diretos avaliam a germinação e os indiretos, a capacidade germinativa da semente, medindo outros parâmetros, como por exemplo as atividades metabólicas e enzimáticas (POPINIGIS, 1977; KRAMER; KOZLOWSKI, 1979).

O método direto mais utilizado é o teste de germinação que determina, numa amostra, a proporção de sementes vivas e capazes de produzir plantas normais sob condições favoráveis. Na execução do teste são oferecidas as condições mais

favoráveis possíveis (POPINIGIS, 1977; CARVALHO; NAKAGAWA, 1983; FAO, 1991).

Nas Regras para Análise de Sementes são prescritas, para várias espécies, as condições ótimas para germinação, métodos e técnicas específicas (BRASIL, 1992). Porém, para a maioria das espécies florestais, tropicais e subtropicais, ainda não existem métodos padronizados (FIGLIOLIA; OLIVEIRA; PIÑA-RODRIGUES, 1993).

Os testes indiretos foram desenvolvidos para estimar a viabilidade das sementes de espécies que necessitam de períodos prolongados para a execução dos testes de germinação. Entre os indiretos estão teste de corte, teste do embrião exposto, métodos radiográficos e peróxido de hidrogênio. Dentre os mais utilizados está o teste de tetrazólio, que estima a viabilidade das sementes com relativa precisão e em curto espaço de tempo (FAO, 1991).

O teste de tetrazólio avalia o potencial de germinação baseado estritamente nas condições internas das sementes, enquanto que o teste de germinação é o resultado da combinação da qualidade da semente e as condições de germinação (COLBRY *et al.*, 1961).

Para a aplicação do teste de tetrazólio é necessário o conhecimento da estrutura da semente, particularmente o eixo embrionário e o processo geral que envolve as técnicas de coloração do teste (ISELY, 1952).

O teste de tetrazólio é caracterizado pela redução de um indicador, no interior das células vivas da semente. No sistema enzimático envolvido no processo de respiração, as enzimas desidrogenases atuam na transferência de íons de hidrogênio para o tetrazólio, o qual funciona como receptor dos mesmos. O

tetrazólio é então reduzido à formazan, um produto insolúvel e vermelho (LEADEM, 1984; BRASIL, 1992). Como o pigmento vermelho não é difusível, forma-se uma clara delimitação entre o tecido que respira (vivo) e o que não respira (morto). A intensidade de coloração e os padrões em que esta ocorre são os parâmetros mais importantes na avaliação (DELOUCHE *et al.*, 1962).

2.2.3 Dormência de sementes

A dormência é um fenômeno pelo qual a semente, após a maturação, mesmo sendo viável e tendo as condições ambientais ideais; tem seu desenvolvimento paralisado por fatores estruturais ou fisiológicos. A fase de dormência se contrapõe à fase de repouso, na qual o desenvolvimento está paralisado pela inexistência de fatores ambientais favoráveis para a germinação (POPIGINIS, 1977; CARVALHO; NAKAGAWA, 1983; ROMERO, 1989).

Como a maioria dos mecanismos adaptativos, a dormência tem uma origem evolutiva, estando condicionada geneticamente. É um caráter básico e a expressão real da dormência e de seu grau de intensidade dependem fortemente das condições ambientais em que a semente se forma e persiste no solo (CARVALHO; NAKAGAWA, 1983; ROMERO, 1989; PROBERT, 1992).

Ecologicamente, a dormência é um dos fatores que contribui para preservação das espécies, distribuindo a germinação ao longo do tempo, proporcionando desta forma, a sobrevivência do maior número possível de sementes disseminadas e das plântulas emergidas (KRAMER; KOSLOWSKI, 1979; CARVALHO; NAKAGAWA, 1983; BEWLEY; BLACK, 1984).

Os tipos de dormência podem ser divididos em dois grandes grupos: a dormência extra-embrionária e a dormência embrionária (ROMERO, 1989; FAO, 1991). A dormência extra-embrionária é devida principalmente ao tegumento e a inibidores químicos, e a dormência embrionária, às causas inerentes ao próprio embrião (ROMERO, 1989; BEWLEY; BLACK, 1984).

As sementes que possuem tegumentos impermeáveis estão sujeitas à interferências na absorção de água e oxigênio, além de apresentar resistência mecânica (tegumentos duros) ao desenvolvimento do embrião, impedindo que os inibidores presentes no embrião e em outros tecidos difundam-se para o exterior (KRAMER; KOZLOWSKI, 1979; BEWLEY; BLACK, 1984, ROMERO, 1989).

A impermeabilidade do tegumento é comum em sementes de Fabaceae, Cannaceae, Convolvulaceae, Chenopodiaceae e Malvaceae. Este tipo de dormência parece depender, principalmente, da impregnação das células com diversos compostos químicos hidrófobos, ou em outros casos, da existência de uma capa, de lipídios não celular, situada entre o tegumento interno e o endosperma, bem como a formação de mucilagem ao redor da semente (KRAMER; KOZLOWSKI, 1979; CARVALHO; NAKAGAWA, 1983; ROMERO, 1989)

A dormência embrionária ocorre em função da imaturidade morfológica ou/e fisiológica do embrião. Isto ocorre quando o fruto, ao atingir a maturidade, desprende-se da planta-mãe e o embrião da semente ainda necessita de um período (sob condições favoráveis) para completar seu desenvolvimento e germinar (KRAMER; KOZLOWSKI, 1979; CARVALHO; NAKAGAWA, 1983; ROMERO, 1989; PROBERT, 1992).

No desenvolvimento dos embriões em dicotiledôneas, existem diferenças nos estádios de desenvolvimento desde zigoto até o embrião, sendo caracterizadas cinco formas: globular, coração, pós-coração, torpedo e maduro, conforme a morfologia externa. Quando ocorre um período de desenvolvimento do embrião após a maturação do fruto, este é definido como embriogênese tardia (BARRET, 1962 citado por HEUSER, 1990, p. 3)

A imaturidade morfológica está presente em cerca de 46 gêneros de angiospermas, principalmente nas famílias Aquifoliaceae, Araliaceae, Magnoliaceae, Ranunculaceae e Papaveraceae (MARTIN, 1946).

O desenvolvimento incompleto dos embriões em algumas espécies dos gêneros *Ilex*, *Magnolia*, *Liriodendron* e *Torreya*, são propriedades genéticas, desenvolvidas como consequência da adaptação destes organismos ao ambiente (SIMANCÍK, 1967).

O gênero *Ilex*, como por exemplo *Ilex opaca*, apresenta dormência causada pela combinação de dois fatores, endocarpo duro e imaturidade embrionária (BONNER, 1974).

Em *I. paraguariensis*, vários trabalhos identificaram que os embriões se encontram em estágio rudimentar (coração) quando os frutos já estão maduros (MELLO, 1980; FERREIRA, 1984; KUNIYOSHI, 1983; FERREIRA *et al.*, 1991; REVERS; WINGE, 1992). AMARAL *et al.* (1989) estudando quatro populações nativas (Pinhão - PR, Catanduvas - SC, Erechim e Veranópolis - RS), verificaram que nos frutos brancos (ou antes) instala-se a dormência que impede o avanço do desenvolvimento dos embriões. Além, de observarem que ocorre um gradiente norte-sul no grau de maturidade máxima dos embriões das sementes. WINGE *et al.*

(1995), mostraram que o estágio de desenvolvimento embrionário predominante foi o de coração, tanto em frutos brancos como pretos.

A imaturidade fisiológica ocorre, quando não acontece germinação, devido a algum impedimento fisiológico, mesmo que o embrião esteja morfológicamente maduro. Os fatores que provocam a dormência podem estar localizados no eixo embrionário, nos cotilédones ou em ambas as partes (ROMERO, 1989; BEWLEY; BLACK, 1984). Este tipo de dormência é comum nas sementes de Rosaceae (*Malus silvestris* e *Prunus persica*), Juglandaceae e Pinaceae (KRUGMAN; STEIN; SCHIMITT, 1974; GREULACH, 1973).

PIÑA-RODRIGUES e MOTA (1995) avaliando a germinação das sementes de *Virola surinamensis* constataram que a estratificação em água corrente por 7 dias, acelera e uniformiza a germinação, provavelmente relacionada com a lixiviação de inibidores existentes no embrião.

Os tratamentos aplicados na superação de dormência, visam obter incremento na percentagem e velocidade de germinação, bem como sua uniformidade (FAO, 1991). Esses tratamentos podem ser feitos tanto por métodos químicos, quanto físicos. Tratamentos específicos, podem levar à superação da dormência em algumas espécies, e variando de acordo com o grau e o tipo (POPINIGIS, 1977; KRAMER; KOZLOWSKI, 1979).

A redução da impermeabilidade dos tegumentos pode ser obtida pela escarificação mecânica ou química. RAMOS e BIANCHETTI (1984) submeteram as sementes de *Peltophorum dubium* à ação do ácido sulfúrico por 4 a 8 minutos e obtiveram bons resultados de germinação. Para outras espécies, como a pioneira *Rapanea ferruginea*, a alternância de temperatura pode ser empregada, pois

corresponde às flutuações que ocorrem nos ambientes a que estão expostas na natureza (HERING de QUEIRÓZ; FIAMONCINI, 1991). Na natureza, a superação deste tipo de dormência ocorre gradativamente pela decomposição dos tegumentos pelas bactérias e fungos ou pelo fogo e alternância de temperatura que provocam o rompimento dos tegumentos (GREULACH, 1973).

A estratificação em baixas temperaturas é um método utilizado, quando há dormência embrionária ou fisiológica, principalmente para espécies de clima temperado. Este método consiste em colocar as sementes em camadas alternadas com outro material (areia ou vermiculita) que conserva a umidade, em baixas temperaturas (1 a 5° C), por um período de 30 a 120 dias (CROCKER; BATON, 1957; KRUGMAN; STEIN; SCHIMITT, 1974; KRAMER; KOZLOWSKI, 1979; FAO, 1991).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS

Os frutos de *I. paraguariensis* (erva-mate) foram coletados pela equipe do Instituto Ambiental do Paraná (IAP), em ervais no município de Guarapuava, localizado na região Centro-Sul Paranaense. Trata-se de uma região com altitude média de 1.000 m e clima do tipo Cfb - Subtropical Úmido Mesotérmico (Köppen), com temperatura nos meses mais quentes, inferior a 22° C e nos mais frios, inferior a 18° C, sendo 17° C a temperatura média anual, ficando a precipitação média anual entre 1.700 mm a 1.900 mm.

Os frutos foram macerados e despulpados para obtenção das sementes (pirenos). O lote foi classificado em mesa de gravidade marca Damas, para uma maior uniformidade, sendo classificadas quanto peso específico, sendo aproveitadas as provenientes da bica A, que correspondem as sementes com maior densidade.

O material após selecionado foi estratificado no viveiro do IAP, em São José dos Pinhais, a partir do dia 20 de março de 1996. A estratificação consistiu em colocar uma camada de 5 cm de sementes entre duas camadas de areia, com mais ou menos 10 cm de espessura em caixas de madeira com 40 x 50 cm de tamanho e 25 cm altura. As caixas foram dispostas em uma mesa com um metro de altura, para facilitar a drenagem e em ambiente aberto sombreado por árvores. No anexo 1 constam os dados meteorológicos do período em que as sementes foram submetidas à estratificação.

Aproximadamente 3 kg do lote inicial foi transferido para o viveiro do Curso de

Engenharia Florestal da UFPR, em Curitiba, onde permaneceu estratificado em condições ambientais. Após a homogeneização do lote de sementes foram retiradas amostras para a determinação do peso de mil sementes, grau de umidade, do poder germinativo e vigor, avaliação da forma e tamanho dos embriões e teste de tetrazólio.

Estes testes foram realizados em três épocas:

- época 1: 134 dias de estratificação;
- época 2: 179 dias de estratificação;
- época 3: 222 dias de estratificação.

3.2 CARACTERIZAÇÃO DO LOTE DE SEMENTES

A caracterização do lote de sementes foi efetuada pelo peso de mil sementes, do número de sementes por quilo, do grau de umidade e das características biométricas das sementes.

Para o cálculo do peso de mil sementes foram utilizadas 8 amostras de 100 sementes, em cada uma das épocas. A determinação do grau de umidade foi obtido pelo método de estufa a 105°C, com duas amostras de cinco gramas cada, conforme recomendações das Regras de Análise de Sementes (BRASIL, 1992).

As características biométricas foram obtidas com as medidas de altura, largura e espessura dos pirenos estratificados, com o auxílio de paquímetro digital e expressas em milímetros. Em cada época de semeadura foram medidas 50 sementes.

3.3 TESTE DE GERMINAÇÃO

O comportamento germinativo da espécie foi avaliado pelos testes de germinação efetuados em três épocas (134, 179 e 222 dias de estratificação), variando os fatores temperatura, substrato e luz.

Para o fator temperatura foram testados quatro diferentes níveis, sendo três constantes e uma alternada. As temperaturas constantes foram de 20° C, 25° C e 30° C, sem controle de luz. A temperatura alternada foi de 20-30° C, sendo 20° C por 14 horas no período noturno (sem luz) e 30° C por 10 horas no período diurno (com luz).

Nas temperaturas constantes foram utilizados os germinadores do tipo Mangelsdorf e para a temperatura alternada foi utilizada câmara de germinação tipo B.O.D. MA 402, marca Marconi.

Quanto ao fator substrato foram utilizados areia, vermiculita e ágar. A areia foi peneirada em malha 1,7 mm, sendo utilizada a com granulometria inferior e esterilizada em estufa a 140° C por 4 horas. A vermiculita foi peneirada em duas malhas (1,0 e 1,7 mm), sendo aproveitada a com granulometria intermediária, esterilizada em estufa a 150° C por 4 horas. O ágar foi preparado à concentração de 1% (p/v), de acordo com MEDEIROS (1996).

Os substratos foram pesados e colocados em caixas "gerbox", para a areia foram utilizados 200 g e para a vermiculita foram 25 g. A estes substratos foram acrescentados 40 ml água destilada. A manutenção da umidade foi efetuada acrescentando-se água destilada sempre que necessário. Para o substrato ágar utilizou-se 80 ml de preparado e os "gerbox" foram revestidos com filme plástico para

evitar desidratção.

A variação do fator luz foi feita em dois níveis: presença e ausência. Na ausência de luz, os "gerbox" foram envolvidos com plástico preto e as leituras dos testes efetuadas em uma câmara escura, com lâmpadas revestidas com papel celofane verde.

A contagem do número de sementes germinadas foi efetuada duas vezes por semana, sendo considerada germinada a semente que apresentava a emissão da radícula, com no mínimo 5 mm.

Ao final dos testes de germinação foram realizados teste de tetrazólio e avaliação da forma e tamanho dos embriões em amostras de sementes não germinadas. No teste de tetrazólio foram utilizadas 100 sementes por tratamento, perfazendo um total de 7.200 sementes avaliadas. Na avaliação dos embriões foram utilizados 10 embriões por tratamento, totalizando 720 embriões avaliados.

3.4 TESTE DE TETRAZÓLIO

O teste de tetrazólio foi feito com uma amostra de 500 sementes (pirenos), dividida em cinco subamostras de 100 pirenos cada, com 4 repetições de 25, para cada época, sendo avaliadas um total de 1.500 sementes, retiradas ao acaso da porção de sementes puras.

O preparo das sementes foi realizado em quatro etapas: pré-condicionamento, exposição dos tecidos para coloração e pré-avaliação, coloração e avaliação.

- pré-condicionamento: os pirenos foram imersos em água destilada, sob temperatura de 30° C, por um período de 24 horas para facilitar o corte;
- exposição dos tecidos para coloração e pré-avaliação: os pirenos foram seccionados longitudinalmente, próximo ao eixo embrionário, colocando-se a parte da semente que continha o embrião na solução de tetrazólio e a descartando-se a outra. Isto, facilitou a penetração da solução de tetrazólio nos tecidos da semente. Na pré-avaliação foram descartadas as sementes vazias e as apresentavam em adiantado grau de deteriorização. Os cortes e a pré-avaliação foram feitas com auxílio de microscópio estereoscópico, Marca Wild Heerbrugg, com aumento 12 X;
- coloração: parte do pireno que continha o embrião foi submerso em solução de tetrazólio, em concentração de 0,1%, preparada conforme prescrito nas Regras de Análise de Sementes (BRASIL, 1992), durante 24 horas, na ausência de luz, em estufa à temperatura de 35° C;
- avaliação: após o período de coloração as sementes foram lavadas em água destilada para retirada da solução e avaliadas quanto à coloração (reação ao sal de tetrazólio) e consistência dos tecidos, com auxílio de microscópio estereoscópico, Marca Wild-Heerbrugg, em aumento 25 X. Para uma avaliação minuciosa os embriões foram expostos, sendo excisados das sementes, conforme AMARAL e ALCALAY (1982);

As sementes avaliadas foram classificadas segundo os padrões estabelecidos por AMARAL* (comunicação pessoal, 1996), de acordo com a tabela 1.

Foram consideradas sementes viáveis, as que apresentavam endosperma

* Dra. Doris Amaral- Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio Grande do Sul - FEPAGRO. Rua Gonçalves Dias, 570- Porto Alegre -RS

colorido sem embrião visível (Tabela 1/Padrão 1), endosperma e embrião coloridos, com cotilédones indefinidos ou definidos (Tabela 1/Padrão 3 e 4).

TABELA 1 - PADRÕES DE CLASSIFICAÇÃO PARA AVALIAÇÃO DAS SEMENTES DE *I. paraguariensis* NO TESTE DE TETRAZÓLIO.

PADRÃO	DESCRIÇÃO
1	Endosperma colorido sem embrião visível
2	Endosperma não colorido sem embrião visível
3	Endosperma colorido, embrião colorido, cotilédones definidos
4	Endosperma colorido, embrião colorido, cotilédones indefinidos
5	Endosperma colorido, embrião não colorido, cotilédones definidos
6	Endosperma colorido, embrião não colorido, cotilédones indefinidos
7	Endosperma não colorido, embrião não colorido, cotilédones definidos
8	Endosperma não colorido, embrião não colorido, cotilédones indefinidos
9	Endosperma não colorido, embrião colorido, cotilédones definidos
10	Endosperma não colorido, embrião colorido, cotilédones indefinidos
11	Deterioradas
12	Vazias

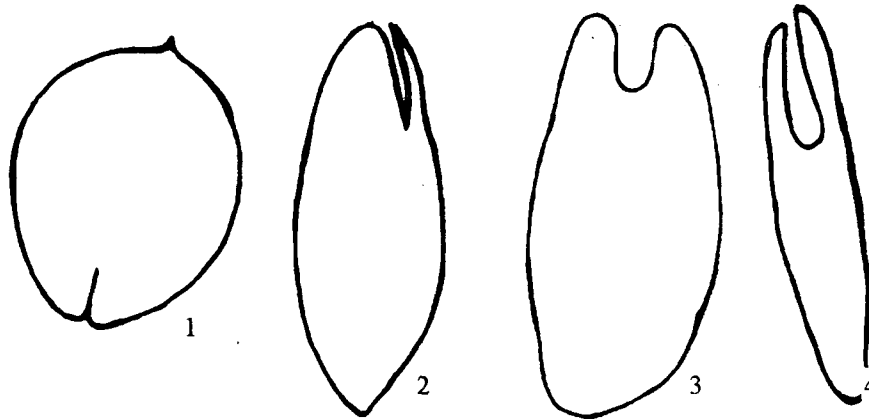
3.5 AVALIAÇÃO DA FORMA E TAMANHO DOS EMBRIÕES

A classificação dos embriões nos diferentes estádios de desenvolvimento (fig. 3) tem por objetivo mostrar o grau de maturidade da semente no momento do início dos testes de germinação.

Para esta classificação foram utilizados os mesmos embriões dos testes de tetrazólio. Os embriões foram colocados em lâminas e examinados quanto à sua forma, ao mesmo tempo sendo medidas suas dimensões (eixo maior: hipocótilo-radícula), com o auxílio de uma ocular micrométrica, em microscópio estereoscópico Bausch & Lomb, em aumento 2 X, sendo as medidas apresentadas em milímetros. A avaliação quanto à forma baseou-se no trabalho de HEUSER (1990).

Para as medidas de tamanho foram utilizados 50 embriões, divididos em cinco repetições, para cada época, perfazendo um total de 150 embriões avaliados.

FIGURA 3 - FASES DE DESENVOLVIMENTO DO EMBRIÃO DE *I. paraguariensis*



LEGENDA: 1-Estádio coração; 2-Estádio pós-coração; 3-Estádio torpedo; 4-Estádio maduro

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados dos testes de germinação foram analisados, segundo um delineamento completamente casualizado usando um fatorial $4 \times 3 \times 3 \times 2$ (temperatura x época x substrato x luz), com 5 repetições de 100 sementes cada. O número total de tratamentos foi de 72.

O cálculo da percentagem de germinação foi feito pela média dos resultados obtidos nas repetições.

Os dados obtidos no teste de germinação sob temperatura alternada, foram transformados para *arc sen da raiz quadrada* de $X/100$ e submetidos à análise de variância e comparação entre as médias dos tratamentos pelo teste de Tukey, pelo

Sistema de Análise Estatística - SANEST.

Para os mesmos dados foram calculadas a velocidade de germinação e a frequência acumulada.

No cálculo da velocidade de germinação foi empregada a fórmula de Edmond e Drapala, citada por VIEIRA e CARVALHO (1994, p. 56):

$$VG = \frac{(N_1G_1) + (N_2G_2) + \dots + (N_nG_n)}{G_1 + G_2 + \dots + G_n}; \text{ onde:}$$

VG = velocidade de germinação;

G_1, G_2, G_n = número de sementes germinadas na primeira, na segunda e na última contagem, e

N_1, N_2, N_n = número de dias de semeadura à primeira, segunda e última contagens.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, obtidas pelo Sistema de Análise Estatística - SANEST.

No teste de tetrazólio, a viabilidade foi obtida pelo somatório das sementes dos padrões 1, 3 e 4 (Tabela 1), calculando-se a média das repetições e expresso em porcentagem.

Para a elaboração dos gráficos foi utilizado o programa Excel, versão 5.0.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 CARACTERIZAÇÃO DO LOTE DE SEMENTES

O peso de mil sementes foi de 8,93 g e o número de sementes por quilo foi de 112.141 sementes, considerando a média das três épocas. Os valores obtidos diferem dos encontrados por KUNIYOSHI (1983) e SCHUCH (1985) que foram de 7,5 g para o peso de mil sementes e 155.198 e 132.855 sementes por quilo, respectivamente. Estes valores podem sofrer alterações conforme o grau de umidade, fatores genéticos e ambientais.

O grau de umidade obtido foi de 32,14% para a época 1 e de 44,53% para a época 3. Essa variação pode ter sido ocasionada pelo aumento da absorção de água, durante o período de estratificação.

Na caracterização biométrica foram consideradas as dimensões de altura, comprimento e espessura de 150 pirenos (endocarpo+semente), obtendo-se as medidas apresentadas na tabela 2.

TABELA 2 - DIMENSÕES (mm) DOS PIRENOS DE *I. paraguariensis*, COM OS VALORES MÁXIMO, MÍNIMO E A MÉDIA PARA A ALTURA, LARGURA E ESPESSURA

DIMENSÕES	MÉDIA	MÁXIMO	MÍNIMO
Altura	2,34	2,97	1,71
Comprimento	3,90	4,82	3,03
Espessura	1,85	2,21	1,42

Os valores médios das dimensões dos pirenos (tabela 2) são semelhantes aos encontrados por MUTINELLI (1988), cujas médias são 2,41 mm, para altura, 3,72 mm, para o comprimento e 1,86 mm, para a espessura.

4.2 TESTE DE GERMINAÇÃO

Nas tabelas 3, 4, 5 e 6 constam as porcentagens médias de germinação nas diversas combinações de temperatura, substrato e luz, nas três épocas de semeadura.

Os resultados obtidos nas temperaturas constante de 20° C, 25° C e 30° C, nas diferentes combinações de substrato e luz foram nulas ou quase nulas, inviabilizando uma análise estatística.

TABELA 3 - PORCENTAGEM DE SEMENTES GERMINADAS DE *I. paraguariensis* sob TEMPERATURA CONSTANTE DE 20° C, EM TRÊS SUBSTRATOS E NA PRESENÇA E AUSÊNCIA DE LUZ, EM TRÊS ÉPOCAS

SUBSTRATO	ÉPOCA 1		ÉPOCA 2		ÉPOCA 3		MÉDIA
	s/luz	c/luz	s/luz	c/luz	s/luz	c/luz	
Areia	0,2	4,4	0	0	0,6	0,2	0,5
Vermiculita	0	0,2	0,2	0	0	0,2	0,1
Ágar	0	0,4	0	0	0	1,0	0,23
Média	0,07	1,7	0,07	0	0,2	0,47	

TABELA 4 - Porcentagem DE SEMENTES GERMINADAS DE *I. paraguariensis*, SOB TEMPERATURA CONSTANTE DE 25° C, EM TRÊS SUBSTRATOS E NA PRESENÇA E AUSÊNCIA DE LUZ, EM TRÊS ÉPOCAS

SUBSTRATO	ÉPOCA 1		ÉPOCA 2		ÉPOCA 3		MÉDIA
	s/luz	c/luz	s/luz	c/luz	s/luz	c/luz	
Areia	0,2	1,0	0,2	0,8	0,2	0,2	0,43
Vermiculita	0	0,4	0	0,2	0,2	0,2	0,16
Ágar	0	0,2	0	0	0	0	0,03
Média	0,067	0,53	0,07	0,33	0,13	0,13	

TABELA 5 - Porcentagem DE SEMENTES GERMINADAS DE *I. paraguariensis* SOB TEMPERATURA CONSTANTE DE 30° C, EM TRÊS SUBSTRATOS E NA PRESENÇA E AUSÊNCIA DE LUZ, EM TRÊS ÉPOCAS

SUBSTRATO	ÉPOCA 1		ÉPOCA 2		ÉPOCA 3	
	s/luz	c/luz	s/luz	c/luz	s/luz	c/luz
Areia	0	0	0	0	0	0
Vermiculita	0	0	0	0	0	0
Ágar	0	0	0	0	0	0

No entanto, os resultados observados nas tabelas 3, 4, 5 e 6, mostram que a influência da temperatura foi altamente significativa (embora sem comparação estatística), já que obteve-se valor aproximado a 1% para as temperaturas constantes de 20° C e 25° C e, zero para a temperatura de 30° C. Enquanto que na temperatura de 20-30° C a germinação média variou de 35,53% a 48,87%, nas diferentes combinações de substrato e luz, indicando que o fator temperatura foi limitante para a germinação dos demais tratamentos.

TABELA 6 - Porcentagem DE SEMENTES GERMINADAS DE *I. paraguariensis* SOB TEMPERATURA ALTERNADA 20-30° C, EM TRÊS SUBSTRATOS E NA PRESENÇA E AUSÊNCIA DE LUZ, EM TRÊS ÉPOCAS

SUBSTRATO	ÉPOCA 1		ÉPOCA 2		ÉPOCA 3		MÉDIA
	s/luz	c/luz	s/luz	c/luz	s/luz	c/luz	
Areia	35,60	40,00	44,20	42,60	48,20	52,00	43,77
Vermiculita	44,00	38,80	41,20	36,60	38,00	48,00	41,10
Ágar	27,00	31,20	41,00	38,80	37,00	46,60	36,93
Média	35,53	36,67	42,13	39,33	41,07	48,87	

A capacidade germinativa das sementes de erva-mate é considerada baixa e desuniforme ao longo do período de germinação, constituindo um dos maiores problemas para a análise de sementes e para a produção de mudas. Para diminuir

esse período e uniformizar a germinação das sementes, utiliza-se o tratamento pré-germinativo da estratificação.

Os resultados dos testes de germinação sob temperatura alternada foram submetidos a análise estatística, sendo que para o desdobramento das interações foram efetuados teste de Tukey.

Pela análise estatística (Anexo 2), observa-se que há efeito significativo dos fatores época, substrato, luz e das interações época X substrato, época X luz. Nas tabelas 7, 8 e 9 observa-se as interações entre os fatores época, substrato e luz.

Na tabela 7, nota-se que a maior porcentagem de germinação foi obtida com o substrato vermiculita na ausência de luz, atingindo a média de 43,7%, seguida do substrato areia na presença de luz com 39,5% de germinação, embora os tratamentos areia e vermiculita, não apresentem diferença estatística, em nível de 5% de probabilidade. Entretanto, há uma diferença significativa em relação ao substrato ágar, que obteve a média de 26,3%. A influência do tratamento à luz não foi significativa a 5% de probabilidade.

TABELA 7 - MÉDIAS* DAS PORCENTAGENS DE GERMINAÇÃO DAS SEMENTES DE *I. paraguariensis*, EM TEMPERATURA ALTERNADA DE 20-30° C PARA OS FATORES SUBSTRATO E LUZ, NA AVALIAÇÃO EFETUADA NA ÉPOCA 1

	Areia	Vermiculita	Ágar	Média
Com luz	39,5	38,1	28,5	38,9 a
Sem luz	34,8	43,7	24,2	36,1 a
Médias	37,1 a	40,9 a	26,3 b	

* Médias originais

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si em nível de significância de 5%, pelo teste de Tukey.

Na época 2 (tabela 8), o substrato areia apresentou os melhores percentuais médios de germinação (42,9% e 42,2%, na ausência e na presença de luz, respectivamente), seguido pelo substrato ágar, na ausência de luz, embora a influência do substrato (areia e ágar) não apresente diferença estatística em nível de 5% de probabilidade. Entretanto, o substrato areia foi significativamente diferente do substrato vermiculita, enquanto que do substrato ágar a diferença não foi significativa. O fator luz não influenciou significativamente ao nível de 5% de probabilidade.

TABELA 8 - MÉDIAS* DAS PORCENTAGENS DE GERMINAÇÃO DAS SEMENTES DE *I. paraguariensis*, EM TEMPERATURA ALTERNADA DE 20-30°C PARA OS FATORES SUBSTRATO E LUZ, NA AVALIAÇÃO EFETUADA NA ÉPOCA 2

	Areia	Vermiculita	Ágar	Média
Com luz	42,2	34,9	37,6	38,2 a
Sem luz	42,9	38,3	39,6	40,3 a
Média	42,6 a	36,6 b	38,6 ab	

* Médias originais

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si em nível de significância de 5%, pelo teste de Tukey.

Na tabela 9, os resultados mostram que o substrato areia exibe as maiores médias percentuais de germinação, com 52% na presença de luz e 48,2% na ausência de luz, apresentando diferença significativa em relação aos demais substratos que não diferem entre si.

As médias dos percentuais de germinação para a presença de luz (48,8%) e na ausência de luz (40,3%), foram diferentes significativamente em nível de 5% de probabilidade.

TABELA 9 - MÉDIAS* DAS PORCENTAGENS DE GERMINAÇÃO DAS SEMENTES DE *I. paraguariensis*, EM TEMPERATURA ALTERNADA DE 20-30° C PARA OS FATORES SUBSTRATO E LUZ, NA AVALIAÇÃO EFETUADA NA ÉPOCA 3

	Areia	Vermiculita	Ágar	Média
Com luz	52	47,9	46,6	48,8 a
Sem luz	48,2	37,9	34,9	40,3 b
Médias	50,1 a	42,9 b	40,7 b	

* Médias originais

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si em nível de significância de 5%, pelo teste de Tukey.

No ambiente natural, as sementes são comumente sujeitas às oscilações de temperatura, baixa durante a noite e alta durante o dia.

Os resultados mostram a importância da temperatura alternada na superação da dormência de *I. paraguariensis*, sendo um método utilizado para várias espécies, como descreveram CARVALHO e NAKAGAWA (1983), BORGES e RENA (1993).

A oscilação ou alternância de temperatura são freqüentemente efetivas na quebra de dormência de muitas espécies, como no caso de *Bidens tripartitus*, *Nicotiana tabacum*, *Rumex* spp, enquanto que as sementes expostas à temperaturas constantes continuam dormentes (BEWLEY; BLACK, 1984).

Algumas sementes dormentes necessitam de oscilação de temperatura, para saírem deste período, outras necessitam de choque térmico de baixa temperatura, seguido de altas temperaturas, para induzir uma germinação mais rápida (KOZLOWSKI; KRAMER, 1979).

CÍCERO (1986), discute a ação de temperaturas alternadas e levanta a hipótese de que essa variação provoca maior permeabilidade do tegumento das sementes à água e ao oxigênio, bem como influencia o equilíbrio entre substâncias promotoras e inibidoras da germinação.

A dormência é superada quando diferentes temperaturas são combinadas. Ela ocorre com o máximo efeito, quando as sementes são expostas a grandes amplitudes térmicas, enquanto que outras espécies necessitam de diferenças mínimas para completar o processo e germinar. Outros parâmetros também são importantes como o número de ciclos de oscilação e a duração do tempo de exposição (PROBERT, 1992; BEWLEY; BLACK, 1984).

A combinação de fatores como luz, armazenamento e resfriamento, com a alternância de temperatura podem ter importantes conseqüências ecológicas para o estabelecimento de plântulas de muitas espécies. A tendência para germinar no escuro e em reduzidas amplitudes térmicas, como resultado da exposição à baixas temperaturas no inverno, pode ajudar a sincronia da germinação na primavera (PROBERT, 1992). No caso de *I. paraguariensis*, os frutos amadurecem no final do verão e as sementes no inverno permanecem no solo, estando sujeitas durante este período à temperaturas baixas (próximas ou abaixo de 0° C) e fotoperíodos curtos, iniciando somente na primavera o processo germinativo.

Algumas espécies de plantas medicinais possuem sementes dormentes, pois os embriões encontram-se em estágio muito rudimentar ou indiferenciado, no momento da coleta de sementes. ZHENG-YAN e YING (1992), dividiram o desenvolvimento dos embriões em três fases, como no caso de sementes de *Panax ginseng* que necessitam de um período de 20° C por 30-40 dias, para iniciar o desenvolvimento dos embriões. Após para completarem seu crescimento, os embriões necessitam de temperatura entre 12-10° C por um período de 50-60 dias e de baixas temperaturas como a 5° C por um período de 3-4 meses para superar a dormência fisiológica, permitindo que as sementes germinem no verão.

Para sementes de *Fraxinus excelsior* (freixo) que também possuem sementes dormentes, por imaturidade embrionária, JINKS e JONES (1995), utilizaram um processo em dois estádios para estimular o desenvolvimento dos embriões. Na primeira fase, exposição à alta temperatura (15 a 25° C) por 12 a 16 semanas e após a estratificação em baixa temperatura (4° C), por 16 semanas. A exposição dos frutos frescos à temperatura alta (25° C), contribuiu para que os embriões completassem seu desenvolvimento e assim respondessem a etapa seguinte, à baixa temperatura (4° C), para superar a dormência fisiológica.

Para *I. paraguariensis*, os testes de germinação em laboratório, demonstram que a temperatura é um fator preponderante na germinação dessa espécie. As porcentagens de germinação sob temperatura alternada entre 20-30° C chegam a atingir 52%, enquanto que na temperatura constante de 20° C não ultrapassam a 4,4% e, a de 30° C foi zero, como mostram as tabelas 6, 3 e 5, respectivamente.

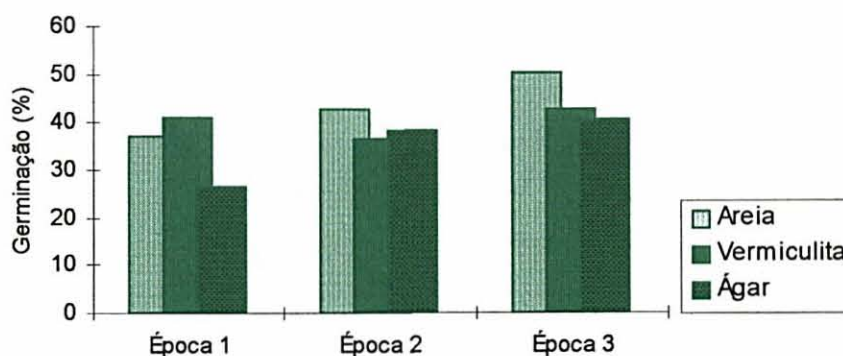
Os índices de germinação alcançados nesse trabalho, nos tratamentos de temperatura alternada, são considerados altos para a espécie, quando comparados com outros trabalhos efetuados, como CUQUEL, CARVALHO e CHAMA (1994), que obteve 5,2 % de germinação em condições semelhantes e WOLLHEIM (1991), em laboratório, conseguiu em média 7,7%, com limites, por árvore de 0% a 31%. FERREIRA (1997), obteve uma porcentagem de 2 a 5% de germinação pelos métodos tradicionais.

Em *Ilex opaca* também foi constada uma germinação irregular, variando de 7 a 36%, após 2 invernos no solo, sendo que a maioria das plântulas só aparecem após o terceiro inverno (BARTON; THORNTON, 1947)

Com relação a presença e ausência de luz, em diferentes tempos de estratificação, épocas 1 e 2 (tabelas 7 e 8) não ocorrem diferenças, demonstrando não haver influência deste fator no processo germinativo. Já, na época 3 (tabela 9), com maior tempo de estratificação, houve diferença nos resultados de germinação na presença e ausência de luz (48,8% e 40,3%, respectivamente), indicando que, provavelmente podem ocorrer mudanças nas exigências da espécie, conforme o tempo de permanência das sementes em estratificação ou, devido à fase de desenvolvimento em que a maioria dos embriões se encontrava.

Os resultados deste trabalho foram diferentes dos encontrados por FERREIRA e HU (1984) para *I. paraguariensis*, em cultura *in vitro*, pois concluíram que ocorre a inibição do desenvolvimento dos embriões na presença de luz.

FIGURA 4 - MÉDIAS DAS PORCENTAGENS DE SEMENTES GERMINADAS SOB TEMPERATURA ALTERNADA 20-30°C, PARA O FATOR SUBSTRATO NAS ÉPOCAS 1, 2 E 3



O substrato areia (fig. 4) proporcionou os melhores resultados de germinação, nas três épocas (37,1%, 42,6% e 50,1%, respectivamente), sendo que na época 1, os resultados obtidos não diferiram do substrato vermiculita (40,9%). Nota-se também que o substrato ágar apresentou os valores mais baixos de

germinação aos 134 dias de estratificação (26,3%), sendo que aos 179 e 222 (38,6% e 40,7%, respectivamente) não diferiram do substrato vermiculita, mostrando que em testes de menor duração, são passíveis de utilização.

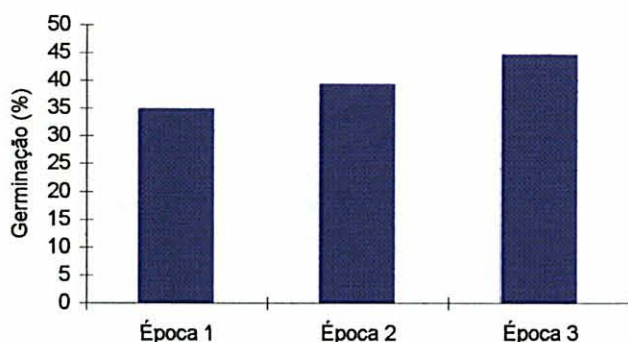
Em relação ao substrato, FIGLIOLIA *et al.* (1993), recomendam a utilização de areia e vermiculita como substrato para os testes de germinação de longa duração. A areia apresenta a desvantagem para a manutenção nos testes, pois é desuniforme na capacidade de retenção e distribuição da água, sendo que a água tende a se depositar na parte inferior do substrato, comprometendo a germinação. Contudo, os melhores resultados para as três épocas (fig. 4) foi obtido com o substrato areia, sendo recomendado para os testes de germinação de *I. paraguariensis*. Para FIGLIOLIA *et al.* (1993), a vermiculita apresenta boa capacidade de absorção e retenção de água, apresentando bons resultados nos testes realizados, mas ainda não foi prescrito pelas Regras de Análise de Sementes (BRASIL, 1992). Os resultados obtidos nos testes de germinação em temperatura alternada de 20-30°C, para a época 1 (fig. 4), permitem afirmar que a vermiculita apresenta boas características para testes de germinação de longo prazo.

O ágar também não é recomendado pelas Regras de Análise de Sementes (BRASIL, 1992), mas é utilizado regularmente no *The Kew Seed Bank*. SMITH e PROBERT (1996) consideram o ágar como um excelente substrato para os testes de germinação. No presente trabalho, no substrato ágar surgiram contaminações das sementes por microorganismos (Anexo 3), além de desidratar rapidamente em temperaturas acima de 25° C, nos germinadores utilizados.

Pode-se observar na figura 5 a comparação entre as médias percentuais de germinação para o fator época. A média obtida na época 1 foi de 34,67%, na época

2 foi de 39,25% e na época 3 foi de 44,56%, tendo ocorrido diferença estatística em nível de 5% de significância entre as épocas. A época 3 apresentou os melhores resultados, independentemente do substrato utilizado.

FIGURA 5 - MÉDIAS DAS PORCENTAGENS DE GERMINAÇÃO DAS SEMENTES DE *I. paraguariensis*, SOB TEMPERATURA ALTERNADA 20-30° C, PARA O FATOR ÉPOCA



4.2.1. Velocidade de germinação

A fórmula utilizada para calcular a velocidade de germinação foi a de EDMOND e DRAPALA, a qual considera que quanto menor o valor obtido, maior o vigor das sementes, pois a mesma estima a velocidade através dos dias médios gastos para a germinação (VIEIRA; CARVALHO, 1994).

Os resultados da velocidade de germinação sob temperatura alternada foram submetidos à análise estatística, sendo que para o desdobramento das interações foram efetuados o teste de Tukey.

Pela análise estatística (Anexo 4), observa-se que há efeito significativo para os fatores época e substrato e sua respectiva interação, quanto a velocidade de germinação. As interações entre os fatores época, substrato e luz podem ser observados nas tabelas 10, 11, e 12.

TABELA 10 - MÉDIAS* DA VELOCIDADE DE GERMINAÇÃO DOS TRATAMENTOS SOB TEMPERATURA ALTERNADA 20-30° C PARA OS FATORES SUBSTRATO E LUZ, NA ÉPOCA 1

	Areia	Vermiculita	Ágar	Média
Com luz	88.3	74.9	108.4	90.5 a
Sem luz	90.1	80.2	107.8	92.7 a
Médias	89.2 b	77.6 a	108.1 c	

* Médias originais

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si em nível de significância de 5%, pelo teste de Tukey.

TABELA 11 - MÉDIAS* DA VELOCIDADE DE GERMINAÇÃO DOS TRATAMENTOS SOB TEMPERATURA ALTERNADA 20-30° C PARA OS FATORES SUBSTRATO E LUZ, NA ÉPOCA 2

	Areia	Vermiculita	Ágar	Média
Com luz	77.2	89.3	93.6	86.7 a
Sem luz	80.9	81.3	87.3	83.2 a
Médias	79.1 a	85.3 ab	90.5 b	

* Médias originais

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si em nível de significância de 5, pelo teste de Tukey.

TABELA 12 - MÉDIAS* DA VELOCIDADE DE GERMINAÇÃO DOS TRATAMENTOS SOB TEMPERATURA ALTERNADA 20-30° C PARA OS FATORES SUBSTRATO E LUZ, NA ÉPOCA 3

	Areia	Vermiculita	Ágar	Média
Com luz	64.8	68.2	76.0	69.7 a
Sem luz	63.2	67.6	75.9	68.9 a
Médias	64.0 a	67.9 a	75.9 b	

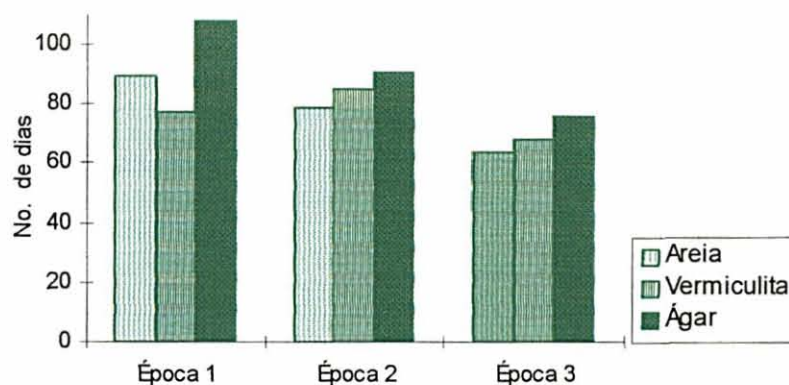
* Médias originais

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si em nível de significância de 5%, pelo teste de Tukey.

Com estes resultados (tabelas 10, 11, 12), pode-se concluir que o fator luz não influenciou na velocidade de germinação, nas três épocas. Na época 3 a presença de luz influenciou significativamente na porcentagem total de germinação, diferindo destes resultados.

Quanto ao fator substrato (fig. 6), observa-se que os melhores resultados para velocidade de germinação ocorreram em areia (79,1 e 64 dias), nas época 2 e 3, respectivamente, seguida de vermiculita (77,6 e 67,9 dias) na épocas 1 e 3, respectivamente. O substrato ágar apresentou as médias mais baixas para as três épocas (108,1 dias; 90,5 dias e 75,9 dias, respectivamente).

FIGURA 6 - MÉDIAS DA VELOCIDADE DE GERMINAÇÃO DAS SEMENTES DE *I. paraguariensis*, SOB TEMPERATURA ALTERNADA 20-30° C, EM FUNÇÃO DOS FATORES ÉPOCA E SUBSTRATOS



Com relação ao tempo de estratificação, as médias para a velocidade de germinação (Anexo 4) foram de 91,61, de 84,95 e de 69,29 dias respectivamente para as épocas 1, 2 e 3, ocorrendo diferença estatística ao nível de 5% de probabilidade entre as épocas. A melhor média foi da época 3, sendo concordante

com o resultado obtido para o teste de germinação, onde também a época 3 apresenta o melhor resultado.

4.4.2 Freqüência acumulada

As taxas acumuladas das testes de germinação sob temperatura alternada de 20-30° C, realizados nas diversas combinações de substrato e luz, para as épocas 1, 2 e 3, estão representadas nas figuras 7, 8 e 9, respectivamente.

FIGURA 7 - FREQUÊNCIA ACUMULADA DE SEMENTES GERMINADAS DE *I. paraguariensis*, SUBMETIDAS À TEMPERATURA ALTERNADA 20-30° C, NA ÉPOCA 1, COM TRÊS SUBSTRATOS E NA AUSÊNCIA E PRESENÇA DE LUZ

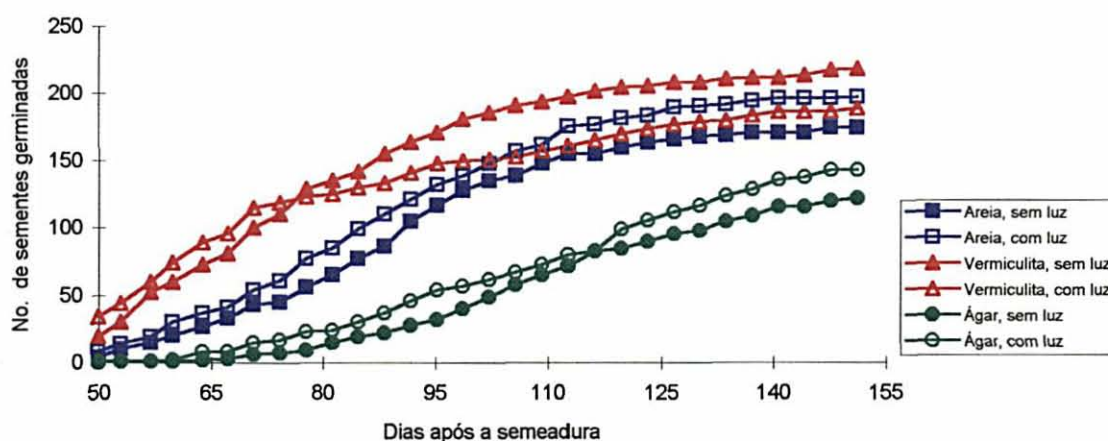


FIGURA 8 - FREQUÊNCIA ACUMULADA DE SEMENTES GERMINADAS DE *I. paraguariensis*, SUBMETIDAS À TEMPERATURA ALTERNADA 20-30° C, NA ÉPOCA 2, COM TRÊS SUBSTRATOS E NA AUSÊNCIA E PRESENÇA DE LUZ

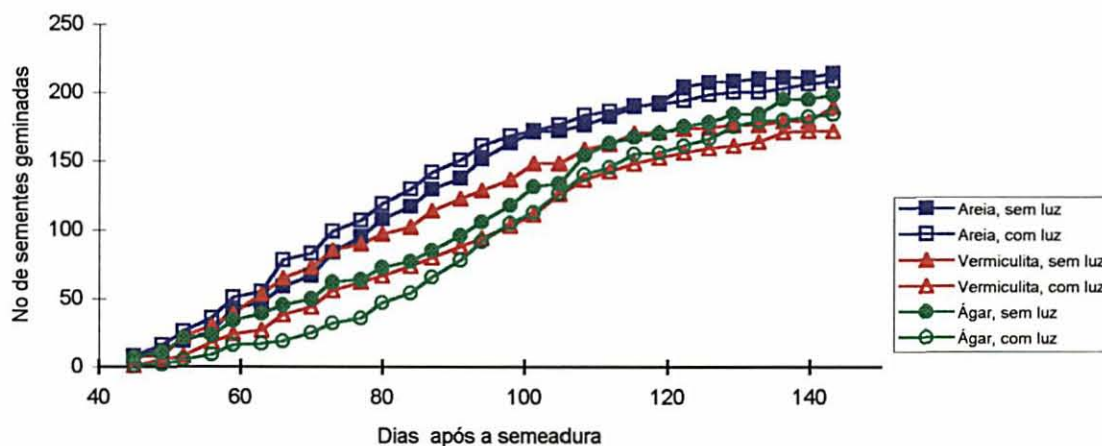
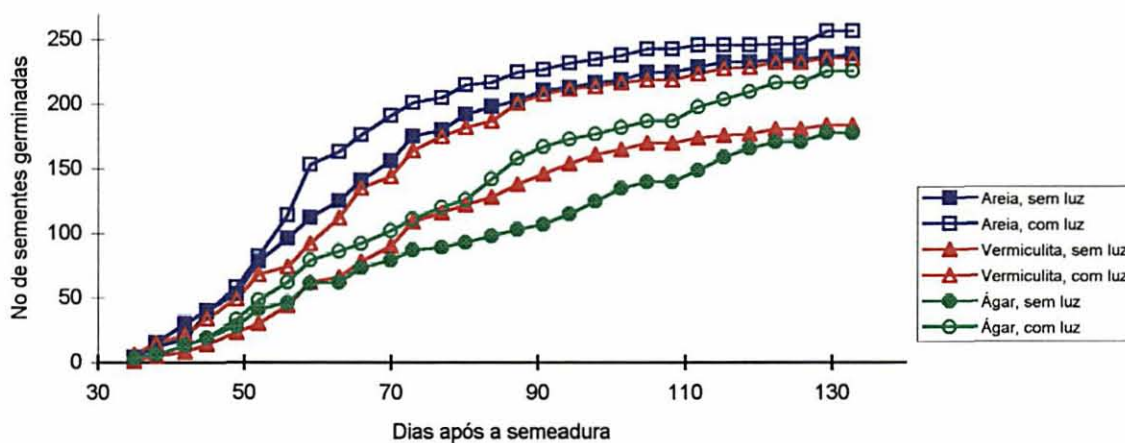


FIGURA 9 - FREQUÊNCIA ACUMULADA DE SEMENTES GERMINADAS DE *I. paraguariensis*, SUBMETIDAS À TEMPERATURA ALTERNADA 20-30° C, NA ÉPOCA 3, COM TRÊS SUBSTRATOS E NA AUSÊNCIA E PRESENÇA DE LUZ



Alguns autores como NIKLAS (1987), FONTANA, PRAT KRICUN e BELINGHERI (1990) e WOLLHEIM (1991), indicam que o comportamento germinativo de *I. paraguariensis* pode ser analisado, em relação ao tamanho dos embriões. Daí, se deduz que a baixa porcentagem de germinação inicial

corresponde aos embriões na fase maduro, os quais seriam os primeiros a germinar, seguidas pelos da fase torpedo e, em seguida as de pós-coração. Após esta fase inicial, as curvas sofrem um acentuado incremento, correspondendo aos embriões que se encontravam na fase de coração e que completaram seu desenvolvimento.

Desta forma, os dados obtidos na frequência de germinação acumulada, juntamente com o tamanho dos embriões, permitem estabelecer algumas considerações. As sementes que possuem embriões na fase madura ou de torpedo (início da curva) germinam primeiro, na seqüência as com embriões na fase de pós-coração, (a curva sofre um incremento) e, em seguida as de embrião na fase coração (a curva começa a estabilizar) (fig. 7, 8 e 9).

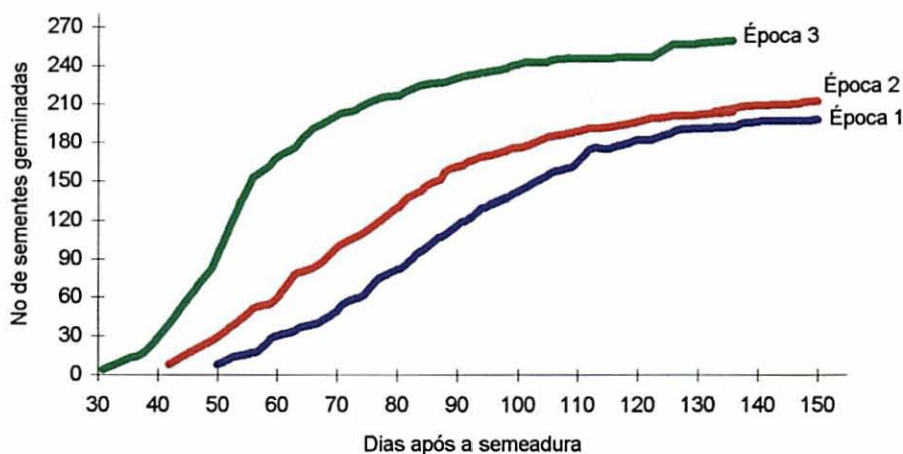
FONTANA, PRAT, KRICUN e BELINGHERI (1990) observaram que existe uma significativa correlação entre a porcentagem de sementes germinadas e o tempo de germinação, havendo maior porcentagem de germinação no período compreendido entre 150 e 270 dias após a semeadura. Este fenômeno permite que a espécie, em condições naturais, tenha um amplo período de viabilidade (9 meses), concentrando sua máxima expressão na estação da primavera.

Na avaliação de progênies da estação experimental de Veranópolis - RS, WOLLHEIM (1991) verificou que era necessário um longo período para o início do processo de germinação, em média de 7,5 meses, com limites de 158 a 323 dias, dependendo da progênie e do ano. Esta variação entre as progênies analisadas, foi considerada como características próprias, como também pode estar relacionada de alguma maneira com o grau de maturação dos frutos e o ano de coleta.

SCHUCH (1985), em condições de campo, obteve o início da germinação aos 106 dias após a sementeira, para amostras não-estratificadas de Veranópolis-RS, com o período mais expressivo de germinação aos cinco meses.

A frequência de germinação acumulada para o tratamento substrato areia na presença de luz, nas três épocas é mostrada na figura 10.

FIGURA 10 - FREQUÊNCIA ACUMULADA DE SEMENTES GERMINADAS DE *I. paraguariensis*, SUBMETIDAS A TEMPERATURA ALTERNADA (20-30° C), EM SUBSTRATO AREIA E PRESENÇA DE LUZ, NAS TRÊS ÉPOCAS DE SEMEADURA



Comparando o desempenho da germinação no substrato areia, na presença de luz, nas três épocas (fig. 10), nota-se que ocorre uma diminuição do período compreendido entre a sementeira e o início da germinação, de 50 dias na época 1, para 42 dias na época 2 e para 31 dias na época 3. Observa-se, também, que na época 3 a curva apresentou um incremento maior nos primeiros 50 dias em relação a época 1 e 2, visto que foi a época que apresentou a maior porcentagem de embriões na fase de pós-coração.

Na avaliação do período compreendido entre a semeadura e o início da germinação de uma população de *I. paraguayensis*, composta por 105 subamostras, de 23 localidades, FONTANA *et al.* (1990) obtiveram uma média de 101,4 dias, com um mínimo de 49 dias e máximo de 171 dias, com uma distribuição aproximadamente normal, considerando essa variação, como provavelmente, a interação genótipo-ambiente das populações .

Nas figuras 7, 8 e 9, em relação às épocas 1, 2 e 3, nota-se que aos 100 dias, após a primeira contagem, ocorre a estabilização da curva, demonstrando que o número de sementes ainda por germinar é muito baixo e distribuído ao longo do tempo. A continuidade do teste não vai alterar significativamente o resultado final e, portanto, os testes de germinação podem ser encerrados. Estes resultados diferem da recomendação feita pelas Regras de Análise de Sementes que é de 365 dias para encerrar os testes de germinação.

4.3 TESTE DE TETRAZÓLIO

O teste de tetrazólio diferencia os tecidos normais, fracos e mortos da semente e, associado a outros aspectos, permite a identificação da presença, localização e natureza dos distúrbios nos tecidos. Desta forma, pode fornecer pronta estimativa sobre o potencial de germinação, avaliação das condições dos embriões individualmente e um diagnóstico sobre as causas dos distúrbios no embrião (MOORE, 1972).

Em espécies que possuem embriões imaturos, como no caso de *I. paraguariensis*, não há como avaliar detalhadamente a estrutura do embrião e localizar os danos nos tecidos. A avaliação é feita de forma generalizada na semente, pela observação do aspecto geral do embrião e dos tecidos do endosperma. Os danos não podem ser identificados quanto a sua natureza e localização nos tecidos dos embriões, permitindo somente uma estimativa da viabilidade de um lote de sementes.

Os resultados obtidos pelo teste de tetrazólio para *I. paraguariensis*, neste trabalho, foram baseados na avaliação da intensidade e distribuição da coloração, além da consistência e textura dos tecidos das sementes, tendo sido encontrados os seguintes padrões:

- a. semente completamente colorida -
 - endosperma colorido, embrião colorido, cotilédones definidos, correspondendo à sementes viáveis;
 - endosperma colorido, embrião colorido, cotilédones indefinidos, correspondendo às sementes viáveis;
- b. sementes com o endosperma colorido com embrião indiferenciado corresponde a sementes viáveis;
- c. sementes com embrião colorido e endosperma não colorido com tecido em processo de deteriorização, correspondendo a sementes não viáveis;
- d. Sementes com endosperma colorido, embrião não colorido ou incolor translúcido correspondendo a sementes não viáveis;
- e. sementes deterioradas com endosperma e embrião necrosados, tecido gelatinoso deteriorado; sementes não viáveis, e

f. sementes secas, vazias, sem endosperma e sem embrião; sementes não viáveis.

As figuras 11 a 16, mostram alguns padrões característicos encontrados durante as avaliações dos testes de tetrazólio.

FIGURA 11 - ASPECTO GERAL DO PIRENO, COM SEMENTE COMPLETAMENTE COLORIDA E TECIDOS FIRMES, CORRESPONDENDO A SEMENTES VIÁVEIS.



FIGURA 12 - ASPECTO GERAL DO PIRENO, COM SEMENTE COMPLETAMENTE COLORIDA E TECIDOS FIRMES, CORRESPONDENDO A SEMENTES VIÁVEIS.



FIGURA 13 - SEMENTES COMPLETAMENTE COLORIDAS, COM TECIDOS FIRMES CORRESPONDENDO À SEMENTES VIÁVEIS. PIRENO COM DUAS SEMENTES



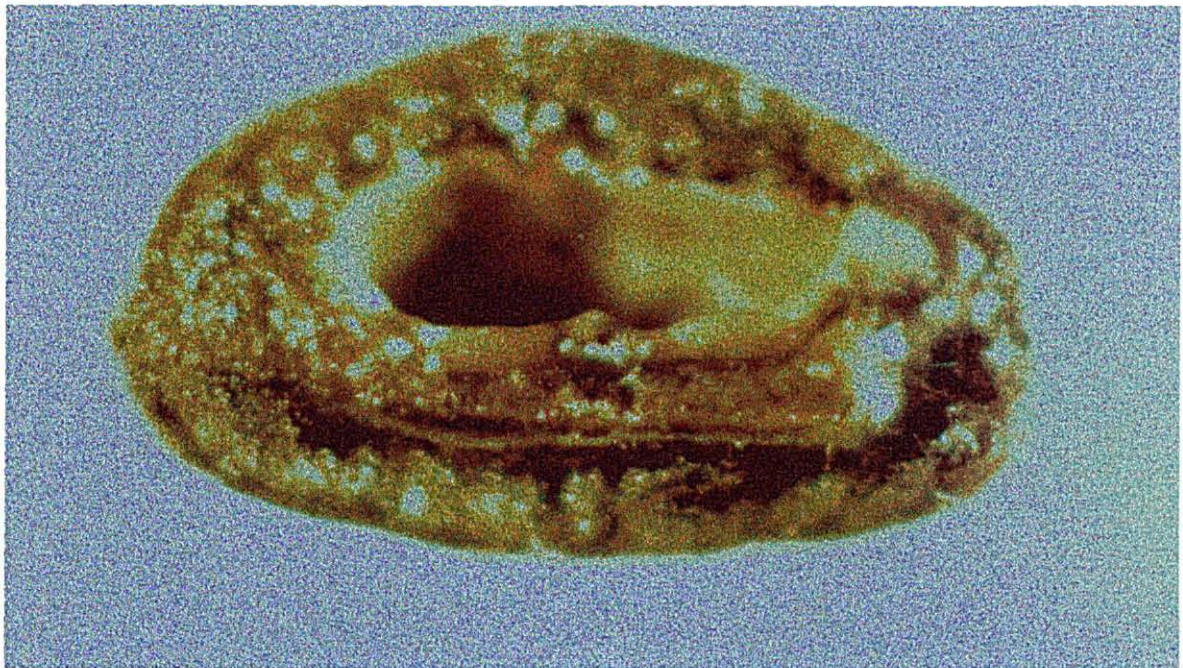
FIGURA 14 - SEMENTE COLORIDA, COM TECIDOS DETERIORADOS (ENDOSPERMA E EMBRIÃO NECROSADOS), CORRESPONDENDO À SEMENTES NÃO VIÁVEIS



FIGURA 15 - SEMENTE NÃO COLORIDA, COM TECIDOS DETERIORADOS (ENDOSPERMA E EMBRIÃO NECROSADOS), CORRESPONDENDO À SEMENTES NÃO VIÁVEIS



FIGURA 16 - SEMENTE VAZIA, SEM ENDOSPERMA E SEM EMBRIÃO, SEMENTES NÃO VIÁVEIS



A porcentagem de germinação potencial (sementes viáveis) é calculado pela estimativa do número de sementes em condições de produzir plântulas em ambientes favoráveis nos testes de germinação (MOORE, 1972).

Na tabela 13 constam as médias das porcentagens de sementes viáveis, obtidas nas avaliações realizadas no início dos testes de germinação para as três épocas, e a porcentagem de germinação dos tratamentos sob temperatura alternada 20-30° C.

A média de sementes viáveis pelo teste de tetrazólio foi de 42%, de 39% e de 41,6%, para as épocas 1, 2 e 3, respectivamente. Nota-se que as médias mantiveram-se próximas nas três épocas, indicando que não aumentou o grau de deterioração das sementes, durante o período de estratificação.

TABELA 13 - MÉDIAS DAS PORCENTAGENS DE SEMENTES GERMINADAS SOB TEMPERATURA ALTERNADA 20-30 °C, EM DIFERENTES SUBSTRATOS E NA PRESENÇA E AUSÊNCIA DE LUZ, E PORCENTAGEM DE SEMENTES VIÁVEIS (TZ), NO INÍCIO DOS TESTES DE GERMINAÇÃO PARA AS TRÊS ÉPOCAS

TRATAMENTO	ÉPOCA 1		ÉPOCA 2		ÉPOCA 3	
	% Sem. Viáveis (TZ)	% Germ.	% Sem. viáveis (TZ)	% Germ.	% Sem. viáveis (TZ)	% Germ.
Areia, s/ luz	42	35,6	39	44,2	41,6	48,2
Areia, c/ luz	42	40	39	42,6	41,6	52
Vermiculita, s/ luz	42	44	39	41,2	41,6	38
Vermiculita, c/ luz	42	38,8	39	36,6	41,6	48
Ágar, s/ luz	42	27	39	41	41,6	37
Ágar, c/ luz	42	31,2	39	38,8	41,6	46,6

Também observa-se que ocorreu uma variação nas porcentagens de sementes viáveis (TZ) e sementes germinadas. Na época 1, os valores obtidos pelo teste de tetrazólio foram, de modo geral, superiores aos dos testes de germinação. Nas épocas 2 e 3 este comportamento se alterou, sendo que a maioria dos

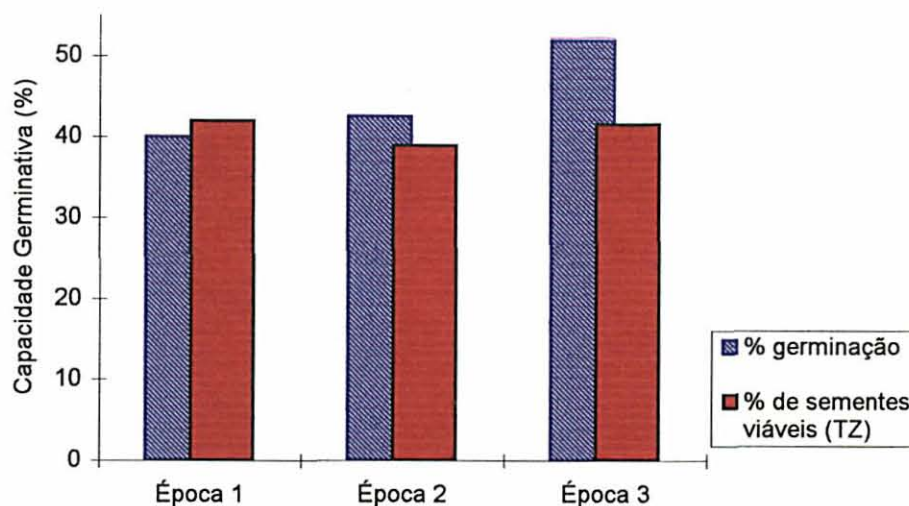
tratamentos apresentaram médias de germinação superiores às médias de sementes viáveis (TZ).

Na comparação entre os testes de tetrazólio e de germinação, espera-se que os resultados sejam concordantes, dentro da amplitude normal de variação da amostra. Segundo GRABE (1976), diferenças de 3-5% são aceitáveis e podem ser determinadas por diferença de amostragem. As diferenças dos resultados são menores em sementes de alta qualidade, do que de baixa qualidade, em espécies de sementes grandes, do que espécies de sementes pequenas e em lotes de sementes uniformes, do que em lotes de sementes desuniformes.

Podem ocorrer discrepâncias entre o potencial de germinação resultante do teste de tetrazólio e as porcentagens de germinação obtidas nos testes de germinação. Estas discrepâncias não indicam necessariamente erros nos testes. Os resultados refletem a interação entre a semente e o ambiente e não simplesmente a medida da condição interna da semente (MOORE, 1971).

A porcentagem de sementes viáveis manteve-se estável para as três épocas (42%, 39% e 41,6%, respectivamente), mas ocorreu um incremento na porcentagem de sementes germinadas da época 1 (40%) para a época 2 (42,6%) e 3 (52%) (fig. 17). Isto demonstra que as condições ambientais favoráveis influenciam a capacidade de germinação das sementes, permitindo obter o seu máximo percentual de germinação.

FIGURA 17 - MÉDIAS DAS PORCENTAGENS DE GERMINAÇÃO PARA AS SEMENTES SOB TEMPERATURA ALTERNADA 20-30°C, NO SUBSTRATO AREIA E NA PRESENÇA DE LUZ E DE SEMENTES VIÁVEIS (TZ)



Os testes de germinação (sementes germinadas) e os testes de tetrazólio (sementes viáveis) tendem a apresentar resultados próximos. No entanto, é essencial considerar a interação entre a semente e as condições ambientais, sendo que diferenças ambientais podem resultar em grandes diferenças nos resultados (MOORE, 1971).

REIS (1976), avaliando a viabilidade de sementes de *Pterodon pubescens* (sucupira), indica resultados superiores da porcentagem de germinação cumulativa (99%) em relação ao teste de tetrazólio (87%), sendo que essa diferença provavelmente é devida à pouca penetração da solução de tetrazólio, dificultando a interpretação do teste.

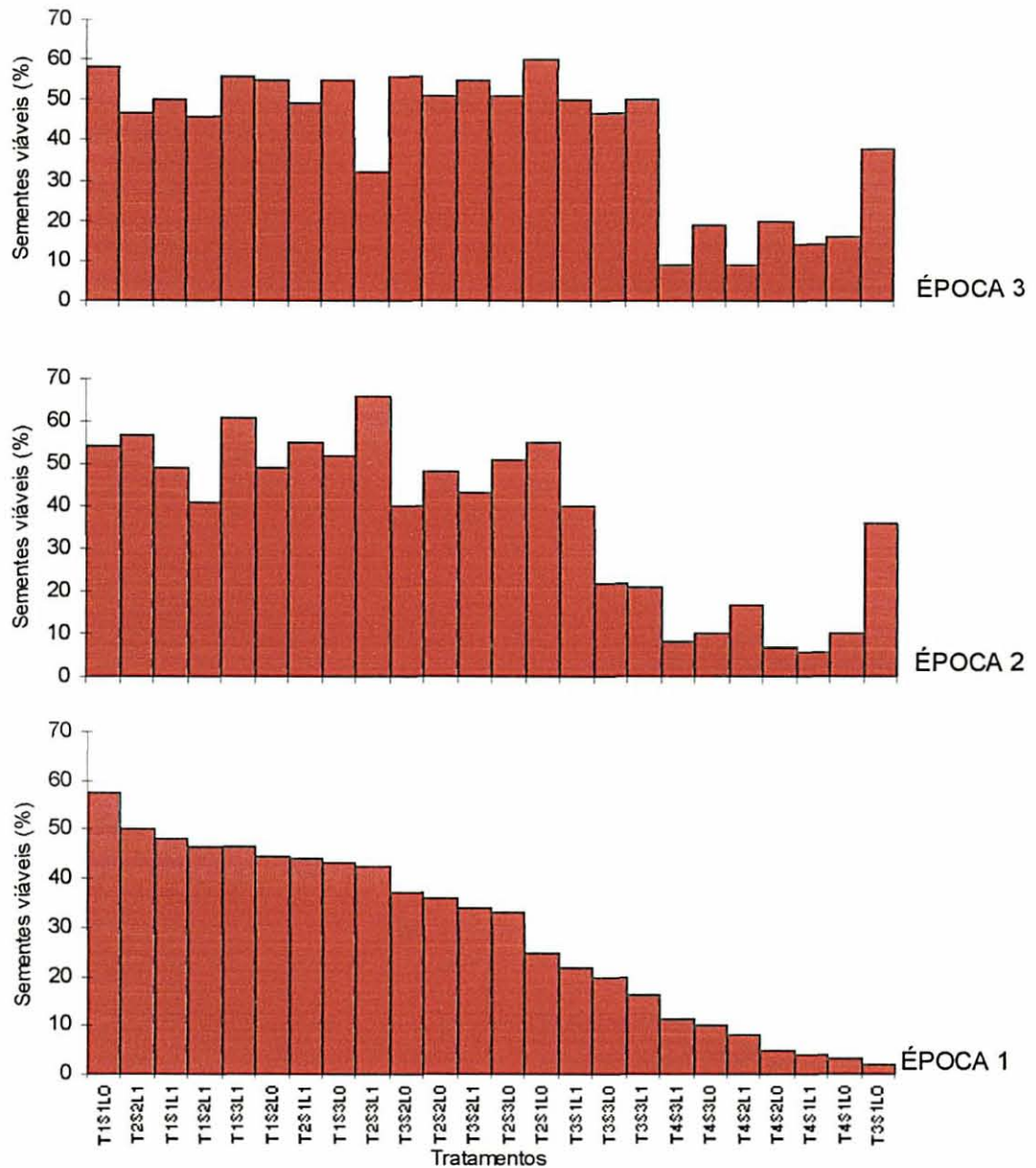
Comparando os resultados dos testes de tetrazólio e dos testes de germinação em cinco espécies florestais, LEADEM (1984) verificou que, especialmente em espécies que têm dormência, o teste de tetrazólio apresenta

resultados superiores aos de germinação. Em duas espécies, *Pseudotsuga menziesii* e *Tsuga heterophylla*, obteve valores mais altos para o teste de germinação do que para o teste de tetrazólio.

Apesar de, em alguns casos, as diferenças entre os dois testes tornarem inadequada sua aplicação, devido à falta de precisão, o teste de tetrazólio ainda pode ser recomendado para casos em que o teste de germinação tenha uma duração muito longa, e o produtor necessite de uma imediata tomada de decisão. É, portanto, recomendável para *I. paraguariensis*, já que as Regras de Análise de Sementes (BRASIL, 1992) recomendam que o teste de germinação tenha a duração de 365 dias.

Após o encerramento dos testes de germinação, foi realizado o teste de tetrazólio com uma amostra de 100 sementes não germinadas durante o teste de germinação, por tratamento e os resultados obtidos estão descritos na figuras 18.

FIGURA 18 - PORCENTAGEM DE SEMENTES VIÁVEIS (TZ), NOS DIFERENTES TRATAMENTOS, APÓS O ENCERRAMENTO DOS TESTES DE GERMINAÇÃO PARA A ÉPOCA 3, ÉPOCA 2 E ÉPOCA 1



LEGENDA: T1 - temperatura constante 20° C, T2 - temperatura constante 25° C, T3 - temperatura constante 30° C, T4 - temperatura alternada 20-30° C, S1 - substrato areia, S2 - substrato vermiculita, S3 - substrato ágar, L0 - ausência de luz, L1- presença luz.

Pode ser observado na figura 18, que após o encerramento dos testes de germinação ainda haviam sementes (pirenos) em condições de germinar. Os tratamentos com temperatura alternada apresentaram uma porcentagem reduzida de sementes viáveis, pois nestes ocorreram as maiores porcentagens de germinação.

Os valores obtidos nos tratamentos com temperatura constante de 30° C para as porcentagens de sementes viáveis são um pouco mais baixos, do que os tratamentos com temperatura constante de 20° C e 25° C, com valores elevados de sementes deterioradas. O tratamento com temperatura constante de 30° C, em areia e na ausência de luz (T3S1L0), na época 1, apresentou o valor mais baixo (2%) de sementes viáveis (fig. 18), possivelmente devido ao excesso de água acumulada no "gerbox", causada pela condensação que ocorre nessa temperatura, provocando condições adversas à germinação.

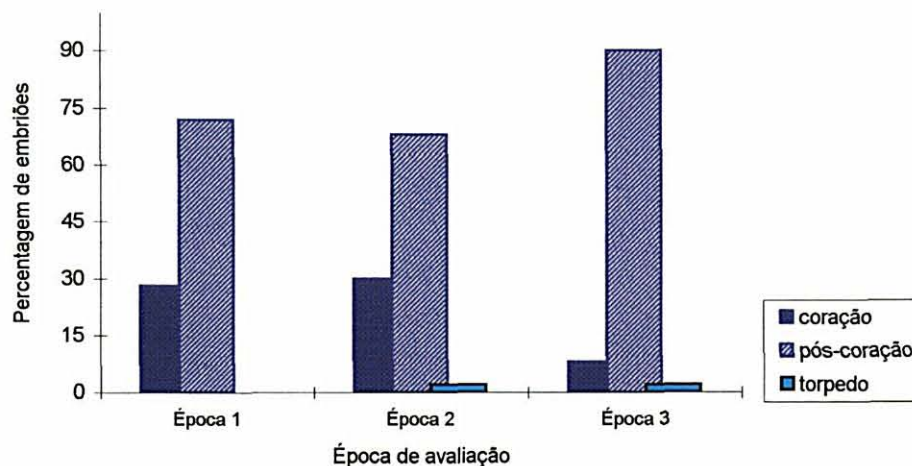
As sementes submetidas aos tratamentos com temperatura constante de 20° C e 25° C apresentaram porcentagens elevadas de sementes viáveis. Isto demonstra que as condições destes testes de germinação eram inadequados para a promoção da germinação, mas mantiveram as sementes vivas durante este período.

4.4 AVALIAÇÃO DA FORMA E TAMANHO DOS EMBRIÕES

As porcentagens dos embriões nas diferentes fases de desenvolvimento para as três épocas de instalação dos testes de germinação, podem ser observadas na figura 19. Foram avaliados 50 embriões em cada época.

Na época 1 (134 dias de estratificação), observou-se que havia 28% de embriões na fase de coração e 72% em pós-coração. Na época 2 (179 dias) havia 30% em fase de coração, 68% em pós-coração e 2% em torpedo. Na época 3 (222 dias), havia 8% na fase de coração, 90% em pós-coração e 2% na fase de torpedo. Ocorreu uma acentuada mudança na quantidade de embriões da fase de coração para a fase de pós-coração na época 3 (fig. 19), demonstrando que ocorreu o desenvolvimento dos embriões.

FIGURA 19 - PORCENTAGEM DE EMBRIÕES NAS DIFERENTES FASES DE DESENVOLVIMENTO, NAS TRÊS ÉPOCAS DE INSTALAÇÃO DOS TESTES DE GERMINAÇÃO



O tamanho dos embriões está relacionada com as fases de desenvolvimento embrionário. Dependendo do autor, a classificação dos embriões nas várias fases de desenvolvimento apresenta diferenças quanto aos intervalos de medidas de comprimento, considerando o eixo maior do embrião (tabela 14). As fases de desenvolvimento dos embriões foram delimitadas de acordo com os intervalos de

classes, tanto pelas medidas calculadas do eixo maior do embrião como por avaliação visual.

TABELA 14 - CLASSIFICAÇÃO DOS EMBRIÕES SEGUNDO MEDIDAS* DE SEU MAIOR EIXO

Fases de desenvolvimento	Ferreira; Hu (1984)	Niklas (1987)	Heuser (1990)	neste trabalho (1988)
Globular	< 0,30	< 0.19	< 0.20	< 0,20
Coração	0,30 a 0,50	0,20 a 0,29	0,20 a 0,45	0,20 a 0,30
Pós- coração	0,50 a 0,70	0,30 a 0,40	0,45 a 0,70	0,30 a 0,50
Torpedo	0,70 a 1,40	0,40 a 0,80	0,70 a 1,00	0,50 a 0,70
Maduro	> 1,40	> 1,00	> 1,00	> 0,90

Medidas expressas em mm.

A ocorrência de diferentes formas de embriões nas sementes e o conhecimento do seu desenvolvimento contribui para a identificação das causas de dormência em algumas espécies. A existência de formas rudimentares de embriões tem grande significado para a existência e duração da dormência (SIMANCIK, 1967).

Os embriões de *I. paraguariensis* são dormentes por necessitarem de um período adicional para completar seu desenvolvimento e estarem prontos para germinar (FERREIRA; HU, 1984). Durante esse período, não há sincronia no desenvolvimento embrionário, pois alguns embriões permanecem em estágio de coração, enquanto outros iniciam o seu desenvolvimento (HEUSER, 1990). Isto pode ser observado neste trabalho, pois aos 134 dias de estratificação, nos tratamentos sob temperatura constante 20° C, ocorre o maior número de embriões na fase de coração (fig. 19). Na época 2 aparece um pequeno número de embriões

em fase mais adiantada de desenvolvimento, a fase de torpedo, enquanto que na época 3 ainda são encontrados embriões na fase de coração. Observa-se que nas três épocas a maior porcentagem dos embriões encontrava-se na fase de pós-coração, apresentando medidas que variaram de 0,30 a 0,50 mm.

Nota-se uma diversidade no desenvolvimento dos embriões, atribuindo-se esse fato às diferenças no amadurecimento dos embriões. Na época 3 grande parte dos embriões encontrava-se na fase de pós-coração, demonstrando a relação existente entre o início da germinação e o desenvolvimento dos embriões, pois nessa época a germinação iniciou aos 31 dias após a instalação do teste, sendo esta a que levou o menor tempo.

Nas figuras 20 e 21 pode-se observar embriões nas diversas fases de desenvolvimento, e as mudanças na forma à medida que ocorre o amadurecimento.

FIGURA 20 - EMBRIÕES NAS FASES DE DESENVOLVIMENTO CORAÇÃO E PÓS -CORÇÃO



LEGENDA: 1 a 3- embrião em estágio coração, 4- estágio pós -coração

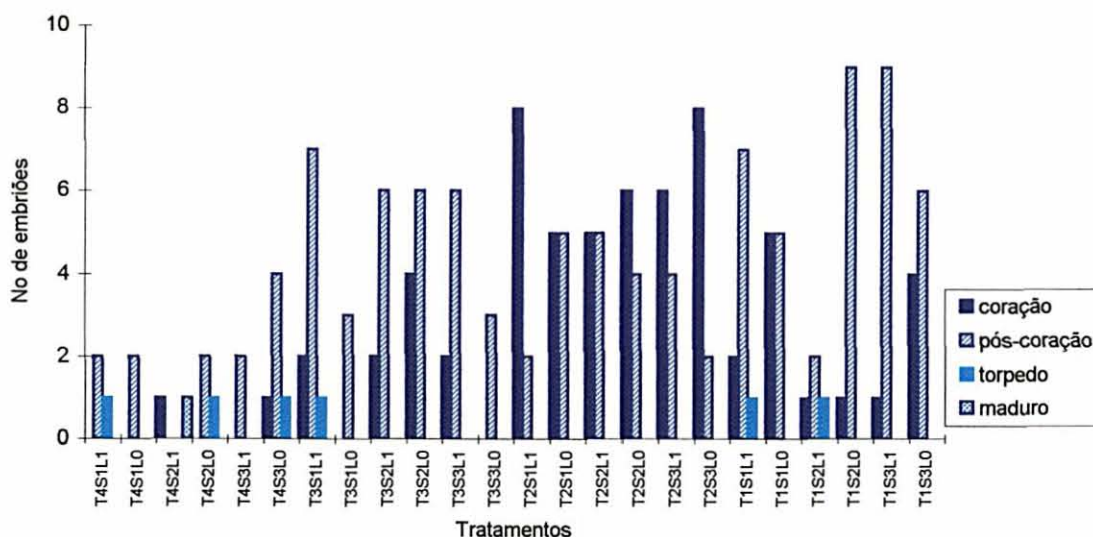
FIGURA 21 - EMBRIÕES NAS FASES DE DESENVOLVIMENTO CORAÇÃO, TORPEDO E MADURO



LEGENDA: 1 e 2 embrião em estágio coração, 3 – estágio torpedo, 4- estágio maduro

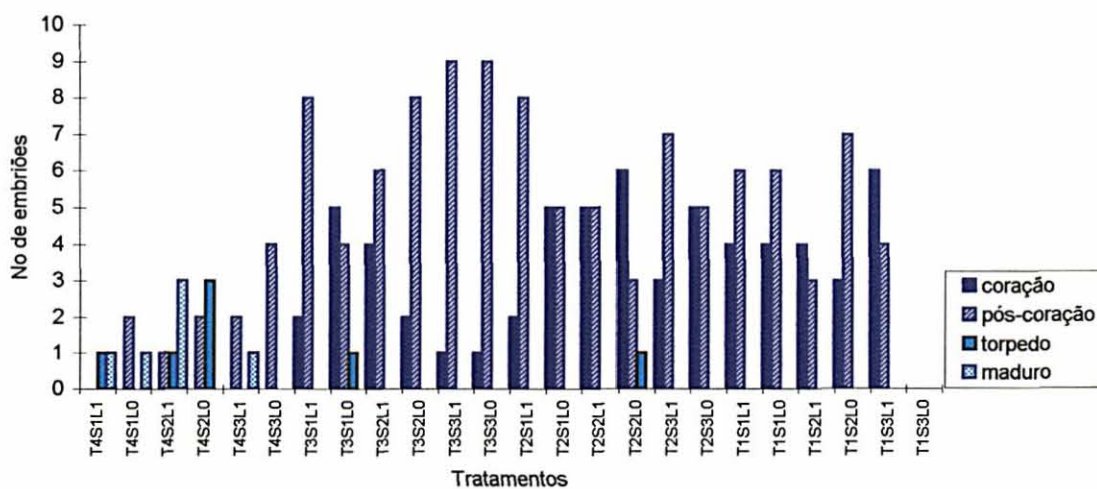
Os dados obtidos na avaliação dos embriões após o encerramento dos testes de germinação, estão descritos nas figuras 22, 23, 24, correspondendo à época 1, época 2 e época 3, respectivamente. Foram avaliados 10 embriões de cada tratamento. Esta avaliação foi realizada em março de 1997, completando um ano desde a coleta dos frutos.

FIGURA 22 - NÚMERO DE EMBRIÕES NAS DIFERENTES FASES DE DESENVOLVIMENTO, NOS DIFERENTES TRATAMENTOS APÓS O ENCERRAMENTO DOS TESTES DE GERMINAÇÃO PARA A ÉPOCA 1



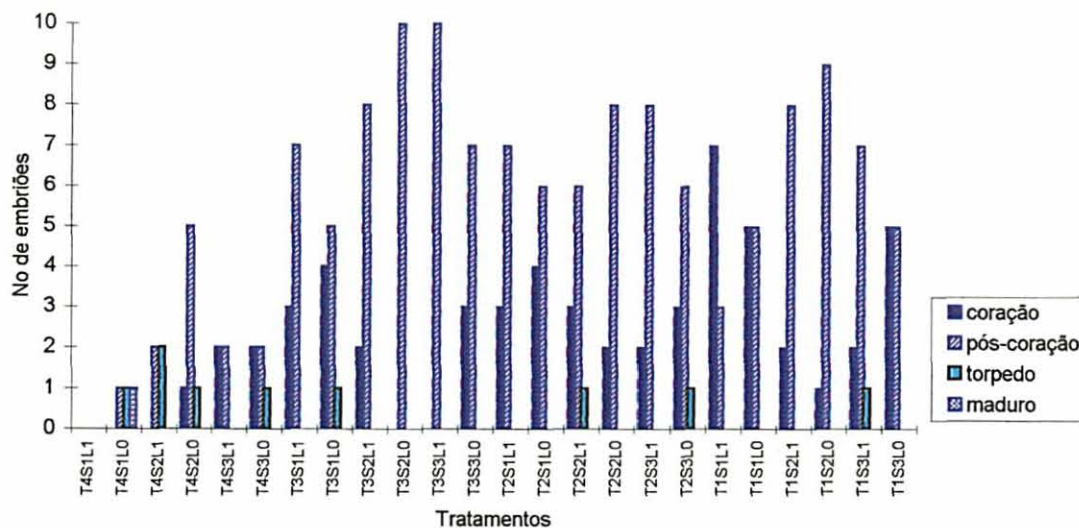
LEGENDA: T1 - temperatura constante 20 °C, T2 - temperatura constante 25 °C, T3 - temperatura constante 30 °C, T4 - temperatura alternada 20-30°C, S1 - substrato areia, S2 - substrato vermiculita, S3 - substrato ágar, L0 - ausência de luz, L1 - presença luz.

FIGURA 23 - NÚMERO DE EMBRIÕES NAS DIFERENTES FASES DE DESENVOLVIMENTO, NOS DIFERENTES TRATAMENTOS APÓS O ENCERRAMENTO DOS TESTES DE GERMINAÇÃO PARA A ÉPOCA 2



LEGENDA: T1 - temperatura constante 20 °C, T2 - temperatura constante 25 °C, T3 - temperatura constante 30 °C, T4 - temperatura alternada 20-30°C, S1 - substrato areia, S2 - substrato vermiculita, S3 - substrato ágar, L0 - ausência de luz, L1 - presença luz.

FIGURA 24 - NÚMERO DE EMBRIÕES NAS DIFERENTES FASES DE DESENVOLVIMENTO, NOS DIFERENTES TRATAMENTOS APÓS O ENCERRAMENTO DOS TESTES DE GERMINAÇÃO PARA A ÉPOCA 3



LEGENDA: T1 - temperatura constante 20 °C, T2 - temperatura constante 25 °C, T3 - temperatura constante 30 °C, T4 - temperatura alternada 20-30°C, S1 - substrato areia, S2 - substrato vermiculita, S3 - substrato ágar, L0 - ausência de luz, L1 - presença luz.

Os dados apresentados nas figuras 22, 23, 24 demonstram que após o encerramento dos testes de germinação ainda havia sementes (pirenos) em condições de germinar, mostrando desuniformidade no desenvolvimento dos embriões, e que podem ter sido influenciados por fatores ambientais, como a temperatura.

O reduzido número de embriões encontrados nos tratamentos com temperatura alternada é devido principalmente às altas taxas de germinação, pois a maioria das sementes germinaram nessa condição. Verificou-se que ainda foram encontrados embriões que estavam principalmente na fase maduro ou germinando.

Nos tratamentos sob temperatura constante de 30° C, 20° C e 25° C, grande parte dos embriões apresentavam-se na fase de pós-coração e poucos na fase de torpedo. Demonstrando com isto, que ocorreu desenvolvimento dos embriões, mas,

de forma lenta e irregular. Estas temperaturas mostraram-se inadequadas para a promoção do completo desenvolvimento dos embriões, mas mantiveram as sementes vivas, por períodos muito longos, funcionando como uma forma de armazenamento.

5 CONCLUSÃO

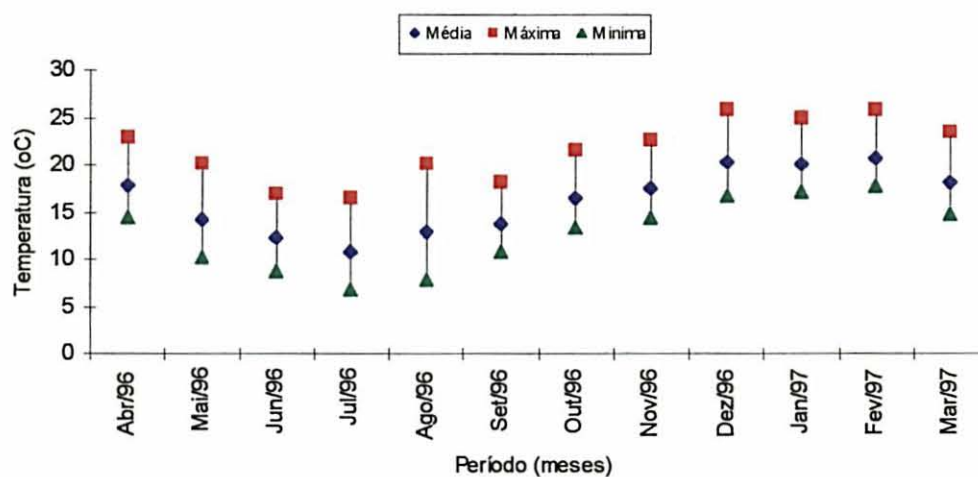
Dos resultados obtidos nesse trabalho pode-se concluir que:

- ✓ A temperatura alternada é um fator determinante na germinação das sementes de *I. paraguariensis*, sendo que a temperatura de 20-30° C foi a que apresentou os maiores percentuais de germinação;
- ✓ substrato que proporcionou as melhores condições de germinação para as sementes foi areia;
- ✓ fator luz não influenciou no processo germinativo para as épocas 1 e 2, mas na época 3 a presença de luz influenciou positivamente;
- ✓ tratamento de 222 dias de estratificação (época 3) foi que apresentou as maiores médias percentuais de germinação e os melhores resultados para velocidade de germinação, independente dos fatores substrato e luz;
- ✓ tempo entre a semeadura e o início da germinação variou entre as épocas, na época 3 (222 dias de estratificação) foi de 30 dias, na época 2 (179 dias) foi de 42 dias e na época 1 (134 dias) foi de 30 dias;
- ✓ os resultados dos testes de germinação de *I. paraguariensis*, indicam que os mesmos podem ser encerrados depois de 100 dias, após a primeira contagem, quando utilizam-se sementes estratificadas;
- ✓ para *I. paraguariensis* o teste de tetrazólio é recomendável, pois fornece uma estimativa rápida sobre a viabilidade das sementes, enquanto que o teste de germinação necessita de um tempo muito longo;
- ✓ a avaliação da forma e tamanho dos embriões, mostrou que ocorreu o crescimento destes, havendo mudança na quantidade de embriões da fase de coração para a fase pós-coração da época 1 para a época 3; e
- ✓ os embriões desenvolvem-se de forma desuniforme e à medida que completam seu desenvolvimento ocorre a germinação, que é distribuída ao longo do tempo.

ANEXO 1

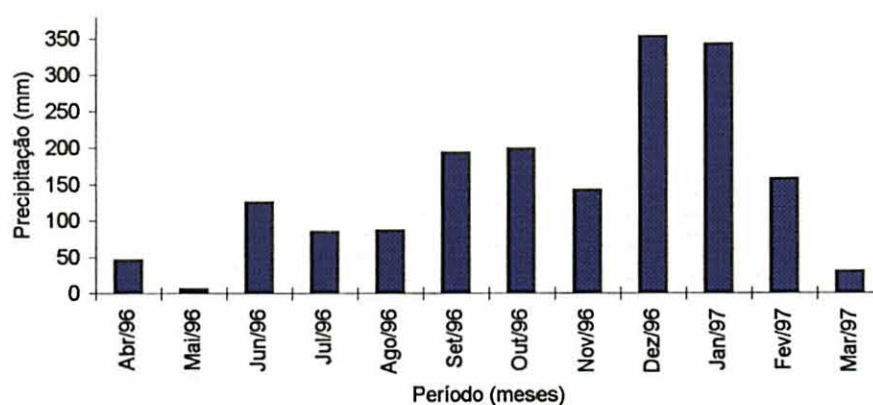
DADOS METEOROLÓGICOS

MÉDIAS MENSAIS DAS TEMPERATURAS MÁXIMA, MÉDIAS E MÍNIMA DO AR, NO PERÍODO DE ABRIL DE 1996 A MARÇO DE 1997



FONTE: IAPAR - Instituto Agronômico do Paraná, Banco de Dados Agrometeorológico - Estação 2549041

MÉDIAS MENSAIS DE PRECIPITAÇÃO (mm), NO PERÍODO DE ABRIL DE 1996 A MARÇO DE 1997



FONTE: IAPAR - Instituto Agronômico do Paraná, Banco de Dados Agrometeorológico - Estação 2549041

ANEXO 2

**ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS
TESTES DE GERMINAÇÃO
SOB TEMPERATURA ALTERNADA**

SANEST - SISTEMA DE ANÁLISE ESTATÍSTICA
Autores: Elio Paulo Zonta - Amauri Almeida Machado
CENTRO NACIONAL DE PESQUISA DE FLORESTAS - CNPF
ANÁLISE DOS TESTES DE GERMINAÇÃO SOB TEMPERATURA ALTERNADA
TRANSFORMAÇÃO DAS OBSERVAÇÕES SEGUNDO ARCO SENSO DA RAIZ QUADRADA DE X/100

Nome dos Fatores	
Fator	Nome
A	Época
B	Substrato
C	Luz
D	Repetição

QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA

Causas da Variação	G L	SQ	QM	Valor F	Prob.> F
Época	2	505.8052	252.9026	24.2243	0.00001
Substrato	2	353.3289	176.6644	16.9218	0.00002
Luz	1	49.4717	49.4717	4.7387	0.03063
Ep*Sub	4	297.5699	74.3924	7.1257	0.00017
Ep*Luz	2	148.9701	74.4850	7.1346	0.00181
Sub*Luz	2	25.9661	12.0983	1.2436	0.29375
Ep*Sub*Luz	4	66,2229	16,5557	1,5823	0,1800
Residuo	72	751,6800	10.4400		
Total	89	2199.01836			

Media Geral: 38.919090

Coefficiente de Variação: 8.302%

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE ÉPOCA

Num. Trat.	Nome	Num. Repet.	Médias	Médias originais	5%
3	E3	30	41.8818	44.5685	a
2	E2	30	38.7966	39.2575	b
1	E1	30	36.0787	34.6799	c

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si em nível de significância indicado
D.M.S. 5% = 1.99628

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE ÉPOCA DENTRO DO SUBSTRATO AREIA

Num. Trat.	Nome	Num. repet.	Médias	Médias originais	5%
3	E3	10	45.0574	50.1002	a
2	E2	10	40.7301	42.5752	b
1	E1	10	37.5652	37.1691	b

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE ÉPOCA DENTRO DO SUBSTRATO VERMICULITA

Num. Trat.	Nome	Num. repet.	Médias	Médias originais	5%
3	E3	10	40.9519	42.9583	a
1	E1	10	39.7787	40.9376	ab
2	E2	10	37.2423	36.6252	b

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE ÉPOCA DENTRO DO SUBSTRATO ÁGAR

Num. Trat.	Nome	Num repet	Médias	Médias originais	5%
3	E3	10	39.6361	40.6928	a
2	E2	10	38.4174	38.6120	a
1	E1	10	30.8922	26.3606	b

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si em nível de significância indicado
D.M.S. 5% = 3.45765

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE ÉPOCA DENTRO DO FATOR SEM LUZ

Num. Trat.	Nome	Num. repet.	Médias	Médias originais	5%
2	E2	15	39.4149	40.3138	a
3	E3	15	39.4135	40.3115	a
1	E1	15	35.7045	34.0595	b

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE ÉPOCA DENTRO DO FATOR COM LUZ

Num. Trat.	Nome	Num. repet.	Médias	Médias originais	5%
3	E3	15	44.3501	48.8658	a
2	E2	15	38.1783	38.2061	b
1	E1	15	36.4530	35.3030	b

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si em nível de significância indicado
D.M.S. 5% = 2.82316

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE ÉPOCA DENTRO DO SUBSTRATO AREIA E DO FATOR SEM LUZ

Num. Trat.	Nome	Num repet	Médias	Médias originais	5%
3	E3	5	43.9657	48.1952	a
2	E2	5	40.9535	42.9611	ab
1	E1	5	36.1736	34.8376	b

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE ÉPOCA DENTRO DO SUBSTRATO AREIA E DO FATOR COM LUZ

Num. Trat.	Nome	Num repet.	Médias	Médias originais	5%
3	E3	5	46.1491	52.0051	a
2	E2	5	40.5066	42.1897	b
1	E1	5	38.9569	39.5308	b

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE ÉPOCA DENTRO DO SUBSTRATO VERMICULITA E DO FATOR SEM LUZ

Num. Trat.	Nome	Num repet.	Médias	Médias originais	5%
1	E1	5	41.4236	43.7742	a
2	E2	5	38.2661	38.3551	a
3	E3	5	38.0502	37.9890	a

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE ÉPOCA DENTRO DO SUBSTRATO VERMICULITA E DO FATOR COM LUZ

Num. Trat.	Nome	Num. repet.	Médias	Médias originais	5%
3	E3	5	43.8535	47.9996	a
1	E1	5	38.1339	38.1309	b
2	E2	5	36.2186	34.9125	b

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE ÉPOCA DENTRO DO SUBSTRATO ÁGAR E DO FATOR SEM LUZ

Num. Trat.	Nome	Num. repet.	Médias	Médias originais	5%
2	E2	5	39.0250	39.6472	a
3	E3	5	36.2246	34.9225	a
1	E1	5	29.5164	24.2726	b

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE ÉPOCA DENTRO DO SUBSTRATO ÁGAR COM O FATOR LUZ

Num. Trat.	Nome	Num. repet.	Médias	Médias originais	5%
3	E3	5	43.0475	46.5950	a
2	E2	5	37.8098	37.5820	b
1	E1	5	32.2681	28.5030	c

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE SUBSTRATO

Num. Trat.	Nome	Num. repet.	Médias	Médias originais	5%
1	S1	30	41.1176	43.2447	a
2	S2	30	39.3243	40.1588	a
3	S3	30	36.3152	35.0734	b

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si em nível de significância indicado
D.M.S. 5% = 1.99628

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE SUBSTRATO DENTRO DO FATOR ÉPOCA 1

Num. Trat.	Nome	Num. repet.	Médias	Médias originais	5%
2	S2	10	39.7787	40.9376	a
1	S1	10	37.5652	37.1691	a
3	S3	10	30.8922	26.3606	b

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE SUBSTRATO DENTRO DO FATOR ÉPOCA 2

Num. Trat.	Nome	Num. repet.	Médias	Médias originais	5%
1	S1	10	40.7301	42.5752	a
3	S3	10	38.4174	38.6120	ab
2	S2	10	37.2423	36.6252	b

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE SUBSTRATO DENTRO DO FATOR ÉPOCA 3

Num. Trat.	Nome	Num. repet.	Médias	Médias originais	5%
1	S1	10	45.0574	50.1002	a
2	S2	10	40.9519	42.9583	b
3	S3	10	39.6361	40.6928	b

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si em nível de significância indicado
D.M.S. 5% = 3.45765

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE SUBSTRATO DENTRO DO FATOR SEM LUZ

Num. Trat.	Nome	Num. repet.	Médias	Médias originais	5%
1	S1	15	40.3643	41.9444	a
2	S2	15	39.2466	40.0259	a
3	S3	15	34.9220	32.7712	b

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE SUBSTRATO DENTRO DO FATOR COM LUZ

Num. Trat.	Nome	Num. repet.	Médias	Médias originais	5%
1	S1	15	41.8709	44.5495	a
2	S2	15	39.4020	40.2918	ab
3	S3	15	37.7085	37.4109	b

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si em nível de significância indicado
D.M.S. 5% = 2.82316

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE LUZ

Num. Trat.	Nome	Num. repet.	Médias	Médias originais	5%
2	L1	45	39.6604	40.7346	a
1	L0	45	38.1776	38.2050	b

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE LUZ DENTRO DO FATOR ÉPOCA 1

Num. Trat.	Nome	Num. repet.	Médias	Médias originais	5%
2	L1	15	36.453017	35.3030	a
1	L0	15	35.704554	34.0595	a

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE LUZ DENTRO DO FATOR ÉPOCA 2

Num. Trat.	Nome	Num. repet.	Médias	Médias originais	5%
1	L0	15	39.4149	40.3138	a
2	L1	15	38.1783	38.2061	a

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE LUZ DENTRO DO FATOR ÉPOCA 3

Num. Trat.	Nome	Num. repet.	Médias	Médias originais	5%
2	L1	15	44.3501	48.8658	a
1	L0	15	39.4135	40.3115	b

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE LUZ DENTRO DO SUBSTRATO AREIA

Num. Trat.	Nome	Num. repet.	Médias	Médias originais	5%
2	L1	15	41.8709	44.5495	a
1	L0	15	40.3643	41.9444	a

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE LUZ DENTRO DO FATOR SUBSTRATO VERMICULITA

Num. Trat.	Nome	Num. repet.	Médias	Médias originais	5%
2	L1	15	39.4020	40.2918	a
1	L0	15	39.2466	40.0259	a

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE LUZ DENTRO DO FATOR SUBSTRATO ÁGAR

Num. Trat.	Nome	Num. repet.	Médias	Médias originais	5%
2	L1	15	37.7085	37.4109	a
1	L0	15	34.9220	32.7712	b

Médias seguida por letras distintas diferem entre si em nível de significância indicado
D.M.S 5 % = 2.35097

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE LUZ DENTRO DO FATOR ÉPOCA 1 E DO FATOR SUBSTRATO AREIA

Num. Trat.	Nome	Num. repet.	Médias	Médias originais	5%
2	L1	5	38.9569	39.5308	a
1	L0	5	36.1736	34.8376	a

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE LUZ DENTRO DO FATOR ÉPOCA 1 E DO FATOR SUBSTRATO VERMICULITA

Num. Trat.	Nome	Num. repet.	Médias	Médias originais	5%
1	L0	5	41.4236	43.7742	a
2	L1	5	38.1339	38.1309	a

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE LUZ DENTRO DA ÉPOCA 1 DO FATOR ÉPOCA 1 E FATOR SUBSTRATO ÁGAR

Num. Trat.	Nome	Num. repet.	Médias	Médias originais	5%
2	L1	5	32.2681	28.5030	a
1	L0	5	29.5164	24.2726	a

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE LUZ DENTRO DO FATOR ÉPOCA 2 E DO FATOR SUBSTRATO AREIA

Num. Trat.	Nome	Num. repet.	Médias	Médias originais	5%
1	L0	5	40.9535	42.9611	a
2	L1	5	40.5066	42.1897	a

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE LUZ DENTRO DO FATOR ÉPOCA 2 E DO FATOR SUBSTRATO AREIA

Num. Trat.	Nome	Num. repet.	Médias	Médias originais	5%
1	L0	5	40.9535	42.9611	a
2	L1	5	40.5066	42.1897	a

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE LUZ DENTRO DO FATOR ÉPOCA 2 E DO FATOR SUBSTRATO VERMICULITA

Num. Trat.	Nome	Num. repet.	Médias	Médias originais	5%
1	L0	5	38.2661	38.3551	a
2	L1	5	36.2186	34.9122	a

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE LUZ DENTRO DO FATOR ÉPOCA 2 E DO FATOR SUBSTRATO ÁGAR

Num. Trat.	Nome	Num. repet.	Médias	Médias originais	5%
1	L0	5	39.0250	39.6472	a
2	L1	5	37.8098	37.5820	a

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE LUZ DENTRO DO FATOR ÉPOCA 3 E DO FATOR SUBSTRATO AREIA

Num. Trat.	Nome	Num. repet.	Médias	Médias originais	5%
2	L1	5	46.1491	52.0051	a
1	L0	5	43.9657	48.1952	a

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE LUZ DENTRO DO FATOR ÉPOCA 3 E DO FATOR SUBSTRATO VERMICULITA

Num. Trat.	Nome	Num. repet.	Médias	Médias originais	5%
2	L1	5	43.8535	47.9996	a
1	L0	5	38.0502	37.9890	b

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE LUZ DENTRO DO FATOR ÉPOCA 3 DO FATOR SUBSTRATO ÁGAR

Num. Trat.	Nome	Num. repet.	Médias	Médias originais	5%
2	L1	5	43.0475	46.5950	a
1	L0	5	36.2246	34.9225	b

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si em nível de significância indicado
D.M.S. 5% = 4.07199

ANEXO 3

**FUNGOS PRESENTES NAS
SEMENTES DE *I. paraguariensis***



C. CNPF/ P&D n.º 310/96

Colombo PR, 3 de dezembro de 1996.

Ilma. Sra.
Marisete Catapan
Universidade Federal do Paraná
Departamento de Silvicultura
Laboratório de Sementes.

Prezada Senhora,

Informamos os resultados das análises de sementes estratificadas de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) encaminhadas por V.S^a ao no Laboratório de Fitopatologia do CNPF.

As sementes foram primeiramente desinfestadas superficialmente com hipoclorito de sódio 0,5% por 3 minutos, e após submetidas ao método "Blotter test". Após 7-10 dias de incubação, os resultados revelaram alta incidência de fungos (98,5%), como normalmente ocorre em sementes estratificadas.

Os fungos mais freqüentes foram:

<i>Brachydesmiella</i> sp.	26,0%
<i>Phaeoisaria</i> sp.	14,5%
<i>Brachydesmiella</i> sp + <i>Phaeoisaria</i> sp.	47,0%
<i>Phaeoisaria</i> sp. + <i>Neottispora</i> sp.	3,5%
<i>Chaetomium</i> sp.	1,5%
<i>Phaeoisaria</i> sp. + <i>Chaetomium</i> sp.	1,0%
<i>Fusarium</i> sp.	0,5%
Outros fungos	4,5%
Sem contaminação	1,5%

A associação destes fungos às sementes possivelmente poderá estar relacionada com a decomposição do tegumento das sementes de erva-mate.

Atenciosamente,

Albino Grigoletti Jr.
Pesquisador
Embrapa-Florestas

Johann H.C. Bade
Ass. de pesquisa
Embrapa-Florestas

VISTO:

Antonio F. J. Bellote
Chefe Adj. P & D.
Embrapa-Florestas

Ministério da Agricultura e do
Abastecimento.

Empresa Brasileira de
Pesquisa Agropecuária
Embrapa

Centro Nacional de Pesquisa
de Florestas
CNPF

Estrada da Ribeira km 111
Colombo, PR, Brasil
CP. 319, CEP 83411-000
E-mail postmaster@cnpf.embrapa.br

Fone: (041) 766-1313
Fax: (041) 766-1276
(041) 766-1692
Telex: (41) 30120

ANEXO 4

**ANÁLISE ESTATÍSTICA
DA VELOCIDADE DE GERMINAÇÃO**

SANEST - SISTEMA DE ANÁLISE ESTATÍSTICA
 Autores: Elio Paulo Zonta - Amauri Almeida Machado
 Centro Nacional de Pesquisa de Florestas - CNPF*
 ANÁLISE DA VELOCIDADE DE GERMINAÇÃO
 OBSERVAÇÕES NÃO TRANSFORMADAS

NOME DOS FATORES	
FATOR	NOME
A	ÉPOCA
B	REPETIÇÃO
C	SUBSTRATO
D	LUZ

QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA

CAUSAS DA VARIACAO	GL	SQ	QM	VALOR F	PROB.>F
ÉPOCA	2	7873.2731	3936.6365	92.2717	0.00001
SUBSTRATO	2	4113.7457	2056.8728	48.2115	0.00001
LUZ	1	11.1654	11.1654	0.2617	0.61665
Ep*Sub	4	2022.2089	505.5522	11.8497	0.00001
Ep*Luz	2	119.5774	59.7887	1.4014	0.25176
Sub*Luz	2	51.3282	25.6641	0.6015	0.55571
Ep*Sub*Luz	4	195.8257	48.9564	1.1475	0.34113
Resíduo	72	3071.7756	42.6635		
Total	89	17458.9003			

MEDIA GERAL = 81.956665

COEFICIENTE DE VARIACAO = 7.970 %

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE ÉPOCA

NUM.TRAT	NOME	NUM.REPET	MÉDIAS	5%
1	EP1	30	91.613334	a
2	EP2	30	84.956666	b
3	EP3	30	69.299999	c

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si em nível de significância indicado
 D.M.S. 5% = 4.04028

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE ÉPOCA DENTRO DE 1 DO FATOR SUBSTRATO

NUM.TRAT	NOME	NUM.REPET	MÉDIAS	5%
1	EP1	10	89.170001	a
2	EP2	10	79.109999	b
3	EP3	10	64.019999	c

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE ÉPOCA DENTRO DE 2 DO FATOR SUBSTRATO

NUM.TRAT	NOME	NUM.REPET	MÉDIAS	5%
2	EP2	10	85.299999	a
1	EP1	10	77.580001	b
3	EP3	10	67.890000	c

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE ÉPOCA DENTRO DE 3 DO FATOR SUBSTRATO

NUM.TRAT	NOME	NUM.REPET	MÉDIAS	5%
1	EP1	10	108.089999	a
2	EP2	10	90.460001	b
3	EP3	10	75.989999	c

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si em nível de significância indicado
 D.M.S. 5% = 6.99797

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE ÉPOCA DENTRO DE 0 DO FATOR LUZ

NUM.TRAT	NOME	NUM.REPET	MÉDIAS	5%
1	EP1	15	92.680000	a
2	EP2	15	83.200001	b
3	EP3	15	68.933333	c

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE ÉPOCA DENTRO DE 1 DO FATOR LUZ

NUM.TRAT	NOME	NUM.REPET	MÉDIAS	5%
1	EP1	15	90.546667	a
2	EP2	15	86.713332	a
3	EP3	15	69.666666	b

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si em nível de significância indicado
D.M.S. 5% = 5.71382

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE ÉPOCA DENTRO DE 1 DO FATOR SUBSTRATO E 0 DO FATOR LUZ

NUM.TRAT	NOME	NUM.REPET	MÉDIAS	5%
1	EP1	5	90.080000	a
2	EP2	5	80.980000	a
3	EP3	5	63.220000	b

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE ÉPOCA DENTRO DE 1 DO FATOR SBSTRATO E 1 DO FATOR LUZ

NUM.TRAT	NOME	NUM.REPET	MÉDIAS	5%
1	EP1	5	88.2600	a
2	EP2	5	77.2399	b
3	EP3	5	64.8199	c

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE ÉPOCA DENTRO DE 2 DO FATOR SUBSTRATO E 0 DO FATOR LUZ

NUM.TRAT	NOME	NUM.REPET	MÉDIAS	5%
2	EP2	5	81.280000	a
1	EP1	5	80.180000	a
3	EP3	5	67.620000	b

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE ÉPOCA DENTRO DE 2 DO FATOR SUBSTRATO E 1 DO FATOR LUZ

NUM.TRAT	NOME	NUM.REPET	MÉDIAS	5%
2	EP2	5	89.319998	a
1	EP1	5	74.980002	a
3	EP3	5	68.160000	b

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE ÉPOCA DENTRO DE 3 DO FATOR SUBSTRATO E 0 DO FATOR LUZ

NUM.TRAT	NOME	NUM.REPET	MÉDIAS	5%
1	EP1	5	107.779999	a
2	EP2	5	87.340001	b
3	EP3	5	75.959999	c

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE ÉPOCA DENTRO DE 3 DO FATOR SUBSTRATO E 1 DO FATOR LUZ

NUM.TRAT	NOME	NUM.REPET	MÉDIAS	5%
1	EP1	5	108.399998	a
2	EP2	5	93.580000	b
3	EP3	5	76.020000	c

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si em nível de significância indicado
D.M.S. 5% = 9.89662

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE SUBSTRATO

NUM.TRAT	NOME	NUM.REPET	MÉDIAS	5%
3	3	30	91.513333	a
1	1	30	77.433333	b
2	2	30	76.923333	b

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si em nível de significância indicado

D.M.S. 5% = 4.04028

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE SUBSTRATO DENTRO DE EP1 DO FATOR ÉPOCA

NUM.TRAT	NOME	NUM.REPET	MÉDIAS	5%
3	3	10	108.089999	a
1	1	10	89.170001	b
2	2	10	77.580001	c

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE SUBSTRATO DENTRO DE EP2 DO FATOR ÉPOCA

NUM.TRAT	NOME	NUM.REPET	MÉDIAS	5%
3	3	10	90.4600	a
2	2	10	85.2999	ab
1	1	10	79.1099	b

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE SUBSTRATO DENTRO DE EP3 DO FATOR ÉPOCA

NUM.TRAT	NOME	NUM.REPET	MÉDIAS	5%
3	3	10	75.989999	a
2	2	10	67.890000	b
1	1	10	64.019999	b

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si em nível de significância indicado

D.M.S. 5% = 6.99797

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE SUBSTRATO DENTRO DE 0 DO FATOR LUZ

NUM.TRAT	NOME	NUM.REPET	MÉDIAS	5%
3	3	15	90.360000	a
1	2	15	78.093333	b
2	1	15	76.360000	b

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE SUBSTRATO DENTRO DE 1 DO FATOR LUZ

NUM.TRAT	NOME	NUM.REPET	MÉDIAS	5%
3	3	15	92.666666	a
2	2	15	77.486667	b
1	1	15	76.773333	b

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si em nível de significância indicado

DM.S. 5% = 5.71382

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE SUBSTRATO DENTRO DE EP1 DO FATOR ÉPOCA E 0 DO FATOR LUZ

NUM.TRAT	NOME	NUM.REPET	MÉDIAS	5%
3	3	5	107.779999	a
1	1	5	90.080000	b
2	2	5	80.180000	c

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE SUBSTRATO DENTRO DE EP1 DO FATOR EP E 1 DO FATOR LUZ

NUM.TRAT	NOME	NUM.REPET	MÉDIAS	5%
3	3	5	108.399998	a
1	1	5	88.260002	b
2	2	5	74.980002	c

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE SUBSTRATO DENTRO DE EP2 DO FATOR EP E 0 DO FATOR LUZ

NUM.TRAT	NOME	NUM.REPET	MÉDIAS	5%
3	3	5	87.340001	a
2	2	5	81.280000	a
1	1	5	80.980000	a

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE SUBSTRATO DENTRO DE EP2 DO FATOR EP E 1 DO FATOR LUZ

NUM.TRAT	NOME	NUM.REPET	MÉDIAS	5%
3	3	5	93.580000	a
2	2	5	89.319998	a
1	1	5	77.239998	b

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE SUBSTRATO DENTRO DE EP3 DO FATOR EP E 0 DO FATOR LUZ

NUM.TRAT	NOME	NUM.REPET	MÉDIAS	5%
3	3	5	75.959999	a
2	2	5	67.620000	ab
1	1	5	63.220000	b

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE SUBSTRATO DENTRO DE EP3 DO FATOR EP E 1 DO FATOR LUZ

NUM.TRAT	NOME	NUM.REPET	MÉDIAS	5%
3	3	5	76.020000	a
2	2	5	68.160000	ab
1	1	5	64.819999	b

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si em nível de significância indicado
D.M.S. 5% = 9.89662

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE LUZ

NUM.TRAT	NOME	NUM.REPET	MÉDIAS	5%
2	1	45	82.308889	a
1	0	45	81.604444	a

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si em nível de significância indicado
D.M.S. 5% = 2.74679

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE LUZ DENTRO DE EP1 DO FATOR ÉPOCA

NUM.TRAT	NOME	NUM.REPET	MÉDIAS	5%
1	0	15	92.680000	a
2	1	15	90.546667	a

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE LUZ DENTRO DE EP2 DO FATOR ÉPOCA

NUM.TRAT	NOME	NUM.REPET	MÉDIAS	5%
2	1	15	86.713332	a
1	0	15	83.200001	a

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE LUZ DENTRO DE EP3 DO FATOR ÉPOCA

NUM.TRAT	NOME	NUM.REPET	MÉDIAS	5%
2	1	15	69.666666	a
1	0	15	68.933333	a

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si em nível de significância indicado
D.M.S. 5% = 4.75758

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE LUZ DENTRO DE 1 DO FATOR SUBSTRATO

NUM.TRAT	NOME	NUM.REPET	MÉDIAS	5%
1	0	15	78.093333	a
2	1	15	76.773333	a

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE LUZ DENTRO DE 2 DO FATOR SUBSTRATO

NUM.TRAT	NOME	NUM.REPET	MÉDIAS	5%
2	1	15	77.486667	a
1	0	15	76.360000	a

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE LUZ DENTRO DE 3 DO FATOR SUBSTRATO

NUM.TRAT	NOME	NUM.REPET	MÉDIAS	5%
2	1	15	92.666666	a
1	0	15	90.360000	a

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si em nível de significância indicado
D..M.S. 5% = 4.75758

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE LUZ DENTRO DE EP1 DO FATOR EP E 1 DO FATOR SUBSTRATO

NUM.TRAT	NOME	NUM.REPET	MÉDIAS	5%
1	0	5	90.080000	a
2	1	5	88.260002	a

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE LUZ DENTRO DE EP1 DO FATOR EP E 2 DO FATOR SUBSTRATO

NUM.TRAT	NOME	NUM.REPET	MÉDIAS	5%
1	0	5	80.180000	a
2	1	5	74.980002	a

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE LUZ DENTRO DE EP1 DO FATOR EP E 3 DO FATOR SUBSTRATO

NUM.TRAT	NOME	NUM.REPET	MÉDIAS	5%
2	1	5	108.399998	a
1	0	5	107.779999	a

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE LUZ DENTRO DE EP2 DO FATOR EP E 1 DO FATOR SUBSTRATO

NUM.TRAT	NOME	NUM.REPET	MÉDIAS	5%
1	0	5	80.980000	a
2	1	5	77.239998	a

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE LUZ DENTRO DE EP2 DO FATOR EP E 2 DO FATOR SUBSTRATO

NUM.TRAT	NOME	NUM.REPET	MÉDIAS	5%
2	1	5	89.319998	a
1	0	5	81.280000	a

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE LUZ DENTRO DE EP2 DO FATOR EP E 3 DO FATOR SUBSTRATO

NUM.TRAT	NOME	NUM.REPET	MÉDIAS	5%
2	1	5	93.580000	a
1	0	5	87.340001	a

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE LUZ DENTRO DE EP3 DO FATOR EP E 1 DO FATOR SUBSTRATO

NUM.TRAT	NOME	NUM.REPET	MÉDIAS	5%
2	1	5	64.819999	a
1	0	5	63.220000	a

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE LUZ DENTRO DE EP3 DO FATOR EP E 2 DO FATOR SUBSTRATO

NUM.TRAT	NOME	NUM.REPET	MÉDIAS	5%
2	1	5	68.160000	a
1	0	5	67.620000	a

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE LUZ DENTRO DE EP3 DO FATOR EP E 3 DO FATOR SUBSTRATO

NUM.TRAT	NOME	NUM.REPET	MÉDIAS	5%
2	1	5	76.020000	a
1	0	5	75.959999	a

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si em nível de significância indicado
D.M.S. 5% = 8.24037

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 ALBRECHT, J.M.F.; COLLI, A.M.T. Efeito de diferentes substratos e temperaturas na germinação de sementes de aroeira (*Astronium urundeuva* (Fr.All) Engl.). Inf. ABRATES, v.5, n. 2, p.186, 1995. (n. esp.).
- 2 ALENCAR, F.R. Erva-mate. Produtos rurais, n.12, 1960. 85 p.
- 3 AMARAL, M. B. et. al. Variação geográfica no grau de maturidade embrionária de sementes de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil., Aquifoliaceae). **Ciência e Cultura**, v. 417, supl. 672, 1989.
- 4 AMARAL, L.G. Floração e frutificação de algumas espécies arbóreas nativas e cultivadas no Rio Grande do Sul, Brasil. **Iheringia**, n. 24, p.125-132, 1979.
- 5 AMARAL, D.M.I.; ALCALAY, N. Métodos de excisão do embrião da semente de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) para o teste de tetrazólio. **Roessléria**, v.4, n. 2, p.174, 1982.
- 6 ANDRADE, A.C.S; et. al. Aspectos ecofisiológicos da germinação de sucupira-preta (*Bowdichia virgilioides* H.B.K.). Inf. ABRATES, v.5, n. 2 p.173, 1995. (n. esp.).
- 7 ARANDA, D. Area de distribución natural de la yerba mate. **Publicación Miscelanea**, Cerro Azul, v.14, p.1-17, 1986.
- 8 AYUB, D.M.; MARIATH, J.E; COCUCI, A. E. Ontogenia do fruto de *Ilex paraguariensis* St. Hil. In: REUNIÃO TÉCNICA DO CONE SUL SOBRE A CULTURA DA ERVA-MATE (1 : 1992 : Porto Alegre). **Programa e Resumos**. Porto Alegre, 1992.
- 9 BARTON, L.V.; THORNTON, N.C. Germination and sex population studies of *Ilex opaca* Ait. **Contributions from Boyce Thompson Institute for Plant Research**, New York, v.14, p.405-410, c 1947.

- 10 BELEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds**; physiology of development and germination. New York : Plenum , 1984. 367 p.
- 11 BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 1992. 188p.
- 12 BONNER, F.T. Ilex L. Holly. **Seeds of Woody Plants in the United States. U.S. Department of Agriculture Handbook, Forest Service, Washington, D.C., v. 450, n.883, p.450-453, 1974.**
- 13 BORGES, E.E. de; RENA, A.B. Germinação de sementes. In: AGUIAR, I.B; PIÑARODRIGUES, F.C.M.; FIGLIOLIA, M.B. **Sementes florestais tropicais**, Brasília: ABRATES,1993. p. 83-127.
- 14 CARVALHO, P.E.R. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira**. Brasília : EMBRAPA-CNPQ, 1994. 640 p.
- 15 CARVALHO, N.M. de ; NAKAGAWA, J. **Sementes - Ciência, Tecnologia e Produção**. Campinas : Fundação Cargill, 1983. 429 p.
- 16 CASTELLANI, E.D.; AGUIAR, I.B. Efeito da flutuação da temperatura na germinação de sementes de candiúba (*Trema micrantha* (L.) Blume) - Ulmaceae. **Inf. ABRATES**. v. 7, n. 1/2, p. 198, 1997. (n. esp.).
- 17 CHRISTIN, O. Instrucciones para la preparacion y cuidado del almacigo y viveiro de yerba mate. **Circular INTA**, Misiones, n. 33, 1988.
- 18 CÍCERO, S.M. Dormência de Sementes. In: Semana de atualização em produção de sementes. (1 : Piracicaba). **Trabalhos apresentados** Campinas : Fundação Cargill, 1986. p. 41-73.

- 19 COELHO, C.G. **Anatomia foliar e morfologia de inflorescências das espécies rio-grandenses de *Ilex* L. (Aquifoliaceae)**. Porto Alegre, 1995. Dissertação (Mestrado em Botânica). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Curso de Pós-graduação em Botânica.
- 20 COLBRY, V.L.; SWOFFORD, T.F.; MOORE, R.P. Test for germination in the laboratory. *The Yearbook of Agriculture*, New York, p 433-442, 1961.
- 21 CORBINEAU, F.; CÔME, D. Control of seed germination and dormancy by the gaseous environment. In: KIGEL, J.; GALILI, G. (Ed.). **Seed Development and Germination**. New York: M. Dekker, 1995. p. 897-423.
- 22 CORRÊA FILHO, V. Ervais do Brasil e ervateiros. **Documentário da vida rural**, Rio de Janeiro, n. 12, 1957. 88 p.
- 23 CROCKER, W.; BARTON, L.V. **Physiology of Seeds**. Waltham, Mass. Chronica Botanica Company, 1957. 267p.
- 24 CUNHA, G.G. **Cultura de embriões de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) "in vitro"**. Porto Alegre, 1990. Dissertação (Mestrado em Botânica). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Curso de Pós-graduação em Botânica.
- 25 CUNHA, G.G.; FERREIRA, A.G. Viabilidade das sementes de erva-mate. **Ciência e Cultura**, v.39, n.10, p. 974-976, 1987.
- 26 CUQUEL, F.L.; CARVALHO, M.L.M.; CHAMA, H.M.C.P. Avaliação de métodos de estratificação para a quebra de dormência de sementes de erva-mate. **Sci. Agric.**, Piracicaba, v. 51, n.3, p 415-421, 1994.
- 26 DA CROCE, D.M. Informações sobre a cultura da erva-mate em Santa Catarina. Chapecó: EPAGRI. 1992. (Apostila).

- 28 _____; HIGA, A.R.; FLOSS, P.A. Escolha de fontes de sementes de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) para Santa Catarina. **Boletim Técnico EPAGRI**, Florianópolis, n. 69, p. 1- 23 ,1994.
- 29 DELOUCHE, J.C. *et. al.* The Tetrazolium Test For Seed Viability. **Mississippi Tech. Bull.**, Mississippi, n. 51, p. 1-123, 1962.
- 30 DIMITRI, M.J. Aquifoliáceas. In: PARODI, L. **Enciclopédia Argentina de Agricultura y Jardineria**. Buenos Aires : Editorial ACME, 1959. v.1
- 31 EDWIN, G.; REITZ, P.R. **Flora Ilustrada Catarinense** : Aquifoliáceas. Itajaí : Herbário Barbosa Rodrigues, 1967. 47 p.
- 32 FAO. Guia para la manipulación de semillas forestales - con especial referencia a los trópicos. **Estudio FAO Montes**, Roma, v. 20, n. 2. p. 1-502, 1991.
- 33 FERREIRA, A.G.; HU, C.Y. Influência da luz na embriogênese tardia de *Ilex*-Cultura "in vitro". In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA (34 : Porto Alegre). **Anais...** Brasília : Sociedade Botânica do Brasil, 1984. p.441-449.
- 34 _____; *et. al.* Proporção de sexo e polinização em *Ilex paraguariensis* St. Hil. **Brasil Florestal**, n. 53, p. 29-33, 1983.
- 35 _____; *et. al.* In vitro germination of immature embryos of *Ilex paraguariensis* St. Hil. **FYTON**, Argentina, v. 52 , n.1, p. 27-32, 1991.
- 36 _____. Estrutura e desenvolvimento da semente e embrião. In: CONGRESSO SUL-AMERICANO DA ERVA-MATE (1, Curitiba). REUNIÃO TÉCNICA DO CONE SUL SOBRE A CULTURA DA ERVA-MATE (2, Curitiba), **Anais ...** Colombo : EMBRAPA-CNPQ, 1997. 464 p. (EMBRAPA-CNPQ - Documentos, 33).

- 37 FIGLIOLIA, M.B. Influência da temperatura e substrato na germinação de sementes de algumas essências florestais nativas. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL : MÉTODOS DE PRODUÇÃO E CONTROLE DE QUALIDADE DE SEMENTES E MUDAS FLORESTAIS. **Resumos ...** Curitiba, 1984.
- 38 _____; OLIVEIRA, E.C.; PIÑA-RODRIGUES, F.C.M. Análise de Sementes. In: AGUIAR, I.B; PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; FIGLIOLIA, M.B. **Sementes florestais tropicais**, Brasília: ABRATES, 1993. p. 137-174.
- 39 _____; Ecofisiologia da germinação de sementes de cabreúva-vermelha (*Myroxylon peruiferum* L.f.- Fabaceae- Papilionoideae), em diferentes regimes de temperatura, umidade e luz. **Inf. ABRATES**, v. 7, n.1/2, p. 210, 1997. (n. esp.).
- 40 FLOSS, P.A. **Variações genéticas entre populações naturais de *Ilex paraguariensis* St. Hil. (Erva-mate) avaliadas em Chapecó-SC e Três Barras - SC**. Piracicaba, 1994. Dissertação (Mestrado em Ciências). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz.
- 41 FONTANA, H.P.; PRAT KRICUN, S.D.; BELINGHERI, L.D. Estudos sobre la germinacion y conservacion de semillas de yerba-mate (*Ilex paraguariensis*). **Inf. Técnico**, Cerro Azul, Argentina, v.52, p.1-13, 1990.
- 42 FONT-QUER. **Dicionário de botânica**. Barcelona: Labor, 1953. 1244 p.
- 43 GIBERTI, G.C. *Ilex* en sudamérica: florística, sistemática y potencialidades con relación a um banco de germoplasma para la yerba mate. In: WINGE, H.; FERREIRA, A.G.; MARIATH, J.E.A.; TARASCONI, L.C. (Org.) **Erva-mate: biologia e cultura no Cone Sul**. Porto Alegre: Ed. Universidade UFRGS, 1995. p. 303-312.
- 44 _____. Paralelismo entre los *Ilex* usuales americanos: yerba mate, guayusa y casina. **Ciência e Investig.**, v. 45, n.1, p. 38-45, 1993.

- 45 _____. *Ilex* en sudamerica: floristica, sistematica y potencialidade com relación a um banco de germoplasma para la yerba-mate. In: REUNIÃO TÉCNICA DO CONE SUL SOBRE A CULTURA DA ERVA-MATE (1: 1992 : Porto Alegre). **Programa e Resumos...** Porto Alegre, p. 44. 1992 a.
- 46 _____. Yerba mate (*Ilex paraguariensis*). In: BERMEJO, J.E.H. y LEÓN, J. Cultivos marginados - outra perspectiva de 1492. Producción y protección vegetal. **Colección FAO**, Roma, n.26, 1992 b.
- 47 _____. Las especies argentinas de genero *Ilex* L. (Aquifoliaceae). **Darwiniana**, v.22, n.1-3, p. 217-240, 1979.
- 48 GRABE, D.F. **Manual do teste de tetrazólio em sementes**. Brasília : Ministério da Agricultura, 1976. 85 p.
- 49 GRAÇA, M.E.C., et. al. Estaquia de erva-mate. **Circular Técnica EMBRAPA-CNPF**, Curitiba, n. 10, 1988.
- 50 GRAÇA, M.E.C. et. al. **Produção de mudas de erva-mate por estaquia**. Curitiba : EMBRAPA- CNPF, 1989.
- 51 GREULACH, V.A. **Plant function and structure**. New York: Macmillan, 1973. p. 477-487.
- 52 HERING de QUEIROZ, M.; FIAMONCINI, D.I. Dormência em sementes de *Rapanea ferruginea* (R & P.) Mez e *Rapanea umbellata* (Mart. ex A.DL.) Mez. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE TECNOLOGIA DE SEMENTES FLORESTAIS (2: 1989, Atibaia). **Anais...** São Paulo, SMA, 1989. p.15.
- 53 HEUSER, E.D. *Ilex paraguariensis* St. Hil. **Endosperma e embrião durante a embriogênese tardia**. Porto Alegre, 1990. Dissertação (Mestrado em Botânica). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Curso de Pós-graduação em Botânica.

- 54 _____. ; MARIATH, J.E.; COCUCCI, A.E. Megaspore e gametogênese em *Ilex paraguariensis* St. Hil. (Aquifoliaceae). In: REUNIÃO TÉCNICA DO CONE SUL SOBRE A CULTURA DA ERVA-MATE (1 : 1992 : Porto Alegre). **Programa e Resumos...** Porto Alegre, 1992.
- 55 INOUE, M.T.; RODERJAN, C.V.; KUNIYOSHI, Y.S. **Projeto Madeira do Paraná**. Curitiba: Fundação de Pesquisas Florestais do Paraná, 1984. 260 p.
- 56 ISELY, D. Employment of tetrazolium chloride for determining viability of small grain seed. **Proc. Ass. off. Seed Anal.**, v. 42, p. 143-153, 1952.
- 57 JINKS, R.L.; JONES, S.K. Overcoming dormancy in common ash seeds (*Fraxinus excelsior* L.). In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON SEED (5 : 1995, Reading) **Abstracts of Poster Presentations**. Reading: The University of Reading, 1995. s/p.
- 58 KAGEYAMA, P.Y.; VIANA, V.M. Tecnologia de sementes e grupos ecológicos de espécies arbóreas tropicais. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE TECNOLOGIA DE SEMENTES FLORESTAIS (2 : 1989, Atibaia). **Anais...** São Paulo, SMA, 1991. p. 197-215.
- 59 KASPARY, R. **Efeitos de diferentes graus de sombreamento sobre o desenvolvimento e trocas gasosas de plantas jovens de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.- Aquifoliaceae)**. Porto Alegre, 1985. Dissertação (Mestrado em Botânica). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Curso de Pós-graduação em Botânica.
- 60 KENDRICK, R.E. ; FRANKLAND, B. **Fitocromo e crescimento vegetal**. São Paulo : Ed. Universidade São Paulo, 1981. 76 p. (Coleção Temas de Biologia, v.25).
- 61 KRAMER, P.J.; KOZLOWSKI, T.T. **Physiology of Woody Plants**. New York : Academic Press, 1979. p. 494-530

- 62 KUNIYOSHI, Y.S. **Morfologia da semente e da germinação de 25 espécies arbóreas de uma floresta com Araucaria**. Curitiba, 1983. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais). Universidade Federal do Paraná, Curso de Pós-graduação em Engenharia Florestal.
- 63 KRUGMAN, S.L.; STEIN, W.I.; SCHMITT, D.M. Seed biology. In: SCHOPMEYER, C.S. (Coord.). **Seeds of Woody Plants In The United States**. Washington: USA. Forest Service, 1974. p. 5-33. (Agricultural Handbook, 450).
- 64 LEADEM, C.L. **Quick Test for Tree Seed Viability**. British Columbia: Ministry of Forest, 1984. 45 p.
- 65 MARIATH, J.E.A.; et. al. Aspectos anatômicos e embriológicos em espécies do gênero *Ilex*. In: WINGE, H.; FERREIRA, A.G.; MARIATH, J.E.A.; TARASCONI, L.C. (Org.) **Erva-mate: biologia e cultura no Cone Sul**. Porto Alegre: Ed. Universidade - UFRGS, 1995. p. 263-289.
- 66 MARTIN, A.C. The comparative internal morphology of seeds. **The American Midland Naturalist**, v. 36, p. 513-660, 1946.
- 67 MATTOS, N.F. Revisão taxonômica da erva-mate - *Ilex paraguariensis* St. Hil. In: SEMINÁRIO SOBRE ATUALIDADES E PERSPECTIVAS FLORESTAIS: SILVICULTURA DA ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). (10 : 1983, Curitiba). **Documentos ...** Curitiba, EMBRAPA - CNPF, v.15, p. 17-36, 1985.
- 68 MAYER, A.C.; POLJAKOFF-MAYBER, T. **The germination of seed**. New York, Pergamon, 1982. 263 p.
- 70 MEDEIROS, A.C.S. **Comportamento fisiológico, conservação de germoplasma a longo prazo e previsão de longevidade de sementes de aroeira (*Astronium urundeuva* (Fr. All.) Engl.)**. Jaboticabal, 1996. (Tese de Doutorado). Universidade Estadual de São Paulo.

- 71 MELLO, V.D.C. **Morfologia e germinação da semente de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.)**. Pelotas, 1980. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias). Universidade Federal de Pelotas.
- 72 MOORE, R. P. Tetrazolium evaluation of tree and shrub seeds. In: ISTA CONGRESS (16 : 1971, Washington, D.C.). **Preprint**, n. 69. p. 1-7.
- 73 MOORE, R.P. Tetrazolium staining for assessing seed quality. In: HEYDECKER, W. (Ed.). **Seed ecology**. Pennsylvania : The Pennsylvania State University Press, 1972. p. 347-366.
- 74 MUTINELLI, A. **Caracteres biométricos de las semillas de la yerba-mate (*Ilex paraguariensis* St.Hil. var. *genuina* Loes.)**. Posadas: UNAM, 1988. p.9 -28. (n. esp., 5)
- 75 NIKLAS, C.O. Estudios embriológicos y citológicos en la yerba mate - *Ilex paraguariensis* (Aquifoliaceae). **Bonplandia**, v. 6, n.1, p. 45-56, 1987.
- 76 OLIVEIRA, Y.M.M.; ROTTA, E. Área de distribuição natural da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). SEMINÁRIO SOBRE ATUALIDADES E PERSPECTIVAS FLORESTAIS: SILVICULTURA DA ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). (10 : 1983, Curitiba). **Documentos EMBRAPA**, v.15, p. 17-36, 1985.
- 77 PEREIRA, T.S.; ANDRADE, A.C.S. Efeito da temperatura na germinação de sementes de jacatirão (*Miconia cinnamomifolia* (D.C.) Naud). **Inf. ABRATES**, v. 5, n. 2, 1995. p. 191 (n. esp.).
- 78 _____; MOTA, C. Indução da germinação em sementes de *Virola surinamensis* (Rol Warb). **Inf. ABRATES**, v. 5, n. 2, 1995. p. 165 (n.esp.).
- 79 POPINIGIS, F. **Fisiologia da Semente**. Brasília : Ministério da Agricultura, 1977. 289 p.

- 80 PROBERT, R.J. The role of temperature in germination ecophysiology. In: FENNER, Michael (Ed.). **Seeds: the ecology of regeneration in plant communities**. Wallingford: Cab International, 1992. p. 285-326.
- 81 RAMOS, A.; BIANCHETTI, A. Influência da temperatura e do substrato na germinação de sementes florestais. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL: MÉTODOS DE PRODUÇÃO E CONTROLE DE QUALIDADE DE SEMENTES E MUDAS FLORESTAIS. (1984 : Curitiba). **Resumos...** p. 252-275.
- 82 REIS, G.G. **Estudo sobre a dormência de sementes de sucupira (*Pterodon pubescens* Benth)**. Viçosa, 1976. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Viçosa.
- 83 REITZ, R.; KLEIN, R.M.; REIS, A. **Projeto Madeira do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre : CORAG, 1988. 525 p.
- 84 RESENDE, M.D.V.; STURION, J.A.; MENDES, S. Genética e melhoramento da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). Colombo: EMBRAPA-CNPQ, 1995. 33 p. (EMBRAPA - CNPQ. Documentos, 25, 1995).
- 85 REVERS, L.F.; WINGE, H. Avaliação do grau de maturidade embrionária de espécies neotropicais de *Ilex*, no Estado do Rio Grande do Sul- Brasil. In: REUNIÃO TÉCNICA DO CONE SUL SOBRE A CULTURA DA ERVA-MATE (1 : 1992, Porto Alegre). **Programa e Resumos...** Porto Alegre, 1992. p. 52
- 86 ROMERO, F.B. **Semillas: Biología y Tecnología**. Madri, Ediciones Mundi-Prensa, 1989. 637 p.
- 87 SANTOS, R.P.; MARIATH, J.E.A.; COCUCI, A.E.. Microsporogênese/ microgametogênese e desenvolvimento do microsporângio de *Ilex paraguariensis* St. Hil. (Aquifoliaceae). In: REUNIÃO TÉCNICA DO CONE SUL SOBRE A CULTURA DA ERVA-MATE (1 : 1992, Porto Alegre). **Programas e Resumos**. Porto Alegre, 1992. p. 48

- 88 SCHUCH, S.L.C.. Comportamento germinativo de sementes de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). In: SEMINÁRIO SOBRE ATUALIDADES E PERSPECTIVAS FLORESTAIS; SILVICULTURA DA ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis* St. Hil.), 10 : nov. 28-30, 1983, Curitiba). **Anais...** Curitiba, 1985. (Documentos EMBRAPA - CNPF, n.15, 1985).
- 89 SCHULTZ, A.R.H.. **Introdução à Botânica Sistemática**. Porto Alegre, Ed. da Universidade, 1984. v. 2. 414 p.
- 90 SIMANCIK, F. Fluctuation of Glycides During the Development of the Embryos in Some Seeds of Woods. **Biologia**, Bratislava, v.22, n. 4, 1967. p. 271-284
- 91 SMITH, R.; PROBERT, R. Viability testing. In: SEED CONSERVATION TRAINING COURSE. São Paulo : UNESP, 1996. **Resumos**. p.12.
- 92 SPJUT, R. W. A systhematic treatment of fruit types. **Memoirs of the New York Botanical Garden**, v. 70, p.69-70, 1994.
- 93 STURION, J.A.. Produção de mudas e implantação de povoamentos com erva-mate. **Circular Técnica**, EMBRAPA-CNPF, Curitiba, n.17, 1988.
- 94 TOLEDO, F.F.; MARCOS FILHO, J.. **Manual das sementes: tecnologia da produção**. São Paulo : Ed. Agronômica Ceres, 1977. 224 p.
- 95 VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. **Testes de Vigor em Sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 164p.
- 96 WINGE, H., et. al. Variabilidade genética em populações nativas de erva-mate e a implantação de bancos de germoplasma. In: WINGE, H.; FERREIRA, A. G.; MARIATH, J.E. de A.; TARASCONI, L. C. (Org.) **Erva-mate: biologia e cultura no Cone Sul**. Porto Alegre: Ed. Universidade - UFRGS, 1995. p. 323-345.

- 97 WOLLHEIM, C. **Modificações dos padrões isoesterásicos ao longo do desenvolvimento de *Ilex paraguariensis* St. Hil. (Aquifoliaceae).** Porto Alegre, 1991. Dissertação (Mestrado em Genética). Curso de Pós-graduação em Genética. Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- 98 ZANON, A. Produção de sementes de erva-mate. **Circular técnica**, Curitiba, EMBRAPA-CNPF, n.17, 1988. p. 177
- 99 ZANON, A. Armazenamento de sementes de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). **Inf. Abrates**, v.3 , n.3, 1993. p.109.
- 100 ZHENG-YAN, S.; YING, C. The theory on medicinal plants with phasic after-development of embryo. In: **WORLD CONGRESS ON MEDICINAL AND AROMATIC PLANTS FOR HUMAN WELFARE (1 : 1992, Maastricht). Book of Abstracts...** Maastricht : Netherlands, 1992. p.1.