

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROBIOLOGIA**

Cariane Pedroso da Rosa

**ESTÁDIOS EMBRIONÁRIOS E PRÉ-
CONDICIONAMENTO PARA SUPERAÇÃO DE
DORMÊNCIA DE SEMENTES DE *Ilex paraguariensis* A.
St.-Hil. (*Aquifoliaceae*)**

**Santa Maria, RS
2020**

Cariane Pedroso da Rosa

**ESTÁDIOS EMBRIONÁRIOS E PRÉ-CONDICIONAMENTO PARA SUPERAÇÃO
DE DORMÊNCIA DE SEMENTES DE *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.
(*Aquifoliaceae*)**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-graduação em Agrobiologia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM-RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Agrobiologia**.

Orientador: Sidinei José Lopes

**Santa Maria, RS
2020**

da Rosa, Cariane
ESTÁDIOS EMBRIONÁRIOS E PRÉ-CONDICIONAMENTO
PARA SUPERAÇÃO DE DORMÊNCIA DE SEMENTES DE *Ilex*
paraguariensis A. St.-Hil. (Aquifoliaceae) / Cariane da Rosa.- 2020.
69 p.; 30 cm

Orientador: Sidinei José Lopes
Coorientador: Rogério Luiz Backes
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Maria, Centro
de Ciências Naturais e Exatas, Programa de Pós-Graduação em
Agrobiologia, RS, 2020

1. erva-mate 2. embriões 3. soluções I. José Lopes, Sidinei II. Luiz
Backes, Rogério III. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

Declaro, CARIANE DA ROSA, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Dissertação) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

Cariane Pedroso da Rosa

**ESTÁDIOS EMBRIONÁRIOS E PRÉ-CONDICIONAMENTO PARA SUPERAÇÃO
DE DORMÊNCIA DE SEMENTES DE *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.
(Aquifoliceae)**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-graduação em Agrobiologia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM-RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Agrobiologia**.

Aprovado em 05 de março de 2020:



**Sidinei José Lopes, Dr.
(Presidente/Orientador)**



Gerusa Massuquini Conceição, Dr.



Raquel Stefanello, Dr.

**Santa Maria, RS
2020**

AGRADECIMENTOS

A Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) e ao Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia pela oportunidade de realizar o curso de Mestrado.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da Bolsa de Mestrado.

A minha mãe e meu pai, Marlene e Valdir Pedroso da Rosa, por me darem a vida, por serem meus alicerces, por se fazerem sempre presentes e por não medirem esforços para que eu conseguisse chegar até aqui.

A minha irmã, Carine Pedroso da Rosa, e meu cunhado, Daniel Felipe Both, por estarem sempre prontos para me ajudar.

Ao meu namorado, Dener Ribas, pela ajuda, amor, incentivo e compreensão.

A Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri) – Chapecó, na pessoa do Dr. Paulo Alfonso Floss, por ter cedido as sementes utilizadas nesse experimento.

As gurias do apartamento 402, Ana e Sabrina, pelo companheirismo, incentivo e sessões de terapia.

Aos colegas e amigos do Laboratório de Análises de Sementes, Nicéia Calgaroto, Nilson Matheus Mattioni e Ricardo Leão e a todos os demais que passaram por este, por toda a amizade, vivência e aprendizado.

A minha bolsista, Larissa Staggemeier, por todo auxílio na condução dos experimentos.

Aos colegas do grupo de Pesquisa de Experimentação Vegetal Caroline, Caren e Fabrício, pelo apoio e auxílio na condução dos experimentos.

Ao Professor Rogério Luiz Backes, pela ajuda na construção do projeto de pesquisa e na condução dos experimentos.

Ao Professor Sidinei José Lopes pela orientação e paciência.

A todos aqueles que contribuíram para que esse dia chegasse.

Muito obrigada de coração!

RESUMO

ESTÁDIOS EMBRIONÁRIOS E PRÉ-CONDICIONAMENTO PARA SUPERAÇÃO DE DORMÊNCIA DE SEMENTES DE *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. (*Aquifoliaceae*)

AUTORA: Cariane Pedroso da Rosa

ORIENTADOR: Sidinei José Lopes

As sementes de erva-mate apresentam dormência embrionária devido à presença de embrião rudimentar, além da dormência mecânica do endocarpo lenhoso que dificulta o crescimento embrionário. Além disso, a dormência está possivelmente ligada à procedência das matrizes, sendo que em locais com temperatura média mais baixa, as sementes precisam de mais tempo para desenvolver seus embriões. Desta forma, o trabalho foi dividido em dois experimentos, o primeiro teve como objetivo, avaliar os estágios embrionários de sementes de seis matrizes de erva-mate, cultivadas em um mesmo local, e compará-los com os estágios embrionários de uma matriz cultivada em outra localidade, antes e após passar pelo processo de estratificação. O segundo experimento teve como objetivo aplicar o pré-condicionamento de sementes para acelerar o processo de desenvolvimento embrionário. No primeiro experimento, as sementes coletadas em Santa Maria e recebidas de Chapecó, foram avaliadas quanto a suas medidas biométricas (comprimento, largura e espessura), seu peso de mil de sementes, a viabilidade, embriões visíveis e tamanho de embrião, sendo que estas avaliações foram feitas em sementes antes e após a estratificação. No segundo experimento, foram utilizados três fatores, sendo eles: tempo de pré-condicionamento (5, 10, 15 dias), três níveis do fator solução (água, KNO_3 0,02% e ácido giberélico 0,1%) e quatro níveis do fator tempo de estratificação (0, 65, 140, 200 dias). No primeiro experimento observou-se que as sementes o desenvolvimento embrionário foi semelhante para todas as matrizes estudadas, sendo que a matriz de número 4 foi a única a apresentar embriões em tamanho torpedo. No segundo experimento, o pré-condicionamento favoreceu a germinação, sendo atingidos 16% de germinação nas sementes pré-condicionadas por 15 dias em ácido giberélico 0,1% e estratificada por 200 dias. Conclui-se que todas as sementes de matrizes cultivadas em Santa Maria – RS apresentaram viabilidade e porcentagem de embriões visíveis inferior as sementes de Chapecó – SC, sendo que os embriões das sementes desta última não apresentaram forma e tamanho mais desenvolvido do que os da matriz 4 (Santa Maria – RS) que foi a que apresentou embrião mais desenvolvido dentre todas as matrizes. O pré-condicionamento das sementes em ácido giberélico 0,1% por 15 dias foi eficiente para aumentar a germinação das sementes de erva-mate após 200 dias de estratificação.

Palavras-chave: erva-mate, embriões, soluções.

ABSTRACT

EMBRYONIC STAGES OF DEVELOPMENT AND PRECONDITIONING TO OVERCOME DORMANCY OF *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. (*Aquifoliaceae*) SEEDS

AUTHOR: Cariane Pedroso da Rosa
ADVISOR: Sidinei José Lopes

Yerba mate seeds have embryonic dormancy due to the presence of a rudimentary embryo, in addition to the mechanical dormancy of the woody endocarp that hinders embryonic growth. In addition, dormancy is possibly linked to the origin of the matrices, and in places with a lower average temperature, the seeds need more time to develop their embryos. In this way, the work was divided into two experiments, the first aimed at characterizing the embryonic stages of six mother trees grown in Santa Maria - RS and comparing them with a matrix from Chapecó-SC. The second experiment aimed to apply seed preconditioning to accelerate the embryonic development process. In the first experiment, the seeds collected in Santa Maria and received from Chapecó, were evaluated for their biometric measurements (length, width and thickness), their weight of a thousand seeds, viability, visible embryos and embryo size, and these evaluations were made on seeds before and after stratification. In the second experiment, three factors were used, namely: pre-conditioning time (5, 10, 15 days), three levels of the solution factor (water, 0.02% KNO₃ and 0.1% gibberellic acid) and four levels stratification time factor (0, 65, 140, 200 days). In the first experiment, it was observed that the seeds embryonic development was similar for all the studied mother trees, being that the number 4 mother tree was the only one to present torpedo-sized embryos. In the second experiment, the preconditioning favored germination, reaching 16% of germination in the preconditioned seeds for 15 days in 0.1% gibberellic acid and stratified for 200 days. It is concluded all the seeds of mother trees cultivated in Santa Maria - RS showed viability and percentage of visible embryos lower than the seeds of Chapecó - SC, and the embryos of the seeds of the latter did not present a more developed shape and size than the from mother tree 4 (Santa Maria - RS), which presented the most developed embryo among all mother trees. Seed pre-conditioning in 0.1% gibberellic acid for 15 days was efficient to increase the germination of yerba mate seeds after 200 days of stratification.

Keywords: yerba mate, embryos, solutions.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – (A) Pirenos de erva-mate e (B) pirenos de erva-mate em corte longitudinal colorido por sal de tetrazólio com seta indicando a posição do embrião (aumento de 3,5x). Santa Maria, RS, 2019.....16
- Figura 2 – Estádios embrionários de sementes de *I. paraguariensis*: A – coração; B – pós-coração; C – torpedo; e D - maduro.....26
- Figura 3 – Estratificação das sementes. (A) Bandeja com as sementes entre camadas de areia para estratificação. (B) Abrigo para as bandejas. Santa Maria, RS, 2019.....28
- Figura 4 – Variação de temperatura média do ar durante os dias 14/09/2018 até 11/02/2019 na cidade de Santa Maria, RS. Santa Maria, 2019.....35
- Figura 5 – Estágios embrionários encontrados nas matrizes (aumento de 10x). (A) Coração; (B) Pós-coração; e (C) Torpedo. Santa Maria, 2019.....36
- Figura 6 – Frequência das formas de embriões de sementes de *Ilex paraguariensis* de cultivadas em Santa Maria – RS (1 a 6) e Chapecó – SC (7), com e sem estratificação. Santa Maria, 2019.....37
- Figura 7 – Sementes germinadas na primeira contagem (PC %) e germinação (G%) de sementes de erva-mate sem estratificação, aos 65, 140 e 200 dias após estratificação. Santa Maria, 2019.....41
- Figura 8 – Sementes germinadas (%) de erva-mate submetidas ao pré-condicionamento em água, ácido giberélico 0,1% e KNO₃ 0,02%, após 45 dias do teste de germinação. Santa Maria, 2019.....42
- Figura 9 – Germinação (%) de sementes de erva-mate submetidas a pré-condicionamento em água, ácido giberélico 0,1% e KNO₃ 0,02% que não passaram por estratificação (0 dias) e aos 65, 140 e 200 dias após estratificação. Santa Maria, 2019.....43
- Figura 10 – Germinação (%) de sementes de erva-mate submetidas a 0, 5, 10 e 15 dias de pré-condicionamento, que não passaram por estratificação (0 dias) e aos 65, 140 e 200 dias após estratificação. Santa Maria, 2019.....43
- Figura 11 – Viabilidade de sementes e embriões visíveis após estratificação (VE, EE) e após 60 dias do teste de germinação (VG e EG) de sementes de erva-mate que não passaram por estratificação (0 dias) e aos 65, 140 e 200 dias após estratificação. Santa Maria, 2019.....45
- Figura 12 – Viabilidade de sementes submetidas à pré-condicionadas em água e soluções de ácido giberélico 0,1% e KNO₃ 0,02% que não passaram por estratificação (0 dias) e aos 65, 140 e 200 dias após estratificação. Santa Maria, 2019.....46
- Figura 13 – Embriões visíveis (%) de sementes de erva-mate submetidas a 5, 10 e 15 dias de pré-condicionamento, que não passaram por estratificação (0 dias) e aos 65, 140 e 200 dias após estratificação.. Santa Maria, 2019.....47
- Figura 14 – Viabilidade (%) de sementes de erva-mate após 60 dias de germinação submetidas a pré-condicionamento em água, e soluções de ácido giberélico 0,1% e KNO₃, que não passaram por estratificação (0 dias) e aos 65, 140 e 200 dias após estratificação. Santa Maria, 2019.....48
- Figura 15 – Embriões visíveis (%) de sementes de erva-mate pré-condicionadas em solução de KNO₃ 0,02%, por 5, 10 e 15 dias, que não passaram por

	estratificação (0 dias) e aos 65, 140 e 200 dias após estratificação. Santa Maria, 2019.....	49
Figura 16 –	Embriões visíveis (%) de sementes de erva-mate pré-condicionadas em água, durante 5, 10 e 15, que não passaram por estratificação (0 dias) e aos 65, 140 e 200 dias após estratificação, após 60 dias do teste de germinação. Santa Maria, 2019.....	50
Figura 17 –	Embriões visíveis (%) de sementes de erva-mate pré-condicionadas em solução de ácido giberélico 0,1% durante 5, 10 e 15, que não passaram por estratificação (0 dias) e aos 65, 140 e 200 dias após estratificação, após 60 dias do teste de germinação. Santa Maria, 2019.....	51
Figura 18 –	Tamanho de embrião (mm) em sementes de erva-mate sem pré-condicionamento, que não passaram por estratificação (0 dias) e aos 65, 140 e 200 dias após estratificação. Santa Maria, 2019.....	52
Figura 19 –	Figura 19 – Tamanho (mm) de embriões de sementes de erva-mate pré-condicionadas em água durante 5, 10 e 15, que não passaram por estratificação (0 dias) e aos 65, 140 e 200 dias após estratificação, após 60 dias do teste de germinação. Santa Maria, 2019.....	53
Figura 20 –	Tamanho de embrião de sementes de erva-mate pré-condicionadas em solução de ácido giberélico 0,1% durante 5, 10 e 15, que não passaram por estratificação (0 dias) e aos 65, 140 e 200 dias após estratificação, após 60 dias do teste de germinação. Santa Maria, 2019.....	54
Figura 21 –	Figura 21 - Tamanho de embrião de sementes de erva-mate pré-condicionadas em solução de KNO ₃ 0,02% durante 5, 10 e 15, que não passaram por estratificação (0 dias) e aos 65, 140 e 200 dias após estratificação, após 60 dias do teste de germinação. Santa Maria, 2019.....	55
Figura 22 –	Frequência de formas de embriões de sementes de erva-mate, que não passaram por estratificação (0 dias) e aos 65, 140 e 200 dias após estratificação. Santa Maria, 2019.....	55
Figura 23 –	Frequência de tamanho de embriões de sementes de erva-mate pré-condicionadas em água, durante 5, 10 e 15, que não passaram por estratificação (0 dias) e aos 65, 140 e 200 dias após estratificação, após 60 dias do teste de germinação. Santa Maria, 2019.....	57
Figura 24 –	Frequência de tamanho de embriões de sementes de erva-mate pré-condicionadas em solução de KNO ₃ 0,02% durante 5, 10 e 15, que não passaram por estratificação (0 dias) e aos 65, 140 e 200 dias após estratificação, após 60 dias do teste de germinação. Santa Maria, 2019.....	58
Figura 25 –	Frequência de classes de embriões de sementes de erva-mate pré-condicionadas em solução de ácido giberélico 0,1% durante 5, 10 e 15, que não passaram por estratificação (0 dias) e aos 65, 140 e 200 dias após estratificação, após 60 dias do teste de germinação. Santa Maria, 2019.....	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Estatísticas descritivas das variáveis viabilidade (V), embriões visíveis (Ev), tamanho de embrião (Te), comprimento (C), largura (L), espessura (E) e peso de mil sementes (PMS) para as sementes das 7 matrizes antes de passarem pela estratificação. Santa Maria, 2019.....	30
Tabela 2 – Estatísticas descritivas das variáveis viabilidade (V), embriões visíveis (Ev), tamanho de embrião (Te), comprimento (C), largura (L), espessura (E) e peso de mil sementes (PMS) para as sementes das 7 matrizes após passarem pela estratificação. Santa Maria, 2019.....	31
Tabela 3 – Comprimento e espessura de pirenos de erva-mate, amostradas em Santa Maria – RS (1 a 6) e Chapecó – SC (7). Santa Maria, 2019.....	32
Tabela 4 – Largura (mm) e peso de mil sementes (PMS) de pirenos cultivados em Santa Maria – RS (1 a 6) e Chapecó – SC (7). Santa Maria, 2019.....	33
Tabela 5 – Viabilidade por tetrazólio (%), embriões visíveis (%) e tamanho de embrião de pirenos de matrizes cultivadas em Santa Maria – RS (1 a 6) e Chapecó – SC (7). Santa Maria, 2019.....	34
Tabela 6 – Estatísticas descritivas dos parâmetros para caracterização do lote de sementes provenientes de Chapecó - SC. Santa Maria, 2019.....	39
Tabela 7 – Coeficientes e estimativas do contraste ortogonal entre os tratamentos adicionais e o fatorial triplo completo. Santa Maria, 2019.....	40
Tabela 8 – Viabilidade (%) de sementes de erva-mate pré-condicionadas em água e soluções de ácido giberélico 0,1% e KNO ₃ 0,02%, durante 5, 10 e 15 dias. Santa Maria, 2019.....	46
Tabela 9 – Viabilidade (%) de sementes não germinadas de erva-mate submetidas a pré-condicionamento por 5, 10 e 15 dias em água e soluções de ácido giberélico 0,1% e KNO ₃ 0,02% após 60 dias do teste de germinação. Santa Maria, 2019.....	48

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
2.1 A CULTURA DA ERVA-MATE	13
2.1 CARACTERÍSTICAS DA ERVA-MATE	15
2.2 GERMINAÇÃO DE SEMENTES	18
2.3 PRÉ-CONDICIONAMENTO DE SEMENTES	22
3 MATERIAL E MÉTODOS	24
3.1 EXPERIMENTO 1 - CARACTERIZAÇÃO DOS ESTÁDIOS EMBRIONÁRIOS	24
3.2 EXPERIMENTO 2 - SUPERAÇÃO DE DORMÊNCIA	26
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
4.1 EXPERIMENTO 1 – CARACTERIZAÇÃO DOS ESTÁGIOS EMBRIONÁRIOS	30
4.2 EXPERIMENTO 2 – PRÉ-CONDICIONAMENTO PARA SUPERAÇÃO DE DORMÊNCIA	38
5 CONCLUSÕES	61
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62

1 INTRODUÇÃO

A *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil., popularmente conhecida como erva-mate é uma planta nativa da América do Sul, largamente consumida na forma de infusão, tanto a quente como a frio, conhecidas como chimarrão e tererê, respectivamente. Devido a sua grande importância dentro da cultura do Rio Grande do Sul, essa planta foi considerada símbolo do Estado a partir da Lei 7.439/1980 (ASSEMBLEIA LEGISLATIVA DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL, 1980). Além de seus usos mais comuns, a erva-mate tem se tornado uma fonte de interesse como matéria prima para outros produtos, desde bebidas energéticas até cosméticos, principalmente no mercado externo, devido a seu alto índice de cafeína e saponinas.

Apesar do crescente interesse em suas propriedades, o melhoramento de erva-mate é lento, sendo que a primeira cultivar de erva-mate foi registrada junto ao Ministério da Agricultura somente em 2010 (WENDLING, 2016). Um dos entraves para o desenvolvimento de novas cultivares é a lenta obtenção de mudas através de sementes, as quais necessitam de um longo tempo para superar a dormência, além de apresentarem um baixo índice germinativo (HEUSER, 1990; WENDLING, 2016).

A unidade de dispersão da erva-mate é chamada pireno, a qual é composta pela semente (endosperma mais embrião) mais um revestimento chamado de endocarpo lenhoso, bastante resistente (GROPPO Jr. e PIRANI, 2002; HEUSER, 1990). Apesar de técnicas de miniestaquia terem sido aprimoradas ao longo dos anos para propagação vegetativa de erva-mate, são produzidas anualmente entorno de 15 mil mudas dessa espécie a partir de sementes, devido a maior facilidade, necessidade de infraestrutura menor e mais simples, além de ser uma técnica mais barata e ser amplamente conhecida por produtores e viveiristas (PENTEADO JUNIOR e GOULART, 2019; WENDLING, 2016). Também, em alguns locais de Santa Catarina, o cultivo da erva-mate ocorre em áreas naturais, em consórcio com outras espécies, na qual é preconizado que ocorra a variabilidade genética. Esse tipo de erva-mate está em busca da Indicação de Origem, devido ao sabor diferenciado que a erva-mate produzida dessa forma mantém.

O pireno, ao se desligar da planta mãe, apresenta embriões em diferentes fases de desenvolvimento, sendo que grande parte das sementes apresentam embriões imaturos em sementes recém colhidas, sendo essa uma das causas da dormência (FOWLER e STURION, 2000; HEUSER, 1990). Além disso, outra causa da dormência

é a presença do endocarpo lenhoso, que constitui um impedimento mecânico ao crescimento do embrião, pois quando esse é removido, os embriões continuam seu desenvolvimento quando colocados em meio de cultura (DOLCE, MROGINSKI e REY, 2010; MEDEIROS, 1998; TEZUKA et al., 2013).

Além disso, outro fator que também está relacionado com a dormência de sementes é a procedência destas. Tem-se observado que sementes provenientes de locais que tem temperatura média mais alta durante o ano precisam de menos tempo para superar a dormência, sendo que sementes provenientes dos estados do Centro-Oeste brasileiro nem mesmo precisam passar pela superação de dormência (DANIEL, 2009; FOWLER, STURION e RIBAS, 2007; MEDEIROS; 1998). Porém, os estudos comparam apenas sementes de diferentes regiões, mas nenhum menciona várias matrizes de uma mesma localidade. A germinação também está ligada ao balanço entre substância promotoras e inibidoras desse fenômeno, como giberelinas e etileno, respectivamente, as quais também afetam a dormência das sementes (CARVALHO e NAKAGAWA, 2012; MARCOS FILHO, 2005; MEDEIROS, 1998).

Em sementes de erva-mate, a superação de dormência é realizada utilizando o processo de estratificação, na qual as sementes são postas entre camadas de areia, a qual é mantida úmida durante 5 a 6 meses (ZANON, 1988) e mesmo assim nem todas as sementes estão aptas a germinar ao final do processo.

Uma técnica que vem sendo utilizada como forma de uniformizar a germinação de plantas é o pré-condicionamento, também chamada de *priming*, condicionamento fisiológico e hidrocondicionamento. Essa técnica consiste em colocar as sementes para embeber, hidratando-as até iniciar os processos germinativos (fase I e II da germinação), mas não permitindo que ocorra a protrusão da radícula. Com esta técnica busca-se diminuir o tempo da germinação e uniformizar a emergência de plântulas, podendo ser utilizado na tentativa de superar a dormência das sementes de erva-mate, promovendo um incentivo ao metabolismo das mesmas (HEYDECKER e GIBBINS, 1978; NASCIMENTO, 2004; SANTOS et al, 2008).

Sendo assim, este trabalho teve por objetivo geral caracterizar o desenvolvimento embrionário de sementes de *Ilex paraguariensis* A. St-Hil e objetivos específicos de:

I. Avaliar os estágios embrionários de sementes de seis matrizes de erva-mate, cultivadas em um mesmo local, e compará-los com os estágios embrionários de uma

matriz cultivada em outra localidade, antes e após passar pelo processo de estratificação.

II. Utilizar a metodologia de pré-condicionamento em água e soluções de nitrato de potássio (KNO_3) e ácido giberélico (GA_3), com diferentes tempos em períodos de estratificação, nas sementes de erva-mate como forma de acelerar o processo de superação de dormência.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A CULTURA DA ERVA-MATE

A erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) é uma planta arbórea que ocorre do sul da Bahia até o Rio Grande do Sul, incluindo Mato Grosso e Mato Grosso do Sul, ocorrendo também em países como Bolívia, Paraguai, Argentina e Uruguai (GROPPO Jr. e PIRANI, 2002; BRACESCO et al., 2011). Segundo Oliveira e Rotta (1985), ocorre em “matas de *Araucaria angustifolia* - Floresta Ombrófila Mista- (VELOSO, RANGEL FILHO e LIMA, 1991) e nas matas subtropicais do sul do Brasil”. Estes locais apresentam solos com baixa fertilidade natural e alto teor de alumínio e distribuição pluviométrica durante todo o ano (OLIVEIRA e ROTTA, 1985).

A produção de erva-mate em todos os países produtores ocorre majoritariamente em pequenas áreas, por agricultores familiares, sendo que 80% dos estabelecimentos agrícolas produtores no Brasil têm até 20 ha (VASCONCELLOS, 2012).

No ano de 2015 foram produzidas 341.251 toneladas, havendo um pequeno aumento no ano de 2016, no qual a produção foi de 346.953 toneladas de erva-mate (IBGE, 2016). Já em 2017 ocorreu um aumento expressivo chegando à 383.922 toneladas, aumentando esse número para 392.962 toneladas no ano de 2018 (IBGE, 2019). A erva-mate é considerada o segundo produto mais produzido no Brasil proveniente da extração vegetal, somente atrás do açaí, totalizando um valor de 398,8 milhões de reais (IBGE, 2016). Dessa quantidade são exportadas 35 mil toneladas de erva-mate já beneficiada, sendo o principal importador o Uruguai que compra 86% da produção brasileira de erva-mate e logo em seguida o Chile que absorve 5% do volume total exportado (IBRAMATE, 2018).

No estado do Rio Grande do Sul, a extração de erva-mate é a principal atividade de produção florestal. São consideradas regiões produtoras de erva-mate os locais que possuem número expressivo de viveiros, indústrias, produtores e volume de produção e que se dividem nos polos: Alto Taquari, Alto Uruguai, Vale do Taquari, Nordeste Gaúcho e Planalto/Missões. O município que mais produz erva-mate é Ilópolis e o que mais exporta é Encantado, ambos na região do Alto Taquari (IBRAMATE, 2018).

O Rio Grande do Sul é o estado que mais consome erva-mate no Brasil, porém fica em terceiro lugar na quantidade produzida desse produto, sendo o estado do Paraná o maior produtor brasileiro (DANIEL, 2009; IBGE, 2016). A produção de erva-mate no Rio Grande do Sul foi de 24 806 t no ano de 2018 (IBGE, 2019) com produtividade média de 9,7 t/ha, estando acima da média nacional que é de 8,7 t/ha (IBRAMATE, 2018; PENTEADO JUNIOR e GOULART, 2019).

A erva-mate é uma planta utilizada há muito tempo, desde quando os povos indígenas eram os únicos a habitarem o território do Brasil (GERHARDT, 2016). Era a etnia Guarani que possuía o hábito de fazer uma infusão a quente das folhas secas e trituradas em uma cuia de porongo e uma bomba, chamada chimarrão (BRACESCO et al., 2011). Esse hábito resiste até os dias atuais, sendo bastante comum nos estados do sul do Brasil, bem como em seus países vizinhos. Nos estados do Centro-Oeste brasileiro, que também consomem essa infusão, é mais comum a infusão a frio, o chamado tererê (GERHARDT, 2016). Nesses locais, cerca de 30% da população ingere pelo menos 1 L de chimarrão ou tererê por dia (FILIP et al., 2000).

A erva-mate é composta por vitaminas A, B1, B2, B3, C e E; minerais: potássio, magnésio, cálcio, manganês, ferro, fósforo, selênio e zinco; e, compostos orgânicos: flavonoides, polifenóis derivados do ácido cafeico, ácido clorogênico e metil xantinas, que são os compostos de maior interesse para a indústria farmacêutica (BRACESCO et al., 2011; PREDDY, 2012). Além disso, as folhas de erva-mate contêm aproximadamente 5% do peso seco de cafeína, 30-35% de ácidos fenólicos e ainda o que dá o sabor ao mate, as saponinas (PREDDY, 2012).

Muitos dos compostos presentes na erva-mate são potentes antioxidantes, como o ácido clorogênico, sendo que ele compõe 42% do extrato de erva-mate (BRACESCO et al., 2011). Há evidência que o ácido clorogênico atua na proteção da enzima PON-1 contra a ação do ácido hipocloroso. Essa enzima liga-se à proteína de alta densidade (HDL) que protege a proteína de baixa densidade (LDL) da oxidação. Quando o LDL está na forma oxidada, ele promove o desenvolvimento de aterosclerose subclínica (GUGLIUCCI e BASTOS, 2009). Os antioxidantes presentes na erva-mate são compostos hidrossolúveis e foram observados aumentos significativos desses compostos no plasma das células, com níveis suficientes para realizar a proteção do LDL contra a oxidação, quando ocorreu a ingestão do extrato da erva-mate (GUGLIUCCI, 1996).

A ingestão de erva-mate também contribui para diminuição de peso em pessoas que apresentam tendência a obesidade (ANTUNES, CARDOSO e PAULA, 2017). Essa perda de peso ocorre, pois, os compostos da erva-mate atuam como moduladores da expressão gênica da adipogênese, inibindo a expressão desses genes, desta forma, o armazenamento de lipídios nos adipócitos é diminuído (GOSMANN et al., 2012). Além disso, em experimentos utilizando ratos, quando estes ingeriram extratos de erva-mate diminuíram a ingestão de alimento, além de um maior gasto energético, diminuição do colesterol, triglicerídeos e da glicose (KANG et al., 2012). Também, em estudo realizado com homens jovens e saudáveis, foi observado um aumento do gasto energético quando estes ingeriram cerca de 1 L de chá de erva-mate (OLIVEIRA et al., 2016).

Outra propriedade que a erva-mate possui é a ação contra micro-organismos. Em estudo realizado com o fungo *Malassezia furfur*, que causa doenças na pele de humanos, foi observado controle do crescimento fúngico com aplicação de extrato preparado na concentração de 1000 mg/ml, tendo a mesma eficiência que o medicamento comumente indicado para tratamento desse fungo (FILIP, DAVICINO e ANESINI, 2009). Também, extratos de *Ilex paraguariensis* apresentaram inibição do crescimento de alguns patógenos presentes em alimentos tais como *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteritidis* e *Acinetobacter baumannii*, apresentando-se como alternativa de conservante natural para alimentos (MARTIN et al., 2013; PENTEADO et al., 2016).

Devido a todas essas propriedades, a erva-mate além do uso tradicional no chimarrão, tererê e chás, também apresenta propriedades farmacológicas interessantes. A planta pode ser utilizada na fabricação de bebidas energéticas e alcoólicas como em cervejas, a cera pode servir na fabricação de cosméticos, produtos de higiene, detergentes para hospitais, além de servir como corante na indústria têxtil (VALDUGA et al., 1997; CARVALHO, 2003; DALLABRIDA et al., 2016).

2.1 CARACTERÍSTICAS DA ERVA-MATE

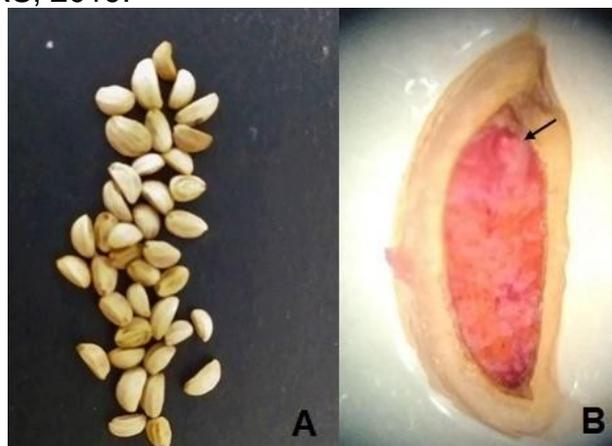
A erva-mate é uma planta arbórea que pertencente à família *Aquifoliaceae*. A altura atingida é 3-5 m quando utilizada em cultivo, podendo chegar até 20 m, quando encontrada naturalmente (GROPPO Jr. e PIRANI, 2002; GOETZ, 2013; IPE, 2019).

Apresenta folhas simples e alternas, glabras, de aspecto coriáceo, verde-escuras e margem serrilhada ou dentada (CARVALHO, 2003).

É uma planta dioica com as flores pequenas de coloração branca, sendo que a inflorescência masculina é um dicásio e a feminina é um fascículo, ambas saem das axilas das folhas de ramos velhos (GROPPO Jr. e PIRANI, 2002; GOETZ, 2013; PIRES et al., 2014). O aparecimento de botões florais pode ocorrer desde o final do mês de setembro até metade do mês de dezembro, já a antese começa a ocorrer em outubro, quando a maior parte das plantas já se encontra com os botões florais abertos, e se estende até o mês de novembro (SOUSA, DAROS e STURION, 2003; PIRES et al., 2014). A polinização é cruzada e dependente de insetos da ordem Diptera e Himenoptera, não sendo observada polinização anemófila (CARVALHO, 2003).

A frutificação da erva-mate inicia no mês de outubro podendo se estender até março, e a maturidade começa em fevereiro indo até março (SOUSA, DAROS e STURION, 2003; PIRES et al., 2014). Os frutos são drupas globosas que apresentam diferentes colorações ao longo do ciclo de frutificação, desde verde, branco, até atingir a coloração violeta que caracteriza a maturação desses frutos, sendo esse ponto o ideal de colheita para obtenção de até cinco sementes que o fruto pode conter (CARVALHO, 2003; FOWLER e STURION, 2000; HEUSER, 1990). Essa espécie se propaga naturalmente via sementes, que são envolvidas por um endocarpo lenhoso dando origem aos chamados pirenos (Figura 1) (GROPPO Jr. e PIRANI, 2002; HEUSER, 1990).

Figura 1 – (A) Pirenos de erva-mate e (B) pirenos de erva-mate em corte longitudinal colorido por sal de tetrazólio com seta indicando a posição do embrião (aumento de 3,5x). Santa Maria, RS, 2019.



Fonte: ROSA, 2019

As sementes apresentam um longo período de dormência e germinação baixa e desuniforme, principalmente devido à imaturidade do embrião, sendo mencionado na literatura que 0,9% destes apresentam-se maduros (FOWLER e STURION, 2000; HEUSER, 1990). Também, Medeiros (1998) indica que a dormência do embrião pode estar ligada à presença do endocarpo lenhoso, que seria um impedimento mecânico à germinação das sementes. Isso é corroborado por Dolce, Mroginski e Rey (2010), que observaram um aumento na germinação de sementes bissectadas e cultivadas *in vitro*. Tezuka et al. (2013) também verificaram que o endocarpo de sementes de *Ilex latifolia* Thunb é um impedimento mecânico à germinação, sendo que embriões isolados do endocarpo e do endosperma apresentaram 100% de germinação, seguidos por sementes que foram retirados $\frac{3}{4}$ do endosperma e do endocarpo (70%), também cultivados *in vitro*.

Os embriões de *I. paraguariensis* passam por estágios morfológicos distintos, denominados: globular, coração, pós-coração, torpedo e maduro (HEUSER, 1990). Em estudo realizado com sementes de erva-mate coletadas de três localidades do estado do Paraná e de uma localidade do Rio Grande do Sul, dos frutos maduros coletados, a maior parte das sementes continham embriões em fase de coração (70,2%), sendo que a germinação se inicia pelos embriões maduros, seguidos por torpedo e pós-coração (FOWLER, STURION e RIBAS, 2007). Medeiros e Silva (2001) observaram que as sementes de erva-mate podem ser desidratadas até permanecerem com 5,9% de umidade, além de constatarem que após 49 dias de armazenamento dessas sementes em temperatura ambiente, houve um aumento de embriões na fase de pós-coração. Devido a essa variação, as sementes de erva-mate necessitam passar por um período de superação de dormência para que os embriões completem seu desenvolvimento.

Além disso, o desenvolvimento embrionário pode estar ligado a fatores ambientais, de acordo com o clima da região em que está sendo cultivada a erva-mate. Daniel (2009) afirma que as sementes obtidas no Mato Grosso do Sul não têm a mesma necessidade de estratificação do que as sementes obtidas no Rio Grande do Sul. Fowler e Sturion (2000) também indicam que existe uma variação no desenvolvimento embrionário de sementes de diferentes procedências. Além disso, foi verificado que sementes oriundas do estado do Paraná apresentam maior desenvolvimento embrionário do que sementes obtidas no Rio Grande do Sul (FOWLER, STURION e RIBAS, 2007), porém não existe uma divisão clara do quanto

da influência é genética ou ambiental, já que nenhum desses estudos coloca o mesmo genótipo em diferentes locais ou então vários genótipos em um mesmo ambiente.

2.2 GERMINAÇÃO DE SEMENTES

A semente ao atingir a maturidade fisiológica, cessa seu desenvolvimento e entra em período de repouso. Durante esse período diversas atividades metabólicas são afetadas, pois ocorre diminuição da absorção de água, as enzimas diminuem sua atividade, além de ocorrer redução da biossíntese de proteínas (MARCOS FILHO, 2005). Portanto a germinação de sementes pode ser definida como, quando as condições ambientais são favoráveis, ocorre a retomada do desenvolvimento do embrião, sendo que o processo inicia com a embebição das sementes (MARCOS FILHO, 2005; CARVALHO e NAKAGAWA, 2012).

O processo de germinação pode ser dividido em três fases. Na primeira fase (Fase I) inicia a embebição da semente, ocorrendo uma rápida absorção de água. Essa entrada de água nas sementes ocorre por difusão, devido a diferença de potencial hídrico entre a semente seca e o meio, sendo que o potencial matricial, ou seja, a água ligada as paredes celulares e macromoléculas, é o que controla o potencial hídrico das sementes (CARVALHO e NAKAGAWA, 2012; MARCOS FILHO, 2005; TAIZ et al., 2017). Ocorre um rápido aumento de água na semente, sendo que esta atinge 40% de umidade, ficando em equilíbrio com o potencial hídrico do substrato, cessando a absorção de água (CARVALHO e NAKAGAWA, 2012; TAIZ et al., 2017). A água é responsável pela reativação do metabolismo, portanto, nessa fase, a respiração das sementes aumenta e grandes quantidades de energia passam a ser produzidas (MARCOS FILHO, 2005; CARVALHO e NAKAGAWA, 2012).

A Fase II é caracterizada pela diminuição na velocidade de hidratação e também na respiração (MARCOS FILHO, 2005). Durante essa fase, os metabólitos gerados na fase I são transportados dos tecidos de reserva para o embrião (CARVALHO e NAKAGAWA, 2012). Essa fase é necessária para que ocorra síntese novamente de proteínas que foram exauridas na Fase I, para formação de RNA (MARCOS FILHO, 2005). Já a fase III é caracterizada pelo surgimento da radícula. Essa fase é caracterizada pela retomada da absorção de água e aumento na respiração da semente e só ocorre nas sementes que estão vivas e não se apresentam dormentes (CARVALHO e NAKAGAWA, 2012; MARCOS FILHO, 2005).

Além da disponibilidade de água ser fator imprescindível para a germinação, diversos fatores afetam esse processo. A germinação é controlada por um balanço entre substâncias promotoras e inibidoras, sendo estas as giberelinas que promovem a germinação, e o etileno e o ácido abscísico que são inibidores desse processo (MEDEIROS, 1998; TAIZ et al., 2017). Esse balanço entre as substâncias é o primeiro fator a determinar se as sementes entram em dormência ou iniciam o processo de germinação (TAIZ et al., 2017). Nas sementes de *I. paraguariensis*, Heuser (1990) observou a presença do suspensor, estrutura que fixa, nutre e secreta hormônios, entre estes as giberelinas que atuam nas fases iniciais de formação do embrião da erva-mate. O etileno também pode atuar como indutor de germinação, pois ele aumenta a mobilidade de enzimas que são sintetizadas a partir da presença de giberelinas (MEDEIROS, 1998).

As giberelinas relacionadas à germinação de sementes estão ligadas a degradação de amido através da ativação de α -amilase, sendo que em pesquisas com sementes de espécies pertencentes a família *Poaceae*, a aplicação do ácido giberélico exógeno mostra um aumento da ação da α -amilase (MARCOS FILHO, 2005; PEREIRA et al., 2002). Em estudo com sementes de *Annona squamosa* L. (fruta-do-conde), foi demonstrado que a utilização de ácido giberélico, juntamente com escarificação mecânica foi eficiente para promover a germinação, indicando que o uso desse bioestimulante de forma exógena pode acelerar o fornecimento de energia devido às giberelinas incentivarem a degradação do amido (VASCONCELOS et al., 2015).

Além disso, outros fatores internos à semente estão ligados a germinação, como a viabilidade da mesma, ou seja, a presença de todas as estruturas morfológicas e todas as funções fisiológicas desenvolvidas (MARCOS FILHO, 2005). Outro fator intrínseco é o tempo pelo qual a semente permanece viva, ou longevidade, sendo esta uma característica determinada pelos fatores genéticos e também pelos fatores ambientais (CARVALHO e NAKAGAWA, 2012; MARCOS FILHO, 2005).

A germinação depende também de outros fatores externos como a temperatura do ar e a luz, que também interferem na superação de dormência de sementes (CARVALHO e NAKAGAWA, 2012). A luz tem função de permitir que o fitocromo fique na sua forma ativa, P730, para que assim ocorra a liberação de citocininas, que agem bloqueando a ação de inibidores da germinação.

A temperatura do ar atua na germinação modulando a entrada de água nas sementes e na velocidade das reações bioquímicas que ocorrem durante esse processo. Além disso, essa é uma característica dependente da espécie, sendo que cada uma possui uma temperatura ótima para desencadear o processo (MARCOS FILHO, 2005). A temperatura também atua na regulação de inibidores e promotores de germinação (CARVALHO e NAKAGAWA, 2012). Ao imergir sementes de erva-mate em água à 50 °C por trinta minutos, Schaparini e Viecelli (2011) observaram um aumento na porcentagem de sementes germinadas após 110 dias do teste de germinação em relação aquelas que não foram imergidas. Também, sementes da mesma espécie que passaram por uma época de temperaturas elevadas, ou seja, temperaturas de verão, depois por temperaturas mais amenas, tiveram maior desenvolvimento embrionário e quando ocorreu a chegada de períodos quentes, o embrião pode finalmente concluir seu crescimento, o que evidencia a influência da temperatura na superação de dormência dessa espécie (HEUSER, 1990).

A dormência de sementes pode ser entendida como a semente que se encontra com todas as condições de viabilidade, umidade, temperatura e luz favoráveis e, mesmo assim, não inicia o processo de germinação (CARVALHO e NAKAGAWA, 2012). Já as sementes que não apresentam período de dormência, ou que estão em repouso, e germinam assim que colocadas em ambiente favorável, são chamadas de quiescentes (BASKIN e BASKIN, 2004; CARVALHO e NAKAGAWA, 2012).

A dormência pode ser classificada em dormência primária e dormência secundária. A dormência primária é considerada endógena a semente, fazendo parte de seu desenvolvimento e pode ser observada, em diferentes intensidades, em todos os anos de produção de sementes de determinada espécie (CARVALHO e NAKAGAWA, 2012). Esse tipo de dormência é uma forma de assegurar que a semente não germine na planta mãe, sendo facilmente superada após o desligamento da semente (BRACCINI, 2011).

A dormência secundária é aquela adquirida pela semente diante de condições adversas ao iniciar o processo germinativo, portanto é uma resposta ao meio ambiente (CARVALHO e NAKAGAWA, 2012). Além disso, a dormência secundária possivelmente se instale em sementes que já apresentavam a dormência primária (BRACCINI, 2011). A dormência de sementes pode ser agrupada em classes, propostas por Baskin e Baskin, (2004), como: dormência fisiológica – é quando nas sementes existem substâncias inibidoras da germinação ou se verifica ausência das

substâncias promotoras de germinação; dormência morfológica – é quando a semente, ao se desprender da planta-mãe, apresenta o embrião diferenciado, porém não desenvolvido ou imaturo. Nesses casos, a semente não precisa passar por um processo de superação de dormência propriamente dito e sim um tempo para que o embrião cresça; dormência morfofisiológica – é quando além da semente apresentar embrião imaturo, ela também possui um desequilíbrio hormonal que a impede de germinar. Assim, para essas sementes é necessário um tratamento para superação da dormência, além de maior período de tempo para possibilitar que o embrião cresça; e, dormência física – é causada pela presença de células que são impermeáveis à água. Nessas células estão presentes substâncias, tais como: lignina, suberina e, cutina, que impedem a difusão de água pelas células (CARVALHO e NAKAGAWA, 2012). Também pode ocorrer a impossibilidade de troca gasosa, ou seja, saída do gás carbônico e entrada de oxigênio, impossibilitando a germinação (BRACCINI, 2011).

Além dessas classes, outra forma de dormência pode ser a restrição mecânica do crescimento embrionário (BRACCINI, 2011). Os tecidos de revestimento da semente, como o tegumento, podem atuar como restrição para que o embrião cresça, pois quando os envoltórios são retirados, o embrião passa a crescer e a germinação é possibilitada (BRACCINI, 2011). Nesses casos, as paredes celulares dos envoltórios precisam ser degradadas para possibilitar o crescimento do embrião, bem como para que ocorra a protusão da radícula (TAIZ et al., 2017).

A dormência é, portanto, uma forma de manter a sobrevivência das sementes, e da nova geração, quando esta passa por condições não favoráveis ao seu crescimento (BRACCINI, 2011). Além disso, também auxilia na distribuição da germinação ao longo do tempo, possibilitando maior chance das sementes se dispersarem no tempo e no ambiente (CARVALHO e NAKAGAWA, 2012; TAIZ et al., 2017).

A principal técnica de superação de dormência utilizada em erva-mate é a estratificação das sementes colocando-as entre camadas de areia, por um período de 5 a 6 meses (ZANON, 1988), para que então ocorra o desenvolvimento do embrião. Métodos alternativos de estratificação foram testados por Cuquel, Carvalho e Chamma (1994), sendo o tratamento que diminuiu o período de dormência das sementes foi o que envolveu alternância de temperatura e luz e uso de nitrato de potássio (KNO_3). Os mesmos autores também mostraram que as sementes mantidas no escuro e em geladeira não germinam. Catapan (1998), ao testar a germinação de

sementes de erva-mate mantidas por 222 dias na estratificação pelo método tradicional, também verificou que a alternância de temperatura proporcionou aumento na porcentagem de sementes germinadas.

2.3 PRÉ-CONDICIONAMENTO DE SEMENTES

O pré-condicionamento é uma técnica criada para uniformizar a germinação de sementes (HEYDECKER e GIBBINS, 1978). O procedimento consiste em promover a hidratação controlada das sementes para que as mesmas tenham o desencadeamento da germinação, ou seja, promovendo a ocorrência das fases I e II do processo germinativo, porém interrompendo o processo antes de que a radícula seja emitida (fase III) e, após o processo, seja realizada a secagem dessas sementes (NASCIMENTO, 2004; SANTOS et al., 2008). Também chamado de *priming* ou condicionamento fisiológico, o pré-condicionamento traz benefícios como melhorar a emergência das plântulas, uniformizar a germinação e emergência e aumentar a velocidade de germinação (NASCIMENTO, 2004).

Na condução do pré-condicionamento podem ser utilizadas diversas substâncias, além da própria água, como soluções condicionantes, tais como: sais (KNO_3 e NaCl), açúcares (manitol) e polietileno glicol. O sal nitrato de potássio (KNO_3) é indicado nas Regras para Análises de Sementes (BRASIL, 2009) para ser utilizado na superação de dormência de muitas espécies. Em erva-mate, o umedecimento das sementes com solução de nitrato de potássio durante a estratificação diminuiu o tempo de dormência das sementes (CUQUEL, CARVALHO e CHAMMA, 1994). A espécie *Byrsonima verbascifolia* Rich (ALBERTO et al., 2011), quando colocada para germinar em substrato umedecido com solução de KNO_3 , apresentou melhora na porcentagem de germinação.

Em alguns casos, pode ser feita a utilização de substâncias promotoras da germinação, como o ácido giberélico (NASCIMENTO, 2004). O ácido giberélico (GA_3) é uma das giberelinas produzidas pelo fungo *Fusarium fujikuroi*, que após extraído, é utilizado na superação da dormência em sementes, por exemplo, de *Avena sativa* e *Triticum aestivum* (TAIZ et al., 2017; BRASIL, 2009). Sementes de diferentes espécies, como de *Garcinia gardneriana*, árvore nativa da Mata Atlântica (ROCHA et al., 2018) e de *Lithraea molleoides* (PIVETA et al., 2014), apresentaram aumento na porcentagem de germinação após serem imersas em solução de GA_3 . O GA_3 exógeno

pode auxiliar no afrouxamento e na desestruturação da parede celular de células do endosperma das sementes diminuindo a barreira mecânica para o crescimento da radícula (ANDREOLI e KHAN, 1999).

Além disso, a forma de fornecimento da água é diversa, sendo possível o fornecimento através da imersão da semente na solução, bem como, umedecimento de um substrato com as soluções (SANTOS et al., 2008). A temperatura durante o processo também é importante, pois ela não deve ser a temperatura ótima de germinação da espécie o que seria um incentivo para que ocorra a protusão da radícula. Já o tempo de permanência dessas sementes na solução é variável de 2 a 21 dias (NASCIMENTO, 2004).

Diversas espécies têm respondido bem a utilização desse método como o tomate. Ao utilizar essa técnica ocorreu uma diminuição no número de sementes não germinadas no tempo de 72h de pré-condicionamento em relação as sementes que não passaram pelo pré-condicionamento (BISOGNIN et al., 2016). Já para o melão, também foi observado uma diminuição no tempo médio de germinação e um maior índice de velocidade de germinação em sementes pré-condicionadas por 25h (BISOGNIN et al., 2016). Em espécies florestais como a *Parkia pendula* [BENTH ex WALP], que possui dormência física, o condicionamento permitiu homogeneizar a germinação tanto de sementes recém-colhidas, como daquelas já armazenadas (PINEDO e FERRAZ, 2008). Para espécies como *Stryphnodendron adstringens* o condicionamento aumenta a velocidade de germinação, de 2 dias para a testemunha indo para 0,5 dia após 12h de condicionamento (KISSMANN, 2010).

Desta forma, a utilização do pré-condicionamento se torna uma opção para a diminuição do tempo de estratificação das sementes de erva-mate além de buscar um aumento de germinação dessas sementes, contribuindo para que a cadeia produtiva se torna mais eficiente.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados dois experimentos distintos, sendo o primeiro relacionado a caracterização dos estágios embrionários de sementes de 7 matrizes e o segundo foi a aplicação do pré-condicionamento para superação de dormência. Ambos os experimentos foram realizados no Laboratório Didático e de Pesquisa em Sementes, do Departamento de Fitotecnia e no Laboratório de Citogenética Vegetal e Genotoxicidade, Departamento de Biologia da Universidade Federal de Santa Maria.

3.1 EXPERIMENTO 1 - CARACTERIZAÇÃO DOS ESTÁDIOS EMBRIONÁRIOS

Nesse experimento foram utilizadas 7 matrizes as quais tiveram suas sementes avaliadas quanto as dimensões, presença de embriões, viabilidade e tamanho de embriões, antes e após passarem pelo processo de estratificação, afim de verificar qual o estágio do desenvolvimento embrionário destas.

Obtenção das sementes: as sementes foram coletadas de seis matrizes, identificadas com números de 1 a 6, cultivadas na Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), localizadas em um raio de 50 m a partir das coordenadas -29.717664, -53.726546, ao sul do prédio do Laboratório de Engenharia Natural (prédio 44N), que fica ao lado do Jardim Botânico da UFSM. Foram coletados frutos maduros, com coloração vinho, durante os meses de fevereiro e março de 2018. Para obtenção das sementes, os frutos foram macerados e a despolpa foi realizada com auxílio de peneira em água corrente, sendo colocadas para secagem em temperatura ambiente. Foram avaliadas juntamente neste trabalho, sementes provenientes da Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri) – Chapecó (SC), que forma coletadas em fevereiro de 2018 e já estavam beneficiadas e foram identificadas com o número 7. As sementes das sete matrizes foram mantidas em sacos de papel em temperatura ambiente até a colocação destas na estratificação, que ocorreu no dia 14/09/2018.

Medidas biométricas: as medidas biométricas consideradas foram comprimento, largura e espessura dos pirenos de erva-mate. Foram medidos 50 pirenos de cada matriz, divididos em 5 repetições com auxílio de paquímetro com resultado em mm.

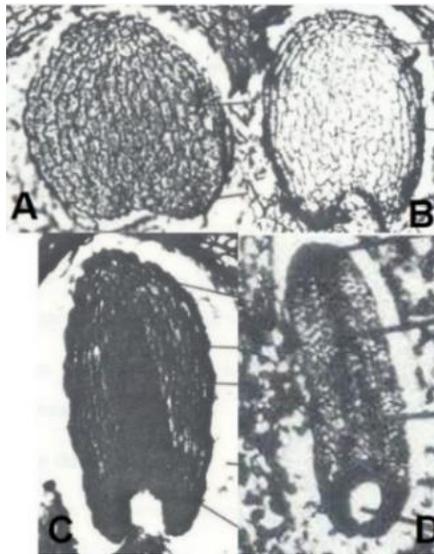
Peso de mil sementes: foram contadas de forma manual oito repetições de 100 pirenos cada, as quais foram pesadas em balança analítica com três casas decimais. O processo foi repetido por cinco vezes (BRASIL, 2009).

Estratificação: as sementes foram colocadas em bandejas perfuradas contendo 5 cm de areia lavada e esterilizada, uma camada uniforme de sementes sobreposta por uma camada de 1 cm de areia. As bandejas foram mantidas dentro do laboratório em temperatura ambiente, durante 150 dias, do dia 14/09/2018 a 11/02/2019 e eram umedecidas uma vez por semana até a saturação da areia.

Teste de tetrazólio: Foram avaliadas cinco repetições de 100 sementes cada, antes e após o processo de estratificação. Primeiramente as sementes passaram pela embebição em água destilada, por 24 horas à 30 °C. Em seguida, as sementes foram cortadas longitudinalmente próximo ao embrião e a metade que continha o embrião foi submersa para a coloração em solução de sal de 2,3,5 – trifênil cloreto de tetrazólio, na concentração de 0,1%, em estufa à 35 °C por 24 horas, para coloração. Após a coloração, as sementes foram lavadas e avaliadas sob lupa quanto à consistência e coloração do endosperma e dos embriões. As sementes foram divididas nas classes: sementes com endosperma colorido sem embrião diferenciado (1), endosperma descolorido sem embrião diferenciado (2), endosperma colorido com embrião colorido (3), endosperma colorido com embrião descolorido (4), endosperma descolorido com embrião descolorido (5) endosperma descolorido com embrião colorido (6), deterioradas (7) e vazias (8), sendo as classes 1 e 3 as consideradas sementes viáveis (CATAPAN,1998).

Tamanho e forma dos embriões: foram excisados 50 embriões no teste de tetrazólio, divididos em cinco repetições. Estes foram colocados em papel germiteste, acondicionados em caixa de plástico tipo gerbox e observados sob uma ocular graduada para a medição em escala de micron (μ) para classificação da forma (coração, pós-coração, torpedo e maduro) e medição do tamanho do eixo hipocótilo-radícula. A classificação das formas foi baseada no trabalho de Heuser (1990), exemplificado pela Figura 2 e baseada nos tamanhos dos embriões, sendo considerado que embriões entre 0,20 a 0,30 mm pertenciam a classe coração; entre 0,31 a 0,50 mm eram considerados na fase pós-coração; de 0,51 até 0,70 mm estavam na fase torpedo, e; os maiores que 0,71 mm já estavam maduros (CATAPAN, 1998).

Figura 2 – Estádios embrionários de sementes de *I. paraguariensis*: A – coração; B – pós-coração; C – torpedo; e D - maduro.



FONTE: HEUSER, 1990.

O experimento foi um bifatorial 2x7, com o primeiro fator a estratificação (com e sem) e o segundo fator as 7 matrizes, sendo conduzido no delineamento inteiramente casualizado. Os dados obtidos foram testados quanto à normalidade dos erros pelo teste de Shapiro Wilk e de homogeneidade das variâncias de tratamento pelo teste de Bartlett, em nível de 0,05 de probabilidade de erro, com auxílio do software Action 2.7[®]. Aceito os pressupostos foi realizada a análise da variância e as médias dos tratamentos foram agrupadas pelo teste de Scott-Knott em 0,05 de probabilidade de erro utilizando o software Sisvar[®] (FERREIRA, 2019).

3.2 EXPERIMENTO 2 - SUPERAÇÃO DE DORMÊNCIA

Neste segundo experimento, na tentativa de acelerar o processo de superação de dormência das sementes de erva-mate, estas foram submetidas ao processo de pré-condicionamento. O experimento foi realizado no esquema trifatorial, com três níveis do fator tempo de pré-condicionamento (5, 10, 15 dias), três níveis do fator solução (água, KNO₃ 0,02% e ácido giberélico 0,1%) e quatro níveis do fator tempo de estratificação (0, 65, 140, 200 dias). Além disso, foram utilizados quatro tratamentos adicionais que consistiram em um tratamento sem pré-condicionamento e sem estratificação (T1), um tratamento sem pré-condicionamento e 65 dias de estratificação (T2), um tratamento sem pré-condicionamento e com 140 dias de

estratificação (T3) e por fim um tratamento sem pré-condicionamento e 200 dias de estratificação (T4).

Procedência e caracterização do lote: No experimento 2 foi utilizado um lote de sementes colhidas e beneficiadas em março de 2019 na Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri) da cidade de Chapecó-SC. Para caracterização do lote foram utilizadas as medidas biométricas dos pirenos, as quais foram obtidas através da medição do comprimento, largura e espessura de 200 sementes, com auxílio de paquímetro e a medida obtida em mm. Além disso, foi obtido o peso de mil sementes, para o qual foram contadas de forma manual oito repetições de 100 sementes cada, as quais foram pesadas em balança analítica com três casas decimais. O processo foi repetido por quatro vezes.

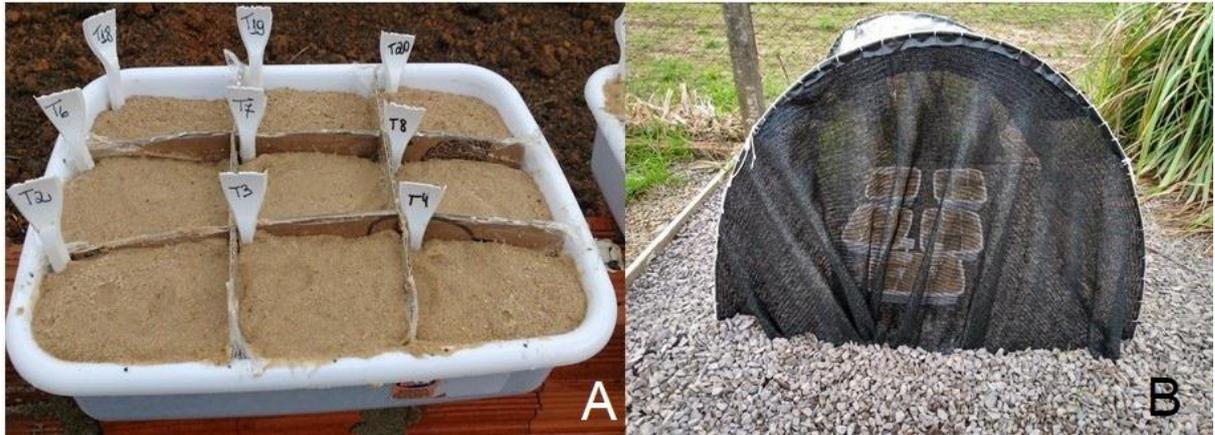
Preparo das soluções: as soluções foram preparadas no Laboratório Didático e de Pesquisa em Sementes da UFSM. Foram utilizados como reagentes o sal nitrato de potássio (KNO_3) e o ácido giberélico (AG_3) na forma de sal com 96,89% de pureza. Para o KNO_3 foram colocadas 0,1 g em 500 mL de água destilada, atingindo assim a concentração de 0,02%. Foi preparada a mesma quantidade da solução de ácido giberélico, sendo utilizados 0,516 g em 500 mL de água destilada de AG_3 atingindo a concentração de 0,01%. As soluções foram mantidas em refrigerador até o momento do uso.

Pré-condicionamento: Foram separadas e pesadas 300 sementes para cada tratamento antes do pré-condicionamento. As sementes foram então colocadas entre duas camadas, de duas folhas cada, de papel germiteste embebidas com 2,5 vezes o seu peso seco com as soluções, acondicionadas em caixas plásticas (gerbox). As caixas plásticas foram colocadas em sacos plásticos e mantidas em BOD regulada para alternar as temperaturas de 20 e 30 °C, com cada temperatura mantida por 12 h e luz constante (BRASIL, 2009), durante 5, 10 e 15 dias. Após esse período as sementes foram novamente pesadas e depois submetidas à secagem natural.

Estratificação: Após secagem, as sementes foram levadas para estratificação que foi realizada em bandejas perfuradas contendo 5 cm de areia lavada e esterilizada, uma camada uniforme de sementes sobreposta por uma camada de 1 cm de areia, que foram mantidas em ambiente natural somente protegido da luz solar direta por uma tela de sombrite (Figura 3). A umidade das bandejas era mantida a partir de precipitação, mas na falta desta, a areia era umedecida com água até a sua saturação.

As sementes permaneceram na estratificação por 65, 140 e 200 dias, iniciando o experimento no dia 21/03/2019 e finalizando no dia 21/10/2019.

Figura 3 - Estratificação das sementes. (A) Bandeja com as sementes entre camadas de areia para estratificação. (B) Abrigo para as bandejas. Santa Maria, RS, 2019.



Fonte: ROSA, 2019.

Teste de germinação: Uma amostra de 200 sementes pré-embebidas em cada uma das soluções foi retirada aos 0, 65, 140 e 200 dias após estratificação, para realização do teste de germinação. Este foi feito em quatro repetições de 50 sementes, que foram colocadas para germinar em caixas plásticas contendo areia lavada e esterilizada, umedecidas com 60% da sua capacidade de retenção com água destilada, e levadas para BOD à 20-30°C (12/12h), luz constante, com contagem aos 45 (primeira contagem) e aos 60 dias (germinação) após semeadura (BRASIL, 2009). Foram consideradas sementes germinadas aquelas que apresentaram emissão da radícula (LABOURIAU, 1983).

Teste de tetrazólio: Foram avaliadas 100 sementes logo após a saída da estratificação e mais 100 sementes que não germinaram após os 60 dias do teste de germinação. Primeiramente as sementes passaram pela embebição em água destilada, por 24 horas à 30 °C. Em seguida as sementes foram cortadas longitudinalmente próximo ao embrião e a metade que continha o embrião foi colocada em solução de sal de 2,3,5 – trifenil cloreto de tetrazólio, na concentração de 0,1%, em estufa à 35 °C por 24 horas, para coloração. Após a coloração, as sementes foram lavadas e avaliadas sob lupa quanto à consistência e coloração do endosperma e dos embriões. As sementes foram divididas nas classes: sementes com endosperma colorido sem embrião diferenciado (1), endosperma descolorido sem embrião diferenciado (2), endosperma

colorido com embrião colorido (3), endosperma colorido com embrião descolorido (4), endosperma descolorido com embrião descolorido (5), endosperma descolorido com embrião colorido (6), deterioradas (7) e vazias (8), sendo as classes 1 e 3 as consideradas sementes viáveis (CATAPAN,1998).

Tamanho e forma dos embriões: foram excisados 20 embriões no teste de tetrazólio após o teste de germinação, divididos em quatro repetições. Estes foram colocados em papel germiteste, acondicionados em caixa de plástico tipo gerbox e observados sob uma ocular graduada para a medição em escala de micron (μ) para classificação da forma (coração, pós-coração, torpedo e maduro) e medição do tamanho do eixo hipocótilo-radícula exemplificado pela Figura 2 e baseada nos tamanhos dos embriões, sendo considerado que embriões entre 0,20 a 0,30 mm pertenciam a classe coração; entre 0,31 a 0,50 mm eram considerados na fase pós-coração; de 0,51 até 0,70 estavam na fase torpedo, e; os maiores que 0,71 já estavam maduros (CATAPAN, 1998).

O experimento trifatorial 3x3x4 foi conduzido no delineamento inteiramente casualizado. Os dados foram testados quanto à normalidade dos erros pelo teste de Shapiro Wilk e de homogeneidade das variâncias de tratamento pelo teste de Bartlett, em 0,05 de probabilidade de erro com auxílio do software Action 2.7[®]. As variáveis primeira contagem e germinação, nas quais os pressupostos não foram aceitos, foram transformadas em $\sqrt{\bar{X}} + 1$ e $\sqrt{\bar{X}}$, respectivamente.

Foi realizada uma primeira análise de variância contemplando os tratamentos adicionais mais o trifatorial completo, e as médias dos tratamentos foram analisadas através de contrastes ortogonais, através do programa Sisvar[®] (FERREIRA, 2019). Em seguida, somente o trifatorial completo passou por nova análise de variância e as médias foram analisadas pelo teste de Scott-Knott em 0,05 de probabilidade de erro e para o fator quantitativo foram ajustadas as equações até segundo grau utilizando o software Sisvar[®] (FERREIRA, 2019). As probabilidades das causas de variação e dos modelos matemáticos do fator quantitativo foram testadas com os graus de liberdade e quadrado médio do erro do primeiro quadro da análise de variância, que continha todos os tratamentos. Os mesmos GLe e QMe foram utilizados para testarem as médias obtidas no trifatorial com auxílio do programa SASM-Agri[®] (CANTERI et al., 2001).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 EXPERIMENTO 1 – CARACTERIZAÇÃO DOS ESTÁGIOS EMBRIONÁRIOS

Na Tabela 1 estão as estatísticas descritivas para todas as matrizes antes de passarem pela estratificação. Percebe-se que a maior variação na variável viabilidade ocorreu na matriz 7, sendo o máximo de 58% e o mínimo encontrado de 31%. O mesmo ocorreu para matriz 3 quanto aos embriões visíveis, sendo ela a matriz que apresentou maior desvio padrão (5,63).

Tabela 1 – Estatísticas descritivas das variáveis viabilidade (V), embriões visíveis (Ev), tamanho de embrião (Te), comprimento (C), largura (L), espessura (E) e peso de mil sementes (PMS) para as sementes das 7 matrizes antes de passarem pela estratificação. Santa Maria, 2019.

		V (%)	Ev (%)	Te (mm)	C (mm)	L (mm)	E (mm)	PMS (g)
Matriz 1	Média	41	9	0,34	3,74	2,61	1,88	7,78
	Desvio padrão	3,63	3,39	0,01	0,08	0,03	0,07	0,19
	Máximo	47	14	0,36	3,83	2,65	1,99	7,99
	Mínimo	38	5	0,32	3,61	2,56	1,81	7,48
Matriz 2	Média	46	9	0,34	3,63	2,44	1,84	7,42
	Desvio padrão	2,88	2,28	0,01	0,05	0,06	0,04	0,11
	Máximo	49	9	0,35	3,67	2,36	1,88	7,44
	Mínimo	45	5	0,33	3,61	2,50	1,81	7,43
Matriz 3	Média	55	22	0,36	3,56	2,34	1,73	6,10
	Desvio padrão	5,22	5,63	0,01	0,03	0,08	0,05	0,12
	Máximo	54	30	0,35	3,59	2,35	1,72	6,15
	Mínimo	47	16	0,34	3,52	2,30	1,70	5,89
Matriz 4	Média	54	23,2	0,40	4,62	2,68	2,09	11,65
	Desvio padrão	5,10	3,03	0,02	0,08	0,07	0,05	0,07
	Máximo	56	24	0,42	4,65	2,66	2,16	11,72
	Mínimo	50	18	0,39	4,50	2,61	2,16	11,56
Matriz 5	Média	62	29	0,30	3,98	2,51	1,84	8,7
	Desvio padrão	3,0	4,87	0,01	0,06	0,05	0,04	0,05
	Máximo	61	28	0,31	4,01	2,56	1,87	8,75
	Mínimo	60	27	0,28	3,89	2,45	1,79	8,72
Matriz 6	Média	45	10	0,34	3,75	2,45	1,84	7,20
	Desvio padrão	2,55	1,79	0,03	0,12	0,05	0,06	0,06
	Máximo	46	15	0,35	3,79	2,53	1,90	7,24
	Mínimo	43	9	0,31	3,64	2,40	1,76	7,20
Matriz 7	Média	44	9	0,31	3,48	2,51	1,81	6,612
	Desvio padrão	13,35	3,67	0,02	0,10	0,04	0,04	0,11
	Máximo	58	13	0,31	3,49	2,56	1,82	6,635
	Mínimo	31	7	0,29	3,44	2,47	1,80	6,615

Também na Tabela 1, pode-se observar que as demais variáveis se apresentam homogêneas. Já na Tabela 2, as sementes da matriz 7 que passaram pela estratificação apresentaram diminuição do desvio padrão quanto à viabilidade, sendo observado o contrário na matriz 3, a qual teve um aumento da variabilidade para essa variável. Na variável embriões visíveis, a matriz 3 continua tendo a maior variabilidade, porém ocorreu um aumento do desvio padrão para todas as matrizes. As demais variáveis permaneceram homogêneas dentro das matrizes.

Tabela 2 – Estatísticas descritivas das variáveis viabilidade (V), embriões visíveis (Ev), tamanho de embrião (Te), comprimento (C), largura (L), espessura (E) e peso de mil sementes (PMS) para as sementes das 7 matrizes após passarem pela estratificação. Santa Maria, 2019.

		V (%)	Ev (%)	Te (mm)	C (mm)	L (mm)	E (mm)	PMS (g)
Matriz 1	Média	46	10	0,35	3,58	2,53	1,91	6,929
	Desvio padrão	6,76	2,70	0,02	0,09	0,05	0,04	0,13
	Máximo	55	13	0,37	2,64	2,62	1,96	7,055
	Mínimo	37	7	0,34	3,43	2,49	1,88	6,705
Matriz 2	Média	49	11	0,32	3,50	2,39	1,83	6,015
	Desvio padrão	6,07	3,54	0,01	0,02	0,07	0,01	0,06
	Máximo	56	16	0,33	3,52	2,52	1,84	6,095
	Mínimo	40	7	0,31	3,48	2,33	1,81	5,950
Matriz 3	Média	53	27	0,33	3,48	2,32	1,73	5,527
	Desvio padrão	10,06	9,89	0,01	0,04	0,06	0,02	0,06
	Máximo	63	34	0,35	3,53	2,38	1,74	5,585
	Mínimo	38	10	0,32	3,42	2,22	1,69	5,440
Matriz 4	Média	25	6	0,38	4,42	2,52	2,00	7,881
	Desvio padrão	1,79	2,86	0,01	0,09	0,02	0,02	0,10
	Máximo	26	8	0,39	4,48	2,54	2,02	7,975
	Mínimo	22	1	0,36	4,27	2,48	1,99	7,775
Matriz 5	Média	51	20	0,30	3,54	2,49	1,80	7,559
	Desvio padrão	4,47	6,76	0,00	0,07	0,06	0,04	0,07
	Máximo	56	28	0,31	3,62	2,57	1,86	7,630
	Mínimo	45	13	0,30	3,46	2,42	1,74	7,450
Matriz 6	Média	36	10	0,33	3,36	2,47	1,77	5,813
	Desvio padrão	7,29	3,54	0,01	0,11	0,06	0,04	0,09
	Máximo	44	15	0,34	3,48	2,52	1,79	5,910
	Mínimo	24	6	0,32	3,19	2,37	1,70	5,675
Matriz 7	Média	65	34	0,34	3,36	2,42	1,73	5,915
	Desvio padrão	3,85	4,97	0,01	0,11	0,07	0,17	0,14
	Máximo	68	41	0,36	3,48	2,49	1,86	6,115
	Mínimo	60	28	0,32	3,19	2,35	1,44	5,750

A interação entre a estratificação e as matrizes que deram origem as sementes foi significativa para as variáveis largura, peso de mil sementes, viabilidade, embriões visíveis e tamanho de embriões, porém somente foi observado o efeito principal dos fatores matriz e estratificação nas variáveis comprimento e espessura.

Com relação ao comprimento dos pirenos, a matriz com maior comprimento foi a de número 4, com média de 4,52 mm, seguida pela matriz de número 5 com média de 3,92 mm (Tabela 3). O menor comprimento de todas as matrizes do experimento foi a matriz de número 7 proveniente de Chapecó – SC, com 3,42 mm. Quanto à estratificação é possível visualizar que houve uma pequena redução do comprimento das sementes, sendo a média sem estratificação de 3,82 mm foi para 3,68 mm após o período de estratificação.

Tabela 3 – Comprimento e espessura de pirenos de erva-mate, amostradas em Santa Maria – RS (1 a 6) e Chapecó – SC (7). Santa Maria, 2019.

Matrizes	Comprimento (mm)			Espessura (mm)		
	Estratificação					
	Com	Sem	Médias	Com	Sem	Médias
1	3,58	3,74	3,66 e*	1,91	1,92	1,90 b*
2	3,49	3,56	3,56 d	1,83	1,85	1,84 c
3	3,50	3,63	3,52 c	1,73	1,74	1,73 d
4	4,42	4,62	4,52 a	2,00	2,08	2,05 a
5	3,86	3,98	3,92 b	1,73	1,83	1,82 c
6	3,54	3,75	3,65 c	1,76	1,84	1,80 d
7	3,36	3,48	3,42 f	1,73	1,81	1,77 d
Médias	3,68 B*	3,82 A		1,82 B*	1,86 A	
CV (%)	2,16			3,31		

*Letras maiúsculas correspondem a comparação entre os níveis de estratificação e letras minúsculas corresponde a comparação entre os níveis matrizes pelo teste de Scott-Knott em 0,05 de probabilidade de erro.

O comportamento para a espessura é semelhante ao comprimento (Tabela 3), pois a maior medida dessa variável é observada na matriz 4 medindo 2,05 mm. Em relação ao efeito da estratificação, ocorreu o mesmo comportamento de redução do comprimento nas medidas de espessura, sendo que sem estratificação a média foi de 1,86 e após a estratificação foi de 1,82 mm. As medidas obtidas são semelhantes as atingidas em outros trabalhos, nos quais as médias de comprimento foram de 3,90 mm (CATAPAN, 1998) e 3,72 mm (MUTINELLI, 1988), com a medida máxima sendo de 4,82 e a mínima de 3,03 mm (CATAPAN, 1998). O mesmo ocorre para a

espessura, sendo encontrado médias de 1,85 mm (CATAPAN, 1998) e 1,86 mm (MUTINELLI, 1988).

A largura dos pirenos sofreu redução em todas as matrizes após a estratificação (Tabela 4), porém somente as matrizes 4 e 7 apresentaram redução significativa, indo de 2,67 e 2,51 mm nas sementes sem estratificação para 2,52 e 2,42 após as sementes passarem pela estratificação. Os resultados são semelhantes ao intervalo de largura obtido por Catapan (1998), a qual encontrou largura máxima de 2,97 e mínima de 1,71 mm, com média de 2,34 mm.

Tabela 4 – Largura (mm) e peso de mil sementes (PMS) de pirenos cultivados em Santa Maria – RS (1 a 6) e Chapecó – SC (7). Santa Maria, 2019.

Matrizes	Largura (mm)		PMS (g)	
	Estratificação			
	Com	Sem	Com	Sem
1	2,53 A a*	2,61 A a	6,929 B c	7,782 A c
2	2,39 A b	2,44 A c	6,015 B d	7,425 A d
3	2,32 A c	2,34 A d	5,527 B f	6,102 A g
4	2,52 B a	2,67 A a	7,881 B a	11,652 A a
5	2,49 A a	2,51 A b	7,559 B b	8,700 A b
6	2,47 A a	2,45 A c	5,813 B e	7,207 A e
7	2,42 B b	2,51 A b	5,915 B d	6,612 A f
CV (%)	2,34		1,45	

*Letras maiúsculas correspondem a comparação entre os níveis de estratificação e letras minúsculas corresponde a comparação entre os níveis matrizes pelo teste de Scott-Knott em 0,05 de probabilidade de erro.

A estratificação promoveu uma diminuição no peso de mil sementes em todas as matrizes (Tabela 4), sendo que a redução mais acentuada foi observada na matriz 4, a qual foi de 11,652 g antes da estratificação, para 7,881 g após a estratificação. Das matrizes estudadas, somente a matriz 4 tem maior PMS que a média encontrada por Catapan (1998), que foi de 8,93 g, sendo que as demais estão próximas ao verificado por Kuniyoshi (1983) onde obteve PMS médio de 7,1 g. Essa redução nas dimensões das sementes, bem como no PMS das mesmas pode ter ocorrido devido a degradação do endocarpo lenhoso por hifas de fungos durante o tempo que estas permaneceram na estratificação (KUNIYOSHI, 1983).

Nas matrizes 1, 2, e 7 foi observado um aumento na porcentagem de sementes viáveis após o período de estratificação (Tabela 5), sendo que a matriz com maior

incremento foi a de número 7. O mesmo comportamento da matriz 7 ocorre na porcentagem de sementes que apresentaram embriões visíveis (Tabela 5), a qual mostrou um aumento de 25 pontos percentuais após a estratificação.

Resultados semelhantes a esses foram encontrados por Fowler, Sturion e Ribas (2007), quando estes comparam pirenos de matrizes cultivadas em três municípios do Paraná e um do Rio Grande do Sul, sendo que essa diferença foi atribuída à uma temperatura média do ar mais alta e maior insolação no PR comparada ao RS. Esse comportamento se mantém até as sementes oriundas dos estados do Centro-Oeste brasileiro, as quais não apresentam necessidade de período de estratificação, pois os embriões já estão desenvolvidos no momento que o fruto se desprende da planta-mãe (DANIEL, 2009; MEDEIROS, 1998). Temperaturas médias do ar mais baixas durante a formação da semente podem aumentar a síntese de hormônios relacionadas a inibição da germinação, induzindo a dormência. Além disso, fotoperíodos mais longos, tendem a contribuir para um espessamento dos tegumentos das sementes, fator que também ajuda na promoção da dormência, sendo esse o cenário encontrado no Rio Grande do Sul no momento da maturação dos frutos (MARCOS FILHO, 2015).

Tabela 5 – Viabilidade por tetrazólio (%), embriões visíveis (%) e tamanho de embrião de pirenos de matrizes cultivadas em Santa Maria – RS (1 a 6) e Chapecó – SC (7). Santa Maria, 2019.

Matrizes	Viabilidade (%)		Embriões visíveis (%)		Tamanho de Embrião (mm)	
	Estratificação					
	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem
1	46 A b*	41 A b	10 A d	9 A c	0,36 A b	0,34 A c
2	49 A b	46 A b	11 A d	9 A c	0,34 A c	0,34 A c
3	53 A b	55 A a	27 A b	22 A b	0,36 A c	0,33 B b
4	25 B d	54 A a	6 B d	23 A b	0,40 A a	0,38 B a
5	51 B b	62 A a	20 B c	29 A a	0,30 A d	0,30 A d
6	36 B c	45 A a	10 A d	10 A c	0,33 A c	0,34 A c
7	65 A a	44 B b	34 A a	9 B c	0,34 A c	0,31 B d
CV (%)	13,04		28,66		4,73	

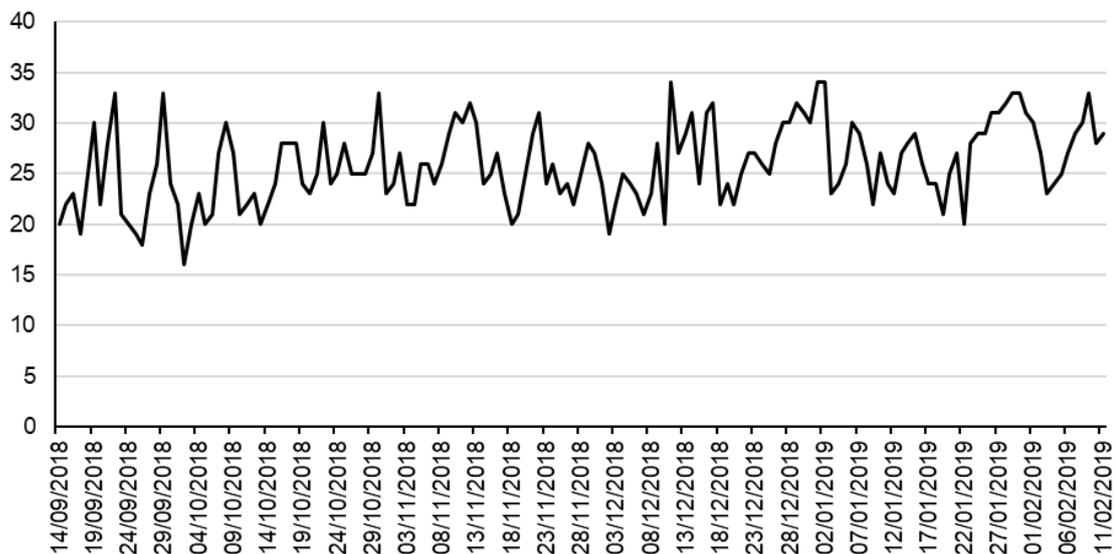
*Letras maiúsculas correspondem a comparação entre os níveis de estratificação e letras minúsculas corresponde a comparação entre os níveis matrizes pelo teste de Scott-Knott em 0,05 de probabilidade de erro.

As matrizes 1 e 2 apresentaram um acréscimo menos acentuado quanto a porcentagem de sementes viáveis, não diferindo estatisticamente entre sementes estratificadas e não estratificadas, sendo que o mesmo ocorreu para sementes com presença de embrião visível (Tabela 5), sendo o mesmo comportamento encontrado em outros trabalhos (CATAPAN, 1998).

Já as matrizes 4, 5 e 6 apresentaram viabilidade anterior a estratificação de 54, 62 e 45%, respectivamente, sendo que após a passagem por esse processo a viabilidade diminuiu para 25, 51 e 36%,. Antes do processo de estratificação as matrizes 4, 5 e 6 foram as que obtiveram maior porcentagem de sementes viáveis, bem como o maior número de embriões visíveis. O processo de desenvolvimento embrionário requer energia, que provém da degradação do endosperma, desta forma, entende-se que essas sementes, por apresentarem maior desenvolvimento embrionário, o processo de deterioração já estava mais avançado quando as sementes foram colocadas na estratificação (TAIZ et al., 2017), além de que as sementes de *I. paraguariensis*, apresentam uma baixa longevidade (CARVALHO, 2003).

Além disso, a partir do início de dezembro até o final do experimento, essas sementes foram expostas a temperaturas predominantemente acima de 20°C e alta frequência de ocorrências de temperaturas acima de 30°C (Figura 4), fator esse que atua acelerando os processos de degradação das sementes (MARCOS FILHO, 2015).

Figura 4 – Variação de temperatura média do ar durante os dias 14/09/2018 até 11/02/2019 na cidade de Santa Maria, RS. Santa Maria, 2019.

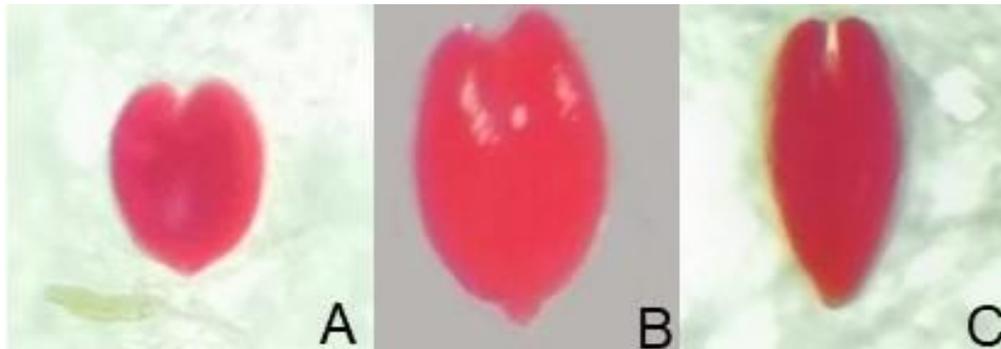


Fonte: INMET, 2019

Quanto ao tamanho do embrião apenas as matrizes 3, 4 e 7 apresentaram aumento de tamanho significativo, de 0,33, 0,38 e 0,31 mm antes da estratificação para 0,36, 0,40 e 0,34 mm após a estratificação, respectivamente (Tabela 5).

No presente estudo foram encontradas três formas de embriões: coração, pós-coração e torpedo, sendo essa última a mais rara de todas (Figura 5). A única das matrizes a apresentar embrião na forma de torpedo foi a de número 4, após passar pelo período de estratificação (Figura 6). Além disso, é possível perceber através da Figura 6, que não existe uma constância no desenvolvimento embrionário, já que mesmo após passado o período de estratificação ainda são encontrados embriões na fase de coração, sendo o mesmo observado por Heuser (1990). Isso ocorre, pois, os frutos são dispersados contendo sementes em diferentes estágios do desenvolvimento embrionário (FOWLER e STURION, 2000).

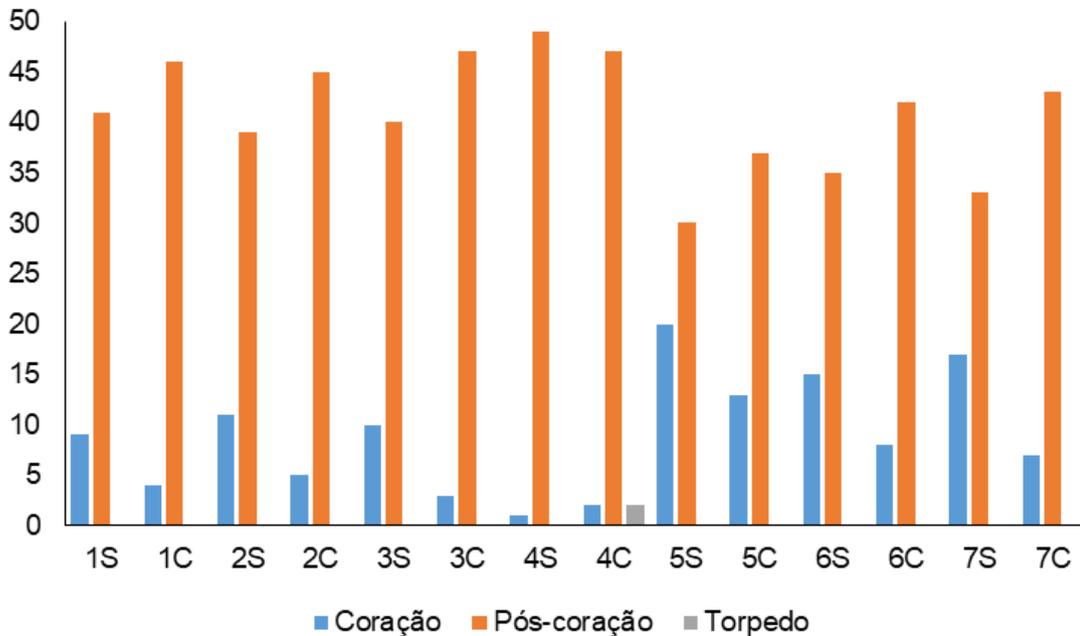
Figura 5 – Estágios embrionários encontrados nas matrizes (aumento de 10x) . (A) Coração; (B) Pós-coração; e (C) Torpedo. Santa Maria, 2019.



Fonte: ROSA, 2019.

A partir da Figura 6, pode-se observar que a frequência de embriões no estágio de coração diminuiu para todas as matrizes após a estratificação. A estratificação é uma forma de manter as sementes de erva-mate hidratadas, além de ser uma forma de conservação dessas sementes, já que a umidade permite uma redução no teor de oxigênio e aumento da concentração de CO_2 , permitindo assim que o desenvolvimento embrionário possa ser concluído (CUNHA e FERREIRA, 1987), sendo esse efeito observado para as sementes estudadas. Porém, o tempo de 150 dias não se mostrou suficiente para que estágios mais avançados de desenvolvimento embrionário fossem atingidos, já que Heuser (1990) identificou a presença de embriões no estágio maduros somente após 12 meses do início do processo de estratificação.

Figura 6 – Frequência das formas de embriões de sementes de *Ilex paraguariensis* de cultivadas em Santa Maria – RS (1 a 6) e Chapecó – SC (7), com e sem estratificação. Santa Maria, 2019.



S= sem estratificação; C= com estratificação. Fonte: ROSA, 2019.

As matrizes que apresentaram maior número de embriões na fase coração foram as matrizes 5 e 6. Esses embriões mediram entre 0,20 a 0,29 mm, sendo este o mesmo tamanho encontrado por Catapan (1998) e por Niklas (1987), porém menores que a classificação feita por Heuser (1990), que embriões nesse estágio mediam entre 0,30 a 0,45 mm. Na forma de coração, o embrião passa a ocupar 10% do comprimento do endosperma, os cotilédones passam a ser visíveis, pois as células já começaram a se organizar, porém os tecidos cambiais ainda não estão diferenciados (HEUSER, 1990; SOUZA, 2018).

A maior frequência foi a de embriões na fase de pós-coração para todas as matrizes, que teve um incremento após o período de estratificação (Figura 6). A matriz que teve maior aumento no número de embriões nesta fase foi a matriz 7, que de 50 embriões medidos, 37 estavam no estágio pós-coração antes da estratificação e 47 após a estratificação. Os embriões dessa classe mediram entre 0,30 até 0,50 mm, sendo os mesmos resultados obtidos por Catapan (1998), diferindo de outros autores que encontraram intervalos como 0,30 a 0,40 mm (NIKLAS, 1987) e 0,45 a 0,70 mm (HEUSER, 1990). No estágio de pós-coração, o embrião encontra-se com características tanto da fase de coração quanto da fase torpedo, pois ele possui os

cotilédones recém desenvolvidos, inicia o processo de diferenciação dos tecidos e ocupa 15% do comprimento do endosperma (HEUSER, 1990; SOUZA, 2018).

Por fim, a última categoria encontrada foi a de torpedo, sendo que a matriz 4, após período de estratificação, a única a registrar a presença dessa classe. Além disso, nessa mesma matriz se observou um número constante de embriões na fase de pós coração, de 49 antes da estratificação, e de 47 após a estratificação. Os embriões em fase de torpedo possuem os cotilédones e o eixo embrionário bem desenvolvido e maior diferenciação dos tecidos, ocupando 20% do comprimento do endosperma (HEUSER, 1990; SOUZA, 2018). O comprimento dos embriões nesse estágio apresentou média de 0,61 mm, sendo maiores que os encontrados por Souza (2018), mas dentro do intervalo encontrado por Catapan (1998) que foi de 0,50 a 0,70 mm.

A matriz 7, proveniente de Santa Catarina, foi a que apresentou maiores porcentagens de viabilidade e embriões visíveis após passagem pelo período de estratificação, porém a que apresentou aumento mais significativo de tamanho embrionário foi a matriz 4 (Santa Maria – RS), sendo que a semelhança entre elas foi de que ambas sofreram a maior redução no peso de mil sementes. Dentre as matrizes provenientes de Santa Maria, a matriz 4 foi a que mais perdeu viabilidade, enquanto a matriz 3 foi a que se manteve viável após estratificação. A presença de embriões visíveis também se manteve constante em todas as matrizes provenientes de Santa Maria (RS), exceto a matriz 4, a qual apresentou drástica redução, enquanto a matriz proveniente de Chapecó (SC), mostrou aumento nessa característica após passagem pela estratificação. Porém, quanto ao tamanho embrionário, somente nas sementes da matriz 4 (Santa Maria - RS) foi encontrado embrião em estágio embrionário mais desenvolvido, sendo que nas sementes das demais matrizes de Santa Maria (RS) e da matriz de Chapecó nenhum dos embriões mostrou-se com dimensão de embriões nos estádios iniciais de desenvolvimento.

4.2 EXPERIMENTO 2 – PRÉ-CONDICIONAMENTO PARA SUPERAÇÃO DE DORMÊNCIA

A partir da caracterização inicial foi possível observar que dentro do lote o comprimento das sementes variou entre 2,79 e 4,38 mm, com média de 3,59 mm (Tabela 6). Com relação à largura das sementes, a variação foi de 1,34 a 3,20 mm, e

para espessura foi de 1,38 a 2,25 mm, sendo que as médias foram de 2,48 mm e 1,83 mm, respectivamente (Tabela 6). O comprimento médio apresentado pelas sementes nesse experimento ficou abaixo do encontrado em outros trabalhos, como 3,90 mm (CATAPAN, 1998) e 3,72 mm (MUTINELLI, 1988), sendo que isso se deve ao menor comprimento mínimo obtido no presente estudo, diferente dos 3,03 mm encontrados por Catapan (1998). Com relação a largura e espessura as dimensões são próximas às encontradas por Catapan (1998), sendo elas 2,34 mm para largura e 1,85 para espessura. Além disso, o lote apresentou peso de mil sementes de 7,21 g, ficando próximo de 7,1 g (KUNIYOSHI, 1983), porém menor do que os 8,93 g obtidos por Catapan (1998).

Tabela 6 – Estatísticas descritivas dos parâmetros para caracterização do lote de sementes provenientes de Chapecó - SC. Santa Maria, 2019.

	Média	Desvio Padrão	Máximo	Mínimo
Comprimento (mm)	3,59	0,32	4,38	2,79
Largura (mm)	2,48	0,26	3,20	1,34
Espessura (mm)	1,83	0,16	2,25	1,38
Peso de mil sementes (g)	7,21	0,26	8,17	6,73

Na Tabela 7, estão os contrastes e os coeficientes utilizados para comparação entre os tratamentos com e sem o processo de pré-condicionamento. Os tratamentos adicionais foram utilizados para que houvesse uma forma de comparar o desempenho das sementes sem nenhum tratamento nos diferentes períodos de estratificação com os demais tratamentos utilizados. Os três primeiros contrastes realizados compararam os tratamentos sem o pré-condicionamento e o último contraste comparou os tratamentos sem pré-condicionamento contra todos os outros que passaram por esse procedimento.

Para o primeiro contraste se observou significância para as variáveis primeira contagem, germinação e embriões visíveis após a estratificação e após a germinação. Nessas variáveis nota-se que as estimativas dos contrastes são todas negativas, indicando que houve superioridade das médias dos tratamentos que passaram pela estratificação.

O segundo contraste, o qual comparou o menor tempo de estratificação com os períodos mais longos, apresentou significância para as variáveis primeira contagem, germinação e embriões visíveis após a germinação. Novamente as

estimativas foram negativas, mostrando que um período mais prolongado de estratificação permite maior desenvolvimento desses embriões.

Tabela 7 – Coeficientes e estimativas do contraste ortogonal entre os tratamentos adicionais e o fatorial triplo completo. Santa Maria, 2019.

Tratamentos	Contrastes/Coefficientes			
	C1	C2	C3	C4
Sem PC, 0 dias	3	0	0	9
Sem PC, 65 dias	-1	2	0	9
Sem PC, 140 dias	-1	-1	1	9
Sem PC, 200 dias	-1	-1	-1	9
T5	0	0	0	-1
T6	0	0	0	-1
⋮	⋮	⋮	⋮	⋮
T39	0	0	0	-1
T40	0	0	0	-1
Estimativas				
Primeira Contagem	-0,83*	-0,88*	0,75 ^{ns}	0,08 ^{ns}
Germinação	-6,50*	-4,50*	0,00 ^{ns}	-0,33*
Viabilidade pós-estratificação	2,30 ^{ns}	-1,00 ^{ns}	6,00 ^{ns}	6,30*
Viabilidade pós-germinação	-7,66 ^{ns}	-1,00 ^{ns}	-2,00 ^{ns}	2,70 ^{ns}
Embriões visíveis pós-estratificação	-15,33*	1,00 ^{ns}	10,00 ^{ns}	1,64 ^{ns}
Embriões visíveis pós-germinação	-8,66*	-17,50*	-9,00 ^{ns}	-1,42 ^{ns}
Tamanho de embriões	-0,09 ^{ns}	0,08 ^{ns}	-0,15*	-0,05*

PC - pré-condicionamento

T5 a T40 – combinação dos fatores dias de pré-condicionamento, soluções e dias de estratificação.

^{ns} - Teste F não significativo a 0,05 de probabilidade

* - Teste F significativo a 0,05 de probabilidade

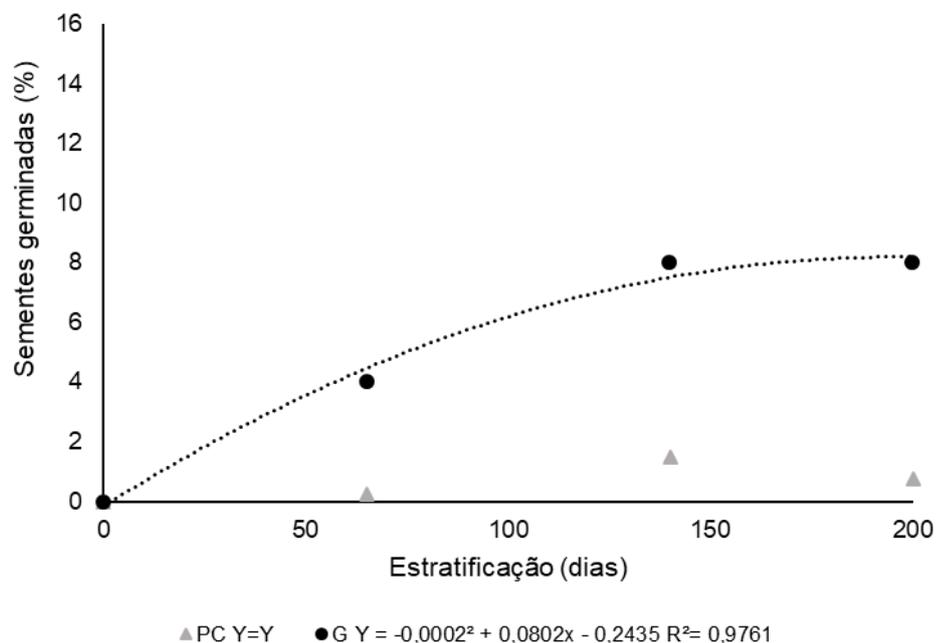
O terceiro contraste que comparou os períodos de 140 e de 200 dias de estratificação somente foi significativo para a variável tamanho de embrião, sendo que estimativa do contraste foi de -0,15, mostrando que o período de 200 dias de estratificação é o qual permite um aumento do tamanho de embriões.

Por fim, o último contraste comparou os quatro tratamentos adicionais contra todos os tratamentos do trifatorial completo. As variáveis nas quais o contraste foi significativo foram germinação, viabilidade pós-estratificação e o tamanho de embriões. Para a germinação primeira a estatística do teste foi de -0,33, indicando que os tratamentos adicionais, os quais não passaram por nenhum tratamento de pré-condicionamento, foram inferiores aos que passaram pelos pré-tratamentos. Já para a variável tamanho de embriões a estatística do teste foi de -0,05, mostrando superioridade das médias dos tratamentos que foram pré-condicionados. A variável

viabilidade das sementes teve a estatística do teste positiva (6,30), o que indica que as sementes sem o pré-tratamento tiveram maior porcentagem de sementes viáveis.

Com relação à primeira contagem e germinação, a Figura 7 ilustra o comportamento das sementes sem pré-condicionamento. Para primeira contagem, ocorreu um aumento de sementes germinadas no decorrer dos períodos de estratificação, indo para 0,3% após 65 dias de estratificação até 0,8% após 200 dias de estratificação, não sendo possível ajustar nenhuma equação para esse comportamento. Considerando a germinação, o incremento de sementes germinadas foi maior ao longo dos períodos de estratificação, sendo que após 65, 140 e 200 dias, a germinação foi de 4%, 8% e novamente 8%, respectivamente. Para a variável germinação foi ajustada uma equação de segundo grau, porém o ponto de máxima eficiência técnica ficou fora do intervalo de tempo estudado.

Figura 7 – Sementes germinadas na primeira contagem (PC %) e germinação (G%) de sementes de erva-mate sem estratificação, aos 65, 140 e 200 dias após estratificação. Santa Maria, 2019.

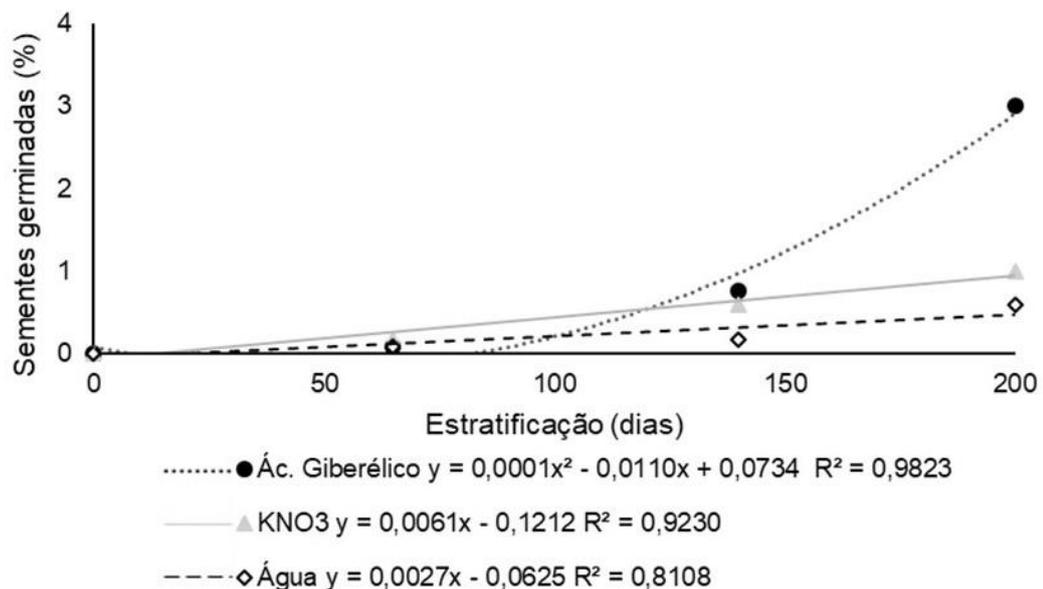


Fonte: ROSA, 2019.

Considerando somente os tratamentos que formaram o trifatorial completo, para a variável primeira contagem, houve interação entre as soluções utilizadas com o tempo de estratificação (Figura 8). As sementes que foram tratadas com ácido giberélico apresentaram médias superiores em relação ao KNO₃ e água, sendo que o

maior número de sementes germinadas aos 40 dias do teste de germinação foram após 200 dias de estratificação, sendo este de 2,9%. O ponto foi de mínimo para a primeira contagem de sementes tratadas com ácido giberélico ficando em 55 dias de estratificação. As sementes pré-condicionadas tanto por água, como por KNO_3 apresentaram um comportamento linear crescente até os 200 dias após estratificação (DAE).

Figura 8 – Sementes germinadas (%) de erva-mate submetidas ao pré-condicionamento em água, ácido giberélico 0,1% e KNO_3 0,02%, após 45 dias do teste de germinação. Santa Maria, 2019.



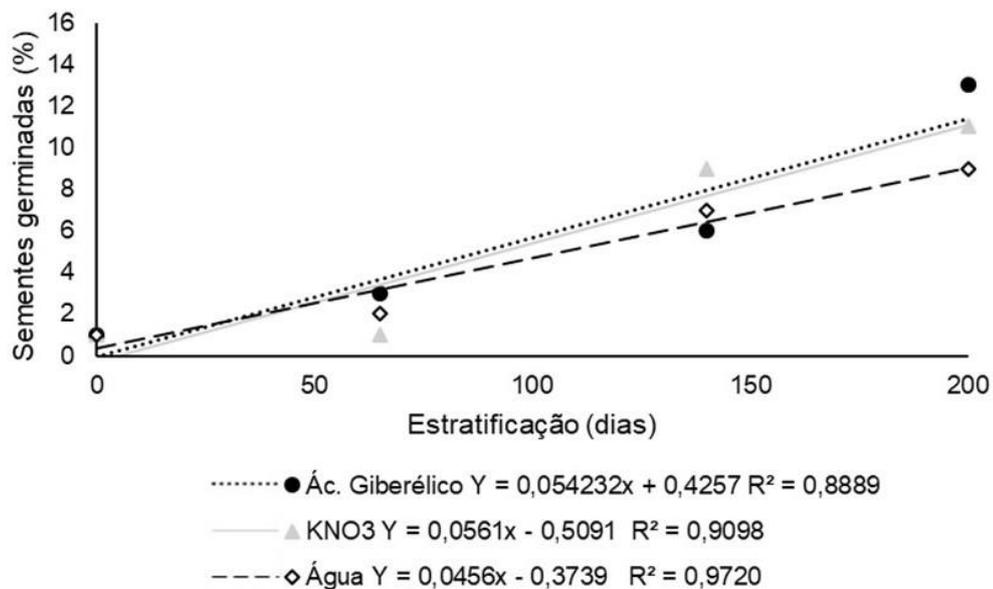
Fonte: ROSA, 2019.

A variável germinação seguiu o mesmo comportamento da primeira contagem, com a interação entre solução e períodos de estratificação significativa. Na Figura 9, nota-se novamente a superioridade do tratamento com ácido giberélico, que aos 200 DAE ocorreu a maior germinação, ficando em 13%. A água e o KNO_3 apresentaram comportamentos bastante semelhantes, ficando com a média de germinação bastante próxima em todos os períodos de estratificação estudados, ocorrendo maior germinação aos 200 DAE, sendo elas 9 e 11%, respectivamente. Para todas as soluções o comportamento foi linear.

Além disso, houve interação entre o fator tempo de pré-condicionamento e períodos de estratificação para a variável germinação (Figura 10). Nas sementes sem estratificação até aquelas com 140 dias nessa condição, houve superioridade de

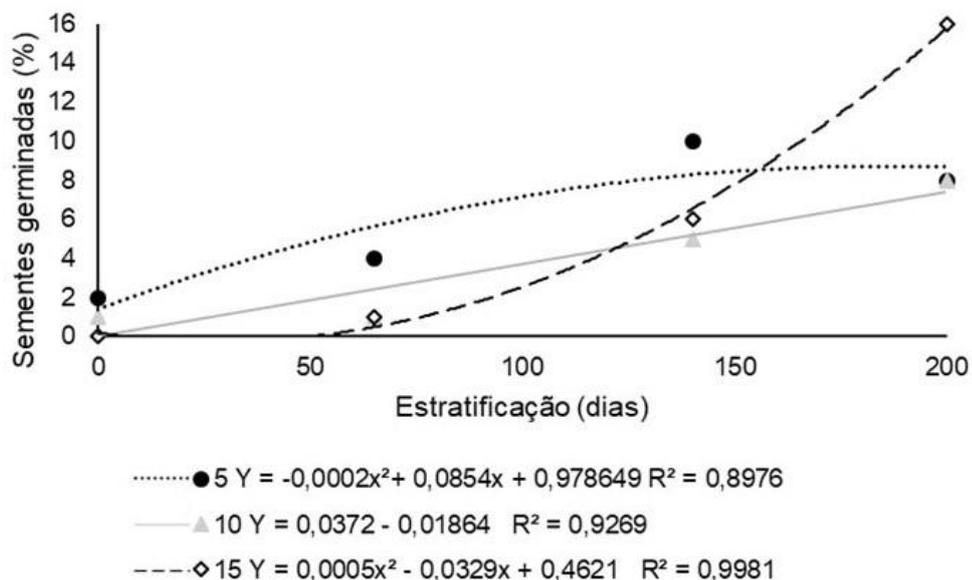
germinação nas sementes pré-condicionadas por 5 dias. Porém, a maior germinação foi de 16%, sendo obtida a partir do maior tempo de pré-condicionamento, ou seja, 15 dias, a qual ocorreu aos 200 dias de estratificação.

Figura 9 – Germinação (%) de sementes de erva-mate submetidas a pré-condicionamento em água, ácido giberélico 0,1% e KNO_3 0,02% que não passaram por estratificação (0 dias) e aos 65, 140 e 200 dias após estratificação. Santa Maria, 2019.



Fonte: ROSA, 2019.

Figura 10 – Germinação (%) de sementes de erva-mate submetidas a 0, 5, 10 e 15 dias de pré-condicionamento, que não passaram por estratificação (0 dias) e aos 65, 140 e 200 dias após estratificação. Santa Maria, 2019.



Fonte: ROSA, 2019.

Quanto a primeira contagem da germinação de sementes sem nenhum tipo de pré-tratamento anterior a estratificação, as porcentagens atingidas são menores do que aquelas encontrados por Catapan (1998), que para épocas semelhantes de estratificação, encontrou germinação de 40% para 134 dias de estratificação e 52% para 222 dias. Porém, resultados semelhantes foram encontrados por Cuquel, Carvalho e Chamma (1994), que aos seis meses de estratificação obtiveram o valor de 0,2% para primeira contagem, sendo abaixo do obtido neste trabalho. Os mesmos autores encontraram 7,5% de sementes germinadas, valor próximo aos 8% obtidos aos 200 dias de estratificação no presente trabalho. Os resultados de 0,2% de primeira contagem e germinação de 5,7%, obtidos aos 5 meses de estratificação, foram diferentes dos 8% encontrados aos 140 dias de estratificação utilizados neste experimento (CUQUEL, CARVALHO e CHAMMA, 1994).

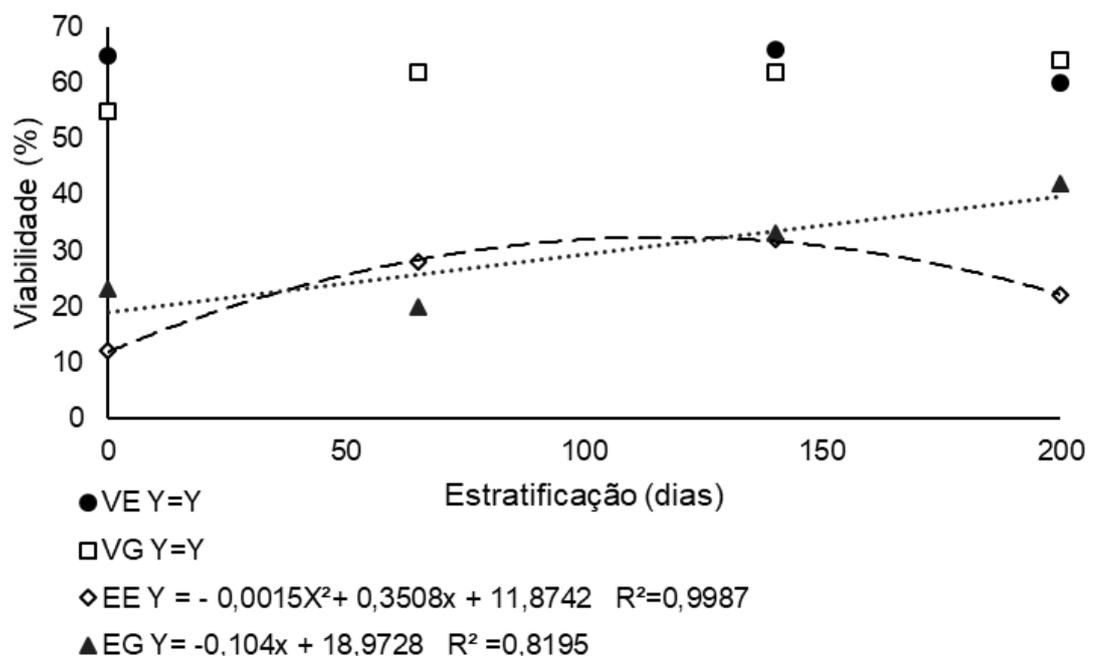
Nas sementes tratadas por pré-condicionamento antes da estratificação, a solução que melhor resultou na variável germinação foi a combinação entre 15 dias de pré-condicionamento, ácido giberélico e 200 dias de estratificação. Resultado semelhante ao da primeira contagem foi encontrado em sementes que foram umedecidas durante a estratificação com ácido giberélico, as quais atingiram 2,5%, sendo que essa mesma porcentagem foi mantida no resultado de germinação, (CUQUEL, CARVALHO e CHAMMA, 1994), diferindo dos 16% encontrados no presente estudo. Além disso, o efeito benéfico do ácido giberélico também foi observado em um experimento em que sementes da testemunha sem nenhuma aplicação não germinaram, para 26% de germinação utilizando a dose de 260 μM de ácido giberélico (SOUZA, 2018). Em sementes da espécie *Ilex maximowicziana* o ácido giberélico também foi eficiente para aumentar as taxas de germinação comparado à testemunha (CHIEN et al., 2011).

Em outras espécies como a pinha, a utilização de solução de 1000 mgL^{-1} de ácido giberélico elevou a taxa de germinação em relação à testemunha, de 7,59% para 50% com o uso de ácido giberélico (VASCONCELOS et al., 2015). Esse incremento na germinação pode ser explicado devido à presença de giberelinas no endosperma induzindo a produção de α -amilase, enzima que degrada o amido, fornecendo energia para o crescimento do embrião em algumas espécies, desta forma, o fornecimento externo de ácido giberélico possa permitir que a energia seja liberada mais rapidamente (JORDÁN e CASARETTO, 2006; TAIZ et al., 2017; VASCONCELOS et al., 2015). Além disso, as giberelinas são responsáveis pelo

afrouxamento das células onde ocorre a protusão da radícula (GROOT e KARSSSEN, 1987).

As variáveis viabilidade após estratificação (VE) e viabilidade das sementes que não germinaram até o final do teste de germinação (VG), não apresentaram diferenças estatísticas dentro dos períodos estudados (Figura 11). Observa-se que as sementes que não passaram pela estratificação apresentaram uma viabilidade superior comparada as sementes que passaram por este mesmo processo. Além disso, o número de embriões visíveis seguiu um comportamento quadrático, sendo que o ponto de máxima eficiência técnica para as sementes que somente passam pela estratificação, para esse experimento foi de 117 dias. Já para as sementes analisadas após o teste de germinação, o número de embriões visíveis foi crescente até os 200 dias de estratificação, começando em 23% chegando a 42% no último período de estratificação.

Figura 11 – Viabilidade de sementes e embriões visíveis após estratificação (VE, EE) e após 60 dias do teste de germinação (VG e EG) de sementes de erva-mate que não passaram por estratificação (0 dias) e aos 65, 140 e 200 dias após estratificação. Santa Maria, 2019.



Fonte: ROSA, 2019

A Tabela 8 mostra o resultado da variável viabilidade, indicando que houve interação entre o fator solução e dias de pré-condicionamento. A viabilidade de todos os tratamentos foi semelhantes entre si, sendo que somente aos 5 dias de pré-

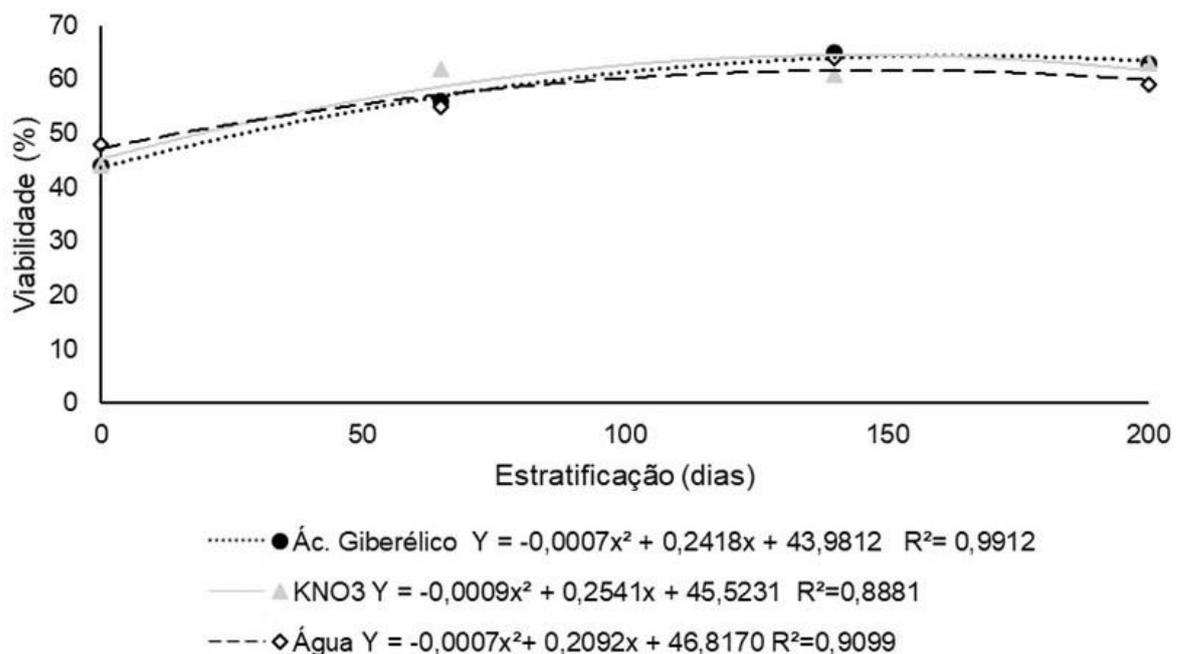
condicionamento foram observadas as menores médias, sendo elas de 51% para a solução água e 52% para a solução ácido giberélico. Além disso, para a variável viabilidade, também houve a interação entre os dias de pré-condicionamento e os de estratificação (Figura 12). Para as soluções água e ácido giberélico ocorreu um crescente de viabilidade até os 140 DAE com queda aos 200 dias. Para solução de KNO_3 essa queda ocorreu aos 140 dias de estratificação, voltando a subir aos 200 DAE.

Tabela 8 – Viabilidade (%) de sementes de erva-mate pré-condicionadas em água e soluções de ácido giberélico 0,1% e KNO_3 0,02%, durante 5, 10 e 15 dias. Santa Maria, 2019.

Viabilidade (%)			
Soluções	Dias		
	5	10	15
Água	51 B b*	58 A a	61 A a
KNO_3	60 A a	57 A a	56 A a
Ácido giberélico	52 A b	57 A a	61 A a
CV (%) 17,54			

*Letras maiúsculas correspondem a comparação entre os níveis de dias e letras minúsculas corresponde a comparação entre os níveis de soluções pelo teste de Scott-Knott em 0,05 de probabilidade de erro.

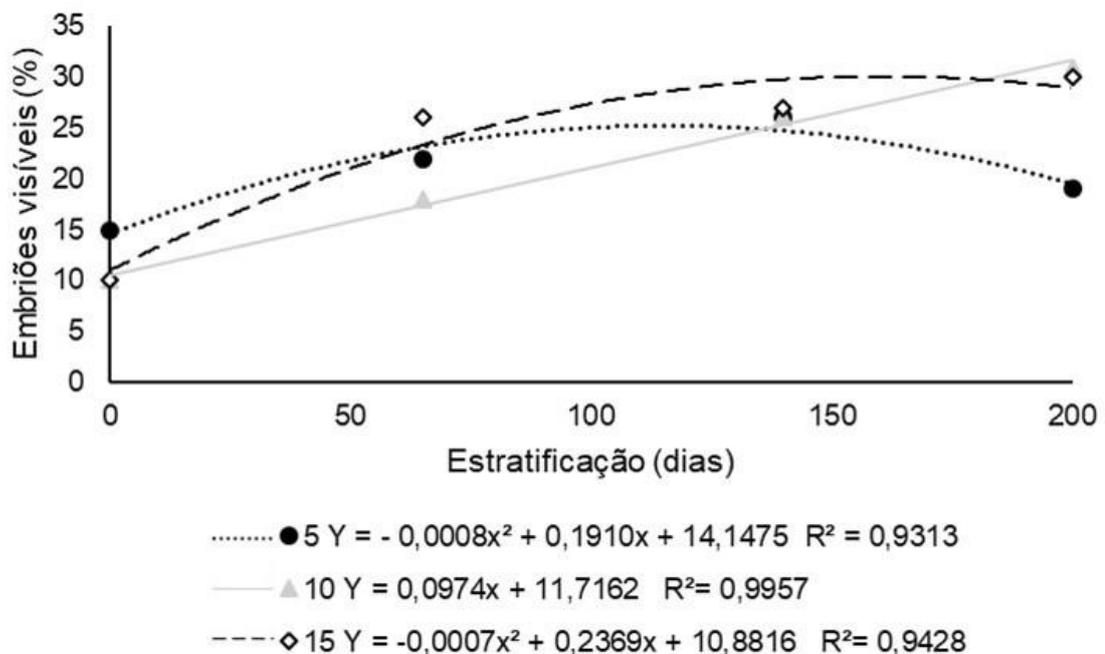
Figura 12 – Viabilidade de sementes submetidas à pré-condicionadas em água e soluções de ácido giberélico 0,1% e KNO_3 0,02% que não passaram por estratificação (0 dias) e aos 65, 140 e 200 dias após estratificação. Santa Maria, 2019.



Fonte: ROSA, 2019.

Na variável embriões visíveis, se verifica que houve interação entres os fatores dias de pré-condicionamento e dias de estratificação (Figura 13). A menor porcentagem de embriões visíveis (10%), ocorreu nas sementes com 15 dias de pré-condicionamento e sem estratificação, a qual aumentou de acordo com o passar dos dias de estratificação, atingindo 30% de embriões visíveis após 200 dias e o ponto de máxima foi atingido aos 169 dias. A maior porcentagem de embriões visíveis nas sementes sem estratificação (15%) foi obtida em sementes pré-condicionadas por 5 dias, a qual aumentou até os 140 DAE, porém houve uma redução aos 200 DAE, sendo que o ponto de máxima eficiência técnica foi aos 119 dias após estratificação.

Figura 13 – Embriões visíveis (%) de sementes de erva-mate submetidas a 5, 10 e 15 dias de pré-condicionamento, que não passaram por estratificação (0 dias) e aos 65, 140 e 200 dias após estratificação.. Santa Maria, 2019.



Fonte: ROSA, 2019

As sementes que foram utilizadas no teste de germinação e não germinaram foram submetidas ao teste de tetrazólio para que fosse esclarecido o motivo da não germinação. A partir disso, se verificou que a viabilidade das sementes após passarem por esse período apresentou interação significativa entre os fatores solução e dias de pré-condicionamento (Tabela 9) e dias de pré-condicionamento e estratificação (Figura 14).

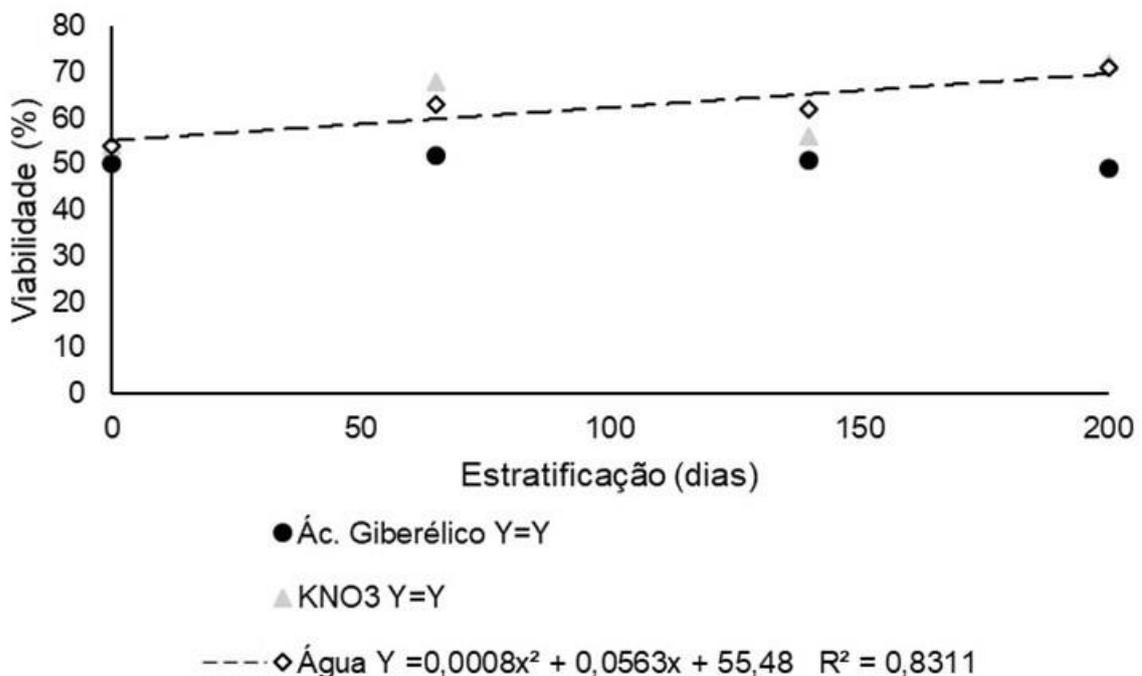
Na Tabela 9 pode-se observar que a menor porcentagem de sementes que permaneceram viáveis após o teste de germinação (46%) foram as pré-condicionadas por 15 dias em água. Na solução KNO_3 observou-se a maior viabilidade, sendo que essa ocorreu com 15 dias de pré-condicionamento (69%). A solução de ácido giberélico foi a que obteve maior viabilidade para os 5 dias de pré-condicionamento (63%), sendo que essa porcentagem aumentou após 10 dias (67%).

Tabela 9 – Viabilidade (%) de sementes não germinadas de erva-mate submetidas a pré-condicionamento por 5, 10 e 15 dias em água e soluções de ácido giberélico 0,1% e KNO_3 0,02% após 60 dias do teste de germinação. Santa Maria, 2019.

Viabilidade (%)			
Soluções	Dias		
	5	10	15
Água	52 A b*	50 A b	46 A c
KNO_3	57 B b	61 B a	69 A a
Ácido giberélico	63 A a	67 A a	58 A b
			CV (%) 18,16

*Letras maiúsculas correspondem a comparação entre os níveis de dias e letras minúsculas corresponde a comparação entre os níveis de soluções pelo teste de Scott-Knott em 0,05 de probabilidade de erro.

Figura 14 – Viabilidade (%) de sementes de erva-mate após 60 dias de germinação submetidas a pré-condicionamento em água, e soluções de ácido giberélico 0,1% e KNO_3 , que não passaram por estratificação (0 dias) e aos 65, 140 e 200 dias após estratificação. Santa Maria, 2019.



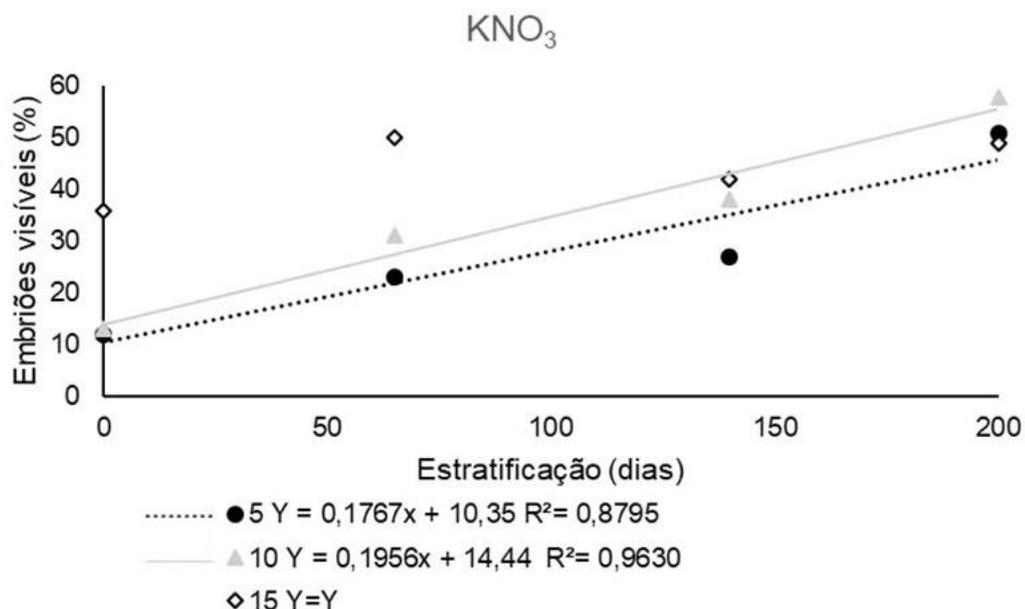
Fonte: ROSA, 2019

A interação entre soluções e períodos de estratificação também foi significativa para a variável viabilidade após germinação (Figura 14). Para o ácido giberélico não houve diferença significativa nos períodos de estratificação estudados, sendo que as porcentagens de viabilidade foram 50%, 52%, 51% e 49%. Na solução água o comportamento foi semelhante ao do KNO_3 , sendo que aos 200 DAE foi atingido os mesmos 71% de viabilidade que na solução de KNO_3 .

Além da viabilidade das sementes após o teste de germinação, também foi contabilizada a porcentagem de embriões visíveis, variável essa que apresentou a interação tripla significativa. A maior porcentagem (58%) foi obtida nas sementes pré-condicionadas em KNO_3 , por 10 dias e mantidas na estratificação até 200 dias (Figura 15). Já o menor resultado foi o encontrado nas sementes que não passaram pela estratificação e permaneceram por 5 dias, tanto em KNO_3 (Figura 15) quanto em água (Figura 16), atingindo apenas 12% de embriões visíveis.

Conforme a Figura 15, observa-se que não houve diferença estatística para 15 dias de pré-condicionamento em KNO_3 , não sendo possível ajustar uma equação para esse período. Já nos outros dois períodos, a reta ajustada foi linear, indicando que seria necessário um maior tempo de estratificação para se verificar uma queda no número de embriões, pois ambas formaram retas crescentes.

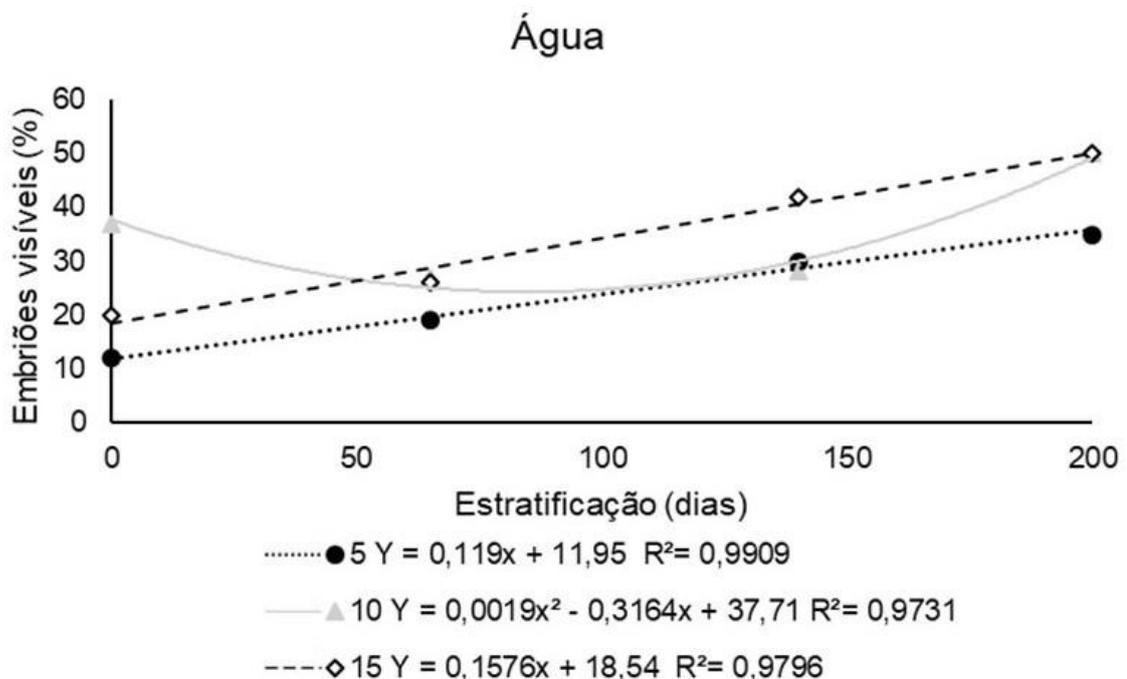
Figura 15 – Embriões visíveis (%) de sementes de erva-mate pré-condicionadas em solução de KNO_3 0,02%, por 5, 10 e 15 dias, que não passaram por estratificação (0 dias) e aos 65, 140 e 200 dias após estratificação. Santa Maria, 2019



Fonte: ROSA, 2019.

O período com menor porcentagem de embriões visíveis em água (Figura 16) foi o tempo de pré-condicionamento de 5 dias, nas sementes que não passaram pela estratificação, chegando a 12% somente. Para os 10 dias de pré-condicionamento, foi ajustada uma equação quadrática, sendo que foi encontrado o ponto de mínima eficiência técnica aos 87 dias de estratificação (Figura 16). As maiores porcentagens de embriões visíveis (50%) ocorreram ambas aos 200 dias de estratificação, sendo estes os tratamentos com 10 e 15 dias de pré-condicionamento em água.

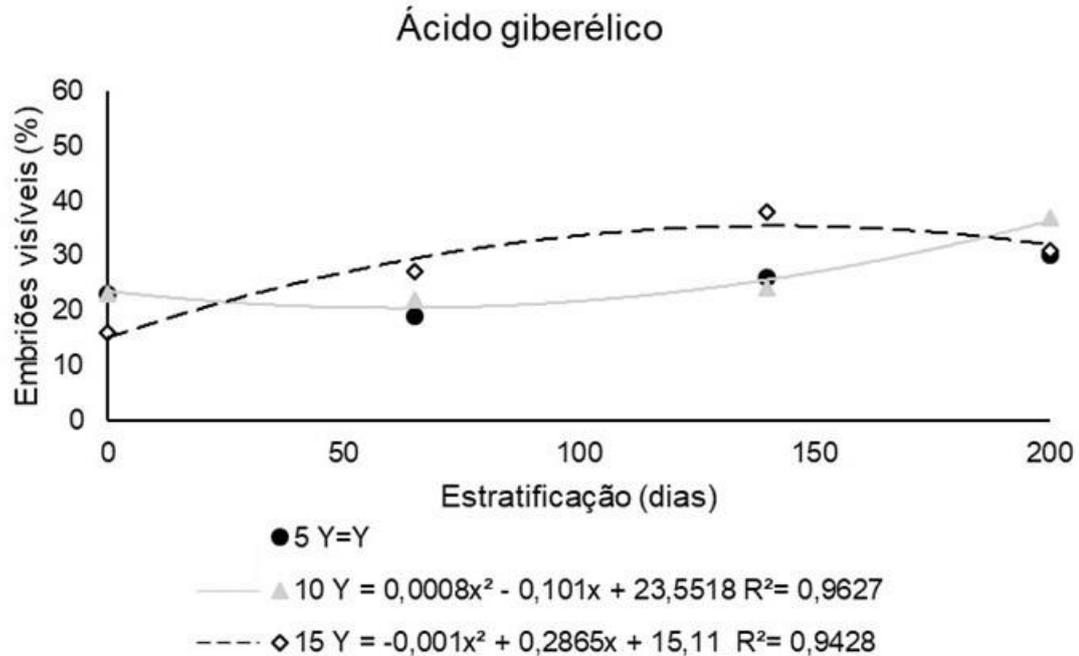
Figura 16 – Embriões visíveis (%) de sementes de erva-mate pré-condicionadas em água, durante 5, 10 e 15, que não passaram por estratificação (0 dias) e aos 65, 140 e 200 dias após estratificação, após 60 dias do teste de germinação. Santa Maria, 2019.



Fonte: ROSA, 2019

A melhor combinação para a solução de ácido giberélico foi a permanência das sementes por 15 dias nessa solução e por 140 dias na estratificação, sendo atingidos 38% de embriões visíveis (Figura 17). Para os cinco dias de pré-condicionamento, as médias não foram estatisticamente diferentes, portanto nenhuma equação foi ajustada. Nos dez e quinze dias de pré-condicionamento foi observado um comportamento quadrático. Nas sementes pré-condicionadas por dez dias, a menor porcentagem de embriões visíveis foi observada aos 63 dias de estratificação, enquanto que para as sementes mantidas por 15 dias no pré-condicionamento a maior porcentagem de embriões visíveis ocorreu aos 143 dias de estratificação.

Figura 17 – Embriões visíveis (%) de sementes de erva-mate pré-condicionadas em solução de ácido giberélico 0,1% durante 5, 10 e 15, que não passaram por estratificação (0 dias) e aos 65, 140 e 200 dias após estratificação, após 60 dias do teste de germinação. Santa Maria, 2019.



Fonte: ROSA, 2019.

Analisando os dados de viabilidade das sementes é possível notar que não foi encontrada uma relação entre a porcentagem de sementes viáveis e a porcentagem de germinação, para todas as combinações de fatores. O oposto foi encontrado por Catapan (1998), a qual observou valores próximos de porcentagem de viabilidade e germinação, como por exemplo, 41,6% de viabilidade e 48,2% de germinação após 222 dias de estratificação. O resultado da porcentagem de embriões visíveis das sementes após estratificação também foi maior que a porcentagem de germinação obtida. Essa discrepância pode ocorrer não só pela condição interna da semente, mas também de acordo como essa se relaciona com as condições ambientais, além de que nas sementes que apresentam dormência o resultado do teste de tetrazólio pode ser superior ao do teste de germinação, além da escolha do critério de avaliação para se considerar que a semente germinou (CATAPAN, 1998; LEADEM, 1984).

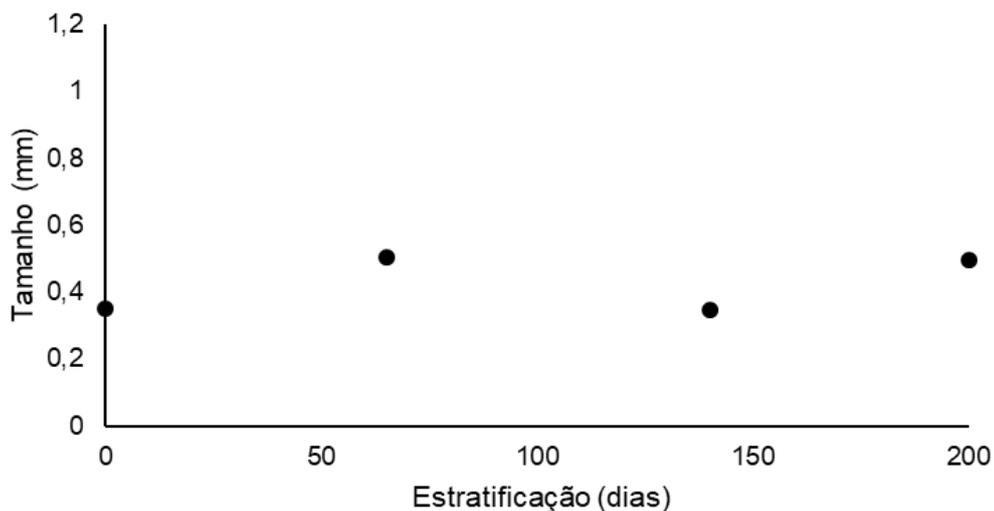
As sementes que não passaram pelo processo de pré-condicionamento e nem pela estratificação, apresentaram maior viabilidade, sendo essa responsável pela estatística positiva do quarto contraste para essa variável. Além disso, os baixos valores de viabilidade logo após o pré-condicionamento podem ser explicados devido a presença de uma outra substância como o KNO_3 e o ácido giberélico, que altera o

potencial osmótico da solução, o que pode permitir que essas sementes absorvam água mais rápido e assim ocorra a desorganização das membranas, promovendo uma queda de viabilidade (PEREZ et al., 2005). No decorrer das épocas de estratificação, pode ter ocorrido a reorganização dessas membranas, promovendo uma maior viabilidade.

As sementes que foram submetidas ao teste de tetrazólio após o final do teste de germinação apresentaram viabilidade superior a 45%, para todas as épocas de estratificação, tanto as que passaram pelo pré-condicionamento, quanto aquelas que só passaram pela estratificação. Comparando a mesma avaliação com os resultados de Catapan (1998), as sementes que passaram por estratificação, mas por nenhum pré-tratamento, apresentaram menos de 10% de viabilidade. Além disso, nota-se que a porcentagem de embriões visíveis após o teste de germinação foi maior do que aquele verificado nas sementes logo após a estratificação na época de 200 dias.

Porém, a avaliação somente da quantidade de embriões visíveis não faz sentido sem o tamanho dos mesmos, além da sua classificação. O tamanho médio de embriões de sementes sem pré-condicionamento em diferentes tempos de estratificação (Figura 18) não foi encontrada nenhuma equação que explicasse o seu comportamento, sendo 0,35 mm o menor valor obtido, o qual ocorreu nas sementes sem estratificação e aos 140 dias após estratificação (DAE). Já o valor máximo foi de 0,50 mm, ocorrendo aos 65 e 200 DAE.

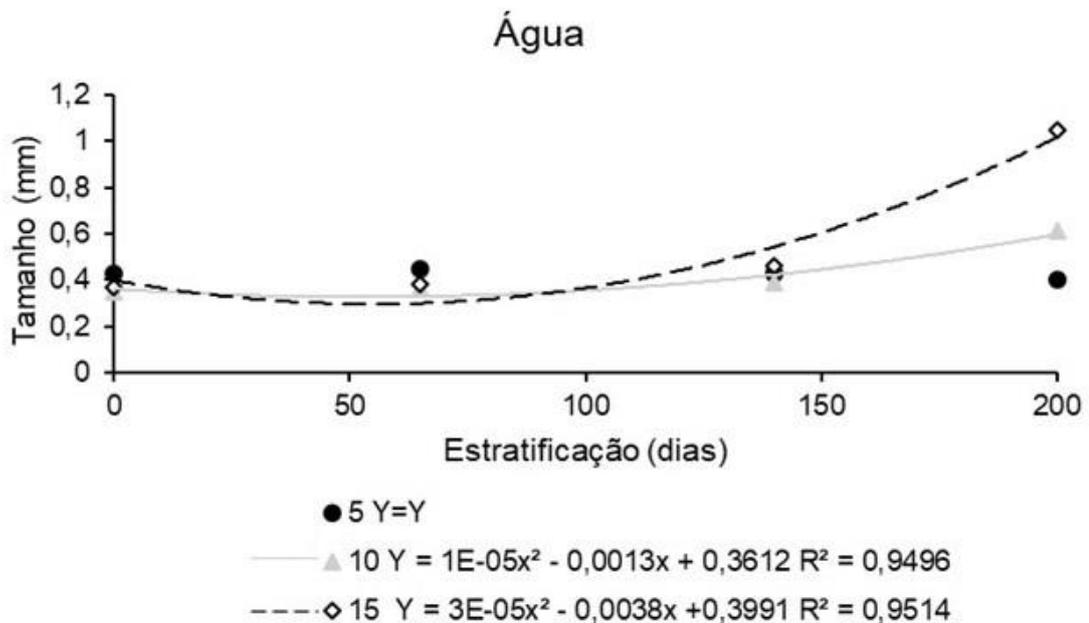
Figura 18 – Tamanho de embrião (mm) em sementes de erva-mate sem pré-condicionamento, que não passaram por estratificação (0 dias) e aos 65, 140 e 200 dias após estratificação. Santa Maria, 2019.



Fonte: ROSA, 2019.

O tamanho dos embriões das sementes que passaram pelo teste de germinação apresentou interação tripla significativa. As sementes pré-condicionadas em água (Figura 19) tiveram um desenvolvimento embrionário semelhante no período de 5 dias para todos os tempos de estratificação, não sendo observado diferença estatística entre eles. Em compensação, nos outros dois tempos de pré-condicionamento, o tamanho embrionário apresentou um aumento expressivo após 200 dias de estratificação, sendo que 1,05 mm foi o maior tamanho encontrado no tempo de 15 dias de pré-condicionamento.

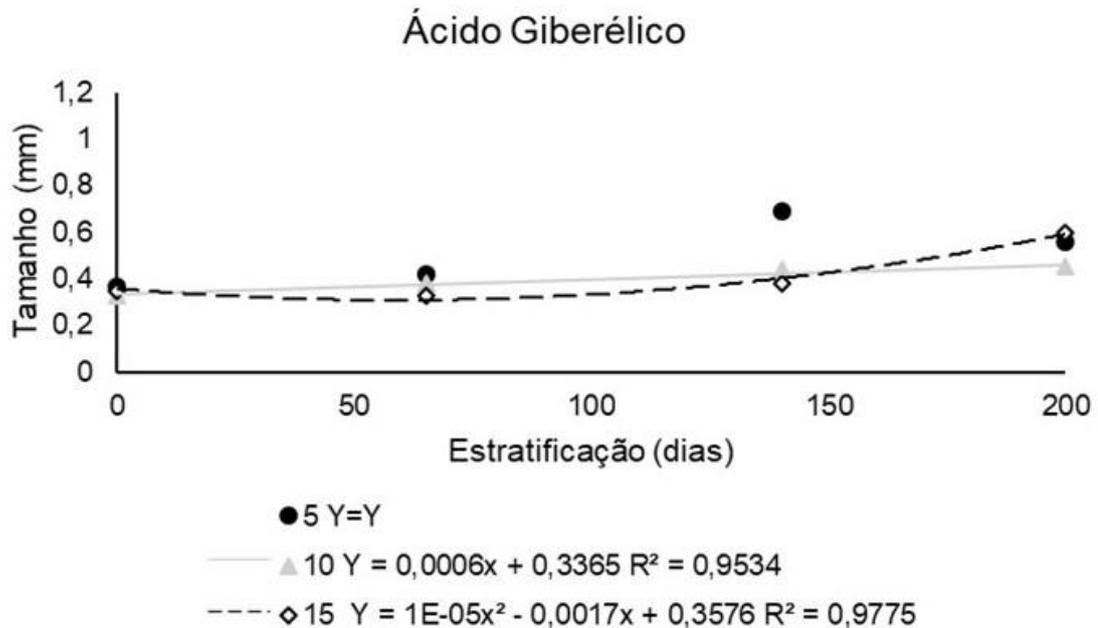
Figura 19 – Tamanho (mm) de embriões de sementes de erva-mate pré-condicionadas em água durante 5, 10 e 15, que não passaram por estratificação (0 dias) e aos 65, 140 e 200 dias após estratificação, após 60 dias do teste de germinação. Santa Maria, 2019.



Fonte: ROSA, 2019.

A solução de ácido giberélico foi a que obteve menor tamanho médio de embriões daquelas sementes que não germinaram durante o teste (Figura 20), sendo o limite máximo de 0,69 mm atingidos com 5 dias de pré-condicionamento e 140 dias de estratificação. Nesse mesmo período de estratificação, considerando somente o efeito de solução, a germinação foi menor em relação às outras soluções. Para as sementes pré-condicionadas por 10 dias as médias não diferiram entre si estatisticamente. O tamanho de 0,60 mm ocorreu aos 200 DAE e com 15 dias de pré-condicionamento.

Figura 20 – Tamanho de embrião de sementes de erva-mate pré-condicionadas em solução de ácido giberélico 0,1% durante 5, 10 e 15, que não passaram por estratificação (0 dias) e aos 65, 140 e 200 dias após estratificação, após 60 dias do teste de germinação. Santa Maria, 2019.



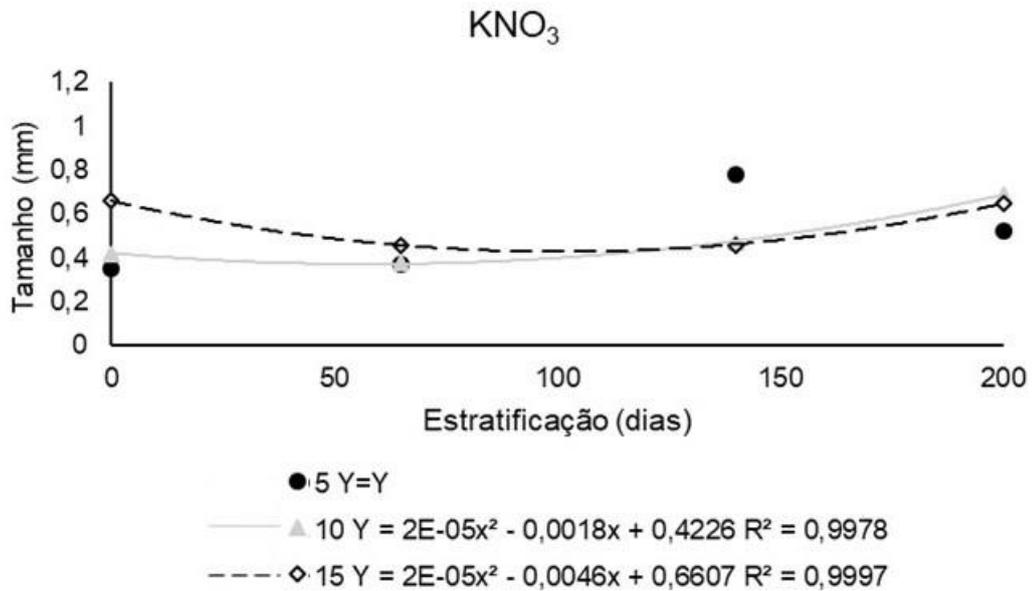
Fonte: ROSA, 2019

Na solução de KNO_3 (Figura 21) os maiores tamanhos de embrião ocorreram quando as sementes permaneceram por 10 e 15 dias no pré-condicionamento, porém em diferentes períodos de estratificação, sendo que o tamanho de 0,69 mm ocorreu aos 200 DAE com 10 dias de pré-condicionamento. Tamanho semelhante foi encontrado em sementes pré-condicionadas por quinze dias, tanto naquelas que não passaram pela estratificação (0,66 mm) quanto as que permaneceram por 200 dias na estratificação (0,65 mm).

Além disso, os embriões de cada combinação de fatores foram classificados conforme o tamanho. Analisando a Figura 22, nota-se que a maior porcentagem de embriões das sementes sem estratificação pertence a categoria de pós-coração, não sendo encontrado nenhum embrião com maior desenvolvimento que esse. Embriões maduros são encontrados a partir de 65 dias de estratificação, porém a maior frequência é observada nas sementes que permaneceram por 200 dias de estratificação. Para os 140 DAE, não são encontrados embriões maduros, pois foi nessa época que ocorreu o aumento da taxa de germinação dessas sementes. A mesma taxa de germinação é observada em aos 200 dias de estratificação, mas este

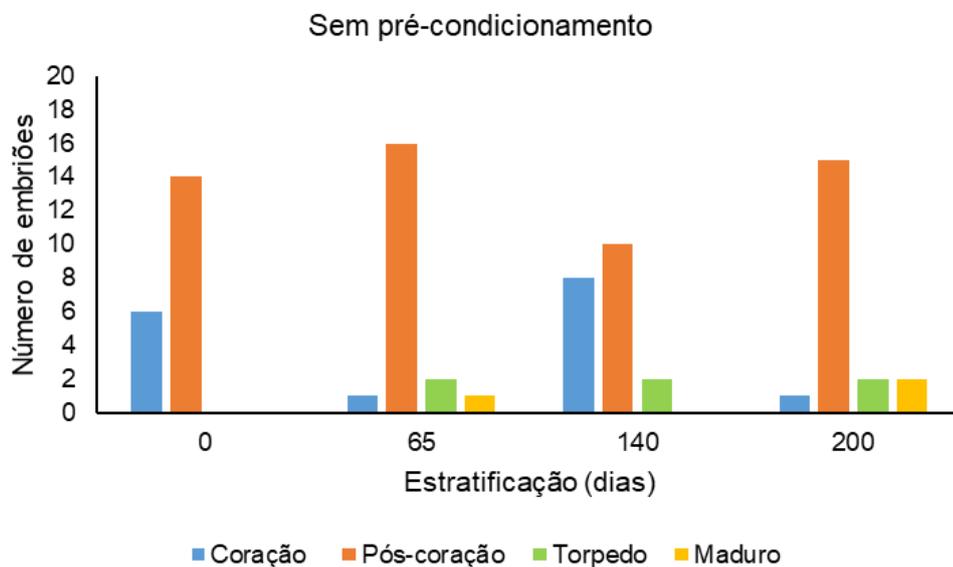
ainda possui sementes com embrião maduro aptos a germinarem em menor período de tempo.

Figura 21 – Tamanho de embrião de sementes de erva-mate pré-condicionadas em solução de KNO_3 0,02% durante 5, 10 e 15, que não passaram por estratificação (0 dias) e aos 65, 140 e 200 dias após estratificação, após 60 dias do teste de germinação. Santa Maria, 2019.



Fonte: ROSA, 2019.

Figura 22 – Frequência de formas de embriões de sementes de erva-mate, que não passaram por estratificação (0 dias) e aos 65, 140 e 200 dias após estratificação. Santa Maria, 2019.



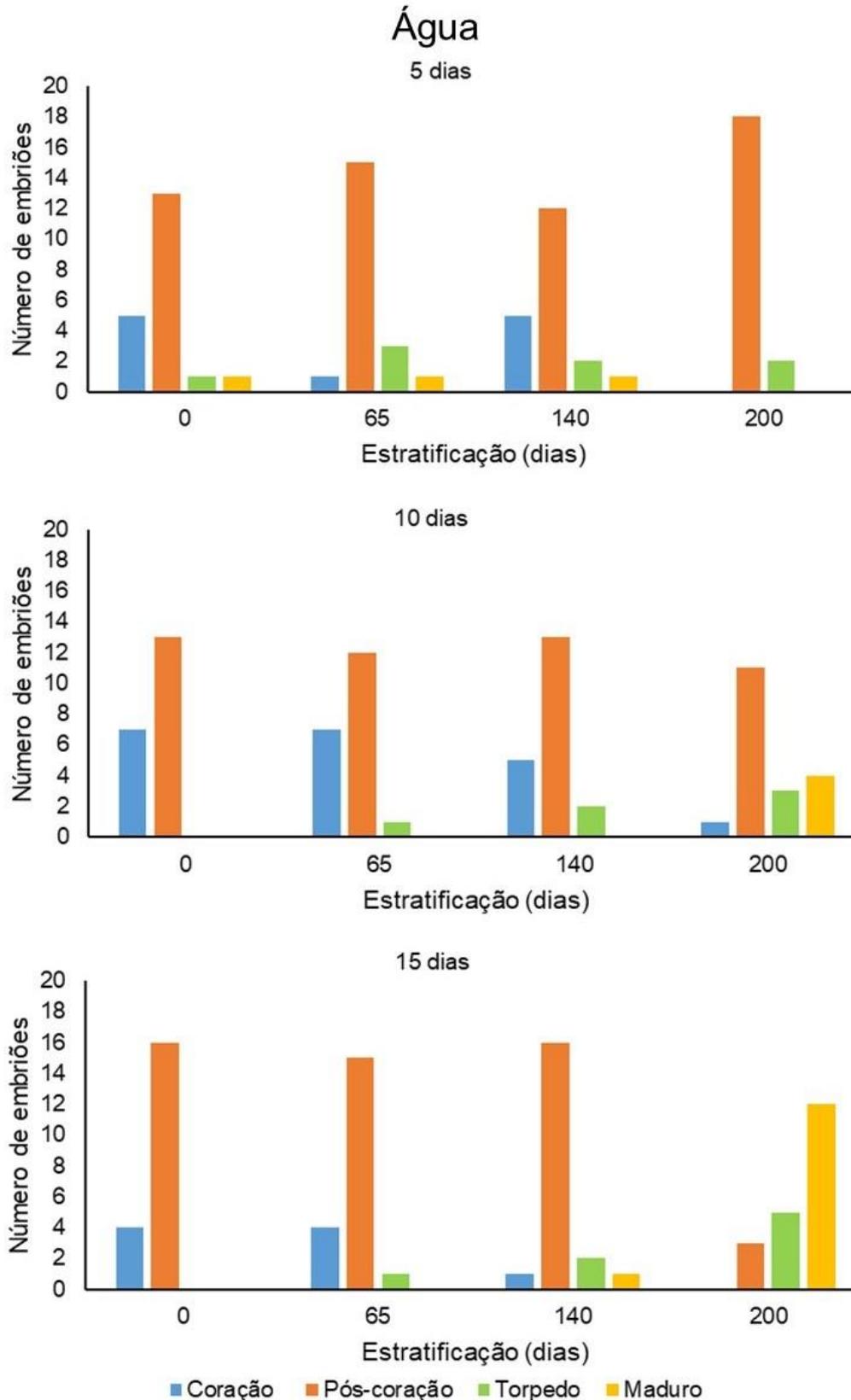
Fonte: ROSA, 2019

Na Figura 23 pode-se observar que, para todos os tempos de pré-condicionamento em água, a maior quantidade de embriões pertencia a classe de pós-coração e que a quantidade de embriões nos estágios menos desenvolvidos decresceu com o passar dos períodos de estratificação. Os embriões maduros foram observados somente até os 140 DAE nas sementes pré-condicionadas por 5 dias, enquanto para os outros dois períodos, 10 e 15 dias, só foi observada ocorrência desse tamanho de embrião após 200 dias de estratificação.

Na Figura 24 está a distribuição dos embriões excisados das sementes tratadas com KNO_3 durante o pré-condicionamento. As sementes mantidas por 5 dias nessa condição apresentaram a maior quantidade de embriões maduros na terceira época de estratificação, ou seja, 140 dias. Aos 200 dias de estratificação a quantidade de embriões maduros diminuiu, sendo que aumentou a quantidade de embriões na fase de pós-coração. Para os 10 dias de pré-condicionamento, também não foram observados embriões maduros até os 140 dias de estratificação. Com 15 dias de pré-condicionamento, embriões maduros estavam presentes em sementes sem estratificação, o que não se manteve para os períodos de 65 e 140 dias, sendo que os embriões nessa forma somente voltaram a aparecer aos 200 dias de estratificação. Além disso, em todos os períodos de pré-condicionamento, aos 200 dias não foram observados embriões em fase de coração.

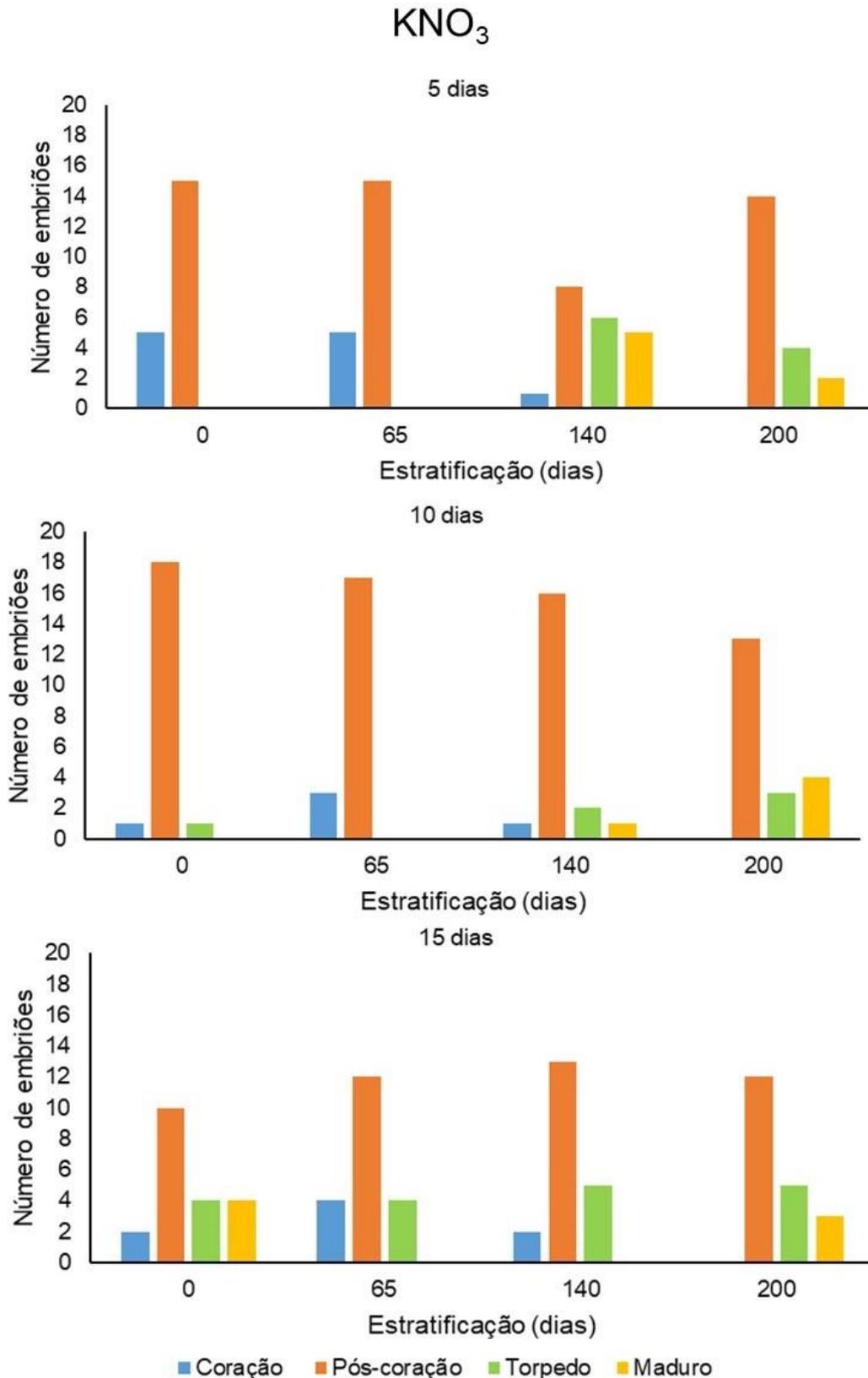
As sementes que foram pré-condicionadas com ácido giberélico por 5 dias (Figura 25), apresentaram embriões maduros a partir de 65 dias de estratificação, sendo que o maior número desses embriões foi atingido aos 140 DAE, voltando a diminuir aos 200 DAE. No segundo tempo de pré-condicionamento, embriões maduros foram observados somente aos 140 e 200 dias de estratificação, e ambas as épocas apresentando grande quantidade de embriões no formato de pós-coração. Aos 15 dias de pré-condicionamento foi observado que o número de embriões na fase torpedo teve um aumento significativo aos 200 dias, além da quantidade de embriões na fase de maduro também aumentar. Apesar disso, ainda foi observada a presença de embriões na fase de coração em todas as épocas de estratificação.

Figura 23 – Frequência de tamanho de embriões de sementes de erva-mate pré-condicionadas em água, durante 5, 10 e 15, que não passaram por estratificação (0 dias) e aos 65, 140 e 200 dias após estratificação, após 60 dias do teste de germinação. Santa Maria, 2019.



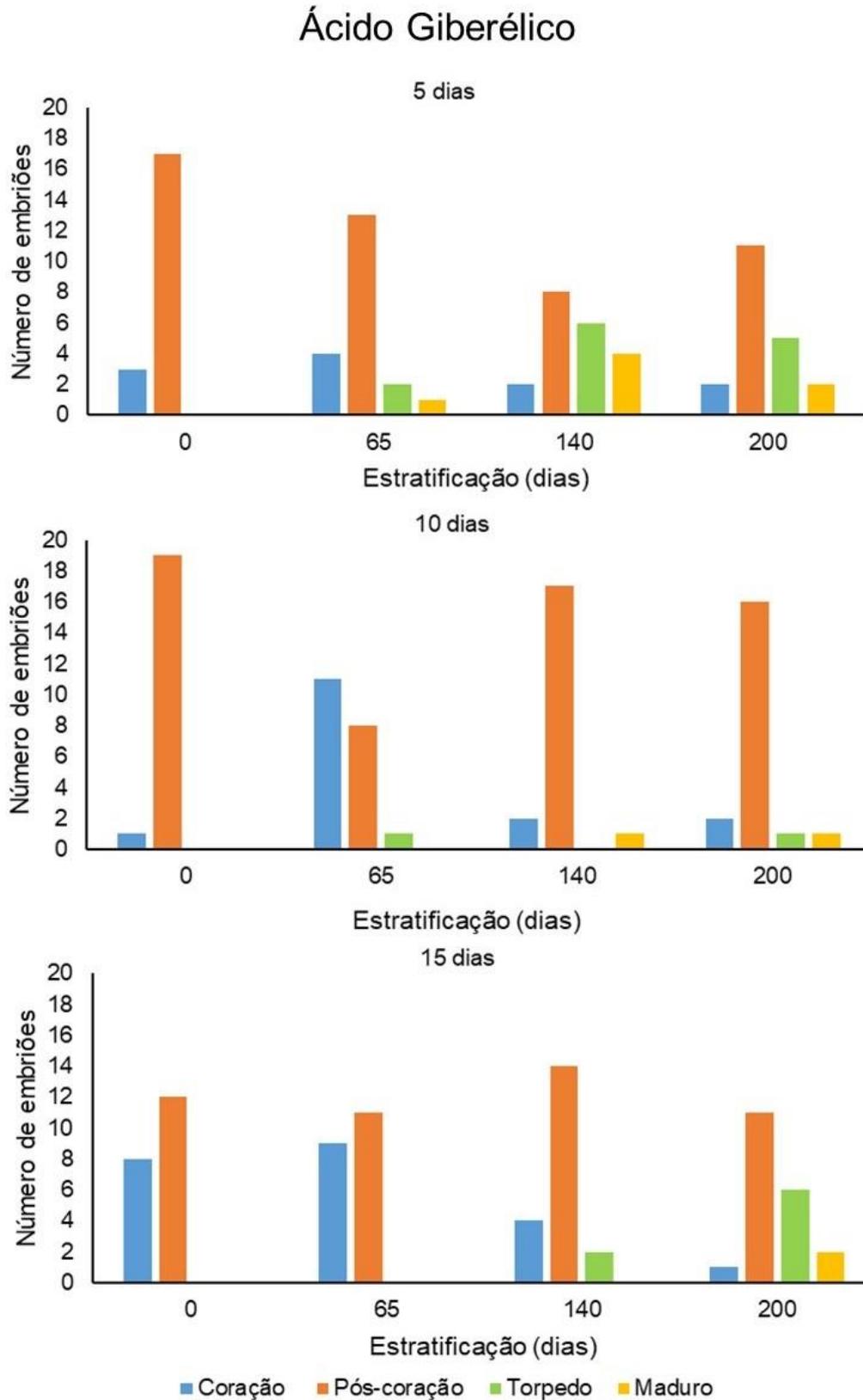
Fonte: ROSA, 2019.

Figura 24 – Frequência de tamanho de embriões de sementes de erva-mate pré-condicionadas em solução de KNO_3 0,02% durante 5, 10 e 15, que não passaram por estratificação (0 dias) e aos 65, 140 e 200 dias após estratificação, após 60 dias do teste de germinação. Santa Maria, 2019.



Fonte: ROSA, 2019.

Figura 25 – Frequência de classes de embriões de sementes de erva-mate pré-condicionadas em solução de ácido giberélico 0,1% durante 5, 10 e 15, que não passaram por estratificação (0 dias) e aos 65, 140 e 200 dias após estratificação, após 60 dias do teste de germinação. Santa Maria, 2019.



Fonte: ROSA, 2019.

Apesar do maior tamanho ser observado para água, essa foi a solução que obteve menor germinação. Os embriões tratados com ácido giberélico foram menores, porém foi onde ocorreu maior germinação. Também, o número de embriões classificados como maduros foi maior para a água e KNO_3 do que para o ácido giberélico. A partir disso, entende-se que as sementes tratadas com ácido giberélico puderam germinar mais rapidamente do que as demais (VASCONCELOS et al., 2015), esgotando os embriões maduros, assim eles não ficaram disponíveis para medição. Para as sementes tratadas com água e KNO_3 , observou-se que os embriões atingiram o tamanho maduro, mas o tempo do teste de germinação não foi suficiente para que ocorresse a protusão da radícula ou da parte aérea.

A partir dos dados analisados, se observou que a estratificação tem papel fundamental para que ocorra o desenvolvimento embrionário das sementes sem nenhum tipo de pré-tratamento, pois não foi observada germinação nas sementes que não passaram por esse processo. Essa condição é explicada devido aos frutos maduros de erva-mate apresentarem embriões em estágios iniciais de desenvolvimento, sendo que pelo menos 90% deles são imaturos ao se desprenderem da planta mãe (HEUSER, 1990; MEDRADO e MOSELE, 2004). Assim, as sementes necessitam desse período de estratificação, pois este permite que elas continuem o processo de desenvolvimento embrionário, já que durante esse tempo ocorre a manutenção da umidade das sementes, bem como uma diminuição do O_2 e aumento do CO_2 , o que diminui a degradação das sementes (DANIEL, 2009; CUQUEL, CARVALHO e CHAMMA, 1994).

Também, durante a estratificação ocorre o aumento de células do eixo embrionário e mudança no balanço das substâncias promotoras e inibidoras da germinação, sendo que diminui a quantidade de ácido abscísico e aumenta os níveis de giberelinas nas sementes, possibilitando assim a germinação (HEUSER, 1990). Além disso, sementes de erva-mate apresentam compostos fenólicos em alta quantidade em sementes recém colhidas, sendo eles considerados fitotóxicos, podendo causar problemas nas células como alteração dos seus balanços hormonais (AUMONDE, 2013). Durante o processo de estratificação, esses compostos fenólicos são degradados, não sendo mais encontrados após o processo (MIRESKI et al., 2018).

5 CONCLUSÕES

As sementes provenientes das matrizes de Santa Maria - RS, não apresentaram viabilidade e porcentagem de embriões visíveis superior às sementes da matriz de Chapecó-SC. Por outro lado, as sementes de Chapecó-SC não apresentaram embriões com dimensão e forma mais desenvolvida do que aquela apresentada pela matriz 4 (Santa Maria - RS), a qual foi a única das matrizes estudadas que apresentou embrião em forma de torpedo. Todavia, essa mesma matriz foi a que mais perdeu viabilidade após a estratificação.

O pré-condicionamento das sementes em ácido giberélico 0,1% por 15 dias foi eficiente para aumentar a germinação das sementes de erva-mate após 200 dias de estratificação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBERTO, P. S. et al. Methods to overcome of the dormancy in murici (*Byrsonima verbascifolia* Rich) seeds. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n. 3, p. 1015–1020, 2011.
- ANDREOLI, C.; KHAN, A. A. Matriconditioning integrated with gibberellic acid to hasten seed germination and improve stand establishment of pepper and tomato. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, n. 10, p. 1953-1958, 1999.
- ANTUNES, A.; CARDOSO, D. S.; PAULA, C. S. EFEITO DA *Ilex paraguariensis* A. St. Hil. (ERVA MATE) NO CONTROLE DA OBESIDADE. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v.18, n.1, p. 14-26, 2017
- ASSEMBLEIA LEGISLATIVA DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL. **Lei Nº 7.439**. Rio Grande do Sul, 1980. Disponível em: < <http://www.al.rs.gov.br/site/> >. Acesso em: 03 fev. de 2020.
- AUMONDE, T. Z. et al. Respostas fisiológicas de sementes e plântulas de alface submetidas ao extrato de *Philodendron bipinnatifidum*. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 6 SUPPL. 1, p. 3181–3192, 2013.
- BASKIN, J. M.; BASKIN, C. C. **A classification system for seed dormancy**. Seed science research, v. 14, n. 1, p. 1-16, 2004.
- BISOGNIN, M. B. et al. Desempenho fisiológico de sementes olerícolas em diferentes tempos de hidrocondicionamento. **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v. 39, n. 3, p. 349-359, mar. 2016. Disponível em: <http://www.scielo.mec.pt/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0871-018X2016000300003>. Acesso em: 08 maio 2018.
- BRACCINI, A. DE L. E. Banco de Sementes e Mecanismos de Dormência em Sementes de Plantas Daninhas. **Biologia e Manejo de Plantas Daninhas**, p. 37–66, 2011.
- BRACESCO, N. et al. Recent advances on *Ilex paraguariensis* research: Minireview. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 136, p. 378-384, 2011. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/45090724_Recent_advances_on_Ilex_paraguariensis_research_Minireview>. Acesso em: 10 maio 2018.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 2009. 399 p.
- CANTERI, M. G., et al. SASM - Agri : Sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas pelos métodos Scoft - Knott, Tukey e Duncan. **Revista Brasileira de Agrocomputação**, v.1, n.2, p.18-24, 2001.
- CARVALHO, P. E. R. **Espécies Arbóreas Brasileiras**. 1.ed. Colombo: Embrapa Florestas, 2003. 1040 p.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 5. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2012. 590p.

CATAPAN, M. I. S. **Influência da temperatura, substrato e luz na germinação de sementes de *Ilex paraguariensis* St. Hil.** 1998, 108 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1998.

CHIEN, C. TE et al. Nondeep simple morphophysiological dormancy in seeds of *Ilex maximowicziana* from northern (subtropical) and southern (tropical) Taiwan. **Ecological Research**, v. 26, n. 1, p. 163–171, 2011.

CUNHA, G. G.; FERREIRA, A. G. Viabilidade das sementes de erva-mate. **Ciência e Cultura**, Porto Alegre, v. 10, n. 39, p. 974- 976, 1987.

CUQUEL, F. L.; CARVALHO, M. L. M.; CHAMMA, H. M. C. P. Avaliação de métodos de estratificação para a quebra de dormência de sementes de erva-mate. **Scientia Agricola**. Piracicaba, n. 51, p. 415-421, 1994. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-90161994000300006&script=sci_abstract&lng=pt>. Acesso em: 07 maio 2018.

DALLABRIDA, V. R. et al. Com erva-mate não se faz só chimarrão! Situação atual e perspectivas de inovação no setor ervateiro do planalto Norte catarinense. **Desenvolvimento Regional em debate**, v. 6, n. 2, p. 247-273, 2016. Disponível em: <<http://www.periodicos.unc.br/index.php/drd/article/view/1225/632>>. Acesso em: 09 jul. 2018.

DANIEL, O. **Erva-mate: sistema de produção e processamento industrial**. Dourados: Editora UFGD, 2009. 288 p. Disponível em: <<http://files.ufgd.edu.br/arquivos/arquivos/78/EDITORA/catalogo/erva-mate-sistema-de-producao-e-processamento-industrial-1.pdf>>. Acesso em: 10 maio 2018.

DOLCE, N.R.; MROGINSKI, L. A.; REY, H.Y. Endosperm and endocarp effects on the *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. (*Aquifoliaceae*) seed germination. **Seed Science and Technology**, v. 38, p. 441-448, 2010. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/233661069_Endosperm_and_endocarp_effects_on_the_Ilex_paraguariensis_A_St-Hil_Aquifoliaceae_seed_germination>. Acesso em: 10 mai. 2018.

FERREIRA, D. F. SISVAR: A COMPUTER ANALYSIS SYSTEM TO FIXED EFFECTS SPLIT PLOT TYPE DESIGNS. **Revista Brasileira de Biometria**, v. 37, n. 4, p. 529-535, 2019.

FILIP, R.; DAVICINO, R.; ANESINI, C. Antifungal activity of the aqueous extract of *Ilex paraguariensis* against *Malassezia furfur*. **Phytotherapy Research**, v. 24, p. 715-719, 2009.

FILIP, R. et al. Antioxidant activity of *Ilex paraguariensis* and related species. **Nutrition Research**, v. 20, n. 10, p. 1437–1446, 2000.

FOWLER, J. A. P.; STURION, J. A. **Aspectos da formação do fruto e da semente na germinação da erva-mate**. EMBRAPA, n. 45, p. 1-5, 2000. Comunicado Técnico. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/289938/1/comtec45.pdf>>. Acesso em: 12 maio 2018.

FOWLER, J. A. P.; STURION, J. A.; RIBAS, K. C. Z. Variação do desenvolvimento embrionário das sementes de erva-mate. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, n. 54, p.105-108, 2007. Disponível em: <<https://pfb.cnpf.embrapa.br/pfb/index.php/pfb/article/view/134>>. Acesso em: 11 maio 2018.

GERHARDT, M. Colonos ervateiros: história ambiental e imigração no Rio Grande do Sul. **Revista Esboços**, Florianópolis, v. 18, n. 25, p. 73-95, ago. 2011. Disponível em: <<https://periodicos.ufsc.br/index.php/esbocos/article/view/2175-7976.2011v18n25p73/21533>>. Acesso em: 05 maio 2018.

GOETZ, P. Maté, *Ilex paraguariensis* A. St. Hil. (*Aquifoliaceae*). **Phytotherapie**, v. 11, n. 2, p. 116–120, 2013.

GOSMANN, G. et al. Phenolic Compounds from Maté (*Ilex paraguariensis*) Inhibit Adipogenesis in 3T3-L1 Preadipocytes. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 67, n. 2, p. 156–161, 2012.

GROPPO-JUNIOR, M.; PIRANI, J.R. *Aquifoliaceae* In: Wanderley, M.G.L., Shepherd, G.J., Giulietti, A.M., Melhem, T.S., Bittrich, V., Kameyama, C. (eds.) **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo**. Instituto de Botânica, São Paulo, vol. 2, p: 31-38, 2002 Disponível em: <<http://botanica.sp.gov.br/files/2016/02/Aquifoliaceae.pdf>>. Acesso em: 05 maio 2018.

GROOT, S. P. C.; KARSSSEN, C. M. Gibberellins regulate seed germination in tomato by endosperm weakening: a study with gibberellin-deficient mutants. **Planta**, v. 171, n. 4, p. 525-531, 1987.

GUGLIUCCI, A. Antioxidant effects of *Ilex paraguariensis*: Induction of decreased oxidability of human LDL in vivo. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 224, n. 2, p. 338–344, 1996.

GUGLIUCCI, A.; BASTOS, D. H. M. Chlorogenic acid protects paraoxonase 1 activity in high density lipoprotein from inactivation caused by physiological concentrations of hypochlorite. **Fitoterapia**, v. 80, n. 2, p. 138–142, 2009.

HEUSER, E. D. *Ilex paraguariensis* St. Hil.: **Endosperma e embrião durante a embriogênese tardia**. 1990. 79p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas – área de concentração Botânica) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1990.

HEYDECKER, W., GIBBINS, B. M. **The priming of seeds**. Acta Horticulturae, Loughborough, n. 87, p.213-223, 1978. Disponível em: <https://www.actahort.org/books/83/83_29.htm>. Acesso em: 14 set. de 2019.

INSTITUTO BRASILEIRO DA ERVA-MATE. **Diagnóstico da cadeia Produtiva da Erva-mate no Rio Grande do Sul**. Ilópolis, v. 1, p. 1-23, 2018. Disponível em: <<http://ibramate.com.br/wp-content/uploads/2018/05/DIAGN%C3%93STICO-DA-EM-DO-RGS-doc-final-revista.pdf>>. Acesso em: 09 jul. 2018.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção da Extração Vegetal e Silvicultura**. Rio de Janeiro, v. 31, p.1-54, 2016. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/74/pevs_2016_v31.pdf>. Acesso em: 08 jul. 2018.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção da Extração Vegetal e da Silvicultura – PEVS**. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9105-producao-da-extracao-vegetal-e-da-silvicultura.html?=&t=destaques>>. Acesso em: 10 out. de 2019.

INSTITUTO DE PESQUISAS ECOLÓGICAS. ***Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.** Disponível em: <<http://flora.ipe.org.br/sp/176>>. Acesso em: 16 out. de 2019.

JORDÁN, M.; CASARETTO, J. Hormonas y reguladores del crecimiento: auxinas, giberelinas y citocininas. **Squeo, F, A., & Cardemil, L.(eds.). Fisiología Vegetal**, p. 1-28, 2006.

KANG, Y.-R. et al. Anti-obesity and anti-diabetic effects of Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*) in C57BL/6J mice fed a high-fat diet . **Laboratory Animal Research**, v. 28, n. 1, p. 23, 2012.

KISSMANN, C. et al. Germinação de sementes de *Stryphnodendron* Mart. osmocondicionadas. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 2, p. 026–035, 2010.

KUNIYOSHI, Y. S. **Morfologia da semente e da germinação de 25 espécies arbóreas de uma floresta com Araucária**. 1983. 231 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais). Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

LEADEM, C.L. **Quick Test for Tree Seed Viability**. British Columbia: Ministry of Forest, 1984. 45 p.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba, SP: FEALQ, 2005.

MARTIN, J. G. P. et al. Actividad antimicrobiana de la yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) contra patógenos alimentarios. **Revista Argentina de Microbiología**, v. 45, n. 2, p. 93–98, 2013.

MEDEIROS, A. C. S. Dormência em sementes de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). **Documento 36**, EMBRAPA, Colombo, 1998. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/290859/dormencia-em-sementes-de-erva-mate-ilex-paraguariensis-st-hil>>. Acesso em: 12 maio 2018.

MEDEIROS, A. C. de S.; SILVA, L. C. da. Efeitos da secagem na viabilidade das sementes de *Ilex paraguariensis* St. Hil. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n. 42, p. 31-40, jan. 2001. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPF-2009-09/15638/1/medeiros.pdf>>. Acesso em: 08 maio 2018.

MEDRADO, M.; MOSELE, S. O futuro da investigação científica em erva-mate. **EMBRAPA FLORESTAS**, 2004.

MELO, A. P. C. D. et al. Overcoming seed dormancy and early growth of seedlings of *Spondias tuberosa*, Arr. Câmara. **Semina: Ciências Agrárias**, Lodrina, v. 33, n. 4, p. 1343-1350, 2012. Disponível em: <<https://repositorio.unesp.br/handle/11449/10396>>. Acesso em: 07 out. 2018.

MIRESKI, M. C. et al. Polyphenols in yerba mate seeds: Potential inhibitors of germination. **Floresta**, v. 48, n. 4, p. 593–600, 2019.

MUTINELLI, A. Caracteres biométricos de las semillas de la yerba-mate. **Posadas**, 1988. 28 p. (UNaM. Número especial, 5).

NASCIMENTO, W. M. Condicionamento osmótico de sementes de hortaliças. **Circular Técnica 33**. EMBRAPA, Brasília, 2004. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/778185/1/ct33.pdf>>. Acesso em: 19 out. de 2019.

NIKLAS, C. O. Estudios embriológicos y citológicos en la yerba mate *Ilex Paraguariensis* (Aquifoliaceae). **Bonplandia**, v. 6, n. 1, p. 45, 1987.

OLIVEIRA, M. C. D. et al. Germinação de sementes de atemoia (*Annona cherimola* Mill. X *A. squamosa* L.) cv 'Gefner' submetidas a tratamentos com ácido giberélico (GA₃) e Ethephon. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 32, n. 2, 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-29452010000200027>. Acesso em: 07 out. 2018.

OLIVEIRA, E. P. et al. O consumo agudo de erva mate aumenta o gasto energético de homens jovens saudáveis - um estudo piloto. **RBONE - Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento**, v. 10, n. 59, p. 242–249, 2016.

OLIVEIRA, Y. M. M. de; ROTTA, E. Área de distribuição natural de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). In: **Seminário Sobre Atualidades E Perspectivas Florestais**, 10, 1983, Curitiba. Silvicultura da erva-mate (*Ilex paraguariensis*): anais... Curitiba: EMBRAPA-CNPF, 1985. p. 17-36.

PENTEADO, J. O. et al. Atividade antimicrobiana de extratos de *Ilex paraguariensis*. **Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção**, v. 6, p. 1-10, 2016

PENTEADO JR, F. J., GOULART, I. C. G. R. **Erva 20 - Sistema de produção de erva-mate**. 1ª ed., Embrapa Florestas, 2019. 47 p.

PEREIRA, C. E. et al. Determinação de inibidores da germinação no espermoderma de sementes de café (*Coffea arabica* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 24, n. 1, p. 306-311, 2002.

PEREZ, S. C. J. G. et al. Viabilidade e vigor de sementes de paineira após armazenamento, condicionamento e estresses salino e térmico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 6, p. 587-593, 2005.

PINEDO, G. J. V.; FERRAZ, I. D. K. Hidrocondicionamento de *Parkia pendula* [BENTH ex WALP]: sementes com dormência física de árvore da Amazônia. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 32, n. 1, p. 39-49, fev. 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-67622008000100006>. Acesso em: 13 maio 2018.

PIRES, E. Z. et al. Biologia reprodutiva de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil) em remanescentes de Floresta Ombrófila Mista Altomontana. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 13, n. 2, p. 171–180, 2014.

PIVETA, G. et al. Qualidade sanitária e fisiológica de sementes de aroeira-preta (*Lithraea molleoides*) submetidas a métodos de superação de dormência. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 24, n. 2, p. 289-297, abr. 2014. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1980-50982014000200289&lng=en&nrm=iso&tlng=pt>. Acesso em: 07 out. 2018.

PREDDY, V. R. **Tea: in health and disease prevention**. 1. ed., Academic Press, 2012. 1612 p.

ROCHA, A. P. et al. Métodos para superação da dormência em sementes de *Garcinia gardneriana* (Planch. & Triana) Zappi. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 28, n. 2, p. 505-514, 2018. Disponível em: <<https://periodicos.ufsm.br/cienciaflorestal/article/view/32031/pdf>>. Acesso em: 07 out. 2018.

SANTOS, M. C. A. et al. Condicionamento osmótico de sementes. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 21, n. 2, p. 01-06, 2008. Disponível em: <<https://periodicos.ufersa.edu.br/index.php/caatinga/article/download/156/pdf>>. Acesso em: 15 maio 2018.

SCHAPARINI, P. S.; VIECELLI, C. A. Superação de dormência de sementes de erva mate. **Cultivando o Saber**, Cascavel, v. 4, n. 4, p. 163-170, 2011. Disponível em: <https://www.fag.edu.br/upload/revista/cultivando_o_saber/592dc5b761a07.pdf>. Acesso em: 15 maio 2018.

SOUSA, V. A. DE; DAROS, T. L.; STURION, J. A. Fenologia reprodutiva de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil). In: CONGRESSO FLORESTAL ESTADUAL DO RIO GRANDE DO SUL, 2003, Nova Prata, RS. **Floresta: função social: anais**. 2003.

SOUZA, A. C. **Dormência em sementes de *Ilex paraguariensis***. 2018, 80 p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2018.

TAIZ L. et al. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. 6. ed., Artmed, 2017. 888 p.

TEZUKA, T. et al. Factors affecting seed germination of *Ilex latifolia* and *I. rotunda*. **Hortscience**, v. 48, n. 3, p. 352-356, 2013. Disponível em: <<http://hortsci.ashspublications.org/content/48/3/352.full>>. Acesso em: 02 maio 2018.

VALDUGA, E. et al. Caracterização química da folha de *Ilex paraguariensis* St. Hil. (erva-mate) e de outras espécies utilizadas na adulteração do mate. **B.ceppa**, v. 15, n. 1, p.25-36, 1997.

VASCONCELLOS, F. C. F. **Os impactos da criação do Mercosul no mercado de erva-mate no Rio Grande do Sul**. 66 p., 2012. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Graduação em Ciências Econômicas). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

VASCONCELOS, L. H. C. et al. Utilização de métodos físicos e de fitorreguladores para superação de dormência em sementes de Pinha. **Journal of Neotropical Agriculture**, v. 2, n. 4, p. 20–24, 2015.

VELOSO, H. P.; RANGEL FILHO, A. L. R.; LIMA, J. C. A. **Classificação da vegetação brasileira, adaptada a um sistema universal**. Rio de Janeiro: IBGE, Departamento de Recursos Naturais e Estudos Ambientais, 1991. p. 28; 77. Disponível em: <<https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/monografias/GEBIS%20-%20RJ/classificacaovegetal.pdf>>. Acesso em: 12 maio 2018.

WENDLING, I. Melhoramento de erva-mate : perspectivas. **Seminário erva-mate XXI**, p. 34–37, 2016.

WENDLING, I.; SANTIN, D. **Propagação e nutrição de erva-mate**. EMBRAPA Florestas, Brasília – DF, 2014. Disponível em: <<https://livimagens.sct.embrapa.br/amostras/00054880.pdf>>. Acesso em: 01 out. 2018.

ZANON, A. **Produção de sementes de erva mate**. EMBRAPA – CNPF, Curitiba, 1988. Circular técnica. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/16957/1/circ-tec16.pdf>>. Acesso em: 05 maio 2018.