



UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL

CAMPUS LARANJEIRAS DO SUL

CURSO DE AGRONOMIA

RUDINEI MIOTTO

MÉTODOS PARA A QUEBRA DE DORMÊNCIA DE SEMENTES DE ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis*) St. Hill.

LARANJEIRAS DO SUL

2014

RUDINEI MIOTTO

MÉTODOS PARA QUEBRA DE DORMÊNCIA DE SEMENTES DE ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis*) St. Hil.

Trabalho de conclusão de curso de graduação como requisito para obtenção de grau de Bacharel em Agronomia da Universidade Federal da Fronteira Sul.

Orientador: Lisandro Tomas da Silva Bonome

LARANJEIRAS DO SUL

2014

Métodos para quebra de dormência de sementes de Erva-mate (*Ilex paraguariensis*) St. Hil.

Methods to break dormancy of yerba mate seeds (*Ilex paraguariensis*) St. Hil.

Rudinei Miotto^{1(*)}

Lisandro Tomas da Silva Bonome²

Resumo

A erva-mate é uma espécie de grande potencial para exploração comercial na região Sul do Brasil. A principal forma de propagação se dá por sementes, no entanto, a quebra de dormência constitui um dos principais entraves para a obtenção de mudas uniformes e de qualidade. Objetiva-se com esse trabalho identificar os bloqueios que causam a dormência de sementes de erva-mate bem como verificar qual o tratamento mais adequado para superá-los. O ensaio foi constituído de sementes estratificadas em areia mantidas em BOD com variação de fotoperíodo e temperatura (12 horas a 20° C sem luz e 12 horas a 30° C com luz). Para a quebra da dormência tegumentar foram aplicados os tratamentos T1- escarificação química com ácido sulfúrico, T2- sementes inteiras (sem tratamento tegumentar) e T3- sementes com tegumento cortado no lado oposto ao da micrópila. Após, as sementes foram submetidas a tratamentos para superação da dormência embrionária, sendo imersão por 24 horas a 25°C em: água destilada, citocinina 100 mg. L⁻¹, ácido giberélico 1000 mg. L⁻¹ e citocinina 100 mg. L⁻¹ + ácido giberélico 1000 mg. L⁻¹. Concluído os tratamentos, as sementes foram semeadas em gerbox com 4 repetições contendo 50 sementes cada tratamento e levadas para BOD nas mesmas condições da estratificação em areia. O ensaio foi dividido em 5 períodos, o primeiro sem estratificação e os demais com acréscimo de 30 dias de estratificação cada. Foi realizado teste de germinação o qual se obteve apenas uma semente germinada no período de 150 dias, período total do experimento. Além disso, foi feito teste de tetrazólio para verificar a viabilidade das sementes e a presença e o desenvolvimento do embrião. Devido a baixa porcentagem de germinação e reduzido desenvolvimento embrionário pode-se concluir que os tratamentos não foram eficientes para superação da dormência de erva-mate.

Palavras-chave: Tetrazólio. Estratificação. Tegumento. Embrião. fitormônio

Abstract

Yerba mate (*Ilex paraguariensis*) is a species of great potential for commercial exploitation in southern Brazil. The main form of propagation is by seed, however, break dormancy is a major constraint to obtain uniform seedlings and quality. Purpose is to achieve with this work identify the blockages that cause the mate of seed dormancy and find what the most appropriate treatment to overcome them. The test consisted of seeds laminated sand and maintained with a change in BOD

1 Graduando do curso de agronomia da Universidade Federal da Fronteira Sul, UFFS; Endereço: BR 158, Km 405, CEP: 85.301-970, Laranjeiras do Sul, Paraná, Brasil; E-mail: rudineimiotto13@hotmail.com (*) Autor para correspondência

2 Engenheiro Agrônomo; Professor Adjunto da Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Laranjeiras do Sul. Av. Oscar Silva Guedes, 01 Vila Alberti 85303775, Laranjeiras do Sul, Paraná, Brasil; E-mail: lisandrobonome@gmail.com

of photoperiod and temperature (12 hours without light at 20 ° C and 12 hours at 30 ° C with light). For cutaneous numbness the chemical scarification T1 treatments were applied with sulfuric acid, T2 untreated seeds (whole) and T3 seeds with seed coat cut opposite the micropyle. After the seeds were subjected to treatments for embryo development, immersion for soaking for 24 hours at 25 ° C in: distilled water, cytokinin 100 mg. L⁻¹ gibberellic acid 1,000 mg. L⁻¹ and 100 mg cytokinin. L⁻¹ + gibberellic acid 1000 mg. L⁻¹. The seeds were accommodated in gerbox with 4 replicates and 50 seeds each treatment and taken to BOD in the same stratification conditions in sand. The test was divided into five periods, the first without stratification and the other with an increase of 30 days in each stratification. Only one seed germinated at 150 days total period of the experiment. Tetrazolium test was done to check the viability of seeds and presence e embryonic development. Due to the low germination rate and embryonic development can conclude that the treatments were not efficient to overcome state of dormancy.

Key words: Tetrazolium. Stratification. Tegument. Embryo. phytohormone

Introdução

A erva-mate é uma espécie nativa da América do Sul, sendo muito importante na economia de países como o Brasil, Argentina, Paraguai e Uruguai. O Brasil é o terceiro maior produtor da cultura, principalmente os estados da região sul (FOWLER; STURION, 2000).

O cultivo da erva mate vem conquistando o mercado devido suas múltiplas funções, sendo utilizadas como chimarrão, tererê, mate solúvel e chá mate, em preparados farmacêuticos como estimulante, anti-inflamatório, antirreumático, tônico e diurético e como matéria prima na produção de corantes e detergentes (VALDUGA et. al., 1997). Diante da ampla utilização e da demanda do mercado pelas folhas verdes ou processadas da *I. paraguariensis*, existe a necessidade de aumentar a área cultivada, conseqüentemente, aumentar a disponibilidade de material propagativo da espécie. As sementes são os meios mais baratos de produzir mudas de erva, porém é um processo demorado, em função da necessidade de superação da dormência de tais sementes, o que acarreta em aumento do custo de produção para a implantação da cultura. Além disso, a dormência ocasiona a desuniformidade da germinação, o que é indesejado na produção de mudas comerciais (NOGUEIRA, 2002).

A dormência pode ser definida como o fenômeno pelo qual sementes de determinadas espécies, mesmo viáveis e com condições ambientais ideais, não germinam, representando um recurso da natureza para distribuir a germinação ao longo do tempo e do espaço, o que garante a sobrevivência da espécie (SCHAPARINI; VIECELLI, 2011). No caso da erva- mate, estudos indicam a ocorrência de uma combinação entre diferentes tipos de dormência. Para Cunha e Ferreira (1987), o principal fator impeditivo da germinação das sementes de *I. paraguariensis* é a imaturidade do embrião, por outro lado, Medeiros (1998) afirma que o problema enfrentado pela semente de erva mate é o endocarpo lenhoso, resistente e impermeável à difusão de água e gases. Tal fenômeno é denominado de dormência física.

Dentre os tratamentos utilizados com sucesso para a superação da dormência de espécies florestais destacam-se a escarificação mecânica e química, além da imersão das sementes em água quente (MAGDE; DAVIDE; CARVALHO, 2003). A recomendação de Pereira, Fowler e Bianchetti (2003) é que a escarificação ácida pode ser usada para a superação de dormência tegumentar ou exógena. As sementes são imersas em ácido sulfúrico, por um tempo variável conforme a espécie.

Outro processo indicado para sementes de *I. paraguariensis* é a estratificação através da areia umedecida. A estratificação possibilita algum sucesso na germinação de sementes, pois evita seu dessecamento ao mesmo tempo em que baixa a tensão de oxigênio e aumenta a tensão de CO₂. Nesse meio tempo há condição para maturação ou superação de bloqueios ao desenvolvimento integral do embrião (CUNHA; FERREIRA, 1987).

Temperaturas alternadas, ao que tudo indica, agem sobre o tegumento das sementes tornando-as mais permeáveis à água e ao oxigênio, além de terem influência sobre o equilíbrio entre as substâncias promotoras e inibidoras da germinação. A exposição diária a ciclos alternados de temperatura pode aumentar a velocidade de germinação de muitas sementes (CUQUEL; CARVALHO; CHAMMA, 1994).

A luz tem um importante papel na quebra de dormência devido a inibidores internos, pois a sua ação seria a de levar o fitocromo de sua forma inativa (P660) à ativa (P730), o que liberaria ou ativaria por um processo desconhecido, as citocininas, que agindo antagonicamente em relação a vários inibidores, permitiriam às giberelinas desempenharem sua função no processo germinativo (CUQUEL; CARVALHO; CHAMMA, 1994). Dentre os efeitos do ácido giberélico na germinação de sementes destaca-se seu papel na indução da síntese de α -amilase e outras hidrolases no endosperma e o enfraquecimento da camada de endosperma que envolve o embrião e restringe seu crescimento. Além disso, algumas sementes, em especial aquelas de plantas selvagens, requerem luz ou frio para induzir a germinação, em algumas dessas sementes, essa dormência pode ser quebrada com aplicação de giberelina (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Muitos estudos têm tentado elucidar a ação, em nível molecular, dos hormônios e outros produtos químicos, na quebra da dormência (LEONEL, 1994). Pode-se atribuir às citocininas o efeito indutor da germinação, pois elas possuem a habilidade de promover a divisão celular, além de possuir a capacidade de promover a germinação de algumas espécies, quebrando a dormência, ou causando o início de alguns processos críticos, como a ativação dos genes para a síntese de enzimas (FRANCO; FERREIRA, 2002). As citocininas, assim como as giberelinas, tem papel regulador na germinação de sementes, as citocininas regulam o nível de inibidores ativos presentes nas sementes, tornando-os mais sensíveis à ação de giberelinas. (ARAGÃO et al. 2001).

O processo de formação de mudas de erva-mate leva em média 8 a 24 meses (DANIEL, 2009), sendo o principal responsável pelo atraso na formação das mesmas a dormência das

sementes que é em média de 12 meses. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi identificar o tipo de dormência existente nas sementes de *I. paraguariensis* e estabelecer os melhores métodos para sua superação .

Material e métodos

O ensaio foi conduzido na Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Laranjeiras do Sul, no município de Laranjeiras do Sul/PR. Foram utilizados os laboratórios de Química, Microbiologia e Sementes para a armazenagem das sementes, classificação, assepsia, estratificação, preparo e condução dos tratamentos.

As sementes foram adquiridas do município de Turvo/PR. Após a colheita e despolpa dos frutos de erva-mate as sementes foram secas à sombra. Concluída a secagem, foram submetidas ao soprador para obter a porcentagem de sementes viáveis e chochas. Para que se tivesse uma média mais precisa da porcentagem de sementes viáveis foram contadas 8 mil sementes e divididas em 8 porções de mil, as quais foram beneficiadas em soprador previamente calibrado para separar as sementes chochas. Após este procedimento, contou-se o número de sementes chochas de cada porção para obter a média de sementes viáveis e chochas. As sementes viáveis foram armazenadas em câmara incubadora BOD a 10 °C até a montagem do experimento.

As sementes passaram por assepsia em hipoclorito de sódio (2,5%) por 10 minutos e, após este procedimento, uma amostra de 2400 sementes foi separada e dividida em três porções para a realização dos tratamentos de quebra de dormência tegumentar. A primeira porção foi escarificada em ácido sulfúrico por 7 minutos e depois lavada cinco vezes com água destilada, porém, foi percebido que esse tempo de escarificação danificou as sementes. Nos próximos períodos de estratificação o tempo de escarificação foi reduzido para 1 minuto, sendo que a partir do terceiro período não foi mais utilizado esse tratamento, por causar a mortalidade das sementes. A segunda porção foi seccionada na região oposta à micrópila da semente, e a terceira foi mantida inteira sem nenhum tratamento. Cada uma dessas porções foi novamente dividida em quatro para realização dos tratamentos de quebra de dormência embrionária, onde permaneceram por 24 horas nas soluções a 25 °C. A primeira foi deixada para embeber em água destilada, a segunda em solução de citocinina (cinetina) 100 mg. L⁻¹, a terceira em ácido giberélico (GA₃) 1000 mg. L⁻¹ e a quarta em uma mistura de citocinina 100 mg. L⁻¹ (cinetina) + ácido giberélico (GA₃) 1000 mg. L⁻¹.

O restante das sementes foi colocado para estratificação em areia, dentro de uma caixa plástica com furos na parte inferior para drenagem do excesso de umidade e coberta com filme plástico para evitar a evaporação da água. A caixa de areia utilizada para estratificação foi mantida em câmara incubadora BOD, com variação de temperatura e luminosidade, mantendo 12 horas de luz a 30 °C e 12 horas sem luz a 20°C . A areia utilizada foi esterilizada em autoclave e,

posteriormente, secada em estufa de ar forçado por 48 horas a 80°C. A caixa de areia continha uma camada de 5 cm de areia umedecida com água destilada, uma camada única e uniforme de sementes sobreposta por uma camada de 1 cm de areia umedecida. A cada 30 dias, por um período de quatro meses foram retiradas da caixa de estratificação a quantidade de sementes necessária para a realização do teste de germinação.

O teste de germinação foi constituído de quatro repetições de 50 sementes, realizado em gerbox assepsiado com álcool 70%, os papéis mata-borrão foram esterilizados em autoclave com antecedência e secados em estufa de ar forçado a 80°C por 48 horas. Antes de colocados nos gerbox, os papéis foram umedecidos com 3% do peso em volume de água e posteriormente prensados em prensa marcadora para acomodação das sementes após a retirada das soluções. Após a semeadura das sementes nas caixas gerbox estas permaneceram em estufa incubadora do tipo BOD com variação de temperatura e luminosidade, mantendo 12 horas de luz a 30°C e 12 sem luz a 20°C, onde permaneceram por 150, 120, 90, 60, 30 dias, conforme o tratamento de estratificação. A irrigação foi realizada quando necessário para manter a umidade. As avaliações de germinação foram realizadas quinzenalmente tendo como parâmetro a protrusão radicular.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial (5 x 3 x 4) com 4 repetições, sendo 5 períodos de estratificação 0, 30, 60, 90 e 120 dias, 3 tratamentos para superação da dormência tegumentar (sementes inteiras, sementes seccionadas e sementes escarificadas) e 4 tratamentos para superação da dormência embrionária (de água destilada, citocinina (cinetina) 100 mg. L⁻¹, ácido giberélico (GA₃) 1000 mg. L⁻¹ e citocinina 100 mg. L⁻¹ (cinetina) + ácido giberélico (GA₃) 1000 mg. L⁻¹, perfazendo no total 60 tratamentos.

Aos 150 dias após a montagem do experimento foi realizado o teste de tetrazólio com uma amostra de 52 sementes (pirenos), sendo 13 sementes retiradas ao acaso de cada repetição por tratamento. O teste de tetrazólio foi realizado em três etapas: Exposição dos tecidos das sementes para coloração, coloração e avaliação.

1) exposição dos tecidos para coloração: os pirenos foram seccionados longitudinalmente, próximos ao eixo embrionário, direcionando o corte para uma das laterais da semente, com isso, manteve-se a metade da semente que ficou com a maior porção do endosperma a qual continha o embrião, colocou-se essa parte na solução de tetrazólio e descartada a outra. Isto facilitou a penetração da solução de tetrazólio nos tecidos da semente.

2) coloração: A parte do pireno que continha o embrião foi submerso em solução de tetrazólio, em concentração de 0,1%, preparada conforme prescrito nas Regras de Análise de Sementes (RAS) (BRASIL, 2002). A solução foi colocada em Becker de 50 mL cobertos com papel alumínio, os quais permaneceram durante 18 horas, na ausência de luz, em estufa incubadora BOD à temperatura de 35° C.

3) avaliação: após o período de coloração, as sementes foram lavadas em água destilada para retirada da solução e avaliadas quanto à coloração (reação ao sal de tetrazólio) e consistência dos tecidos, com auxílio de uma lupa da marca Olimpicus SZ 51 com 40X de aumento. Para uma avaliação minuciosa os embriões foram expostos, sendo excisados das sementes.

As sementes avaliadas foram classificadas segundo os padrões estabelecidos por AMARAL (comunicação pessoal, 1996 Apud CATAPAN, 1998), de acordo com a tabela 1. Foram consideradas sementes viáveis, as que apresentavam endosperma colorido sem embrião visível (Tabela 1 - Padrão 1), endosperma e embrião coloridos (Tabela 1 - Padrão 3 e 4).

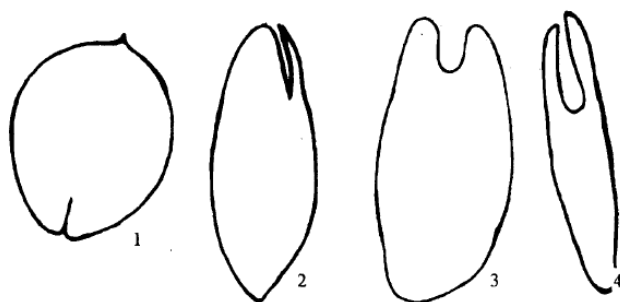
Tabela 1 – Padrões de classificação para avaliação das sementes de *I. paraguariensis* no teste de tetrazólio. Laranjeiras do Sul, PR, 2014.

Padrão	Descrição
1	Endosperma colorido sem embrião visível
2	Endosperma não colorido sem embrião visível
3	Endosperma colorido, embrião colorido, cotilédones definidos
4	Endosperma colorido, embrião colorido, cotilédones indefinidos
5	Endosperma colorido, embrião não colorido, cotilédones definidos
6	Endosperma colorido, embrião não colorido, cotilédones indefinidos
7	Endosperma não colorido, embrião não colorido, cotilédones definidos
8	Endosperma não colorido, embrião não colorido, cotilédones indefinidos
9	Endosperma não colorido, embrião colorido, cotilédones definidos
10	Endosperma não colorido, embrião colorido, cotilédones indefinidos
11	Deterioradas

A classificação dos embriões quanto a fase do desenvolvimento (figura1) tem por objetivo mostrar o grau de maturidade da semente no momento do teste de tetrazólio, 150 dias após o início dos tratamentos.

Para a classificação foram utilizados os embriões encontrados nas sementes avaliadas no teste de tetrazólio. Os embriões foram examinados quanto à sua forma, com o auxílio de uma lupa da marca Olimpicus SZ 51 com aumento de 40x. A avaliação quanto à forma baseou-se no trabalho de HEUSER (1990).

Figura 1 – Fases de desenvolvimento do embrião de *I. paraguariensis*



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

Resultados e discussão

O lote de sementes de erva mate utilizado no presente estudo apresentou um alto número de sementes chochas, 43,44%, as quais foram separadas das sementes viáveis utilizando um soprador de sementes. Segundo Zanon (1988) o método mais recomendado para beneficiamento de sementes de erva-mate constitui-se na seleção de frutos seguido da separação das sementes, por meio da maceração, em peneiras. Na sequência, faz-se a imersão, em recipiente, da massa constituída de sementes e restos de polpa; com água corrente, executa-se a lavagem até que as sementes apresentem um mínimo de impureza. As sementes sobrenadantes devem ser eliminadas, pois não possuem capacidade de germinação. Entretanto, esse método pode subestimar o número de sementes chochas, as quais com alto teor de umidade tornam-se pesadas e misturam-se com as sementes viáveis no fundo do recipiente. Com isso, a utilização do soprador foi um eficiente método para a obtenção de uma amostra de sementes puras e viáveis.

O resultado do teste de germinação foi zero para todos os tratamentos, exceção feita para aquele sem tratamento tegumentar (sementes inteira) e imersas em água, o qual apresentou 0,5% de sementes germinadas (Figura 2). Estes resultados evidenciam que os métodos utilizados para a superação da dormência das sementes de erva-mate não foram eficientes. Resultado semelhante foi observado por Cuquel, Carvalho, Chamma (1994), os quais testaram alternância de luz, períodos de estratificação em areia, utilização de ácido giberélico e nitrato de potássio para superação da dormência de sementes de erva-mate e não tiveram sucesso.

Schaparini e Viecelli (2011), avaliando diferentes métodos para superação da dormência de sementes de erva mate indicaram a imersão das sementes em água a uma temperatura de 50°C por um período de 30 minutos como o mais recomendado. Entretanto, a porcentagem de germinação observada pelos autores foi extremamente baixa, 1,75%, como no presente estudo.

Figura 2- Semente com protrusão radicular e emissão do hipocótilo



A intensidade da dormência das sementes pode ser influenciada por diversos fatores, dentre eles pode-se destacar a origem da própria semente. Em erva-mate já foram realizados estudos visando correlacionar à dormência das sementes e sua origem. Cuquel, Carvalho e Chamma (1994) observaram correlação entre o estágio de desenvolvimento das sementes de erva-mate e a latitude da região de origem do fruto. Segundo os autores, frutos originários mais ao norte do país apresentam sementes em estádios mais avançados de desenvolvimento. Neste contexto, sementes oriundas de árvores localizadas no Paraná germinam antes daquelas coletadas em Santa Catarina, que por sua vez germinam antes daquelas provenientes do Rio Grande do Sul. Daniel (2009) ressalta que nos estados do sul, a estratificação pode durar até seis meses. Já no Mato Grosso do Sul, pelo menos quando se utiliza sementes de procedência da própria região, em geral não há necessidade da estratificação e as sementes germinam em média aos 120 dias após a semeadura.

É possível que a origem das sementes possa ter influenciado negativamente na germinação das sementes do presente trabalho. Além disso, as sementes podem ter sofrido algum tipo de stress climático durante a sua formação, justificado pelo alto número de sementes chochas, 43,44%. Isso também pode ter influenciado na germinação das sementes.

Pela figura 3 observa-se a porcentagem de sementes viáveis e não viáveis pelo teste de tetrazólio das sementes que não receberam estratificação. Nota-se que o tratamento sem superação de dormência tegumentar (sementes inteiras) foi o que apresentou maior número de sementes viáveis após o teste de germinação, independentemente dos métodos de quebra de dormência embrionária utilizados. Tais resultados indicam que parte das sementes não germinadas após 150 dias no teste de germinação não estavam mortas e sim, vivas. O teste de tetrazólio avalia o potencial de germinação das sementes baseado em suas características internas, enquanto que o teste de germinação é o resultado da combinação da qualidade das sementes e as condições de germinação (HEUSER 1990).

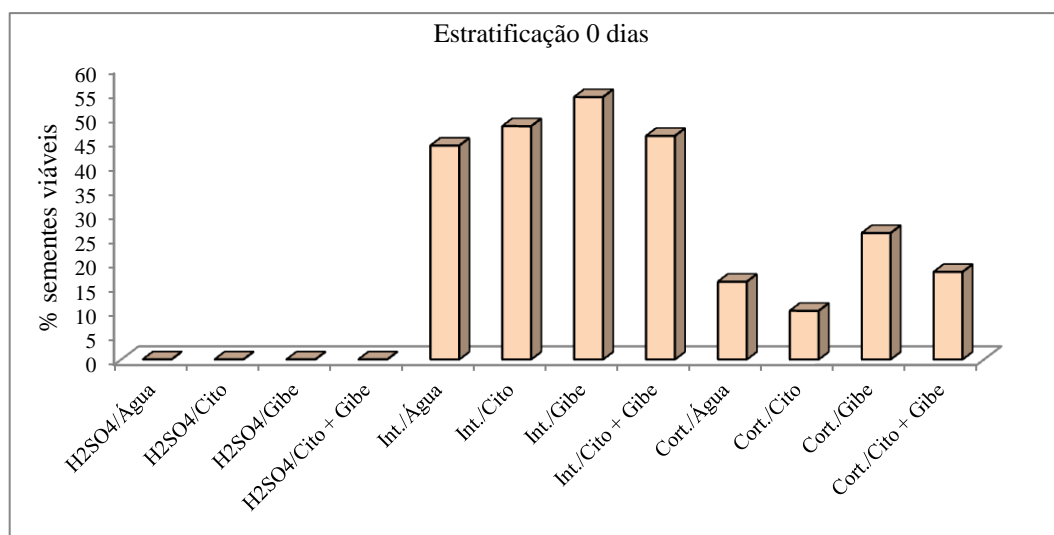
O tratamento tegumentar com ácido sulfúrico (H_2SO_4) afetou severamente as sementes, causando a mortalidade total do tratamento. Provavelmente a escarificação ácida tenha provocado danos ao endosperma e ao embrião das sementes, comprometendo a viabilidade das mesmas. A escarificação com ácido sulfúrico tem sido usada em tratamento pré-germinativo, por promover bons resultados, rompendo as camadas impermeáveis das sementes, como de: *Erythrina crista-galli* (SILVA et al. 2006), *Adenanthera pavonina* L. (COSTA et al., 2010). Por outro lado, Alves et al. (2007), trabalhando com sementes de *Schinopsis brasiliense*, obtiveram resultados diferentes, onde a utilização de ácido sulfúrico por três minutos interferiu drasticamente na germinação, causando a morte de quase todas as sementes. O ácido sulfúrico é um poderoso corrosivo e diversos estudos evidenciam que este produto é capaz de escarificar as sementes da maioria das leguminosas, desde

que seguido às recomendações para cada espécie (SEIFERT, 2009). Para erva-mate ainda não existe nenhuma recomendação de tempo de escarificação com ácido sulfúrico.

O tratamento com sementes seccionadas apresentou um número intermediário de sementes viáveis quando comparados aos demais tratamentos, reforçando o efeito agressivo do ácido sulfúrico as sementes.

Dentre os tratamentos para superação da dormência embrionária, o com ácido giberélico se sobressaiu aos demais. A atuação das giberelinas na quebra de dormência está relacionada à síntese de enzimas hidrolíticas como amilases e proteases que degradam as reservas nutritivas acumuladas no endosperma ou cotilédones e a disponibilizam para o desenvolvimento do embrião (TAIZ; ZEIGER, 2013), também podem atuar substituindo baixas temperaturas e luz, além de diminuir a ação do Ácido Abscísico (ABA).

Figura 3- Porcentagem de sementes viáveis pelo teste de tetrazólio em função dos tratamentos para superação de dormência e estratificação.

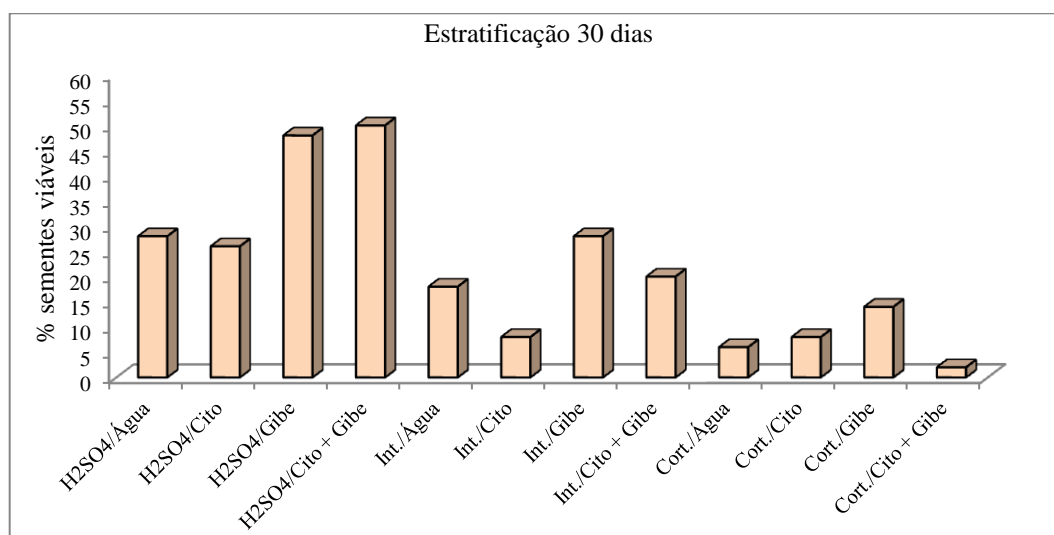


A Figura 4 mostra os resultados para o percentual de sementes viáveis e não viáveis das sementes que permaneceram por 30 dias na estratificação e posteriormente foram submetidas aos tratamentos de superação de dormência. Observa-se que o tratamento para quebra de dormência tegumentar com ácido sulfúrico (H₂SO₄) (figura 4) foi o que apresentou maior número de sementes viáveis quando comparado com os demais tratamentos tegumentares, ao contrário do que se evidencia pela Figura 3. Isso provavelmente tenha ocorrido em função da redução do tempo de escarificação com ácido sulfúrico. De acordo com Marcos Filho (2005) muitos tipos de tratamentos são empregados para tentar superar a dormência em sementes. Dentre os tratamentos de superação de dormência, o ácido sulfúrico é sugerido por promover a permeabilidade do tegumento a água e

as trocas gasosas. Entretanto o tempo de exposição das sementes ao ácido é variável de acordo com a espécie.

Em relação aos tratamentos para superação de dormência embrionária os que mais se destacaram foram aqueles em que as sementes ficaram imersas em Citocinina+giberelina e giberelina. As citocininas apresentam efeito antienvhecimento em alguns órgãos vegetais, por inibir a desnaturação proteica, estimulando a síntese de RNA e proteínas, e remobilizando nutrientes dos tecidos circundantes, isso faz com que alguns órgãos retardem sua senescência (POMPELLI, 2008). Já as giberelinas estão envolvidas na germinação de sementes em muitas plantas. O embrião na semente produz giberelinas que desencatam outras respostas fisiológicas envolvidas na germinação, como a síntese de enzimas digestivas. Essas enzimas digerem as reservas estocadas no endosperma, tornando-as disponíveis para a plântula (MARCOS FILHO 2005).

Figura 4- Porcentagem de sementes viáveis pelo teste de tetrazólio em função dos tratamentos para superação de dormência e estratificação.

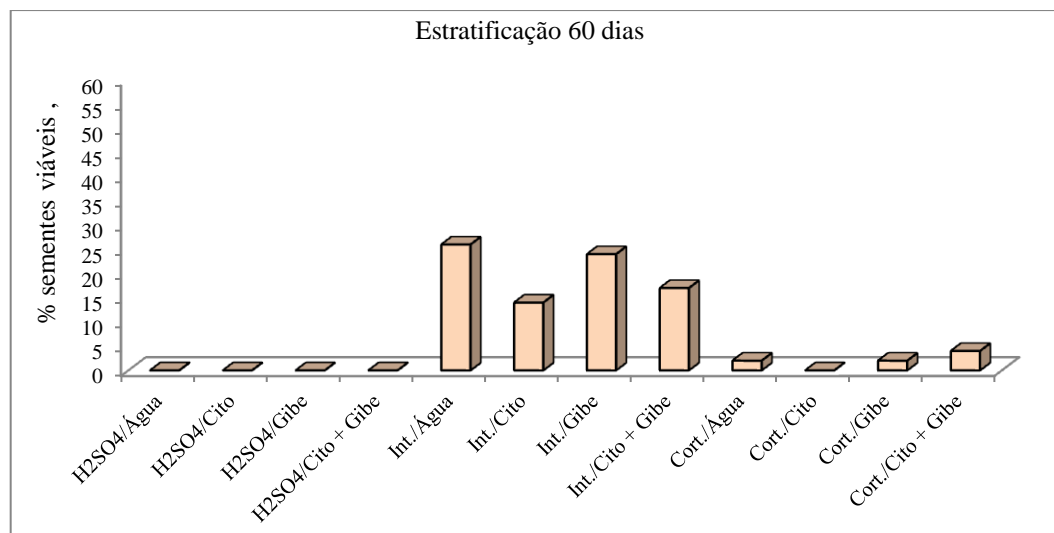


A Figura 5 mostra o percentual de sementes viáveis do tratamento com 60 dias de estratificação e 90 dias de teste de germinação. O tratamento sem superação de dormência tegumentar (semente inteira) foi o que apresentou maior percentual de sementes viáveis superando os demais, independente dos tratamentos para superação da dormência embrionária. Resultado semelhante foi verificado no tratamento sem estratificação (Figura 3). O tratamento tegumentar com ácido sulfúrico (H_2SO_4) matou todas as sementes, provavelmente devido a agressividade do ácido sulfúrico ao endosperma e embrião das sementes. Notou-se que as sementes estavam com o tegumento menos rígido quando retiradas da estratificação, possivelmente causado pela umidade mantida na estratificação e ação de fungos presente nas sementes.

Dentre os tratamentos que apresentaram maior número de sementes viáveis destaca-se aquele com semente inteira e imersa em água, com 26% e semente inteira e imersa em giberelina com 24% de sementes viáveis.

O tratamento em que se seccionou as sementes se mostrou ineficiente, pois foram encontradas poucas sementes viáveis em todos os períodos de estratificação. Este resultado não corrobora com o observado por Dolce; Mroginski; Rey (2008) os quais encontraram resultado positivo na germinação quando da secção das sementes de erva mate. Sementes de amendoim bravo (*Platypodium elegans*) apresentam dormência imposta pela impermeabilidade do tegumento, a qual pode ser superada por punção do tegumento na região oposta à emissão da radícula (NASSIF; PERES, 1997), semelhante ao que foi realizado como tratamento no presente trabalho, mas que, no entanto, não funcionou para erva-mate.

Figura 5- Porcentagem de sementes viáveis pelo teste de tetrazólio em função dos tratamentos para superação de dormência e estratificação.



Para as sementes que permaneceram por 90 dias na estratificação e 60 dias no teste de germinação o tratamento que apresentou maior número de sementes viáveis foi o de sementes inteiras, independente do tratamento embrionário (Figura 6). Esse resultado está em concordância com os observados nas Figuras 3 e 5. A partir dos 90 dias de estratificação não foi mais realizado o tratamento tegumentar com ácido sulfúrico (H₂SO₄), que causou a mortalidade total das sementes mesmo reduzindo o período de escarificação. Por isso, os resultados destes tratamentos não foram apresentados nas Figuras 6 e 7.

Com relação ao tratamento de quebra de dormência embrionária, nota-se que aquele com imersão em citocinina apresentou a maior percentagem de sementes viáveis, 34% seguido daquele com imersão em citocinina+giberelina e com imersão em água, ambos com 28%.

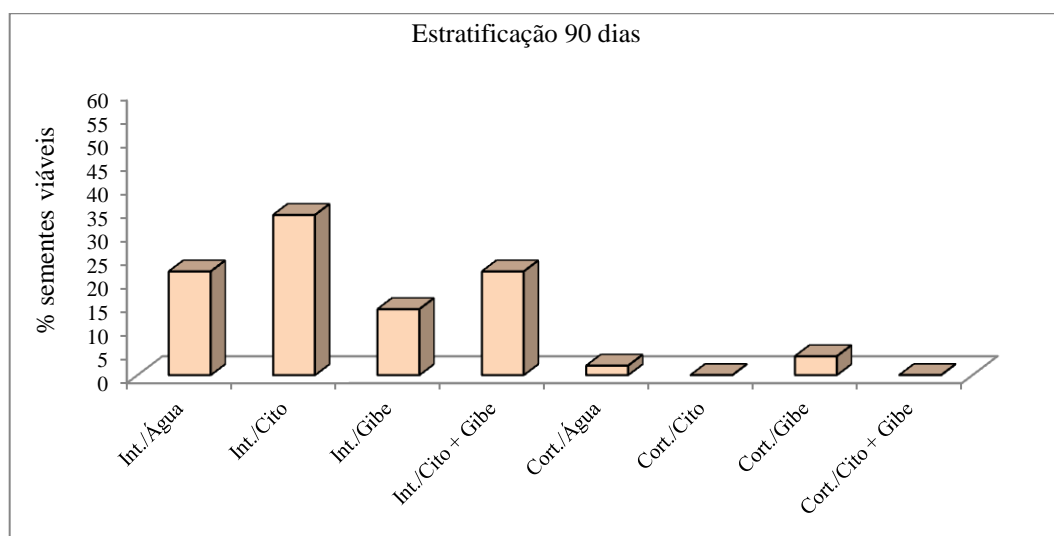
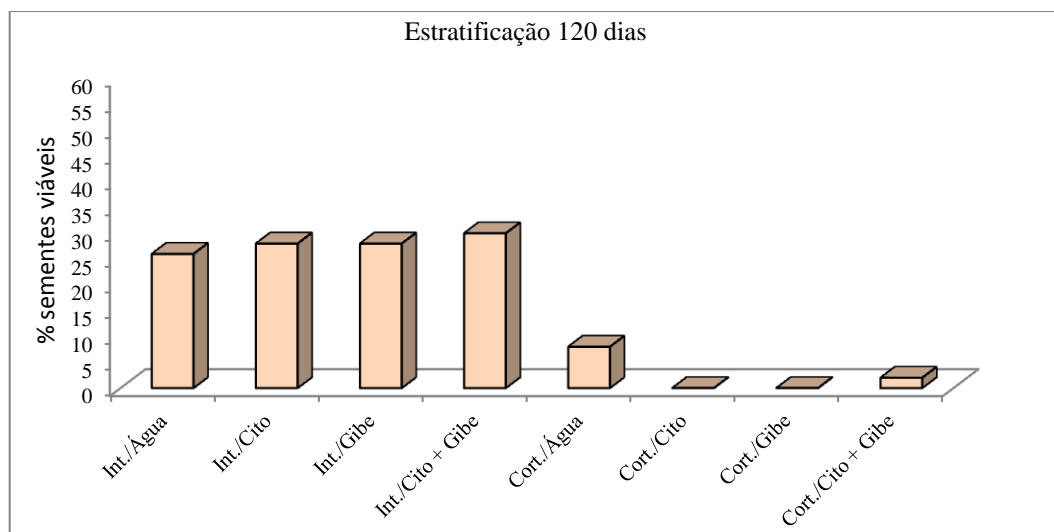


Figura 6- Porcentagem de sementes viáveis pelo teste de tetrazólio em função dos tratamentos para superação de dormência e estratificação.

O resultado do teste de tetrazólio para os tratamentos com 120 dias de estratificação e 30 dias de teste de germinação (figura 7) é semelhante aos observados nas Figuras 3,5 e 6. Em que o tratamento com sementes inteiras apresentou valores de viabilidade maior do que os demais. Com relação a imaturidade do embrião o tratamento que apresentou melhor resultado foi o com imersão em citocinina + giberelina seguido de imersão em giberelina e imersão em citocinina.

Figura 7- Porcentagem de sementes viáveis pelo teste de tetrazólio em função dos tratamentos para superação de dormência e estratificação.



O teste do tetrazólio possibilitou localizar os embriões e avalia-los de acordo com sua coloração e estágio de desenvolvimento, no entanto, foram poucos os tratamentos que apresentaram embriões desenvolvidos com possibilidade de visualização.

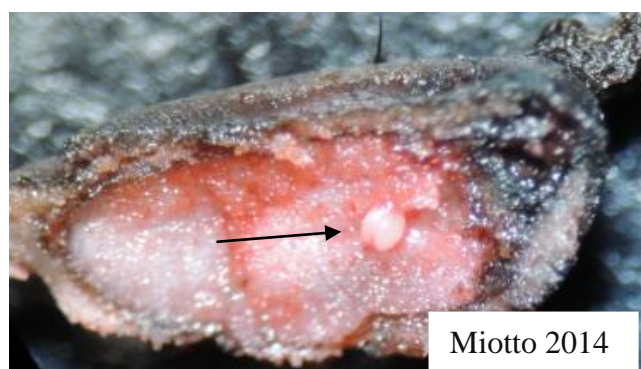
A Tabela 2 mostra o número de embriões visíveis e o estágio de desenvolvimento dos embriões durante o teste de tetrazólio. Nota-se que independentemente do tratamento utilizado

somente foi possível observar embriões no estágio de coração (Tabela 2 e Figuras 8, 9 e 10). O tratamento em que se observou o maior número de embriões foi com 30 dias de estratificação em areia, H_2SO_4 por 1 minuto e imersão em Giberelina, o qual apresentou 8% de embriões desenvolvidos com a coloração rosa, indicando que o embrião estava viável. Em seguida os tratamentos com maior número de embriões visíveis foram 30 dias na estratificação em areia, com tratamento tegumentar com H_2SO_4 e imersão Citocinina + Giberelina e o tratamento com 30 dias na estratificação em areia, tratamento tegumentar com H_2SO_4 e imersão em água. Os demais tratamentos tiveram resultados inferiores a 2 % de embriões viáveis.

Tabelas 2- Porcentagem de embriões visíveis pelo teste de tetrazólio realizados em todos os tratamentos após 150 dias da montagem do experimento. Laranjeiras do Sul, PR, 2014.

Tratamentos	% Embrião vermelho	% Embrião rosa
H_2SO_4 / Água/ 30 dias/estrat.	2	2
H_2SO_4 / Giberelina/30 dias/estrat.	0	8
H_2SO_4 / Citocinina + Giberelina/30 dias/estrat.	0	4
Inteira / Água/30 dias/estrat	0	2
Inteira / Citocinina + Giberelina/30 dias/estrat.	0	2
Inteira / Citocinina + Giberelina/60 dias/estrat.	2	0

Figura 8- Embrião no estágio de coração

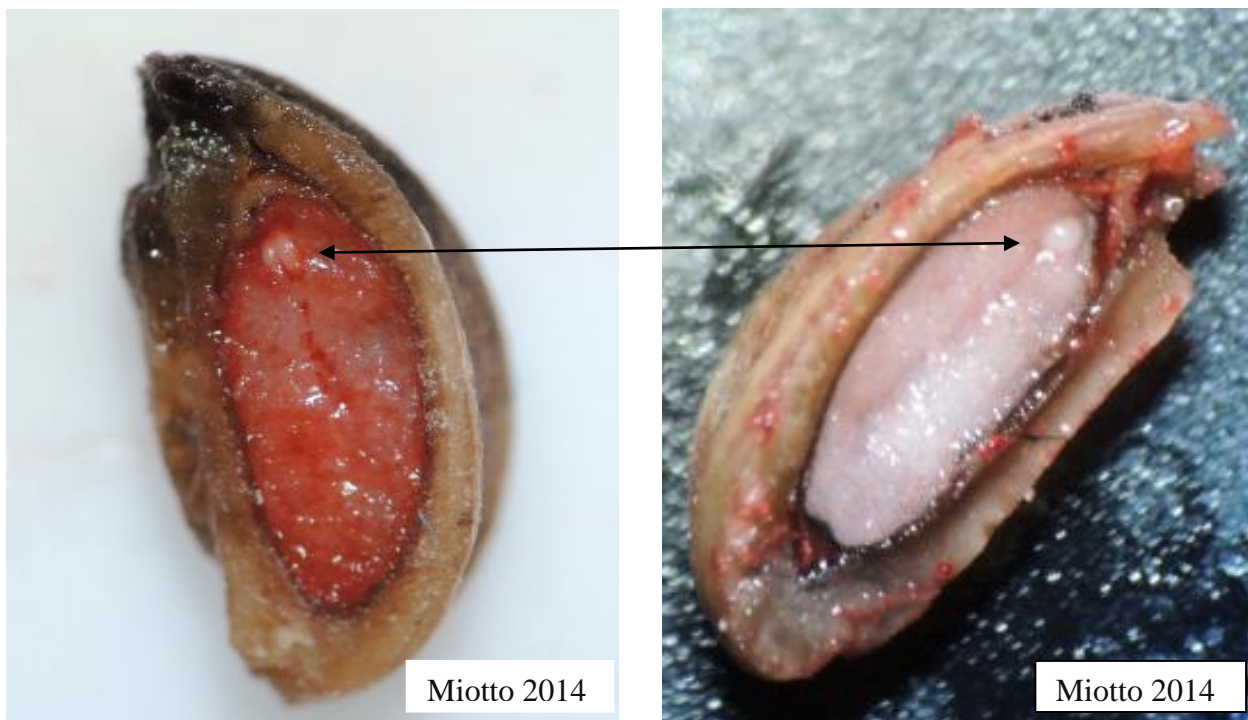


De acordo com Heuser (1990) durante o desenvolvimento da semente o embrião adquire diferentes formas até atingir o estágio maduro são elas: coração, pós-coração, torpedo e maduro (Figura 1). O formato maduro é o que a semente está apta a germinar. Quando ocorre um período de desenvolvimento do embrião após a maturação do fruto, este é definido como embriogênese tardia.

Catapan (1998) ao realizar o teste de tetrazólio em sementes de erva-mate classificou embriões no estágio de pós-coração como sementes potencialmente germináveis, desde que, apresentassem coloração definida pela ação do sal de tetrazólio.

Figura 9- Embrião com coloração vermelha estágio de coração com baixa viabilidade.

Figura 10- Embrião com coloração rosa estágio de coração viável.



Conclusões

Os tratamentos utilizados não são eficientes para superar a dormência de sementes de erva-mate nos períodos em questão.

Os resultados indicam que a semente de erva-mate apresenta dormência combinada, tegumentar e embrionária.

Agradecimentos

Primeiramente aos meus pais pelo apoio concedido no decorrer da minha caminhada. A minha namorada Luciane Neuls, pelo apoio, compreensão e incansável ajuda prestada na elaboração do experimento. Aos colegas de turma Joelcio Vigolo, Diana Baldin, Eliziane Scariot, Lucas Schainhuk, Marcos Genilton Coreia, Douglas Quevedo, Tiago Scolari e Jeferson Smolark e outros que indiretamente auxiliaram nas atividades relacionadas ao projeto. Ao professor orientador Lisandro Tomas da Silva Bonome pela forma paciente de ter me orientado e pela ajuda prestada em todos os momentos que precisei, sempre repassando seu vasto conhecimento, me proporcionando aprendizado a cada etapa desse trabalho. Ao professor Julian Perez Cassarino que me ajudou a conseguir as sementes de erva-mate. Ao agricultor Dimas Gusso por ter doado as sementes. Enfim a todos que de alguma forma auxiliaram e participaram dessa etapa da minha vida.

Referências

ALVES, A. F. et al. **Superação de dormência de sementes de braúna (Schinopsis brasiliense Engl.).** Revista Ciência Agronômica, Fortaleza, 2007.

ARAGÃO et. al., **Fitorreguladores na germinação de sementes e no vigor de plântulas de milho super doce**. Revista Brasileira de sementes, vol. 23 2001.

ARAÚJO et. al., **Determinação de metodologia para superação de dormência em sementes de Sansão-do- campo(Mimosa caesalpiniaefolia BENTH.)** Disponível em: <<http://connepi.ifal.edu.br/ocs/index.php/connepi/CONNEPI2010/paper/viewFile/1101/63>>. Acesso em: 02 dez. 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 2002.

CATAPAN, M.I.S. **Influência da temperatura, substrato e luz na germinação de sementes de Ilex paraguariensis St. Hil.** Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 1998. Dissertação de Mestrado

CUQUEL, F.L., CARVALHO. M. L. M., CHAMMA, **Avaliação de Métodos de Estratificação para Quebra de Dormência de erva-mate**. Scientia Agricola, 1994. Disponível em:< http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-90161994000300006&script=sci_arttext>. Acesso em: 18 ago. 2014.

COSTA, P, A. et, al. **Quebra de dormência em sementes de Adenanthera pavonina L** Trop., Goiânia, 2010. Disponível em: www.agro.ufg.br/pat . Acesso em: 12 out. 2014.

CUNHA, G.G.; FERREIRA, A.G. **Viabilidade de sementes de erva-mate**. Ciência e Cultura, São Paulo, 1987 Disponível em : <<http://www.readcube.com/articles/10.1590/S0103-90161994000300006>>. Acesso em: 12 jun. 2014.

DANIEL, O. **Erva-mate: sistema de produção e processamento industrial**. Dourados, MS: UFGD ; UEMS, 2009. Disponível em: <<http://www.ufgd.edu.br/.../erva-mate-sistema-de-producao-e-processamento-industrial>>. Acesso em: 15 abr. 2014.

DOLCE, N. R., MROGINSKI, L. A., REY, H. Y., **Enhanced Seed Germination of Ilex dumosa R. (Aquifoliaceae) through In Vitro Culture of Cut Pyrenes**. Disponível em: <hortsci.ashspublications.org/content/46/.../278.abstra...>. Acesso em: 20 Abr. 2014.

FRANCO, E. T. H., FERREIRA, A. G. **Tratamentos pré-germinativos em sementes de Didymopanax morototoni (Aubl.) Dcne. et Planch** Ciência Florestal, 2002.

FOWLER, J. A. P., STURION, J. A. **Aspectos da formação do fruto e da semente na germinação da erva-mate**. Colombo: Embrapa Florestas, 2000, p.1-5 (Comunicado técnico,45). Disponível em: <www.cnpf.embrapa.br/publica/comuntec/edicoes/com_tec45.pdf>. Acesso em: 20 Abr. 2014.

HEUSER, E D. **Ilex paraguariensis St. Hil. Endosperma e embrião durante a embriogênese tardia**. Porto Alegre, 1990. Dissertação (Mestrado em Botânica). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Curso de Pósgraduação em Botânica.

LEONEL,S. **Efeitos de fitorreguladores e do nitrato de potássio, na germinação de sementes e no crescimento do porta-enxerto de limoeiro `Cravo' (Citrus limonia Osbeck)**. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista.

MAGDE DE, L. O., DAVIDE, A. C., CARVALHO, M. A. **Avaliação de métodos para quebra da dormência e para a desinfestação de sementes de canafístula.** Revista Árvore, , 2003. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-67622003000500000>. Acesso em: 20 ago. 2014

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

MEDEIROS, A. C. de S. **Dormência de sementes de erva-mate (*Illex paraguariensis*).** Colombo: Embrapa- CNPF, 1998. 25p. (Embrapa- CNPF. Documento, 36). Disponível em:<<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/17051/1/doc36.pdf>>. Acesso em: 15 jul. 2014.

NASSIF, S. M. L.; PEREZ, S. C. J. G. A. **Germinação de sementes de amendoim-do-campo (*Ptetogyne nitens* Tul.): Influência dos tratamentos para superar a dormência e profundidade de semeadura.** Revista Brasileira de Sementes, Brasília, 1997.

NOGUEIRA, A.C. **Coleta, manejo, armazenamento e dormência de sementes.** Embrapa Floresta, 2002. Disponível em : < www.bdpa.cnptia.embrapa.br/busca?b=pc&id...>. Acesso em: 19 Abr. 2014.

PEREIRA, FOWLER, J. A.; BIANCHETTI, A. **Dormência em sementes florestais.** Revista Varia Scientia, 2003. Disponível em: <<http://www.cnpf.embrapa.br/servicos/publicacoes/gratuita/documentos/docum40.pdf>> Acesso em: 13 jun 2014.

PEREIRA, A. V. et al. **Efeitos do tempo de imersão, da concentração de ácido giberélico e da planta-matriz na germinação de pequi.** Planaltina: Embrapa Cerrados, 2004. Disponível em: <<https://www.google.com.br/url>>. Acesso em: 13 ago. 2014.

POMPELLI, M. F., **Citocininas e auxinas.** Universidade Federal de Pernambuco cento de ciências biológicas departamento de botânica. Disponível em: <https://www.ufpe.br/lev/images/downloads/auxinas_citocininas.pdf> . Acesso em 20 nov. 2014.

SCHAPARINI, P. S., VIECELLI, C. A. **Superação de dormência de sementes de erva mate.** Cascavel, 2011. Disponível em: <www.fag.edu.br/graduacao/agronomia/csvolume44/15.pdf>. Acesso em: 20 Mai. 2014.

SEIFFERT, N. F., **Métodos de escarificação de sementes de leguminosas forrageiras tropicais.** EMBRAPA-CNPGC 2009, Disponível em: <<http://www.bdpa.cnptia.embrapa.br/>>. Acesso em: 02 dez. 2014.

SILVA, A. J. C., et al. **Quebra de dormência de sementes de *Erythrina crista-galli*.** Boletim de Pesquisa Florestal, Colombo, 2006.

SMIDERLE, O. J., SOUSA, R. DE C. P., **Dormência em sementes de paricarana (*Bowdichia virgilioides* Kunth - Fabaceae - Papilionidae)** Rev. bras. sementes vol.25 no.1 Pelotas July 2003. Disponível em:< http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-31222003000100012&script=sci_arttext>. Acesso em: 01 dez 2014.

TAIZ, L., ZEIGER, E., **Fisiologia Vegetal.** Tradução SANTARÉM, E. R., et al. 4 ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.

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, Curitiba, 1997. Disponível em: <<http://ojs.c3sl.ufpr.br/ojs/index>>. Acesso em: 01 dez 2014.

ZANON, A., **Produção de Sementes de Erva-Mate.** Curitiba, EMBRAPA - CNPF, 1988. Circular Técnica, 16. Disponível em: <<http://www.cnpf.embrapa.br/publica/circtec/edicoes/circ-tec16.pdf>>. Acesso em: 02 dez. 2014.

RUDINEI MIOTTO

**Métodos para a quebra de dormência de sementes
de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) St. Hill.**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação apresentado como requisito
para obtenção de grau de Bacharel em Agronomia com Ênfase em Agroecologia
da Universidade Federal da Fronteira Sul – Campus Laranjeiras do Sul (PR)

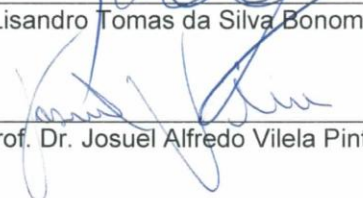
Orientador: Prof. Dr. Lisandro Tomas da Silva Bonome

Aprovado em: 17/12/2014

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Lisandro Tomas da Silva Bonome – UFFS



Prof. Dr. Josuel Alfredo Vilela Pinto



Prof. Julian Perez Cassarino