

**EFEITO DE PRÉ-TRATAMENTOS NA GERMINAÇÃO DE
SEMENTES DA ESPÉCIE
*COREMA ALBUM L. (SUBSP. ALBUM)***

Marta Sofia Sousa Santos

Dissertação para a obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Agronómica – Hortofruticultura e Viticultura

Orientador: Doutora Cristina Maria Moniz Simões de Oliveira

Coorientador: Doutor Pedro Nogueira Brás de Oliveira

Júri:

Presidente: Doutor José Luís Monteiro Teixeira, Professor Associado do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa

Vogais: Doutora Maria Dalila Paula Silva Lourenço do Espírito Santos, Investigadora Coordenadora do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa

Vogais: Doutor Pedro Nogueira Brás de Oliveira, Investigador Auxiliar do Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária

“Saber que sabemos o que sabemos, e saber que não sabemos o que não sabemos, isso é o conhecimento verdadeiro.”

Nicolau Copérnico

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Doutora *Cristina Maria Moniz Simões de Oliveira*, agradeço a dedicação, o rigor, o olhar crítico e sobretudo o carinho com que me envolveu durante todo este percurso.

Ao meu coorientador, Doutor *Pedro Nogueira Brás de Oliveira*, agradeço a oportunidade, a confiança depositada no meu trabalho, o entusiasmo transmitido, o empenho na supervisão e rigor científico.

À Doutora *Maria Teresa Moreira Valdiviesso*, agradeço a disponibilidade, a colaboração e a amizade ao longo da execução deste trabalho.

À *Cândida Trindade* e À *Catarina Parente*, agradeço a amizade, a ajuda prestada e a simpatia.

Ao Projeto Europeu *EUBerry* (Programa 7, Número 265942) e ao INIAV, I.P., *Unidade Estratégica de Investigação e Serviços de Sistemas Agrários e Florestais e Sanidade Vegetal*, Quinta do Marquês (Oeiras), agradeço a possibilidade de tornar exequível o meu trabalho.

A todos aqueles com quem aprendi e que contribuíram para o meu desenvolvimento pessoal e académico, o meu muito obrigado.

RESUMO

A espécie *Corema album* (Ericaceae) endêmica das dunas da costa atlântica da Península Ibérica tem a possibilidade de ser englobada no grupo dos pequenos frutos. Tendo em conta o interesse agronómico e a possibilidade de introdução no mercado desta espécie, caracterizou-se populações de *C. album* localizadas ao longo da sua área de distribuição. Os resultados demonstraram diferenças significativas em todas as características, entre origens. Testou-se, também, o efeito de pré-tratamentos na germinação de sementes de *C. album* (subsp. *album*). As sementes foram colhidas na Comporta e Duna de Quiaios em 2011, e Aldeia do Meco em 2011 e 2012. Os resultados demonstraram que existe uma variação na percentagem de germinação de sementes provenientes de locais diferentes mas do mesmo ano de colheita, bem como de sementes da mesma localização mas anos diferentes de colheita. A escarificação química (30, 60 e 120 minutos) seguida de uma imbibição das sementes com ácido giberélico (1000 ppm) promoveu a germinação de sementes de *C. album* tendo a maior percentagem de germinação sido observada na Aldeia do Meco 2011 (30,3%), após 175 dias. Os resultados sugerem que as sementes apresentam dormência morfofisiológica. Considerando as 4600 sementes colhidas: 54,5% quebraram o episperma, 7,4% germinaram e 0,1% das plântulas obtidas sobreviveram.

Palavras-chave: *Corema album*, dormência das sementes, germinação das sementes, pequenos frutos, pré-tratamentos, sobrevivência de plântulas

ABSTRACT

Corema album (Ericaceae) endemic of the Atlantic dunes of the Iberian Peninsula has the possibility to become a new niche berry crop. Considering the agronomic and market possibilities for this specie we characterized *C. album* populations along its biogeographical area. The results show that different seeds characteristics differ significantly between sites. We also tested the effect of pretreatments on the germination of *C. album* seeds (subsp. *album*). Seeds were collected from Duna de Quiaios in 2011, from Comporta in 2011 and Aldeia do Meco in 2011 and in 2012. The results show that there is site-to-site variation in the same year and year-to-year variation in a particular site in percentage of germinated seeds. Acid scarification (30, 60 and 120 minutes) followed by 1000 ppm of gibberellic acid was the most effective pretreatment in breaking dormancy of *C. album* and this pretreatment promote the best germination from seeds collected from Aldeia do Meco 2011 (30.3%) after 175 days. Our results suggest that the seeds had morphophysiological dormancy. Considering the 4600 seeds collected: 54.5% had ruptured the seed coat, 7.4% had germinated and seedling survival was 0.1%.

Keywords: *Corema album*, seed dormancy, seed germination, new berry crop, pretreatments, seedling survival

EXTENDED ABSTRACT

Corema album (L.) D. Don (Ericaceae) is a dioecious shrub, endemic of the Atlantic dunes of the Iberian Peninsula, spread along the coast from Finisterre in the NW of Galicia to Gibraltar. Female plants produce white berries in summer, considered to be mildly acidic with a lemony flavor, rich in water and antioxidants, which are edible and very refreshing. Based on this, *Corema album* has the possibility to become a new niche berry crop.

Considering the agronomic and market possibilities for this specie, initial breeding would be by mass clonal selection on plants grown from seed collected from populations in their native habitat. This populations need to be characterized and plants selected for large fruits, good fruit quality and small seeds. So, the initial research step is the development of a seed germination protocol.

In this study we characterized *C. album* populations along its biogeographical area (Dunas de Mira, Duna de Quiaios, São Pedro de Moel, Aldeia do Meco, Comporta, Pego and Lagoa de Santo André). Different seeds characteristics differ significantly ($p < 0.000$) between sites, showing that there was considerable variability among sites.

We also tested the effect of pretreatments on the germination of *Corema album* seeds (subsp. *album*). Seeds of *C. album* were collected from Duna de Quiaios in 2011, from Comporta in 2011 and Aldeia do Meco in 2011 and in 2012. Four replications of 25 seeds each were used for each pretreatment. Seeds were placed on one sheet of filter paper moistened with distilled water in 9 cm diameter Petri dishes and incubated at 25/15°C. Seeds were counted and removed during every inspection and seeds were considered to have germinated when a 1 mm long radicle emerged.

In the first pretreatment, seeds were scarified with concentrated sulfuric acid for 30, 60 and 120 minutes. Seeds with no acid scarification were used as a control. The results show that seeds collected from Aldeia do Meco in 2011 germinated better than all other seeds collected. Although the mean percentage of germinated seeds from Aldeia do Meco 2011 with 30 minutes scarified (26.0%) was significantly better than the control (7.0%). However it was observed that mean percentage of seeds that germinated from Aldeia do Meco 2011 after 30 minutes scarification was not significantly different than the mean percentage of seeds that germinated after 60 and 120 minutes scarification. This suggests that application of acid scarification for 30 minutes is a promising method for improving seeds germination. Control seeds had germinated after 135 days and 2.8% of the seeds germinated after 191 days. The results show that seeds were dormant. In the second pretreatment, seeds from Aldeia do Meco 2012 at different stages of fruit maturation were scarified with concentrated sulfuric acid for 30 minutes. It was found in this experiment that the stage of fruit maturation did not influence germination. In the third pretreatment, seeds were scarified with concentrated sulfuric acid for 30 minutes followed by warm stratification (2 months) followed by cold stratification (2 months). This pretreatment did not promote germination, compared to pretreatment with concentrated sulfuric acid

for 30 minutes. On the other hand, the fourth pretreatment, acid scarification (30, 60 and 120 minutes) followed by 1000 ppm of gibberellic acid was highly effective in breaking dormancy of *C. album* and this pretreatment promote the best germination of *C. album* from seeds collected from Aldeia do Meco 2011 (30.3% of germination) after 175 days. Although, the fifth pretreatment, acid scarification (30, 60 e 120 minutes) plus 1000 ppm of gibberellic acid plus 0.5% of potassium nitrate increased germination percentages of *C. album*, specialty in seeds collected from Aldeia do Meco 2011 (28.0%) after 161 days. The duration of scarification was not significantly different between 30, 60 or 120 minutes, for the fourth and fifth pretreatment. So, 30 minutes is appropriate scarification duration to promote germination.

The results show that there is site-to-site variation in the same year and year-to-year variation in a particular site in percentage of germinated seeds. These results suggest that the overall probability of germination for a seed collected from Aldeia do Meco in 2011 is more than that of seeds collected from Comporta in 2011, from Duna de Quiaios in 2011 and from Aldeia do Meco in 2012.

Also, it was observed that rupture of the seed coat and rupture of the endosperm are two sequential events during the germination of *C. album*. These stages are followed by radicle emergence.

Because dormancy was not due to impermeability of the stony endocarp surrounding each seed, seeds did not have physical or combinational dormancy. Further, it was observed that endosperm did grow prior to radicle emergence. This suggests that seeds had underdeveloped embryos. However it is necessary to measure seeds and embryos lengths before and during the germination studies, to determine if fresh seeds of *C. album* have underdeveloped embryos. Based on dormancy-breaking pretreatments and response to gibberellic acid to promote germination, seeds had some type of physiological dormancy. Our results suggest that the seeds had morphophysiological dormancy.

Considering the 4600 seeds collected: 54.5% had ruptured the seed coat, 7.4% had germinated and seedling survival was 0.1%. These results clearly show that germination and seedling survival of *C. album* was very low.

Finally, it is necessary to invest in new protocols to improve germination in order to obtain seedlings for the possibility of *Corema album* become a new berry crop.

Keywords: *Corema album*, seed dormancy, seed germination, new berry crop, pretreatments, seedling survival

ÍNDICE

RESUMO.....	i
ABSTRACT	ii
EXTENDED ABSTRACT	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
ÍNDICE DE QUADROS	ix
ABREVIATURAS, ACRÔNIMOS, SIGLAS E SÍMBOLOS.....	xii
0. INTRODUÇÃO	1
1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
1.1. ESPÉCIE <i>COREMA ALBUM</i>	3
1.1.1. DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA E ECOLOGIA.....	3
1.1.2. DESCRIÇÃO DA ESPÉCIE	4
1.1.3. COMPOSIÇÃO QUÍMICA E CONSUMO DOS FRUTOS.....	5
1.2. A SEMENTE	6
1.2.1. DESENVOLVIMENTO DA SEMENTE	6
1.2.2. RESERVAS NUTRITIVAS DA SEMENTE	7
1.3. GERMINAÇÃO DE SEMENTES.....	8
1.3.1. FATORES QUE AFETAM A GERMINAÇÃO	9
1.3.2. TESTES DE VIABILIDADE	13
1.3.3. DORMÊNCIA E QUEBRA DE DORMÊNCIA	14
1.4. ESTABELECIMENTO DA PLÂNTULA	17
1.5. GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE <i>COREMA ALBUM</i>	18
2. MATERIAL E MÉTODOS	20
2.1. ÁREAS E MATERIAL VEGETAL EM ESTUDO.....	20
2.2. CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO DAS SEMENTES	21
2.3. CARATERIZAÇÃO DAS SEMENTES	21
2.4. GERMINAÇÃO DE SEMENTES.....	22
2.4.1. PREPARAÇÃO E IMBIBIÇÃO DAS SEMENTES	22
2.4.2. PRÉ-TRATAMENTOS.....	22
2.4.3. ANÁLISE E EXPRESSÃO DOS RESULTADOS.....	24

2.4.4. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	26
2.5. ESTABELECIMENTO E SOBREVIVÊNCIA DE PLÂNTULAS	28
2.5.1. INSTALAÇÃO DOS ENSAIOS	28
2.5.2. ANÁLISE E EXPRESSÃO DOS RESULTADOS.....	29
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
3.1. CARACTERÍSTICAS DAS SEMENTES.....	30
3.2. GERMINAÇÃO DE SEMENTES.....	32
3.2.1. PESO DAS SEMENTES UTILIZADAS NOS ENSAIOS	32
3.2.2. EFEITO DOS PRÉ-TRATAMENTOS NA GERMINAÇÃO.....	34
3.3. ESTABELECIMENTO E SOBREVIVÊNCIA DE PLÂNTULAS	60
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	63
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65
ANEXO 1 – Ficha técnica das pastilhas de turfa Jiffy-7 [®] prensadas, corrigidas e fertilizadas.	71
ANEXO 2 – Ficha técnica do substrato Siro [®] Mirtilo.....	72
ANEXO 3 – Peso (mg) de sementes hidratadas extraídas de bagas brancas, provenientes da Aldeia do Meco colhidas em 2011 e 2012, Comporta e Duna de Quiaios, para cada Ensaio (1.1., 1.3., 1.4. e 1.5.).....	73

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 – (a) Arbustos femininos de <i>C. album</i> ; (b) Bagas brancas e (c) Bagas já num estado de maturação avançado (de cor alaranjada).....	20
Figura 2 – Figura correspondente à forma do objeto “Aspect” adquirida pelo software Image-Pro® Plus.....	21
Figura 3 – Sementes de <i>C. album</i> durante o processo de germinação onde se observa: (a) Rutura do episperma (Ampliação 10x); (b) Rutura do episperma e endosperma, bem com a emergência da radícula (Ampliação 15x) e (b) Emergência da radícula pelo micrópilo (Ampliação 15x).....	34
Figura 4 – Sementes de <i>C. album</i> durante o processo de germinação onde se observa, para além da rutura do episperma, o aumento de tamanho do endosperma, sugerindo o desenvolvimento do embrião antes da rutura do endosperma e emergência da radícula (cada quadrado pequeno representa 1 mm ²).....	34
Figura 5 – Efeito do pré-tratamento de escarificação química (ácido sulfúrico) durante 0, 30, 60 e 120 minutos na percentagem média de germinação cumulativa de sementes de <i>C. album</i> por origem a) Comporta; b) Aldeia do Meco 2011; c) Aldeia do Meco 2012 e d) Duna de Quiaios, durante 191 dias em câmara de germinação (N=4 placas de Petri contendo 25 sementes cada, por duração do pré-tratamento. As barras exibem duas vezes o erro padrão da média).....	41
Figura 6 – Efeito do pré-tratamento de escarificação química (ácido sulfúrico) durante 30, 60 e 120 minutos, seguida de uma imbibição das sementes com ácido giberélico na percentagem média de germinação cumulativa de sementes de <i>C. album</i> por origem a) Comporta; b) Aldeia do Meco 2011; c) Aldeia do Meco 2012 e d) Duna de Quiaios, durante 175 dias em câmara de germinação (N=4 placas de Petri contendo 25 sementes cada, por duração do pré-tratamento. As barras exibem duas vezes o erro padrão da média).....	53
Figura 7 – Efeito do pré-tratamento de escarificação química (ácido sulfúrico) durante 30, 60 e 120 minutos, seguida de uma imbibição das sementes com ácido giberélico seguida de uma imbibição com nitrato de potássio na percentagem média de germinação cumulativa de sementes de <i>C. album</i> por origem a) Comporta; b) Aldeia do Meco 2011; c) Aldeia do Meco 2012 e d) Duna de Quiaios, durante 161 dias em câmara de germinação (N=4 placas de Petri contendo 25 sementes cada, por duração do pré-tratamento. As barras exibem duas vezes o erro padrão da média).....	59
Figura 8 – Plântula da espécie <i>C. album</i> a 16/07. (a) e (b) Plântula anteriormente ao seu estabelecimento, tendo os cotilédones encerrados pelo tecido de reserva, o endosperma, e (c) Plântula estabelecida à superfície da pastilha de turfa, apresentando os cotilédones semiabertos. ...	60
Figura 9 – Planta da espécie <i>C. album</i> com as primeiras folhas verdadeiras em diferentes datas: (a) 29/08; (b) 9/09 e (c) 27/09.....	61

Figura 10 – Planta da espécie *C. album* com as primeiras folhas verdadeiras em diferentes datas: (a) 29/08; (b) 9/09 e (c) 27/09.61

ÍNDICE DE QUADROS

Quadro 1 – Data de colocação das placas de Petri referentes a cada ensaio, em câmara de germinação.....	24
Quadro 2 – Características (área, diâmetro maior, diâmetro menor e forma) de sementes secas extraídas de bagas brancas, provenientes de Santo André, Pego, Comporta, Aldeia do Meco, São Pedro de Moel, Duna de Quiaios e Dunas de Mira.	31
Quadro 3 – Percentagem de sementes com episperma quebrado, por origem (Aldeia do Meco colhidas em 2011 e 2012, Comporta e Duna de Quiaios) e duração do pré-tratamento de escarificação química (30, 60, 120 minutos e controlo), após 191 dias em câmara de germinação.	36
Quadro 4 – Percentagem de sementes com radícula <1 mm e sementes com radícula ≥1 mm, provenientes da Aldeia do Meco colhidas em 2011 e 2012, Comporta e Duna de Quiaios, e tendo como pré-tratamento a escarificação química (30, 60, 120 minutos e controlo), após 191 dias em câmara de germinação.....	36
Quadro 5 – Percentagem de sementes com radícula <1 mm e sementes com radícula ≥1 mm, correspondentes a cada duração (30, 60, 120 minutos e controlo) do pré-tratamento de escarificação química, após 191 dias em câmara de germinação.	37
Quadro 6 – Percentagem de sementes germinadas (radícula ≥1 mm), por origem (Aldeia do Meco colhidas em 2011 e 2012, Comporta e Duna de Quiaios) e duração do pré-tratamento de escarificação química (30, 60, 120 minutos e controlo), após 191 dias em câmara de germinação.	38
Quadro 7 – Efeito do pré-tratamento de escarificação química durante 0, 30, 60 e 120 minutos na germinação de sementes, provenientes da Aldeia do Meco colhidas em 2011 e 2012, Comporta e Duna de Quiaios, após 191 dias em câmara de germinação.	40
Quadro 8 – Percentagem de sementes com episperma quebrado, provenientes de bagas brancas e bagas em estado de maturação avançado (maduras) da Aldeia do Meco colhidas em 2012, e tendo como pré-tratamento a escarificação química (30 minutos), após 182 dias em câmara de germinação.	42
Quadro 9 – Percentagem de sementes com radícula <1 mm e sementes com radícula ≥1 mm, provenientes de bagas brancas e bagas em estado de maturação avançado (maduras), da Aldeia do Meco colhidas em 2012, e tendo como pré-tratamento a escarificação química (30 minutos), após 182 dias em câmara de germinação.	43
Quadro 10 – Percentagem de sementes com episperma quebrado, provenientes da Aldeia do Meco colhidas em 2011 e 2012, Comporta e Duna de Quiaios, e tendo como pré-tratamento a escarificação química (30 minutos) seguida da estratificação quente seguida de outra fria, após 182 dias em câmara de germinação.....	44

Quadro 11 – Percentagem de sementes com radícula <1 mm e sementes com radícula ≥1 mm, provenientes da Aldeia do Meco colhidas em 2011 e 2012, Comporta e Duna de Quiaios, e tendo como pré-tratamento a escarificação química (30 minutos) seguida da estratificação quente seguida de outra fria, após 182 dias em câmara de germinação.	45
Quadro 12 – Percentagem de sementes com episperma quebrado, provenientes da Aldeia do Meco colhidas em 2011 e 2012, Comporta e Duna de Quiaios, e tendo como pré-tratamento a escarificação química (30, 60 e 120 minutos) seguida de uma imbibição das sementes com ácido giberélico, após 175 dias em câmara de germinação.	47
Quadro 13 – Percentagem de sementes com episperma quebrado, correspondentes a cada duração (30, 60 e 120 minutos) do pré-tratamento de escarificação química seguida de uma imbibição com ácido giberélico, após 175 dias em câmara de germinação.....	48
Quadro 14 – Percentagem de sementes com radícula <1 mm e sementes com radícula ≥1 mm, provenientes da Aldeia do Meco colhidas em 2011 e 2012, Comporta e Duna de Quiaios, e tendo como pré-tratamento a escarificação química (30, 60, 120 minutos) seguida de uma imbibição das sementes com ácido giberélico, após 175 dias em câmara de germinação.	48
Quadro 15 – Percentagem de sementes com radícula <1 mm e sementes com radícula ≥1 mm, correspondentes a cada duração (30, 60 e 120 minutos) do pré-tratamento de escarificação química seguida de uma imbibição com ácido giberélico, após 175 dias em câmara de germinação.....	49
Quadro 16 – Efeito do pré-tratamento de escarificação química durante 30, 60 e 120 minutos seguida de uma imbibição das sementes com solução de ácido giberélico (1000 ppm) na germinação de sementes, provenientes da Aldeia do Meco colhidas em 2011 e 2012, Comporta e Duna de Quiaios, após 175 dias em câmara de germinação.....	52
Quadro 17 – Percentagem de sementes com episperma quebrado, por origem (Aldeia do Meco colhidas em 2011 e 2012, Comporta e Duna de Quiaios) e duração do pré-tratamento de escarificação química (30, 60, 120 minutos) seguida de uma imbibição das sementes com ácido giberélico seguida de uma imbibição com nitrato de potássio, após 161 dias em câmara de germinação.....	55
Quadro 18 – Percentagem de sementes com radícula <1 mm e sementes com radícula ≥1 mm, provenientes da Aldeia do Meco colhidas em 2011 e 2012, Comporta e Duna de Quiaios, e tendo como pré-tratamento a escarificação química (30, 60, 120 minutos) seguida de uma imbibição das sementes com ácido giberélico seguida de uma imbibição com nitrato de potássio, após 161 dias em câmara de germinação.....	55
Quadro 19 – Percentagem de sementes com radícula <1 mm e sementes com radícula ≥1 mm, correspondentes a cada duração (30, 60, 120 minutos e controlo) do pré-tratamento de escarificação química seguida de uma imbibição das sementes com ácido giberélico seguida de uma imbibição com nitrato de potássio, após 161 dias em câmara de germinação.....	56

Quadro 20 – Efeito do pré-tratamento de escarificação química durante 30, 60 e 120 minutos seguida de uma imbibição das sementes com solução de ácido giberélico (1000 ppm) seguida de uma imbibição com nitrato de potássio (0,5%) na germinação de sementes, provenientes da Aldeia do Meco colhidas em 2011 e 2012, Comporta e Duna de Quiaios, após 161 dias em câmara de germinação.....	58
Quadro 21 – Peso (mg) de sementes hidratadas extraídas de bagas brancas, provenientes da Aldeia do Meco colhidas em 2011 e 2012, Comporta e Duna de Quiaios (Ensaio 1.1.).	73
Quadro 22 – Peso (mg) de sementes hidratadas extraídas de bagas brancas, provenientes da Aldeia do Meco colhidas em 2011 e 2012, Comporta e Duna de Quiaios (Ensaio 1.3.).	73
Quadro 23 – Peso (mg) de sementes hidratadas extraídas de bagas brancas, provenientes da Aldeia do Meco colhidas em 2011 e 2012, Comporta e Duna de Quiaios (Ensaio 1.4.).	74
Quadro 24 – Peso (mg) de sementes hidratadas extraídas de bagas brancas, provenientes da Aldeia do Meco colhidas em 2011 e 2012, Comporta e Duna de Quiaios (Ensaio 1.5.).	74

ABREVIATURAS, ACRÓNIMOS, SIGLAS E SÍMBOLOS

Consult.	Consultado a
DPI	<i>Dots Per Inch</i>
ed.	Edição
ed. lit.	Editor(s) Literário(s)
Fasc.	Fascículo
INIAV	Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária
I.P.	Instituto Público
IVG	Índice de Velocidade de Germinação
N	Norte
NW	Noroeste
N.º	Número
p.	Página(s)
ppm	Partes por Milhão
subsp.	Subespécie
TGM	Tempo de Germinação Médio
T50	Número de Dias Necessário para Atingir 50% da Germinação Final
Vol.	Volume
v/v	% Volume por Volume
W	Oeste
Ø	Diâmetro
°C	Grau Celsius
®	Marca Registada
α	Nível de Significância
π	Pi
/	Por

0. INTRODUÇÃO

A espécie *Corema album* (L.) D. Don, vulgarmente designada de camarinha ou camarinheira, endêmica das dunas da costa atlântica da Península Ibérica (naturalizada em França) é uma de duas espécies pertencente ao género *Corema* (L.), inserida na subfamília Ericoideae, na família Ericaceae e na ordem Ericales. A *Corema album* ($2n = 26$) apresenta duas subespécies: subsp. *azoricum* Pinto da Silva e a subsp. *album* (subespécie estudada e referida ao longo do trabalho como *C. album*) (OLIVEIRA e DALE, 2012). A área de distribuição da subespécie *album* estende-se desde o Cabo Finisterra no Noroeste da Galiza, até às proximidades de Gibraltar como limite meridional, sendo típica do litoral, ocupando areias mais ou menos móveis em sistemas dunares ou areias sobre arribas rochosas (CLAVIJO *et al.*, 2002; DIAZ BARRADAS *et al.*, 2000).

A dinâmica e ecologia desta espécie é pouco conhecida, e o seu habitat natural apresenta-se cada vez mais reduzido e em aparente regressão (DIAZ BARRADAS *et al.*, 2000). A importância da biologia e ecologia desta espécie no estabelecimento de planos de conservação e no conhecimento dos fatores cruciais na regeneração natural, tais como a dispersão, germinação de sementes e sobrevivência das plântulas, está documentada por alguns autores.

Em fruticultura a camarinha deve ser englobada no grupo dos pequenos frutos uma vez que inclui-se sob este nome genérico todos os frutos pequenos de tamanho (“small fruits”) que possuem polpa branda (“soft fruits”), normalmente de forma redonda que são para ser consumidos em fresco, independentemente da estrutura do fruto (P. Oliveira, comunicação pessoal).

Os pequenos frutos são um setor de importância gradual na agricultura portuguesa, tendo em conta o aumento do comércio verificado na última década. A procura por novos pequenos frutos tem sido incessante, com vista a garantir a competitividade no mercado. Os frutos carnudos de *C. album* são bagas mais ou menos esféricas, comestíveis, de sabor agradável e muito refrescante. Consumidos frescos há vários séculos ou inseridos como ingrediente, estes pequenos frutos representam uma possibilidade de mercado a grande escala não só na Península Ibérica mas também a nível mundial, devido à sua cor branca e sabor relativamente ácido, semelhante ao de um limão, pouco frequente num pequeno fruto. As bagas apresentam elevado teor de água e poder antioxidante, para além de constituírem uma boa fonte de compostos fenólicos benéfico para o organismo humano (LEÓN-GONZÁLEZ *et al.*, 2013).

Tendo em conta o interesse agronómico e a possibilidade de introdução no mercado deste pequeno fruto surge uma necessidade urgente em iniciar-se trabalhos de melhoramento da espécie, selecionando populações com características desejáveis (elevada produtividade, bagas brancas de boa qualidade, com grandes dimensões mas sementes pequenas). Numa primeira fase será necessário fazer o levantamento das diferentes populações ao longo da sua área de distribuição, tendo em conta as características enunciadas. Constituídas as populações base será necessário

proceder à hibridação com vista ao apuramento de novas plantas com características excelentes. Deste modo, um primeiro passo neste caminho será o conhecimento aprofundado sobre o processo de germinação nas sementes desta espécie.

Uma vez que está documentado que a germinação e a sobrevivência de plântulas da espécie *C. album* são difíceis em condições controladas, pretendeu-se caracterizar diferentes populações desta espécie localizadas ao longo da sua área de distribuição e testar o efeito de pré-tratamentos na germinação de sementes através de testes de germinação, em condições controladas de temperatura, humidade relativa e fotoperíodo.

Tendo em conta as dificuldades de sobrevivência das plântulas testou-se, também, o estabelecimento e sobrevivência de plantas recentemente germinadas.

Associado aos ensaios surgem várias questões, tais como: a) A percentagem de sucesso de germinação de sementes nas diferentes origens tendo em conta os pré-tratamentos selecionados e, com isto, aferir a presença dos tipos de dormência nas sementes desta espécie; b) O grau de maturação das bagas influencia a germinação de sementes desta espécie; c) As sementes com maior peso observado nas diferentes origens indicam maior capacidade de germinação; d) A percentagem de sucesso de plântulas estabelecidas e sobreviventes e, com isto, avaliar o sucesso da obtenção de plantas em condições controladas.

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1. ESPÉCIE *COREMA ALBUM*

A espécie *Corema album* (L.) D. Don endêmica das dunas da costa atlântica da Península Ibérica (naturalizada em França) é uma de duas espécies pertencente ao género *Corema* (L.), inserida na subfamília Ericoideae, na família Ericaceae e na ordem Ericales. A outra espécie do género, *Corema conradii* (Torr.) Torr. ex Loudon é endêmica da costa oriental dos Estados Unidos da América (OLIVEIRA e DALE, 2012).

A *Corema album* (2n = 26) apresenta duas subespécies: subsp. *azoricum* Pinto da Silva e a subsp. *album* (subespécie estudada e referida ao longo do trabalho como *C. album*) (OLIVEIRA e DALE, 2012).

1.1.1. DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA E ECOLOGIA

A área de distribuição da subespécie *album* estende-se desde o Cabo Finisterra no Noroeste da Galiza, até às proximidades de Gibraltar como limite meridional, sendo típica do litoral, ocupando areias mais ou menos móveis em sistemas dunares ou areias sobre arribas rochosas (CLAVIJO *et al.*, 2002; DIAZ BARRADAS *et al.*, 2000). Segundo CALVIÑO-CANCELA (2005) e CLAVIJO *et al.* (2002) só existem duas zonas com populações extensas da espécie apresentando indivíduos de todas as classes de idade, uma no litoral português entre Nazaré e Ovar, e a outra na costa de Huelva (Espanha) no sistema de dunas do Asperillo (Parque Natural de Doñana).

A subespécie *azoricum* ocorre em seis das nove ilhas açorianas (Faial, Graciosa, Pico, São Jorge e São Miguel) até 200 metros de altitude (FRANCO, 1984). Esta subespécie coloniza lavas e cinzas vulcânicas (DIAZ BARRADAS *et al.*, 2000).

Segundo DIAZ BARRADAS *et al.* (2000) a dinâmica e ecologia desta espécie é pouco conhecida e o seu habitat natural apresenta-se cada vez mais reduzido e em aparente regressão. CLAVIJO *et al.* (2002) e DIAZ BARRADAS *et al.* (2000) apontam a hipótese da regressão destas populações estar relacionada com a atuação pouco conservadora do Homem em todo o litoral ou por outro lado ter uma componente biológica relacionada com fatores climáticos e bióticos como, por exemplo, no repovoamento com espécies invasoras (acácia, chorões, pinheiro, entre outros).

De acordo com MARQUES (2007) a *C. album* faz parte da etapa madura das dunas fixas mediterrânicas, ocorrendo sobretudo a sul do Douro, integrando comunidades dominadas por *Juniperus turbinata* e *Juniperus navicularis*, sobretudo nas dunas fixas a sul do rio Mondego. Segundo a mesma autora, nestas comunidades nanofanerófiticas são comuns *Rubia peregrina*, *Asparagus*

aphyllus, *Smilax aspera*, *Rhamnus alaternus*, *Antirrhinum cirringerum*, *Pistacia lentiscus*, *Daphne gnidum*, *Cistus salvifolius*, *Phillyrea angustifolia*, entre outras. Para além disto, por detrás das dunas é comum existir comunidades arenícolas e nanofanerofíticas cuja vegetação quase sempre presente é *Corema album*, *Halimium halimifolium*, *Halimium calycinum*, *Lavandula pedunculata* subsp. *lusitanica*, *Helichrysum italicum* var. *virescens*, *Cistus salvifolius*, *Iberis linifolia* subsp. *welwitschii*, *Lavandula luisieri*, *Lithodora prostrata* subsp. *lusitanica*, *Euphorbia baetica*, que no Costeiro Português são acompanhadas de *Stauracanthus genistoides*, *Ulex europaeus* subsp. *latebracteatus*, *Genista triacanthos* e *Calluna vulgaris* (ÁLVAREZ-CANSINO *et al.*, 2010b; MARQUES, 2007).

Ao longo da área de distribuição das populações de *C. album* o gradiente climático faz-se variar desde a zona termomediterrânea no Sul de Espanha e Portugal, até à zona mesomediterrânea no Norte da Península Ibérica (CLAVIJO *et al.*, 2002).

1.1.2. DESCRIÇÃO DA ESPÉCIE

C. album, vulgarmente designada de camarinha ou camarinheira, é um pequeno arbusto dióico, perene que pode atingir até um metro de altura, com numerosas ramificações com um comprimento que varia entre os 30 e os 75 cm, mantendo-se verde todo o ano (FRANCO, 1984; TUTIN *et al.*, 1972). Casualmente (Vila Real de Santo António no Algarve e Doñana em Huelva) encontram-se arbustos predominantemente masculinos (1-4%) mas que apresentam inflorescências hermafroditas (ZUNZUNEGUI *et al.*, 2006).

O crescimento vegetativo ocorre entre Fevereiro e Julho, podendo crescer 2,5 mm/dia entre Maio e finais de Junho, sendo renovado a partir das gemas com cerca de 25 mm acima do solo (ÁLVAREZ-CANSINO *et al.*, 2010a; OLIVEIRA e DALE, 2012). As plantas masculinas apresentam ramos com um crescimento ereto, enquanto nas femininas o hábito de crescimento é um tanto difuso (FRANCO, 1984).

As folhas, verde escuras, ericóides com 5-12 mm de comprimento x 1(2) mm de largura são lineares, oblongas e duras, com os bordos revirados, sendo convexas superiormente e côncavas inferiormente (GONZÁLEZ, 2001; MARQUES, 2007). As folhas jovens apresentam-se revestidas de pequenas glândulas subsésseis, tornando-se glabras em adultas, que persistem apenas dois anos consecutivos (ÁLVAREZ-CANSINO *et al.*, 2010a; FRANCO, 1984; TUTIN *et al.*, 1972).

De acordo com FRANCO (1984); GONZÁLEZ (2001) e ZUNZUNEGUI *et al.* (2006) as flores, pequenas, apresentam três sépalas pubescentes com 2 mm, três pétalas rosadas de flores masculinas com 3 a 4 mm e três pétalas de flores femininas rudimentares ou nulas (1 mm). Os mesmos autores afirmam que as flores masculinas têm três estames totalmente expostos com 5 a 6 mm, de anteras vermelhas, e as flores femininas com ovário súpero apresentam estilete e estigma vermelho com três lobos linear-oblongos salientes.

A polinização é anemófila, e a floração das plantas masculinas e femininas tem início no final de Fevereiro até ao final de Abril, nunca excedendo um valor, conforme os sexos, de 20 flores pequenas por inflorescência (ÁLVAREZ-CANSINO *et al.*, 2010a; GUITIÁN, MEDRANO e RODRÍGUEZ, 1997). DIAZ BARRADAS *et al.* (2000) citando Guitián, Medrano e Rodríguez (1997) referem que o investimento em estruturas florais é cerca de 1,5 vezes maior nas plantas masculinas que nas femininas, havendo também uma maior proporção de flores masculinas por inflorescência relativamente às femininas. Porém, as plantas femininas investem três vezes mais em estruturas reprodutoras, devido à produção de frutos.

Os frutos carnudos são bagas mais ou menos esféricas com formação em Abril ou Maio, que surgem lateralmente nos ramos devido ao crescimento contínuo do eixo principal (ÁLVAREZ-CANSINO *et al.*, 2010a; FRANCO, 1984). Durante a maturação dos frutos, de Junho a Setembro, as bagas adquirem uma coloração branca ou suavemente rosada com um diâmetro entre 5 a 8 mm, que envolvem normalmente três pirênios, podendo variar entre dois a nove (ÁLVAREZ-CANSINO *et al.*, 2010a; OLIVEIRA e DALE, 2012; ZUNZUNEGUI *et al.*, 2006). Os pirênios (sementes) possuem um episperma lenhoso, extremamente rijo, e uma coloração castanha escura (CLAVIJO *et al.*, 2003). Os frutos podem permanecer no arbusto até Novembro ou Dezembro, de acordo com a localização geográfica em que se encontram (ZUNZUNEGUI *et al.*, 2006).

1.1.3. COMPOSIÇÃO QUÍMICA E CONSUMO DOS FRUTOS

Os frutos de *C. album* são comestíveis, de sabor agradável e muito refrescante. São colhidos e vendidos em mercados locais das zonas litorais, nomeadamente Andaluzia, Galiza e Portugal, apresentando um tempo de vida útil de prateleira até cinco dias, à temperatura ambiente (LEÓN-GONZÁLEZ *et al.*, 2013; OLIVEIRA e DALE, 2012).

Consumidos frescos há vários séculos ou inseridos como ingrediente, estes pequenos frutos representam uma possibilidade de venda não só na Península Ibérica mas também em todo o Mundo, devido à sua cor branca e sabor relativamente ácido, semelhante ao de um limão, pouco frequente num pequeno fruto. Os frutos apresentam elevado teor de água ($\cong 83,41\%$) e constituem uma boa fonte de compostos fenólicos ($1214,4 \pm 122,7$ mg equivalentes de ácido gálico/kg de peso fresco), principalmente de ácidos fenólicos, apresentando, porém, pequenas quantidades de antocianinas (LEÓN-GONZÁLEZ *et al.*, 2013). Para além do elevado poder antioxidante benéfico para o organismo humano, identificado recentemente, tradicionalmente o consumo destas bagas está associado ao combate de estados febris e eliminação de parasitas intestinais, tais como a *Ascaris lumbricoides* (espécie vulgarmente conhecida como lombriga) (GONZÁLEZ, 2001).

As bagas constituem, também, uma importante fonte de alimento para diferentes vertebrados, coelho-bravo, raposa, gaivota-de-patas-amarelas, melro-preto, pequenos répteis e contribui para a dieta do texugo no sul de Espanha (CALVIÑO-CANCELA, 2005; CLAVIJO *et al.*, 2002; COSTA, 2011).

1.2. A SEMENTE

A semente é um primórdio seminal maduro, por regra, fecundado (AGUIAR, 2012a; BEWLEY e BLACK, 1994). A semente madura é constituída por:

a) Episperma, comumente designado de tegumento ou casca da semente. Trata-se da cobertura que envolve a semente, de origem maternal, como resultado do desenvolvimento dos tegumentos do primórdio seminal, com função protetora, reguladora e delimitante (AGUIAR, 2012a). Nas sementes derivadas de primórdios com dois tegumentos a camada externa do episperma designa-se por testa (ou primina) e interna por tégmen (ou secundina) (AGUIAR, 2012a). A camada externa é mais espessa e a interna é membranosa (HARTMANN *et al.*, 1996). O pequeno orifício na superfície do episperma para o exterior designa-se de micrópilo (por onde perfura o tubo polínico no óvulo durante a fecundação), estando a radícula situada na proximidade do mesmo (RUSSELL *et al.*, 2008);

b) Tecidos especializados de reserva, podendo nem sempre estar presentes, tais como: i) Endosperma, que se trata de um tecido de reserva triplóide, com origem total ou parcial em células do saco embrionário e ii) Perisperma, tecido esporofítico, diplóide, de origem maternal (células da nucela), pouco usual nas angiospérmicas (AGUIAR, 2012a);

c) Embrião que diferencia-se a partir do zigoto, isto é, tem origem na célula resultante da união da oosfera com um núcleo espermático (AGUIAR, 2012a). Como estruturas principais do embrião surgem o eixo embrionário e o(s) cotilédono(s), que podem ter ou não função de reserva (BEWLEY e BLACK, 1994). O eixo embrionário é composto pela radícula ou raiz embrionária (esboço de raiz), dois entrenós caulinares, o hipocótilo (que conecta a radícula aos cotilédones) e o epicótilo (que conecta os cotilédones à plúmula), e a plúmula (esboço de caule composto por folhas embrionárias que circundam um meristema apical) (AGUIAR, 2012a). Segundo AGUIAR (2012a), a polaridade embrionária, concebida pelos ápices radicular e caulinar, conservar-se ao longo de todo o ciclo de vida da planta, desde a germinação até à senescência.

1.2.1. DESENVOLVIMENTO DA SEMENTE

O desenvolvimento da semente é reconhecido como o conjunto de modificações fisiológicas e morfológicas que terminam na formação da semente (HARTMANN *et al.*, 1996). Este compreende três etapas (as duas primeiras mais ou menos sobrepostas no tempo): o desenvolvimento do embrião (embriogénese), a diferenciação e acumulação de reservas nutritivas em tecidos especializados, e a maturação das sementes (AGUIAR, 2012b). Esta última, inclui a etapa em que a semente atinge a maturidade fisiológica, isto é, o momento em que a semente não se encontra ligada pelo funículo à planta mãe (HARTMANN *et al.*, 1996). A época ideal de colheita é aquela em que as sementes atingem a maturidade fisiológica, na qual possuem o máximo de matéria seca, capacidade de germinação e vigor (HARTMANN *et al.*, 1996).

A maioria das sementes tolera a desidratação necessária ao seu armazenamento a temperaturas baixas, isto é, as sementes após processo de secagem conseguem apresentar um teor de humidade entre os 2-5% ou mesmo até 0,5%, sem perder viabilidade, conservando-se por períodos mais ou menos longos, dependendo da espécie (BASKIN e BASKIN, 2001). Tais sementes são designadas de sementes ortodoxas. Estas, à medida que amadurecem vão perdendo água e peso sofrendo uma acentuada redução da atividade metabólica, adquirindo tolerância à secura (AGUIAR, 2012b). Segundo AGUIAR (2012b) terminada a maturação, as sementes ortodoxas entram em quiescência, isto é, suspendem o crescimento, qualquer que seja a causa e a duração. Por outro lado, existem sementes, as recalcitrantes, que mantêm elevados teores em água na maturação, tornando-as sensíveis à dessecação e a temperaturas muito baixas, perdendo rapidamente viabilidade (AGUIAR, 2012b).

1.2.2. RESERVAS NUTRITIVAS DA SEMENTE

De acordo com AGUIAR (2012a,b) as reservas nutritivas têm como objetivo alimentar o embrião em crescimento, durante e após a germinação das sementes, até que origine uma plântula autotrófica autónoma. As reservas podem ser constituídas por lípidos, glúcidos e/ou proteínas.

Nas sementes angiospérmicas existem três tipos de reservas nutritivas:

a) Endosperma, tecido de reserva das sementes albuminosas (sementes endospérmicas). Nas monocotiledóneas é mais frequente a sua presença do que nas dicotiledóneas, sendo que as sementes sem endosperma dizem-se exalbuminosas, uma vez que o endosperma foi absorvido pelo embrião em desenvolvimento (AGUIAR, 2012a). Segundo AGUIAR (2012a) o endosperma das sementes albuminosas pode ser quanto à composição oleaginoso, caso as reservas sejam ricas em lípidos, amiláceo apresentando reservas ricas em amido ou proteico, existindo pequenos grânulos proteicos designados de grânulos de aleurona;

b) Cotilédones, que são folhas embrionárias. A existência de cotilédones de grande dimensão com numerosas reservas é devida, maioritariamente, à absorção das reservas acumuladas no endosperma, a partir da formação da semente (AGUIAR, 2012b). As monocotiledóneas têm um cotilédone e as dicotiledóneas, geralmente, dois. As reservas presentes nos cotilédones são desmobilizadas mais rapidamente em direção aos meristemas do embrião, em relação às reservas presentes no endosperma (AGUIAR, 2012b). Deste modo, e segundo AGUIAR (2012b), a germinação tende a ser mais rápida nas sementes cotiledonares do que nas sementes albuminosas;

c) Perisperma, característico das sementes perispérmicas. A nucela destas sementes não se esgota com a diferenciação do saco embrionário e a formação do embrião, pelo que acumula substâncias de reserva, contrariamente ao que ocorre nas sementes cotiledonares e albuminosas (AGUIAR, 2012a).

1.3. GERMINAÇÃO DE SEMENTES

A germinação de sementes define-se como um processo fisiológico irreversível que resulta na retoma do crescimento do embrião de uma semente madura, a partir dos invólucros da mesma (AGUIAR, 2012b; BEWLEY *et al.*, 2013; ESAU, 1977). As sementes quiescentes necessitam de condições ambientais ótimas, possíveis para o genótipo, tais como água, oxigênio, temperatura, presença de luz, entre outras, para germinar (BASKIN e BASKIN, 2004; BEWLEY e BLACK, 1994; FINCH-SAVAGE e LEUBNER-METZGER, 2006). A germinação ocorre após um maior ou menor período de tempo que varia consoante as espécies.

A germinação é um processo que se apresenta dividido em três fases, com início na imbibição de água pela semente que ativa uma sequência de processos metabólicos que conduzem, posteriormente, ao aumento do volume da semente, da mobilização das reservas acumuladas nos cotilédones ou nos tecidos de reserva em direção ao embrião, e rompimento dos tecidos circundantes, dando origem à emergência e alongamento do eixo embrionário (AGUIAR, 2012b; BEWLEY, 1997; BEWLEY e BLACK, 1994).

Fase 1: Imbibição, da semente madura desidratada. Trata-se de um processo físico que está relacionado com a propriedade dos colóides e é controlado pela diferença do potencial hídrico entre a semente e o meio envolvente (MAYER e POLJAKOFF-MAYBER, 1975). Assim, a imbibição é caracterizada pela intensa transferência de água do meio para a semente, levando ao aumento de volume da mesma. Os fatores essenciais que determinam a imbibição de sementes são, deste modo, a composição da semente, a sua permeabilidade e a disponibilidade de água do meio envolvente (MAYER e POLJAKOFF-MAYBER, 1975). Segundo BEWLEY e BLACK (1994) e Mayer e POLJAKOFF-MAYBER (1975) a imbibição não está correlacionada com a viabilidade, isto é, sementes inviáveis também embebem água.

Fase 2: Ativação dos processos metabólicos, necessários ao crescimento do embrião. Após a imbibição, a absorção de água é reduzida ou nula, e a primeira evidência metabólica na semente é o aumento da taxa respiratória, associada à síntese de componentes da membrana mitocondrial. A segunda evidência é a mobilização de reservas com destino ao eixo embrionário, isto é, a presença de enzimas hidrolíticas nas sementes desidratadas faz com que estas rapidamente se tornem ativas com a absorção de água (havendo nova síntese), começando a degradar proteínas, lípidos, hemicelulose, amido, entre outras substâncias de reserva acumuladas na semente (MAYER e POLJAKOFF-MAYBER, 1975).

A síntese proteica ocorre logo após a imbibição da semente madura e embora exista mRNA conservado na semente desidratada, é fundamental a síntese de novos mRNA, pois existe a degradação do conservado após a absorção de água (ESAU, 1977; HARTMANN *et al.*, 1996).

Fase 3: Emergência do eixo embrionário. O embrião ao aumentar de volume, devido à absorção de água, pressiona o episperma que ao não acompanhar o aumento de volume interno, rompe-se,

consoante as espécies. A rutura do episperma e endosperma da semente são dois eventos sequenciais que podem ocorrer durante a germinação, seguindo-se a emergência da radícula. Porém, dependendo das espécies, a radícula pode emergir pelo micrópilo da semente sem que haja rutura do episperma (BEWLEY e BLACK, 1994). Segundo BEWLEY e BLACK (1994) e HARTMANN *et al.* (1996) a emergência da radícula é considerada a primeira evidência visível do processo de germinação. Apenas as sementes viáveis conseguem alcançar esta fase, sendo esta marcada pela rápida absorção de água. Deste modo, a raiz embrionária emerge da semente e uma vez que apresenta um geotropismo positivo, rapidamente penetra no solo (AGUIAR, 2012b). Do ápice caulinar surge, entre outros, o caule e as folhas.

A germinação pode ser de dois tipos: a) Epígea, em que o(s) cotilédono(s) são elevados para fora do solo devido à extensão do hipocótilo ou b) Hipógea, em que o entrenó hipocotilar alonga-se muito pouco e o(s) cotilédono(s) permanecem enterrados ou à superfície do solo (AGUIAR, 2012b).

É comumente aceite que o processo de germinação termina com a emergência da radícula, a partir dos invólucros da semente. Porém, o processo pode ser alargado até à emergência de folhas acima do solo.

1.3.1. FATORES QUE AFETAM A GERMINAÇÃO

A germinação das sementes é um processo onde existe uma grande taxa de mortalidade, sendo os fatores endógenos e exógenos particularmente importantes. Assim, para as sementes germinarem é necessário a presença de condições e fatores favoráveis ao processo, entre os quais se destaca:

- Viabilidade e longevidade de sementes. A longevidade é o período de tempo em que as sementes se mantêm viáveis (MAYER e POLJAKOFF-MAYBER, 1975). Uma semente é considerada de viável quando se encontra viva, apresenta um embrião e endosperma firmes e intatos, de cor e aspeto saudável, e com potencial de originar plântulas normais (GOSLING, 2003). A morfologia da semente, os fatores genéticos, os fatores ambientais e as condições de armazenamento são determinantes na viabilidade de qualquer espécie (MAYER e POLJAKOFF-MAYBER, 1975).

Ao conjunto de sementes viáveis, não germinadas, existentes no solo num determinado período de tempo, é denominado banco de sementes do solo (BASKIN e BASKIN, 2001). O posicionamento das sementes nos locais adequados para germinação e estabelecimento das plântulas trata-se de uma fase crítica no processo de dispersão, afetada por diversos fatores (CHAMBERS e MACMAHON, 1994). O conhecimento do tempo de permanência das sementes no solo é de extrema importância, pois estas sementes permitem a regeneração natural das populações naturais.

De acordo com THOMPSON e GRIME (1979) o banco de sementes do solo pode apresentar sementes de dois tipos: transitórias e persistentes. Segundo THOMPSON e GRIME (1979) as sementes transitórias não persistem no solo por períodos superiores a um ano, após maturação na

planta-mãe e dispersão. Em contraste, as sementes persistentes permanecem viáveis no solo por períodos superiores a um ano.

A viabilidade das sementes é reduzida com o tempo devido à predação, a fatores ambientais adversos, a microrganismos patogênicos do solo, entre outros (THOMPSON e GRIME, 1979).

Em condições naturais, a ausência de regeneração poderá estar associada ao decréscimo do banco de sementes em populações envelhecidas, devido à perda de viabilidade das sementes (GARCIA *et al.*, 1999).

- Armazenamento das sementes. O armazenamento tem como objetivo conservar as sementes, de modo a evitar uma rápida deterioração das mesmas e comprometer a capacidade de germinação (HARTMANN *et al.*, 1996). O sucesso da conservação começa com a colheita. Se as sementes não estiverem maduras a percentagem de germinação vai ser baixa e as sementes perdem a viabilidade durante a conservação (BASKIN e BASKIN, 2001). Após a colheita das sementes ortodoxas estas devem ser secas, de modo a reduzir o conteúdo hídrico para valores mínimos de atividade metabólica, sem que percam viabilidade e, assim, garantir a longevidade da maioria das sementes por longos períodos de tempo (HARTMANN *et al.*, 1996; MAYER e POLJAKOFF-MAYBER, 1975). As sementes recalcitrantes não toleram determinados níveis de desidratação, quando ultrapassado o seu limite crítico (HARTMANN *et al.*, 1996).

Segundo BASKIN e BASKIN (2001) o armazenamento das sementes deve ser feito tendo em conta as condições naturais em que as espécies se encontram na natureza, bem como as temperaturas recomendadas para a sua conservação. Deste modo, torna-se importante conhecer o momento em que as sementes são dispersas na natureza. Se no Outono, as sementes devem ser sujeitas a uma estratificação fria, isto é, conservar as sementes em substrato húmido e temperatura entre 0-10°C (BASKIN e BASKIN, 2001). Se a dispersão ocorrer na Primavera, as sementes devem ser armazenadas sob influência da estratificação quente, colocando-as num substrato húmido e temperatura entre 20-35°C, geralmente em câmaras de germinação (BASKIN e BASKIN, 2001).

De acordo com Harrington (1979) citado por HARTMANN *et al.* (1996) a cada redução do teor de humidade em 1% e a cada redução de 5°C de temperatura, duplica o tempo de vida útil da semente, durante o armazenamento. Deste modo, o baixo teor de humidade e a baixa temperatura visam prolongar a longevidade das sementes, garantindo, também, que o conteúdo hídrico da amostra não varie ao longo do tempo.

- Água. Anteriormente aos testes de germinação é importante saber se as sementes embebem água, uma vez que a ausência da mesma compromete o processo de germinação (BASKIN e BASKIN, 2001). BASKIN e BASKIN (2001) afirmam que as sementes devem ser pesadas e posteriormente submersas em água, durante um determinado período de tempo, e caso não exista aumento de peso da amostra significa que as sementes são impermeáveis. Uma vez impermeáveis, torna-se necessário submeter as sementes a tratamentos que facilitem a absorção de água.

As sementes viáveis necessitam, assim, de um nível adequado de hidratação que permita que se dê a ativação do processo metabólico, emergência da radícula e estabelecimento da plântula, isto é, a absorção de água é fundamental para que ocorra o processo de germinação. Contudo, a germinação pode ser afetada tanto pela carência como pelo excesso de água (BASKIN e BASKIN, 2001).

- Gases. O oxigênio, o dióxido de carbono e o etileno surgem na atmosfera do solo, influenciando a dormência, a germinação das sementes e o estabelecimento das plântulas (BASKIN e BASKIN, 2001). O oxigênio é necessário para a respiração e quebra de dormência das sementes, da maioria das espécies (HARTMANN *et al.*, 1996; MAYER e POLJAKOFF-MAYBER, 1975). Porém, a sua ausência, durante um determinado período de tempo, promove a germinação de sementes de determinadas espécies (BASKIN e BASKIN, 2001).

Relativamente à presença de dióxido de carbono, valores entre 2-5% estimulam a germinação, e superior a 5% inibe-a, para a maioria das espécies (BASKIN e BASKIN, 2001; MAYER e POLJAKOFF-MAYBER, 1975). O efeito do dióxido de carbono na germinação é influenciado por diversos fatores (temperatura, porosidade, entre outros) e pela presença de dormência nas sementes (BASKIN e BASKIN, 2001).

A presença de etileno em pequenas quantidades estimula a germinação de algumas sementes. A produção de etileno pelas sementes surge logo após a imbibição (BASKIN e BASKIN, 2001). BASKIN e BASKIN (2001) afirmam que no solo a sua presença é favorecida pela baixa concentração de oxigênio, elevada temperatura, presença de matéria orgânica, baixo pH, entre outros fatores.

- Luz. A presença de luz nem sempre é limitante e imprescindível para a germinação de sementes. Sementes não dormentes, da maioria das espécies, germinam tanto na presença como na ausência de luz (BASKIN e BASKIN, 2001; MAYER e POLJAKOFF-MAYBER, 1975). De acordo com a espécie a germinação pode ser inibida ou estimulada devido a uma exposição intermitente, por um pequeno período de tempo ou a uma exposição contínua a um fotoperíodo determinado (BASKIN e BASKIN, 2001). Deste modo, as sementes podem ser divididas, de acordo com MAYER e POLJAKOFF-MAYBER (1975), naquelas em que a germinação ocorre: a) na ausência de luz; b) na presença de luz contínua; c) na presença de luz por um breve período e d) quer na presença quer na ausência de luz.

Segundo BASKIN e BASKIN (2001) a resposta da semente à presença de luz (comprimento de onda e fotoperíodo) durante a germinação depende do genótipo e dos fatores ambientais, tais como temperatura, disponibilidade de água, entre outros.

HARTMANN *et al.* (1996) e MAYER e POLJAKOFF-MAYBER (1975) afirmam que a presença de luz vermelha (comprimento de onda entre 660 e 760 nm) estimula a germinação em sementes hidratadas, na maioria das espécies. Acima do comprimento de onda de 760 nm ocorre a inibição da germinação.

Durante os testes de germinação, BASKIN e BASKIN (2001) sugerem que as sementes devem ser submetidas à presença de luz por um período de 12 a 14 horas (dia), sendo este período coincidente com a temperatura mais alta a que as sementes estarão sujeitas.

- Temperatura. A taxa de germinação das sementes varia com a temperatura, de espécie para espécie ou mesmo entre subespécies. Muitas sementes germinam sob a influência de temperaturas constantes. Porém, a germinação é favorecida pelas variações acentuadas da temperatura, isto é, exposição a temperaturas baixas e a temperaturas elevadas, diariamente (HARTMANN *et al.*, 1996; MORINAGA, 1926). De acordo com BASKIN e BASKIN (2001) e MORINAGA (1926) a diferença entre a temperatura máxima e mínima deve ser igual ou superior a 10°C. Contudo, segundo THOMPSON e GRIME (1979) a diferença apenas de 1°C estimula a germinação, em determinadas espécies.

A flutuação diária da temperatura deverá corresponder ao que ocorre em condições naturais, uma vez que é variável de espécie para espécie, sendo o ideal corresponder a flutuação da temperatura a cada mês, durante o período em que ocorre a germinação e estabelecimento da plântula, de acordo com cada espécie (BASKIN e BASKIN, 2001).

É reconhecida a existência de três temperaturas (mínima, ótima e máxima) que resumem, consoante as espécies, as temperaturas a que as sementes conseguem germinar (ALVARADO e BRADFORD, 2002; EDWARDS, 1932). A temperatura ótima permite obter uma percentagem de germinação mais elevada, num menor período de tempo (EDWARDS, 1932; MAYER e POLJAKOFF-MAYBER, 1975), que segundo HARTMANN *et al.* (1996) para a maioria das sementes não dormentes está entre os 25-30°C.

- Substrato. Este tem como funções o suporte físico das sementes e plântulas, e o fornecimento de ar, água e nutrientes. Existem, assim, fatores químicos, físicos e biológicos a considerar na escolha do substrato que influenciam a germinação de sementes, bem como o estabelecimento das plântulas (HARTMANN *et al.*, 1996).

Para a germinação é necessário que exista um bom contacto entre a semente e o substrato, sendo importante utilizar materiais com uma textura uniforme (HARTMANN *et al.*, 1996). O substrato não deve formar crosta na sua superfície, uma vez que irá dificultar a emergência de folhas acima desta (CHAMBERS e MACMAHON, 1994; HARTMANN *et al.*, 1996). Segundo BASKIN e BASKIN (2001) o melhor substrato para germinar sementes é aquele que é colhido do local em que se encontra a espécie, em condições naturais.

Deste modo, a germinação das sementes pode ser influenciada por diversas condições e fatores, garantindo que este processo só ocorre numa fase propícia ao estabelecimento de uma nova plântula (ALVARADO e BRADFORD, 2002).

1.3.2. TESTES DE VIABILIDADE

De acordo com GOSLING (2003) os testes de viabilidade englobam técnicas capazes de avaliar se a semente está viva ou não e, com isto, estimar a proporção de sementes vivas numa população.

Tradicionalmente os testes de germinação e o teste com tetrazólio constituem as formas mais utilizadas para determinar a viabilidade das sementes, porém existem outras formas de esta ser determinada.

- Testes de germinação. Segundo GOSLING (2003) este teste permite determinar a percentagem de sementes germinadas, de modo a produzirem plântulas normais e saudáveis. Permite, também, identificar a percentagem de sementes não germinadas e testar a presença ou ausência de dormência. O princípio geral do teste consiste em submeter as sementes a uma combinação de fatores ambientais favoráveis à germinação, possíveis para a maioria das espécies, durante um determinado período de tempo (BASKIN e BASKIN, 2004; HARTMANN *et al.*, 1996).
- Teste com tetrazólio. Trata-se de um teste destrutivo indicado para sementes que apresentam mecanismos de dormência (GOSLING, 2003). O teste baseia-se na atividade das enzimas desidrogenases nos tecidos vivos (HARTMANN *et al.*, 1996). Quando a semente é imersa na solução incolor de cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio esta é difundida nos tecidos, sendo que nas células vivas ocorre a redução do sal de tetrazólio (GOSLING, 2003). Nestas, surge uma coloração de vermelho claro que significa que a semente é viável. A coloração de vermelho escuro poderá significar a presença de tecidos em deterioração, uma vez que estes permitem maior difusão da solução. A não coloração indica que as células não estão vivas, que não existe atividade enzimática, ou seja, a semente não está viável.
- Teste de corte. Este teste destrutivo tem como objetivo determinar a percentagem de sementes viáveis numa amostra. O teste consiste em cortar as sementes e através da observação do interior das mesmas avaliar o grau de desenvolvimento do embrião e o seu aspeto, o aspeto dos tecidos e, permite também, identificar a presença de sementes vazias (GOSLING, 2003).
- Teste com raios-X. Trata-se de um teste rápido e não destrutivo da semente. Permite determinar a percentagem de sementes vazias, isto é, sementes não viáveis, numa determinada amostra (HARTMANN *et al.*, 1996). Permite, de igual modo, identificar sementes danificadas.

No final do teste de germinação, as sementes que não germinaram devem ser submetidas a um teste de viabilidade para avaliar-se a viabilidade e determinar-se o potencial das sementes em originar plântulas normais.

1.3.3. DORMÊNCIA E QUEBRA DE DORMÊNCIA

Muitas sementes viáveis não têm a capacidade de germinar, num determinado período de tempo, quando sujeitas a condições ambientais adequadas, isto é, o embrião não é capaz de prosseguir o seu desenvolvimento e dar origem a uma nova planta (AGUIAR, 2012b; BASKIN e BASKIN, 2004). Tais sementes apresentam vários mecanismos para retardar o processo de germinação, isto é, apresentam fenômenos de dormência (BASKIN e BASKIN, 2004; BEWLEY e BLACK, 1994).

A dormência das sementes é afetada por fatores ambientais, fisiológicos, pelas condições de armazenamento das sementes, entre outros.

A dormência pode ser classificada de primária ou secundária, tendo em conta o momento em que se inicia (FOLEY, 2001). A dormência primária surge nas sementes durante o seu desenvolvimento, estando, assim, presente nas sementes disseminadas. A dormência secundária é adquirida devido à permanência da semente madura em condições ambientais inadequadas, após a disseminação.

De acordo com BASKIN e BASKIN (2001) citando Nikolaeva (1969,1977) a dormência pode ser classificada de endógena ou exógena, com base na localização ou mecanismos de restrição à germinação. A dupla dormência ou dormência combinada está presente em sementes que apresentam a combinação da dormência endógena e exógena (HARTMANN *et al.*, 1996).

A dormência endógena pode resultar de algumas características do embrião, dificultando a germinação, podendo ser dividida em três tipos: 1) Quando envolve um mecanismo fisiológico inibidor da germinação a dormência é designada de Fisiológica; 2) Quando o embrião se encontra imaturo, a dormência é denominada de Morfológica e 3) Quando existe a combinação da dormência fisiológica e morfológica, a dormência designa-se Morfofisiológica.

A dormência exógena resulta de algumas características do tegumento ou de outros invólucros da semente que envolvem o embrião, fazendo com que sementes viáveis não germinem. Pode estar associado a fatores: a) Físicos – com base na dureza e impermeabilidade do tegumento à água e trocas gasosas; b) Mecânicos – devido a estruturas resistentes lenhosas dos invólucros que impedem a emergência da radícula e das estruturas caulinares, embora exista permeabilidade dos mesmos, e c) Químicos – associado a inibidores químicos de germinação presentes no fruto e/ou invólucros da semente, tais como ácido abscísico (ABA), compostos fenólicos, entre outros.

A partir da classificação de Nikolaeva (1977), BASKIN e BASKIN (2001) sugerem que o fenômeno da dormência em sementes maduras pode ser dividido em cinco tipos: 1) Dormência Física; 2) Dormência Fisiológica; 3) Dormência Morfológica; 4) Dormência Morfofisiológica e 5) Dormência Combinada (Física + Fisiológica).

1) A Dormência Física ocorre em sementes incapazes de embeber água, ficando a germinação condicionada pela falta de água. Tais sementes apresentam um tegumento duro ou impermeável (ROLSTON, 1978). A impermeabilidade do tegumento da semente é devido à presença de uma

camada de células em paliçada, constituída por macroescleritos e substâncias hidrofóbicas, que podem incluir a suberina, cutina e lenhina (BASKIN e BASKIN, 2001; ROLSTON, 1978). As sementes têm a capacidade de se tornar permeáveis, caso uma abertura seja efetuada através da camada em paliçada, permitindo, deste modo, a quebra deste mecanismo físico, a imbibição e a germinação das sementes (BASKIN e BASKIN, 2004).

Em condições naturais a redução da percentagem de sementes duras e impermeáveis, é favorecida, segundo ROLSTON (1978), por: a) Escarificação mecânica, que consiste no desgaste do tegumento devido à fricção das sementes, juntamente com areia ou objetos duros (rochas, entre outros); b) Escarificação ácida, que resulta da ingestão e passagem das sementes no tubo digestivo dos animais; c) Ataque de bactérias e/ou fungos, sendo estes considerados escarificadores naturais; d) Temperaturas elevadas e flutuações da temperatura, e e) Fogo.

Em condições laboratoriais, recriando artificialmente as condições naturais, as sementes duras tornam-se permeáveis recorrendo-se a vários tratamentos, que segundo ROLSTON (1978) podem ser: a) Escarificação química, geralmente submetendo as sementes a ácido sulfúrico concentrado; b) Tratamento com enzimas, exemplo da pectinase; c) Escarificação mecânica, realizada com um abrasivo (exemplo da lixa); d) Imersão em água a ferver; e) Exposição à luz e f) Exposição a temperaturas elevadas e flutuações da temperatura.

2) A Dormência Fisiológica verifica-se quando existe um mecanismo fisiológico inibidor do embrião, que não permite a emergência da radícula (BASKIN e BASKIN, 2001). Nikolaeva (1977), citada por BASKIN e BASKIN (2001), distingue três níveis de dormência fisiológica: 1) Não profunda; 2) Intermédia e 3) Profunda. Esta subdivisão tem por base os tratamentos necessários para a quebra deste mecanismo fisiológico.

As sementes maduras com dormência fisiológica não profunda adquirem capacidade de germinar quando expostas à luz e apenas para temperaturas específicas a cada espécie. Para este nível de dormência ser quebrado, e dependendo da espécie, pode ser necessário períodos curtos de estratificação fria (ambiente húmido e temperatura entre 0-10°C), estratificação quente (ambiente húmido e temperatura $\geq 15^\circ\text{C}$), flutuações de temperatura, imersão das sementes em nitrato de potássio, etileno ou ácido giberélico (BASKIN e BASKIN, 2001; HARTMANN *et al.*, 1996). A excisão do embrião, dos invólucros da semente, geralmente permite que este germine e dê origem a uma plântula normal (BASKIN e BASKIN, 2001).

Para quebrar a dormência fisiológica intermédia, pode ser necessário períodos de estratificação fria ou a combinação de estratificação quente seguida de fria, por vezes superiores a seis meses, consoante a espécie. Porém, a conservação de sementes secas à temperatura ambiente reduz o período necessário de estratificação fria. Tratamentos com giberelinas podem substituir a estratificação e promover a germinação. A presença do embrião isolado dos invólucros da semente permite que este germine e dê origem a uma plântula normal.

Sementes que apresentem dormência fisiológica profunda necessitam de longos períodos de estratificação fria para poderem superar este mecanismo. Para este nível de dormência, as giberelinas não quebram o mecanismo, nem estimulam a germinação de sementes (BASKIN e BASKIN, 2001). O embrião isolado, geralmente, não permite que este germine e caso dê origem a uma plântula, esta não apresenta um desenvolvimento normal. As giberelinas permitem estimular o crescimento dos embriões isolados (BASKIN e BASKIN, 2001).

3) A Dormência Morfológica ocorre em sementes cujo embrião não está completamente desenvolvido (em tamanho), apresentando-se ou não diferenciado (BASKIN e BASKIN, 2001). O embrião não se encontra fisiologicamente dormente, pelo que necessita de um certo período de desenvolvimento e/ou diferenciação, após a dispersão das sementes da planta mãe, para germinar (BASKIN e BASKIN, 2001). O desenvolvimento, bem como a diferenciação, do embrião são favorecidos por diversos fatores (substrato, temperatura, exposição à luz, disponibilidade de água, entre outros), dependendo da espécie. Deste modo, a semente está em condições de germinar quando o embrião se encontrar completamente desenvolvido e diferenciado, não sendo necessário tratamentos para a quebra de dormência (BASKIN e BASKIN, 2004).

4) A Dormência Morfofisiológica surge em sementes que apresentam a combinação da dormência morfológica com dormência fisiológica, isto é, o embrião não completamente desenvolvido apresenta-se fisiologicamente dormente (BASKIN e BASKIN, 2001). Assim, para que ocorra a germinação o embrião tem de completar o seu desenvolvimento (após dispersão) e quebrar o mecanismo fisiológico. Este último pode ser quebrado, consoante as espécies, recorrendo a tratamentos térmicos, tais como: a) Estratificação quente (ambiente húmido e temperatura $\geq 15^{\circ}\text{C}$); b) Estratificação fria (ambiente húmido e temperatura entre $0-10^{\circ}\text{C}$); c) Estratificação quente seguida de estratificação fria (quente + fria) e d) Fria + quente + fria (BASKIN e BASKIN, 2001). A aplicação de ácido giberélico pode substituir os tratamentos térmicos (estratificação quente e/ou fria), segundo FINCH-SAVAGE e LEUBNER-METZGER (2006). Existem oito tipos de dormência morfofisiológica, consoante o(s) tratamento(s) requerido(s) para a quebra de dormência (BASKIN e BASKIN, 2001).

5) A Dormência Combinada está presente em sementes que apresentam uma combinação de dormência física e fisiológica, isto é, sementes com tegumentos impermeáveis e embriões dormentes (BASKIN e BASKIN, 2001). Sementes com este tipo de dormência têm a capacidade de germinar apenas quando os dois mecanismos são quebrados, através de tratamentos favoráveis à quebra de dormência física e fisiológica.

Os cinco tipos de dormência podem ser encontrados no banco de sementes viáveis do solo, sendo que a dormência apresenta vantagens, tais como: a) Evita a germinação da semente em condições ambientais desfavoráveis e b) Facilita a dispersão das sementes a longa distância, aumentando a probabilidade de sucesso da germinação e, conseqüentemente, do estabelecimento de novos indivíduos, sendo que estes processos são essenciais à propagação, regeneração e manutenção das populações vegetais (CLAVIJO *et al.*, 2003; COSTA, 2011).

1.4. ESTABELECIMENTO DA PLÂNTULA

O desenvolvimento das plantas compreende dois processos, o crescimento e a diferenciação (AGUIAR, 2012a). Segundo AGUIAR (2012a) o crescimento refere-se ao acréscimo da massa de células vivas resultante da multiplicação (mitose) e alongamento das células (aumento da dimensão das mesmas). Assim sendo, nos estádios iniciais da germinação todas as células vivas da semente dividem-se por mitose (AGUIAR, 2012a). A diferenciação celular (especialização funcional das células) tem como consequência a fisionomia das plantas, bem como o número de tecidos presentes, entre outros, e surge após a germinação.

A produção de novas células (crescimento) das plântulas (plantas recentemente germinadas) rapidamente fica restringida a um tipo particular de tecido indiferenciado, aos meristemas. Os ápices, radicular e caulinar, do embrião apresentam aglomerados de células com capacidade meristemática permanente, que dão origem, após a germinação da semente, aos meristemas primários apical radicular e apical caulinar (AGUIAR, 2013; BECK, 2005). Deste modo, o desenvolvimento da plântula prossegue por meio da atividade destes meristemas primários apicais.

Durante todo o processo de crescimento, os dois ápices terminais vão-se progressivamente afastando um do outro (BECK, 2005). O caule, ao contrário das raízes, tem geralmente um geotropismo negativo, isto é, alonga-se em direções opostas ao solo. O alongamento liderado pelos meristemas primários apical radicular e apical caulinar origina, assim, o corpo primário das plantas (ESAU, 1977).

A manifestação da plântula à superfície do solo designa-se por emergência, sendo a plântula definida pela presença do(s) cotilédono(s) (AGUIAR, 2013).

Segundo AGUIAR (2013) o meristema apical caulinar, ao contrário do que acontece na raiz, caracteriza-se pela formação repetida de entrenós e folhas nos seus flancos. Estes apêndices laterais são diferenciados a intervalos regulares de tempo. Desde a emergência da plântula até à senescência sucedem-se e coexistem, em maior ou menor número, no corpo das plantas, vários tipos de folhas. As folhas primordiais são descritas por AGUIAR (2013) como sendo folhas de transição, próprias das plântulas recém-germinadas, localizadas entre os cotilédones e as folhas especializadas na função de respiração e assimilação.

De acordo com AGUIAR (2012a) e BECK (2005) existem, assim, duas fases na vida das plantas, após a germinação das sementes: fase vegetativa e fase reprodutiva. Da fase vegetativa para a fase reprodutiva existe a conversão de meristemas vegetativos indeterminados que estão envolvidos no crescimento de órgãos indeterminados (raiz, caule e, por vezes, inflorescência) em meristemas reprodutivos determinados, que produzem estruturas com dimensão e formas determinadas (folhas e flores).

1.5. GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *COREMA ALBUM*

De acordo com MARTIN (1946) a família Ericaceae é caracterizada pelas suas sementes pequenas, geralmente com um interior entre 0,3-2 mm, com embriões muito pequenos, a maioria de forma oval a elíptica ou oblonga, e cotilédones pouco desenvolvidos.

Na espécie *C. album* a reprodução e dispersão parecem estar associadas a vetores animais (endozoocoria) (CLAVIJO *et al.*, 2002, 2003). As plantas proporcionam aos animais substâncias nutritivas e água, e estes por sua vez atuam como agentes de dispersão (CLAVIJO *et al.*, 2003).

De acordo com CLAVIJO *et al.* (2002) citando Calviño-Cancela (2000) as bagas de *C. album* são ingeridas por diferentes vertebrados, tais como coelhos, raposas, gaivotas e melros, que ao passarem pelo trato digestivo dos animais, ficam sujeitas ao processo de digestão. Durante o processo ocorre a separação entre as sementes e a polpa do fruto, deixando de estas estar sujeitas a inibidores da germinação, presentes muitas vezes na polpa (CALVIÑO-CANCELA, 2004; TRAVESET *et al.*, 2008). Segundo TRAVESET *et al.* (2008), e uma vez que as sementes desta espécie apresentam um episperma lenhoso, a passagem das sementes pelo tubo digestivo assegura o processo de quebra de dormência, uma vez que os seus invólucros ficam sujeitos à escarificação mecânica e/ou química, tornando as sementes mais permeáveis à passagem de água e gases. Posteriormente, as sementes são dispersas via defecação ou regurgitação no Verão e a germinação e estabelecimento de plântulas ocorre no Inverno, após um período de dormência de, pelo menos, um a quatro anos (CALVIÑO-CANCELA, 2002, 2004, 2007). Segundo CALVIÑO-CANCELA (2004), o local de defecação ou regurgitação irá determinar as condições a que as sementes estarão sujeitas durante o processo de germinação.

A importância dos vetores animais na dispersão, germinação de sementes e regeneração de populações da espécie *C. album*, nos sistemas dunares da costa atlântica da Península Ibérica, é referida em alguns artigos, nomeadamente dos autores: CALVIÑO-CANCELA, 2002, 2004, 2005, 2007; CALVIÑO-CANCELA e MARTÍN-HERRERO, 2009; CLAVIJO *et al.*, 2003; COSTA, 2011; FEDRIANI e DELIBES (2009); LARRINAGA, 2010, e MARQUES, 2007.

LARRINAGA (2010) estudou o efeito da dispersão de sementes por coelhos nas populações de *C. album* do Noroeste de Espanha. O autor concluiu que por dia e por coelho, a quantidade de sementes dispersas estaria entre as 192 e as 862. Deste modo, nos sítios mais perturbados, devido em parte à intervenção humana, a diminuição ou ausência de animais dispersores de sementes desta espécie dependente deles para a germinação, limita a regeneração natural, ao contrário do que ocorre nas zonas protegidas ou conservadas (CLAVIJO *et al.*, 2002).

Nas dunas do Asperillo, no Parque Natural de Doñana (Huelva) CLAVIJO *et al.* (2003) observaram que no Outono existem inúmeras bagas sobre a areia, principalmente junto a plantas femininas adultas, e sementes nos excrementos, especialmente de coelhos. Os mesmos autores afirmam que após as primeiras chuvas começam a germinar as novas plântulas. Contudo, a probabilidade de

sobrevivência destas plântulas depende do padrão de distribuição das chuvas, cerca de 80,0% morre ainda na fase de cotilédones e apenas 1,0-2,0% das plântulas pode chegar ao ano seguinte.

MARQUES (2007), durante as visitas e percursos realizados no Cabo Carvoeiro (Peniche), não observou plântulas de *C. album* resultantes de germinação de sementes, indicando ausência de regeneração natural abundante. A mesma autora sugere que muitos indivíduos jovens podem ter origem em nova rebentação, sendo este o mecanismo de propagação predominante na zona em estudo.

Vários estudos realizados acerca da *C. album* indicam que a germinação da espécie é difícil em condições laboratoriais, não estando documentado os fatores e condições que afetam o processo.

CLAVIJO *et al.* (2003) realizaram ensaios de germinação em condições laboratoriais, a sementes de bagas maduras de plantas femininas, e excrementos de coelhos e raposas que continham restos de frutos e sementes. As sementes de bagas maduras foram sujeitas a tratamentos experimentais: controlo (sementes sem qualquer tratamento), tratamento mecânico (escarificação com areia) e tratamento químico (ácido clorídrico concentrado, durante 15 minutos). As sementes sujeitas aos tratamentos, bem como as sementes extraídas dos excrementos foram colocadas a germinar a temperatura ambiente e em câmara de frio a 4°C, durante 5 meses. A percentagem máxima de germinação obtida pelos autores foi de 16,0% nas sementes extraídas de excrementos e colocadas à temperatura ambiente. Para as sementes isoladas das bagas maduras os resultados foram nulos para todos os tratamentos.

Costa (2011) realizou testes de germinação a sementes retiradas de bagas brancas e bagas já em fase de maturação avançada. A autora testou, nas sementes, o tratamento de escarificação química (ácido sulfúrico concentrado, durante 30 minutos), física (lixa de grão fino) e de elevada temperatura (água da torneira a ferver). A percentagem de germinação obtida foi muito reduzida, não ultrapassando 23,0% ao fim de cerca de 10 meses. As sementes de bagas brancas sem qualquer tratamento foram as que apresentaram a percentagem de germinação inferior (0,6%), e as sementes de bagas brancas sujeitas a escarificação química e semeadas em substrato esterilizado foram as que obtiveram a maior percentagem de germinação (23,0%). Relativamente aos restantes tratamentos aplicados, as sementes de bagas brancas apresentaram, também, uma maior percentagem de germinação em relação às bagas maduras.

Relativamente aos mecanismos para retardar o processo de germinação na espécie *C. album*, sabe-se apenas que as sementes apresentam elevada dormência (CALVIÑO-CANCELA, 2002, 2004, 2007), ou seja, não estão documentados os tipos de dormência que poderão estar presentes nas sementes. Assim, existe a hipótese da presença de qualquer tipo de dormência nestas sementes. BASKIN e BASKIN (2001) afirmam que a família Ericaceae poderá apresentar dormência fisiológica, e que as sementes têm embriões não diferenciados e não desenvolvidos, responsáveis pela dormência morfológica, sendo, deste modo, os dois tipos de dormência possíveis para a espécie *C. album*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi desenvolvido nas instalações do Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV), I.P., na Unidade Estratégica de Investigação e Serviços de Sistemas Agrários e Florestais e Sanidade Vegetal, Quinta do Marquês, Oeiras.

Do ponto de vista estrutural, pretende-se demonstrar, de forma clara e objetiva, a descrição das atividades realizadas referentes à *Germinação de Sementes, Estabelecimento e Sobrevivência de Plântulas da espécie C. album*.

2.1. ÁREAS E MATERIAL VEGETAL EM ESTUDO

Bagas brancas e bagas já em fase de maturação avançada de arbustos femininos de *C. album* foram colhidas no litoral atlântico de Portugal, em Agosto de 2011 e em Novembro de 2012 (Figura 1). As bagas foram recolhidas em sete localizações, distribuídas de Sines (37°58'N, 8°53'W) a Aveiro (40°37'N, 8°38'W). Para cada localização, selecionaram-se aleatoriamente os arbustos, desde a arriba até ao interior do pinhal, com base na altura dos mesmos, na quantidade e tamanho dos frutos, e com espaçamento entre genótipo entre 10 a 50 metros (OLIVEIRA e DALE, 2012).

Em Agosto de 2011, foram colhidas cerca de 250 a 800 bagas por genótipo, num total de 12 genótipos por localização. De Norte para Sul, os arbustos femininos de *C. album* localizavam-se: Dunas de Mira (40°26'22''N, 8°17'06''W), Duna de Quiaios (40°13'43''N, 8°52'02''W), São Pedro de Moel (39°47'57''N, 8°59'23''W), Aldeia do Meco (38°28'07''N, 9°11'09''W), Comporta (Carvalhal) (38°18'04''N, 8°46'40''W), Pego (38°17'31''N, 8°46'38''W) e Lagoa de Santo André (38°07'11''N, 8°47'40''W) (OLIVEIRA e DALE, 2012).

Em Novembro de 2012, foram colhidas cerca de 50 a 300 bagas por genótipo, num total de 18 genótipos, apenas em arbustos femininos localizados perto da Aldeia do Meco, aqui denominada Aldeia do Meco.



Figura 1 – (a) Arbustos femininos de *C. album*; (b) Bagas brancas e (c) Bagas já num estado de maturação avançada (de cor alaranjada).

2.2. CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO DAS SEMENTES

As bagas colhidas na Aldeia do Meco em 2012 foram acondicionadas (recipientes de plástico) e corretamente identificadas por genótipo no local de colheita, existindo bagas brancas e bagas já em fase de maturação avançada. Já no laboratório, as sementes foram extraídas das bagas, removendo resíduos de polpa e tecidos remanescentes do fruto, esmagando os frutos manualmente ao mesmo tempo que incidia água corrente sobre os mesmos, com auxílio de um escoador. As sementes, limpas, que se obtiveram, divididas em amostras devidamente identificadas, foram colocadas numa mistura de areia húmida e mantidas em câmara de frio à temperatura de 4°C (estratificação fria), durante cerca de quatro meses.

As sementes de bagas colhidas em 2011 foram secas à temperatura ambiente após extração, corretamente identificadas por origens e guardadas em câmara de frio à temperatura de 4°C até à sua utilização nos testes de germinação (cerca de 19 meses).

2.3. CARATERIZAÇÃO DAS SEMENTES

Uma amostra de 25 sementes por origem, Aldeia do Meco colhidas em 2011, Comporta, Duna de Quiaios, Dunas de Mira, Santo André, São Pedro de Moel e Pego, foi digitalizada para aquisição de imagem (resolução de 600 dpi), recorrendo-se a um *scanner* (HP Scanjet 5530 Photosmart).

As sementes presentes em cada imagem capturada foram analisadas individualmente através do *software* de processamento e análise de imagem Image-Pro® Plus (versão 7). A cada semente foi medida, a área (não incluindo orifícios), o diâmetro maior e menor (comprimento do maior e menor segmento de reta, respetivamente, que une dois pontos do limite da semente e que passa no centro dela) e a forma “Aspect” definida pela razão entre o eixo maior e menor de uma elipse, equivalente à semente (Figura 2).

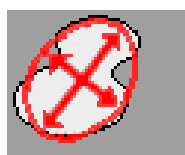


Figura 2 – Figura correspondente à forma do objeto “Aspect” adquirida pelo *software* Image-Pro® Plus.

2.4. GERMINAÇÃO DE SEMENTES

O efeito de pré-tratamentos na germinação de sementes foi avaliado em testes de germinação realizados em câmara de germinação, em condições controladas de temperatura, humidade relativa e fotoperíodo, durante cerca de seis meses (Ensaio 1).

2.4.1. PREPARAÇÃO E IMBIBIÇÃO DAS SEMENTES

Ensaio 1 (Câmara de Germinação) – O efeito dos pré-tratamentos foi avaliado para um número total de 4600 sementes. As sementes de quatro origens, provenientes da Aldeia do Meco colhidas em 2011 e 2012, Comporta e Duna de Quiaios, foram divididas e pesadas (peso das sementes secas) em quatro réplicas de 25 sementes, na balança digital (OHAUS® GA200), previamente tarada, registando-se o peso até quatro casas decimais.

Cada amostra (25 sementes/origem) foi desinfetada em álcool etílico a 70% (v/v) durante cerca de cinco minutos, e depois em lixívia pura durante cerca de 13 minutos (COSTA, 2011). Seguidamente as sementes foram lavadas em água corrente, ficando a hidratar em água por cerca de 48 horas. As sementes foram pesadas após hidratação (peso das sementes hidratadas), em balança digital OHAUS® GA200, previamente tarada.

2.4.2. PRÉ-TRATAMENTOS

Para quebrar a dormência da semente, foram efetuados testes de germinação a sementes sujeitas a pré-tratamentos, depois de hidratadas. Os pré-tratamentos, descritos seguidamente, foram adaptados de BASKIN, ZACKRISSON e BASKIN (2002), COSTA (2011) e WADA e REED (2011).

Tendo em conta os resultados obtidos por COSTA (2011) que demonstraram que a escarificação química com ácido sulfúrico concentrado, durante 30 minutos, promoveu a maior percentagem de germinação (23,0%) a sementes de bagas brancas desta espécie, foram realizados cinco ensaios. O primeiro ensaio permitiu testar o efeito de diferentes durações de escarificação química, para aferir se a duração de 30 minutos promove, tal como verificado por COSTA (2011), a maior percentagem de germinação. Para os restantes ensaios utilizou-se a duração de 30 minutos de escarificação como controlo, admitindo ser esta a duração do pré-tratamento de escarificação química que promove os melhores resultados de germinação.

Ensaio 1 (Câmara de Germinação) – Para cada origem, Aldeia do Meco 2011 e 2012, Comporta e Duna de Quiaios, os pré-tratamentos referidos seguidamente foram aplicados a quatro réplicas de 25 sementes, admitindo que as sementes se encontravam viáveis.

Ensaio 1.1. As sementes foram sujeitas a uma escarificação química, colocadas em ácido sulfúrico concentrado (95-97%) (Pronalab[®]), num banho de gelo, durante 30, 60 e 120 minutos, numa hotte química. Seguidamente foram lavadas em água corrente durante uma hora. Posteriormente, as sementes mantiveram-se em contacto cinco minutos com hipoclorito de cálcio (3 g/L) (BDH[®] Laboratory), completamente dissolvido em água com hidróxido de cálcio (3 g/L) (Fluka-Garantie[®]). Por fim, lavaram-se as sementes em água corrente, durante cinco minutos.

Para o controlo apenas houve uma lavagem das sementes em água corrente durante uma hora.

Ensaio 1.2. Para determinar a influência do grau de maturação dos frutos na percentagem de germinação, efetuou-se uma escarificação química durante 30 minutos (procedimento descrito no Ensaio 1.1.) em sementes de bagas brancas e sementes de bagas já em fase de maturação avançada, apenas para sementes recolhidas na Aldeia do Meço em 2012.

Ensaio 1.3. Realizou-se a combinação da escarificação química seguida de estratificação quente seguida de outra fria. Para a escarificação química durante 30 minutos efetuou-se o procedimento descrito no Ensaio 1.1. Para a estratificação quente submeteu-se as sementes a um regime de temperatura de 25°/15°C – temperatura alternada dia/noite, em câmara de germinação, durante dois meses. Após este período, as sementes foram sujeitas a uma estratificação fria, estando expostas durante dois meses a uma temperatura de 4°C em câmara de frio.

Ensaio 1.4. Efetuou-se uma escarificação química durante 30, 60 e 120 minutos (procedimento descrito no Ensaio 1.1.) seguida de uma imbibição das sementes com solução de ácido giberélico (1000 ppm), > 93% de pureza (Duchefa[®]), durante 24 horas na ausência de luz.

Ensaio 1.5. Após uma escarificação química durante 30, 60 e 120 minutos (procedimento descrito no Ensaio 1.1.) as sementes foram sujeitas a uma imbibição, durante 24 horas na ausência de luz, com solução de ácido giberélico (1000 ppm). Seguidamente, as sementes foram submetidas a uma imbibição com nitrato de potássio (0,5%), com 99% de pureza (Riedel-de Haën[®]), durante 24 horas.

Posteriormente aos pré-tratamentos de germinação realizados procedeu-se à preparação das placas de Petri (9 cm Ø), na câmara de fluxo laminar, onde foi colocado papel de filtro (Rundfilter Macherey-Nagel 616) (previamente esterilizado em autoclave), humedecido com água esterilizada até à sua saturação, distribuindo uniformemente cada 25 sementes sobre o papel de filtro.

As placas de Petri (corretamente identificadas) foram colocadas em seis prateleiras (Quadro 1), em câmara de germinação (FITOCLIMA D 1200 PL, Aralab), sujeitas a uma temperatura de 25°/15°C – temperatura alternada dia/noite, fotoperíodo de 16 horas luz ($32 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)/8 horas de escuro e uma humidade relativa de 60%. Devido à presença de algas verdes nas placas de Petri, nos últimos três meses de ensaio manteve-se a câmara de germinação sem fotoperíodo, isto é, na ausência de luz.

A posição das placas no interior da câmara foi alterada, aleatoriamente, a cada duas semanas, de forma a uniformizar as condições físicas de germinação.

Durante os cerca de seis meses em que decorreu o ensaio, procedeu-se ao controlo da humidade das placas de Petri, sempre que necessário, pulverizando-as com água destilada.

Para controlar eventuais fungos nas placas de Petri, estas foram pulverizadas, preventivamente, com fungicida de solução concentrada com propamocarbe (Previcur® N) e fungicida de grânulos dispersáveis em água com ciprodinil e fludioxonil (Switch®) a cada três semanas, com intervalo de uma semana entre fungicida.

Quadro 1 – Data de colocação das placas de Petri referentes a cada ensaio, em câmara de germinação.

Ensaio 1	Data de colocação Câmara de Germinação
Ensaio 1.1.	6/03/2013
Ensaio 1.2.	15/03/2013
Ensaio 1.3.	15/03/2013
Ensaio 1.4.	22/03/2013
Ensaio 1.5.	5/04/2013

2.4.3. ANÁLISE E EXPRESSÃO DOS RESULTADOS

Ensaio 1 (Câmara de Germinação) – A germinação de sementes foi monitorizada a cada duas semanas desde o início até ao término do Ensaio 1 no dia 13 de Setembro de 2013.

Em cada monitorização foram observadas e registadas todas as sementes que apresentaram rutura do episperma, radícula inferior a 1 mm de comprimento, bem como radícula superior ou igual a 1 mm (com base em escala pré-definida).

A emergência da radícula com comprimento ≥ 1 mm foi o critério utilizado para classificação da semente como germinada (LÓPEZ *et al.*, 1999; VERA, MARTÍN e OLIVA, 2010).

Para a quantificação do ensaio de germinação os resultados foram expressos em:

a) Percentagem de Sementes com Rutura do Episperma

$$\frac{\text{N.º Total de Sementes com Rutura do Episperma}}{\text{N.º Total de Sementes}} \times 100$$

b) Porcentagem de Sementes com Radícula Inferior a 1 mm de comprimento

$$\frac{\text{N.}^\circ \text{ Total de Sementes Radícula} < 1 \text{ mm}}{\text{N.}^\circ \text{ Total de Sementes}} \times 100$$

c) Porcentagem de Germinação (Radícula ≥ 1 mm de comprimento)

$$\frac{\text{N.}^\circ \text{ Total de Sementes Germinadas}}{\text{N.}^\circ \text{ Total de Sementes}} \times 100$$

d) Velocidade de Germinação – T50 (dias) – número de dias necessário para atingir 50% da germinação final, segundo SADEGHI *et al.* (2011)

$$T50 = t_i + \frac{\left(\frac{N}{2} - n_i\right)(t_i - t_j)}{n_i - n_j}$$

onde,

N= número de sementes germinadas;

n_i e n_j = número cumulativo de sementes germinadas correspondentes, respetivamente, a cada data de monitorização t_i e t_j , em que $n_i < \frac{N}{2} < n_j$.

e) Índice de Velocidade de Germinação – IVG (sementes por dia) – segundo MAGUIRE (1962)

$$IVG = \frac{G_1}{D_1} + \frac{G_2}{D_2} + \dots + \frac{G_n}{D_n}$$

onde:

G_1, G_2, \dots, G_n = número de sementes germinadas a cada data de monitorização;

D_1, D_2, \dots, D_n = número de dias após colocação das placas de Petri em câmara de germinação, correspondente a cada data de monitorização.

f) Tempo de Germinação Médio – TGM (dias) – segundo SADEGHI *et al.* (2011)

$$TGM = \frac{\sum(nd)}{N}$$

onde,

n = número de sementes germinadas a cada data de monitorização;

d = número de dias após colocação das placas de Petri em câmara de germinação, correspondente a cada data de monitorização;

N = número total de sementes germinadas no término do ensaio.

g) Razão entre a Velocidade de Germinação (T50) e o Tempo de Germinação Médio (TGM) – segundo MARQUES, DRAPER e MARTINS-LOUÇÃO (2007)

$$\frac{T50}{TGM}$$

Este índice refere-se à assimetria da distribuição da germinação no tempo. Um valor obtido próximo de 1 significa que a germinação foi mais rápida antes de se alcançar 50% da germinação final. Consequentemente, valores obtidos superiores a 1 significam que a germinação é mais lenta antes de se alcançar 50% da germinação final.

2.4.4. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Ensaio 1 (Câmara de Germinação)

Ensaio 1.1. O ensaio seguiu um delineamento fatorial a dois fatores: origem e duração do pré-tratamento de escarificação química, cada um com quatro níveis: Aldeia do Meco 2011, Aldeia do Meco 2012, Comporta e Duna de Quiaios, e 0, 30, 60 e 120 minutos, respetivamente, com 4 repetições para cada modalidade, sendo cada unidade experimental constituída por uma placa de Petri com 25 sementes.

Ensaio 1.2. O ensaio seguiu um delineamento fatorial a um fator: estágio de maturação de bagas colhidas na Aldeia do Meco em 2012, com dois níveis: bagas brancas e bagas em estado de maturação avançado, com quatro repetições para cada modalidade, sendo cada unidade experimental constituída por uma placa de Petri com 25 sementes.

Ensaio 1.3. O ensaio foi conduzido em delineamento fatorial a um fator: origem, com quatro níveis: Aldeia do Meco 2011, Aldeia do Meco 2012, Comporta e Duna de Quiaios, com quatro repetições para cada modalidade, sendo cada unidade experimental constituída por uma placa de Petri com 25 sementes.

Ensaio 1.4. e **Ensaio 1.5.** Os ensaios foram conduzidos em delineamento fatorial a dois fatores: origem e duração do pré-tratamento de escarificação química. O fator origem foi testado com quatro níveis: Aldeia do Meco 2011, Aldeia do Meco 2012, Comporta e Duna de Quiaios, e o fator duração do pré-tratamento foi testado em três níveis: 30, 60 e 120 minutos, com quatro repetições para cada modalidade, sendo cada unidade experimental constituída por uma placa de Petri com 25 sementes.

Para a percentagem de sementes com rutura do episperma, percentagem de sementes com radícula <1 mm e sementes germinadas (radícula ≥1 mm) realizaram-se o teste de normalidade de *Shapiro-Wilk*, e nos casos em que os pressupostos de distribuição normal não se verificaram, os dados foram transformados usando a transformação arcseno de acordo com a fórmula:

$$\arcseno\left(\left(\sqrt{\frac{x}{100}}\right) \times \left(\frac{180}{\pi}\right)\right)$$

onde,

x= percentagem de sementes com rutura do episperma, com radícula <1 mm ou germinadas a transformar.

Efetuaram-se uma análise de variância (ANOVA) e comparações múltiplas das médias pelo teste de Tukey, com nível de significância para todas as análises de 0,05. Nos casos em que a Probabilidade de F foi próxima de 0,05, optou-se pelo teste LSD (diferença mínima significativa). A análise estatística dos dados recolhidos foi efetuada com recurso ao *software* Statistix 9.0 (Analytical Software, Tallahassee, Florida).

Para a comparação dos pesos médios de 25 sementes secas e hidratadas utilizou-se o teste de comparação múltipla de médias de *t* de *Student*.

Para a avaliação da área, diâmetro maior e menor, e forma de sementes de bagas brancas colhidas em 2011, fez-se uma análise de variância (ANOVA) a um fator: origem, com sete níveis: Santo André, Pego, Comporta, Aldeia do Meco, São Pedro de Moel, Duna de Quiaios e Dunas de Mira, tendo sido realizado um teste de comparação múltipla de médias de Tukey, com nível de significância de 0,05.

A cada origem (Aldeia do Meco 2011, Aldeia do Meco 2012, Comporta e Duna de Quiaios), para a avaliação da percentagem de germinação final, velocidade de germinação (T50), índice de velocidade de germinação (IGV) e tempo de germinação médio (TGM), fez-se uma análise de variância (ANOVA) a um fator: duração do pré-tratamento de escarificação química. O fator duração do pré-tratamento foi testado em quatro níveis (0, 30, 60 e 120 minutos) para o Ensaio 1.1. e três níveis para os Ensaio 1.4. e 1.5. (30, 60 e 120 minutos), com quatro repetições para cada modalidade, sendo cada unidade experimental constituída por uma placa de Petri com 25 sementes. Quando encontradas diferenças significativas, utilizou-se um teste de comparação múltipla de médias de Tukey, com nível de significância de 0,05.

2.5. ESTABELECIMENTO E SOBREVIVÊNCIA DE PLÂNTULAS

A emergência e estabelecimento de plântulas, após germinação das sementes, foram testados em câmara de crescimento, em condições controladas de temperatura, humidade relativa e fotoperíodo (Ensaio 2).

Testou-se, também, a sobrevivência das plântulas, após estabelecimento das mesmas, em estufa de vidro (Ensaio 3).

2.5.1. INSTALAÇÃO DOS ENSAIOS

Ensaio 2 (Câmara de Crescimento) – As sementes germinadas (radícula com comprimento ≥ 1 mm) foram retiradas das placas de Petri, a cada monitorização do Ensaio 1 (Câmara de Germinação), e cada semente retirada foi colocada a 0,5 cm da superfície numa pastilha de turfa Jiffy-7[®] prensada, corrigida e fertilizada (41 mm Ø, 42 mm altura e pH=5,5) (Anexo 1).

As pastilhas de turfa contendo as sementes germinadas foram corretamente identificadas pela referência da placa de Petri e data de germinação. As pastilhas foram colocadas, em tabuleiros, em câmara de crescimento (FITOCLIMA 700 EDTU, Aralab), sujeitas a uma temperatura de 25°/20°C – temperatura alternada dia/noite e um fotoperíodo de 16 horas luz ($121 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)/8 horas de escuro. A humidade relativa programada foi de 60%.

Durante o período em que decorreu o ensaio, procedeu-se ao controlo da humidade das pastilhas de turfa, sempre que necessário, pulverizando-as com água.

Ensaio 3 (Estufa de Vidro) – As pastilhas de turfa contendo plântulas estabelecidas à superfície do substrato, com presença dos cotilédones, foram retiradas da câmara de crescimento e colocadas na estufa de vidro.

Anteriormente à colocação das pastilhas de turfa na estufa prepararam-se vasos plásticos (10 cm Ø e 500 cm³) contendo substrato de mirtilo (Siro[®] Mirtilo). Este substrato apresenta uma textura média de pH baixo (4,5-5,0) e fertilização de libertação controlada (Anexo 2). Cada pastilha de turfa foi, assim, colocada num vaso plástico preenchido com substrato.

De forma a assegurar uma constante humidade relativa do substrato, utilizou-se um sistema de rega gota-a-gota, fita gotejadora T-Tape com espaçamento entre emissores de 6 in (15,24 cm), ativado de 60 em 60 minutos com a duração de 30 segundos cada rega. Este sistema foi programado para funcionar das 8:00 às 20:00 horas. A temperatura média do ar registada dentro da estufa foi de 27,6°C, com temperatura máxima registada de 41,4°C e mínima de 19,8°C (1 Julho de 2013 a 29 de Setembro de 2013).

2.5.2. ANÁLISE E EXPRESSÃO DOS RESULTADOS

Ensaio 2 (Câmara de Crescimento) – A emergência e estabelecimento de plântulas foi observada a cada duas semanas, até ao término do Ensaio 2 a 27 de Setembro de 2013. Em cada monitorização foram observadas e registadas todas as plântulas que exibiram cotilédones semiabertos e completamente abertos à superfície do substrato, sendo estes dois os critérios utilizados para classificação da plântula como estabelecida.

Para a quantificação do ensaio de estabelecimento de plântulas os resultados foram expressos em:

a) Percentagem de Plântulas Estabelecidas

$$\frac{\text{N.º Total de Plântulas Estabelecidas}}{\text{N.º Total de Sementes Germinadas}} \times 100$$

Ensaio 3 (Estufa de Vidro) – Para a avaliação da sobrevivência das plântulas foi registado o número de plantas com as primeiras folhas verdadeiras, no término do Ensaio 3 a 27 de Setembro de 2013.

Para a quantificação do ensaio de sobrevivência das plântulas os resultados foram expressos em:

a) Percentagem de Plantas com Primeiras Folhas Verdadeiras

$$\frac{\text{N.º Total de Plantas com Primeiras Folhas Verdadeiras}}{\text{N.º Total de Plântulas Estabelecidas}} \times 100$$

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. CARACTERÍSTICAS DAS SEMENTES

Foram avaliadas a área, o diâmetro maior e menor, e forma de sementes de bagas brancas colhidas em 2011, provenientes de Santo André, Pego, Comporta, Aldeia do Meco, São Pedro de Moel, Duna de Quiaios e Dunas de Mira (Quadro 2). Constatou-se que existem diferenças significativas ($p < 0,000$) em todas as características das sementes, nas diferentes origens.

No que diz respeito à área média das sementes, as de Santo André e as do Pego apresentaram uma área significativamente superior em relação às restantes, sendo que as sementes provenientes da Comporta apresentaram um valor intermédio e as restantes origens um valor significativamente inferior.

Relativamente ao diâmetro maior médio, e tendo em conta os resultados obtidos, pode observar-se que Santo André foi a origem que apresentou sementes com maior diâmetro, 1,2 vezes superior ao verificado para as sementes provenientes da Aldeia do Meco, São Pedro de Moel e Duna de Quiaios. Já Pego, Comporta e Dunas de Mira apresentaram sementes com um valor intermédio, que não diferiu significativamente entre as três origens.

Para o diâmetro menor médio das sementes, as origens Santo André, Pego e Comporta tiveram os maiores valores, não sendo a este nível significativamente diferentes entre si. A Aldeia do Meco, São Pedro de Moel, Duna de Quiaios e Dunas de Mira apresentaram sementes com os menores valores, não tendo sido observado diferenças significativas entre as quatro origens.

Tendo em conta os valores observados neste estudo relativos ao diâmetro maior e menor médio, estes vão ao encontro dos observados por: CALVIÑO-CANCELA (2005) que refere no seu estudo um diâmetro médio maior de 3,78 mm e menor de 2,90 mm para as sementes de *C. album*; FEDRIANI e DELIBES (2009) que observaram o valor de 3,39 mm para o diâmetro médio de sementes desta espécie, provenientes de Doñana (Espanha) e LARRINAGA (2010) que verificou um diâmetro médio maior e menor de sementes desta espécie, provenientes de Camariñas (Espanha), de 3,75 mm e 2,81 mm, respetivamente.

Em relação à forma, verificou-se que existem quatro grupos de origens: Santo André e Dunas de Mira; Dunas de Mira e Duna de Quiaios; Duna de Quiaios, São Pedro de Moel e Comporta; São Pedro de Moel, Comporta, Aldeia do Meco e Pego, em que a forma média das sementes difere significativamente entre grupos mas não difere dentro do grupo.

Provavelmente, e de acordo com CLAVIJO *et al.* (2003), os valores mais baixos de área, diâmetro maior e menor das sementes que se verificaram serão devidos ao facto das populações de onde provêm as sementes serem constituídas por indivíduos velhos, com grande competição com

pinheiros e retamas, fazendo com que estas populações de *C. album* invistam grande parte dos seus recursos no crescimento e manutenção, deixando muito pouco disponível para a reprodução.

LARRINAGA (2010) observou que o tamanho das sementes está positivamente correlacionado com o tamanho das bagas.

Quadro 2 – Características (área, diâmetro maior, diâmetro menor e forma) de sementes secas extraídas de bagas brancas, provenientes de Santo André, Pego, Comporta, Aldeia do Meco, São Pedro de Moel, Duna de Quiaios e Dunas de Mira.

Origem	Área (mm ²)	Diâmetro Maior (mm)	Diâmetro Menor (mm)	Forma -
S. André	12,1 A	4,7 A	3,2 A	1,5 A
Pego	11,4 A	4,3 B	3,3 A	1,3 D
Comporta	10,5 B	4,2 B	3,1 A	1,3 CD
Aldeia do Meco	9,0 CD	3,8 C	2,9 B	1,3 D
S. Pedro Moel	9,0 CD	3,8 C	2,8 B	1,3 CD
Quiaios	8,6 D	3,8 C	2,7 B	1,4 BC
Mira	9,5 C	4,1 B	2,8 B	1,4 AB
Média Geral	10,0	4,1	3,0	1,4
EPM	0,20	0,04	0,04	0,02
Prob. (F)	$p < 0,000$	$p < 0,000$	$p < 0,000$	$p < 0,000$

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, em que letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes; EPM – Erro padrão da média; N = 25 sementes por origem.

3.2. GERMINAÇÃO DE SEMENTES

3.2.1. PESO DAS SEMENTES UTILIZADAS NOS ENSAIOS

Ensaio 1 (Câmara de Germinação) – Foram avaliados o peso de sementes secas e o peso de sementes hidratadas que foram sujeitas a diferentes pré-tratamentos referidos no Ensaio 1, tendo como objetivo principal aferir a presença de dormência física nas sementes de *C. album*. Este tipo de dormência ocorre em sementes incapazes de embeber água, ficando a germinação condicionada pela falta da mesma.

O peso médio de 25 sementes secas foi de 262,36 mg e o peso médio destas sementes depois de hidratadas (cerca de 48 horas) foi de 289,97 mg. Verificou-se que estas médias apresentaram diferenças significativas entre si ($p < 0,000$, $N=184$ placas de Petri contendo 25 sementes cada).

Como se pode constatar pelos dados obtidos referentes ao peso de sementes hidratadas, existe um aumento de peso (cerca de 1,1 vezes superior) em relação às mesmas sementes quando secas. Estes dados sugerem que embora as sementes desta espécie tenham episperma lenhoso, extremamente rijo, as mesmas não apresentam dormência física e dormência combinada, isto é, as sementes são capazes de embeber água e, deste modo, existe permeabilidade do tegumento.

Relativamente aos pesos médios de 25 sementes de cada Ensaio (1.1., 1.3., 1.4. e 1.5.) constatou-se que o peso médio de sementes secas e de sementes hidratadas de bagas brancas utilizadas nestes ensaios, apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$), para cada origem.

No que diz respeito ao peso médio de sementes hidratadas, as provenientes de bagas da Comporta apresentaram um peso médio significativamente superior em relação às restantes origens. A origem Duna de Quiaios foi a que apresentou as sementes mais pesadas, a seguir à Comporta. Já as sementes mais leves foram as provenientes da Aldeia do Meco (Anexo 3). Contudo, observou-se (exceto nas sementes do Ensaio 1.5.) que as sementes hidratadas provenientes da Aldeia do Meco colhidas em 2012 apresentaram um peso médio significativamente superior comparativamente às da Aldeia do Meco colhidas em 2011. Esta diferença observada poderá dever-se ao modo como as sementes foram armazenadas, até à preparação das mesmas para os testes de germinação. As sementes colhidas em 2011 foram secas à temperatura ambiente e as colhidas em 2012 foram colocadas numa mistura de areia húmida, e aquando da pesagem secas com papel. Isto sugere que durante o armazenamento das sementes colhidas em 2012 tenha existido imbibição da maioria.

OLIVEIRA E DALE (2012) constataram que o peso de sementes de *C. album* apresentou, de igual modo, diferenças significativas para cada origem em estudo: Aldeia do Meco, Comporta, Duna de Quiaios, Dunas de Mira, Santo André, São Pedro de Moel e Pego. Ainda OLIVEIRA E DALE (2012) observaram que o peso das sementes se tornava menor quanto mais a Norte era a origem das mesmas. Estes resultados vêm de encontro aos obtidos no Ensaio 1, uma vez que a Duna de Quiaios

é a origem em estudo mais a Norte e apresentou as sementes mais pesadas em relação à Aldeia do Meco, que apresentou as sementes mais leves. Porém, as sementes provenientes mais a Sul, com origem na Comporta, apresentaram o maior peso médio em relação às restantes origens Duna de Quiaios e Aldeia do Meco.

COSTA (2011) verificou que as sementes de *C. album* provenientes de Pinheiro da Cruz (38°15'21,88"N, 8°46'23,94"W) foram as que apresentaram maior peso em relação às sementes originárias da Fonte da Telha (38°33'31,61"N, 9°11'17,59"W). Esta observação da autora vem ao encontro das obtidas por OLIVEIRA E DALE (2012), em que sementes mais a Sul possuem maior peso em relação às sementes mais a Norte.

Em relação aos pesos médios de sementes hidratadas sujeitas a escarificação química, durante 0, 30, 60 e 120 minutos (Ensaio 1.1., 1.4. e 1.5.), não foram observadas diferenças significativas entre as diferentes durações do pré-tratamento de escarificação. Tendo em conta os resultados obtidos, pode admitir-se que as sementes depois de hidratadas foram selecionadas, para cada origem, aleatoriamente para o controlo e para serem sujeitas a uma escarificação química, durante 30, 60 e 120 minutos.

Comparando o peso médio de sementes secas e hidratadas (Ensaio 1.2.) provenientes de bagas brancas (263,7 e 288,6 mg, respetivamente) e bagas em estado de maturação avançado (272,5 e 292,5 mg, respetivamente), verificou-se que os dois estádios de maturação das bagas não diferem entre si em relação aos parâmetros em estudo (peso médio de sementes secas e hidratadas).

Já COSTA (2011) no seu estudo, para sementes de *C. album*, verificou que na Fonte da Telha (38°33'31,61"N, 9°11'17,59"W) as sementes secas de bagas brancas têm em média menor peso ($p < 0,01$) que as de bagas em estado de maturação avançado. Contudo, a mesma autora verificou que em Pinheiro Cruz (38°15'21,88"N, 8°46'23,94"W) as sementes de bagas brancas e de bagas em estado de maturação avançado são relativamente semelhantes, isto é, não diferem entre si.

Tendo em conta os resultados, pode observar-se que o peso das sementes de bagas no mesmo estádio de maturação são significativamente diferentes consoante a origem em estudo.

3.2.2. EFEITO DOS PRÉ-TRATAMENTOS NA GERMINAÇÃO

Ensaio 1 (Câmara de Germinação) – O efeito de pré-tratamentos na germinação de sementes foi avaliado em testes de germinação realizados em câmara de germinação, tendo como objetivo principal verificar a existência de mecanismos que retardam o processo de germinação das sementes de *C. album*, isto é, aferir a presença de dormência morfológica, fisiológica ou morfofisiológica nas sementes desta espécie.

Constatou-se que a ruptura do episperma e endosperma das sementes de *C. album* foram dois eventos sequenciais que ocorreram durante o processo de germinação, tendo como último evento a emergência da radícula. Contudo, em algumas sementes observou-se a radícula a emergir pelo micrópilo, sem que houvesse ruptura do episperma (Figura 3).

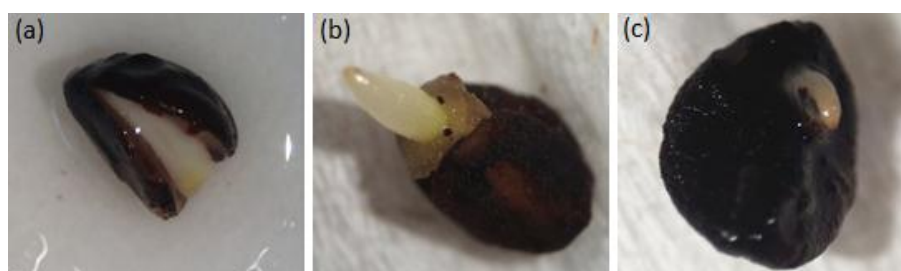


Figura 3 – Sementes de *C. album* durante o processo de germinação onde se observa: (a) Rutura do episperma (Ampliação 10x); (b) Rutura do episperma e endosperma, bem com a emergência da radícula (Ampliação 15x) e (b) Emergência da radícula pelo micrópilo (Ampliação 15x).

Constatou-se, também, ao longo do ensaio, pela observação direta do aumento de tamanho de algumas sementes, que os embriões poderão ter-se desenvolvido antes da emergência da radícula (Figura 4). Isto sugere a presença de embriões não desenvolvidos e/ou não diferenciados e dormência morfológica ou morfofisiológica nas sementes de *C. album*, tal como referido por BASKIN e BASKIN (2001) e MARTIN (1946) para sementes da família Ericaceae.



Figura 4 – Sementes de *C. album* durante o processo de germinação onde se observa, para além da rutura do episperma, o aumento de tamanho do endosperma, sugerindo o desenvolvimento do embrião antes da rutura do endosperma e emergência da radícula (cada quadrado pequeno representa 1 mm²).

Os resultados individuais de cada Ensaio 1.1., 1.2., 1.3., 1.4. e 1.5., para cada origem Aldeia do Meco 2011 e 2012, Comporta e Duna de Quiaios, foram:

Ensaio 1.1. Influência do pré-tratamento de escarificação química, durante 30, 60 e 120 minutos.

A percentagem de sementes com episperma quebrado foi significativamente diferente para as diferentes origens ($p < 0,000$), independentemente da duração do pré-tratamento, após 191 dias de ensaio em câmara de germinação. A maior percentagem média (78,7%) foi obtida nas sementes provenientes da Aldeia do Meco 2011. A percentagem de sementes com episperma quebrado da Aldeia do Meco 2011 foi mais de o dobro da obtida para as sementes da Duna de Quiaios (29,0%) e Aldeia do Meco 2012 (18,2%) e 1,3 vezes superior à verificada para as sementes da Comporta (62,5%).

O pré-tratamento de escarificação química teve um efeito significativo ($p < 0,000$) na percentagem de sementes com episperma quebrado, independentemente da origem.

Verificou-se uma percentagem média de sementes com episperma quebrado de 34,7% para as sementes sem qualquer pré-tratamento (controlo), após 191 dias de ensaio. Esta percentagem não diferiu significativamente da obtida para as sementes sujeitas à escarificação durante 120 minutos mas foi significativamente diferente do pré-tratamento com duração 30 e 60 minutos. No entanto, as durações 30, 60 e 120 minutos do pré-tratamento não foram significativamente diferentes entre si, com valores médios de 54,2, 51,7 e 47,7%, respetivamente, de episperma quebrado em sementes desta espécie.

Analisando a interação entre origem e duração da escarificação química (Quadro 3) encontram-se diferenças significativas ($p = 0,006$) em relação à percentagem média de sementes com episperma quebrado. Porém, verificou-se que existem seis grupos em que as médias não são estatisticamente diferentes entre si (A, B, etc.). Como se pode constatar, a percentagem média de sementes com episperma quebrado para a Duna de Quiaios sujeitas a uma escarificação química durante 120 minutos foi de 47,0% em relação à percentagem obtida de 6,0% para as sementes sem qualquer pré-tratamento. Isto sugere que o aumento da percentagem de sementes com episperma quebrado, nas sementes provenientes desta origem, pode ser conseguido se a duração do pré-tratamento for aumentada, tendo a escarificação química influenciado a rutura do episperma nestas sementes.

Outra constatação relevante foi a observação da maior percentagem de sementes com episperma quebrado (79,0%) nas sementes sem qualquer pré-tratamento de escarificação química provenientes da Aldeia do Meco colhidas em 2011 em relação à mesma origem mas data de colheita em 2012 (6,0%). Isto sugere que a data de colheita e a forma como as sementes foram armazenadas podem ter influência no processo de germinação das mesmas.

Quadro 3 – Percentagem de sementes com episperma quebrado, por origem (Aldeia do Meco colhidas em 2011 e 2012, Comporta e Duna de Quiaios) e duração do pré-tratamento de escarificação química (30, 60, 120 minutos e controlo), após 191 dias em câmara de germinação.

	Comporta	Meco 2011	Meco 2012	Quiaios
Controlo	48,0 BCDE	79,0 AB	6,0 F	6,0 F
30 minutos	69,0 ABC	90,0 A	25,0 DEF	33,0 CDEF
60 minutos	61,0 ABCD	91,0 A	25,0 DEF	30,0 DEF
120 minutos	72,0 AB	55,0 ABCD	17,0 EF	47,0 BCDE
Média Geral		47,1		
EPM		7,22		
Prob. (F)		$p=0,006$		

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, em que letras diferentes em coluna ou linha indicam valores estatisticamente diferentes; EPM – Erro padrão da média; N = 4 placas de Petri contendo 25 sementes cada, por origem e duração do pré-tratamento para a percentagem de sementes com episperma quebrado.

A percentagem de sementes com radícula <1 mm (Quadro 4) diferiu significativamente entre as origens ($p<0,000$), após 191 dias em câmara de germinação. A maior percentagem média obtida foi de 14,2% para as sementes provenientes da Aldeia do Meco 2011. As percentagens médias só não foram significativamente diferentes para as origens Comporta, Aldeia do Meco 2012 e Duna de Quiaios. Tendo em conta os resultados obtidos, pode observar-se que a origem Aldeia do Meco 2011 apresentou uma percentagem média de sementes germinadas (radícula ≥ 1 mm) superior em relação às restantes origens, não sendo a este nível significativamente diferentes as origens Comporta, Aldeia do Meco 2012 e Duna de Quiaios.

Quadro 4 – Percentagem de sementes com radícula <1 mm e sementes com radícula ≥ 1 mm, provenientes da Aldeia do Meco colhidas em 2011 e 2012, Comporta e Duna de Quiaios, e tendo como pré-tratamento a escarificação química (30, 60, 120 minutos e controlo), após 191 dias em câmara de germinação.

Origem	% Sementes Radícula < 1mm	% Sementes Radícula ≥ 1 mm
Comporta	2,2 B	2,2 B
Meco 2011	14,2 A	15,7 A
Meco 2012	0,7 B	1,2 B
Quiaios	3,5 B	0,5 B
Média Geral	5,2	4,9
EPM	1,93	1,50
Prob. (F)	$p<0,000$	$p<0,000$

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, em que letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes; EPM – Erro padrão da média; N = 16 placas de Petri contendo 25 sementes cada, por origem para a percentagem de sementes com radícula <1 mm e radícula ≥ 1 mm.

Analisando a percentagem média de sementes com radícula <1 mm, 5,2%, desta percentagem apenas 0,3% das sementes emergiu a radícula pelo micrópilo.

Considerando a percentagem de sementes com radícula <1 mm e sementes com radícula ≥ 1 mm para cada duração do pré-tratamento (Quadro 5) consegue-se verificar que não existem diferenças significativas em relação à duração da escarificação química ($p=0,445$ e $p=0,588$, respetivamente). Como se pode constatar, o pré-tratamento de escarificação química (ácido sulfúrico) durante 30, 60 e 120 minutos parece não influenciar na germinação de sementes de *C. album*. Embora este insucesso possa ter sido devido à baixa viabilidade inicial das sementes, CALVIÑO-CANCELA (2004) verificou que a percentagem de sementes viáveis de *C. album* provenientes de arbustos femininos das ilhas Cíes (Espanha) foi de 87,0%, tornando esta hipótese menos provável.

Tendo em conta que em condições naturais o processo de germinação desta espécie está associado a diferentes vertebrados, isto é, a passagem das sementes pelo tubo digestivo assegura o processo de quebra de dormência, uma vez que os seus invólucros ficam sujeitos à escarificação mecânica e/ou química, seria de esperar que a escarificação química (ácido sulfúrico) tivesse maior influência na germinação das sementes, o que não se verificou neste ensaio.

Quadro 5 – Percentagem de sementes com radícula <1 mm e sementes com radícula ≥ 1 mm, correspondentes a cada duração (30, 60, 120 minutos e controlo) do pré-tratamento de escarificação química, após 191 dias em câmara de germinação.

Duração do Pré-tratamento	% Sementes Radícula < 1mm	% Sementes Radícula ≥ 1 mm
Controlo	2,8	2,8
30 minutos	6,7	7,0
60 minutos	4,0	5,2
120 minutos	7,2	4,7
Média Geral	5,2	4,9
EPM	1,93	1,50
Prob. (F)	N.S.	N.S.

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, em que letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes; EPM – Erro padrão da média; N = 16 placas de Petri contendo 25 sementes cada, por duração do pré-tratamento para a percentagem de sementes com radícula <1 mm e radícula ≥ 1 mm.

A interação origem/duração da escarificação química não diferiu significativamente ($p=0,880$) em relação à percentagem média de sementes com radícula inferior a 1 mm. Contudo, a interação origem/duração da escarificação química diferiu significativamente em relação à percentagem média de sementes germinadas (radícula ≥ 1 mm) ($p=0,042$) (Quadro 6). Porém, verificou-se que existem três grupos em que as médias não são estatisticamente diferentes entre si.

Quadro 6 – Percentagem de sementes germinadas (radícula ≥ 1 mm), por origem (Aldeia do Meco colhidas em 2011 e 2012, Comporta e Duna de Quiaios) e duração do pré-tratamento de escarificação química (30, 60, 120 minutos e controlo), após 191 dias em câmara de germinação.

	Comporta	Meco 2011	Meco 2012	Quiaios
Controlo	4,0 BC	7,0 BC	0,0 C	0,0 C
30 minutos	1,0 C	26,0 A	1,0 C	0,0 C
60 minutos	1,0 C	18,0 AB	1,0 C	1,0 C
120 minutos	3,0 BC	12,0 ABC	3,0 BC	1,0 C
Média Geral		4,9		
EPM		3,01		
Prob. (F)		$p=0,042$		

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, em que letras diferentes em coluna ou linha indicam valores estatisticamente diferentes; EPM – Erro padrão da média; N = 4 placas de Petri contendo 25 sementes cada, por origem e duração do pré-tratamento para a percentagem de sementes germinadas (radícula ≥ 1 mm).

Analisando os resultados obtidos, pode observar -se que a duração de 30 minutos do pré-tratamento de escarificação química nas sementes provenientes da Aldeia do Meco 2011 promoveu a maior percentagem de germinação em relação à percentagem obtida para as sementes sem qualquer pré-tratamento, sendo que esta duração 30 minutos não diferiu significativamente da percentagem obtida para a duração 60 e 120 minutos, nas sementes da mesma origem. Estes resultados podem ter sido devidos à baixa viabilidade das sementes posteriormente ao pré-tratamento, uma vez que a escarificação excessiva da semente pode levar à destruição de tecidos do embrião, tornando a semente inviável (TRAVESET *et al.*, 2008).

Tendo em conta os resultados obtidos, pode observar-se que a duração de 30 minutos do pré-tratamento de escarificação química promove, tal como verificado por COSTA (2011), a melhor percentagem de germinação nas sementes provenientes da Aldeia do Meco 2011.

Verificou-se, também, que a duração de 30 minutos do pré-tratamento de escarificação química nas sementes provenientes da Aldeia do Meco 2011 obteve a maior percentagem média de germinação em relação às origens Comporta, Aldeia do Meco 2012 e Duna de Quiaios, qualquer que tenha sido a duração do pré-tratamento (30, 60 e 120 minutos) e controlo.

As sementes desta espécie parecem ter uma dormência elevada, uma vez que a percentagem média de germinação do controlo (sem pré-tratamento) foi muito baixa (2,8%).

CALVIÑO-CANCELA (2004) verificou a partir de testes de germinação realizados *in-situ* que a percentagem de germinação máxima de sementes de *C. album*, sem qualquer pré-tratamento, foi de 8,8% ao fim de três anos, não tendo observado germinação das sementes ao fim do primeiro ano.

Também COSTA (2011) observou que sementes de bagas brancas sem qualquer pré-tratamento foram as que apresentaram a percentagem de germinação menor (0,6%), ao fim de cerca de 10 meses de ensaio. Ainda COSTA (2011) verificou que a percentagem de germinação de sementes de *C. album* não dispersas era aumentada submetendo as sementes a tratamentos de escarificação, nomeadamente escarificação química com ácido sulfúrico concentrado, durante 30 minutos, tratamento que promoveu a maior percentagem de germinação (23,0%) a sementes de bagas brancas desta espécie no seu estudo.

Noutro estudo com sementes da mesma espécie (CLAVIJO *et al.*, 2003) extraídas diretamente dos frutos, os resultados foram nulos, tendo sido aplicado tratamento mecânico (escarificação com areia) e tratamento químico (ácido clorídrico, durante 15 minutos). Estes resultados foram justificados, pelos autores, pela dependência de vetores animais que atuam como elementos facilitadores, permitindo a quebra de dormência e germinação das sementes de *C. album*. Para os mesmos autores a percentagem de germinação só foi positiva (14,0% e 2,0%) para as sementes obtidas a partir de excrementos de coelho e raposa, respetivamente, e colocadas a germinar à temperatura ambiente, durante cinco meses.

Também COSTA (2011) evidenciou no seu estudo que a passagem das sementes pelo trato digestivo de coelho-bravo da Fonte da Telha e dos mamíferos carnívoros de Pinheiro da Cruz aumentou a percentagem de germinação de *C. album*, comparativamente a sementes retiradas de bagas de plantas femininas das mesmas origens.

No presente estudo, pode observar-se que apenas a duração 30 minutos de escarificação química nas sementes provenientes da Aldeia do Meco 2011 aumentou a percentagem de germinação (26,0%), comparativamente à percentagem obtida nas sementes do controlo (sem qualquer pré-tratamento) (7,0%).

A percentagem média de germinação, a velocidade de germinação (T50), o índice de velocidade de germinação e o tempo de germinação médio das sementes provenientes da Aldeia do Meco 2011 e das sementes da Comporta (Quadro 7) não diferiram significativamente para cada duração do pré-tratamento (0, 30, 60, 120 minutos). Para as sementes da Aldeia do Meco 2012 e Duna de Quiaios não foi incluída a análise de variância, tendo em conta a ausência de sementes germinadas nas quatro réplicas, para cada duração do pré-tratamento.

Como se pode constatar, a germinação mais lenta observada foi obtida nas sementes provenientes da Duna de Quiaios (163 dias para atingir 50% da germinação final).

Para a velocidade de germinação e índice de velocidade de germinação não foram encontradas diferenças significativas entre as origens Comporta e Aldeia do Meco 2011. Contudo, diferenças significativas entre as origens Comporta e Aldeia do Meco 2011 surgiram ao nível do tempo médio de germinação, tendo a Aldeia do Meco 2011 obtido o maior valor de TGM (147,3 dias) para as suas sementes. Tendo em conta os resultados obtidos para o tempo médio de germinação, pode observar-

se que a germinação mais rápida observada foi obtida nas sementes provenientes da Comporta (138,2 dias).

A razão entre o T50 e o TGM indicou, de um modo geral, que a germinação foi mais rápida antes de se alcançar 50% da germinação final em relação à obtida posteriormente.

Quadro 7 – Efeito do pré-tratamento de escarificação química durante 0, 30, 60 e 120 minutos na germinação de sementes, provenientes da Aldeia do Meco colhidas em 2011 e 2012, Comporta e Duna de Quiaios, após 191 dias em câmara de germinação.

Ensaio 1.1.	Nº. de PP Com sementes Germinadas	Germinação (%)	T50 (dias)	IVG -	TGM (dias)	T50 TGM
Comporta						
Controlo	2,0	4,0	142,0	0,05	152,5	0,93
30 minutos	1,0	1,0	149,0	0,03	149,0	1,00
60 minutos	1,0	1,0	121,0	0,03	121,0	1,00
120 minutos	1,0	3,0	128,0	0,09	130,3	0,98
Meco 2011						
Controlo	3,0	7,0	149,0	0,06	153,7	0,99
30 minutos	4,0	26,0	136,2	0,19	139,7	0,97
60 minutos	4,0	18,0	143,2	0,13	144,6	0,99
120 minutos	3,0	12,0	144,3	0,11	151,3	0,95
Meco 2012						
Controlo	0,0	0,0	-	-	-	-
30 minutos	1,0	1,0	163,0	0,02	163,0	1,00
60 minutos	1,0	1,0	163,0	0,02	163,0	1,00
120 minutos	1,0	3,0	114,0	0,11	111,3	1,02
Quiaios						
Controlo	0,0	0,0	-	-	-	-
30 minutos	0,0	0,0	-	-	-	-
60 minutos	1,0	1,0	163,0	0,02	163,0	1,00
120 minutos	1,0	1,0	163,0	0,02	163,0	1,00

Número de PP com sementes germinadas= Número de placas de Petri com sementes germinadas; Germinação= Percentagem de germinação final; T50= Número de dias necessário para atingir 50% da germinação final; IVG= Índice de velocidade de germinação; TGM=Tempo de germinação médio (dias). N=4 placas de Petri contendo 25 sementes cada, por duração do pré-tratamento.

A primeira semente germinada surgiu ao fim de 92 dias em câmara de germinação (Figura 5c), para a origem Aldeia do Meco 2012 e pré-tratamento de escarificação química durante 120 minutos.

Em concordância ao reportado por COSTA (2011) as sementes do controlo da Aldeia do Meco 2011 foram as últimas a iniciar a germinação (Figura 5b). Porém, as sementes do controlo da Comporta

iniciaram a germinação primeiro (ao fim de 135 dias) em relação às da mesma origem sujeitas à escarificação durante 30 minutos (ao fim de 149 dias) (Figura 5a).

Como se pode constatar (Figura 5) a partir dos 163 dias em câmara de germinação a maioria das sementes deixou de germinar, isto é, houve uma estabilização da percentagem média de sementes germinadas. Estes resultados sugerem que à medida que aumentava o período de tempo das sementes em câmara de germinação, as mesmas deixavam de ser viáveis.

Mais uma vez se pode observar que as sementes desta espécie parecem ter uma dormência elevada, uma vez que foram necessários 135 dias para que as primeiras sementes tivessem germinado, em condições controladas.

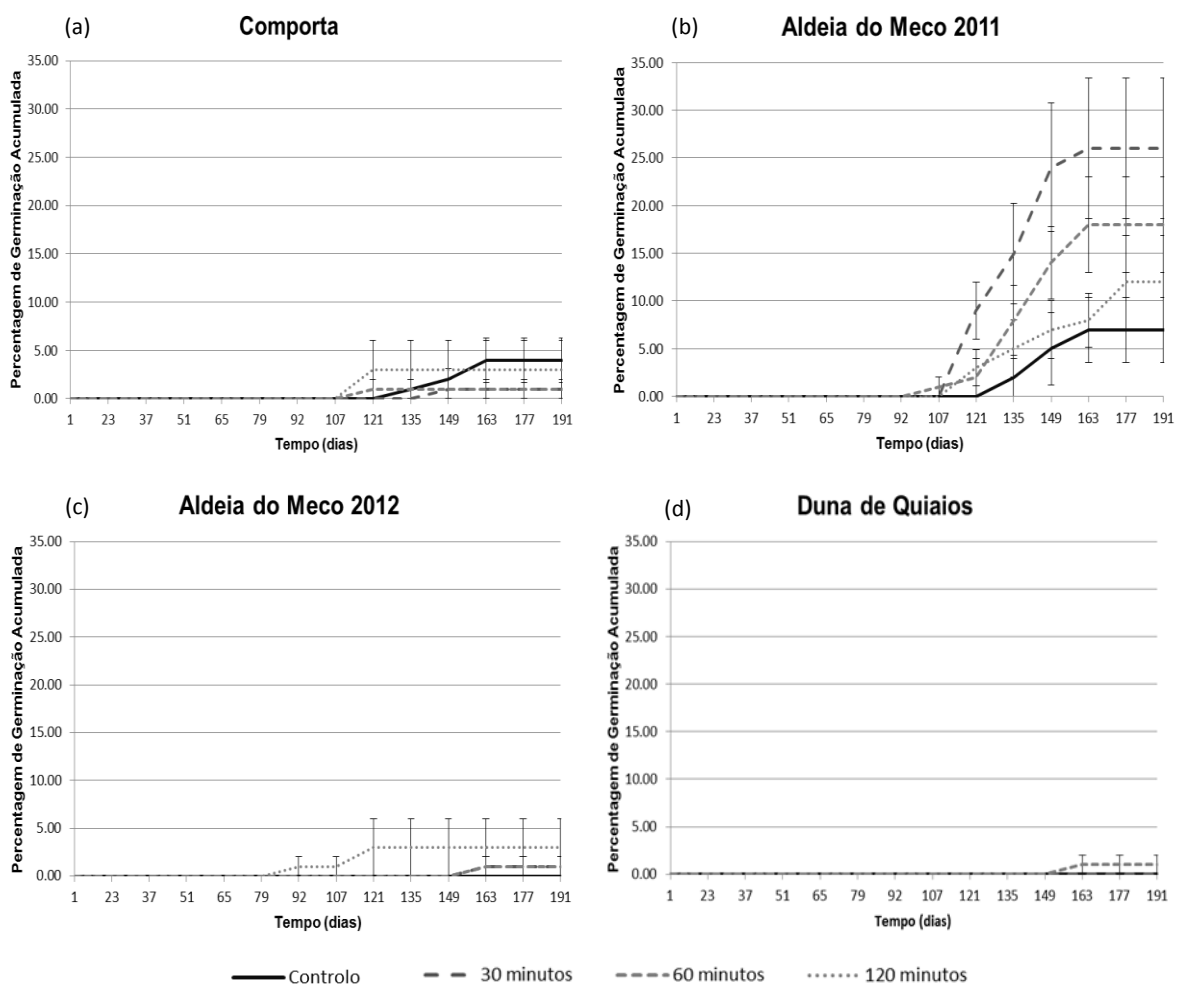


Figura 5 – Efeito do pré-tratamento de escarificação química (ácido sulfúrico) durante 0, 30, 60 e 120 minutos na percentagem média de germinação cumulativa de sementes de *C. album* por origem a) Comporta; b) Aldeia do Meco 2011; c) Aldeia do Meco 2012 e d) Duna de Quiaios, durante 191 dias em câmara de germinação (N=4 placas de Petri contendo 25 sementes cada, por duração do pré-tratamento. As barras exibem duas vezes o erro padrão da média).

Ensaio 1.2. Influência do grau de maturação das bagas, tendo como pré-tratamento a escarificação química durante 30 minutos.

O pré-tratamento de escarificação química não teve um efeito significativo na percentagem média de sementes com episperma quebrado ($p=0,323$), para as sementes provenientes da Aldeia do Meco 2012 nos diferentes estádios de maturação, após 182 dias de ensaio em câmara de germinação (Quadro 8).

Quadro 8 – Percentagem de sementes com episperma quebrado, provenientes de bagas brancas e bagas em estado de maturação avançado (maduras) da Aldeia do Meco colhidas em 2012, e tendo como pré-tratamento a escarificação química (30 minutos), após 182 dias em câmara de germinação.

Sementes de bagas Meco 2012	% Sementes Episperma Quebrado
Branças	50,0
Maduras	43,0
Média Geral	46,5
EPM	4,60
Prob. (F)	N.S.

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, em que letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes; EPM – Erro padrão da média; N = 4 placas de Petri contendo 25 sementes cada, por estádio de maturação para a percentagem de sementes com episperma quebrado.

Em relação às sementes com radícula inferior a 1 mm (Quadro 9) constatou-se que não existem diferenças significativas entre sementes de bagas brancas e sementes de bagas em estado de maturação avançado ($p= 0,888$).

Não se observou germinação das sementes (radícula ≥ 1 mm) de bagas brancas provenientes da Aldeia do Meco 2012, na presença do pré-tratamento de escarificação química durante 30 minutos (Quadro 9). Verificou-se para este Ensaio 1.2., que a diferença da percentagem de germinação de sementes de bagas em diferentes estádios de maturação não foi significativa ($p=0,356$), isto é, o grau de maturação das bagas não influenciou a germinação de sementes de *C. album*.

Estes valores não significativos da percentagem média de germinação das sementes de bagas em diferentes estádios de maturação poderão ter-se devido, tal como sugere COSTA (2011), à data de colheita das mesmas, Novembro, pois embora as bagas se apresentassem brancas, as sementes já tinham completado o seu desenvolvimento, não existindo diferenças nas sementes quanto ao seu grau de maturação.

Quadro 9 – Percentagem de sementes com radícula <1 mm e sementes com radícula ≥ 1 mm, provenientes de bagas brancas e bagas em estado de maturação avançado (maduras), da Aldeia do Meco colhidas em 2012, e tendo como pré-tratamento a escarificação química (30 minutos), após 182 dias em câmara de germinação.

Sementes de bagas Meco 2012	% Sementes Radícula < 1mm	% Sementes Radícula ≥ 1 mm
Branças	3,0	0,0
Maduras	2,0	2,0
Média Geral	2,5	1,0
EPM	2,55	1,41
Prob. (F)	N.S.	N.S.

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, em que letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes; EPM – Erro padrão da média; N = 4 placas de Petri contendo 25 sementes cada, por estágio de maturação para a percentagem de sementes com radícula <1 mm e radícula ≥ 1 mm.

Os resultados não significativos deste Ensaio 1.2. estão de acordo com os obtidos por COSTA (2011) que verificou que para o pré-tratamento de escarificação química (30 minutos), a diferença da percentagem de germinação de sementes de bagas em diferentes estádios de maturação não foi significativa.

Contrariamente, COSTA (2011) observou que o estágio de maturação dos frutos parece ter influência sobre a percentagem de germinação, quando aplicados tratamentos como: a) Elevada temperatura; b) Combinação de elevada temperatura seguida de escarificação química e c) Escarificação mecânica.

Ensaio 1.3. Influência da combinação de escarificação química (30 minutos) seguida de estratificação quente (2 meses) seguida de outra fria (2 meses).

A combinação da escarificação química seguida de estratificação quente seguida de outra fria teve um efeito significativo ($p < 0,000$) na percentagem de sementes com episperma quebrado (Quadro 10), para cada origem e após 182 dias de ensaio em câmara de germinação. A percentagem média de sementes com episperma quebrado da Aldeia do Meco 2011 foi 19 e 9,5 vezes superior à obtida para as sementes da Aldeia do Meco 2012 (3,0%) e Duna de Quiaios (6,0%), respetivamente. A percentagem média obtida para as sementes provenientes da Aldeia do Meco 2011 (57,0%) não foi a este nível significativamente diferente da percentagem média obtida para as sementes da Comporta (40,0%).

A percentagem média geral obtida nas sementes sujeitas a escarificação química durante 30 minutos (54,2%) no Ensaio 1.1., quando comparada com a percentagem média geral obtida no Ensaio 1.3. (26,5%), pode observar-se que a estratificação quente seguida de outra fria reduziu a percentagem de rutura do episperma, uma vez que a percentagem média geral obtida neste ensaio foi muito inferior.

Quadro 10 – Percentagem de sementes com episperma quebrado, provenientes da Aldeia do Meco colhidas em 2011 e 2012, Comporta e Duna de Quiaios, e tendo como pré-tratamento a escarificação química (30 minutos) seguida da estratificação quente seguida de outra fria, após 182 dias em câmara de germinação.

Origem	% Sementes Episperma Quebrado
Comporta	40,0 A
Meco 2011	57,0 A
Meco 2012	3,0 B
Quiaios	6,0 B
Média Geral	26,5
EPM	6,70
Prob. (F)	$p < 0,000$

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha = 0,05$, em que letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes; EPM – Erro padrão da média; N = 4 placas de Petri contendo 25 sementes cada, por origem para a percentagem de sementes com episperma quebrado.

Considerando a percentagem de sementes com radícula < 1 mm (Quadro 11) após 182 em câmara de germinação, a ANOVA apresenta um valor de $p = 0,056$. Tendo em conta que a Probabilidade de F foi próxima de 0,05, optou-se pelo teste de LSD.

A percentagem de sementes germinadas (radícula ≥ 1 mm), não diferiu significativamente entre as origens ($p = 0,113$) (Quadro 11), pela ANOVA e teste de LSD.

Quadro 11 – Percentagem de sementes com radícula <1 mm e sementes com radícula ≥1 mm, provenientes da Aldeia do Meco colhidas em 2011 e 2012, Comporta e Duna de Quiaios, e tendo como pré-tratamento a escarificação química (30 minutos) seguida da estratificação quente seguida de outra fria, após 182 dias em câmara de germinação.

Origem	% Sementes Radícula < 1mm	% Sementes Radícula ≥ 1 mm
Comporta	2,0 B	4,0
Meco 2011	19,0 A	6,0
Meco 2012	0,0 B	0,0
Quiaios	3,0 B	0,0
Média Geral	6,0	2,5
EPM	4,92	2,38
Prob. (F)	$p=0,056$	N.S.

Teste de comparação múltipla de médias de LSD para $\alpha=0,05$, em que letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes; EPM – Erro padrão da média; N = 4 placas de Petri contendo 25 sementes cada, por origem para a percentagem de sementes com radícula <1 mm e radícula ≥1 mm.

Numa análise às percentagens médias de germinação de sementes sujeitas ao pré-tratamento de escarificação química durante 30 minutos do Ensaio 1.1. (Comporta –1,0%; Aldeia do Meco 2011 – 26,0%; Aldeia do Meco 2012 – 1,0%; Duna de Quiaios – 0,0%), ao fim de 191 dias, pode observar-se que as percentagens médias neste Ensaio 1.3., após 182 dias em câmara de germinação, vêm ao encontro, com exceção da Aldeia do Meco 2011, das obtidas no Ensaio 1.1.

A combinação da escarificação química (30 minutos) seguida da estratificação quente seguida de outra fria promoveu a germinação de sementes de *C. album* apenas nas sementes provenientes da Comporta, comparativamente aos resultados obtidos no Ensaio 1.1. (apenas para sementes sujeitas a escarificação química durante 30 minutos).

Heit (1967) citado por WADA e REED (2011) e alguns autores citados por BASKIN, ZACKRISSON e BASKIN (2002) sugerem que a combinação da escarificação química seguida de estratificação quente seguida de outra fria parece ser o melhor procedimento para a quebra de dormência em sementes que apresentem episperma lenhoso.

A conjugação da estratificação quente seguida de fria está descrita como necessária a alguns géneros por forma a facilitar a quebra da dormência morfofisiológica de sementes com embriões pequenos e não desenvolvidos.

No estudo de BASKIN, ZACKRISSON e BASKIN (2002) referente à germinação com sementes da família Ericaceae, espécie *Empetrum hermaphroditum*, igualmente com episperma lenhoso (extremamente rijo), os mesmos verificaram que a combinação de estratificação quente, durante 12 semanas (temperatura de 25°/15°C – temperatura alternada dia/noite, seguida de outra fria, durante

20 semanas (temperatura de 1°C), e posteriormente colocadas em câmara de germinação durante 6 semanas (T= 15°/6°C) levou a uma percentagem de germinação de 91,0%.

Ainda BASKIN, ZACKRISSON e BASKIN (2002) sugerem que a estratificação quente faz parte de um dos mecanismos utilizados para a quebra de dormência requerida em embriões que apresentem dormência fisiológica, estando esta dormência presente nas sementes da espécie *Empetrum hermaphroditum*.

A combinação da estratificação quente seguida de outra fria permite aferir a presença da dormência fisiológica, uma vez que está documentado que este procedimento parece ser o melhor para a quebra deste tipo de dormência (Nikolaeva, 1969 citada por BASKIN e BASKIN, 2001).

Como se verificou ao longo do Ensaio 1 pela observação direta do aumento de tamanho das sementes, sugeriu-se a presença de embriões não desenvolvidos e/ou não diferenciados e dormência morfológica ou morfofisiológica nas sementes de *C. album*. Porém, e uma vez que os resultados relativos à percentagem média de sementes germinadas neste Ensaio 1.3. não foram muito diferentes em relação aos obtidos no Ensaio 1.1. apenas para o pré-tratamento de escarificação química durante 30 minutos, pode observar-se, de um modo geral, que a combinação da estratificação quente seguida de outra fria não promoveu a germinação de sementes de *C. album*.

Apesar destes resultados não é possível aferir quanto à presença da dormência fisiológica e da dormência morfofisiológica nas sementes desta espécie, pois existem pré-tratamentos que permitem, de igual modo, quebrar este tipo de dormência e tendo em conta que a dormência fisiológica está presente em sementes de muitas espécies da família da *C. album*.

Ensaio 1.4. Influência da combinação de escarificação química (30, 60 e 120 minutos) seguida de uma imbibição das sementes com solução de ácido giberélico (1000 ppm).

A percentagem média de sementes com episperma quebrado (Quadro 12) diferiu significativamente entre as diferentes origens ($p < 0,000$), independentemente da duração do pré tratamento, após 175 dias em câmara de germinação. A percentagem média de sementes provenientes da Aldeia do Meco 2011 (92,7%) foi superior em relação à obtida em sementes da Duna de Quiaios (47,0%) e Aldeia do Meco 2012 (43,7%), enquanto as sementes da Comporta apresentaram um valor médio intermédio (74,3%).

Quadro 12 – Percentagem de sementes com episperma quebrado, provenientes da Aldeia do Meco colhidas em 2011 e 2012, Comporta e Duna de Quiaios, e tendo como pré-tratamento a escarificação química (30, 60 e 120 minutos) seguida de uma imbibição das sementes com ácido giberélico, após 175 dias em câmara de germinação.

Origem	% Sementes Episperma Quebrado
Comporta	74,3 B
Meco 2011	92,7 A
Meco 2012	43,7 C
Quiaios	47,0 C
Média Geral	64,4
EPM	3,01
Prob. (F)	$p < 0,000$

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha = 0,05$, em que letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes; EPM – Erro padrão da média; N = 12 placas de Petri contendo 25 sementes cada, por origem para a percentagem de sementes com episperma quebrado.

O pré-tratamento de escarificação química teve um efeito significativo ($p < 0,001$) na percentagem de sementes com episperma quebrado, independentemente da origem (Quadro 13).

Tendo em conta os resultados obtidos, pode observar-se que a duração 60 minutos do pré-tratamento de escarificação química promoveu a maior percentagem média de sementes com episperma quebrado em relação à duração 30 minutos, não sendo a este nível significativamente diferente da duração 120 minutos.

Analisando a interação entre origem e duração da escarificação química não se encontram diferenças significativas ($p = 0,471$) em relação à percentagem média de sementes com episperma quebrado.

Quadro 13 – Percentagem de sementes com episperma quebrado, correspondentes a cada duração (30, 60 e 120 minutos) do pré-tratamento de escarificação química seguida de uma imbibição com ácido giberélico, após 175 dias em câmara de germinação.

Duração do Pré-tratamento	% Sementes Episperma Quebrado
30 minutos	58,0 B
60 minutos	71,5 A
120 minutos	63,7 AB
Média Geral	64,4
EPM	2,61
Prob. (F)	$p < 0,001$

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha = 0,05$, em que letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes; EPM – Erro padrão da média; N = 16 placas de Petri contendo 25 sementes cada, por duração do pré-tratamento para a percentagem de sementes com episperma quebrado.

A percentagem de sementes com radícula < 1 mm (Quadro 14) diferiu significativamente entre as origens ($p < 0,000$), após 175 dias em câmara de germinação. A maior percentagem média obtida foi de 34,7% para as sementes provenientes da Aldeia do Meco 2011. As percentagens médias só não foram significativamente diferentes para as origens Comporta, Aldeia do Meco 2012 e Duna de Quiaios. Tendo em conta os resultados obtidos, pode observar-se que a origem Aldeia do Meco 2011 apresentou uma percentagem média de sementes germinadas (radícula ≥ 1 mm) superior em relação às restantes origens, não sendo a este nível significativamente diferentes as origens Comporta, Aldeia do Meco 2011 e Duna de Quiaios.

Quadro 14 – Percentagem de sementes com radícula < 1 mm e sementes com radícula ≥ 1 mm, provenientes da Aldeia do Meco colhidas em 2011 e 2012, Comporta e Duna de Quiaios, e tendo como pré-tratamento a escarificação química (30, 60 e 120 minutos) seguida de uma imbibição das sementes com ácido giberélico, após 175 dias em câmara de germinação.

Origem	% Sementes Radícula < 1 mm	% Sementes Radícula ≥ 1 mm
Comporta	7,7 B	6,0 B
Meco 2011	34,7 A	30,3 A
Meco 2012	7,7 B	4,0 B
Quiaios	8,7 B	5,3 B
Média Geral	14,7	11,4
EPM	4,53	3,77
Prob. (F)	$p < 0,000$	$p < 0,000$

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha = 0,05$, em que letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes; EPM – Erro padrão da média; N = 12 placas de Petri contendo 25 sementes cada, por origem para a percentagem de sementes com radícula < 1 mm e radícula ≥ 1 mm.

O pré-tratamento de escarificação química (30, 60 e 120 minutos) seguida de uma imbibição das sementes com solução de ácido giberélico (1000 ppm) aumentou a percentagem média de germinação (30,3%) ao fim de 175 dias em câmara de germinação, para as sementes provenientes da Aldeia do Meco 2011, em relação ao pré-tratamento de escarificação química (30, 60 e 120 minutos) (Ensaio 1.1.) para as sementes provenientes da Aldeia do Meco 2011 (18,7%), ao fim de 191 dias.

Tendo em conta os resultados obtidos para a percentagem de sementes com radícula <1 mm e sementes com radícula ≥1 mm para cada duração do pré-tratamento (Quadro 15) consegue-se verificar que não existem diferenças significativas em relação à duração da escarificação química ($p=0,143$ e $p=0,107$, respetivamente). Como se pode constatar, as diferentes durações do pré-tratamento de escarificação química (ácido sulfúrico) seguida de uma imbibição das sementes com ácido giberélico, parecem não influenciar na germinação de sementes de *C. album*.

A interação origem/duração da escarificação química não diferiu significativamente em relação à percentagem média de sementes com radícula inferior a 1 mm e sementes germinadas (radícula ≥1 mm) ($p=0,674$ e $p=0,846$, respetivamente).

Quadro 15 – Percentagem de sementes com radícula <1 mm e sementes com radícula ≥1 mm, correspondentes a cada duração (30, 60 e 120 minutos) do pré-tratamento de escarificação química seguida de uma imbibição com ácido giberélico, após 175 dias em câmara de germinação.

Duração do Pré-tratamento	% Sementes Radícula < 1mm	% Sementes Radícula ≥ 1 mm
30 minutos	12,0	8,5
60 minutos	18,5	14,7
120 minutos	13,5	11,0
Média Geral	14,7	11,4
EPM	3,93	3,26
Prob. (F)	N.S.	N.S.

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, em que letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes; EPM – Erro padrão da média; N = 16 placas de Petri contendo 25 sementes cada, por duração do pré-tratamento para a percentagem de sementes com radícula <1 mm e radícula ≥1 mm.

Considerando a percentagem média geral de sementes germinadas (11,4%) referente ao pré-tratamento de escarificação química (30, 60 e 120 minutos) seguida de uma imbibição com ácido giberélico (Ensaio 1.4.), ao fim de 175 dias, e a percentagem média geral de sementes germinadas (5,6%) referente ao pré-tratamento de escarificação química (30, 60 e 120 minutos) (Ensaio 1.1.), ao fim de 191 dias, pode observar-se que o pré-tratamento do Ensaio 1.4. promoveu a germinação de sementes de *C. album*.

No estudo de BASKIN, ZACKRISSON e BASKIN (2002) as sementes da espécie *Empetrum hermaphroditum* (família Ericaceae) foram, também, sujeitas a uma imbibição com solução de ácido giberélico (1000 ppm) tendo sido obtida uma percentagem de germinação máxima de 87,0%, ao fim de 12 semanas em câmara de germinação.

Segundo JENNINGS e TULLOCH (1965) a aplicação de ácido giberélico (500 ppm) em sementes do género *Rubus* L., tendo anteriormente aplicado ácido sulfúrico (20 minutos), 1,0% de hipoclorito de sódio (seis dias) e estratificação a frio (seis semanas), demonstrou aumentar a capacidade germinativa das sementes.

Para sementes da espécie *Erica australis*, também pertencente à família Ericaceae, VERA, MARTÍN e OLIVA (2010) verificaram que o pré-tratamento com ácido giberélico (25 ppm) promoveu a germinação máxima de 100% comparativamente às sementes do controlo (sem pré-tratamento) que obtiveram uma germinação máxima de 6,0%. As sementes desta espécie *Erica australis* apresentam dormência morfológica e fisiológica (VERA, MARTÍN e OLIVA, 2010).

A espécie *Arbutus unedo* L., também pertencente à família Ericaceae, apresenta sementes com mecanismos para retardar o processo de germinação, nomeadamente dormência fisiológica. TILKI (2004) no seu estudo com sementes de *Arbutus unedo* verificou que a dormência das mesmas foi quebrada devido a estratificação fria (areia húmida juntamente com as sementes e temperatura de 4°C, no mínimo 9 semanas) ou tratamento com ácido giberélico (300, 600 ou 900 ppm), anteriormente à colocação das sementes em câmara de germinação sujeitas à temperatura de 20°C e presença de luz durante 12 horas. TILKI (2004) refere, ainda, que a percentagem de germinação obtida não foi significativamente diferente quer para as sementes sujeitas a estratificação fria quer para o ácido giberélico.

Os resultados obtidos por TILKI (2004) sugerem, tal como verificado por outros autores, que a aplicação de ácido giberélico poderá substituir o período de estratificação fria e permitir a quebra de dormência fisiológica em sementes com embriões dormentes.

Segundo BASKIN *et al.* (2005) a combinação da estratificação quente seguida de outra fria não promoveu a germinação de sementes da espécie *Leptecophylla tameiameiae* (família Ericaceae), estando a dormência fisiológica profunda presente nas sementes desta espécie. De igual modo, a aplicação de ácido giberélico nestas sementes não promoveu a germinação das mesmas. Estes resultados vão ao encontro do referido por BASKIN e BASKIN (2001), sendo que para este nível de dormência fisiológica profunda, o ácido giberélico não quebra o mecanismo, nem estimula a germinação de sementes.

Como se pode constatar, a imbibição com ácido giberélico como pré-tratamento levou ao aumento da percentagem de germinação das sementes de *C. album*, ao que se pode observar que as sementes desta espécie apresentam dormência fisiológica não profunda ou intermédia.

A percentagem média de germinação e o índice de velocidade de germinação das sementes provenientes da Aldeia do Meco 2011 (Quadro 16) não diferiram significativamente para cada duração do pré-tratamento (30, 60, 120 minutos). Já diferenças significativas entre as durações do pré-tratamento surgiram ao nível do T50 ($p < 0,01$) em que a duração 60 minutos de ácido sulfúrico acelerou a germinação ($T=97,8$ dias) em relação à duração 30 minutos ($T=126,7$ dias), não sendo a este nível de significativamente diferente da duração 120 minutos ($T=117,5$ dias). De igual modo, existiram diferenças significativas entre as durações do pré-tratamento ao nível do tempo de germinação médio ($p < 0,02$) sendo que não se observaram diferenças significativas entre as durações 30 e 120 minutos.

A percentagem média de germinação, a velocidade de germinação (T50), o índice de velocidade de germinação e o tempo de germinação médio das sementes provenientes da Comporta, Aldeia do Meco 2012 e Duna de Quiaios não diferiram significativamente para cada duração do pré-tratamento (30, 60, 120 minutos).

Para o índice de velocidade de germinação, velocidade de germinação e tempo médio de germinação não foram encontradas diferenças significativas entre as origens Comporta, Aldeia do Meco 2011, Aldeia do Meco 2012 e Duna de Quiaios.

A razão entre o T50 e o TGM indicou, de um modo geral, que a germinação foi mais rápida antes de se alcançar 50% da germinação final em relação à obtida posteriormente.

Quadro 16 – Efeito do pré-tratamento de escarificação química durante 30, 60 e 120 minutos seguida de uma imbibição das sementes com solução de ácido giberélico (1000 ppm) na germinação de sementes, provenientes da Aldeia do Meco colhidas em 2011 e 2012, Comporta e Duna de Quiaios, após 175 dias em câmara de germinação.

Ensaio 1.4.	Nº. de PP Com sementes Germinadas	Germinação (%)	T50 (dias)	IVG -	TGM (dias)	T50 TGM
Comporta						
30 minutos	1,0	1,0	133,0	0,03	133,0	1,00
60 minutos	2,0	13,0	109,4	0,23	114,5	0,96
120 minutos	2,0	4,0	127,7	0,06	128,3	0,99
Meco 2011						
30 minutos	4,0	29,0	126,7	0,23	131,4	0,96
60 minutos	4,0	28,0	97,8	0,26	104,8	0,93
120 minutos	4,0	34,0	117,5	0,27	131,5	0,89
Meco 2012						
30 minutos	1,0	1,0	91,0	0,04	91,0	1,00
60 minutos	3,0	8,0	140,4	0,07	141,6	0,99
120 minutos	2,0	3,0	98,0	0,07	122,5	0,80
Quiaios						
30 minutos	1,0	3,0	143,5	0,08	156,3	0,92
60 minutos	4,0	10,0	133,0	0,07	138,3	0,96
120 minutos	2,0	3,0	115,5	0,05	119,0	0,97

Número de PP com sementes germinadas= Número de placas de Petri com sementes germinadas; Germinação= Percentagem de germinação final; T50= Número de dias necessário para atingir 50% da germinação final; IVG= Índice de velocidade de germinação; TGM=Tempo de germinação médio (dias). N=4 placas de Petri contendo 25 sementes cada, por duração do pré-tratamento.

A primeira semente germinada surgiu ao fim de 91 dias em câmara de germinação (Figura 6c), para a origem Aldeia do Meco 2012 e pré-tratamento de escarificação química durante 30 minutos.

Mais uma vez observou-se que a maior percentagem média de germinação obtida foi nas sementes provenientes da Aldeia do Meco 2011 (Figura 6).

Como se pode constatar (Figura 6) apenas as percentagens médias de germinação obtidas nas sementes provenientes da Aldeia do Meco 2011, sujeitas a uma escarificação química durante 60 e 120 minutos, e a percentagem média de germinação obtida nas sementes provenientes da Duna de Quiaios, sujeitas a uma escarificação química durante 30 minutos, não estabilizaram, no término do ensaio. Estes resultados sugerem que após 175 dias em câmara de germinação, as sementes continuarão a germinar.

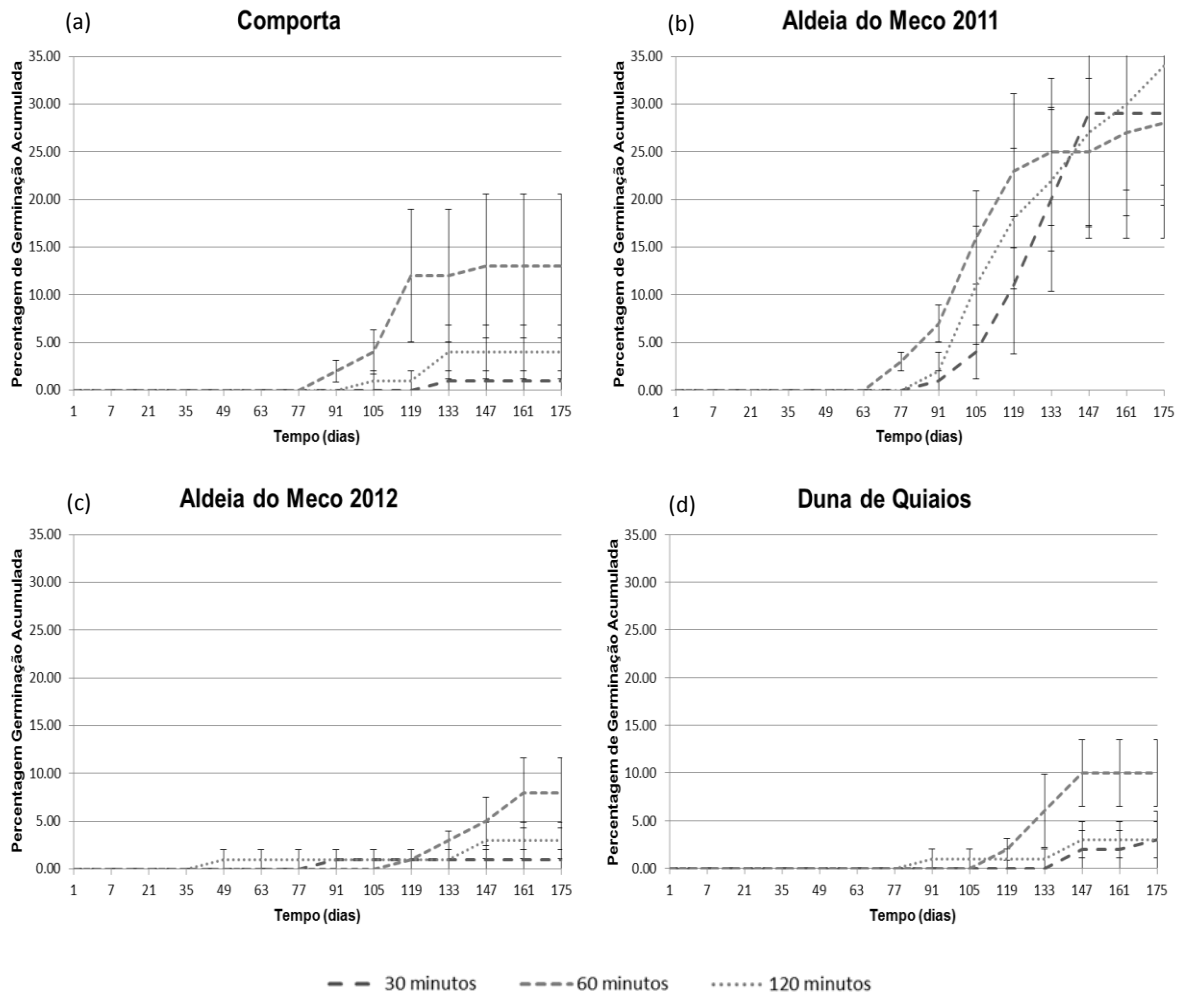


Figura 6 – Efeito do pré-tratamento de escarificação química (ácido sulfúrico) durante 30, 60 e 120 minutos, seguida de uma imbibição das sementes com ácido giberélico na percentagem média de germinação cumulativa de sementes de *C. album* por origem a) Comporta; b) Aldeia do Meco 2011; c) Aldeia do Meco 2012 e d) Duna de Quiaios, durante 175 dias em câmara de germinação (N=4 placas de Petri contendo 25 sementes cada, por duração do pré-tratamento. As barras exibem duas vezes o erro padrão da média).

Ensaio 1.5. Influência da combinação de escarificação química (30, 60 e 120 minutos) seguida de uma imbibição das sementes com solução de ácido giberélico (1000 ppm) seguida de uma imbibição com nitrato de potássio (0,5%).

A percentagem de sementes com episperma quebrado foi significativamente diferente para as diferentes origens ($p < 0,000$), independentemente da duração do pré tratamento, após 161 dias de ensaio em câmara de germinação. A maior percentagem média (93,7%) foi obtida nas sementes provenientes da Aldeia do Meco 2011. A percentagem de sementes com episperma quebrado da Aldeia do Meco 2011 foi 1,25 vezes superior à obtida para as sementes da Comporta (75,0%). Não foram observadas diferenças significativas entre as percentagens médias obtidas nas sementes da Duna de Quiaios (48,7%) e Aldeia do Meco 2012 (43,3%).

O pré-tratamento de escarificação química teve um efeito significativo ($p < 0,008$) na percentagem de sementes com episperma quebrado, independentemente da origem.

Verificou-se que a duração 120 minutos de escarificação química com ácido sulfúrico, ao fim de 161 dias de ensaio, promoveu a maior percentagem média de sementes com episperma quebrado (70,5%) em relação à duração 30 minutos (60,8%), não sendo a este nível significativamente diferente da duração 60 minutos (64,3%).

Analisando a interação entre origem e duração da escarificação química (Quadro 17) encontram-se diferenças significativas ($p = 0,039$) em relação à percentagem média de sementes com episperma quebrado. Porém, verificou-se que existem cinco grupos em que as médias não são estatisticamente diferentes entre si (A, B, etc.).

Como se pode constatar, a percentagem média de sementes com episperma quebrado para a Duna de Quiaios sujeitas a uma escarificação química durante 120 minutos seguida de uma imbibição das sementes com ácido giberélico seguida de uma imbibição com nitrato de potássio, foi de 62,0% em relação à percentagem obtida de 39,0% para a duração 30 minutos do ácido sulfúrico. Isto sugere que o aumento da percentagem de sementes com episperma quebrado, nas sementes provenientes desta origem, pode ser conseguido se a duração do pré-tratamento de escarificação química for aumentada, mantendo-se, de seguida, a imbibição das sementes com ácido giberélico (1000 ppm) seguida de uma imbibição com nitrato de potássio (0,5%).

Outra constatação relevante foi a observação das maiores percentagens médias para a duração de 30 e 60 minutos do pré-tratamento nas sementes provenientes da Aldeia do Meco colhidas em 2011 em relação às percentagens médias obtidas para as restantes origens (duração de 30 e 60 minutos).

Quadro 17 – Percentagem de sementes com episperma quebrado, por origem (Aldeia do Meco colhidas em 2011 e 2012, Comporta e Duna de Quiaios) e duração do pré-tratamento de escarificação química (30, 60 e 120 minutos) seguida de uma imbibição das sementes com ácido giberélico seguida de uma imbibição com nitrato de potássio, após 161 dias em câmara de germinação.

	Comporta	Meco 2011	Meco 2012	Quiaios
30 minutos	74,0 BC	95,0 A	35,0 E	39,0 E
60 minutos	73,0 BC	96,0 A	43,0 DE	45,0 DE
120 minutos	78,0 ABC	90,0 AB	52,0 DE	62,0 CD
Média Geral		65,2		
EPM		4,22		
Prob. (F)		$p=0,039$		

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, em que letras diferentes em coluna ou linha indicam valores estatisticamente diferentes; EPM – Erro padrão da média; N = 4 placas de Petri contendo 25 sementes cada, por origem e duração do pré-tratamento para a percentagem de sementes com episperma quebrado.

A percentagem média de sementes com radícula <1 mm e de sementes germinadas (radícula ≥ 1 mm) (Quadro 18) diferiu significativamente entre as origens ($p<0,000$ e $p<0,000$, respetivamente) após 161 dias em câmara de germinação. A maior percentagem média obtida foi de 28,0% (sementes com sementes com ≥ 1 mm) para as sementes provenientes da Aldeia do Meco 2011. As percentagens médias só não foram significativamente diferentes para as origens Comporta, Aldeia do Meco 2012 e Duna de Quiaios.

Quadro 18 – Percentagem de sementes com radícula <1 mm e sementes com radícula ≥ 1 mm, provenientes da Aldeia do Meco colhidas em 2011 e 2012, Comporta e Duna de Quiaios, e tendo como pré-tratamento a escarificação química (30, 60 e 120 minutos) seguida de uma imbibição das sementes com ácido giberélico seguida de uma imbibição com nitrato de potássio, após 161 dias em câmara de germinação.

Origem	% Sementes Radícula < 1mm	% Sementes Radícula ≥ 1 mm
Comporta	5,0 B	4,3 B
Meco 2011	28,0 A	28,0 A
Meco 2012	4,3 B	2,0 B
Quiaios	2,7 B	3,7 B
Média Geral	10,0	9,5
EPM	3,06	4,10
Prob. (F)	$p<0,000$	$p<0,000$

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, em que letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes; EPM – Erro padrão da média; N = 12 placas de Petri contendo 25 sementes cada, por origem para a percentagem de sementes com radícula <1 mm e radícula ≥ 1 mm.

Tendo em conta os resultados obtidos para a percentagem de sementes com radícula <1 mm e sementes com radícula ≥ 1 mm para cada duração do pré-tratamento (Quadro 19) consegue-se verificar que não existem diferenças significativas em relação à duração da escarificação química ($p=0,585$ e $p=0,523$, respetivamente). Como se pode observar, as diferentes durações do pré-tratamento de escarificação química (ácido sulfúrico) seguida de uma imbibição das sementes com ácido giberélico (1000 ppm) seguida de uma imbibição com nitrato de potássio (0,5%), parecem não influenciar na germinação de sementes de *C. album*.

A interação origem/duração da escarificação química não diferiu significativamente em relação à percentagem média de sementes com radícula inferior a 1 mm e sementes germinadas (radícula ≥ 1 mm).

Quadro 19 – Percentagem de sementes com radícula <1 mm e sementes com radícula ≥ 1 mm, correspondentes a cada duração (30, 60 e 120 minutos) do pré-tratamento de escarificação química seguida de uma imbibição das sementes com ácido giberélico seguida de uma imbibição com nitrato de potássio, após 161 dias em câmara de germinação.

Duração do Pré-tratamento	% Sementes Radícula < 1mm	% Sementes Radícula ≥ 1 mm
30 minutos	7,8	8,5
60 minutos	11,3	7,3
120 minutos	11,0	12,8
Média Geral	10,0	9,5
EPM	2,65	3,55
Prob. (F)	N.S.	N.S.

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, em que letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes; EPM – Erro padrão da média; N = 16 placas de Petri contendo 25 sementes cada, por duração do pré-tratamento para a percentagem de sementes com radícula <1 mm e radícula ≥ 1 mm.

Considerando a percentagem média geral de sementes germinadas (9,5%) referente ao pré-tratamento de escarificação química (30, 60 e 120 minutos) seguida de uma imbibição com ácido giberélico seguida de uma imbibição com nitrato de potássio (Ensaio 1.5.), ao fim de 161 dias, e a percentagem média geral de sementes germinadas (5,6%) referente ao pré-tratamento de escarificação química (30, 60 e 120 minutos) (Ensaio 1.1.), ao fim de 191 dias, pode observar-se que o pré-tratamento do Ensaio 1.5. promoveu a germinação de sementes de *C. album*, mesmo com uma diferença de 30 dias em relação ao término de cada ensaio.

Já TILKI (2004) observou que a aplicação de nitrato de potássio (0,2% ou 0,4%) nas sementes de *Arbutus unedo* (família Ericaceae) não diferiu significativamente em relação às sementes sem qualquer pré-tratamento, tendo obtido uma percentagem de germinação máxima de 10,0% nas sementes sujeitas à aplicação de nitrato de potássio (0,4%).

Tendo em conta apenas a percentagem média geral de sementes germinadas (11,4%) referente ao pré-tratamento de escarificação química (30, 60 e 120 minutos) seguida de uma imbibição com ácido giberélico (Ensaio 1.4.), ao fim de 175 dias, pode observar-se que a aplicação de nitrato de potássio não promoveu a germinação (9,5%) de sementes de *C. album*, ao fim de 161 dias, comparando com os 11,4% obtidos no Ensaio 1.4., embora exista uma diferença de 14 dias em relação ao término de cada ensaio, o que poderá explicar esta diferença de percentagens de germinação.

A percentagem média de germinação, a velocidade de germinação (T50), o índice de velocidade de germinação e o tempo de germinação médio das sementes provenientes da Comporta e das sementes da Aldeia do Meco 2011 (Quadro 20) não diferiram significativamente para cada duração do pré-tratamento (30, 60 e 120 minutos). Para as sementes da Aldeia do Meco 2012 e Duna de Quiaios não foi incluída a análise de variância, tendo em conta a ausência de sementes germinadas nas quatro réplicas, para cada duração do pré-tratamento.

Como se pode constatar pelos dados obtidos, a germinação mais lenta observada foi obtida nas sementes provenientes da Duna de Quiaios (145,2 dias para atingir 50% da germinação final).

Para a velocidade de germinação (T50) não foram encontradas diferenças significativas entre as origens Comporta (121,3 dias) e Aldeia do Meco 2011 (108,4 dias).

Também não foram observadas diferenças significativas entre as origens Comporta e Aldeia do Meco 2011 ao nível do índice de velocidade de germinação (IVG) e tempo médio de germinação (TGM).

Tendo em conta os resultados obtidos, pode observar-se que as sementes com origens na Comporta e Aldeia do Meco 2011 obtiveram a germinação mais rápida comparativamente às sementes com origens na Aldeia do Meco 2012 e Duna de Quiaios.

A razão entre o T50 e o TGM indicou, de um modo geral, que a germinação foi mais rápida antes de se alcançar 50% da germinação final em relação à obtida posteriormente.

A percentagem média de germinação de 10,0% obtida para a duração de 120 minutos do pré-tratamento, ao fim de 161 dias de ensaio, ocorreu nas sementes provenientes da Comporta e Duna de Quiaios, como se pode verificar a duração de 120 minutos de ácido sulfúrico seguida de uma imbibição das sementes com ácido giberélico seguida de uma imbibição com nitrato de potássio teve o mesmo efeito na percentagem média de germinação final nas sementes destas duas origens.

Quadro 20 – Efeito do pré-tratamento de escarificação química durante 30, 60 e 120 minutos seguida de uma imbibição das sementes com solução de ácido giberélico (1000 ppm) seguida de uma imbibição com nitrato de potássio (0,5%) na germinação de sementes, provenientes da Aldeia do Meco colhidas em 2011 e 2012, Comporta e Duna de Quiaios, após 161 dias em câmara de germinação.

Ensaio 1.5.	Nº. de PP Com sementes Germinadas	Germinação (%)	T50 (dias)	IVG -	TGM (dias)	T50 TGM
Comporta						
30 minutos	1,0	1,0	119,0	0,03	119,0	1,00
60 minutos	1,0	2,0	140,0	0,05	147,0	0,95
120 minutos	3,0	10,0	105,0	0,11	106,2	0,99
Meco 2011						
30 minutos	3,0	32,0	108,0	0,40	114,9	0,94
60 minutos	4,0	25,0	108,2	0,22	117,5	0,92
120 minutos	4,0	27,0	109,1	0,25	114,8	0,95
Meco 2012						
30 minutos	0,0	0,0	-	-	-	-
60 minutos	2,0	2,0	140,0	0,03	140,0	1,00
120 minutos	2,0	4,0	129,5	0,06	133,0	0,97
Quiaios						
30 minutos	1,0	1,0	147,0	0,03	147,0	1,00
60 minutos	0,0	0,0	-	-	-	-
120 minutos	3,0	10,0	143,3	0,09	143,5	1,00

Número de PP com sementes germinadas= Número de placas de Petri com sementes germinadas; Germinação= Percentagem de germinação final; T50= Número de dias necessário para atingir 50% da germinação final; IVG= Índice de velocidade de germinação; TGM=Tempo de germinação médio (dias). N=4 placas de Petri contendo 25 sementes cada, por duração do pré-tratamento.

Uma constatação relevante foi a observação da maior percentagem média de germinação (Figura 7) nas sementes provenientes da Aldeia do Meco 2011, tal como verificado no Ensaio 1.1. e Ensaio 1.4. tendo em conta que as sementes desta origem foram as sementes mais leves utilizadas nos ensaios.

Contrariamente aos resultados obtidos, COSTA (2011) aponta para o facto das sementes de *C. album* de Pinheiro da Cruz, no seu estudo, apresentarem maiores dimensões que as de bagas no mesmo estágio de maturação da Fonte da Telha, podendo indicar maior viabilidade e capacidade de germinação das primeiras, uma vez que sementes maiores e mais pesadas têm maior quantidade de endosperma. Contudo, a autora sugere a necessidade de estudos direccionados para esta questão, que tenham em consideração o tamanho e massa das sementes relacionado com a percentagem de germinação.

Como se pode constatar (Figura 7) no término do ensaio a maioria das sementes não deixou de germinar, isto é, não houve uma estabilização da percentagem média de sementes germinadas.

Estes resultados sugerem que após 161 dias em câmara de germinação, as sementes continuarão a germinar.

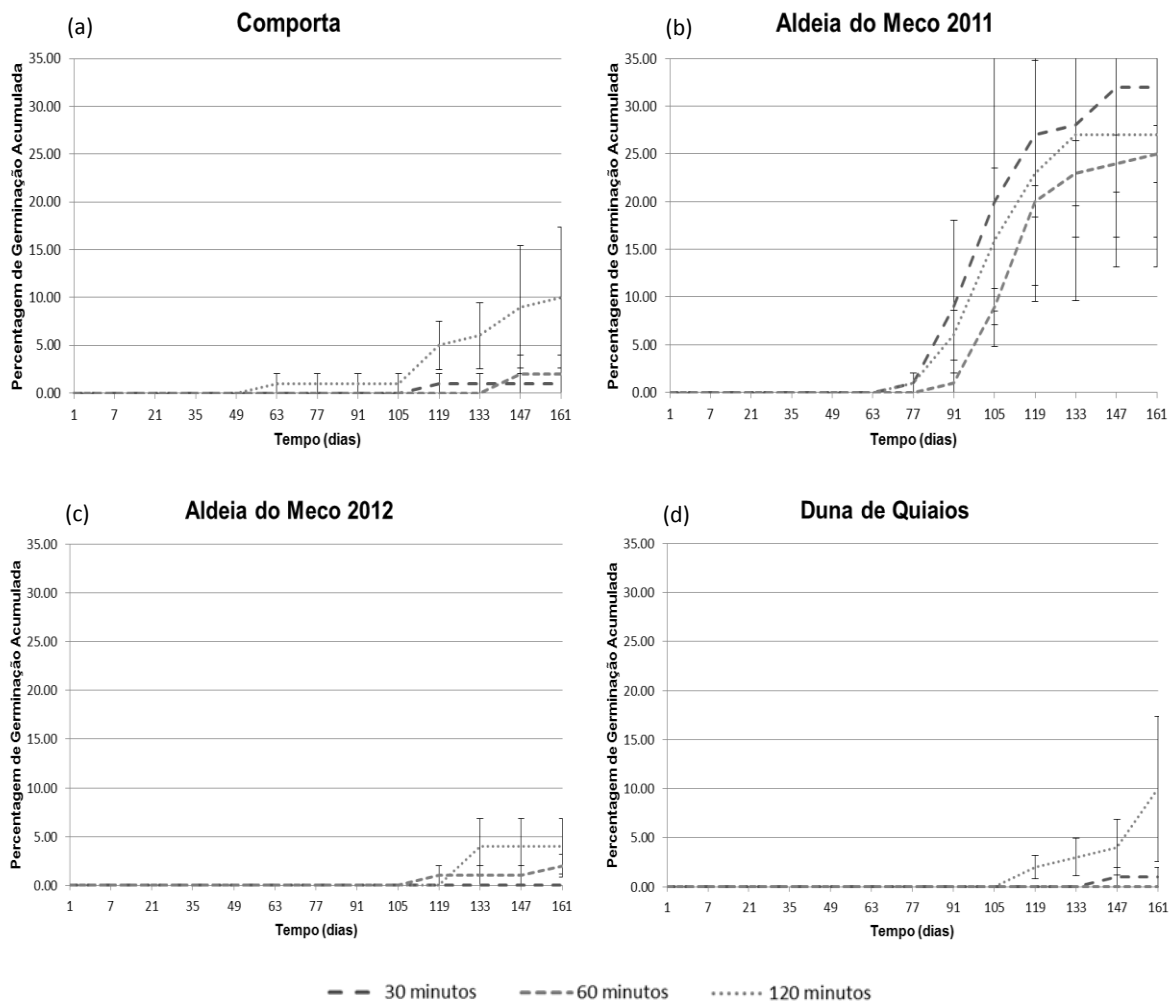


Figura 7 – Efeito do pré-tratamento de escarificação química (ácido sulfúrico) durante 30, 60 e 120 minutos, seguida de uma imbibição das sementes com ácido giberélico seguida de uma imbibição com nitrato de potássio na percentagem média de germinação cumulativa de sementes de *C. album* por origem a) Comporta; b) Aldeia do Meco 2011; c) Aldeia do Meco 2012 e d) Duna de Quiaios, durante 161 dias em câmara de germinação (N=4 placas de Petri contendo 25 sementes cada, por duração do pré-tratamento. As barras exibem duas vezes o erro padrão da média).

3.3. ESTABELECIMENTO E SOBREVIVÊNCIA DE PLÂNTULAS

O alongamento do hipocótilo elevou os cotilédones acima do substrato, sendo a germinação da espécie *C. album* epígea (Figura 8).

Anteriormente ao estabelecimento das plântulas observou-se que os cotilédones permaneceram encerrados, envolvidos pelo tecido de reserva, endosperma, até à libertação do mesmo e abertura dos cotilédones.

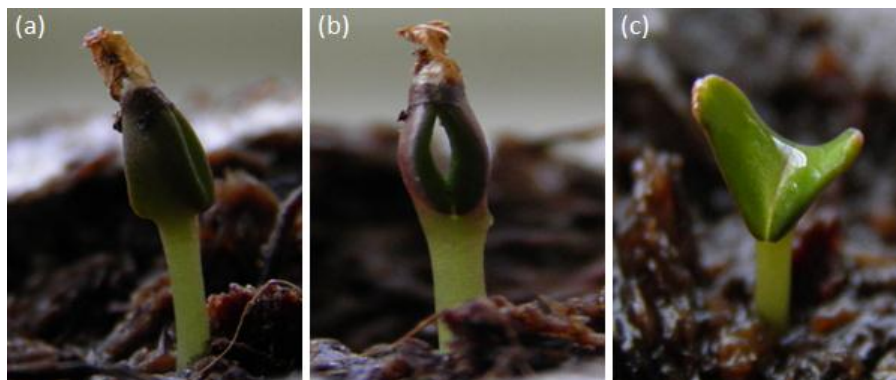


Figura 8 – Plântula da espécie *C. album* a 16/07. (a) e (b) Plântula anteriormente ao seu estabelecimento, tendo os cotilédones encerrados pelo tecido de reserva, o endosperma, e (c) Plântula estabelecida à superfície da pastilha de turfa, apresentando os cotilédones semiabertos.

Neste ponto de avaliação das plântulas que se estabeleceram à superfície do substrato, bem como as que obtiveram as primeiras folhas verdadeiras, não foi possível incluir a percentagem final para cada origem e pré-tratamentos referidos nos Ensaio 1.1., 1.2., 1.3., 1.4. e 1.5., tendo em conta o número muito reduzido de plântulas estabelecidas e que sobreviveram.

No que diz respeito ao número final de plântulas estabelecidas, no término do Ensaio 2 a 27 de Setembro de 2013, independentemente da origem e pré-tratamento, o valor obtido foi de 32 plântulas.

Em relação ao número de plantas com as primeiras folhas verdadeiras, no término do Ensaio 3 igualmente a 27 de Setembro de 2013, independentemente da origem e pré-tratamento, foram observadas três, isto é, apenas três plantas sobreviveram (Figura 9 e 10).

Observou-se um crescimento lento das primeiras folhas verdadeiras e a maior medida da parte aérea obtida no término do ensaio, medida a partir dos cotilédones, foi de 3,5 cm de altura (Figura 10c).

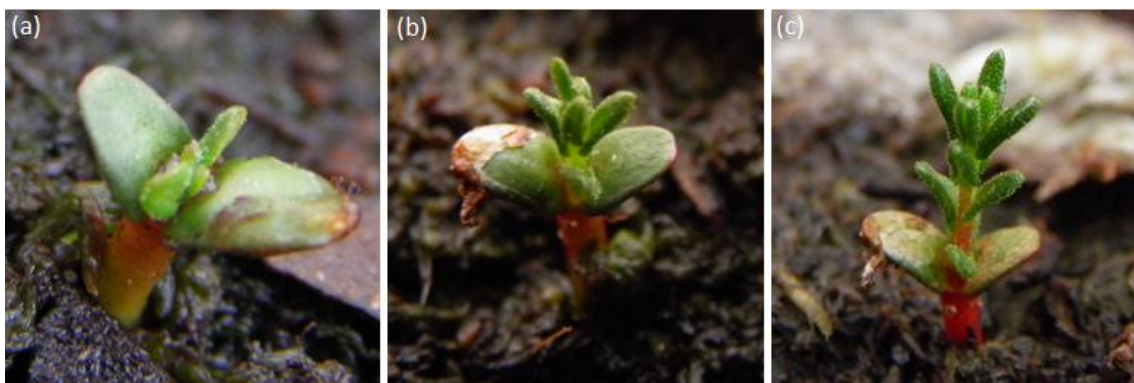


Figura 9 – Planta da espécie *C. album* com as primeiras folhas verdadeiras em diferentes datas: (a) 29/08; (b) 9/09 e (c) 27/09.



Figura 10 – Planta da espécie *C. album* com as primeiras folhas verdadeiras em diferentes datas: (a) 29/08; (b) 9/09 e (c) 27/09.

Tendo em conta os resultados obtidos neste estudo, pode observar-se que das 4600 sementes utilizadas no Ensaio 1 (testes de germinação), 342 sementes germinaram (radícula ≥ 1 mm). Deste total de sementes germinadas apenas 32 plântulas emergiram e se estabeleceram acima da superfície das pastilhas de turfa, sendo que destas somente três adquiriram as primeiras folhas verdadeiras. Em termos percentuais, das 4600 sementes utilizadas no Ensaio 1: 7,4% germinaram; 0,7% deram origem a plântulas e 0,1% deram origem a plantas com as primeiras folhas verdadeiras.

Tendo em consideração o insucesso da germinação, estabelecimento e sobrevivência de plântulas obtidas, pode concluir-se que as sementes da espécie *C. album* dificilmente germinam em condições controladas, tal como evidenciado por outros autores.

Considerando que esta espécie é típica do litoral, ocupando solos arenosos que apresentam um fraco poder de retenção de água, bem como disponibilidade de matéria orgânica reduzida, e tendo em conta que são os diferentes animais que promovem a dispersão, germinação e regeneração de populações da espécie *C. album*, isto é, a matéria orgânica presente nos dejetos como fonte de nutrientes (COSTA, 2011), seria de esperar que a escolha de um substrato com fertilização (pastilhas de turfa Jiffy-7[®]) pudesse aumentar a percentagem de plântulas estabelecidas.

Deste modo, as baixas percentagens de plântulas estabelecidas obtidas podem ter sido devidas à escolha do substrato, tendo-se obtido, provavelmente, melhores resultados em areia. Porém, COSTA (2011) verificou que a percentagem de germinação de sementes desta espécie semeadas em areia esterilizada, recolhida na faixa de extensão de *C. album*, foi de 23,0%, ao fim de 10 meses, isto é, uma percentagem de germinação muito reduzida.

CLAVIJO *et al.* (2003) afirmam que, em condições naturais, a maioria das plântulas de *C. album* morre ao chegar a Primavera, pois logo que exista um período de alguns dias sem precipitação a superfície da areia seca rapidamente, podendo atingir temperaturas muito elevadas. Com a chegada do Verão as poucas plântulas sobreviventes morrem, uma vez que o período de *stress* aumenta. Contudo, para as plântulas que germinarem sob a influência das copas dos indivíduos adultos a taxa de sobrevivência atinge os valores mais elevados, cerca de 30,0%, uma vez que estes indivíduos exercem uma melhoria das condições microclimáticas e edáficas na área da sua influência.

Também COSTA (2011) observou a sobrevivência das plântulas de *C. album* em condições naturais realizada *in-situ* após a época de germinação, onde se verifica a maior mortalidade dos novos indivíduos. A autora verificou que na Fonte da Telha todos os indivíduos registados em Maio não sobreviveram até Setembro do mesmo ano. Porém, em Pinheiro da Cruz cerca de 32,0% das plântulas sobreviveu à época estival.

CALVIÑO-CANCELA (2004) observou que 60,0% das plântulas, desta espécie, emergiu no Inverno, no segundo ano após dispersão das sementes da planta mãe.

Tendo em conta os resultados, torna-se necessário avaliar quais as condições ambientais ótimas, possíveis para o genótipo, tais como água, oxigénio, temperatura, presença de luz, entre outras, para que ocorra percentagens elevadas de germinação e sobrevivência de plântulas nesta espécie.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

No que diz respeito às características das diferentes populações desta espécie localizadas ao longo da sua área de distribuição, constatou-se que existem diferenças significativas em todas as características das sementes, nas diferentes origens.

No Ensaio 1 de germinação de sementes e, tendo em conta o objetivo a que se propunha, das 4600 sementes utilizadas nos testes de germinação, apenas 342 germinaram, isto é, os pré-tratamentos deram origem a uma reduzida percentagem de germinação (7,4%). Contudo, pode concluir-se que cada pré-tratamento influenciou de forma diferente a germinação das sementes, nas diferentes origens. Em relação ao estudo da influência do pré-tratamento de escarificação química durante 30, 60 e 120 minutos, pode concluir-se que a origem Aldeia do Meco 2011 apresentou uma percentagem média de sementes germinadas superior em relação às restantes origens, e que a duração de 30 minutos do pré-tratamento nas sementes provenientes desta origem promoveu a maior percentagem de germinação (26,0%) em relação à percentagem obtida para as sementes sem qualquer pré-tratamento (7,0%), sendo que esta duração 30 minutos não diferiu significativamente das durações 60 e 120 minutos. Tendo em conta os resultados obtidos, pode concluir-se que a duração de 30 minutos do pré-tratamento de escarificação química promove, tal como verificado por COSTA (2011), a melhor percentagem de germinação nas sementes provenientes da Aldeia do Meco 2011. Pode concluir-se, também, que as sementes desta espécie têm uma dormência elevada, uma vez que a percentagem média de germinação do controlo (sem pré-tratamento) foi muito baixa (2,8%). Para além disto, foram necessários 135 dias para que as primeiras sementes tivessem germinado. Em relação ao estudo da influência do grau de maturação das bagas, tendo como pré-tratamento a escarificação química durante 30 minutos, pode concluir-se que o grau de maturação não influenciou na germinação de sementes de *C. album*. Novos ensaios deveriam ser efetuados, tendo em conta a época de colheita das bagas brancas. Os resultados relativos à percentagem média de sementes germinadas tendo como pré-tratamento a combinação de escarificação química (30 minutos) seguida da estratificação quente (2 meses) seguida de outra fria (2 meses) não foram muito diferentes em relação aos obtidos apenas para o pré-tratamento de escarificação química durante 30 minutos. Deste modo, pode concluir-se que a combinação da estratificação quente seguida de outra fria não promoveu a germinação de sementes. Já a combinação da escarificação química (30, 60 e 120 minutos) seguida de uma imbibição das sementes com solução de ácido giberélico (1000 ppm) promoveu a germinação de sementes de *C. album*. As sementes de bagas colhidas, em 2011, na Aldeia do Meco sujeitas a este pré-tratamento apresentaram a maior percentagem de germinação final durante o período de estudo com 30,3%. Em relação à combinação da escarificação química (30, 60 e 120 minutos) seguida de uma imbibição das sementes com solução de ácido giberélico (1000 ppm) seguida de uma imbibição com nitrato de potássio (0,5%), pode concluir-se que esta combinação promoveu a germinação de sementes de *C. album*, tendo as sementes provenientes da Aldeia do Meco 2011 obtido a maior percentagem de germinação com 28,0%. Verificou-se, também,

que não existem diferenças significativas em relação à duração da escarificação química (30, 60 e 120 minutos) na percentagem média de germinação.

Uma constatação relevante foi a observação da maior percentagem média de germinação nas sementes provenientes da Aldeia do Meco 2011, tendo em conta que as sementes desta origem foram as sementes mais leves utilizadas nos ensaios. Deste modo, no presente estudo verificou-se que sementes com maior peso não indicaram maior capacidade de germinação. Pela observação dos resultados obtidos, pode concluir-se que existe uma variação na percentagem média de germinação de sementes provenientes de locais diferentes mas do mesmo ano de colheita, bem como de sementes provenientes da mesma localização mas anos diferentes de colheita das bagas. Tendo em conta os resultados, o ensaio de germinação deveria ser repetido apenas para as sementes provenientes da Aldeia do Meco, sendo necessário avaliar a influência do armazenamento em câmara de frio por um longo período, isto é, novos ensaios deveriam ser levados a cabo com vista à germinação de sementes provenientes da Aldeia do Meco mas com sementes de uma série de anos de colheita, tendo como pré-tratamento a combinação da escarificação química (ácido sulfúrico) durante 30 minutos seguida de uma imbibição das sementes com solução de ácido giberélico (1000 ppm). Contudo, o estudo da influência de diferentes concentrações e durações da imbibição das sementes com ácido giberélico apresenta-se, também, como pertinente. Para além disto, surge como pertinente avaliar a viabilidade das sementes, anteriormente ao ensaio de germinação.

Em relação às percentagens médias de episperma quebrado e de germinação obtidas para cada ensaio, pode concluir-se que a emergência da radícula foi independente da rutura do episperma, isto é, os pré-tratamentos parecem ter maior influência na rutura do episperma comparativamente à rutura do endosperma e, conseqüentemente, na germinação, realçando o facto das sementes desta espécie terem uma dormência elevada. Relativamente aos mecanismos para retardar o processo de germinação na espécie *C. album*, pode concluir-se que as sementes não apresentam dormência física e dormência combinada, isto é, as sementes são capazes de embeber água e, deste modo, existe permeabilidade do tegumento. Uma vez sugerida a presença de dormência morfológica e fisiológica nas sementes, pode concluir-se que a *C. album* apresenta dormência morfofisiológica. Porém, estudos futuros serão necessários para avaliar se o embrião aumenta de tamanho durante o processo de germinação, através de medições realizadas antes de iniciar-se os testes de germinação e durante a realização dos mesmos. Em termos percentuais, das 4600 sementes utilizadas no ensaio de germinação: 54,5% quebraram o episperma; 7,4% germinaram; 0,7% deram origem a plântulas e 0,1% deram origem a plantas com as primeiras folhas verdadeiras. Tendo em consideração o insucesso da germinação, estabelecimento e sobrevivência de plântulas obtidas, pode concluir-se que as sementes da espécie *C. album* são difíceis de germinar. Contudo, pode ser já disponibilizado um conjunto de informações acerca do processo de germinação da espécie *C. album*, em condições controladas. Por fim, urge a necessidade de se investir em novos estudos de germinação, de forma a obter plântulas, para que se proceda ao melhoramento da espécie com o objetivo de introdução no mercado deste pequeno fruto.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A referenciação bibliográfica apresentada baseou-se na NORMA PORTUGUESA 405-1 (1994).

- AGUIAR, Carlos – Botânica para Ciências Agrárias e do Ambiente: Morfologia e Função. [Em linha]. Bragança: Instituto Politécnico de Bragança, 2012a. Vol. 1. 123p. [Consult. 5 Mai. 2013] Disponível em <http://www.sppf.pt/items/BotânicaCarlosAguiarVoll.pdf>
- AGUIAR, Carlos – Botânica para Ciências Agrárias e do Ambiente: Reprodução e Evolução. [Em linha]. Bragança: Instituto Politécnico de Bragança, 2012b. Vol. 2. 81p. [Consult. 7 Mai. 2013] Disponível em http://www.sppf.pt/items.aspx?id_item=843
- AGUIAR, Carlos – Botânica para Ciências Agrárias e do Ambiente: Morfologia e Função. [Em linha]. Bragança: Instituto Politécnico de Bragança, 2013. Vol. 1. Fasc. 1. 100p. [Consult. 7 Mai. 2013] Disponível em <https://bibliotecadigital.ipb.pt/handle/10198/6676>
- ALVARADO, V.; BRADFORD, K. J. – A hydrothermal time model explains the cardinal temperatures for seed germination. [Em linha] Plant, Cell and Environment. Vol. 25. N.º8 (2002) 1061-1069. [Consult. 16 Jun. 2013] Disponível em <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-3040.2002.00894.x/pdf>
- ÁLVAREZ-CANSINO, Leonor [et al.] – Gender-specific costs of reproduction on vegetative growth and physiological performance in the dioecious shrub *Corema album*. [Em linha] Annals of Botany. Vol. 106. N.º6 (2010a) 989-998. [Consult. 20 Fev. 2013] Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2990667/pdf/mcq197.pdf>
- ÁLVAREZ-CANSINO, Leonor [et al.] – Physiological performance and xylem water isotopic composition underlie gender-specific responses in the dioecious shrub *Corema album*. Physiologia Plantarum. Vol. 140. N.º1 (2010b) 32-45.
- BASKIN, Carol C.; BASKIN, Jerry M. – Seeds. Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination. San Diego: Academic Press, 2001.666p.
- BASKIN, Carol C.; BASKIN, Jerry M. – A classification system for seed dormancy. [Em linha] Seed Science Research. Vol. 14. N.º1 (2004) 1-16. [Consult. 11 Fev. 2013] Disponível em <http://journals.cambridge.org/action/displayAbstract?fromPage=online&aid=704528>
- BASKIN, Carol C. [et al.] – Germination of drupelets in multi-seeded drupes of the shrub *Leptocophylla tameiameiae* (Ericaceae) from Hawaii: a case for deep physiological dormancy broken by high temperatures. Seed Science Research. Vol. 15. N.º4 (2005) 349-356.

-
- BASKIN, C. C.; ZACKRISSON, O.; BASKIN, J. M. – Role of warm stratification in promoting germination of seeds of *Empetrum hermaphroditum* (Empetraceae), a circumboreal species with a stony endocarp. [Em linha] American Journal of Botany. Vol. 89. N.º3 (2002) 486-493. [Consult. 9 Fev. 2013] Disponível em <http://www.amjbot.org/content/89/3/486.full.pdf+html>
 - BECK, Charles B. – An Introduction to Plant Structure and Development. New York: Cambridge University Press, 2005. 43p.
 - BEWLEY, J. Derek – Seed germination and dormancy. [Em linha] The Plant Cell. Vol. 9. N.º7 (1997) 1055-1066. [Consult. 15 Mai. 2013] Disponível em <http://www.plantcell.org/content/9/7/1055.full.pdf+html>
 - BEWLEY, J. D.; BLACK, M. – Seeds. Physiology of Development and Germination. New York: Plenum Press, 1994. 446p.
 - BEWLEY, J. Derek [et al.] – Seeds. Physiology of Development, Germination and Dormancy. 3ª ed. New York: Springer, 2013. 392p.
 - CALVIÑO-CANCELA, María – Spatial patterns of seed dispersal and seedling recruitment in *Corema album* (Empetraceae): the importance of unspecialized dispersers for regeneration. Journal of Ecology. Vol. 90. N.º5 (2002) 775-784.
 - CALVIÑO-CANCELA, María – Ingestion and dispersal: direct and indirect effects of frugivores on seed viability and germination of *Corema album* (Empetraceae). Acta Oecologica. Vol. 26. N.º1 (2004) 55-64.
 - CALVIÑO-CANCELA, María – Fruit consumers and seed dispersers of the rare shrub *Corema album*, Empetraceae in coastal sand dunes. Revue d'Écologie (La Terre et la Vie). Vol. 60. N.º2 (2005) 97-106.
 - CALVIÑO-CANCELA, María – Seed and Microsite Limitations of Recruitment and the Impacts of Post-Dispersal Seed Predation at the within Population Level. Plant Ecology. Vol. 192. N.º1 (2007) 35-44.
 - CALVIÑO-CANCELA, María; MARTÍN-HERRERO, Julio – Effectiveness of a varied assemblage of seed dispersers of a fleshy-fruited plant. Ecology. Vol. 90. N.º12 (2009) 3503-3515.
 - CHAMBERS, Jeanne C.; MACMAHON, James A. – A Day in the life of a seed: movements and fates of seeds and their implications for natural and managed systems. [Em linha] Annual Review of Ecology and Systematics. Vol. 25. (1994) 263-292. [Consult. 11 Jun. 2013] Disponível em <http://www.jstor.org/>
-

-
- CLAVIJO, A. [et al.] – A fragmentação como causa principal da redução do habitat de *Corema album* na sua área de distribuição. Revista de Biologia. Vol. 20. N.º1-4 (2002) 109-120.
 - CLAVIJO, A. [et al.] – A conservação de *Corema album* no litoral atlântico da Península Ibérica; a influência de dispersores animais na regeneração natural. Revista de Biologia. Vol. 21. N.º1-4 (2003) 43-56.
 - COSTA, Catarina Antunes da – Fatores que condicionam a dispersão e o recrutamento da camarinha em sistemas dunares. [Em linha] Lisboa: Faculdade de Ciências. 2011. 42p. Universidade de Lisboa. Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Biologia da Conservação [Consult. 8 Dez. 2012] Disponível em http://repositorio.ul.pt/bitstream/10451/3055/1/ULFC090655_tm_Catarina_Costa.pdf
 - DIAZ BARRADAS, M.C. [et al.] – Distribuição de sexos na espécie dióica *Corema album* ao longo de um gradiente climático. Revista Biologia. Vol. 18. N.º1-4 (2000) 7-22.
 - EDWARDS, Thomas I. – Temperature Relations of Seed Germination. [Em linha] The Quarterly Review of Biology. Vol. 7. N.º4 (1932) 428-443. [Consult. 16 Jun. 2013] Disponível em <http://www.jstor.org/>
 - ESAU, Katherine – Anatomy of Seed Plants. 2ª ed. Canada: John Wiley & Sons, 1977. 550p.
 - FEDRIANI, José M.; DELIBES, Miguel – Functional diversity in fruit-frugivore interactions: a field experiment with Mediterranean mammals. Ecography. Vol. 32. N.º6 (2009) 983-992.
 - FINCH-SAVAGE, W. E.; LEUBNER-METZGER, G. – Seed dormancy and the control of germination. [Em linha] New Phytologist. Vol. 171. N.º3 (2006) 501-523. [Consult. 13 Fev. 2013] Disponível em <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1469-8137.2006.01787.x/full>
 - FOLEY, Michael E. – Seed dormancy: an update on terminology, physiological genetics, and quantitative trait loci regulating germinability. [Em linha] Weed Science. Vol. 49. N.º3 (2001) 305-317. [Consult. 15 Mai. 2013] Disponível em <http://www.jstor.org/>
 - FRANCO, João do Amaral – Nova Flora de Portugal (Continente e Açores). Clethraceae-Compositae. Lisboa: Sociedade Astória, Lda, 1984. Vol. 2. 659p.
 - GARCIA, D. [et al.] – Age structure of *Juniperus communis* L. in the Iberian Peninsula: Conservation of remnant populations in Mediterranean mountains. [Em linha] Biological Conservation Vol. 87. N.º2 (1999) 215-220. [Consult. 16 Jun. 2013] Disponível em <http://www.ugr.es/~rnm220/ingles/PDF/BiolCons1999.pdf>
 - GONZÁLEZ, Ginés A. López ed. lit. – Los Árboles y Arbustos de la Península Ibérica e Islas Baleares. Madrid: Mundi-Prensa, 2001. Vol. 2. 1727p.
-

-
- GOSLING, Peter G. – Viability testing. In Seed conservation: turning science into practice. [Em linha] UK: Kew Publishing, 2003. 445-481, capítulo 24. [Consult. 26 Jan. 2013] Disponível em http://www.kew.org/ucm/groups/public/documents/document/ppcont_013787.pdf
 - GUITIÁN, P.; MEDRANO, M.; RODRÍGUEZ, M. – Reproductive biology of *Corema album* (L.) Don (*Empetraceae*) in the northwest Iberian Peninsula. Acta Botanica Gallica Journal. Vol. 144. N.º1 (1997) 119-128.
 - HARTMANN, Hudson T. [et al.] – Plant Propagation: Principles and Practices. 6ª ed. Prentice Hall, 1996. 770p.
 - JENNINGS, D. L.; TULLOCH, B. M. – Studies on factors which promote germination of Raspberry seeds. Journal of Experimental Botany. Vol. 16 N.º47 (1965) 329-340.
 - LARRINAGA, Asier R. – Rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) select small seeds when feeding on the fruits of *Corema album*. Vol. 25. N.º1 (2010) 245-249.
 - LEÓN-GONZÁLEZ, Antonio J. [et al.] – Phenolic acids, flavonols and anthocyanins in *Corema album* (L.) D. Don berries. [Em linha]. Journal of Food Composition and Analysis. Vol. 29. N.º1 (2013) 58-63. [Consul. 25 Fev. 2013] Disponível em <http://www.sciencedirect.com/science/journal/08891575/29/1>
 - LÓPEZ, Josefa [et al.] – Seed germination in *Genisteeae* (*Fabaceae*) from South-West Spain. [Em linha]. Phyton. Vol. 39. N.º1 (1999) 107-129. [Consult. 16 Mar. 2013] Disponível em http://www.landesmuseum.at/pdf_frei_remote/PHY_39_1_0107-0129.pdf
 - MAGUIRE, James D. – Speed of germination: Aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. [Em linha]. Crop Science. Vol. 2. N.º2 (1962) 176-177. [Consult. 30 Set. 2013] Disponível em <https://www.soils.org/publications/cs/abstracts/2/2/CS0020020176/.../pdf>
 - MARQUES, Elisabete Maria Matos de Sousa – Caracterização das populações de Camarinha (*Corema album* L.) no Cabo Carvoeiro. [Em linha] Lisboa: Faculdade de Ciências. 2007. 72p. Universidade de Lisboa. Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Ciências da Terra e da Vida para o Ensino [Consult. 11 Nov. 2012] Disponível em http://repositorio.ul.pt/bitstream/10451/1332/1/19843_ulfc080510_tm.pdf
 - MARQUES, I.; DRAPER, D.; MARTINS-LOUÇÃO, M. A. – Influence of temperature on seed germination in seven Mediterranean grassland species from SE Portugal. Bocconea. Vol. 21. (2007) 367-372.
 - MARTIN, A.C. – The comparative internal morphology of seeds. [Em linha]. The American Midland Naturalist. Vol. 36. N.º3 (1946) 513-660. [Consult. 20 Abr. 2013] Disponível em <http://www.jstor.org/>
-

-
- MAYER, A.M.; POLJAKOFF-MAYBER, A. – The Germination of Seeds. 2ª ed. Oxford: Pergamon Press, 1975. Vol.5.192p.
 - MORINAGA, T. – Effect of alternating temperatures upon the germination of seeds. [Em linha] American Journal of Botany. Vol. 13. N.º2 (1926) 141-158. [Consult. 9 Jun. 2013] Disponível em <http://www.jstor.org/>
 - NORMA PORTUGUESA 405-1. 1994. Informação e Documentação. Instituto Português da Qualidade.
 - OLIVEIRA, Pedro Brás; DALE, Adam – *Corema album* (L.) D. Don, the white crowberry - a new crop. Journal of Berry Research. Vol. 2. N.º3 (2012) 123-133.
 - ROLSTON, M. Philip – Water impermeable seed dormancy. [Em linha]. The Botanical Review. Vol. 44. N.º3 (1978) 365-396. [Consult. 13 Mai. 2013] Disponível em <http://www.jstor.org/>
 - RUSSELL, Peter J. [et al.] – Biology: The dynamic science. Belmont: Thomson Brooks/Cole, 2008. Vol. 3. 1124p.
 - SADEGHI, Hossein [et al.] – Effect of seed osmopriming on seed germination behavior and vigor of soybean (*Glycine max* L.). [Em linha]. Journal of Agricultural and Biological Science. Vol. 6. N.º1 (2011) 39-43. [Consult. 30 Set. 2013] Disponível em http://www.arpnjournals.com/jabs/research_papers/rp_2011/jabs_0111_231.pdf
 - THOMPSON, K.; GRIME, J.P. – Seasonal variation in the seed banks of herbaceous species in ten contrasting habitats. [Em linha]. Journal of Ecology. Vol. 67. N.º3 (1979) 893-921. [Consult. 11 Fev. 2013] Disponível em <http://www.jstor.org/>
 - TILKI, Fahrettin – Improvement in seed germination of *Arbutus unedo* L. [Em linha]. Pakistan Journal of Biological Sciences. Vol. 7. N.º10 (2004) 1640-1642. [Consult. 18 Set. 2013] Disponível em <http://198.170.104.138/pjbs/2004/1640-1642.pdf>
 - TRAVESSET, Anna [et al.] – Seed trait changes in dispersers' guts and consequences for germination and seedling growth. [Em linha]. Ecology. Vol. 89. N.º1 (2008) 95-106. [Consult. 14 Jun. 2013] Disponível em http://www.imedeia.uib.es/bc/ecol_terr/all%20pdfs/2008_Traveset_et_al_Ecology.pdf
 - TUTIN, T.G. [et al.] ed. lit. – Flora Europea. Diasporaceae to Myoporaceae. England: Cambridge University Press, 1972. Vol. 3. 370p.
 - VERA, D. T.; MARTÍN, R.P.; OLIVA, S.R. – Effect of chemical and physical treatments on seed germination of *Erica australis*. [Em linha]. Annales Botanici Fennici Journal. Vol. 47. N.º5 (2010) 353-360. [Consult. 11 Fev. 2013] Disponível em <http://www.seki.org/PDF/anb47-free/anb47-353.pdf>

- WADA, Sugae; REED, Barbara M. – Standardizing germination protocols for diverse raspberry and blackberry species. [Em linha]. Scientia Horticulturae. Vol. 132. N.º1 (2011) 42-49. [Consult. 28 Nov. 2012] Disponível em <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304423811005280>
- ZUNZUNEGUI, M. [et al.] – Ecophysiology, growth timing and reproductive effort of three sexual forms of *Corema album* (Empetraceae). Plant Ecology. Vol. 183. N.º1 (2006) 35-46.

ANEXO 1 – Ficha técnica das pastilhas de turfa Jiffy-7[®] prensadas, corrigidas e fertilizadas.

Descrição: O Jiffy-7 *pellet* (“pastilha”) é uma tecnologia comprovada, baseada no conceito “substrato e recipiente numa mesma unidade”.

Caraterísticas Físicas:

Diâmetro – 41 ± 2 mm;

Altura – 42 ± 3 mm;

Composição – Elaborado à base de turfas loiras ($60 \pm 10\%$) e fibra de coco tratada ($40 \pm 10\%$).
Fertilização de libertação controlada (contendo fertilizante PGMix[®] Yara).

Caraterísticas Químicas:

Condutividade – $1,25 \pm 0,25$ mS/cm;

pH – $5,5 \pm 0,5$ (H₂O);

Humidade relativa – $22 \pm 3\%$.

(Informações cedidas pela Neoquímica – Exportação e Importação S.A.)

ANEXO 2 – Ficha técnica do substrato Siro® Mirtilo.

Descrição: Destina-se ao cultivo profissional de mirtilo (*Vaccinium myrtillus*), plantação no solo e envasamento. Possui uma textura média de pH baixo, enriquecido em ácido húmicos e fúlvicos, que detêm uma elevada capacidade de troca catiónica, assim como um elevado poder tampão, permitindo às plantas sensíveis ao calcário, o seu desenvolvimento saudável e vigoroso. Este substrato é susceptível de fertilização orgânica ou mineral, de acordo com as exigências de cada produtor.

Caraterísticas Físicas:

Estrutura média – 0 a 8 mm;

Composição – Elaborado à base de húmus maturado e estabilizado (resíduos florestais, com predominância a casca de pinho marítimo - Siro® Agro 1), casca de pinho marítimo 8-15 mm (Siro® Decor) e turfas loiras selecionadas 0-40 mm. Fertilização de libertação controlada de dois a quatro meses.

Caraterísticas Químicas:

Azoto (N) – 75 a 150 mg/L;

Total – 50 a 100 mg/L;

Fósforo (P₂O₅) – 200 a 300 mg/L;

Potássio (K₂O) – 50 a 100 mg/L;

Condutividade – 0,6 a 1,0 mS/cm;

pH – 4,5 a 5,0 (H₂O);

Matéria orgânica – >90% (ácidos húmicos e fúlvicos).

(Informações cedidas pela Siro® - Profissionais em Substratos)

ANEXO 3 – Peso (mg) de sementes hidratadas extraídas de bagas brancas, provenientes da Aldeia do Meco colhidas em 2011 e 2012, Comporta e Duna de Quiaios, para cada Ensaio (1.1., 1.3., 1.4. e 1.5.).

Quadro 21 – Peso (mg) de sementes hidratadas extraídas de bagas brancas, provenientes da Aldeia do Meco colhidas em 2011 e 2012, Comporta e Duna de Quiaios (Ensaio 1.1.).

Origem	Peso Sementes Hidratadas (mg)
Comporta	331,1 A
Meco 2011	247,5 D
Meco 2012	278,7 C
Quiaios	310,6 B
Média Geral	292,0
EPM	3,87
Prob. (F)	$p < 0,000$

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, em que letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes; EPM – Erro padrão da média; N = 16 placas de Petri contendo 25 sementes cada, por origem para peso de sementes hidratadas.

Quadro 22 – Peso (mg) de sementes hidratadas extraídas de bagas brancas, provenientes da Aldeia do Meco colhidas em 2011 e 2012, Comporta e Duna de Quiaios (Ensaio 1.3.).

Origem	Peso Sementes Hidratadas (mg)
Comporta	347,0 A
Meco 2011	239,0 D
Meco 2012	268,0 C
Quiaios	302,3 B
Média Geral	289,1
EPM	6,41
Prob. (F)	$p < 0,000$

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, em que letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes; EPM – Erro padrão da média; N = 4 placas de Petri contendo 25 sementes cada, por origem para peso de sementes hidratadas.

Quadro 23 – Peso (mg) de sementes hidratadas extraídas de bagas brancas, provenientes da Aldeia do Meco colhidas em 2011 e 2012, Comporta e Duna de Quiaios (Ensaio 1.4.).

Origem	Peso Sementes Hidratadas (mg)
Comporta	340,4 A
Meco 2011	247,0 D
Meco 2012	273,9 C
Quiaios	302,8 B
Média Geral	291,0
EPM	5,92
Prob. (F)	$p < 0,000$

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, em que letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes; EPM – Erro padrão da média; N = 12 placas de Petri contendo 25 sementes cada, por origem para peso de sementes hidratadas.

Quadro 24 – Peso (mg) de sementes hidratadas extraídas de bagas brancas, provenientes da Aldeia do Meco colhidas em 2011 e 2012, Comporta e Duna de Quiaios (Ensaio 1.5.).

Origem	Peso Sementes Hidratadas (mg)
Comporta	341,5 A
Meco 2011	250,1 C
Meco 2012	238,3 C
Quiaios	315,9 B
Média Geral	286,5
EPM	3,10
Prob. (F)	$p < 0,000$

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, em que letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes; EPM – Erro padrão da média; N = 12 placas de Petri contendo 25 sementes cada, por origem para peso de sementes hidratadas.