



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE FLORESTAS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA FLORESTAL

Esther Miranda Mostacada Ramalho

**TECNOLOGIA DE SEMENTES PARA A CONSERVAÇÃO DE ESPÉCIES
AMEAÇADAS: O CASO DA *EUGENIA VILLAENOVAE* KIAERSK. (MYRTACEAE)**

Prof. Dr. Marcelo da Costa Souza
Orientador

Dra. Juliana Müller Freire
Co-orientadora

SEROPÉDICA, RJ
Março – 2023



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE FLORESTAS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA FLORESTAL

Esther Miranda Mostacada Ramalho

**TECNOLOGIA DE SEMENTES PARA A CONSERVAÇÃO DE ESPÉCIES
AMEAÇADAS: O CASO DA *EUGENIA VILLAENOVAE* KIAERK. (MYRTACEAE)**

Monografia apresentada ao Curso de Engenharia Florestal, como requisito parcial para a obtenção do Título de Engenheiro Florestal, Instituto de Florestas da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

Prof. Dr. Marcelo da Costa Souza
Orientador

Dr. Juliana Müller Freire
Co-orientadora

SEROPÉDICA, RJ
Março – 2023

**TECNOLOGIA DE SEMENTES PARA A CONSERVAÇÃO DE ESPÉCIES
AMEAÇADAS: O CASO DA *EUGENIA VILLAENOVAE* KIAERSK (MYRTACEAE)**

ESTHER MIRANDA MOSTACADA RAMALHO

APROVADA EM: 06/03/2023

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Marcelo da Costa Souza – UFRRJ
Orientador

Prof. Dr. Tiago Böer Breier– UFRRJ
Membro

Prof. Dr. Cláudio José Barbedo – IPA
Membro

AGRADECIMENTOS

Expresso minha gratidão ao Jardim Botânico da UFFRJ, que generosamente abriu suas portas para que eu pudesse ter uma experiência enriquecedora, proporcionando um contato mais próximo com a produção e identificação de mudas em viveiros.

Agradeço à Embrapa pela oportunidade de realizar meu estágio obrigatório e conduzir minhas pesquisas, o que me permitiu expandir meus horizontes acadêmicos.

Agradeço ao professor e orientador Dr. Marcelo Souza pela oportunidade e confiança depositada em mim, bem como por todo o aprendizado que adquiri durante o ano.

Também agradeço à coorientadora Dra. Juliana Muller Freire pelo acompanhamento, apoio e vasto conhecimento transmitido durante essa etapa.

Ao pesquisador Dr. Guilherme Chaer pelo apoio e ensinamento na análise de dados estatísticos.

Não poderia deixar de agradecer aos novos amigos que fiz no Jardim Botânico, Karine Vargas, Felipe Dias, Pedro Moraes, Estela Palha e todos os técnicos e funcionários que tornaram a minha experiência ainda mais agradável.

Agradeço ao Laboratório de Leguminosas Florestais da Embrapa e a todos os técnicos que auxiliaram nos trabalhos e experimentos.

À minha família, Daniel, Simone, Yan, Laura, Cinéria e Solange, merece meu agradecimento especial, pois sempre estiveram presentes com muito incentivo e apoio.

Agradeço também a minha segunda família do alojamento, Livia Oliveira, Larissa Clemente e Julie, por todo acolhimento e recepção durante os anos que passamos juntas.

Meu namorado e companheiro de todas as horas, Douglas Soldan, por todo o carinho, apoio e ajuda em todos os momentos, inclusive durante toda a pandemia nos momentos mais complicados.

Por fim, não menos importante, agradeço aos meus amigos Bruna Valença, Erikli Amorim, André Matheus, Lohana Hadassa e Letícia Carneiro, que sempre estiveram comigo durante toda a graduação, compartilhando os bons e maus momentos.

RESUMO

A *Eugenia villaenovae*, também conhecida como grumixama-açu, pertencente à família Myrtaceae, se encontra atualmente classificada Em Perigo (EN) de extinção e está sujeita a cinco situações de ameaça, de acordo com o número de subpopulações. É uma espécie que possui potencial para projetos de restauração devido à sua raridade e por servir como alimento para avifauna. Seus frutos são arredondados e achatados nos polos, com casca lisa e fina, e polpa alaranjada e doce. A árvore pode chegar a 10 m de altura em seu habitat natural. Por se tratar de uma espécie ameaçada de extinção, estudos relacionados ao armazenamento e tecnologia das sementes são importantes para se pensar em planos de conservação. Foram montados quatro experimentos em laboratório: a) Maturação: testou-se a germinação e o vigor dos frutos coletados em diferentes pontos de maturação; b) Secagem: avaliou-se a sensibilidade à dessecação das sementes ao longo do tempo à temperatura de 35°C; c) Ortodoxia: avaliou-se o comportamento das sementes à secagem e ao armazenamento a 5°C e a temperatura abaixo de zero; d) Totipotência: determinou-se a capacidade de regeneração das sementes de *Eugenia villaenovae* submetida a diferentes cortes na semente. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ou Dunnet a 5% de probabilidade. Nessa pesquisa realizada com sementes coletadas de duas matrizes, foi constatado no experimento de maturação que os frutos vermelhos são o estágio ideal de colheita para a espécie, com alta taxa de germinação e vigor. A taxa de germinação das sementes submetidas a secagem diminuiu consideravelmente quando os teores de água reduzem a menos de 40%, sendo 17% o teor de água letal para a espécie. Nenhuma germinação ocorreu nas sementes armazenadas a -18 °C, enquanto a germinação das sementes armazenadas a 5 °C, apenas uma semente germinou. Para o armazenamento em temperatura ambiente a germinação foi de 59,72% durante os 3 meses. Para o experimento de totipotência as sementes com corte longitudinal apresentaram a maior taxa de germinação. A espécie apresentou ótima capacidade de regeneração, a velocidade de secagem das sementes é bastante lenta, o que pode indicar uma adaptação ao ambiente mais seco de floresta semidecídua e restinga, onde ocorre naturalmente.

Palavras-chave: Germinação, experimento, maturação, totipotência, ortodoxia.

ABSTRACT

Eugenia villaenovae, also known as grumixama-açu, belonging to the Myrtaceae family, is currently classified as Endangered (EN) of extinction and is subject to five threat situations, according to the number of subpopulations. It is a species that has potential for restoration projects due to its rarity and because it serves as food for avifauna. Its fruits are rounded and flattened at the poles, with smooth and thin skin, and orange and sweet pulp. The tree can reach 10 m in height in its natural habitat. As it is an endangered species, studies related to seed storage and technology are important for thinking about conservation plans. Four laboratory experiments were set up: a) Maturation: germination and vigor of fruits collected at different maturation points were tested; b) Drying: the sensitivity to desiccation of the seeds over time at a temperature of 35°C was evaluated; c) Orthodoxy: the behavior of the species on drying and storage at 5°C and below zero temperature was evaluated; d) Totipotency: the regeneration capacity of the species subjected to different cuts in the seed was determined. Data were subjected to analysis of variance and means compared by Tukey's or Dunnett's test at 5% probability. In this research carried out with seeds collected from two matrices, it was verified in the maturation experiment that the red fruits are the ideal harvest stage for the species, with a high rate of germination and vigor. The germination rate of seeds subjected to drying decreased considerably when the water content reduced to less than 40%, with 17% being the lethal water content for the species. No germination occurred in seeds stored at -18 °C, while for seeds stored at 5 °C, only one seed germinated. For storage at room temperature, germination was 59.72% during the 3 months. For the totipotency experiment, longitudinally cut seeds showed the highest germination rate. The species showed excellent regeneration capacity, the drying speed of the seeds is quite slow, which may indicate an adaptation to the drier environment of semideciduous forest and restinga, where it occurs naturally.

Keywords: Germination, experiment, maturation, totipotency, orthodoxy.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1 Recalcitrância em espécies de <i>Eugenia</i>.....	2
2.2 Maturação de frutos em espécies de <i>Eugenia</i>.....	3
2.3 Totipotência em <i>Eugenia</i>.....	4
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	5
3.1 Coleta de frutos e beneficiamento das sementes.....	5
3.2 Experimento Maturação	7
3.3 Experimento de Secagem	9
3.4 Experimento de Ortodoxia	11
3.5 Experimento de Totipotência	11
3.6 Distribuição natural de ocorrência	11
3.7 Morfologia e descrição da <i>Eugenia villaenovae</i>	12
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	13
4.1. Morfologia da <i>Eugenia villaenovae</i>.....	13
4.2 Mapa distribuição de ocorrência da <i>Eugenia Villaenovae</i>.....	14
4.3. Experimento de maturação	14
4.4. Experimento de secagem	17
4.5. Experimento de ortodoxia	20
4.6. Experimento de totipotência	21
5 CONCLUSÕES.....	23
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	24

1. INTRODUÇÃO

A Mata Atlântica é simultaneamente um dos biomas mais ricos em biodiversidade e mais ameaçados do planeta. Atualmente, restam apenas 8,5% de remanescentes florestais acima de 100 hectares (SOS MATA ATLÂNTICA, 2021). Todo o Estado do Rio de Janeiro encontra-se inserido nesse bioma, sendo que hoje seus remanescentes ocupam cerca de 17% da área total do estado (EMBRAPA, 2019)

A família Myrtaceae é uma das maiores famílias da flora brasileira, com mais de 1050 espécies e 22 gêneros nativos (Flora e Funga do Brasil, 2023). Muitas espécies possuem propriedades medicinais e apresentam aproveitamento alimentar. No mundo, destaca-se o gênero *Eucalyptus*, enquanto no Brasil destacam-se os gêneros *Eugenia* e *Myrcia* (Gaiad & Carvalho, 2021). Ao todo são 408 spp. nativas de *Eugenia*s no Brasil, sendo 295 endêmicas. No estado do Rio de Janeiro ocorrem 109 spp de *Eugenia*, sendo 23 endêmicas (Flora e Funga do Brasil, 2023).

O gênero *Eugenia* é reconhecido pela sua ampla distribuição geográfica e diversidade de espécies, incluindo regiões tropicais e subtropicais (EMBRAPA 2021). Dentre as espécies de *Eugenia*, muitas são frutíferas e cultivadas em jardins e quintais, como é o caso da pitanga (*E. uniflora* L.), que tem uma ampla distribuição no Brasil, principalmente em vegetações próximas do litoral. A polinização das espécies de *Eugenia* é realizada principalmente por abelhas, moscas e tripes, com os estames vistosos e normalmente brancos sendo o principal atrativo floral. Além disso, a dispersão de sementes é feita principalmente por aves e macacos, embora também possa ocorrer por meio de morcegos, lagartos, roedores e mamíferos carnívoros (Gressler et al., 2006).

A espécie *E. villaenovae* é uma espécie arbustiva-arbórea endêmica da Mata Atlântica, encontrada em Floresta Ombrófila Densa (Sobrinho *et al.*, 2010) e Restinga (Flora do Brasil, 2020). Possui uma distribuição bastante restrita e está sujeita a cinco situações de ameaça, de acordo com o número de subpopulações. Uma das ameaças é a mineração que resulta em perda da qualidade de habitat. Dessa maneira, a espécie é considerada como Em Perigo (EN) de extinção (CNCFlora, 2021).

A espécie de estudo também é conhecida como grumixama-açu e tem seu valor em projetos de restauração devido a sua raridade e ao papel que desempenha como alimento para avifauna (Viveiro Ciprest, 2020). Seus frutos são arredondados e achatados nos polos, com casca lisa e fina, coroados no ápice por quatro sépalas persistentes. Sua polpa é alaranjada e doce, espessa e suculenta, desprendendo-se com facilidade da semente. A árvore pode atingir até 10 m de altura no habitat natural, porém certamente alcançará um porte bem menor quando cultivada (E-JARDIM, 2008) (Figura 1).



Figura 1: **A** - Matriz de *Eugenia villaenovae* em Seropédica RJ; **B**- Matriz em Macaé RJ.

De modo geral, o teor de água das sementes florestais é bastante elevado por ocasião do ponto de maturação fisiológica, quando ocorre a coleta. Esse fato conduz à necessidade de secagem das sementes de algumas espécies tolerantes à dessecação, como forma adequada para o seu armazenamento seguro (Medeiros & Eira, 2018). Entretanto, as sementes de *Eugenia* possuem comportamento recalcitrante (Amorim *et al.* 2020), ou seja, não são tolerantes à secagem.

Além disso, diversas espécies de *Eugenia* apresentam capacidade regenerativa quando suas sementes são fracionadas ou quando sofrem algum dano, também chamado por totipotência, conforme foi observado por Silva *et al* (2005). Tal capacidade é de extrema importância para espécies ameaçadas, tendo em vista a escassez e a dificuldade na obtenção de sementes de indivíduos nativos.

Para uma adequada implantação de florestas e manejo com populações de plantas são necessárias pesquisas para se conhecer o período ideal de colheita de frutos (Lopes; Nóbrega; Matos, 2014 apud SILVA, 2015). Colher demasiadamente cedo ou tarde pode afetar a viabilidade e a qualidade das sementes, prejudicando a sua capacidade de germinação e crescimento. No entanto, ainda não há informações sobre o período ideal para a coleta dos frutos da *Eugenia villaenovae*, tendo em vista a maior viabilidade das sementes.

Dessa forma, esse trabalho teve como objetivo analisar o comportamento da *Eugenia villaenovae* em relação ao ponto ótimo de maturação, comportamento em relação à tolerância secagem e totipotência.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Recalcitrância em espécies de *Eugenia*

A classificação das espécies quanto tolerância de secagem para o armazenamento pode ser encontrada em três padrões na literatura: ortodoxo, intermediário e recalcitrante.

Conforme descrito por Roberts (1973) e Hong e Ellis (1998), as ortodoxas podem ser armazenadas com uma quantidade reduzida de água (<5%) e mantidas a baixas temperaturas; as intermediárias, que toleram uma perda moderada de água (10-13%) e apresentam uma viabilidade comprometida quando submetidas a níveis de umidade mais baixos ou temperaturas abaixo de zero; e as recalcitrantes, que não conseguem suportar desidratação a níveis elevados de umidade e sofrem danos durante o armazenamento em temperaturas baixas.

De acordo com Hong e Ellis (1996), é necessário possuir conhecimento prévio do comportamento fisiológico da semente de cada espécie para garantir o sucesso no armazenamento, uma vez que as condições adequadas para a conservação podem variar. Portanto, a conservação adequada depende do entendimento das exigências específicas de cada tipo de semente.

As sementes de *Eugenia* são conhecidas por terem altos níveis de umidade e por serem difíceis de manterem sua viabilidade por períodos prolongados durante o armazenamento, conforme apontado por vários estudos (Flores & Clement, 1984; Flores & Rivera, 1989; Gentil & Ferreira, 1999; Delgado & Barbedo, 2007). Contudo, Inocente & Barbedo (2019) descobriram que, apesar da sensibilidade à dessecação, essas sementes são tolerantes a condições de baixa umidade do solo, o que lhes permite superar desafios ambientais, como a escassez de água, durante a dispersão.

Estudos realizados por Delgado & Barbedo (2007) em seis espécies de *Eugenia* (*Eugenia uniflora*, *E. brasiliensis*, *E. involucrata*, *E. pyriformis*, *E. umbelliflora* e *E. cerasiflora*) comprovaram que, apesar de diferenças nos limites de tolerância à dessecação das sementes das diferentes espécies, a redução do teor de água para valores inferiores a 45% sempre prejudicou a germinação dessas sementes, que perderam a capacidade germinativa quando o teor de água foi inferior a 15%. A secagem das sementes de todas as espécies analisadas impactou negativamente tanto a habilidade de germinação quanto a produção de plântulas saudáveis, independentemente do método utilizado para a desidratação.

Um estudo feito para avaliar a germinação e o vigor de sementes de *Eugenia cerasiflora* (guamirim) e de *E. umbelliflora* (guapê), apresentaram uma queda significativa com a secagem, onde foi possível verificar que sementes de ambas as espécies são sensíveis à dessecação (Delgado, 2006).

De acordo com Delgado e Barbedo (2007), as espécies de *Eugenia* estudadas apresentaram níveis letais de água próximos, variando entre 15% e 20%, o que as categoriza como recalcitrantes, de acordo com a classificação de Roberts (1973). No entanto, há argumentos de que a sensibilidade à dessecação das sementes recalcitrantes é um fator quantitativo, o que pode ser usado para categorizá-las de acordo com o mínimo potencial hídrico que conseguem suportar (Berjak & Pammenter, 2000).

De toda forma, em função da dificuldade de armazenamento de sementes recalcitrantes em longo prazo, estratégias de conservação *in situ* dessas espécies devem ser levadas em consideração, como forma de garantir a preservação e conservação de sua diversidade genética (Costa, 2009).

2.2. Maturação de frutos em espécies de *Eugenia*

O estudo sobre maturação baseia-se na avaliação de parâmetros morfo-fisiológicos, considerando o período compreendido desde o início do florescimento até o fim do processo de frutificação das espécies. Pode-se assegurar, portanto, que a capacidade de armazenamento das sementes está diretamente relacionada em colher sementes maduras e vigorosas pois dessa

forma pode suportar melhor o processo de beneficiamento, possíveis danos causados as sementes decorrentes da secagem e injúrias mecânicas (Barbosa *et al.* 2015).

A coloração do fruto e suas mudanças são características que permitem inferir sobre a maturação fisiológica de sementes e, conseqüentemente, sobre a época adequada de colheita (Borges *et al.*, 2016). De acordo com Souza & Lima (1985) e Figliolia (1995), o aspecto externo e a coloração dos frutos e sementes costumam apresentar alterações visíveis ao longo do processo de maturação fisiológica das sementes.

Estudos já realizados mostram que há uma relação positiva entre a performance das sementes e a coloração dos frutos nas espécies de *E. uniiflora* (Ávila *et al.*, 2009), *Eugenia involucrata* e *E. pyriformis* (Oro *et al.*, 2012). A coloração dos frutos são indicadores visuais que permitem identificar para estas espécies, o melhor momento de coleta das sementes em campo.

No entanto, é importante lembrar que nem sempre a maturação visual do fruto corresponde à maturação fisiológica das sementes, como acontece algumas espécies de *Eugenia* que não apresentaram relação entre a cor do fruto e seu desempenho germinativo. Borges *et al.*, (2016) indicam que a coloração do fruto para a espécie de *E. calcyna* não influenciou a capacidade de emergência, o tempo inicial, médio e final, a velocidade e a sincronia de emergência das plântulas.

Estudos recentes publicados por Guardia *et al.* (2018), Silva *et al.* (2018) e Fidalgo *et al.* (2019) apontam que durante o processo evolutivo de espécies tropicais, algumas desenvolveram a habilidade de sincronizar a maturidade fisiológica das suas sementes com mudanças na cor dos frutos, indicando uma relação com a síndrome de dispersão. Tal situação pode atrair animais com funções de polinização e dispersão podendo ter um impacto na qualidade das sementes colhidas.

Assim, fica evidente para a espécie *Eugenia villaenovae* a importância de estudos detalhados para identificar o momento ideal de colheita, garantindo a viabilidade e a qualidade das sementes de espécies nativas ameaçadas de extinção.

2.3. Totipotência em *Eugenia*

A capacidade de totipotência da célula vegetal permite que ela se organize em um novo indivíduo, preservando a informação genética essencial, sem a necessidade de recombinação gênica, resultando no desenvolvimento de uma nova planta (Revista Cultivar, 2008). Convém ressaltar, que a propagação vegetativa também oferece riscos como a redução da base genética e segregação genética em mudas florestais (Brune, 1982).

As sementes do gênero *Eugenia* apresentam uma elevada resistência a danos mecânicos, conforme estudos anteriores de Anjos & Ferraz (1999) e Silva *et al.* (2003). Estes estudos comprovaram que as sementes monoembrionárias do referido gênero tem uma alta capacidade de auto-regeneração após sofrerem algum tipo de lesão mecânica, e que o dano causado pode até ser utilizado como estímulo para acelerar o processo de germinação.

Várias pesquisas têm sido realizadas sobre espécies do gênero *Eugenia*, visando comprovar a totipotência, incluindo *E. stipitata* (Mendes e Mendonça, 2012; Calvi *et al.*, 2015), *E. involucrata*, *E. uniiflora*, *E. brasiliensis* (Silva *et al.*, 2005), *E. cerasiflora*, *E. umbeliflora*, *E. pruinosa* (Delgado *et al.*, 2010) e *E. pyriformis* (Silva *et al.*, 2003).

Além da escassez de matrizes produtoras de sementes, é importante destacar que a maioria das espécies de *Eugenia* encontradas no Brasil produz frutos com uma quantidade reduzida de sementes, geralmente apenas uma ou duas, conforme mencionado em Silva *et al.* (2003).

Dessa forma, o processo de fracionamento de sementes é uma estratégia crucial para otimizar a produção de sementes, sobretudo em relação às espécies que estão em risco de extinção.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos desta pesquisa foram realizados entre o período de setembro 2022 a janeiro 2023 no Laboratório de Leguminosas Florestais, localizado na Embrapa Agrobiologia no município de Seropédica - RJ.

3.1 Morfologia e descrição da *Eugenia villaenovae*

Durante a etapa de coleta, atentou-se às características da planta em campo, a fim de realizar uma descrição morfológica da *Eugenia villaenovae*. Ademais, consultaram-se registros de exsicatas que continham imagens dos herbários virtuais Re flora e o Specieslink, além de se analisar um trabalho acadêmico que continha a descrição dessa espécie, intitulado "*Estudos taxonômicos em Eugenia L. (myrtaceae), com ênfase em Eugenia sect. Racemosae O. Berg*" (Mazine, 2006).

3.2 Coleta de frutos e beneficiamento das sementes

A pesquisa foi realizada com sementes coletadas de duas matrizes de *Eugenia villaenovae* localizadas no município de Macaé (RJ) e em Seropédica (RJ), em setembro/2021 e setembro/2022 (Figura 2).

Em Seropédica, a matriz selecionada para a coleta das sementes está localizada no bairro Boa Esperança, dentro dos limites de uma propriedade particular, correspondendo às coordenadas -22,79120 W, -43,72758 S. Em Macaé, a matriz selecionada para coleta se localiza-se em -22,3810 W, -41,80680 S (Figura 3).

Ambas as matrizes apresentavam bons aspectos fitossanitários e nenhum indício de presença de pragas ou quaisquer doenças. A coleta foi realizada com o auxílio de um podão. Foram coletados frutos em suas diversas fases de desenvolvimento (Figura 2).



Figura 2: Coleta no município de Seropédica – RJ. **A** – Coleta dos frutos sendo realizada com podão. **B** – Ramo com frutos e folhas da *Eugenia villaenovae* RJ.



Figura 3. Mapa da localização da matriz de coleta em Seropédica RJ e Macaé RJ.

A extração e o beneficiamento das sementes foram realizados até 48 hs após a colheita, de forma manual com a utilização de peneira em água corrente para a remoção total da polpa do fruto (Figura 4).



Figura 4. Sementes de *Eugenia villaenovae* beneficiadas.



Figura 5. Frutos de *Eugenia villaenovae* após colheita separadas por cor.

3.3 Experimento Maturação

Os frutos coletados foram classificados em três diferentes pontos de maturação, com base em indicadores visuais de coloração do fruto (Figura 6), e foram mantidos separados para avaliação do ponto ótimo de maturação no experimento de maturação. Nos demais experimentos (secagem/ortodoxia) foram misturados e utilizados apenas as sementes de um mesmo estágio de maturação. Neste experimento foram utilizados as sementes coletadas na matriz de Seropédica – RJ.



Figura 6. Frutos coletados em Seropédica RJ em diferentes graus de maturação. **A** – Frutos verdes. **B**- Frutos vermelhos. **C**- Frutos roxos.

Foram avaliadas as seguintes características para cada um dos três estádios de maturação: germinação, teor de água, peso de mil sementes.

3.3.1 Teor de água das sementes

O teor de água das sementes foi avaliado para cada um dos três estádios de maturação através do Teste de Umidade, seguindo metodologia proposta na Regra de Análise de Sementes (Brasil, 2009).

Foram sorteadas 15 sementes e colocadas dentro de 3 cadinhos (sendo 5 sementes em cada). Cada cadinho foi pesado em balança de alta precisão e colocado em estufa a 105°C e pesados novamente após 24 horas (Figura 7)

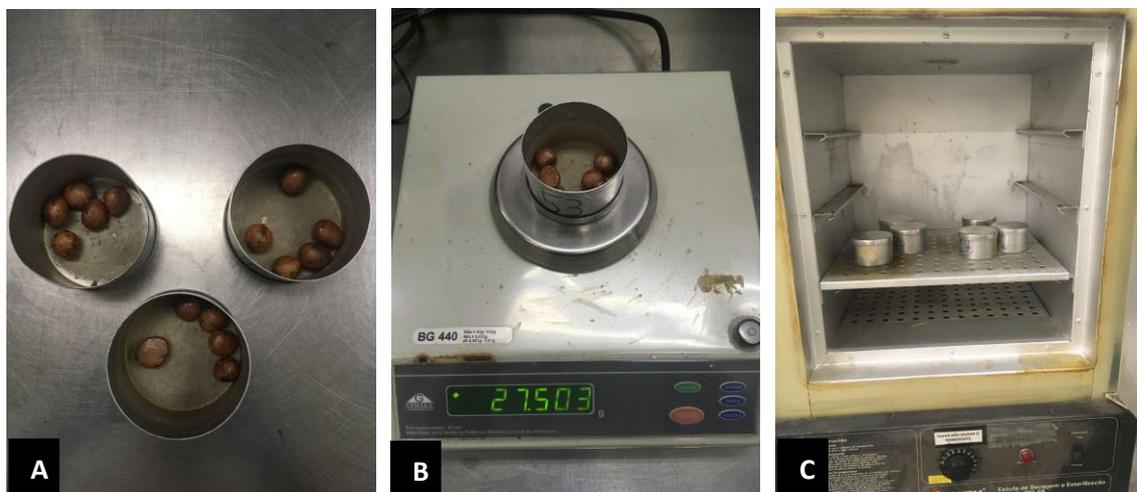


Figura 7: Etapas da realização do teste de umidade **A** – sementes separadas nos cadinhos; **B** – pesagem das sementes em balança de alta precisão; **C** – sementes em estufa.

3.3.2 Teste de germinação

O teste de germinação foi realizado em rolo de papel com 4 repetições em cada tratamento de 15 ou 25 sementes (Figura 08). Os rolos foram umedecidos com 50 ml de água destilada e armazenados dentro de sacos plásticos fechados em BOD com temperatura constante de 25° C com fotoperíodo de 12 horas.

Previamente ao teste de germinação foi realizada a assepsia das sementes, que consistiu nas seguintes etapas: **1** - Sementes imersas em álcool 70% por 30 segundos; **2** - Sementes imersas em solução de hipoclorito de sódio 1% por 5 minutos; **3** - Lavagem das sementes em água destilada por três vezes.

As análises dos testes de germinação foram realizadas semanalmente durante um período de 5 meses, considerando o critério biológico, que considera a semente germinada aquela com emissão de radícula (1mm).



Figura 08: Distribuição das sementes no rolo de papel para teste de germinação.

3.3.3 Índice de Velocidade de Germinação (IVG)

O vigor das sementes foi determinado pelo índice de velocidade de germinação (IVG) e foi calculado de acordo com a fórmula:

$$IVG = \sum ni / ti$$

Em que:

ni = Número de sementes que germinaram no tempo “i”;

ti = Tempo após a instalação do teste;

3.2.5 Análise Estatística

Considerou-se um delineamento inteiramente casualizado, com três tratamentos, 4 repetições de 25 sementes. Foi realizada análise da normalidade e homogeneidade dos dados, e diante da normalidade dos dados foi realizada análise de variância. Os testes estatísticos foram realizados no software S-PLUS, um software estatístico utilizado para análise de dados, modelagem estatística.

3.4 Experimento de Secagem

Neste experimento, objetivamos avaliar como a secagem influencia a viabilidade das sementes de *Eugenia villaenovae*. Foram utilizadas sementes de um único estágio de maturação para esse experimento (sementes retiradas de frutos de coloração vermelho e roxas).

A secagem das sementes foi realizada em estufa de circulação forçada de ar, a 35°C, cuja temperatura e umidade relativa do ar foi monitorada durante todo o período do experimento, por um termohigrógrafo, mantendo temperatura e umidade relativa do ar (Figura 09).

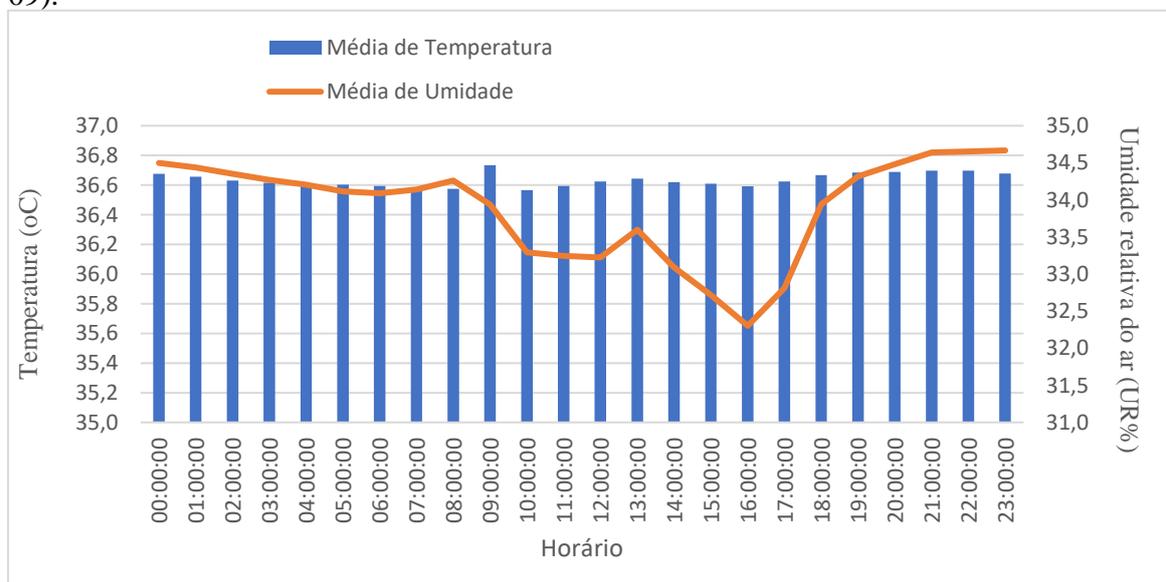


Figura 09. Valores médios de temperatura e umidade relativa do ar, monitoradas a cada hora pelo termohigrógrafo, na estufa de circulação forçada de ar, ajustada para 35°C, durante o período do experimento de secagem das sementes de *Eugenia villaenovae* (08/09 a 10/10/22), Seropédica, (RJ).

Para determinação do teor de água nas sementes foi aplicada a fórmula do Teor de Água Desejado, proposto por Hong & Ellis (1996). Seguindo essa fórmula, através do monitoramento

do peso da semente, e conhecendo o teor de água inicial do lote, buscamos obter os seguintes tratamentos (teores de água da semente): 40% 30% 20% 10% 5%.

Foi utilizada a fórmula:

$$DMC = \frac{(100 - TA_i) \times P_i}{(100 - TA_f)}$$

Sendo:

DMC = Peso final no teor de água desejado

TA_i = teor de água inicial da semente;

TA_f = teor de água final da semente;

P_i = peso inicial da semente

Foram distribuídas em peneiras 120 sementes selecionadas aleatoriamente, em seis amostras (R1 a R6). Todas as peneiras foram pesadas (P inicial) e colocadas em estufa a 35°C. A cada hora os lotes eram retirados da estufa e pesados na balança de precisão para o monitoramento da perda de peso das sementes. As amostras eram retiradas da estufa conforme atingiam o peso estimado para o teor de água desejado, para montagem do teste de germinação e do teste de umidade, conforme metodologia descrita abaixo.

Tabela 1. Cálculo do peso do lote de sementes para atingir o teor de água desejado das sementes utilizado a fórmula de Hong & Ellis (1996), (Valores desejados de acordo com a fórmula destacados estão em destaque).

Teor de água desejado (%)	Peso (g) do lote de sementes para atingir o teor de água desejado						Tempo de secagem para atingir o peso do teor de água desejado	
	Amostras	R1	R2	R3	R4	R5		R6
Pinicial		107,92	111,11	108,88	112,73	119,13	107,46	08/Set
40%		89,9	92,5	90,69	93,9	99,23	89,51	10/Set - 09:18 / 49 horas
30%		77,05	79,33	77,74	80,49	85,05	76,72	13/Set - 10:40 / 122 horas
20%		67,45	69,44	68,05	70,45	74,45	67,16	19/Set - 08:40 / 288 horas
10%		59,89	61,66	60,42	62,56	66,11	59,64	27/Set - 11:05 / 459 horas
5%		56,76	58,44	57,27	59,29	62,66	56,52	10/10 - 13:15 / 773 horas

O teste de umidade e de germinação foi realizado conforme metodologia descrita no item 2.1.4 e 2.1.5, respectivamente.

3.3.1 Peso de mil sementes

O peso de mil sementes foi obtido para cada um dos três estádios de maturação, e foi calculado através do peso de oito amostras de 100 sementes escolhidas aleatoriamente e pesadas em balança de alta precisão, seguindo a Regra de Análise de Sementes (Brasil, 2009).

3.3.2 Análise estatística para experimento de secagem

No caso dos dados de secagem, os dados foram convertidos em log (x) previamente conforme a análise de normalidade dos dados, e foi realizada no programa S-PLUS. O teste Dunnett foi utilizado para comparar estatisticamente todos os níveis de secagem com o tratamento de controle. Dunnett é um método estatístico que compara um grupo de tratamentos com um controle, com o objetivo de determinar se há diferenças significativas entre eles.

Com os valores de Betas definidos com Dunnett, foi aplicada a seguinte equação de regressão:

$$Y = i + BX + Bx^2$$

A equação foi aplicada para os dados IVG e Germinação. Com a regressão ajustada foi possível estimar a germinação e IVG para N valores de teor de água da semente. Assim, é possível analisar o teor de água letal das sementes.

3.4 Experimento de Ortodoxia

O experimento de ortodoxia em sementes teve como principal objetivo avaliar o comportamento da semente de *Eugenia villaenovae* à secagem e ao armazenamento. As sementes ortodoxas são capazes de sobreviver a condições extremas, como secas prolongadas e altas temperaturas, sem perder sua capacidade germinativa.

Os tratamentos foram: 1) Testemunha (sem secagem ou armazenamento); 2) armazenamento em geladeira a 5°C por 3 meses; 3) Armazenamento em freezer (-18°C) por 3 meses; 4) Armazenamento natural por 3 meses; 5) Secagem a 5%.

Previamente ao armazenamento, as sementes foram tratadas com fungicida *Rancona* (0,5 ml solução para 50g de semente), e foram embaladas em saco plástico com substrato de vermiculita. Cada lote armazenado continha 72 sementes (Figura 10).

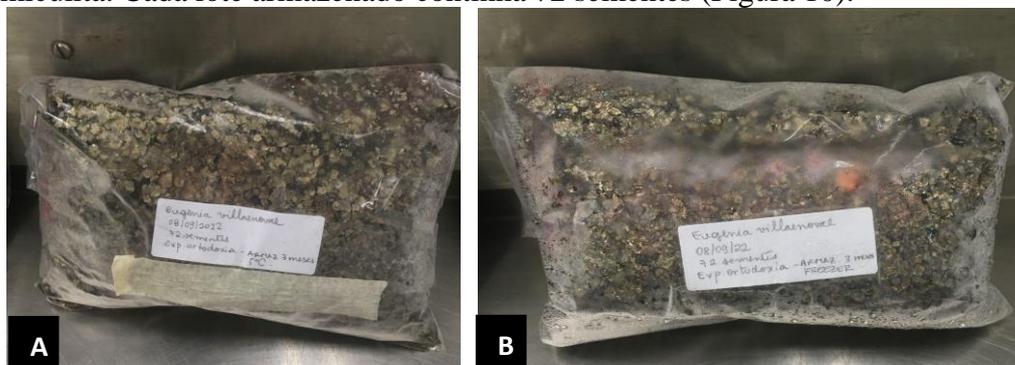


Figura 10: Amostras do teste de ortodoxia que foram armazenadas. **A** – Lote de sementes armazenadas a 5 °C; **B**- Lote de sementes armazenadas a -18 °C

Para cada um dos tratamentos acima mencionados foi montado o teste de germinação e teste de umidade, conforme metodologia descrita no item 3.2.2 e 3.2.1.

3.5 Experimento de Totipotência

O experimento de totipotência em espécies ameaçadas de extinção é importante porque pode viabilizar a restauração das populações em declínio através de técnicas alternativas de propagação, aumentando o número de propágulos com amostras muito pequenas de sementes.

Os tratamentos para totipotência foram: testemunha (sem nenhum dano e sem qualquer secagem), semente cortada transversalmente em 2 pedaços; semente cortada longitudinalmente em 2 pedaços e semente cortada em cruz, em 4 pedaços (Figura 11).

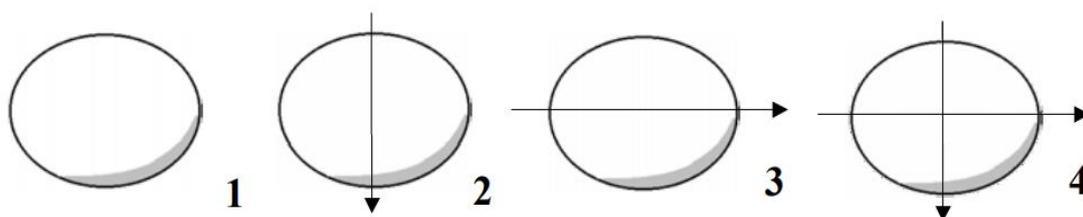


Figura 11. Representação dos cortes nas sementes de *Eugenia villaenovae*. Fonte: Adaptado de Silva (2003)

Para cada um dos tratamentos acima mencionados foi montado o teste de germinação e teste de umidade, conforme metodologia descrita no item 2.1.4 e 2.1.5. Previamente ao teste de germinação as sementes foram tratadas com fungicida Rancona na proporção de 1 ml para 50 g de sementes. As avaliações da germinação foram realizadas semanalmente durante 6 meses.

3.5.1 Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância através do software S-PLUS e as médias comparadas pelo teste de Dunnet a 5% de probabilidade.

3.6 Distribuição natural de ocorrência

Mapas de distribuição de ocorrência em espécies são ferramentas importantes para entender a distribuição geográfica de uma espécie e suas relações com o ambiente.

A metodologia envolveu a coleta dados de ocorrência da espécie através de registros geográficos fornecidos pela plataforma SpeciesLink (<https://specieslink.net/>) e Flora e Funga do Brasil (<https://reflora.jbrj.gov.br/>), além dos próprios dados das coordenadas de coleta em Seropédica RJ e Macaé RJ. Para produzir os mapas foi utilizado o software QGIS com o sistema de referência DATUM SIRGAS 2000 UTM 23S.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Morfologia da *Eugenia villaenovae*

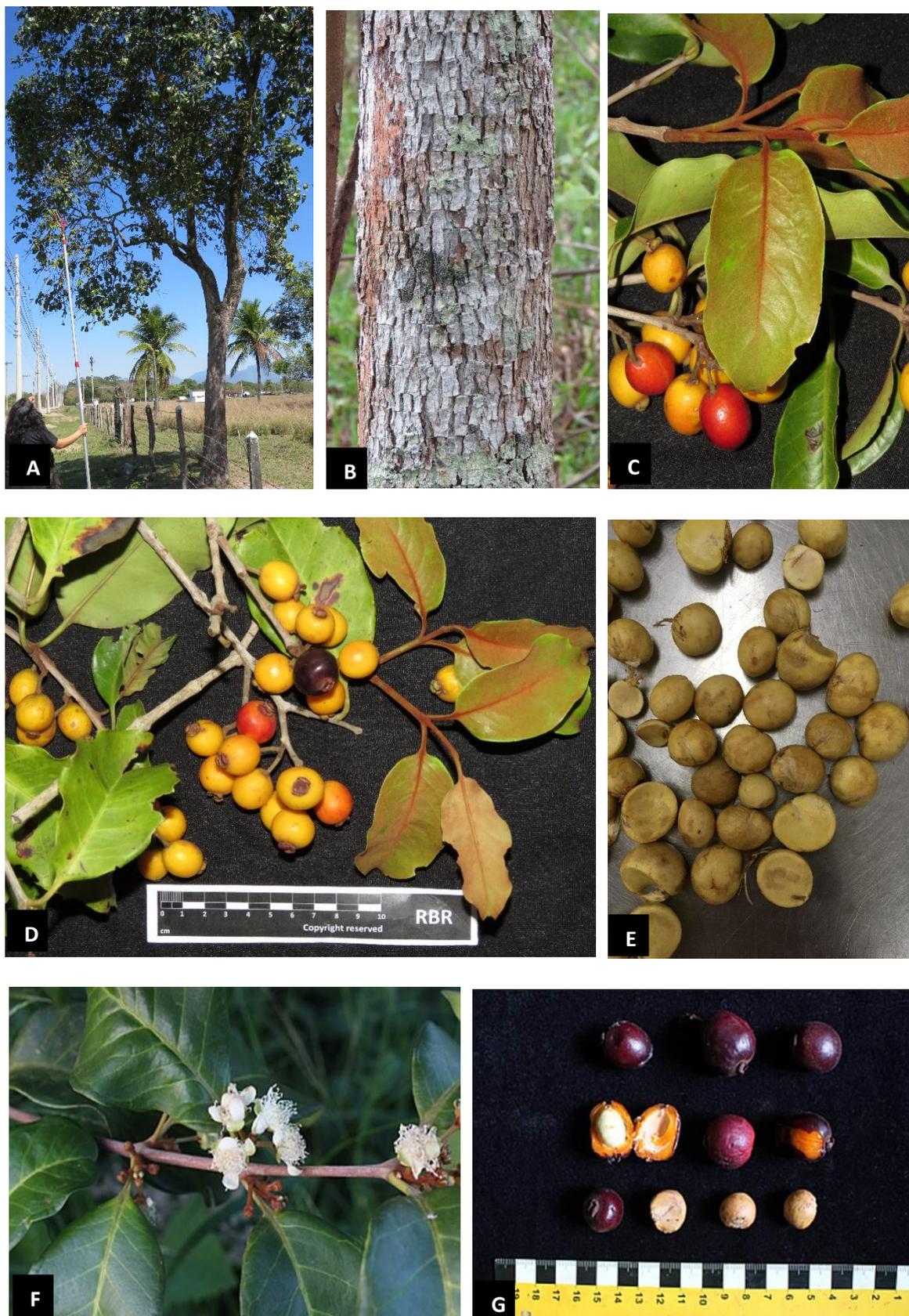


Figura 12. Morfologia *E. villaenovae* Fonte: A, B, C, D, E- Autores (2022) F, G - Colecionando frutas (2023).

- **Características morfológicas:** Altura de 8 – 10 m, com tronco de 30 – 40 cm de diâmetro, copa estreita e aberta, revestido por casca fina acinzentada e fissurada longitudinalmente. Os ramos jovens, folhas jovens, inflorescência, flores e frutos são cobertos por indumento (tricomas) ferrugíneos. Suas folhas são simples, opostas, obovadas, medindo de 12 – 15 cm de comprimento e 5 – 9 cm de largura, com glândulas translúcidas evidentes. As flores são brancas, diclamídeas e surgem em fascículos axilares. Frutos do tipo baga, podendo ocorrer alguns casos com 2 sementes por fruto.
- **Informações Ecológicas:** Endêmica da Mata Atlântica, distribuindo-se pelo estado do Rio de Janeiro e Espírito Santo, ocorrendo em áreas com floresta estacional semidecidual e em restinga. Planta caducifólia podem ser encontradas no interior de florestas primárias ou em fragmentos de florestas antropizadas ou alteradas.

4.2. Mapa distribuição de ocorrência da *Eugenia villaenovae*

Foram analisados 28 registros da espécie em herbário. Os registros são de Espírito Santo e Rio de Janeiro, sendo a maior parte dos registros no estado do Rio (Figura 13). Atualmente a planta é considerada endêmica desses dois estados.

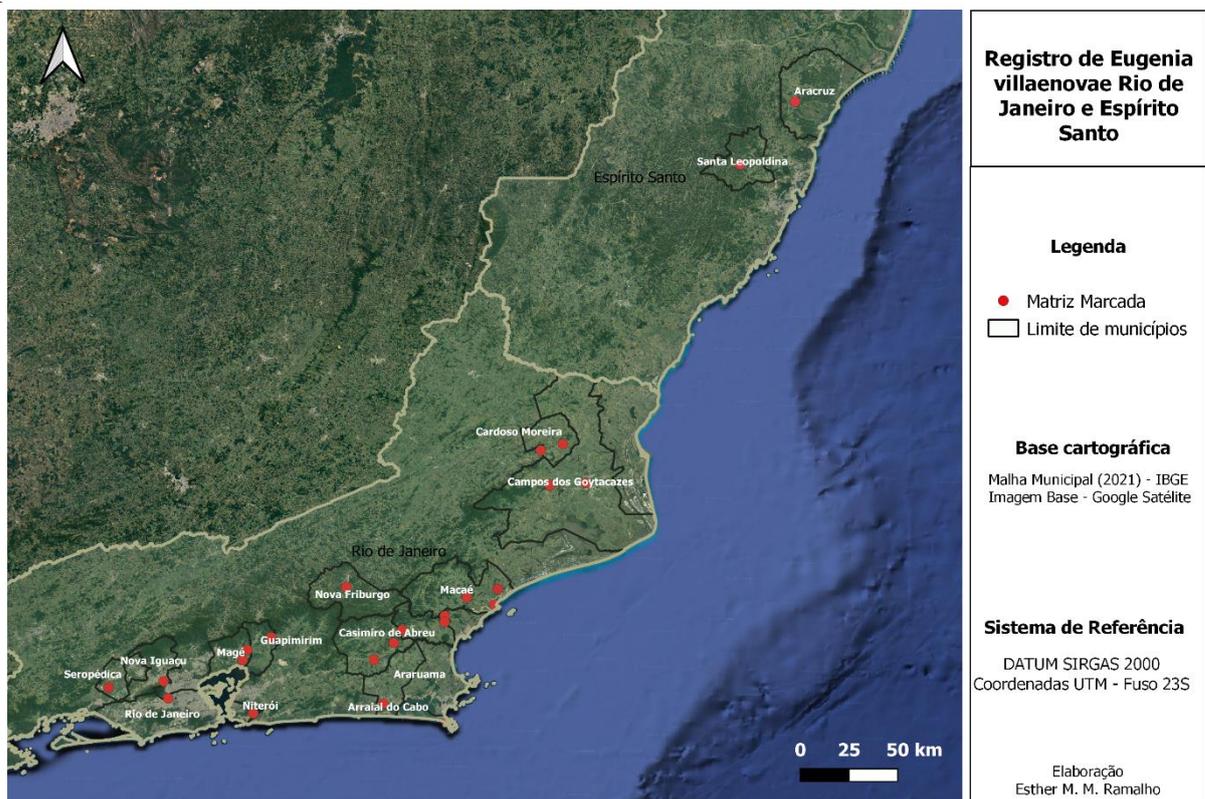


Figura 13. Mapa de ocorrência da *Eugenia villaenovae* com base em registros de herbários.

4.3. Experimento de maturação

O peso de mil sementes de *Eugenia villaenovae* foi de $126,68 \pm 7,97$ para os frutos coletados verdes $137,97 \pm 4,95$ para os frutos vermelhos e $147,44 \pm 6,59$ para os frutos roxos (tabela 2).

Tabela 2. Valores de peso de mil sementes (PMS), teor de água, germinação e Índice de Velocidade de Germinação (IVG) de sementes de *Eugenia villanovae* coletadas de frutos em diferentes estádios de maturação.

Estádio maturação	PMS	Teor de água	Germinação	IVG
verde	126,68 ± 7,97	54,68 ± 1,59	98,0 ± 2,3	3,33 ± 0,11
vermelho	137,97 ± 4,95	50,82 ± 2,21	100 ± 0	3,98 ± 0,07
roxo	147,44 ± 6,59	49,07 ± 1,60	95 ± 2,0	3,32 ± 0,16

Obs: PMS dos tratamentos frutos roxo e verde foi baseado em apenas três amostras; e do vermelho em sete amostras de 100 sementes.

Para o experimento de maturação, todos os tratamentos apresentaram alta taxa de germinação, com média de $95 \pm 2,0$ % (frutos roxos), $98,0 \pm 2,3$ % (frutos verdes) e 100 ± 0 % (frutos vermelhos), considerando os diferentes graus de maturação (Figura 02). Houve diferença significativa entre os tratamentos vermelho e roxo ($F=8,142$; $p<0,01$). Foi observada diferença significativa ($F= 8,158$; $p<0,05$) no teor de água das sementes entre os frutos verdes e roxos em diferentes níveis de maturação. No entanto, não houve diferença significativa no teor de água das sementes entre os tratamentos verde e vermelho, assim como entre os tratamentos vermelho e roxo. O tratamento verde apresentou diferença significativa em relação ao PMS quando comparado ao tratamento roxo ($F= 5,13$; $p<0,01$). Por outro lado, não houve diferença significativa entre o tratamento vermelho e os tratamentos verde e roxo. Observou-se diferença significativa também na velocidade de germinação das sementes com diferentes níveis de maturação ($F=42.41$; $p<0,01$). O teste Tukey para indicar a diferença significativa entre IVG é apresentado na Tabela 3.

Tabela 3. Resultado Teste Tukey (IVG) realizado a 99% de confiança.

	Estimate	Std.Error	Lower Bound	Upper Bound	
roxa-verde	-0.0146	0.082	-0.329	0.300	
roxa-verm	-0.6610	0.082	-0.976	-0.346	****
verde-verm	-0.6460	0.082	-0.961	-0.332	****

Não houve diferença significativa na velocidade de germinação entre frutos roxos e verdes. Porém, houve diferença significativa no IVG dos frutos roxos em relação ao vermelho e em relação aos frutos verdes em relação aos vermelhos (Figura 14).

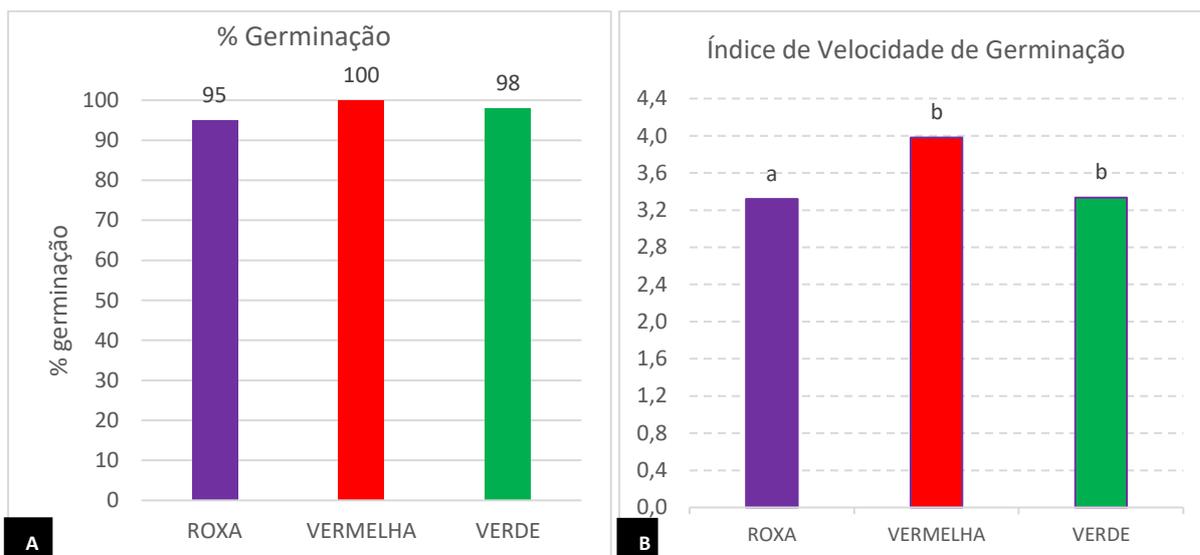
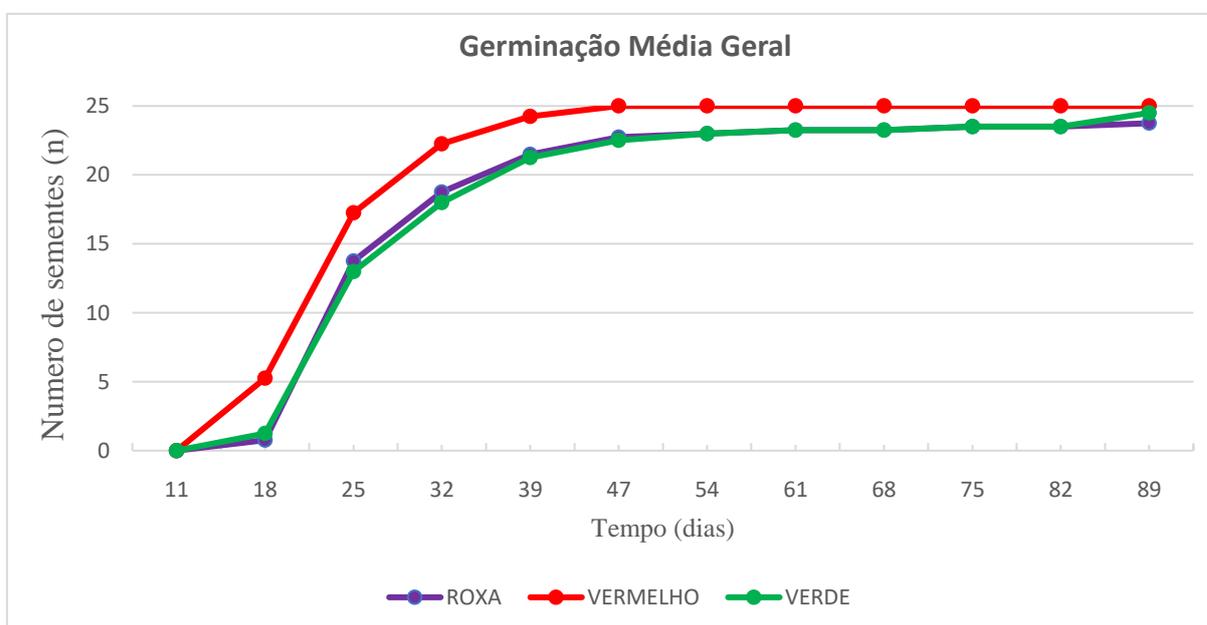


Figura 14. A - Taxa de germinação (%) para sementes em diferentes níveis de maturação. **B** - Índice de velocidade de germinação (IVG) em diferentes níveis de maturação. Letras iguais não se diferem no teste de Tukey.

Para os frutos de coloração vermelha a germinação foi 100% das sementes em um período de 47^o dias, enquanto os de coloração verde e roxa apresentaram germinação até o 89^o dia, chegando a 95% e 98% de germinação das sementes, respectivamente (Figura 15).



frutos vermelhos demonstraram maior vigor, sugerindo que esse é o estágio ideal de colheita para *Eugenia villaenovae*.

De acordo com Ávila *et al.* (2009) e Oro *et al.* (2012), no caso da *Eugenia pyriformis*, foi observado que o ponto ótimo de maturação foi encontrado quando a coloração dos frutos atingiu as cores verde-amarelo ou amarelo-alaranjada. Nestes estádios a germinação foi de 59%, embora não tenha havido diferença estatisticamente significativa entre as sementes nas fases amarela/laranja e as que caíram no chão, porém há evidências de que as sementes atingiram o estágio de maturidade fisiológica nesta fase.

No caso da *Eugenia involucrata* o ponto ótimo de maturação foi encontrado na coloração vermelho-claro dos frutos, onde os frutos apresentaram germinação de 95% comparados a menor germinação que foi dos frutos caídos no chão com 62% de germinação final (Oro *et al.*, 2012). Para os frutos de *E. uniflora* o melhor ponto de maturação foi dos frutos vermelhos (Ávila *et al.* 2009), com 81% de germinação das sementes, variando até 27% nos demais tratamentos.

4.4. Experimento de secagem

As sementes de *Eugenia villanovae* apresentaram teor de água inicial de 47%.

A taxa de germinação variou significativamente entre os tratamentos de secagem, reduzindo conforme a semente perdia água. Isso indica que as sementes são sensíveis à dessecação, conforme a literatura previa para demais espécies de *Eugenia* (Delgado, 2006) (Figura 16). Os tratamentos com secagem a 10% e 5% de umidade não obtiveram nenhuma germinação.

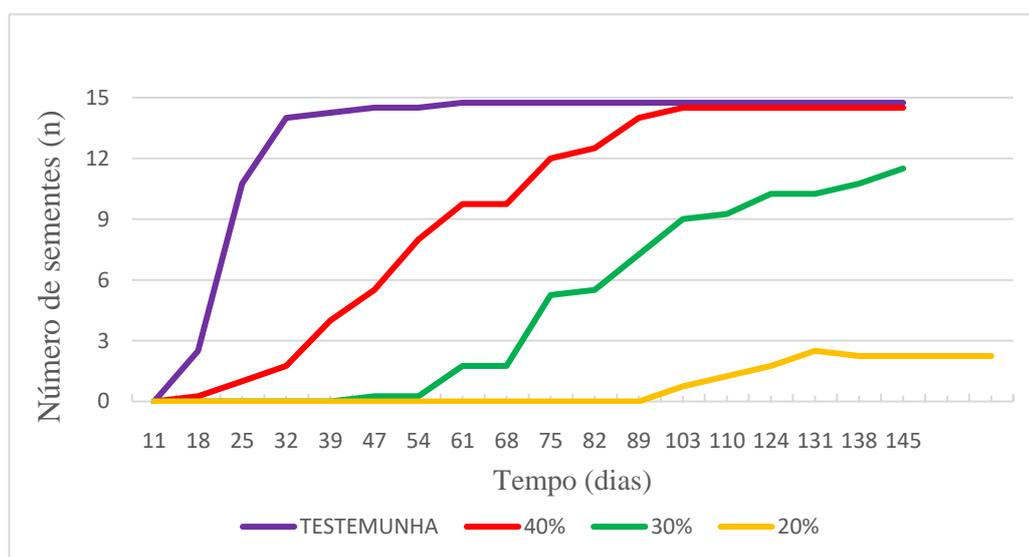


Figura 16. Germinação das sementes de *Eugenia villanovae* com diferentes teores de água, ao longo do tempo.

Após verificar a normalidade dos dados através da análise de variância (Anova), foi aplicado o teste Dunnet para análise de dados, onde indicou que houve diferença significativa entre a germinação de ambos os níveis de secagem das sementes quando relacionados a tratamento testemunha, assim como para a velocidade de germinação das sementes nos diferentes níveis de secagem. O resultado da análise de dados para obtenção dos coeficientes (Betas) da regressão é indicado pela tabela 4.

Tabela 4. Resultado da análise de dados para obtenção dos coeficientes da regressão no programa S-PLUS.

Aplicação de Dunnet – IVG

Coefficients:					Coefficients:				
	Value	Std. Error	t value	Pr(> t)		Value	Std. Error	t value	Pr(> t)
(Intercept)	0.8353	0.8101	1.0311	0.3213	(Intercept)	-181.1550	21.1090	-8.5819	0.0000
umid	-0.0938	0.0498	-1.8843	0.0821	umid	12.8618	1.2976	9.9123	0.0000
umid.2	0.0031				umid.2	-0.1459	0.0184	-7.9336	0.0000
0.0007	4.3828	0.0007							

A taxa de germinação das sementes submetidas a secagem variou de 96% até 16%, desconsiderando a secagem a 10% e 5% onde não houve nenhuma germinação. Para sementes

secas a 40% de teor de água a taxa de germinação chegou a 97%. Para secagem a 30% a germinação caiu para 77%, e reduziu ainda mais para a secagem a 20% onde a taxa de germinação chegou a 17% (Figura 17). O índice de velocidade de germinação (IVG) também foi maior para as sementes com maior teor de água (Figura 17).

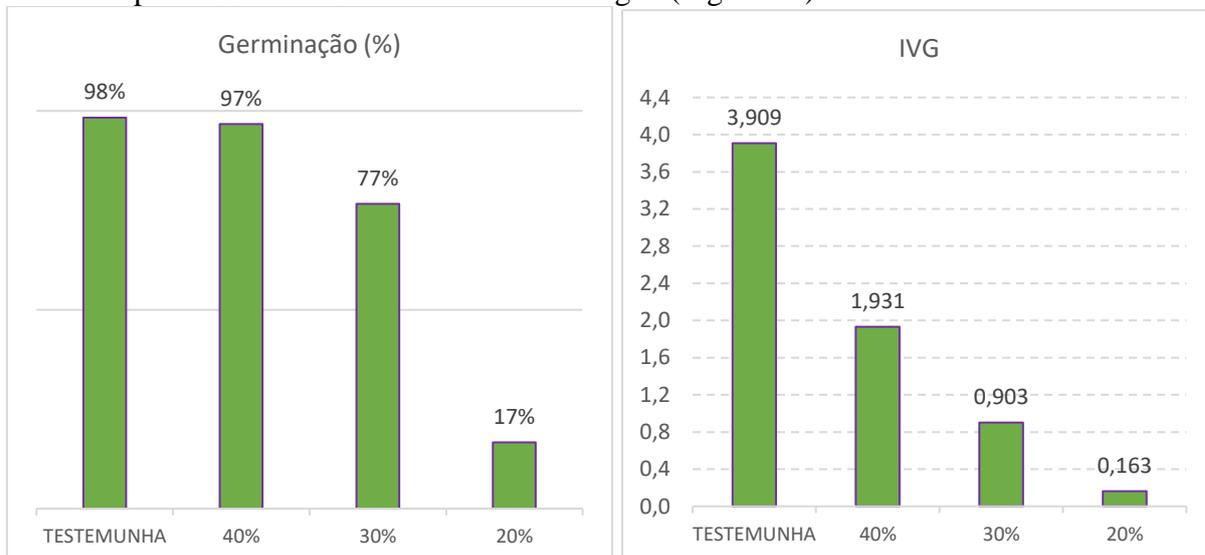


Figura 17. A - Taxa de germinação com tratamentos de secagem. **B** - Índice de velocidade de germinação para diferentes níveis de secagem.

A queda na germinação das sementes é notável quando os teores de água estão abaixo de 40%, podendo considerar este como o teor de água crítico, ou seja, abaixo do qual a espécie perde a germinação (Figura 18). Nenhuma germinação ocorreu para as sementes com valores de teor de água inferiores a 17%, sendo este o teor de água letal para a espécie, de acordo com o ajuste da regressão.

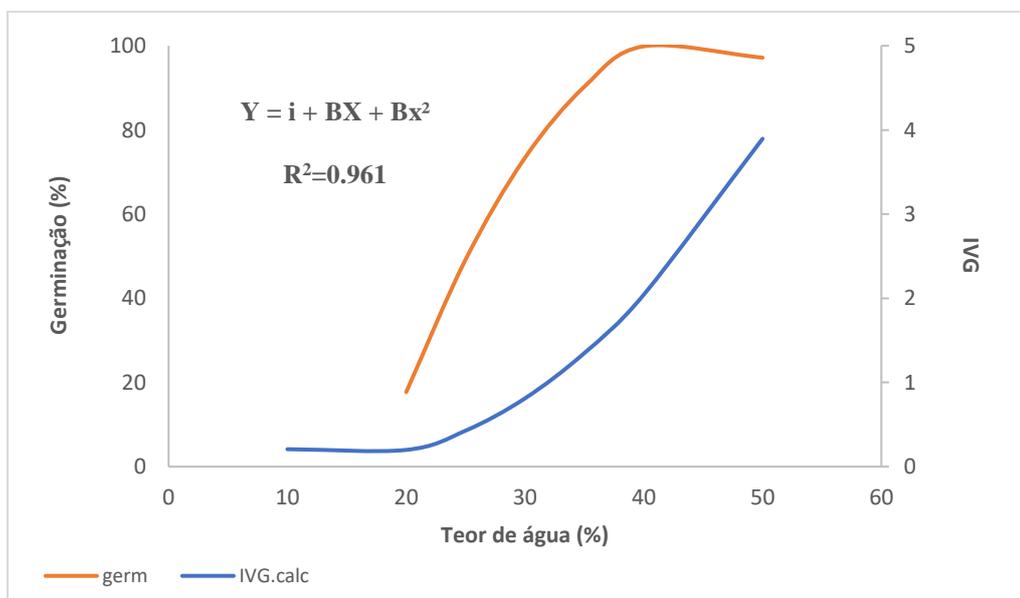


Figura 18. Análise de Regressão considerando a germinação e índice de velocidade de germinação de sementes de *Eugenia villaenovae* com diferentes teores de água da semente.

A viabilidade das sementes de *Eugenia villanovae* caiu com a redução do teor de água ($R^2=0.961$). O IVG foi maior com teor de água entre 40% e 50%, demonstrando que as sementes com maior teor de água possuem maior vigor. Portanto, o teor de água ideal para armazenar as sementes é entre 30% a 40% de umidade, onde existe uma alta taxa de germinação.

A redução do teor de água da sementes já foi observada como tendo um efeito negativo sobre a taxa de germinação de sementes em várias espécies do gênero *Eugenia*, incluindo *E. involucrata*, a qual germinou 15% das sementes após a secagem ao ar livre com 46,5% de teor de água (Barbedo *et al.*, 1998), *E. brasiliensis* com germinação nula quando o teor de água foi reduzido de 48,9% para 27,2% (Kohoma *et al.*, 2006) e *E. pyriformis* com prejuízo na qualidade fisiológica da semente quando houve redução no teor de água a partir de 30% (Scalon *et al.*, 2012).

Para as sementes de *E. uniflora* a perda da viabilidade ocorreu quando o teor de água chegou entre 45 e 50% (Delgado & Barbedo 2007). A *E. dysenterica* DC. (cagaita) teve a germinação parcialmente afetada quando o teor de água foi reduzido de 43% para 35-37%, e totalmente afetada (em grau letal) quando reduzida para 23-25%. (Santos *et al.* 2021). As sementes de *E. stipitata* são sensíveis ao teor de água (letal) em torno de 26%, tendo a secagem afetado de forma acentuada sua germinação (Gentil & Ferreira 1999)

A secagem das sementes de *Eugenia villanovae* foi caracterizada por um processo lento. Para alcançar teores de água de 40% e 30% foram necessários 3 e 9 dias, respectivamente. Já para os demais teores, a secagem demandou um período ainda mais longo, levando 32 dias para atingir 5% de umidade (Figura 19).

No caso da *E. uniflora*, foram necessárias 72 horas de secagem quando o grau de umidade foi reduzido a 31% (Comin *et al.* 2014). Para a *E. involucrata*, com secagem à sombra, resultou na redução no teor de água até 960 horas no final do processo (Barbedo *et al.* 1998).

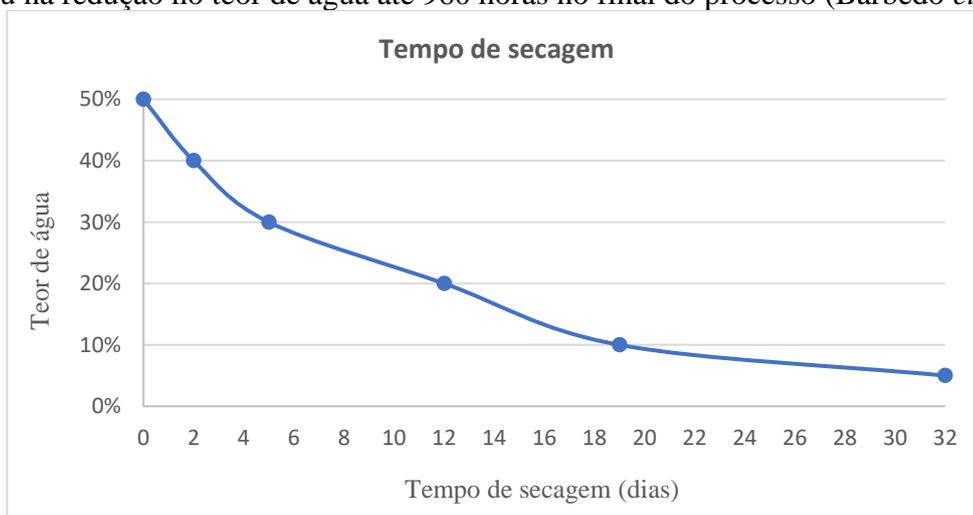


Figura 19. Tempo de secagem das sementes de *Eugenia villanovae* para atingir teores de secagem estipulados.

Analisando a perda de água lenta e o local de ocorrência da *Eugenia villanovae* em floresta estacional semidecidual, que possui características de dupla estacionalidade climática, com períodos de intensas chuvas, seguidos por períodos de estiagem (IBGE, 1992), as plantas precisam lidar com a escassez de água, o que pode favorecer a evolução de sementes que são resistentes à perda de água.

Portanto, sementes de plantas que habitam floresta estacional semidecidual podem ter adaptações que permitem que elas mantenham o teor de água da semente por mais tempo, com estratégias evolutivas que impedem a perda de água.

As áreas de restinga em que a *Eugenia villaenovae* é encontrada no Rio de Janeiro apresenta variações na paisagem litorânea que vão desde a parte sul recortada e escarpada entre Paraty e Mangaratiba, onde as restingas são pouco expressivas, com alto índice pluviométrico, até a ampla planície de areia do delta do Rio Paraíba do Sul. Essa planície se estende de Macaé até os municípios de São Francisco do Itabapoana, onde as restingas e várias lagoas costeiras predominam na paisagem. A abundância da flora nessa área costeira de restinga nos estados do Rio de Janeiro e Espírito Santo é reflexo da diversidade de habitats criados pela diversidade climática e geomorfológica (Restinga, s.d.).

Por outro lado, a Floresta Ombrófila Densa (local onde também ocorre *E. villaenovae*) é um ambiente bastante úmido, onde a competição por luz e nutrientes é intensa. Nesse ambiente, as sementes podem não ter tanta necessidade de serem resistentes à perda de água, mas sim de germinar rapidamente quando as condições são favoráveis.

Dessa forma, as sementes das plantas que vivem em floresta estacional semidecidual e florestas ombrófilas densas têm adaptações específicas para lidar com as condições ecológicas do ambiente em que habitam, incluindo estratégias reprodutivas que permitem a disseminação e sobrevivência da espécie, como a perda mais lenta de água por exemplo. Essas adaptações são importantes para garantir a diversidade e a sobrevivência das plantas em diferentes ecossistemas.

Além disso, a perda mais lenta de água e a tolerância à determinados níveis de secagem pode indicar um grande potencial para utilização da espécie em projetos de semeadura direta, pois pode sobreviver e crescer em condições com baixa disponibilidade de água.

4.5. Experimento de ortodoxia

As sementes de *Eugenia villanovae* submetidas a secagem a teor de água de 5%, e aquelas armazenadas no freezer a -18 °C e na geladeira a 5 °C após 3 meses, não germinaram (tabela 5).

Tabela 5. Valores de germinação em porcentagem de sementes de *Eugenia villanovae* armazenados em diferentes condições.

Tratamentos	Germinação
Testemunha	100 ± 0
Temperatura ambiente	59,7
Armazenamento -18 °C	0
Armazenamento 5 °C	0
Secagem 5%	0

Após serem retiradas do armazenamento no freezer e da geladeira as sementes foram colocadas em teste de germinação conforme descrito pelo item 3.2.2 e após o acompanhamento semanal durante 3 meses, apenas uma semente germinou no tratamento a 5 °C.

Para as sementes armazenadas em temperatura ambiente, a taxa de germinação foi de 59,72% (Figura 20), tendo perdido 40% de germinação, considerando que a germinação da testemunha foi 100%.



Figura 20. Sementes e plantulas germinadas após armazenamento natural

Tendo em vista que a germinação foi nula quando armazenada a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, e considerando a sensibilidade à secagem descrita no item anterior, podemos concluir que as sementes de *Eugenia villaenovae* são recalcitrantes.

Outras espécies de *Eugenia* já estudadas apresentam êxito no armazenamento em baixas temperaturas, como o caso da *Eugenia involucrata* que teve sua viabilidade prolongada em até 120 dias após o armazenamento em $8\text{ }^{\circ}\text{C}$ na câmara fria (Barbedo *et al* 1998). Para a espécie *Eugenia brasiliensis* armazenadas a $7\text{ }^{\circ}\text{C}$ sua viabilidade foi preservada por até 180 dias (Kohama *et al.*, 2006). No caso da *Eugenia pyriformis* sua germinação em câmara fria manteve mais da metade da geminação inicial por até 60 dias de armazenamento a $12\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Santana 2007).

Calvi (2015) mostra em uma pesquisa com as sementes de *E. spittata* que a germinação reduziu abaixo de 37% em um período de 40 dias quando armazenada em baixa temperatura.

Dentro desses parâmetros na bibliografia, podemos considerar que as sementes de *Eugenia villaenovae* perde sua viabilidade em até 40% quando armazenadas por 90 dias em temperatura ambiente, e perdem completamente a viabilidade quando armazenadas a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$.

4.6. Experimento de totipotência

A taxa de germinação variou de 187% a 313% nos diferentes tratamentos de totipotência. As sementes com corte transversal e longitudinal obtiveram a maior taxa de germinação (313%), seguido do tratamento com corte longitudinal (187%) e do corte transversal que obteve a menor taxa de germinação (180%). O IVG diferiu entre os tratamentos, sendo maior para as sementes com corte longitudinal e menor para as sementes com corte transversal e longitudinal (Figura 21).

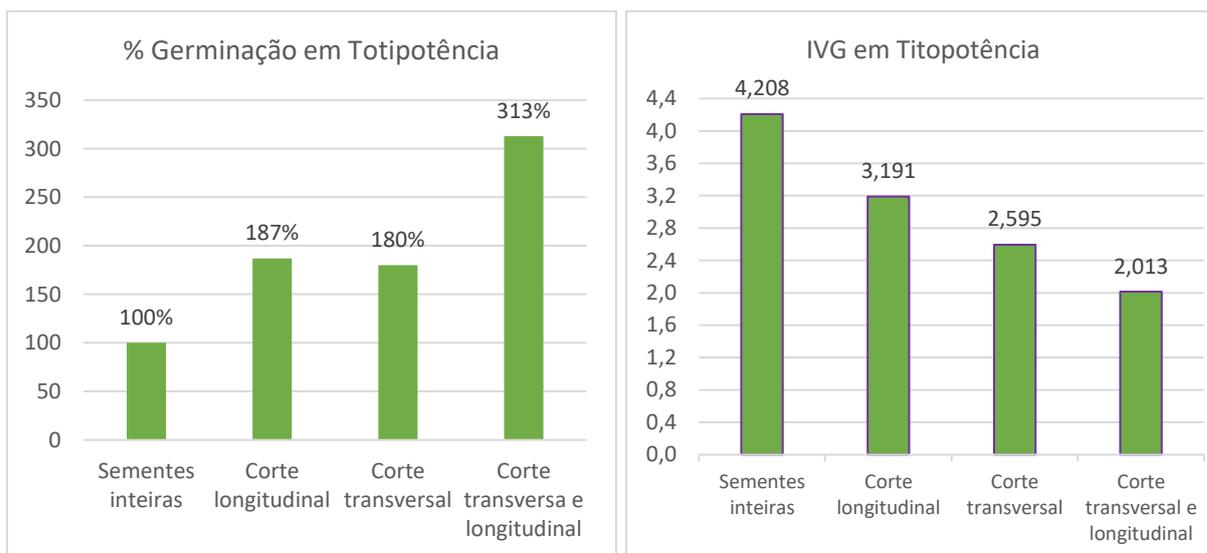


Figura 21. Taxa de germinação nos diferentes tratamentos de totipotência e Valores de IVG para os diferentes tratamentos em totipotência

Através do teste de normalidade (ANOVA) verificou-se a normalidade dos dados. O teste Dunnet para os valores de velocidade de germinação no teste de totipotência mostram que houve diferença significativa entre os diferentes testes de fracionamento da semente ($F= 57,21$; $p < 0,01$).

Tabela 6. Resultado do teste Dunnet para análise do IVG para totipotência.

	Estimate	Std.Error	Lower Bound	Upper Bound	
long-inteira	-1.06	0.174	-1.53	-0.596	****
tr+lon-inteira	-2.24	0.174	-2.70	-1.770	****
trnsv-inteira	-1.66	0.174	-2.12	-1.190	****

Alguns estudos reunidos por Delgado (2010) mostram que resultados obtidos a partir do fracionamento em corte transversal de *Eugenia stipitata* apresentam um bom potencial regenerativo. Das metades que permaneceram com o eixo hipocótilo-radícula, obteve-se uma taxa de germinação de 89%, enquanto as metades opostas apresentaram uma taxa de germinação de 41,20%, totalizando uma taxa de germinação de 109% (Anjos & Ferraz 1999). Estudos similares foram realizados com sementes de *E. pyriformis* (Silva *et al.* 2003), que apresentaram uma taxa de germinação de até 184%, e são mais prejudicadas quando sofrem lesões perpendiculares ao seu maior eixo.

Silva *et al.* (2005) analisaram a germinação das sementes submetidas ao fracionamento de três espécies de *Eugenia*: *E. involucrata* DC., *E. uniflora* L. e *E. brasiliensis* Lam. As três espécies mantiveram uma alta capacidade de iniciar o processo germinativo e produzir plântulas normais, desde que pelo menos metade do hilo estivesse presente no fracionamento. As taxas de germinação superaram os 100%, variando de 114% a 166%.

Anjos (1998) encontrou resultados que demonstram que o tecido embrionário apresenta alto poder regenerativo para *Eugenia stipitata*. Comprovando o desenvolvimento de plântulas em 21% das sementes que foram cortadas ao meio e em 77% das sementes que foram cortadas no meristema.

Essa capacidade regenerativa observada em outras espécies de *Eugenia* também foi observada para a *E. villaenovae* nesse estudo, indicando que a espécie é resistente a danos mecânicos em suas sementes e ainda apresentar altas taxas de germinação (Figura 22)

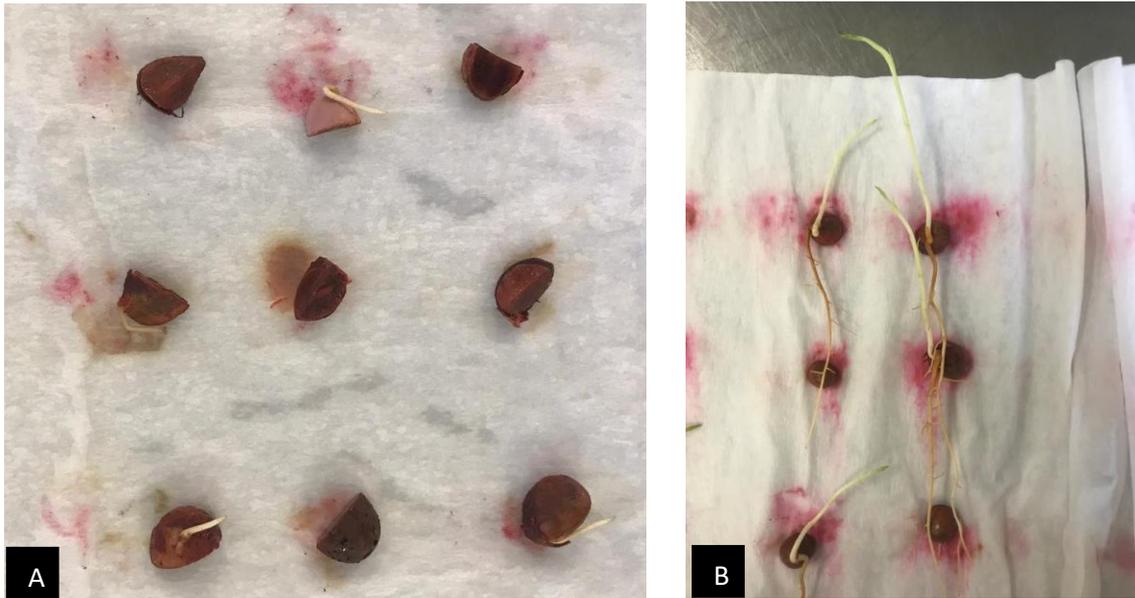


Figura 22: A - Germinação de sementes de *Eugenia villaenovae* cortadas transversalmente B- Germinação das sementes inteiras.

Ao propagar sementes fracionadas que regeneram novas plantas, é possível introduzir novas plantas na população e, assim, aumentar a produção de mudas e indivíduos da espécie. Além disso, a propagação de sementes fracionadas também pode aumentar o número de plantas disponíveis para reprodução, o que pode ser especialmente importante quando a população da espécie é baixa.

É importante ressaltar que a regeneração bem-sucedida de novas plantas a partir de sementes fracionadas não é garantida e depende de vários fatores, como as condições de crescimento e o ambiente (ainda não estudadas). No entanto, quando bem-sucedida, a regeneração de novas plantas a partir de sementes fracionadas pode ter um impacto positivo significativo na preservação de espécies ameaçadas de extinção, como o caso da *Eugenia villaenovae*.

5. CONCLUSÃO

Com base nos resultados encontrados podemos concluir que:

- O ponto ótimo de maturação dos frutos para coleta de sementes da espécie *Eugenia villaenovae* é quando os mesmos atingem a coloração vermelha.
- A semente apresenta comportamento recalcitrante, perdendo sua viabilidade em secagens abaixo de 40% (teor de água crítico) e não tolerando a secagem abaixo de 17% (teor de água letal).
- A *Eugenia villaenovae* apresenta ótimo potencial de regeneração das sementes após fracionadas (totipotência) e apresentou maior taxa de germinação com o corte transversal e longitudinal (313%).

6. REPEFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMORIM, I. P.; SILVA, J. P. N.; BARBEDO, C. J.. **As sementes de *Eugenia* spp. (Myrtaceae) e seus novos conceitos sobre propagação.** Hoehnea, v. 47, n. Hoehnea, 2020 47, 2020.
- ANJOS, A.M.G. **Morfologia e fisiologia da germinação de sementes de araçá-boi *Eugenia stipitata* ssp. *sororia* McVauger (Myrtaceae), uma frutífera nativa da Amazônia Ocidental.** 1998. Dissertação (Mestrado em Biologia Tropical e Recursos Naturais) Universidade do Amazonas, Manaus, 1998.
- ANJOS, A.M.G.; FERRAZ, I.D.K. **Morfologia, germinação e teor de água das sementes de araçá-boi (*Eugenia stipitata* ssp. *sororia*).** Acta Amazonica, Manaus, v.29, n.3, p.337. 1999.
- AVILA, A. L.; ARGENTA, M. S.; MUNIZ, M. F. B.; POLETO, I.; BLUME, E. **Maturação fisiológica e coleta de sementes de *Eugenia uniflora* L. (Pitanga),** Santa Maria, RS. Ciência Florestal, v.19, n.1, p.61-68, 2009.
- ATLAS DOS REMANESCENTES FLORESTAIS DA MATA ATLÂNTICA. Fundação SOS Mata Atlântica Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais. Relatório Técnico. São Paulo, 2015.<<http://www.inea.rj.gov.br/cs/groups/public/documents/document/zwew/mte0/~edi sp/inea0114389.pdf>> acesso em 15 janeiro 2023.
- BARBEDO, C. J.; Kohama, S.; MALUF, A.M.; BILIA, D.A.C. **Germinação e armazenamento de diásporos de cerejeira (*Eugenia involucrata* DC - Myrtaceae) em função do teor de água.** Revista Brasileira de Sementes, v.20, n.1, p.184-188, 1998.
- BERJAK,P.; PAMMENTER, N. W. **What ultrastructure has told us about recalcitrant seeds.** Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal, Londrina, v. 12, p. 22-55, 2000. Edição Especial.
- Brasil. 2009. **Regras para análise de sementes.** Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasília.
- BRUNE, Arno. **Estratégia da multiplicação vegetativa no melhoramento florestal.** Revista Árvore, v.6, n.2, p. 162-165, Viçosa, 1982.
- BFG. **Brazilian Flora 2020: Innovation and collaboration to meet Target 1 of the Global Strategy for Plant Conservation (GSPC).** Rodriguésia, v.69, n.4, p.1513-1527. 2018. (<https://doi.org/10.1590/2175-7860201869402>).
- BFG. **Brazilian Flora 2020: Leveraging the power of a collaborative scientific network.** Taxon. 2021. (<https://doi.org/10.1002/tax.12640>).
- BORGES, K. C. DE F. et al.. **Coloração do Fruto e Substrato na Emergência e no Crescimento de Plantas de *Eugenia calycina* Cambess.** Floresta e Ambiente, v. 23, n. Floresta Ambient., 2016 23(4), out. 2016.
- BLOG. **Grumixama Açú (*Eugenia villaenovae*).** Disponível em: <https://ciprest.blogspot.com/2020/01/grumixama-acu-eugenia-villaenovae.html>. Acesso em: 13 de janeiro de 2022.
- CALVI, G.P.; AUD, F.F.; FERRAZ, I.D.K.; PRITCHARD, H.W; Kranner, I. 2015.Capítulo 1. **Totipotent germination and stress biology of recalcitrant seeds of *Eugenia stipitata* McVaugh: a model species for desiccation sensitivity studies.** Plant Biology.
- CNCFlora. *Eugenia villaenovae* in Lista Vermelha da flora brasileira versão 2012.2 Centro Nacional de Conservação da Flora. Disponível em <<http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt>

br/profile/Eugenia_villaenovae>. Acesso em 20 dezembro 2022.

CORNER, E.J.H. **The seeds of dicotyledons**. Cambridge: Cambridge University Press, 1976. 311p.

COMIN, A; PEREIRA, Lílian D.; MACIEL, Caciara G.; CHIES, Juliane; MUNIZ, Marlove F. B. **Secagem e armazenamento de sementes de Eugenia uniflora L.** Revista Brasileira de Ciências Agrárias, vol. 9, núm. 1, 2014. Universidade Federal Rural de Pernambuco Pernambuco, Brasil.

COSTA, C. J. **Armazenamento e conservação de sementes de espécie do Cerrado**. 2009. Planatina DF. Embrapa Cerrados. 2009.

DELGADO, L. F. ; BARBEDO, C.J. . **Regeneração de raízes e plântulas de sementes de Eugenia spp. (Myrtaceae) de diferentes estádios de maturação**. HOEHNEA , v. 47, p. e042020, 2020

DELGADO L.F. 2010. **Fracionamento, maturação e origem da capacidade regenerativa de sementes de algumas espécies brasileiras de Eugenia (Myrtaceae)**. PhD thesis, Botanic Institute, São Paulo, Brazil, 2010.

DELGADO, L. F. **Tolerância à dessecação em sementes de espécies brasileiras de Eugenia**. São Paulo: Instituto de Botânica; Secretaria do Meio Ambiente, 2006. Dissertação Mestrado

DELGADO, L.F.; BARBEDO, C.J. **Tolerância à dessecação de sementes de Eugenia** Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.42, n.2, p.265-272, 2007.

GAIAD, S.; CARVALHO, P. E. R. EMBRAPA. Myrtaceae. Embrapa Agência de Informação Tecnológica, 2019. Disponível em: [https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/tematicas/especies-arboreas-](https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/tematicas/especies-arboreas-brasileiras/myrtaceae)

brasileiras/myrtaceae. Acesso em: 27 jan. 2023.

EMBRAPA. Myrtaceae. Embrapa Agência de Informação Tecnológica, 2019. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/tematicas/especies-arboreas-brasileiras/myrtaceae>. Acesso em: 27 jan. 2023

E-JARDIM. Disponível em: https://www.e-jardim.com/produto_completo.asp?IDProduto=599. Acesso em: 12 de janeiro de 2022.

FIGLIOLIA, M.B. Colheita de sementes. In: SILVA, A.; PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; FIGLIOLIA, M.B. **Manual técnico de sementes florestais** São Paulo: Instituto Florestal, 1995.

FLORES C.W.B. & CLEMENT, C.R. 1984. **Considerações sobre o araçá-boi (Eugenia stipitata McVaugh, Myrtaceae) na Amazônia brasileira**. Anais do 7º Congresso Brasileiro de Fruticultura. Soe. Bras. Frutic., Florianópolis. p. 167

GENTIL, D.F.O.; FERREIRA, S.A.N. 1999. **Viabilidade e superação da dormência em sementes de araçá-boi (Eugenia stipitata spp. sororia)**. Acta Amazônica

GUARDIA, M.C., ASPERTI, L.M., FIDALGO, A.O. & GARCIA, V.A. 2018. **Produção e obtenção de sementes**. In: C.J. Barbedo & N.A. Santos Junior (orgs.). **Sementes do Brasil: produção e tecnologia para espécies da flora brasileira**. São Paulo: Instituto de Botânica.

Gressler, E., Pizo, M.A. & Morellato, L.P.C. 2006. **Polinização e dispersão de sementes em Myrtaceae do Brasil**. Revista Brasileira de Botânica 29(4): 509–530.

- HONG, T.D.; ELLIS, R. H. **A protocol to determine seed storage behaviour**. Rome: International Plant Genetic Resources Institute, 1996. 55p
- IBGE (1992). Manual técnico da vegetação brasileira. 1a. ed. Rio de Janeiro: IBGE. 92 p. (Manuais técnicos em geociências, n. 1). Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/index.php/biblioteca/catalogo?view=detalhes&id=223267>
- INOCENTE, M.C. & BARBEDO, C.J. 2019. **Germination of *Eugenia brasiliensis*, *E. involucrata*, *E. pyriformis*, and *E. uniflora* (Myrtaceae) under water-deficit conditions**. Journal of Seed Science 41: 76-85
- KOHOMA, S.; MALUF, A. M.; BILIA, D. C.; BARBEDO, C. J. **Secagem e armazenamento de sementes de *Eugenia brasiliensis* Lam. (grumixameira)**. Revista Brasileira de Sementes, 2006.
- MALUF, A.M.; BILIA, D.A.C.; BARBEDO, C.J. 2003. **Drying and storage of *Eugenia involucrata* DC. seeds**. Scientia Agricola. 2003.
- MAZINE, F. F. Estudos taxonômicos em *Eugenia L. (Myrtaceae)*, com ênfase em *Eugenia sect. Racemosae O. Berg*. 2006. Teste de doutorado. USP. São Paulo.
- MAZINE, F.F.; BÜNGER, M.; FARIA, J.E.Q.; FERNANDES, T.; GIARETTA, A.; VALDEMARIN, K.S.; SANTANA, K.C.; SOUZA, M.A.D.; SOUZA, M. ***Eugenia* in Flora e Funga do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB10338>>. Acesso em: 27 fev. 2023
- MENDES, A.M.S.; MENDONÇA, M.S. 2012. **Tratamentos pré-germinativos em sementes de araçá-boi (*Eugenia stipitata*)**. Revista Brasileira de Fruticultura, 2012.
- MEDEIROS, A. C. de S.; EIRA, M. T. S. **Comportamento fisiológico, secagem e armazenamento de sementes florestais nativa**. Paraná: Circular Técnica, 2006.
- ORO, P.; SCHULZ G.D.; VOLKWEIS R, C; BANDEIRA, B. K.; MALAVASI, C.U.; MALAVASI, M.M. 2012. **Maturação fisiológica de sementes de *Eugenia pyriformis* Cambess e *Eugenia involucrata* DC**. Paraná. Brasil. <doi: 10.5007/2175-7925.2012v25n3p11>
- RANAL M.A.; SANTANA, D.G. 2006. **How and why to measure the germination process?** Revista Brasileira de Botânica.
- Revista Cultivar. Artigo: a cultura de tecidos e o melhoramento genético vegetal. Revista Cultivar, 22 jul. 2015. Disponível em: <https://revistacultivar.com.br/noticias/artigo-a-cultura-de-tecidos-e-o-melhoramento-genetico-vegetal>. Acesso em: 27 dez. 2022.
- Reflora - Herbário Virtual**. Disponível em: <http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/herbarioVirtual/ConsultaPublicoHVUC/ConsultaPublicoHVUC.do?idTestemunho=3467548> Acesso em 20/02/2023
- Restinga.net. Araújo, D.S.D.; Sá, C.F.C.; Fonseca-Kruel, V.S & Andrade, A.C.S (Orgs.). Disponível em <<https://www.restinga.net/>> . Acesso em: 08/03/2023
- ROBERTS, E.H. **Predicting the storage life of seeds**. Seed Science and Technology, Zurich, v.1, p.499-514, 1973.
- SANTANA, P.J.A. 2007. **Maturação, secagem e armazenamento de sementes de espécies de *Eugenia* (Myrtaceae)** Dissertação de Mestrado, Instituto de Botânica, São Paulo. 80p.
- SANTOS, G. I; CAMPELO, H. P., SANTOS, S. L. 2021. **Avaliação da germinação de sementes de Cagaita (*Eugenia dysenterica* DC) nativa do cerrado**. v. 1 n. 2 (2021): Singular. Meio Ambiente e Agrárias

- SILVA, M. N. da. **População de plantas e adubação de nitrogenada em algodoeiro herbáceo irrigado**. 2001. 52 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.
- SILVA, C.V., BILIA, D.A., MALUF, A.M. & BARBEDO, C.J. 2003. **Fracionamento e germinação de sementes de uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess.-Myrtaceae)**. Brazilian Journal of Botany.
- SILVA, C.V.; BILIA, D.A.C.; BARBEDO, C.J. 2005. **Fracionamento e germinação de sementes de Eugenia**. Revista Brasileira de Sementes.
- SILVA, A.P.G., FREITAS, T.P., MORAIS, V.S.P. & JACOMINO, A.P. 2018. Uvaia - *Eugenia pyriformis* Cambess. In: Rodrigues, S., Silva, E. & Brito E. (orgs.) Exotic Fruits Reference Guide. Washington, Academic Press.
- SCALON, S.D.P.Q.; NEVES, E.M.D.S.; MASETO, T.E.; PEREIRA, Z.V. 2012. **Sensibilidade à Dessecação e ao armazenamento em sementes de *Eugenia pyriformis* Cambess.(Uvaia)**. Revista Brasileira de Fruticultura.
- SCARIOT, A. et al. **Conservation status of the Atlantic Forest Myrtaceae: Lessons from the genus *Eugenia***. Rodriguésia. 2012.
- SILVA, C.V., BILIA, D.A.C., MALUF, A.M., BARBEDO, C.J. 2003. **Fracionamento e germinação de sementes de uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess. - Myrtaceae)**. Revista Brasileira de Botânica.
- SOUZA, S.M.; LIMA, P.C.F. **Maturação de sementes de angico (*Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan)**. Revista Brasileira de Sementes, Brasília, 1985.
- SOBRAL, M.; LUCAS, E.; LANDRUM, L.; SOARES-SILVA, L. Myrtaceae. In: STEHMANN, J. R.; FORZZA, R. C.; SALINO, A.; SOBRAL, M.; DA COSTA, D. P.; KAMINO, L. H. Y.; **Plantas da Floresta Atlântica. Rio de Janeiro - RJ: JARDIM BOTÂNICO DO RIO DE JANEIRO**, 2009.
- SOBRAL, M., Proença, C., Souza, M., Mazine, F., Lucas, E. 2015. Myrtaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro.
- SOBRINHO, F. A. P.; CHRISTO, A. G.; GUEDES-BRUNI, R. R. Fitossociologia do componente arbóreo num remanescente de floresta ombrófila densa submontana limítrofe à Reserva Biológica do Tinguá, Rio de Janeiro, Floresta, v.40, p.111-124, 2010.
- Viveiro CIPRest. Grumixama-Açu (*Eugenia villaenovae*). CIPRest, 12 jan. 2020. Disponível em: <https://ciprest.blogspot.com/2020/01/grumixama-acu-eugenia-villaenovae.html>. Acesso em: 27 janeiro. 2023.wa