

YASMIN TAVARES CAVALCANTI

Autocontrole de germinação em sementes de
Eugenia

Dissertação apresentada ao Instituto de Pesquisas Ambientais, da Secretaria de Meio Ambiente, Infraestrutura e Logística, como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de MESTRE em BIODIVERSIDADE VEGETAL E MEIO AMBIENTE, na Área de Concentração de Plantas Vasculares em Análises Ambientais.

SÃO PAULO

2025

Cavalcanti, Yasmin Tavares

Autocontrole de germinação em sementes de *Eugenia*

DISS.

IPA

2025

YASMIN TAVARES CAVALCANTI

Autocontrole de germinação em sementes de
Eugenia

Dissertação apresentada ao Instituto de Pesquisas Ambientais, da Secretaria de Meio Ambiente, Infraestrutura e Logística, como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de MESTRE em BIODIVERSIDADE VEGETAL E MEIO AMBIENTE, na Área de Concentração de Plantas Vasculares em Análises Ambientais.

SÃO PAULO

2025

YASMIN TAVARES CAVALCANTI

Autocontrole de germinação em sementes de
Eugenia

Dissertação apresentada ao Instituto de Pesquisas Ambientais, da Secretaria de Meio Ambiente, Infraestrutura e Logística, como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de MESTRE em BIODIVERSIDADE VEGETAL E MEIO AMBIENTE, na Área de Concentração de Plantas Vasculares em Análises Ambientais.

ORIENTADOR: DR. CLAUDIO JOSÉ BARBRDO

Ficha Catalográfica elaborada pelo **Serviço de Biblioteca, Mapotecas, Museus, Acervos Arquivísticos e Iconográficos do Instituto de Pesquisas Ambientais**

C376a

CAVALCANTI, Yasmin Tavares
Autocontrole de germinação em sementes de *Eugenia*
São Paulo, 2025.
61p.

Orientador : Claudio José Barbedo
Dissertação (Mestrado) -- Instituto de Pesquisas Ambientais da Secretaria de Meio Ambiente, Infraestrutura e Logística, 2025.

1. *Eugenia* 2. Regeneração de sementes. 3. Ácido gálico I. Autor. II. Título

CDU: 631.53.01

BANCA EXAMINADORA

Dr. Claudio José Barbedo (Orientador)

Dr. Danilo da Cruz Centeno

Dra. Carolina Coelho

Dedico

A Deus a quem sempre me amou, cuidou e guiou,

Meu salvador, fortaleza, refúgio e inspiração.

“Vocês foram regenerados, não de semente perecível, mas imperecível, por meio da palavra de Deus, viva e permanece.”

1Pedro1:23 - Bíblia NVI.

AGRADECIMENTOS

Primeiro a Deus, por sempre guiar meus passos, me inspirar e fortalecer por toda minha vida.

Aos meus pais e amigos, Samantha Carolina e Lucas Rafael que apoiaram e ajudaram durante todo o mestrado.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente pela realização do presente estudo.

Ao CAPES pela concessão da bolsa.

Ao meu orientador Dr. Claudio José Barbedo que me ensinou e guiou durante todo o mestrado com muita paciência e paixão ao ensinar.

Aos pesquisadores Dra. Luce Torres (in memorian), Dra. Catarina Nievola, Dra. Marina Crestana Guardia, Dra. Marcia, Dra. Lilian, Dr. Claudio, Dr. Nelson Augusto dos Santos Junior e Dr. João Parisi por todos os ensinamentos e contribuições científicas.

Aos membros titulares e suplentes da banca, Dra. Carolina Coelho, Dr. Claudio, Dr. Danilo da Cruz Centeno, Dra. Marina, Dr. Nelson, Dr. Eduardo Pereira Cabral Gomes (in memorian) e Dr. Clóvis José Fernandes de Oliveira Júnior por aceitarem o convite, podendo contribuir para a melhoria do meu trabalho.

Aos colegas de trabalho Camila Rivero Alonso, Janaina, Wesley Dias, Alan, Kaue Fonseca e Matheus Casarini por toda a ajuda e apoio.

Aos demais que me auxiliaram de forma direta e indireta para a realização desse trabalho.

RESUMO

Sementes de espécies de *Eugenia* L. (Myrtaceae) são recalcitrantes e apresentam capacidade de regeneração da germinação quando o eixo embrionário é perdido. Contudo, o início da germinação aparentemente resulta na produção de inibidores uma vez que não se verificam germinações simultâneas, indicando processos de autocontrole da germinação nessas sementes. Estudos recentes demonstraram significativa relação entre o início da germinação e o aumento da produção de ácido gálico, um ácido fenólico com diversas ações biológicas, dentre as quais a inibição da germinação de sementes e esporos. É possível, portanto, que este composto esteja envolvido no autocontrole da germinação em sementes de espécies de *Eugenia*. Este trabalho teve como objetivos: 1) verificar, pela aplicação direta de ácido gálico nas sementes de *Eugenia brasiliensis* Lam., por pré-embebição ou por Umedecimento do substrato de germinação, a ação do ácido gálico como inibidor da germinação. Para tanto, soluções aquosas de ácido gálico em quatro concentrações (5g/L, 10g/L, 20g/L e 40g/L) foram aplicadas diretamente no substrato (vermiculita) ou utilizadas para pré-embebição das sementes. Em ambos os casos, foram utilizadas sementes inteiras e sementes fracionadas ao meio; 2) verificar a extensão temporal do autocontrole da germinação, desde a germinação até diferentes fases de desenvolvimento da plântula. Quando as plântulas, crescidas em ambiente com luz contínua ou no escuro contínuo, atingiram diferentes comprimentos de parte aérea (≤ 5 cm, 6 ± 1 cm, 8 ± 1 cm, $12 \pm 1,5$ cm e $\geq 13,5$ cm), as raízes e partes aéreas foram removidas e a semente foi novamente semeada em substrato umedecido com água para nova germinação. Os resultados da aplicação de ácido gálico confirmaram seu efeito inibidor da germinação, principalmente nas concentrações de 20g/L e 40g/L. Já os de regeneração após desenvolvimento de plântulas demonstraram que a capacidade regenerativa das sementes se estende até que as plântulas atinjam até ao menos 11 cm para as cultivadas no escuro e 8 cm para as cultivadas no claro. Portanto, ficou demonstrado que as sementes de *Eugenia* apresentam potencial de se manterem no solo por longos períodos em condições de produzir novas plantas ainda que as condições do meio sejam desfavoráveis após as primeiras germinações destas sementes.

Palavras-chave: ácido gálico, esgotamento de reserva energética, longa perpetuação, regeneração, sementes de *Eugenia brasiliensis* Lam.

ABSTRACT

Seeds of *Eugenia* L. (Myrtaceae) species are recalcitrant and have the capacity to regenerate germination after the embryonic axis is lost. However, the onset of germination apparently results in the production of inhibitors since there are no simultaneous germinations, indicating processes of self-control of germination in these seeds. Recent studies have demonstrated a significant relationship between the onset of germination and the increase in the production of gallic acid, a phenolic acid with several biological actions, among which is the inhibition of seed and spore germination. It is possible, therefore, that this compound is involved in the self-control of germination in seeds of *Eugenia* species. This study aimed to: 1) to verify, by direct application of gallic acid to *Eugenia brasiliensis* Lam. seeds, by pre-soaking or by soaking the germination substrate, the action of gallic acid as a germination inhibitor. For this purpose, aqueous solutions of gallic acid in 4 concentrations (5 g/L, 10 g/L, 20 g/L and 40 g/L) were applied directly to the substrate (vermiculite) or used for pre-soaking the seeds. In both cases, whole seeds and seeds split in half were used; 2) to verify the temporal extension of germination self-control, from germination to different stages of seedling development. When the seedlings, grown in an environment with continuous light or in continuous darkness, reached different shoot lengths (≤ 5 cm, $6,0 \pm 1,0$ cm, $8,0 \pm 1,0$ cm, $12,0 \pm 1,5$ cm and $\geq 13,5$ cm), the roots and shoots were removed and the seed was sown again in a substrate moistened with water for new germination. The results of the application of gallic acid confirmed its inhibitory effect on germination, mainly at concentrations of 20 g/L and 40 g/L. The results of regeneration after seedling development demonstrated that the regenerative capacity of the seeds extends until the seedlings reach at least 11 cm for those grown in the dark and 8 cm for those grown in the light. Therefore, it was demonstrated that *Eugenia* seeds have the potential to remain in the soil for long periods in conditions to produce new plants even if the environmental conditions are unfavorable after the first germinations of these seeds.

Key words: gallic acid, depletion of energy reserves, long perpetuation, regeneration, *Eugenia brasiliensis* Lam. seeds.

LISTA DE ABREVIATURAS

1. T: Tratamento
2. T1,T2,T3,T4 e T5: Tratamentos da sementeira em luz contínua
3. T1',T2',T3' T4': Tratamentos da sementeira no escuro contínuo

LISTA DE FIGURAS

Introdução

Figura 1: Sementes de *E. brasiliensis* após a extração dos frutos..... 17

Capítulo I

Figura 1: Figura 1. Distribuição temporal da germinação (em azul) e produção de plântulas (em laranja) de sementes inteiras (A, C, E, G e I) ou fracionadas (B, D, F, H e J) de *Eugenia brasiliensis* Lam., após a aplicação diretamente no substrato das soluções de ácido gálico em diferentes concentrações (A e B: água; C e D: 5 g . L⁻¹; E e F: 10 g . L⁻¹; G e H: 20 g . L⁻¹; I e J: 20 g . L⁻¹).35

Figura 2: Distribuição temporal da germinação (em azul) e produção de plântulas (em laranja) de sementes inteiras (A, C, E, G e I) ou fracionadas (B, D, F, H e J) de *Eugenia brasiliensis* Lam., após a pré-embebição nas soluções de ácido gálico em diferentes concentrações (A e B: água; C e D: 5 g . L⁻¹; E e F: 10 g . L⁻¹; G e H: 20 g . L⁻¹; I e J: 20 g . L⁻¹)36

Figura 3: Plântulas obtidas no último dia de avaliação do teste de germinação de sementes inteiras ou fracionadas de *E. brasiliensis*, colocadas em substrato umedecido com soluções ácido gálico em diferentes concentrações (água, 5 g . L⁻¹, 10 g . L⁻¹, 20 g . L⁻¹ e 40 g . L⁻¹) ou após pré-embebição nessas soluções.....37

Capítulo II

Figura 1: Experimento com luz constante, caixa de 130 L com 500 sementes 51

Figura 2: T3 com as sementes no gerbox para processo de regeneração.....51

Figura 3: Experimento no escuro, caixa de 130 L com 500 sementes52

Figura 4: Exemplares das plântulas que obtiveram de 8 ± 1 cm do experimento no escuro antes das sementes serem colocadas para regenerarem.....52

Figura 5: Partes aérea que regeneraram lateralmente das que foram infectadas por fungos. Mesma plântula (A/a e B/b, sendo b uma plântula ampliada na lupa)52

Figura 6: Plântulas com parte aérea regenerada (A), sementes cortadas ao meio (B)53

Figura 7: Comparação de desenvolvimento, em aproximadamente 3 meses, das sementes: luz contínua (A) e no escuro contínuo (B).....53

Figura 8: Sementes do T5 antes de semeada para regenerar, a seta azul indica como as sementes estavam murchas, com pouca reserva energética53

Figura 9: Comparação geral da regeneração dos experimentos semeados na luz contínua (A e B) e no escuro (C e D).....54

LISTA DE TABELAS

Capítulo I

Tabela 1: Sementes com raiz, plântula e incidência fúngica (%), de *Eugenia brasiliensis* Lam., inteiras e fracionadas, após a aplicação diretamente no substrato da solução de ácido gálico em diferentes concentrações. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si (Tukey, 5%)33

Tabela 2: Sementes com raiz, plântula e incidência fúngica (%), de *Eugenia brasiliensis* Lam., inteiras e fracionadas, após pré-embrição em solução de ácido gálico em diferentes concentrações. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si (Tukey, 5%).....34

Capítulo II

Tabela 1: Regeneração de raízes e plântulas (%) em sementes de *Eugenia brasiliensis* Lam. após remoção de plântulas com diferentes comprimentos, oriundas das sementes germinadas na presença ou ausência de luz51

SUMÁRIO

RESUMO.....	X
ABSTRACT.....	Xi
LISTA DE ABREVIATURA.....	Xii
LISTA DE FIGURA.....	xiii
LISTA DE TABELA.....	xiv
INTRODUÇÃO GERAL.....	17
Capítulo I – Inibição da germinação pelo ácido gálico em sementes de <i>Eugenia brasiliensis</i> Lam.	20
Abstract.....	21
Resumo.....	21
Introdução.....	22
Material e métodos.....	23
Resultados e discussão.....	25
Conclusão.....	29
Agradecimentos.....	29
Referências.....	30
Capítulo II - Esgotamento de reserva energética e capacidade de regeneração <i>Eugenia brasiliensis</i> Lam.	38
Abstract.....	39
Resumo.....	40
Introdução.....	41
Material e métodos.....	42
Resultados e discussão.....	44
Conclusão.....	47
Agradecimentos.....	48
Referências.....	49

Considerações Finais.....	55
Referências bibliográficas da Introdução Geral e Considerações Finais.....	56
Anexos.....	59

Introdução Geral

O gênero *Eugenia* L., presente em regiões de Mata Atlântica, pertence à família Myrtaceae, a qual tem aproximadamente 1100 espécies (Wilson, 2011; Mazine et al., 2020; Fernandes et al., 2023). Dentre as Eugénias, algumas são nativas do Brasil, como a *Eugenia brasiliensis* Lam. (figura 1), a qual é uma espécie frutífera, nutritiva e de grande importância econômica (Silva et al. 2003).



Figura 1. Sementes de *E. brasiliensis* após a extração dos frutos.

As Eugénias têm grande potencial para recomposição ambiental, porque além de poderem fazer parte de programas de reflorestamento são grandes atrativos para a fauna (Maluf et al. 2003; Resolução SMA 32/2014) tendo em vista que seus frutos são saborosos. Sabendo disso o consumo *in natura* por meio de sucos, geleias e doces são recorrentes, além de serem muito utilizadas para fazer fármacos (Donadio, 1997; Silva et al., 2003).

Diferente de muitas espécies de Myrtaceae, as Eugénias são monoembriônicas, ou seja, são constituídas por apenas um embrião, com o eixo embrionário diferenciado, cuja estrutura só pode ser vista com o auxílio de um microscópio. Devido à sua reserva energética elevada e capacidade de regeneração a partir dos cotilédones, as sementes dessa espécie são capazes de produzir mais de uma plântula (Silva et al., 2003; Justo et al., 2007) por unidade, porém não é comum apresentar germinações simultâneas.

Espécies com sementes recalcitrantes, como as do gênero *Eugenia*, não costumam ter

sementes com longa durabilidade (Rizzini, 1970; Gentil & Ferreira, 1999), isso porque elas não toleram baixas temperaturas e desidratação intensa como as ortodoxas, as quais com baixo teor de água e temperatura podem ser armazenadas por longo período (Roberts, 1973).

Em sementes de *Eugenia stipitata* spp. *sororia*, por exemplo, verificou-se que quanto menor o teor de água dessas sementes, menor o período de viabilidade (Gentil & Ferreira, 1999). Em Eugénias das espécies *E. uniflora* L., *E. brasiliensis*, *E. involucrata* DC., *E. pyriformis* Camb., *E. umbelliflora* Berg. e *E. cerasiflora* Miq., quando submetidas a um teor de água inferior a 45% perdem a viabilidade (Delgado & Barbedo, 2007). Portanto, a manutenção das sementes recalcitrantes em bancos, no solo, não é viável como estratégia para propagação da espécie e colonização de áreas, como ocorre com as espécies com sementes ortodoxas (Barbedo et al., 2013). Contudo, diversos estudos têm demonstrado que as espécies com sementes recalcitrantes adotaram outras estratégias de propagação (Barbedo, 2018). Uma dessas estratégias é a capacidade das sementes em produzir novas plântulas a partir de células dos cotilédones quando o eixo embrionário é perdido (Silva et al., 2003; Silva et al., 2005).

Estudos com espécies de *Eugenia* mostraram que a eliminação de raízes e parte aérea que atingiram até 3 cm, tiveram a capacidade de regenerarem, sendo que foi possível repetir esse processo mais 8 vezes com a regeneração de raízes de *E. uniflora*, a qual desenvolveu plântulas normais, embora cada eliminação resultou em um tempo maior para que a regeneração ocorresse (Alonso, 2018, Alonso, 2023).

A regeneração dessa espécie também ocorre se cortar ao meio após uma primeira germinação nas duas frações, dando origem a uma plântula em cada lado, sem que haja germinações simultâneas, mas quando se faz apenas uma fissura nas sementes, sem completar o corte, e em apenas uma das frações ocorre a germinação. Há trabalhos com fracionamento de semente *Eugenia*, onde as metades foram totalmente separadas, e em

ambas as frações tiveram a capacidade de germinar (Amador & Barbedo, 2011; Amador, 2015).

Silva et al. (2003) realizaram cortes em *E. pyriformis* (uvaia) constataram a capacidade de regeneração nessa espécie; isso ocorre por causa da desdiferenciação de células perivasculares oriundas da região apical dos cotilédones, que estão em volta dos feixes vasculares, os quais apresentam células parenquimáticas e formam a bainha, próximo a esses feixes células adjacentes contem fenólicos (Delgado & Barbedo., 2011 e Delgado & Barbedo., 2022), que no momento de fracionamento ou germinação, possivelmente, libera ácido gálico para que somente ocorra uma plântula por vez.

Experimentos fitoquímicos com *E. brasiliensis*, *Eugenia beaurepaireana* (Kiaesrkou) Legrand e *E. umbeliflora* utilizaram extrato bruto para identificar suas atividades biológicas, bem como encontrar compostos isolados como: fenóis, taninos hidrolisáveis, taninos condensados, antocianinas e antocianidinas, chalconas e auronas, flavonas e flavonóis, xantonas, catequinas, esteroides livres, triterpenos livres, saponinas e outros (Magina, 2008).

Sabendo que os inibidores vão aumentando conforme a germinação vai acontecendo (Rizzini, 1970), o presente estudo terá como fundamento dar continuidade a pesquisas anteriores relacionadas a inibição de germinação, buscando compreender o autocontrole da germinação que as sementes de *Eugenia* apresentam e que pode ser decisivo para a propagação e perpetuação dessas espécies. Baseando-se na hipótese de que a semente tem um limite de reserva energética, é possível que, durante a germinação, há autocontrole no gasto dessa reserva, e que o progresso da germinação de sementes de espécies de *Eugenia* intensifica a produção de inibidores, impedindo que germinações simultâneas ocorram.

CAPÍTULO I

Inibição da germinação pelo ácido gálico em sementes de *Eugenia brasiliensis* Lam.

Yasmin Tavares Cavalcanti e Claudio José Barbedo

Inibição da germinação pelo ácido gálico em sementes de *Eugenia brasiliensis*

Lam.

Yasmin Tavares Cavalcanti¹; Claudio José Barbedo¹

ABSTRACT: Studies have shown that during germination the amount of gallic acid increases significantly. It is already known that this acid is among the phenolic compounds that inhibit germination and seedling development, and this also occurs with *Eugenia* L. seeds. Eugenias have the ability to regenerate when fractionated, but only one seedling develops in each fraction, indicating the possibility of the presence of a self-control process during germination, explaining the absence of simultaneous germinations. Thus, the study verified, through direct application and pre-soaking of gallic acid, that this inhibitor present in *Eugenia brasiliensis* Lam. seeds delayed germination and seedling development. Aqueous solutions of gallic acid were prepared in concentrations (5 g/L, 10 g/L, 20 g/L and 40 g/L), applied directly to the substrate (vermiculite) or used for pre-soaking the seeds. Whole seeds and seeds split in half were used for both cases, and the temporal extension of germination self-control was verified, from germination to different stages of seedling development. Inhibition was more evident at concentrations of 20 g/L and 40 g/L, especially in direct applications of gallic acid. Inhibition was lower in pre-soaking, approaching control. Finally, gallic acid solutions contributed to delayed germination and seedlings development, darkening, shortening and fragility of the roots, which were more frequent in direct applications.

Index terms: gallic acid, phenolic compounds, *Eugenia*, inhibitor, seeds

RESUMO: Estudos tem mostrado que durante a germinação a quantidade de ácido gálico tem um aumento significativo, já se sabe que esse ácido está entre os compostos fenólicos que inibem germinação e desenvolvimento de plântulas, e isso também ocorre com as sementes de *Eugenia* L. As Eugenias têm a capacidade de se regenerar ao serem fracionadas, mas apenas uma plântula se desenvolve em cada fração, indicando a possibilidade da presença de um processo de autocontrole durante a germinação, explicando a ausência de germinações simultâneas. Sendo assim o trabalho, verificou, por meio de aplicação direta e pré-embebição de ácido gálico que esse inibidor presente nas sementes de *Eugenia brasiliensis* Lam., atrasou a germinação e desenvolvimento de plântulas. Foram preparadas soluções aquosas de ácido gálico em concentrações (5g/L, 10g/L, 20g/L e 40g/L), aplicadas diretamente no substrato (vermiculita) ou utilizadas para pré-embebição das sementes. Foram utilizadas sementes inteiras e sementes fracionadas ao meio para os dois casos, bem como verificou a extensão temporal do autocontrole da germinação, desde a germinação até diferentes fases de desenvolvimento da plântula. A inibição fica mais evidente nas concentrações 20g/L e 40g/L, principalmente nas aplicações direta de ácido gálico, na pré-embebição a inibição foi menor, se aproximando com o controle. Por fim as soluções de ácido gálico contribuíram no atraso da germinação e desenvolvimento das plântulas, escurecimento, encurtamento e fragilidade das radículas, tais fatos foram mais recorrentes em aplicações direta.

Termos para indexação: ácido gálico, compostos fenólicos, *Eugenia*, inibidor, sementes.

INTRODUÇÃO

A capacidade de regeneração de sementes de espécies de *Eugenia* L. (Myrtaceae), quando fracionadas, é controlada por processos que permitem a formação de apenas uma nova plântula. É provável que o início da formação de raízes ou plântulas produza compostos que inibem a formação de novas plântulas (Amador e Barbedo, 2015), como o ácido gálico, que tem sua concentração aumentada expressivamente quando a semente inicia a germinação (Amorim et al., 2020, e referências contidas).

Estudos com sementes de diferentes espécies de *Eugenia* têm demonstrado que frações dessas sementes, removidas quando a germinação já havia se iniciado, podem desenvolver nova raiz e nova plântula. O mesmo ocorre quando a semente está íntegra, mas a germinação inicial foi perdida (Prataviera et al., 2015; Amador e Barbedo, 2015; Alonso et al., 2024). Esse desenvolvimento é originado de células do parênquima perivascular, localizadas próximas à região lesada dos cotilédones, que se dividem periclinalmente e proliferaram, dando origem a um meristema radicular (Delgado et al., 2022).

Por outro lado, cada fração produz somente uma nova plântula, sugerindo algum autocontrole da germinação para que as reservas não sejam gastas em sua totalidade em germinações simultâneas. Isso foi demonstrado quando se promoveram apenas fissuras nas sementes, sem completar o corte, e em apenas uma das frações ocorreu a germinação. Quando as metades foram totalmente separadas, ambas as frações germinaram (Amador e Barbedo, 2011; Amador e Barbedo, 2015). É provável, portanto, que o início da germinação e formação de uma nova plântula produza compostos que inibam uma segunda germinação, como o ácido gálico.

O ácido gálico é um fenol conhecido como poderoso antioxidante, e parece atuar primeiramente como inibidor da germinação e do sistema de transferência de energia dentro da célula (Amorim et al., 2020, e referências contidas). Compostos fenólicos pertencem ao

metabolismo secundário das plantas, tendo como função defesa contra herbivoria, ataques de patógenos e radiação ultravioleta (Manach et al., 2004). Podem ser encontrados em sementes, folhas, flores e frutos (Amador & Barbedo, 2015; Vatten et al., 2005) e têm ligação com o crescimento celular e vegetal (Ndakidemi e Dakora, 2003).

Em sementes de soja, com o avanço da germinação e formação de plântulas houve acúmulo de compostos fenólicos, dentre eles o ácido gálico (Ma et al., 2022). Estudos como o de Guo et al. (2012) mostraram que durante a germinação os flavonóides tendem a aumentar. Esses compostos também foram detectados em sementes de feijão e feijão-mungo (Ross et al., 2009; Pajak et al., 2014). Em sementes de pepino também se constatou inibição da germinação por compostos fenólicos (Ali et al., 2012).

Assim, visando compreender melhor a ação do ácido gálico sobre a germinação das sementes de *Eugenia*, esse estudo teve o objetivo de verificar os efeitos da aplicação de soluções de ácido gálico, diluídas em água em diferentes concentrações, e avaliar sua ação quanto a inibição na germinação e na capacidade de regeneração de raízes e plântulas em sementes de *Eugenia brasiliensis* Lam. (grumixameira). Dois experimentos foram conduzidos analisando-se o efeito da aplicação direta de soluções de ácido gálico no substrato de germinação e o efeito da pré-embebição das sementes nas mesmas soluções.

MATERIAL E MÉTODOS

Frutos maduros de *E. brasiliensis* foram colhidos manualmente de cinco árvores plantadas no Jardim Botânico de São Paulo (São Paulo, SP, 23°38'27,38''S e 46°37'34,57''W) e levados ao Laboratório de Sementes, do Núcleo de Conservação da Biodiversidade, em São Paulo. A extração de sementes dos frutos se deu de forma manual, seguindo-se lavagem delas em água corrente para remoção de resíduos da polpa. Por fim, foram colocadas sobre papel de germinação até que toda água superficial fosse absorvida ou evaporada (Amador e Barbedo, 2015).

Uma amostra de sementes foi separada para as avaliações iniciais. Teor de água (em %, base úmida) e a massa seca das sementes foram obtidos pelo método da estufa a 105 °C por 24 horas (Brasil, 2009), em 4 repetições de 5 sementes. O teste de germinação foi realizado utilizando-se 4 repetições de 16 sementes cada, por tratamento. Para tanto, as sementes foram semeadas em gerbox, preenchido até sua metade com vermiculita previamente umedecida com água ou com suspensões de ácido gálico, conforme descrito abaixo, que foram colocados em germinador tipo Mangelsdorf, dentro de sala de germinação com luz branca contínua e temperatura constante de 25 °C. As avaliações foram semanais durante 42 dias, registrando-se as sementes com protrusão de raiz primária de, no mínimo, 0,5 cm, as com presença de plântulas, como descrito em Inocente e Barbedo (2021), e as que apresentavam desenvolvimento de fungos, como descrito em Françaoso e Barbedo (2016).

As sementes foram separadas em dois grupos, sendo um com sementes integras e o outro com sementes fracionadas ao meio, no sentido longitudinal, conforme descrito em Alonso e Barbedo (2020). O cálculo da germinação para as sementes fracionadas ao meio foi realizado pela relação entre frações com presença de raiz e/ou plântula e total de sementes colocadas para germinar. Foram utilizadas 4 repetições de 16 sementes cada, por tratamento.

Preparo das soluções de ácido gálico

Soluções de ácido gálico foram preparadas pela diluição do pó (ácido 3,4,5-tri-hidroxibenzoico, Sigma-Aldrich) em água, em Erlenmeyers, nas concentrações de 5, 10, 20 e 40 g/L, com auxílio de Agitador Magnético com Aquecimento (TECNAL TE-085), até a obtenção de soluções homogêneas. As soluções foram analisadas quanto ao seu potencial de água por meio de potenciômetro WP4 (Decagon Devices, Inc., Pullman), baseando-se no ponto de orvalho do ar em equilíbrio higroscópico com a amostra de sementes (Delgado e Barbedo, 2012).

Germinação de sementes em substrato umedecido com ácido gálico

Imediatamente após o preparo das soluções de ácido gálico, estas foram utilizadas para umedecimento de vermiculita, em gerbox, até a saturação (130 ml de solução por gerbox). Em seguida, sementes inteiras e frações de sementes foram semeadas nesses substratos, incluindo-se o controle umedecido com água, e colocadas para germinar, como descrito anteriormente.

Germinação de sementes pré-embebidas com soluções de ácido gálico

Sementes inteiras e frações de sementes ficaram em suspensão por dois minutos em água (controle), e em soluções de ácido gálico de 5, 10, 20 e 40 g . L⁻¹, em um béquer de 50 mL, e imediatamente colocadas para germinar em vermiculita pré umedecida com 130 mL de água, em gerbox. O tempo pré-determinado de dois minutos baseou-se em avaliações prévias do tempo máximo no qual não havia ocorrida sedimentação do ácido gálico.

Delineamento experimental e tratamento estatístico

O delineamento experimental, para ambos os experimentos, foi inteiramente casualizado, com quatro repetições, em esquema fatorial 8 x 2 (solução de embebição x sementes inteiras ou fracionadas). Os dados foram submetidos a análise de variância (5%) e as médias comparadas entre si pelo teste de Tukey, a 5% (Santana e Ranal, 2004). Quando necessário para correção da normalidade, os dados foram transformados para $(x+0,5)^{0,5}$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A formação de raízes nas sementes inteiras de *E. brasiliensis*, quando o substrato foi umedecido com soluções de ácido gálico, foi reduzida a partir da concentração de 20 g . L⁻¹, na qual verificou-se germinação em cerca de um quarto dos valores obtidos para germinação em substrato umedecido com água (tabela 1). Na concentração de 40 g . L⁻¹, a germinação foi quase totalmente inibida. Em relação às sementes fracionadas, novamente se constatou a capacidade regenerativa de sementes de espécies de *Eugenia*, já demonstrada em diversos trabalhos anteriores (Delgado et al., 2022), pois a produção de raízes, no substrato umedecido

com água, ocorreu tanto nas metades que continham o eixo embrionário quanto em várias metades constituídas apenas por tecido cotiledonar, chegando a valores superiores a 140% (tabela 1). Quanto à formação de plântulas, os resultados foram similares aos anteriores, pois a partir da concentração de 20 g de ácido gálico por litro notou-se a redução dos valores, tanto para sementes íntegras quanto para fracionadas (tabela 1).

O fracionamento de sementes de *Eugenia* frequentemente resulta em elevada eficiência na produção de raízes nas frações que não contém o eixo embrionário, mas em eficiência proporcionalmente menor na formação de plântulas nestas frações (Delgado et al., 2022, e referências contidas), fato ainda não totalmente esclarecido. Contudo, a produção de raízes em partes de cotilédone que não contém eixo embrionário, evento raríssimo na natureza, tem origem na diferenciação de células do parênquima perivascular (Delgado et al., 2022). Considerando-se a capacidade demonstrada por essas células em diferenciar e produzir novas raízes, mas tal evento ocorrer somente quando não há formação de raízes na semente, ou em suas frações, há evidente autocontrole de germinação na própria semente (ou em suas frações) impedindo germinações simultâneas (Amador e Barbedo, 2015), fato observado também neste trabalho. Um dos potenciais dentre as substâncias envolvidas nessa autoinibição da formação de novas raízes, quando uma primeira inicia seu desenvolvimento, é o ácido gálico, pois este tem sua concentração aumentada nos tecidos embrionários quando a germinação se inicia (Amorim et al., 2020). Os resultados aqui obtidos corroboram essa ideia, uma vez que o fornecimento exógeno de ácido gálico efetivamente inibiu a formação de raízes. Deve-se salientar que os efeitos das concentrações de 20 e 40 g . L⁻¹ de ácido gálico sobre as sementes não foram meramente osmóticos, como se pode supor quando soluções são aplicadas ao substrato de germinação. Os potenciais de água dessas soluções (o menor deles sendo -0,52 MPa para 40 g de ácido gálico por litro) estão bem acima dos valores de disponibilidade hídrica que impedem a germinação das sementes dessa espécie (Inocente e Barbedo, 2019).

Quando as soluções de ácido gálico não são aplicadas diretamente no substrato de germinação, mas utilizadas para pré-embebição das sementes, os efeitos foram bem menos evidentes. Para sementes inteiras, não se verificaram efeitos desses tratamentos nem para a formação de raízes, nem para formação de plântulas (tabela 2). Contudo, para sementes fracionadas a inibição de formação de raízes e plântulas ficou evidente, novamente a partir de 20 g . L⁻¹ de ácido gálico. O fracionamento das sementes pode, portanto, ter favorecido a embebição das soluções de ácido gálico, decorrendo na sua inibição da formação de novas raízes e plântulas. De fato, sementes de *Eugenia*, de maneira geral, apesar de serem intolerantes à dessecação (Delgado e Barbedo, 2012), apresentam grande resistência a condições de excesso ou estresse hídricos (Inocente e Barbedo, 2021). A semente inteira, portanto, pode não ter oferecido condições para a entrada da solução de ácido gálico no curto tempo de 2 minutos, durante o período de suspensão da embebição, mas as fracionadas podem não ter promovido a mesma resistência a essa entrada.

É curioso notar que o ácido gálico demonstrou outro efeito sobre as sementes: o aumento do número de sementes com presença de fungos. Nas sementes fracionadas, tanto a aplicação das soluções de ácido gálico diretamente no substrato (tabela 1), quanto a pré-embebição das sementes (tabela 2), promoveram substancial aumento no número de sementes com fungos nas concentrações de 20 e 40 g . L⁻¹. É provável, portanto, que o fracionamento da semente tenha proporcionado exposição dos cotilédones à infecção e que as defesas destes tecidos tenham sido comprometidas pela presença do ácido gálico. Infelizmente a literatura não traz referências quanto à ação do ácido gálico sobre os sistemas de defesa de sementes. Curiosamente, porém, o ácido gálico tem sido reportado como eficiente composto antifúngico em plantas (El-Nagar et al., 2020). O ácido gálico possui, entre outras propriedades, um poderoso efeito antioxidante (Li et al., 2023) e, conforme descrito por Amorim et al. (2020), a concentração de espécies reativas de oxigênio (EROs) nas sementes pode definir efeitos

estimulantes ou inibidores da germinação, bem como sua reação ao ataque de microrganismos. Portanto, é possível que as concentrações de ácido gálico utilizadas no presente trabalho tenham sido elevadas a ponto de reduzir os sistemas de defesa das sementes e, dessa forma, permitido maior incidência de fungos.

Além das diferenças observadas nos resultados finais de germinação, após a aplicação ou embebição das sementes em soluções de ácido gálico, verificou-se também os efeitos dessas soluções na distribuição temporal dessa germinação (figuras 1 e 2). Por esses resultados, ficou evidente que os efeitos do ácido gálico já ocorreram na solução com concentração de $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$. Também foi possível observar os efeitos das soluções de ácido gálico no desenvolvimento das plântulas ao final do teste de germinação (figura 3), no qual também se observa os danos causados às plântulas já na concentração de $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$. Constatou-se que quanto maior a concentração de solução de ácido gálico, menores e mais escuras as raízes se apresentaram, mesmo assim as partes aéreas se desenvolveram.

Pelos resultados obtidos no presente trabalho, ficou evidenciado o grande potencial que o ácido gálico tem em inibir a germinação das sementes de *E. brasiliensis*. O aumento na concentração desse composto fenólico quando se inicia a germinação das sementes pode, portanto, ser o responsável para que as sementes não tenham germinações simultâneas. Isso pode significar um importante avanço evolutivo da espécie, uma vez que as sementes, ainda que sejam intolerantes à dessecação, podem produzir plântulas e colonizar os ambientes mesmo quando as primeiras germinações ocorrem em condições desfavoráveis para o desenvolvimento da plântula. As germinações sucessivas a partir das mesmas sementes, aumentando o tempo de permanência dessas sementes no solo em condições de produzir plântulas (Alonso e Barbedo, 2020), resultam em um sistema semelhante ao banco de sementes no solo, porém sem o recurso da tolerância à dessecação e/ou da dormência.

CONCLUSÃO

A aplicação de solução de ácido gálico, diretamente no substrato ou em pré-embebição da semente de *E. brasiliensis*, inibe ou atrasa a germinação e a formação de plântulas a partir da concentração de 10 g . L⁻¹, principalmente nas concentrações de 20 e 40 g . L⁻¹.

AGRADECIMENTOS

Ao Instituto de Pesquisas Ambientais, por fornecer local e materiais para que esse projeto pudesse acontecer; à Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de mestrado concedida a Y.T. Cavalcanti.

REFERÊNCIAS

- ALI, B.; MUZAFFAR, S.; WANI, N. A. 2012. Effect of catechol, gallic acid and pyrogallol on the germination, seedling growth and the level of endogenous phenolic in cucumber (*Cucumis sativus* L.). International Journal of Life Sciences Biotechnology and Pharma Research. Vol. 1, No. 3. <https://www.researchgate.net/publication/288895759>
- ALONSO, C.R.; BARBEDO, C.J. 2020. Germinações sucessivas em sementes de *Eugenia* spp. *Hoehnea*, v.47, e412019. <http://dx.doi.org/10.1590/2236-8906-41/2019>
- ALONSO, C.R.; RIBEIRO, M.I.; GUARDIA, M.C.; BARBEDO, C.J. 2024. Regeneration of roots and shoots as a propagation strategy in *Eugenia candolleana* DC. (Myrtaceae) seeds. *Journal of Seed Sciences*, v. 46, p. e202446003. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v46275827>
- AMADOR, T.S.; BARBEDO, C. J. 2011. Potencial de inibição da regeneração de raízes e plântulas em sementes germinantes de *Eugenia pyriformis*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 46: 814-821. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2011000800005>
- AMADOR, T.S.; BARBEDO, C.J. 2015. Germination inhibits the growth of new roots and seedlings in *Eugenia uniflora* and *Eugenia brasiliensis*. *Journal of Seed Science*, v.37, p.241-247. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v37n3150595>
- AMORIM, I.P.; SILVA, J.P.N.; BARBEDO, C.J. 2020. As sementes de *Eugenia* spp. (Myrtaceae) e seus novos conceitos sobre propagação. *Hoehnea*, v.47, e292020. <https://doi.org/10.1590/2236-8906-29/2020>
- BRASIL. 2009. *Regras para análise de sementes*. Brasília, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária, 2009. 399p. https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/arquivos-publicacoes-insumos/2946_regras_analise_sementes.pdf
- DELGADO, L.F.; BARBEDO, C.J. 2012. Water potential and viability of seeds of *Eugenia*

(Myrtaceae), a tropical tree species, based upon different levels of drying. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v.55, p.583-590. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132012000400014>

DELGADO, L.F.; TEIXEIRA, S.P.; CARMELLO-GUERREIRO, S.M.; BARBEDO, C.J. 2022. The origin of new roots from cut seeds of *Eugenia* species. *Journal of Seed Science*, v. 44, p. e202244014.

EL-NAGAR, A.; ELZAAWELY, A.; TAHA, N.A.; NEHELA, Y. 2020. The antifungal activity of gallic acid and its derivatives against *Alternaria solani*, the causal agent of tomato early blight. *Agronomy*, 10: 1402. <https://doi.org/10.3390/agronomy10091402>

FRANÇOSO, C. F.; BARBEDO, C.J. 2016. Osmotic and heat treatments on control of fungi associated with seeds of *Eugenia brasiliensis* and *E. pyriformis* (Myrtaceae). *Journal of Seed Sciences*, v.38, p. 195-203 <https://doi.org/10.1590/2317-1545v38n3159481>

GUO, X; LI, T; TANG, K; LIU, R. 2012. Effect of germination on phytochemical profiles and antioxidant activity of mung bean sprouts (*Vigna radiata*). *J. Agric. Food Chem.* 60, 11050–11055. <https://doi.org/10.1021/jf304443u>

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*, v.41, p.76-85. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v41n1212109>

INOCENTE, M.C.; BARBEDO, C.J. 2021. Regeneration of roots and seedlings from *Eugenia involucrata* seeds under water deficit conditions. *Journal of Seed Sciences*, v. 43, p. e202143015. <http://dx.doi.org/10.1590/2317-1545v43248394>

LI, K.; GONG, Q.; LU, B.; HUANG, K.; TONG, Y.; MUTSVENE, T.E.; LIN, M.; XU, Z.; LU, F.; LI, X.; HU, L. 2023. Anti-inflammatory and antioxidative effects of gallic acid on experimental dry eye: in vitro and in vivo studies. *Eye and Vis*, 10: 17. <https://doi.org/10.1186/s40662-023-00334-5>

MA, Y.; WANG, P.; GU, Z.; SUN, M.; YANG, R. 2022. Effects of germination on physio-biochemical metabolism and phenolic acids of soybean seeds. *Journal of Food Composition and Analysis* 112 (2022) 104717. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104717>

MANACH, C.; SCALLBERT, A.; MORAND, C.; RÉMÉSY, C.; JIMENEZ, L. 2004. Polyphenols: Food Sources and Bioavailability. *Am. J. Clin. Nutr.*, Vol. 79, pp. 727-747. <https://doi.org/10.1093/ajcn/79.5.727>

NDAKIDEMI, P. A.; DAKORA, F. D. 2003. Legume Seed Flavonoids and Nitrogenous Metabolites as Signals and Protectants in Early Seedling Development: Review. *Functional Plant Biol.*, Vol. 30, pp. 729-745. <https://doi.org/10.1071/FP03042>

PAJAK, P.; SOCHA, R.; GAIKOWSKA, D.; ROZNOWSKI, J.; FORTUNA, T. 2014. Phenolic profile and antioxidant activity in selected seeds and sprouts. *Food Chem.* 143, 300–306. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.07.064>

PRATAVIERA, J.S., LAMARCA, E.V., TEIXEIRA, C.C.; BARBEDO, C.J. The germination success of the cut seeds of *Eugenia pyriformis* depends on their size and origin. *Journal of Seed Science* 37: 47-54, 2015. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v37n1141425>

ROSS, K.A.; BETA, T.; ARNTFIELD, S.D. 2009. A comparative study on the phenolic acids identified and quantified in dry beans using HPLC as affected by different extraction and hydrolysis methods. *Food Chem.* 113, 336–344. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.07.064>

SANTANA, D.G.; RANAL, M.A. 2004. *Análise da germinação: um enfoque estatístico*. Brasília, Universidade de Brasília, 2004. 247p.

VATTEN, D. A.; LIN, Y.-T.; GHAEDIAN, R.; SHETTY, K. 2005. Cranberry synergies for dietary management of *Helicobacter pylori* infections. *Process Biochemistry.* 40, p. 1583–1592. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2004.06.024>

Tabela 1. Sementes com raiz, plântula e incidência fúngica (%), de *Eugenia brasiliensis* Lam., inteiras e fracionadas, após a aplicação diretamente no substrato da solução de ácido gálico em diferentes concentrações. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si (Tukey, 5%).

Concentração da solução com ácido gálico (g . L ⁻¹)	Tipo de semente	
	Inteira (%)	Fracionada (%)
<i>Sementes com raiz</i>		
Água	82 a	144 a
5,0	88 a	128 a
10,0	80 a	120 a
20,0	19 b	78 b
40,0	6 b	42 b
Coefficiente de variação (%)	12,96	17,65
<i>Sementes com plântula</i>		
Água	64 a	74 a
5,0	55 ab	59 ab
10,0	51 abc	51 ab
20,0	26 bc	38 b
40,0	22 c	28 b
Coefficiente de variação (%)	32,16	32,84
<i>Sementes com presença de fungos</i>		
Água	5 b	30 b
5,0	14 ab	39 b
10,0	16 b	58 b
20,0	5 ab	174 a
40,0	18 a	162 a
Coefficiente de variação (%)	45,36	25,82

Tabela 2. Sementes com raiz, plântula e incidência fúngica (%), de *Eugenia brasiliensis* Lam., inteiras e fracionadas, após pré-embebição em solução de ácido gálico em diferentes concentrações. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si (Tukey, 5%).

Concentrações das soluções com ácido gálico em g/L	Sementes pré-embebidas em ácido gálico	
	Inteiras (%)	Fracionada (%)
<i>Sementes com raiz</i>		
Água	88 a	149 a
5,0	89 a	106 ab
10,0	80 a	112 ab
20,0	84 a	64 b
40,0	72 a	64 b
Coefficiente de variação (%)	13,19	22,47
<i>Sementes com plântula</i>		
Água	59 a	69 a
5,0	70 a	50 ab
10,0	61 a	49 ab
20,0	50 a	19 b
40,0	56 a	30 b
Coefficiente de variação (%)	20,06	33,36
<i>Sementes com Incidência fúngica</i>		
Água	5 a	24 b
5,0	8 a	58 ab
10,0	9 a	50 ab
20,0	9 a	99 a
40,0	11 a	105 a
Coefficiente de variação (%)	90,22	48,80

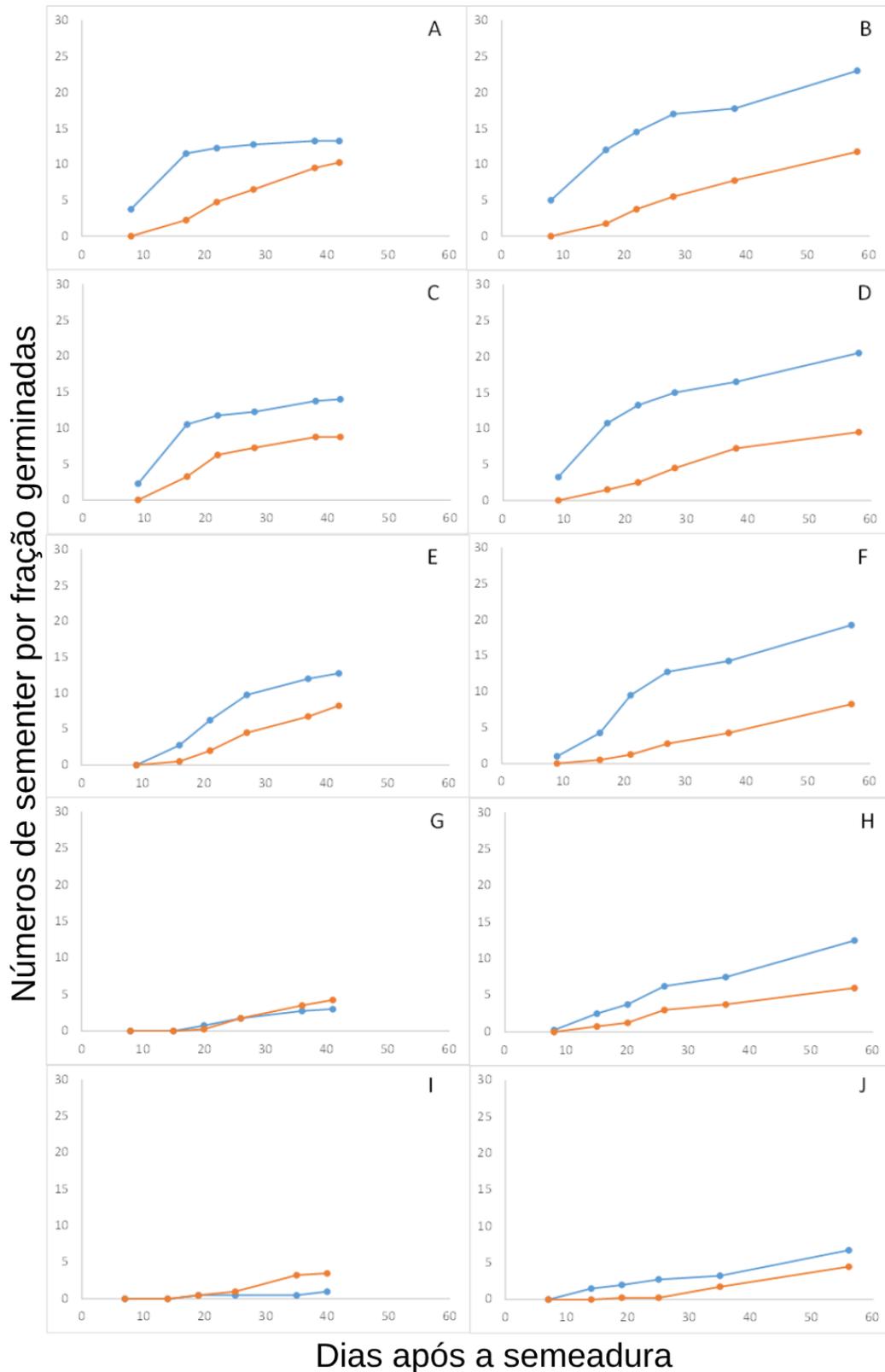


Figura 1. Distribuição temporal da germinação (em azul) e produção de plântulas (em laranja) de sementes inteiras (A, C, E, G e I) ou fracionadas (B, D, F, H e J) de *Eugenia brasiliensis* Lam., após a aplicação diretamente no substrato das soluções de ácido gálico em diferentes concentrações (A e B: água; C e D: 5 g . L⁻¹; E e F: 10 g . L⁻¹; G e H: 20 g . L⁻¹; I e J: 20 g . L⁻¹).

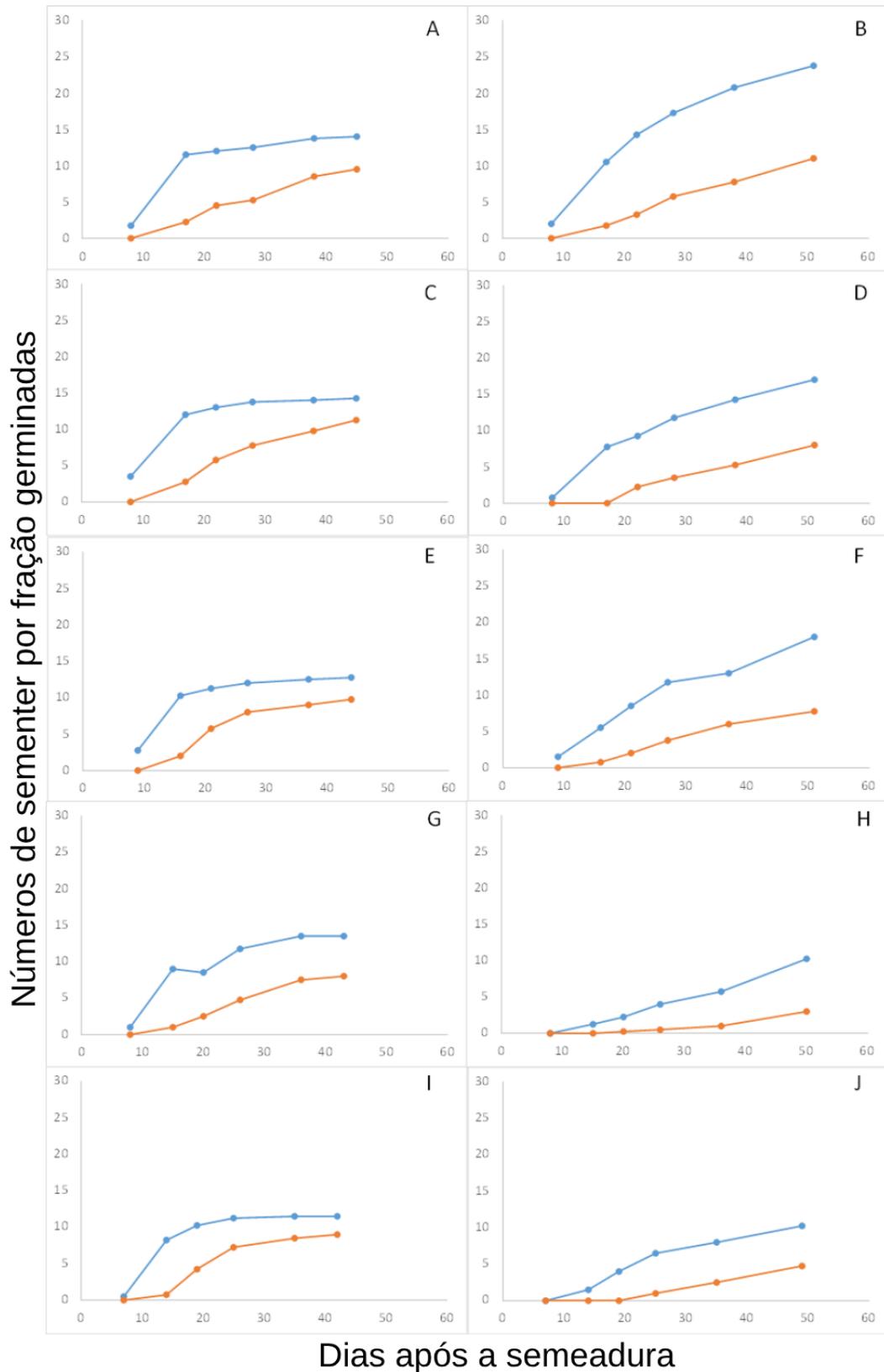


Figura 2. Distribuição temporal da germinação (em azul) e produção de plântulas (em laranja) de sementes inteiras (A, C, E, G e I) ou fracionadas (B, D, F, H e J) de *Eugenia brasiliensis* Lam., após a pré-embebição nas soluções de ácido gálico em diferentes concentrações (A e B: água; C e D: 5 g . L⁻¹; E e F: 10 g . L⁻¹; G e H: 20 g . L⁻¹; I e J: 20 g . L⁻¹)

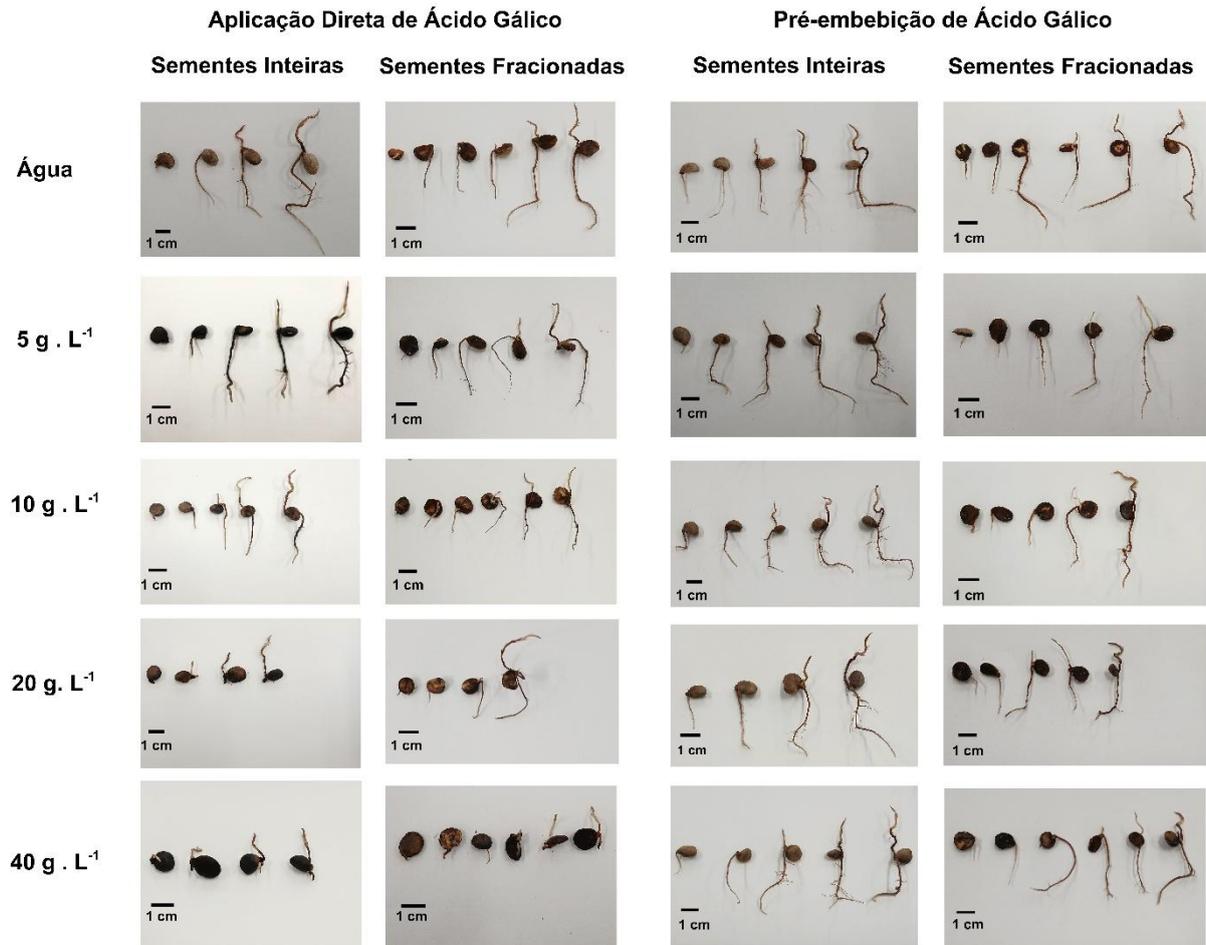


Figura 3. Plântulas obtidas no último dia de avaliação do teste de germinação de sementes inteiras ou fracionadas de *E. brasiliensis*, colocadas em substrato umedecido com soluções ácido gálico em diferentes concentrações (água, 5 g . L⁻¹, 10 g . L⁻¹, 20 g . L⁻¹ e 40 g . L⁻¹) ou após pré-embebição nessas soluções.

CAPÍTULO II

Energy reserve depletion and regeneration capacity of germinating *Eugenia
brasiliensis* Lam. seeds

Yasmin Tavares Cavalcanti e Claudio José Barbedo

Artigo submetido a Journal of Seed Science em 31-07-2025

Depletion of reserves and regeneration of germination in grumixama seeds

Energy reserve depletion and regeneration capacity of germinating *Eugenia brasiliensis* Lam. seeds

Yasmin Tavares Cavalcanti¹ (orcid: 0009-0001-3856-0420), Claudio José Barbedo^{1*} (orcid: 0000-0002-4417-7495)

ABSTRACT: Recalcitrant seeds of *Eugenia* show the ability to regenerate germination when the embryonic axis is lost, but simultaneous germinations are uncommon, indicating the existence of self-control processes in these seeds. Thus for these species the regeneration may be one of the ways in which they guarantee propagation, as these seeds have a high water content, avoiding the formation of seed banks in the soil. Considering that these seeds can regenerate after seedling elimination, we aimed to verify the temporal extent of self-control of germination, from germinating seedlings to different stages. Seedlings of *Eugenia brasiliensis* Lam. grown in continuous both light or dark conditions were removed when they reached shoot lengths of ≤ 5 cm, 6.0 ± 1.0 cm, 8.0 ± 1.0 cm, 12.0 ± 1.0 cm, and ≥ 13.5 cm (light) or ≤ 5 cm, 6.0 ± 1.0 cm, 8.0 ± 1.0 cm, and ≥ 10 cm (dark). The roots and shoots were removed, and the seeds were reseeded in a water-moistened substrate for new germination. Regeneration after seedling development demonstrated that the regenerative capacity of seeds occurs in seedlings that reached at least 11 cm (dark) and 8 cm (light). Therefore, it is possible to state that the seeds of *E. brasiliensis* are able of remaining in the soil for long periods with the capacity to produce new plants even if the environmental conditions are unfavorable after the first germination of these seeds.

Index terms: germination self-control, regeneration, energy reserve, recalcitrant seeds.

¹ Instituto de Pesquisas Ambientais, Av. Miguel Stéfano 3687, São Paulo, SP 04301-902, Brazil

*Corresponding author, e-mail: cjbarbedo@yahoo.com.br

Esgotamento de reserva energética e capacidade de regeneração de sementes germinantes de *Eugenia brasiliensis* Lam.

RESUMO: Sementes recalcitrantes de espécies de *Eugenia* têm capacidade de regeneração da germinação quando o eixo embrionário é perdido, mas são incomuns germinações simultâneas, indicando a existência de processos de autocontrole da germinação nessas sementes. A regeneração pode, assim, ser um dos meios de propagação da espécie, já que se tratam de sementes com alto teor de água, impossibilitando a formação de bancos de semente no solo. Considerando que essas sementes podem regenerar após a eliminação de plântulas, buscou-se verificar a extensão temporal do autocontrole da germinação, desde a germinação até diferentes fases de desenvolvimento da plântula. Plântulas de *Eugenia brasiliensis* Lam. cultivadas em ambiente com luz ou escuro contínuos, foram retiradas quando atingiram os comprimentos de parte aérea de ≤ 5 cm, $6,0 \pm 1,0$ cm, $8,0 \pm 1,0$ cm, $12,0 \pm 1,0$ cm e $\geq 13,5$ cm (luz) ou ≤ 5 cm, $6,0 \pm 1,0$ cm, $8,0 \pm 1,0$ cm e ≥ 10 cm (escuro). As raízes e partes aéreas foram removidas e a semente foi novamente semeada em substrato umedecido com água para nova germinação. A regeneração após desenvolvimento de plântulas demonstrou que a capacidade regenerativa das sementes ocorre em plântulas que atingiram até pelo menos 11 cm (escuro) e 8 cm (luz). Com isso é possível afirmar que as sementes de *E. brasiliensis* são capazes de se manterem no solo por longos períodos em condições de produzir novas plantas ainda que as condições do meio sejam desfavoráveis após as primeiras germinações destas sementes.

Termos para indexação: autocontrole de germinação, regeneração, reserva energética, sementes recalcitrantes.

INTRODUÇÃO

Segundo Prata et al. (2015), as sementes de *Eugenia* L. (Myrtaceae) apresentaram capacidade de regenerarem raiz e parte aérea, resultando no desenvolvimento de plantas inteiras, mesmo com parte da reserva sendo removida, bem como são capazes de regenerarem após um fracionamento completo da semente (Amador, 2015; Silva et al., 2003; Teixeira & Barbedo., 2012).

Anjos e Ferraz (1999) mostrou em seu trabalho que as sementes de araçá-boi (*Eugenia stipitata* ssp. *sororia* McVaugh) foram capazes de regenerar e formar plântulas mesmo após uma primeira germinação.

A reserva energética presente nas sementes de *Eugenia* é elevada, porém não é comum encontrar nessas espécies germinações simultâneas, algumas estratégias como regeneração de sementes inteiras e maduras após a eliminação de parte aérea e raiz é encontrada em estudos de Alonso (2018) e Alonso (2023), que se deram por meio da eliminação de parte aérea, em sementes de *Eugenia candolleana* DC., ao atingirem até 2,5 cm, e tiveram a capacidade de regenerar (Alonso, 2023). É importante notar que esse procedimento também foi feito por 8 vezes, com êxito em sementes de *E. uniflora* (Alonso, 2023).

Tais estudos evidenciaram condições ambientais que poderiam ser semelhantes a predação, pressão de seleção natural ou déficit hídrico sobre essas sementes, demonstrando que mesmo com todos esses fatores, a capacidade de regeneração é preservada (Teixeira & Barbedo 2012, Alonso et al., 2019, Alonso, 2023). Com base em estudos de Inocente e Barbedo, (2019) mesmo que as sementes de *Eugenia* passem por alguma restrição hídrica, se existir no interior alguma umidade, elas têm capacidade de germinarem.

Estudos de regeneração com sementes de *Eugenia* mostraram que essa estratégia de perpetuação é presente em: *E. piriforme*, *E. involucrata*, *E. brasiliensis*, *E. uniflora*, *E. stipitata*, *E. cerasiflora*, *E. candolleana* e *E. umbelliflora* (Silva et al., 2003; Silva et al., 2005;

Anjos e Ferraz., 1999; Delgado et al., 2010; Alonso et al., 2019).

Outros trabalhos demonstraram a capacidade de regeneração dessas sementes ao cortar ao meio após uma primeira germinação, mostrando que onde normalmente apenas o lado que já havia germinado deveria dar continuidade no crescimento e desenvolvimento de uma nova planta, esse processo ocorre nas duas partes. Por outro lado, há trabalhos demonstrando que cada fração produz somente uma nova plântula, sugerindo algum autocontrole da germinação para que as reservas não sejam gastas em sua totalidade em germinações simultâneas. Isso foi demonstrado quando se promoveram apenas fissuras nas sementes, sem completar o corte, e em apenas uma das frações ocorreu a germinação. Quando as metades foram totalmente separadas, ambas as frações germinaram (Amador & Barbedo, 2011; Amador, 2015).

Em estudos anteriores, dentre as espécies de *Eugenia*, em que as sementes regeneraram sucessivamente após a eliminação de plântulas foi a *Eugenia brasiliensis* Lam., sabendo disso para esse estudo se tem a hipótese de que há um autocontrole no gasto de reserva energética durante a germinação, visto que a semente tem um limite desse reserva. Com base nesses estudos, este trabalho teve como objetivo identificar em qual comprimento das plântulas ocorre o esgotamento de reserva energética das sementes de *E. brasiliensis* durante o processo de desenvolvimento e crescimento, para compreender até quando se mantem a capacidade de regeneração após a remoção das plântulas. Iniciando as avaliações com a eliminação de plântulas em ≤ 5 cm até atingirem $\geq 13,5$ cm.

MATERIAL E MÉTODOS

Sementes maduras de *Eugenia* spp. (Myrtaceae) foram obtidas de matrizes do Instituto de Pesquisas Ambientais, São Paulo (23°38'27.38" S e 46°37'34.57" O), da espécie *E. brasiliensis* a produção de frutos da safra, uma vez que a produção entre estas espécies varia de ano a ano. Frutos foram colhidos manualmente e levados ao Laboratório de Sementes, do

Núcleo de Conservação da Biodiversidade, em São Paulo, SP. A extração de sementes dos frutos se deu de forma manual, em seguida lavadas em água corrente para que o restante das polpas dos frutos fosse retirado. Por fim, colocadas sobre papel de germinação até que toda água superficial seja absorvida ou evaporada (Amador, 2015).

Uma amostra de sementes foi separada para a instalação do teste de germinação inicial, com avaliações diárias de protrusão de raiz primária, identificando-se o tempo médio necessário para que a protrusão ocorresse. O teor de água (em %, base úmida) e a massa seca da semente, foram obtidos em uma estufa de secagem e esterilização (modelo 320 – SE circulação mecânica) a 105 °C por 24 horas (Brasil, 2009), em 4 repetições de 5 sementes, para o potencial de água usou-se o potenciômetro WP4 (Decagon Devices, Inc., Pullman) com base na temperatura do ponto de orvalho que ocorre no interior do equipamento.

Para os experimentos, uma caixa preta de 130 litros (figura 1), a qual teve sua instalação em uma sala de germinação controlada, com luz branca e temperatura contante a 25°C, foi preenchida com vermiculita previamente umedecida, até atingir 30 cm de altura, em seguida foram semeadas 500 sementes até germinarem e obterem comprimento de parte aérea em: ≤ 5 cm, $6,0 \pm 1,0$ cm, $8,0 \pm 1,0$ cm, $12,0 \pm 1,5$ cm, em dois meses após a semeadura, e $\geq 13,5$ cm, em 11 meses após a semeadura. Quando atingido os respectivos valores, as raízes e partes aéreas foram retiradas com o auxílio de uma tesoura e as sementes foram colocadas para regenerarem em caixas do tipo gerbox (figura 2), com 300 ml de vermiculita previamente umedecida com água de torneira, sendo avaliadas semanalmente. Doravante, tais comprimentos médios de parte aérea foram representados em tratamentos (T), sendo que: T1= ≤ 5 cm, T2= 6 cm, T3= 8 cm, T4= 12 cm, T5 = $\geq 13,5$ cm.

Todo esse procedimento foi realizado também no escuro (Figura 3) seguindo os mesmos critérios quanto a montagem e temperatura constante. Quando obtiveram comprimento de parte aérea em: ≤ 5 cm, 6 ± 1 cm, 8 ± 1 cm, em um mês após a semeadura, e

≥ 10 cm, em quatro meses após a semeadura, retirou-se as raízes e partes aéreas (figura 4), com isso as sementes foram colocadas para regenerarem, agora em luz contante, no gerbox em tratamentos (T') com comprimento médio de: T1' = ≤ 5 cm, T2' = 6 cm, T3' = 8 e T4' = ≥ 10 cm.

Tanto a caixa de 130L quanto as caixas do tipo gerbox eram umedecidas quando necessário. Determinou-se germinação apenas quando a raiz primária atingiu 0,5 cm e o desenvolvimento de plântula normal, quando não havia defeitos (Inocente e Barbedo, 2021).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições, em esquema fatorial 8 x 2. Os dados foram submetidos a análise de variância (5%) e as médias comparadas entre si pelo teste de Tukey, a 5% (Santana e Ranal, 2004).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As 500 sementes semeadas no claro apresentaram protusão de radícula no 7º dia, já as semeadas no escuro, o mesmo ocorreu no 8º dia. As regenerações de T1, T2 e T1' começaram por volta do 17º dia, T3 no 25º dia, T4 no 23º dia, T5 não apresentou regeneração, T2' no 18º dia, T3' no 22º dia e o T4' no 36º dia.

Na semeadura com luz contínua as sementes germinaram normalmente, porém após a remoção de plântula que atingiram a média de 12 cm o crescimento das demais estagnaram, com isso metade das plântulas restantes, de forma aleatória, foram transplantadas para outra caixa de 130 L, a qual foi preparada igual a primeira, assim com mais espaço em ambos os recipientes as sementes e plântulas se desenvolveram melhor, totalizando 170 sementes e ou plântulas por caixa.

Na semeadura no escuro, após a germinação das sementes, as folhas não se desenvolveram, ficando apenas o epicótilo aparente (figura 7B). Houve uma diminuição na velocidade do crescimento das plântulas após a remoção das que atingiram a média de 8 cm, ficando estagnadas, logo demorou mais para que se retirasse as plântulas que foram destinadas

a T4' mesmo com espaço suficiente, com isso não houve a necessidade do transplante para outra caixa como anteriormente.

Após 4 meses da semeadura no escuro alguns fungos apareceram nas plântulas, algumas partes aéreas morreram e se regeneraram pelas laterais (figura 5), mediante a isso algumas sementes foram cortadas ao meio para conferir como estavam e apresentaram ótimo aspecto (figura 6) mesmo com comprometimento por fungo aparente. As plântulas destinadas ao T4' tiveram algumas amostras com essas características e mesmo assim regeneraram. Mostrando que a presença de fungos pode interferir, mas não matar a semente de imediato (Gomes, 2023).

Com isso é possível compreender porque mesmo depois de aproximadamente 7 meses que os tratamentos em gerbox T1, T2, T3 e T4 foram preparados, quando houve uma queda de energia por alguns dias, alterando a temperatura e luz ideal para os experimentos que estavam na sala de germinação, com risco de afetar diretamente na regeneração das sementes, tendo em vista que apesar de desaparecerem dentro de dias, houve um desenvolvimento de fungos em vários experimentos após o ocorrido, mesmo assim neste estudo as sementes apresentaram regenerações que resultaram em plântulas em poucos dias após o ocorrido.

Os fungos costumam aparecer em sementes de *Eugenia*, porém nem sempre isso impedirá a germinação, assim como aconteceu neste trabalho, em outros estudos realizados por Avila et al. (2009) também relatou a ocorrência de fungos durante a germinação de *E. uniflora*, que pode vir a interferir de alguma forma no desenvolvimento da planta.

No dia da eliminação de plântulas em que as sementes foram destinadas a T1 a maioria das sementes germinadas, na caixa, alcançaram 10 cm, no dia da montagem de T2 a maioria tinha 9,5 cm, em T3 a maioria estava por volta de 10 cm, em T4 teve a maioria em 9,5 cm, na T5 a maioria atingiu por volta de 14,68 cm. Em T1' maioria das sementes germinadas, na caixa, atingiram 2,69 cm, em T2' teve a maioria em 6 cm, em T3' a maioria em 8,25 cm, e

T4' a maioria em 12,5 cm.

As plântulas destinadas aos T1, T2, T3, T4 e T5 (figura 7 A) apresentaram formação de folhas, diferente das T1', T2', T3' e T4' (figura 7 B), isso pode ter ocorrido por conta do maior consumo de reserva energética durante o desenvolvimento na semeadura em luz contínua do que na semeadura no escuro, comprovando que há um autocontrole no gasto de reserva energética durante o desenvolvimento das plântulas mesmo com a possibilidade de realizar a fotossíntese, o que interferiu diretamente no processo de regeneração das sementes.

As sementes direcionadas para a regeneração apresentaram características de esgotamento da reserva energética após alguns meses da montagem dos tratamentos, pois foram murchando ao decorrer das avaliações. Para T1 e T2 isso ocorreu após 10 meses, após 11 meses para T3 e após 9 meses para T4, por fim as raízes que haviam sobrado foram uma a uma se deteriorando.

As sementes que foram destinadas para o T5 se apresentaram com pouca reserva energética (figura 8) antes mesmo de serem colocadas nos gerbox, indicando maior gasto de reserva energética, o que implicou diretamente no processo de regeneração, já que nesses tratamentos não regenerou semente alguma.

Tendo em vista a regeneração das sementes após a retirada de raiz e parte aérea, as sementes que pertenceram a semeadura na luz contínua não regeneraram tão bem quanto as sementes da semeadura no escuro (figura 9).

De acordo com os dados estatísticos da tabela 1, a regeneração de raízes e plântulas teve um melhor desenvolvimento oriundas das sementes, a princípio, semeadas no escuro.

Na regeneração das raízes de sementes semeadas em luz contínua, que tiveram parte aérea e raízes retiradas em: ≤ 5 cm e de $8,0 \pm 1,0$ cm, tiveram o mesmo desenvolvimento. As que foram retiradas de $12,0 \pm 1,5$ cm tiveram um desenvolvimento menor que as anteriores. Não houve regeneração em $\geq 13,5$ cm (tabela 1).

Quanto a regeneração de plântulas todas as que tiveram raízes e parte aérea retiradas em: ≤ 5 cm, de $6,0 \pm 1,0$ cm, de $8,0 \pm 1,0$ cm, tiveram desenvolvimentos iguais, mas em $12,0 \pm 1,5$ cm teve um desenvolvimento inferior, e nulo em ≥ 13 cm (tabela 1).

A regeneração das raízes e plântulas das sementes semeadas no escuro, tiveram um ótimo desenvolvimento em ambos os comprimentos (tabela 1).

A tabela 1 mostra que a regeneração de raízes e plântulas da semeadura na luz contínua foi inferior ao que ocorreu com a regeneração dos semeados no escuro contínuo, com tudo as sementes de *E. brasiliensis* tem capacidade de regenerar e produzir plântulas até ao menos 11 cm para as cultivadas no escuro e 8 cm para as cultivadas no claro.

Sendo assim as sementes de *E. brasiliensis* podem alcançar um maior comprimento, quando comparado ao comprimento de até 2,5 cm da parte aérea e 2 cm de raízes que foram eliminadas em sementes de *E. candolleana* (Alonso, 2018; Alonso, 2023), e mesmo assim manter a capacidade de regeneração.

CONCLUSÃO

As plântulas semeadas na luz contínua se desenvolveram melhor, apresentando maior formação de folhas, diferente das que foram semeadas no escuro, que apresentaram raízes proeminentes ao substrato e parte aérea sem folhas aparente, comprovando o autocontrole no gasto de reserva energética independente do fator fotossíntese.

Com base nos resultados obtidos, até 8 cm de parte aérea referente as plantas crescidas na luz, e 11cm para as crescidas no escuro a semente ainda tem reserva energética suficiente para regenerar e formar plantas, com isso mantendo-se por maior período no solo e garantindo sua sobrevivência, se perpetuação no ambiente. Sendo assim as *E. brasiliensis* desenvolveu uma estratégia de sobrevivência ao longo do tempo.

AGRADECIMENTOS

Ao Instituto de Pesquisas Ambientais por fornecer local e materiais para que esse projeto pudesse acontecer. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, pelo fornecimento da bolsa de mestrado de Y.T. Cavalcanti. Ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente, do Instituto de Pesquisas Ambientais, pela oportunidade do curso de Mestrado de Y. T. Cavalcanti.

REFERÊNCIAS

- ALONSO, C.R. Germinação múltipla e sequencial de sementes como estratégia de propagação em espécies de *Eugenia* (*Myrtaceae*). Dissertação de Mestrado. Instituto de Pesquisas Ambientais da Secretaria de Meio Ambiente, São Paulo. 2018.
- ALONSO, C.R. A produção múltipla e sequencial de plântulas em sementes de *Eugenia candolleana*, *E. pyriformis*, *E. uniflora*, *E. involucrata* e *E. brasiliensis* depende de seu estado fisiológico e da massa cotiledonar. Tese de Doutorado. Instituto de Pesquisas Ambientais da Secretaria de Meio Ambiente, São Paulo, 2023.
- ALONSO, C.R.; ASPERTI, L.M.; GUARDIA, M.C.; BARBEDO, C.J. Cutting and regeneration of roots and seedlings from seeds of *Eugenia candolleana* DC. at diferente maturity stages. *Journal of Seed Science* 41: 160-167, 2019. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v41n2200571>
- AMADOR, T.S.; BARBEDO, C.J. Potencial de inibição da regeneração de raízes e plântulas em sementes germinantes de *Eugenia pyriformis*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 46: 814-821, 2011. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2011000800005>
- AMADOR, T.S. Estudos fitoquímicos e fisiológicos dos processos de indução e inibição da regeneração de plântulas de sementes de *Eugenia*. Tese de Doutorado. Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2015.
- ANJOS, A.M.G.; FERRAZ, I.D.K. Morfologia, germinação e teor de água das sementes de araçá-boi (*Eugenia stipitata* ssp. *sororia*). *Acta Amazônica* 29: 337-348, 1999. <https://doi.org/10.1590/1809-43921999293348>
- 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* 19: 61-68, 2009. <https://doi.org/10.5902/19805098420>
- DELGADO, L.F.; MELLO, J.I.O.; BARBEDO, C.J. Potencial de regeneração e propagação

a partir de sementes cortadas de espécies arbóreas tropicais de *Eugenia* (Myrtaceae). *Seed Science and Technology* 38: 624-634, 2010. <https://doi.org/10.15258/sst.2010.38.3.10>

DELGADO, L.F.; BARBEDO, C.J. Atividade inibidora da germinação em extratos de sementes *Eugenia uniflora* L. *Revista Brasileira de Sementes* 33: 463-471, 2011. <https://doi.org/10.1590/S0101-31222011000300009>

INOCENTE, M.C.; BARBEDO, C.J. Germination of *Eugenia brasiliensis*, *E. involucrata*, *E. pyriformis*, and *E. uniflora* (Myrtaceae) under water-deficit conditions. *Journal of Seed Science* 41: 76-85, 2019. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v41n1212109>

INOCENTE, M.C.; BARBEDO, C.J. Regeneration of roots and seedlings from *Eugenia involucrata* seeds under water deficit conditions. *Journal of Seed Science* 43: e202143015, 2021. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v43248394>

GOMES, W.D. Armazenamento e viabilidade com limitação hídrica em sementes de *Eugenia* spp. em diferentes temperaturas. Dissertação de Mestrado. Instituto de Pesquisas Ambientais da Secretaria de Meio Ambiente, São Paulo, 2023.

PRATAVIERA, J.S., LAMARCA, E.V., TEIXEIRA, C.C.; BARBEDO, C.J. The germination success of the cut seeds of *Eugenia pyriformis* depends on their size and origin. *Journal of Seed Science* 37: 47-54, 2015. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v37n1141425>

SILVA, C.V.; BILIA, D.A.C.; MALUF, A.M.; BARBEDO, C.J. Fracionamento e germinação de sementes de uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess. - Myrtaceae). *Revista Brasileira de Botânica* 26: 213-221, 2003. <https://doi.org/10.1590/S010084042003000200009>

TEIXEIRA, C.C.; BARBEDO, C.J. The development of seedlings from fragments of monoembryonic seeds as an important survival strategy for *Eugenia* (Myrtaceae) tree species. *Trees, Structure and Function* 26: 1069-1077, 2012. <https://doi.org/10.1007/s00468-011-0648-5>

Tabela 1. Regeneração de raízes e plântulas (%) em sementes de *Eugenia brasiliensis* Lam. após remoção de plântulas com diferentes comprimentos, oriundas das sementes germinadas na presença ou ausência de luz.

Comprimento da parte aérea da Plântula	Condição da produção das plântulas	
	Luz contínua	Escuro contínuo
	<i>Sementes com regeneração de raiz</i>	
≤ 5 cm	75 a	100 a
6,0 ± 1,0 cm	48 ab	100 a
8,0 ± 1,0 cm	85 a	98 a
12,0 ± 1,5 cm	25 b	95 a
≥ 13,5 cm	0 c	-
Coefficiente de variação (%)	17,46	3,89
	<i>Sementes com regeneração de plântula</i>	
≤ 5 cm	38 a	94 a
6,0 ± 1,0 cm	22 a	90 a
8,0 ± 1,0 cm	38 a	92 a
12,0 ± 1,5 cm	15 ab	80 a
≥ 13,5 cm	0 b	-
Coefficiente de variação (%)	24,51	12,20



Figura 1. Experimento com luz constante, caixa de 130 L com 500 sementes.

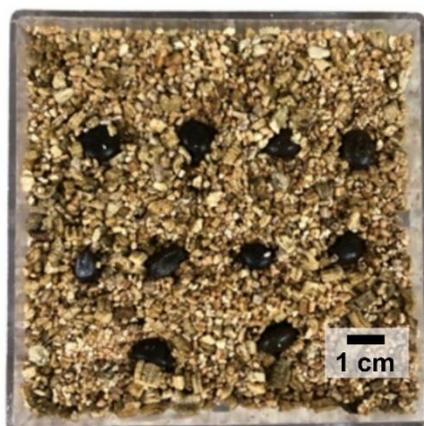


Figura 2. T3 com as sementes no gerbox para processo de regeneração.



Figura 3. Experimento no escuro, caixa de 130 L com 500 sementes.



Figura 4. Exemplos das plântulas que obtiveram de $8,0 \pm 1,0$ cm do experimento no escuro antes das sementes serem colocadas para regenerarem.

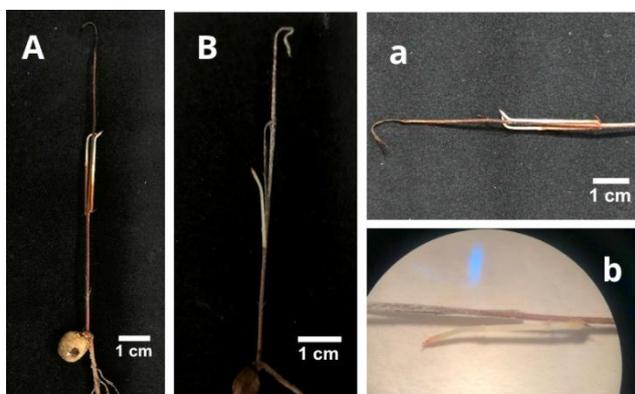


Figura 5. Partes aérea que regeneraram lateralmente das que foram infectadas por fungos. Mesma plântula (A/a e B/b, sendo b uma plântula ampliada na lupa).



Figura 6. Plântulas com parte aérea regenerada (A), sementes cortadas ao meio (B).

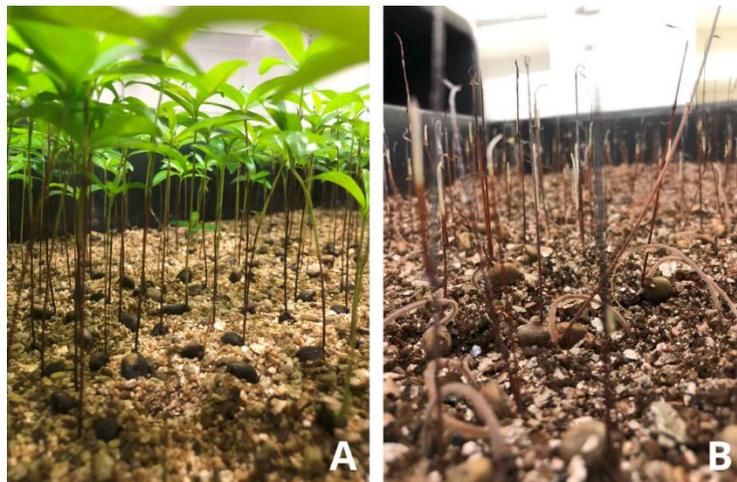


Figura 7. Comparação de desenvolvimento, em aproximadamente 3 meses, das sementes: luz contínua (A) e no escuro contínuo (B).



Figura 8. Sementes do T5 antes de semeada para regenerar, a seta azul indica como as sementes estavam murchas, com pouca reserva energética.



Figura 9. Comparação geral da regeneração dos experimentos semeados na luz contínua (A e B) e no escuro (C e D).

Considerações Finais

Na sementeira, a que teve melhor desenvolvimento foi a de luz contínua, porém na regeneração as sementes pertencentes a sementeira em escuro contínuo demonstraram melhor desenvolvimento, ou seja, durante o desenvolvimento da etapa após a sementeira, as que receberam luz contínua gastou mais reserva energética, até porque chegaram a desenvolver folhas e fazer fotossíntese, o que não ocorreu nas plântulas semeadas no escuro.

Mesmo tendo crescimento em um período parecido quando comparados, isso mostra a presença do autocontrole no gasto de reserva energética e indica que plântulas que atingem em média de 8 cm (semeadas na luz) a 11 cm (semeadas no escuro) ainda são capazes de regenerarem. Esses dados são superiores ao estudo com sementes de *Eugenia*, visto que após a germinação, mesmo atingindo altura média de 2 a 3 cm de parte aérea foram capazes de regenerarem e formarem de plântulas (Alonso, 2023, Alonso, 2018).

Também existe o autocontrole de inibidores que não permite germinações simultâneas, mesmo as sementes de *E. brasiliensis* apresentando reserva energética elevada. Esse estudo mostrou que em [c] de 20 e 40 houve um atraso na germinação, comprovando que o ácido gálico tem ação inibitória, portanto não sendo meramente efeito osmótico.

Esse aumento nas concentrações de ácido gálico ocorre naturalmente na semente durante o processo de germinação (Ma, Y et al., 2022) o que resulta em inibição de uma segunda germinação, no presente trabalho foi possível ver essa ação ocorrer quando há atraso da germinação conforme o aumento das concentrações de ácido gálico.

A partir desse trabalho pode-se concluir que as sementes de *E. brasiliensis* apresentam potencial de se manterem no solo por longos períodos em condições de produzir novas plantas ainda que as condições do meio sejam desfavoráveis após as primeiras germinações destas sementes, tendo algumas das estratégias o autocontrole de gastos da reserva energética e ação de inibidores como o ácido gálico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO GERAL E CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Alonso, C. R.** 2023. A produção múltipla e sequencial de plântulas em sementes de *Eugenia candolleana*, *E. pyriformis*, *E. uniflora*, *E. involucrata* e *E. brasiliensis* depende de seu estado fisiológico e da massa cotiledonar. Tese de Doutorado. Instituto de Pesquisas Ambientais da Secretaria de Meio Ambiente, São Paulo.
- Alonso, C. R.** 2018. Germinação múltipla e sequencial de sementes como estratégia de propagação em espécies de *Eugenia* (Myrtaceae). Dissertação de Mestrado. Instituto de Pesquisas Ambientais da Secretaria de Meio Ambiente, São Paulo.
- Amador, T.S.** 2015. Estudos fitoquímicos e fisiológicos dos processos de indução e inibição da regeneração de plântulas de sementes de *Eugenia*. Tese de Doutorado. Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- Amador, T. S. & Barbedo, C. J.** 2011. Potencial de inibição da regeneração de raízes e plântulas em sementes germinantes de *Eugenia pyriformis*. Pesquisa Agropecuária Brasileira 46: 814-821.
- Anjos, A. M. G.; Ferraz, I. D. K.** 1999. Morfologia, germinação e teor de água das sementes de araçá-boi (*Eugenia stipitata* ssp. *sororia*). Acta Amazônica, Manaus, v.29, n.3, p.337-348.
- Barbedo, C. J.; Centeno, D. C.; Figueiredo-Ribeiro, R. C. L.** 2013. Do recalcitrant seeds really exist? Hoehnea, v. 40, p. 583-593.
- Barbedo, C. J.** 2018. A new approach towards the so-called recalcitrant seeds. Journal of Seed Sciences (antiga Revista Brasileira de Sementes), v. 40, p. 221-236.
- Delgado, L. F. & Barbedo, C. J.** 2007. Tolerância à dessecação de sementes de espécies de *Eugenia*. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.42, n.2, p.265-272.
- Delgado, L. F. & Barbedo, C. J.** 2011. Atividade inibidora da germinação em extratos de sementes *Eugenia uniflora* L. Revista Brasileira de Sementes 33: 463-471.

- Delgado, L. F.; Teixeira, S. P.; Guerreiro, S. M. C.; Barbedo, C. J.** 2022. A origem de novas raízes a partir de sementes cortadas de espécies de *Eugenia*. *Journal of Seed Science*, v.44, e202244014.
- Donadio, L.C.** 1997. Study of some Brazilian Myrtaceae in Jaboticabal, SP. *Acta Horticulturae*, v.452, p.181-183.
- Fernandes, T.; Machado, DNS.; Souza, MC.; Bünger, M.; Barros, AAM.; Prieto, PV.; Braga, J.M.A.** 2023. Two new species of *Eugenia* (Myrtaceae) from the Brazilian Atlantic Forest. *Kew Bulletin*, v.78, p. 95-105.
- Gentil, D. F. O. & Ferreira, S. A. N.** 1999. Viabilidade e superação da dormência em sementes de araçá-boi (*Eugenia stipitata* ssp. *sororia*). *Acta Amazônica* 29: 21-31.
- Justo, C.F.; Alvarenga, A.A.; Alves, E.; Guimarães, R.M.; Strassburg, R.S.** 2007. Efeito da secagem, do armazenamento e da germinação sobre a micromorfologia de sementes de *Eugenia pyriformis* Camb. *Acta Botânica Brasilica*, v.21, p.539-551.
- Magina, M. D. A.** 2008. Estudo fitoquímico e biológico de espécies do gênero *Eugenia*. Tese apresentada ao curso de Pós-graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina.
- Maluf, A.M.; Bilia, D.A.C.; Barbedo, C.J.** 2003. Drying and storage of *Eugenia involucrata* seeds. *Scientia Agricola, Piracicaba*, v.60, n.3, p.471-475.
- Mazine, F.F.; Valdemarin, K.S.; Bünger, M.; Faria, J.E.Q.; Fernandes, T.; Giaretta, A.; Santana, K.C.; Sobral, M. & Souza, M.A.D.** 2020. *Eugenia* in Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro.
- Rizzini, C. T.** 1970. Efeito tegumentar na germinação de *Eugenia dysenterica* DC. (Myrtaceae). *Revista Brasileira de Biologia*, v.30, p.381-402.
- Roberts, E. H.** 1973. Predicting the storage life of seeds. *Seed Sci.; Technol.*, 1: 499-514.

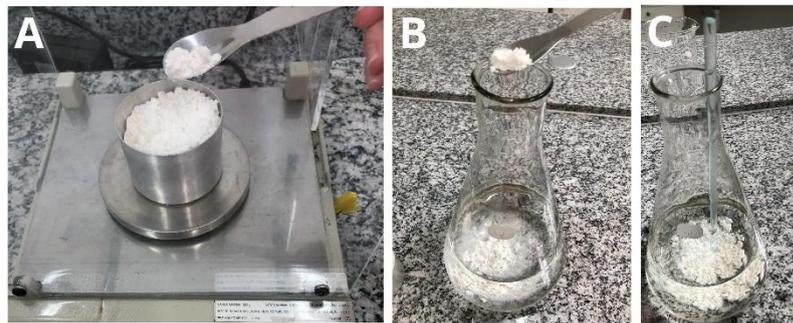
- Santana, D. G. & Ranal, M. A.** 2004. Análise da germinação: um enfoque estatístico. Brasília, Universidade de Brasília, 248p.
- Silva, C. V.; Bilia, D. A. C.; Maluf, A. M.; Barbedo, C. J.** 2003. Fracionamento e germinação de sementes de uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess. - Myrtaceae). Revista Brasileira de Botânica v.26, p.213-221.
- Silva, C. V.; Bilia, D. A. C.; Barbedo, C. J.** 2005. Fracionamento e germinação de sementes de *Eugenia*. Revista Brasileira de Sementes v.27, p.86-92.
- Wilson, P.G. Myrtaceae. In: K. Kubitzki (Ed.).** 2011. The Families and Genera of Vascular Plants, Flowering Plants - Eudicots Sapindales, Cucurbitales, Myrtaceae, vol. 10. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg. p. 212–271.
- Ma, Y.; P, Wang.; Z, Gu.; M, Sun.; R, Yang.** 2022. Effects of germination on physio-biochemical metabolism and phenolic acids of soybean seeds. Journal of Food Composition and Analysis 112 (2022) 104717.

ANEXOS

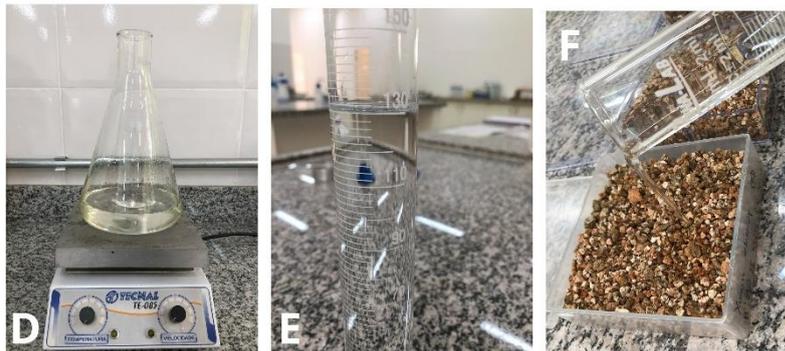
Capítulo I

Anexo A: Montagem dos experimentos de aplicação direta de ácido gálico com sementes inteiras e fracionada, mostrando que para as concentrações de 5 e 10 g . L⁻¹ não houve alteração na cor da solução, diferente das concentrações 20 e 40 g . L⁻¹ que tiveram uma coloração esbranquiçada após a homogeneização.

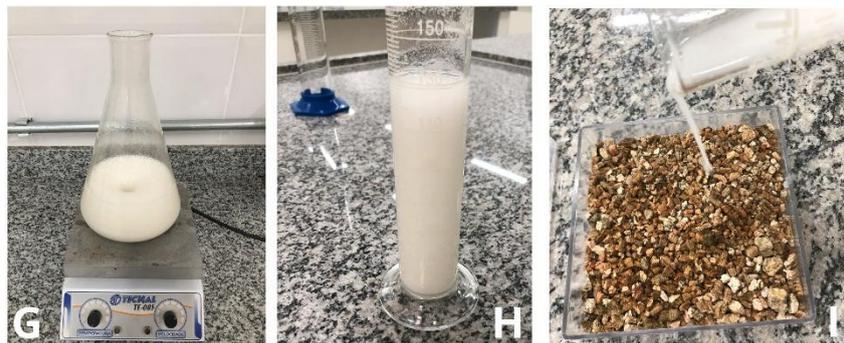
A = pesagem do ácido gálico, B e C= processo de diluição, D e G = agitação da solução, E e H= solução diluída, F e I = substrato umedecido com a solução de ácido gálico.



5 e 10 g . L⁻¹

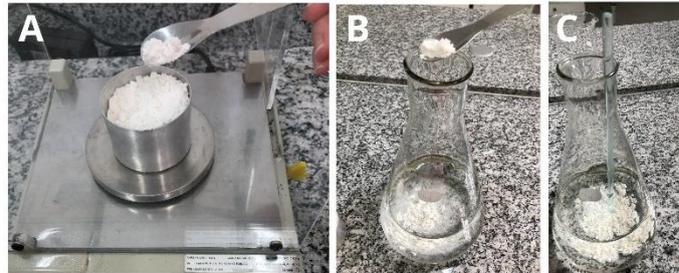


20 e 40 g . L⁻¹

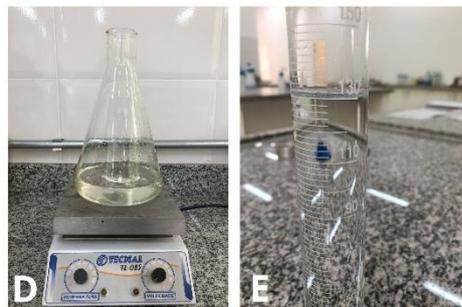


Anexo B: Montagem dos experimentos de pré-embebição em ácido gálico com sementes inteiras e fracionadas.

A = pesagem do ácido gálico, B e C= processo de diluição, D e F = agitação da solução, E e G = solução diluída, H = semente inteira e fracionada no béquer, I = sementes com solução de ácido gálico, J e K = sementes após o processo de embebição.



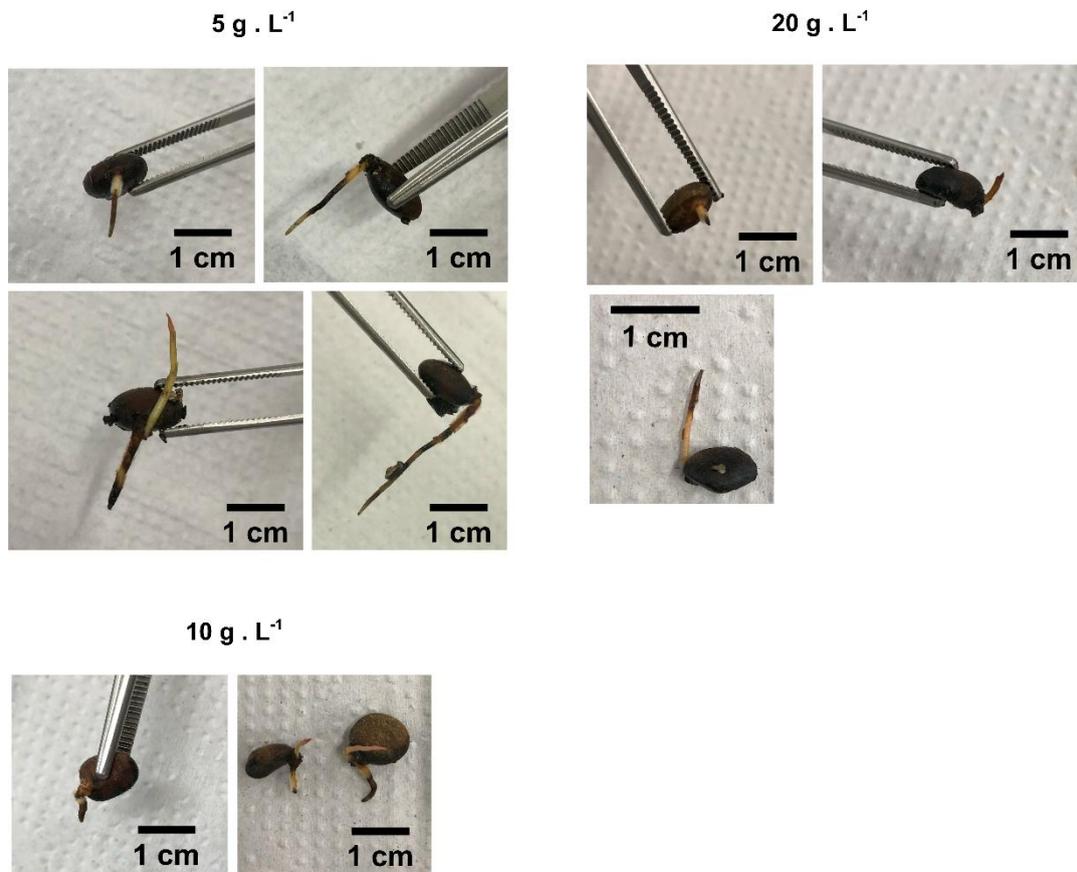
5 e 10 g . L⁻¹



20 e 40 g . L⁻¹



Anexo C: Radículas manchadas decorrente do ácido gálico presente no substrato, nas concentrações $5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ e $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ das sementes inteiras.



Anexo D: Radículas manchadas decorrente da aplicação direta de ácido gálico no substrato, nas concentrações $5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ e $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ das sementes fracionadas.

