



## Qualidade fisiológica e viabilidade de sementes de espinheira-santa (*Monteverdia ilicifolia*, Celastraceae)

Physiological quality and viability of espinheira-santa (*Monteverdia ilicifolia*, Celastraceae) seeds

T. D. Perleberg<sup>1\*</sup>; T. E. da Silva<sup>2</sup>; J. M. Vitória<sup>3</sup>; P. S. Silva<sup>4</sup>; R. S. C. de Magalhães<sup>3</sup>; R. L. Barbieri<sup>5</sup>; C. J. Costa<sup>6</sup>; M. P. Mariot<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Câmpus Pelotas – Visconde da Graça, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Sul-rio-grandense, 96060-290, Pelotas-RS, Brasil

<sup>2</sup>Usina Termelétrica Pampa Sul, Engie, 96495-000, Candiota-RS, Brasil

<sup>3</sup>Programa de Pós-Graduação em Sistemas de Produção Agrícola Familiar, Universidade Federal de Pelotas, 96160-000, Capão do Leão-RS, Brasil

<sup>4</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, 96160-000, Capão do Leão-RS, Brasil

<sup>5</sup>Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 70770-917, Brasília-DF, Brasil

<sup>6</sup>Embrapa Hortaliças, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 70351-970, Brasília-DF, Brasil

\*tangelaperleberg@gmail.com

(Recebido em 06 de setembro de 2020; aceito em 24 de novembro de 2020)

A espinheira-santa (*Monteverdia ilicifolia*) é uma espécie nativa do Brasil utilizada no tratamento de gastrites e úlceras gástricas. A produção de mudas para o cultivo com fins econômicos por meio de sementes pode ser uma alternativa para minimizar o extrativismo predatório. Teve-se como objetivos avaliar a qualidade fisiológica das sementes de *M. ilicifolia* em testes de germinação, emergência e ao longo do armazenamento e determinar o tipo de corte da semente, o período de exposição e a eficácia de diferentes concentrações de solução de 2,3,5 trifenil cloreto de tetrazólio para avaliação da viabilidade das sementes de espinheira-santa. Para tal, foram realizados testes de germinação, de emergência, e de tetrazólio utilizando sementes de 12 acessos de espinheira-santa. A porcentagem média de germinação foi de 67%, não havendo diferença significativa entre os acessos avaliados. Considerando o teste de emergência, as sementes dos acessos 127 e 136 se destacaram por apresentarem os maiores valores do Índice de Velocidade de Emergência (IVE), e por estarem dentro do grupo formado por acessos com os maiores valores de emergência (média de 87%) e os menores valores de Tempo Médio de Emergência (TME). As sementes podem ser armazenadas, sob temperatura média de 5 °C por até 120 dias apresentando percentual de emergência acima de 60%. Para avaliação rápida da viabilidade de sementes pelo teste de tetrazólio, recomenda-se realização de corte longitudinal, no eixo embrionário, e a exposição às concentrações de 0,25% ou 0,50% da solução de tetrazólio, durante 3 horas.

Palavras-chave: conservação, recurso genético, planta medicinal

The espinheira-santa (*Monteverdia ilicifolia*) is a native species from Brazil used in the treatment of gastritis and gastric ulcers. The production of seedlings for economic cultivation by means of seeds can be an alternative to minimize predatory extraction. The objectives were to evaluate the physiological quality of *M. ilicifolia* seeds in germination, emergence and storage tests and to determine the type of seed cut, the exposure period and the effectiveness of different concentrations of solution of 2, 3,5 tetrazolium triphenyl chloride to evaluate the viability of espinheira-santa seeds. For this, germination, emergence and tetrazolium tests were performed using seeds from 12 accessions of espinheira-santa. The average germination percentage was 67%, with no significant difference between the evaluated accessions. Considering the emergency test, the seeds of accessions 127 and 136 stood out for presenting the highest values of the Emergency Speed Index (ESI), and for being within the group formed by accesses with the highest emergency values (average of 87% ) and the lowest Mean Emergency Time (MET). The seeds can be stored at an average temperature of 5 °C for up to 120 days with an emergence percentage above 60%. For a quick evaluation of the viability of seeds by the tetrazolium test, it is recommended to perform a longitudinal cut, in the embryonic axis, and exposure to concentrations of 0.25% or 0.50% of the tetrazolium solution, for 3 hours.

Keywords: conservation, genetic resource, medicinal plant

## 1. INTRODUÇÃO

*Monteverdia ilicifolia* (Mart. ex Reissek) Biral, pertencente à família Celastraceae, é uma planta de porte arbustivo a arbóreo, nativa do Brasil, que ocorre preferencialmente nos estados da Região Sul [1, 2]. É amplamente utilizada na medicina popular por meio da infusão das folhas, apresentando eficácia comprovada para o tratamento de gastrites e úlceras gástricas [3, 4]. Devido à presença de espinhos nas margens de suas folhas e de suas propriedades medicinais, é conhecida popularmente como espinheira-santa [5].

Por apresentar alto valor medicinal, a espinheira-santa é uma espécie que vem sofrendo pelo extrativismo predatório das suas árvores em florestas nativas, com a finalidade de comercialização das folhas, o que pode levar a sua extinção [6]. Uma forma de minimizar a pressão sobre as populações naturais desta espécie seria o extrativismo sustentável orientado pelo Ministério do Meio Ambiente [6] e também o cultivo para fins econômicos com obtenção das mudas por meio de sementes.

A obtenção de sementes de alta qualidade tem grande importância para a propagação sexuada de *M. ilicifolia*, uma vez que esta é a principal forma de propagação da espécie [7]. Os frutos da espinheira-santa são do tipo cápsula bivalvar [1] e amadurecem entre outubro e fevereiro, na região sul do Rio Grande do Sul, quando o pericarpo fica alaranjado, avermelhado ou amarronzado [8, 9]. Esse período compreende a época ideal para coletar os frutos e obter as sementes que são inteiramente cobertas por um arilo branco e suculento e, quando maduras, são castanhas, apresentam textura lisa e brilhante e endosperma abundante [1, 10].

As sementes desta espécie são classificadas como ortodoxas e oleaginosas. A percentagem de germinação mantém-se em torno de 85% por 120 dias, quando as sementes são conservadas em câmara fria, a 5°C e 85% de umidade relativa do ar [11, 12]. No entanto, a viabilidade cai drasticamente quando as sementes são mantidas sob condições ambientais não controladas. A melhor temperatura para germinação está entre 20 °C e 30 °C [12].

Apesar da existência de procedimentos padronizados para condução do teste de germinação de muitas espécies de interesse econômico, o emprego de testes rápidos é imprescindível para avaliação da qualidade fisiológica de sementes [13], sobretudo para espécies florestais cujo período de execução do teste é longo. No caso das sementes de espinheira-santa, o teste de germinação apresenta duração de 21 dias, devendo ser conduzido sobre vermiculita ou areia, sob temperaturas constantes de 20 °C ou 25 °C ou temperaturas alternadas de 20-30 °C [12, 14].

Há indicação da possibilidade de avaliar a viabilidade das sementes de espinheira-santa pelo teste de tetrazólio, empregando solução de tetrazólio na concentração de 0,25%, a 30 °C, por 48 horas [15]. O teste de tetrazólio, que tem como objetivo a distinção das sementes viáveis das não viáveis [16], tem se mostrado como um método rápido e preciso para a análise da qualidade de sementes de diferentes espécies vegetais [17, 18, 19, 20].

Neste sentido teve-se como objetivos avaliar a qualidade fisiológica das sementes de *M. ilicifolia* em testes de germinação, emergência e ao longo do armazenamento e determinar o tipo de corte da semente, o período de exposição e a eficácia de diferentes concentrações de solução de 2,3,5 trifenil cloreto de tetrazólio para avaliação da viabilidade das sementes de espinheira-santa.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Análise de Sementes da Embrapa Clima Temperado e em casa-de-vegetação no Câmpus Pelotas - Visconde da Graça (CaVG) do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Sul-rio-grandense (IFSul), Pelotas, Rio Grande do Sul. As sementes foram obtidas de 12 acessos (Ac116, Ac117, Ac118, Ac122, Ac123, Ac127, Ac129, Ac130, Ac133, Ac135, Ac136 e Ac137) de *M. ilicifolia* do Banco Ativo de Germoplasma de Espinheira-Santa da Embrapa Clima Temperado/IFSul. Cada acesso corresponde a um grupo de plantas (progênies de meios-irmãos) obtidas a partir de sementes que foram coletadas de uma planta matriz proveniente de alguma região do estado do Rio Grande do Sul, como descrito no trabalho de Mariot (2005) [8].

Ramos de espinheira-santa com frutos maduros e indeiscentes, de cada um dos acessos, foram coletados na primeira quinzena do mês de dezembro de 2016. Estes ramos foram mantidos na sombra, em local seco e arejado durante duas semanas, para que ocorresse a abertura da cápsula dos frutos e a secagem do arilo [21, 22]. As sementes maduras, com coloração castanha, foram extraídas manualmente dos frutos com a retirada do arilo seco [10], e armazenadas a 4 °C e 50% de umidade relativa do ar até o momento das avaliações, que ocorreu a partir de fevereiro de 2017. Somente sementes com coloração castanha no pericarpo foram utilizadas por ser considerado um indicativo seguro da maior maturidade das sementes [10]. Antes de cada avaliação, para desinfecção, as sementes foram imersas em solução de hipoclorito de sódio a 2,0-2,5% por 2 minutos e lavadas em água destilada por 5 minutos.

### **2.1. Teste de germinação**

Para a realização deste teste, foram utilizadas 200 sementes de cada um dos 12 acessos e um bulk de 200 sementes de todos os acessos. O teste de germinação foi conduzido em germinador, no mês de fevereiro de 2017, com uso de vermiculita como substrato, em caixas gerbox com tampa, mantidas sob temperatura constante de 25 °C, com fotoperíodo de 8 horas de luz, com iluminação proveniente de lâmpadas fluorescentes de luz branca e fria do próprio equipamento.

A primeira contagem de plântulas normais (com 1 cm de raiz e 1 cm de parte aérea) foi realizada aos 14 dias e a última, aos 21 dias após a semeadura (DAS), como recomendado nas Instruções de Análise de Sementes de Espécies Florestais [14]. A partir das contagens diárias de sementes germinadas, foi determinada a porcentagem de germinação, tempo médio de germinação (TMG) [23] e índice de velocidade de germinação (IVG) [24].

### **2.2. Teste de emergência**

Para a realização deste teste, foram utilizadas 200 sementes de cada um dos 12 acessos e um bulk de 200 sementes de todos os acessos. O teste de emergência foi conduzido em casa de vegetação, no mês de fevereiro de 2017.

A semeadura foi realizada a 1,5-2,0 cm de profundidade, em bandejas multicelulares de 132 células, contendo mistura de substrato comercial (Plantmax®) e vermiculita (volume de expansão de 0,1 m<sup>3</sup>) na proporção de 1:1. As bandejas foram mantidas em casa-de-vegetação com irrigação por nebulização três vezes ao dia.

As contagens das plântulas emergidas ocorreram diariamente a partir da emergência da primeira plântula, até a estabilização. A partir das contagens diárias de plântulas emergidas, foi determinada a porcentagem de emergência, tempo médio de emergência (TME) [23] e índice de velocidade de emergência (IVE) [24].

### **2.3. Qualidade fisiológica das sementes ao longo do armazenamento**

Para avaliar a capacidade de conservação da qualidade fisiológica das sementes, mensalmente, de fevereiro a agosto, aos 30, 60, 90, 120, 150, 180 e 210 dias de armazenamento, um bulk de 200 sementes dos 12 acessos foi submetido ao teste de emergência, seguindo o mesmo procedimento descrito no item 2.2. Foram avaliados o dia de início da emergência e a porcentagem de emergência para todo o período de armazenamento e o IVE e TME para os quatro primeiros meses de armazenamento.

### **2.4. Teste de tetrazólio**

Neste teste, foi utilizado um bulk de 200 sementes de todos os acessos. Inicialmente, foram realizados testes preliminares para determinar o corte e período de exposição das sementes à solução de tetrazólio mais adequados para a espinheira-santa. Três tipos de cortes da semente (lateral, transversal no sentido do comprimento e longitudinal no sentido da espessura) e três

períodos de exposição à solução de tetrazólio (60, 180 e 240 minutos) foram avaliados. Foi estabelecido que o corte longitudinal no sentido da espessura com exposição do eixo embrionário e o período de exposição à solução de tetrazólio de 180 minutos foram os mais adequados.

Para realização do teste de tetrazólio, as sementes foram pré-condicionadas em água destilada por 18 horas a 25 °C e, após, seccionadas longitudinalmente. Uma das metades de cada semente foi submersa em solução de 2,3,5 trifenil cloreto de tetrazólio, nas concentrações de 0,10, 0,25 e 0,50% e mantidas no escuro, a 25 °C, durante 3 horas.

A seguir, as sementes foram avaliadas quanto à uniformidade e à intensidade de coloração apresentada pelos tecidos, sendo classificadas em duas categorias: viáveis, quando o embrião e endosperma ficaram totalmente corados de rosa ou carmim, e com tecidos de aspecto normal e firme; não viáveis, quando não estavam totalmente corados.

Os critérios para avaliação da área máxima permitida de tecido não corado, flácido ou necrosado foram baseados nas indicações das Regras para Análise de Sementes para as sementes do gênero *Euonymus* L. que também pertence à família Celastraceae [16].

## 2.5. Análise estatística

Todos os experimentos foram instalados em delineamento completamente casualizado com quatro repetições de 50 sementes, em esquema unifatorial. Os dados obtidos foram analisados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro Wilk, à homocedasticidade, pelo teste de Hartley, e à independência dos resíduos, por análise gráfica. Posteriormente, os dados foram submetidos à análise de variância, pelo teste F ( $p \leq 0,05$ ).

Constatando-se significância estatística, os efeitos dos acessos foram comparados pelo teste de Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ) para as variáveis de porcentagem de germinação, porcentagem de emergência, TMG, TME, IVG e IVE, enquanto que o período de armazenamento (dias após a colheita - DAC) e o teste de tetrazólio (concentração da solução de tetrazólio, em %) foram comparados por modelos de regressão ( $p \leq 0,05$ ), conforme segue:  $y = y_0 + ax$ ;  $y = y_0 + a/x$ , onde:  $y$  = variável resposta;  $y_0$  = variável resposta correspondente ao ponto mínimo ou máximo da curva;  $a$  = declividade da curva;  $x$  = período de armazenamento (dias) e teste de tetrazólio (%). A seleção do modelo foi baseada em baixo resíduo; baixo p-valor; e, alto  $R^2$  e  $R^2$  adj.

Para realizar as análises estatísticas foi utilizado o programa estatístico SAS [25].

## 3. RESULTADOS

### 3.1. Teste de germinação

No teste de germinação ( $F=1,78$ ,  $p=0,0869$ ) e no tempo médio de germinação ( $F=1,72$ ,  $p=0,0998$ ), não foram observadas diferenças significativas entre os acessos avaliados. Os 12 acessos apresentaram uniformidade na porcentagem de germinação, com média geral de 67,3% e tempo médio de germinação de 18,1 dias (Tabela 1).

Os acessos 123, 129, 133 e 135 apresentaram os menores valores de IVG e os demais apresentaram IVG igual ou superior a 1,8 (Tabela 1).

### 3.2. Teste de emergência

As primeiras plântulas emergidas foram observadas aos 23 dias após a semeadura, nos acessos 127, 129, 133 e 135. As plântulas do acesso 116 foram as últimas a emergirem, o que ocorreu no 29º dia após semeadura (Tabela 1). Entre o 29º e o 36º dia após a semeadura, os 12 acessos apresentaram plântulas emergindo, e no 32º dia, ocorreu o pico de emergência, com média de 6,4 plântulas emergindo por acesso.

Registrou-se diferença entre os acessos avaliados quanto à porcentagem de emergência, IVE e TME. Os acessos 117, 122, 127, 130 e 136 apresentaram os maiores valores de emergência,

com média de 87%, enquanto que os acessos 118, 123, 129, 133, 135 e 137 apresentaram valores intermediários de emergência, com média de 76%. Os acessos 127 e 136 se destacaram por apresentarem os maiores valores de IVE dentre todos os acessos avaliados, estando dentro do grupo formado pelos acessos com maior porcentagem de emergência, além disso estão dentro do grupo formado pelos acessos com menor tempo médio de emergência (TME). O acesso 116 apresentou o menor percentual de emergência (61%) e IVE e o maior tempo médio de emergência (TME) (Tabela 1).

*Tabela 1: Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de 12 acessos (Ac) de Monteverdia ilicifolia por meio da porcentagem de germinação, índice de velocidade de germinação (IVG), tempo médio de germinação (TMG), porcentagem de emergência, índice de velocidade de emergência (IVE), tempo médio de emergência (TME) e MG (Média Geral) dos 12 acessos.*

Ac	Germinação (%)	IVG	TMG (dias)	Emergência (%)	IVE	TME (dias)
Bulk	70±12,65 <sup>NS</sup>	1,94±0,44a*	18,41±1,20 <sup>NS</sup>	84±5,89a	1,11±0,10c	38,63±1,09a
116	72±2,52	1,80±0,12a	18,32±0,57	61±10,13c	0,88±0,16d	35,54±0,60b
117	72±6,32	1,88±0,19a	18,37±0,27	91±4,76a	1,48±0,12b	31,66±1,70c
118	69±4,76	2,00±0,15a	17,51±0,29	73±9,00b	1,35±0,21b	27,51±2,00e
122	74±22,33	2,12±0,19a	18,16±0,31	89±1,15a	1,50±0,03b	30,27±0,89d
123	62±17,81	1,65±0,08b	18,79±0,15	77±12,05b	1,33±0,26b	29,43±2,19d
127	68±24,66	1,95±0,26a	17,78±0,46	83±4,16a	1,63±0,10a	25,89±1,71e
129	64±5,66	1,70±0,14b	18,12±0,29	79±8,08b	1,41±0,11b	28,37±1,12e
130	77±6,81	2,15±0,27a	18,11±0,61	81±6,22a	1,37±0,13b	30,11±1,21d
133	63±7,90	1,69±0,19b	17,84±0,75	75±8,23b	1,26±0,15c	30,21±1,19d
135	44±8,50	1,35±0,18b	17,62±0,84	74±4,12b	1,35±0,14b	28,00±1,71e
136	71±9,87	1,83±0,26a	18,56±0,45	92±2,83a	1,72±0,03a	27,26±1,00e
137	71±6,63	1,89±0,18a	18,02±0,12	79±3,00b	1,23±0,02c	32,50±0,85c
MG	67,3±13,69	1,83±0,27	18,1±0,56	79,5±10,22	1,38±0,24	29,7±3,64

\*Médias ( $\pm$  desvio padrão) acompanhadas por mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ) comparando os acessos. NS: não significância pelo teste F ( $p \leq 0,05$ ) da análise de variância.

### 3.3. Conservação da qualidade fisiológica das sementes ao longo do armazenamento

Na avaliação da qualidade fisiológica das sementes ao longo do período de armazenamento, observou-se que para o percentual de emergência ( $F = 88,5787$ ,  $p < 0,0001$ ), IVE ( $F = 149,6869$ ,  $p < 0,0001$ ) e TME ( $F = 55,8739$ ,  $p < 0,0001$ ), os dados ajustaram-se adequadamente ao modelo de regressão linear.

Foram verificados decréscimos no percentual de emergência ao longo do período de armazenamento. Aos 60 dias, após a colheita das sementes, houve decréscimo de 11%, aos 150 dias o decréscimo foi de 46% e aos 210 dias de armazenamento o decréscimo na emergência das sementes foi de 69 %, quando comparados aos 30 dias (Figura 1A). A partir do modelo estabelecido, aos 30 dias de armazenamento das sementes, houve 96% de emergência, enquanto que aos 210 dias, esse valor caiu para 30% (Figura 1A).

Da mesma forma para o IVE, ao longo do período de armazenamento das sementes, os decréscimos observados foram de 13% após 60 dias de armazenamento, 27% após 90 dias e 40% após 120 dias, comparativamente à primeira época de avaliação (30 dias) (Figura 1B).

Porém, para o TME, considerando os mesmos períodos de armazenamento, ocorreram acréscimos de 23, 46 e 69%, respectivamente (Figura 1C). Após 30, 60 e 90 dias de armazenamento, as primeiras plântulas emergiram, respectivamente, aos 18, 16 e 19 dias, sendo que a partir dos 120 dias, a emergência das primeiras plântulas iniciou-se após 26 dias a partir da semeadura.

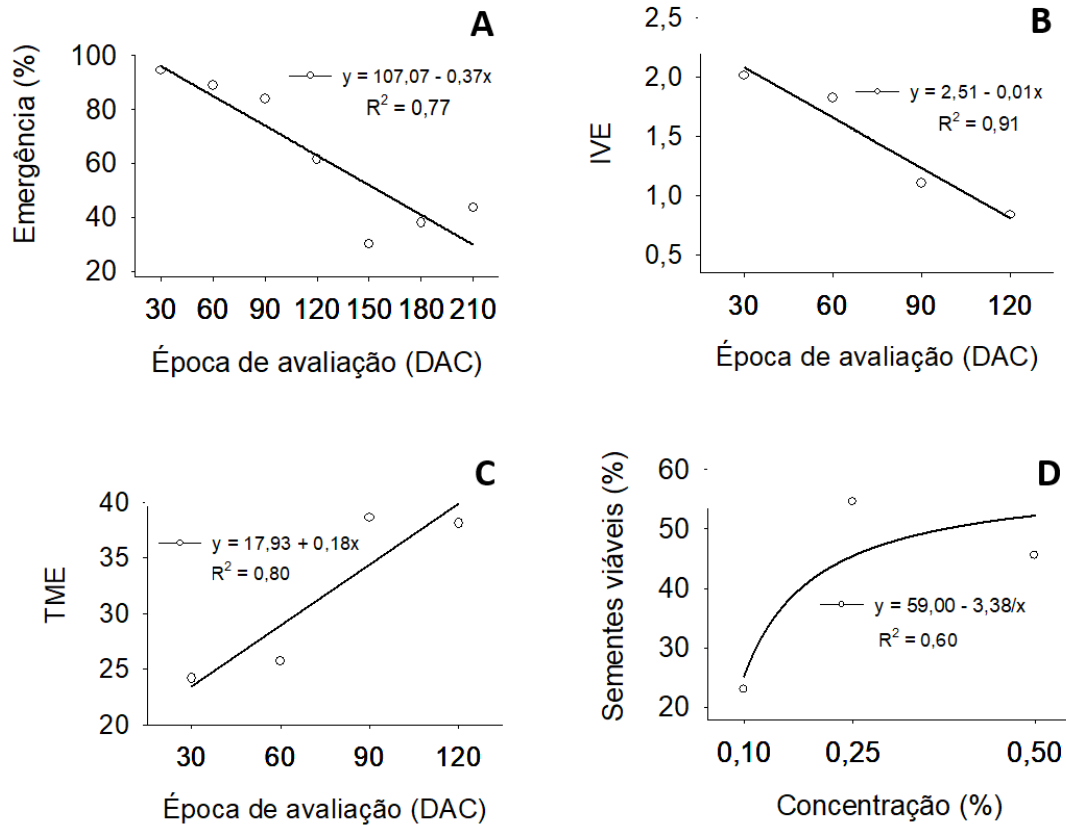


Figura 1: Percentual de sementes viáveis de acessos de *Monteverdia ilicifolia* Mart. ex. Reissek do Banco Ativo de Germoplasma de Espinheira-Santa da Embrapa Clima Temperado/Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Sul-rio-grandense, Pelotas, RS. A. Porcentagem de emergência de plântulas provenientes de sementes armazenadas por até 210 dias. B. Índice de velocidade de emergência (IVE) de plântulas provenientes de sementes armazenadas por até 120 dias. C. Tempo médio de emergência (TME) de plântulas provenientes de sementes armazenadas por até 120 dias. D. Porcentagem de sementes viáveis, avaliadas pelo teste de tetrazólio, empregando diferentes concentrações da solução de tetrazólio. As barras verticais representam os intervalos de confiança a 95%. DAC = dias após colheita de sementes.

### 3.4. Teste de tetrazólio

Os dados da viabilidade de sementes avaliados pelo teste de tetrazólio ajustaram-se adequadamente ao modelo de regressão polinomial inverso de primeira ordem ( $F = 14,7273$ ,  $p = 0,0033$ ). De acordo com este modelo, na concentração de tetrazólio de 0,10%, obteve-se 25% de sementes viáveis; na concentração de 0,25%, obteve-se 46% de sementes viáveis e, na concentração 0,50%, foram observadas 52% de sementes viáveis. Ocorreram acréscimos nos valores de sementes viáveis de 80 e 107% para as concentrações de 0,25 e 0,50%, respectivamente, quando comparadas a 0,10% (Figura 1D).

A metodologia utilizada para o corte da semente, longitudinal, no eixo embrionário, antes da imersão na solução de tetrazólio (Figura 2A), permitiu a exposição do embrião (Figura 2B), facilitando a coloração e posterior avaliação da viabilidade das sementes, após três horas. O corte das sementes favoreceu a absorção mais rápida da solução de tetrazólio pelos tecidos, reduzindo o período de exposição das sementes à solução. Os tecidos vivos apresentaram coloração carmim (Figuras 2C e D) e aqueles em processo de deterioração ou lesionados apresentaram coloração branca leitosa, amarelada ou não coraram (Figuras 2E e F).

Nas concentrações de 0,25% e 0,50% (Figura 2C), as sementes viáveis apresentaram embrião corado de carmim intenso. Na solução de tetrazólio a 0,10% a coloração do embrião apresentou coloração carmim menos intensa com tons amarelados (Figura 2D). Os intervalos de confiança mostram que houve diferença entre as concentrações de tetrazólio utilizadas.



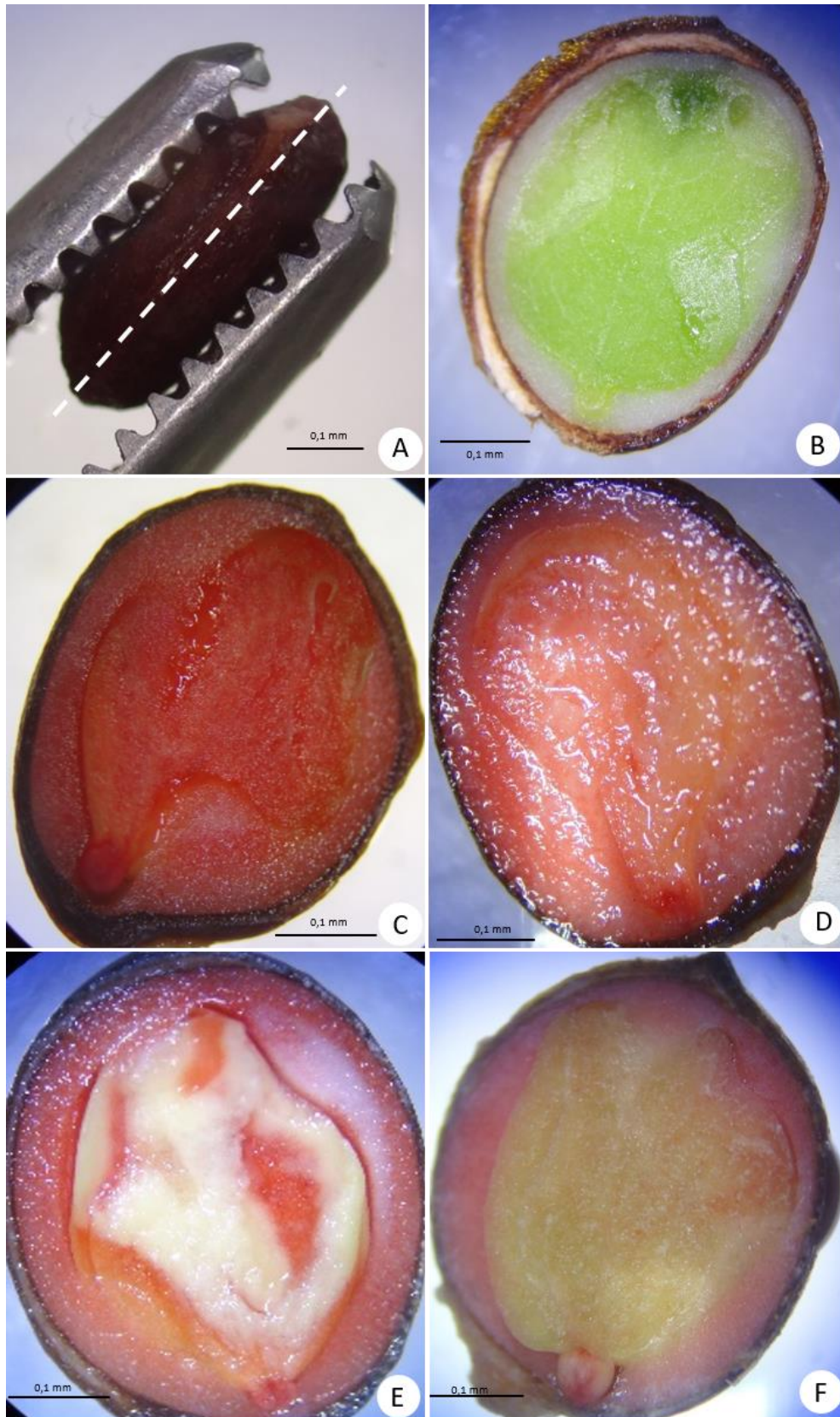


Figura 2: Teste de tetrazólio em sementes de *Monteverdia ilicifolia* Mart. ex. Reissek (Celastraceae). A. Corte longitudinal realizado. B. Semente cortada longitudinalmente expondo o embrião. C. Semente viável submetida a solução de tetrazólio na concentração de 0,50%. D. Semente viável submetida a solução de tetrazólio na concentração de 0,10%. E. Semente inviável submetida a solução de tetrazólio na concentração de 0,50%. F. Semente inviável submetida a solução de tetrazólio na concentração de 0,10%.

#### 4. DISCUSSÃO

A porcentagem média de germinação obtida no presente estudo (67%) foi inferior à de outros estudos, que registraram valores médios acima de 80% [10, 12, 26]. Nestes estudos, a contagem final de sementes germinadas foi realizada entre 35 e 40 dias após a semeadura. No entanto, no presente estudo, adotou-se a metodologia indicada em Brasil (2013) [14], sendo a última contagem realizada aos 21 dias após a semeadura.

Sabe-se que a temperatura, o período de armazenamento e as condições ambientais no armazenamento interferem na germinação das sementes de *M. ilicifolia* [26]. No entanto, esses fatores estavam de acordo com o recomendado para a espécie [12, 15, 26]. Neste sentido o período de 21 dias, utilizado no presente trabalho como contagem final, provavelmente não tenha sido suficiente para que as sementes com potencial germinativo germinassem.

A maioria dos acessos avaliados apresentou IVG superior a 1,8, o qual é três vezes maior que o IVG registrado para *M. ilicifolia* em experimento realizado por Scalon, Ramos e Vieira (2005) [26], sob condições semelhantes ao do presente trabalho. Segundo Nakagawa (1999) [27], quanto maior o IVE, mais vigoroso é o lote de sementes.

No teste de germinação, sob condições favoráveis de temperatura, luz, substrato e umidade, não houve diferença entre os acessos quanto à porcentagem e tempo médio de germinação. Por outro lado, no teste de emergência em casa de vegetação, no qual as condições ambientais não são totalmente controladas, ocorreu diferença entre os acessos para todas as variáveis analisadas. Ainda assim a média do percentual de emergência (87%) ficou dentro do esperado para *M. ilicifolia*, de acordo com outros trabalhos [7, 10, 12, 26].

O percentual de emergência variou de 61% a 92% entre os 12 acessos. Os acessos avaliados também apresentaram grande variação no tempo médio de emergência, fato que também foi observado por Mariot (2005) [8]. Os autores verificaram acessos de *M. ilicifolia* que apresentaram de 23,14 a 66,53 dias, com média de 39,97 dias da semeadura a emergência.

Essa variação provavelmente esteja relacionada a variabilidade genética presente nos diferentes acessos avaliados, uma vez que cada acesso corresponde a progênie oriunda de sementes coletadas de uma planta matriz proveniente de alguma região do Rio Grande do Sul. Um fato que corrobora essa hipótese é a identificação de ampla variabilidade genética para caracteres morfológicos e fisiológicos em acessos de *M. ilicifolia* do Banco Ativo de Germoplasma de Espinheira-Santa da Embrapa Clima Temperado/IFRSul [28, 29].

Os testes realizados em laboratório nem sempre expressam com precisão a qualidade fisiológica das sementes, pois não identificam diferenças menos acentuadas entre lotes de alta qualidade. Enquanto a emergência em campo ou casa-de-vegetação, sob influência de condições ambientais não controladas, expõe as sementes a condições menos favoráveis, permitindo identificar diferenças menos perceptíveis [30].

Sementes de *M. ilicifolia* armazenadas por 120 dias em câmara fria, sob temperatura de 5 °C e UR do ar de 85%, apresentaram percentual de germinação de 85%, e de 78% de germinação sob temperaturas entre 2 e 15 °C [12, 26]. No presente estudo, após 120 dias, houve 63% de emergência, decréscimo de 34,7% quando comparado aos 30 dias e diminuição da velocidade de emergência e conseqüente aumento no número de dias necessários para a emergência de plântulas. Esta diferença pode estar associada à influência dos fatores ambientais nos testes de emergência em casa-de-vegetação, que não estão presentes em testes de germinação sob condições controladas. Sementes de *M. ilicifolia* semeadas logo após a colheita apresentaram emergência das primeiras plântulas em cerca de três semanas; no entanto, o período de germinação pode estender-se até seis meses [31].

A porcentagem de sementes viáveis observadas no teste de tetrazólio ficou abaixo do valor médio encontrado para o percentual de germinação do bulk no presente estudo e abaixo dos valores registrados para a espécie [15]. Scheffer et al. (1999) [15] obteve 68,4% de viabilidade para sementes de *M. ilicifolia* submetidas à solução de tetrazólio a 0,25% de concentração por 48 horas e 57,5% de viabilidade para sementes embebidas em solução de tetrazólio a 0,10% por 24 horas.

O rigor adotado na avaliação da coloração, onde a semente viável deveria apresentar 100% de coloração, pode ter subestimado a porcentagem de viabilidade das sementes. Sugere-se uma



reavaliação dos critérios para classificação das sementes em viáveis e não viáveis, possibilitando a definição de limites menos rigorosos, como, por exemplo, avaliando a possibilidade de inclusão na categoria de sementes viáveis aquelas que apresentarem mais de 50% dos tecidos corados, assim como adotado para outras espécies vegetais [20, 32, 33]. No entanto, é possível obter resultados da viabilidade de sementes de *M. ilicifolia* pelo teste de tetrazólio em apenas três horas, não sendo necessário embeber as sementes durante 24 ou 48 horas, como anteriormente havia sido sugerido.

## 5. CONCLUSÃO

Na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de espinheira-santa pelo teste de germinação, é indicado que a contagem final das sementes germinadas ocorra entre 35 a 40 dias, como apontado em outros estudos, de modo a permitir melhor expressão do potencial máximo de germinação das sementes da espécie.

O teste de emergência, IVE e TME permitiram diferenciar os acessos avaliados quanto à qualidade fisiológica de suas sementes.

As sementes de *M. ilicifolia* podem ser armazenadas sob temperatura média de 5 °C por até 120 dias, quando ainda permanecem viáveis, apresentando percentual de emergência acima de 60%.

Para avaliação rápida da viabilidade de sementes de *M. ilicifolia* pelo teste de tetrazólio, recomenda-se realização de corte longitudinal, no eixo embrionário, e a exposição à concentração de 0,25% ou 0,50% da solução de tetrazólio, durante 3 horas. No entanto, o critério de avaliação da viabilidade pelo padrão de coloração das sementes ainda precisa ser reavaliado.

## 6. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio a esta pesquisa.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Carvalho-Okano RM. Estudos taxonômicos do gênero *Maytenus* Mol. emend. Mol. (Celastraceae) do Brasil extra-amazônico [tese]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas; 1992. 316 p.
2. Guarino ESG, Molina AR, Barbieri RL. Distribuição potencial de espinheira-santa (*Monteverdia ilicifolia* e *M. aquifolia*) e sua relação com os bancos ativos de germoplasma da Embrapa. Pelotas: Embrapa Clima Temperado; 2019. 15 p.
3. Jorge RM, Leite JPV, Oliveira AB, Tagliati CA. Evaluations of antinociceptive, anti-inflammatory and antiulcerogenic activities of *Maytenus ilicifolia*. J Ethnopharm. 2004 Sep;94(1):93-100, doi: 10.1016/j.jep.2004.04.019.
4. Dutra RC, Campos MM, Santos AR, Calixto, JB. Medicinal plants in Brazil: Pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives. Pharmac Res. 2016 Oct;112:4-29, doi: 10.1016/j.phrs.2016.01.021.
5. Magalhães PM. Agrotecnologia para cultivo de espinheira-santa [Internet]. Campinas (SP): Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrônomicas; 2002 Jan. [atualizado em 15 de maio de 2011; citado em 16 de julho de 2020]. Disponível em: <https://www.cpqba.unicamp.br/plmed/artigos/agroespsant.htm>.
6. Brasil. Ministério do Meio Ambiente. Espinheira-santa: boas práticas para o extrativismo sustentável orgânico [Internet]. Brasília (DF): MMA; 2017 [citado em 16 de julho de 2020]. 74 p. Disponível em: <https://antigo.mma.gov.br/publicacoes/desenvolvimento-rural/category/200-extrativismo-sustentavel>.
7. Kowalski APJ, Signor D, Machado EM, Biasi LA, Lima DM. Influência da qualidade da semente e do tipo de substrato na formação de mudas de espinheira-santa. Sci Agraria. 2008;9(1):15-20, doi: 10.5380/rsa.v9i1.10127.
8. Mariot MP. Recursos genéticos de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* e *Maytenus aquifolium*) no Rio Grande do Sul [tese]. Pelotas (RS): Universidade Federal de Pelotas; 2005. 131 p.

9. Perleberg TD. Conservação ex situ e biologia reprodutiva da espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia*, Celastraceae) [tese]. Pelotas (RS): Universidade Federal de Pelotas; 2017. 90 p.
10. Negrelle RRB, Doni ME, Ohlson OC, Herr S. Tecnologia de produção de sementes de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss. - Celastraceae). *Rev Bras Sementes*. 1999;21(1):76-81.
11. Eira MTS, Dias TAB, Mello CMC. Comportamento fisiológico de sementes de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia*) no armazenamento. *Hortic Bras*. 1995 Mai;13(1):32-34.
12. Rosa SGT. Caracterização das sementes de *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss, espinheira santa e viabilidade de sua propagação sexuada. Vol. 2, Plantas medicinais aromáticas e condimentares: Avanços na pesquisa agrônômica. Botucatu (SP): UNESP; 1998. p. 33-51.
13. Deminicis BB, Vieira HD, Silva RF. Teste de tetrazólio para avaliação da qualidade de sementes de *Clitoria ternatea* L. *Rev Bras Sementes*. 2009;31(2):54-62.
14. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instruções para análise de sementes de espécies florestais [Internet]. Brasília (DF): MAPA; 2013. [citado em 16 de julho de 2020]. 98 p. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/sementes-e-mudas/publicacoes-sementes-e-mudas/instrucoes-para-analise-de-sementes-de-especies-florestais>.
15. Scheffer MC, Doni Filho L, Koehler HS, Basaglia DBG, Ohlson O. Comparison between the different methods for evaluating the physiological quality of seeds of *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss. – Celastraceae. *Acta Hort*. 1999;1(502):261-264, doi: 10.17660/ActaHortic.1999.502.42.
16. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes [Internet]. Brasília (DF): MAPA; 2009. [citado em 16 de julho de 2020]. 395 p. Disponível em: [https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/arquivos-publicacoes-insumos/2946\\_regras\\_analise\\_\\_sementes.pdf](https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/arquivos-publicacoes-insumos/2946_regras_analise__sementes.pdf).
17. Abbade LC, Takaki M. Teste de tetrazólio para avaliação da qualidade de sementes de *Tabebuia roseoalba* (Ridl.) Sandwith - Bignoniaceae, submetidas ao armazenamento. *Rev Árvore*. 2014 Mar;38(2):233-240, doi: 10.1590/S0100-67622014000200003.
18. Dantas BF, Matias JR, Ribeiro RC. Teste de tetrazólio para avaliar viabilidade e vigor de sementes de espécies florestais da Caatinga. *Inform Abrates*. 2015 Mai;25(1):60-64.
19. Nogueira NW, Torres SB, Freitas RMO. Teste de tetrazólio em sementes de Timbaúba. *Ciências Agr*. 2014 Dez;35(6):2967-2976, doi:10.5433/1679-0359.2014v35n6p2967.
20. Garlet J, Souza GF, Delazeri P. Teste de tetrazólio em sementes de *Cassia leptophylla*. *Encicl Biosfera Goiânia*. 2015 Mai;11(21):1800-1808.
21. Mariot MP, Barbieri RL. Espinheira-santa: uma alternativa de produção para a pequena propriedade. Pelotas (RS): Embrapa Clima Temperado; 2006. 30 p.
22. Scheffer MC, Corrêa Júnior C, Radomski MI. Cultivo e beneficiamento da espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex. Reiss – Celastraceae). Curitiba: Instituto Emater/MDA; 2009. 40 p.
23. Labouriau LG. A germinação das sementes. Washington: Secretaria Geral da Organização dos Estados Americanos; 1983. 174 p.
24. Maguire JD. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Sci*. 1962 Mar;2(2):176-77, doi:10.2135/cropsci1962.0011183X000200020033x.
25. SAS Institute. SAS System for Windows, version 9.4. Cary, NC, USA: SAS Institute Inc. 2016.
26. Scalón SPQ, Ramos MBM, Vieira MC. Germinação de sementes de *Maytenus ilicifolia* Mart. ex. Reiss: armazenamento, embalagens e tratamentos pré-germinativos. *Rev Bras Plantas Med*. 2005;7(2):32-36.
27. Nakagawa J. Testes de Vigor Baseados no Desempenho das Plântulas. In: Krzyzanowski FC, Vieira RD, França Neto JB. Vigor de sementes: conceitos e testes. Londrina: Abrates; 1999. p. 2.1-2.24.
28. Mariot MP, Barbieri RS, Sinigaglia C, Ribeiro MV. Variabilidade em matrizes de acessos de espinheira-santa. *Ciência Rural*. 2008 Mar-Abr;38(2):351-357.
29. Mariot MP, Barbieri RS, Corrêa F, Bento LHG. Variabilidade genética para caracteres morfológicos e fisiológicos em espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* (Schrad.) Planch. e *M. aquifolium* Mart.). *Rev Bras Pl Med*. 2009;11(3):310-316.
30. Menezes NL, Garcia DC, Bahry CA, Mattioni NM. Teste de condutividade elétrica em sementes de aveia preta. *Rev Bras Sementes*. 2007 Ago; 29(2):138-142, doi: 10.1590/S0101-31222007000200019.
31. Montanari Júnior I, Scheffer MC, Radomski MI. Cultivo de espinheira-santa. Vol. 1, Conservação e uso sustentável de plantas medicinais e aromáticas: *Maytenus* spp., espinheira-santa. Brasília (DF): Ibama; 2004.; p. 163-179.
32. Costa CJ, Santos CP. Teste de tetrazólio em sementes de leucena. *Rev Bras Sementes*. 2010 Jun;32(2):066-072, doi: 10.1590/S0101-31222010000200008.
33. Nery MC, Carvalho MLM, Oliveira LM. Teste de tetrazólio para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de melancia. *Semina*. 2007 Ago;28(3):365-372, doi: 10.5433/1679-0359.2007v28n3p365.