

Pastagens medicinais. Avaliação da capacidade germinativa de diferentes populações de *Bellis perennis* e *Bellis sylvestris* colhidas no Alentejo e Extremadura espanhola.

Medicinal pastures. Seed germinability assessment of *Bellis perennis* and *Bellis sylvestris* accessions from Alentejo and Spanish Extremadura.

Orlanda Póvoa⁽¹⁾, Noémia Farinha⁽¹⁾, Vanda Generoso⁽¹⁾

⁽¹⁾Escola Superior Agrária de Elvas
opovoa@gmail.com

Resumo

Com o objectivo de contribuir para o conhecimento da biologia reprodutiva da margarida (*Bellis perennis* e *Bellis sylvestris*), fez-se um estudo preliminar da capacidade germinativa de *acessions* silvestres destes *taxa* colhidos no Alentejo e Extremadura espanhola.

O tratamento para quebra de dormência das sementes foi a pré-refrigeração a 5°C durante 7 dias e um control. A temperatura de incubação foi de 20 °C e testou-se também o efeito da duração do fotoperíodo na germinação das sementes (0 horas-escuro e 12 h-luz). As sementes testadas foram colhidas em prados naturais durante o ano de 2009; uma *acession* de *B. perennis* foi colhida simultaneamente em 2009 e 2010.

Os melhores resultados foram obtidos com fotoperíodo de 12 h de luz e sem pré-tratamento de quebra de dormência; no entanto, na modalidade de 0 h de fotoperíodo (escuro), houve germinação de um maior número de *acessions*. O melhor resultado (48,5 %) foi obtido para a *acession* de *B. perennis* colhida em Marvão.

Com estes resultados preliminares, conclui-se que existe uma enorme biodiversidade relativa à biologia reprodutiva das *acessions* estudadas. A germinação obtida para as espécies estudadas foi muito baixa para fins comerciais. Estudos futuros devem ser efectuados com outras *acessions* regionais, outros tratamentos de quebra de dormência e condições de acondicionamento da semente.

Palavras-chave: pastagens medicinais, *Bellis perennis*, *Bellis sylvestris*, germinação, biodiversidade.

Abstract

In order to contribute to the knowledge of the reproductive biology of daisy (*Bellis perennis* and *Bellis sylvestris*), a preliminary study was carried out to access the germination rate of wild *acessions* of these *taxa* harvested in the Alentejo and spanish Extremadura.

A pre-shilling treatment (5 ° C for 7 days) to break seed dormancy was compared with a control. Incubation temperature was 20 ° C. Two modalities of photoperiod were tested (0 hours and 12 h dark-light). The tested seeds were harvested in natural meadows during 2009; one *acession* of *B. perennis* was harvested in 2009 and in 2010.

The best results were obtained with a photoperiod of 12 h light and without seed dormancy breaking treatment; however, a larger number of *acessions* germinated at 0 h of light (dark). The best result (48.5%) was obtained with the Marvão 2009 *acession*.

These preliminary results, allow us to conclude that there is an enormous biodiversity on the reproductive biology of the studied *acessions*. The germination rate obtained was relatively low

for commercial purposes; so future studies should be carried out with other regional *accessions*, with other treatments to break seed dormancy, as well as different seed storage conditions.

Keywords: medicinal pastures, *Bellis perennis*, *Bellis sylvestris*, germination, biodiversity.

1. Introdução

Com o objectivo de contribuir para o conhecimento da biologia reprodutiva da margarida (*Bellis perennis* e *Bellis sylvestris*), visando o seu interesse para utilização em pastagens medicinais ou em prados floridos, fez-se um estudo preliminar da capacidade germinativa de *accessions* silvestres destes *taxa* colhidos no Alentejo e Extremadura espanhola no âmbito do projecto RITECA.

A utilização de espécies com propriedades medicinais em pastagens pode ser interessante e útil. No entanto, há que aferir se as propriedades medicinais referenciadas na bibliografia para humanos também se aplicam às espécies exploradas em produção animal e, mais importante ainda, se os animais as consomem na pastagem ou em silagem. As aplicações potenciais são interessantes, sobretudo para a produção animal em modo biológico em que existem restrições à utilização de fármacos. Para os restantes produtores, a qualidade de vida dos animais pode ser melhorada e os rendimentos de produtividade obtidos podem ser vantajosos.

Na gestão sustentável de pastagens existe um interesse crescente no uso de forragens não tradicionais e variedades locais para fornecer nutrientes aos animais. A baixa disponibilidade de forragem para os ruminantes no início da estação de crescimento e o seu baixo valor nutritivo no Verão, podem limitar a produção animal no Alentejo. Algumas plantas medicinais, como a chicória, podem contribuir para minorar esta limitação (Barry, 1998).

Existem diversos estudos com a utilização de plantas medicinais em pastagens com resultados promissores, nomeadamente pastagens de chicória com efeito anti-helmíntico no combate de vermes redondos (Deane, 2002; Kidane, 2009). O mesmo efeito pode ser conseguido com *Plantago lanceolata* ou com *Lotus corniculatus*. Existem também estudos com outras espécies medicinais utilizadas em misturas de forragens com efeito antibiótico, com resultados interessantes na produtividade, como por exemplo o trabalho de Urbanczyk *et al.* (2002) «Herb mixture as an antibiotic substitute in pig feeding».

Outra linha de trabalho potencial seria o desenvolvimento de Alimentos funcionais, como por exemplo utilizando pastagens à base de *Calendula arvensis*, *Anthemis arvensis*, *Sinapis arvensis* e *Chrysanthemum coronarium* na alimentação de bovinos para aumentar a proporção de ácidos gordos poli-insaturados no leite (La Terra *et al.*, 2006).

As margaridas (*Bellis* spp.) são plantas escaposas da família das *Compositae* que ocorrem um pouco por todo o país em arrelvados e prados. Em Portugal Continental ocorrem 3 espécies, a *Bellis annua*, planta anual de raiz muito finas e 2 espécies vivazes

de raízes carnudas, a *Bellis perennis* e a *Bellis sylvestris*. O nosso estudo incidiu sobre as 2 espécies vivazes deste género (Figuras 1 e 2).

A *B. perennis* é vulgarmente denominada como bonina, margarida, margarita, margarida-vulgar, margarida-menor, margarida-comum, margarida-inglesa, belamargarida, sempre-viva, margaridinha, mãe-de-família, margarida-rasteira, rapazinho, rapazinhas, bonita ou margarida-dos-prados (Vasconcelos *et al*, 2000).

A *B. perennis* ocorre em arrelvados, prados e margens de caminhos em quase todo o país. Apresenta muita variabilidade morfológica, sendo algumas variantes muito difíceis de distinguir de *B. sylvestris*. Podendo multiplicar-se por estolhos que se desenvolvem na base da roseta da planta principal (Franco, 1984).

A *B. perennis* é um hemicriptófito arrosetado e escaposo, com folhas (10-60x4-25 mm) verde vivo, uninervias, oblanceoladas a largamente obovado-espatuladas, subinteiras; o pecíolo da folha tem cerca de ½ do limbo. Os pedúnculos (4-15 cm) são finos e acalavados sob o capítulo. As inflorescências são capítulos (15-30 mm diâmetro) de receptáculo cónico; as flores liguladas têm 4-8mm. Os frutos são cipselas pubescentes com 1-1,5 mm (Franco, 1984).

A *B. sylvestris* ocorre em arrelvados e sítios húmidos e sombrios em quase todo o país. Esta planta é muito comum na Europa e Ásia, fazendo parte da flora espontânea portuguesa continental e também dos Arquipélagos dos Açores e Madeira.

As folhas da *B. sylvestris* são verde escuras (30-180x5-25 mm), trinérvias, oblongas a oblongo-obovadas, remotamente serradas a sub-inteiras; o pecíolo é curto e pouco distinto. O pedúnculo (10-45 cm) das inflorescências é robusto e não é aclavado junto ao capítulo. Os capítulos (20-40 mm de diâmetro) têm um receptáculo cónico a hemisférico. As flores liguladas têm 8-14mm. Os frutos são cipselas pubescentes, por vezes com pilosidade de escamas setiformes (Franco, 1984).



Figura 1 – Amostra de *B. sylvestris* (esquerda) e de *B. perennis* (direita).



Figura 2 – *B. perennis* da *acession* de Marvão (à esquerda) e cipselas no receptáculo cónico da *acession* de Cabeza de la Vaca (à direita).

A utilização ornamental das *Bellis* spp. é diversificada, podem ser colocadas em vasos, floreiras ou canteiros de espaços verdes privados ou públicos. Existem variedades com diferentes cores de pétalas (rosa, branca, vermelha ou roxa), assim como variedades de pétalas simples ou dobrada.

Apesar de serem plantas perenes, em contexto ornamental, são cultivadas como anuais e bienais, pois perdem vigor com o tempo. Multiplicam-se por sementes e por divisão da roseta basal. O seu ciclo reprodutivo em viveiro vai desde o início do Outono com a sementeira em contentores alveolares, sendo depois transplantadas para contentores individuais. A instalação no local definitivo em contexto ornamental é planeada para coincidir com o início da floração. Adaptam-se bem a qualquer tipo de solo, embora prefiram solos francos, bem drenados e ricos em matéria orgânica (Bown, 1995).

A *Bellis perennis* é referenciada por Bown (1995) como tendo propriedades medicinais como adstringente, curativa, expectorante, sendo utilizada internamente para tratar constipações e catarro e externamente para tratar de varizes, pequenas feridas e lavagens de olhos doridos e lacrimejantes. Na culinária, as folhas jovens, botões florais e pétalas podem ser utilizados em saladas.

Não foram encontradas informações relativas a utilização medicinal da *Bellis sylvestris*; no entanto, a sua utilização não é de descartar uma vez que se trata de uma planta muito próxima a *B. perennis*.

2. Material e métodos

De acordo com Ellis, Hong e Roberts (1985), as melhores condições para a germinação da *Bellis perennis* são a temperatura constante de 20 °C ou as alternas de 20/30°C. As sementes terminam a sua germinação ao fim de 14 dias. No caso de evidência de dormência das sementes, pode-se utilizar a exposição à luz ou a refrigeração para quebrar a dormência.

Os ensaios de germinação foram efectuados no laboratório de Biologia vegetal da Escola Superior Agrária de Elvas.

As sementes utilizadas neste trabalho foram recolhidas durante o ano de 2009 e 2010, no Alentejo e na Extremadura espanhola, em locais onde as plantas ocorrem espontaneamente (Quadro 1). No total foram testadas 8 *acessions* de *Bellis* spp., colhidas em meados de Abril de 2010, excepto a *acession* de Marvão que foi colhida em Julho de 2009 e em Junho de 2010.

As amostras de campo, incluindo as infrutescências e outras partes aéreas das plantas, foram secas à temperatura ambiente (20°C) e seguidamente procedeu-se à debulha da semente.

Os frutos (cipselas) de *Bellis* spp. apresentam dificuldade na sua colheita, uma vez que na maturação não ficam aderentes ao receptáculo. A colheita das cipselas foi, portanto, efectuada colhendo capítulos maduros conjuntamente com capítulos ainda em floração na sua fase mais tardia. Deste modo, uma proporção indeterminada de cipselas colhidas estava imatura.

Para a debulha da semente utilizaram-se técnicas expeditas de laboratório de separação por densidade e por granulometria. As sementes limpas foram etiquetadas e acondicionadas em envelopes de papel à temperatura ambiente (cerca de 20 °C) até à preparação dos ensaios de determinação da capacidade germinativa das sementes.

Quadro 1 – Origem geográfica das *acessions* de *Bellis perennis* e *B. sylvestris*.

<i>Acession</i> *	Origem Geográfica
<i>Bellis perennis</i>	
BP_10/2009Es	Cabeza de la Vaca
BP_27/2010Es	Monfrague
BP_35/2010Es	Torrejon
BP_Marvão2009Pt	Marvão
BP_Marvão2010Pt	Marvão
<i>B. sylvestris</i>	
BS_29/2010Es	Torrejon el Rubio
BS_32/2010Es	Trujilho
BS_33/2010Es	Santa Marta de Magasa
BP_5/2010Pt	S. Julião, Portalegre

* Es- *acession* colhida em Espanha – província de Extremadura; pt – *acession* colhida em Portugal – Alentejo.

As sementes remanescentes foram conservadas numa colecção de trabalho para a equipa da ESAE, enviaram-se também réplicas das amostras para conservação *ex-situ* no Banco Português de Germoplasma Vegetal.

Visto que a quantidade de semente disponível era limitada, foram utilizadas apenas 50 sementes de cada espécie por caixa de Petri, em vez das habituais 100 sementes, indicadas nas regras da ISTA (1985). No entanto, Baskin & Baskin (1998),

afirmam que para preencher os requisitos do tratamento estatístico, três réplicas de cinquenta sementes serão suficientes.

O ensaio de germinação teve início a 21 de Junho de 2010. Em cada ensaio e por cada espécie e pré-tratamento foram colocadas na estufa, 4 repetições. Para a realização do estudo foram efectuados 2 modalidades de fotoperíodo (0 h – escuro e 12h/12h – luz) e 2 modalidades de pré-tratamento de quebra de dormência das sementes (control, sem pré-tratamento e um pré-tratamento de refrigeração a 5.°C durante 7 dias imediatamente anteriores ao início do ensaio).

O ensaio decorreu numa câmara de germinação (Fitoclima) previamente limpa e regulada para uma temperatura constante de 20°C e um fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 horas de escuro. A escuridão total foi conseguida envolvendo as placas com papel de alumínio. Sempre que necessário, em média 3 vezes por semana durante 30 dias, foi adicionada água destilada e feita uma observação das sementes com o objectivo de verificar o seu desenvolvimento. Uma semente era considerada germinada quando se observava a eclosão da radícula. As sementes germinadas eram retiradas das caixas de Petri com a finalidade de permitir uma melhor observação das restantes e evitar a eventual contaminação das sementes ainda por germinar.

O peso de 1000 sementes foi determinado a partir da média do peso de 5 amostras de 50 sementes de cada *acession* e espécie.

A evolução das percentagens de germinação acumuladas, em função do tempo, é apresentada sob a forma de curvas de germinação; estas reproduzem a evolução da germinação de um lote de sementes colocado a determinadas condições; a sua análise permite conhecer a capacidade de germinação ou taxa máxima de germinação (Caixinhas, 1988) e determinar-se a velocidade de germinação. A velocidade de germinação é expressa pelo tempo de latência (tempo necessário para que as primeiras sementes de cada lote germinem) e pelo tempo médio de germinação (Póvoa, 1999).

A elaboração das curvas de germinação e os cálculos estatísticos básicos foram efectuados no programa Excel. Os resultados da germinação seminal das espécies foram submetidos a uma análise de variância, após estabilização das variâncias através da transformação angular de Blisse (Snedecor, 1945), considerando o efeito de cada um dos factores na germinação, recorrendo ao programa STATISTICA (teste de Newman-Keuls).

3. Resultados e discussão

Os resultados, para as espécies testadas, revelaram diferenças estatísticas altamente significativas ($p < 0,01$) entre *acessions* e entre as modalidades de fotoperíodo testadas. Não houve diferença estatística para o tratamento de quebra de dormência das sementes. As interações entre os factores testados (*acessions*, fotoperíodo e tratamento de quebra de dormência) foram altamente significativas (Quadro 3).

Para as *Bellis spp.*, os melhores resultados globais também foram obtidos com fotoperíodo de 12 h de luz e sem pré-tratamento de quebra de dormência; no entanto, na

modalidade de 0 h de fotoperíodo (escuro), houve germinação positiva de um maior número de *acessions* (Figuras 3 e 4). Os melhores resultados foram obtidos para a *acession* de *Bellis perennis* colhida em Marvão em todas as modalidades testadas, sendo o melhor resultado o relativo às sementes colhidas em 2009 com 48,5 %. Para as restantes *acessions*, quer de *B. perennis*, quer de *B. sylvestris*, a germinação, em qualquer das modalidades testadas foi inferior a 6 %. Da *B. sylvestris*, o melhor resultado foi obtido com a *acession* BS_5/201 na total obscuridade com 6,5%.

A germinação para a *acession* de Marvão ocorre quase na sua totalidade nos primeiros dez dias de ensaio; no entanto a germinação é continuada para as restantes *acessions* de *Bellis sp.*(Figuras 3 e 4).

Os pesos das sementes (Quadro 2) podem ser uma ferramenta útil para distinguir as duas espécies de *Bellis spp.* estudadas, uma vez que as sementes de *Bellis sylvestris* têm quase o dobro da massa que as sementes de *Bellis perennis*.

Para aferir se existe efeito de diferentes condições edafoclimáticas do local de origem na qualidade de semente obtida, outros testes de germinação deveriam ser efectuadas com sementes das mesmas *acessions* cultivadas num campo de ensaio.

Quadro 2 – Massa de 1000 sementes de *acessions* de *Bellis perennis* e *Bellis sylvestris* colhidas no Alentejo e Extremadura espanhola.

Espécie	Acession	Origem Geográfica	Massa* (g)
<i>B. perennis</i>	BP_10/2009Es	Cabeza de la Vaca	0,1276
<i>B. perennis</i>	BP_27/2010Es	Monfrague	0,1316
<i>B. perennis</i>	BP_35/2010Es	Torrejon	0,1136
<i>B. perennis</i>	BP_Marvão2009Pt	Marvão	0,1064
<i>B. perennis</i>	BP_Marvão2010Pt	Marvão	0,1292
Média			0,1217
Desvio Padrão			0,0111
<i>B. sylvestris</i>	BS_29/2010Es	Torrejon el Rubio	0,2140
<i>B. sylvestris</i>	BS_32/2010Es	Trujilho	0,2108
<i>B. sylvestris</i>	BS_33/2010Es	Santa Marta de Magasa	0,1844
<i>B. sylvestris</i>	BS_5/2010Pt	S. Julião-Portalegre	0,2320
Média			0,2103
Desvio Padrão			0,0196

* média baseada em 5 amostras de 50 sementes

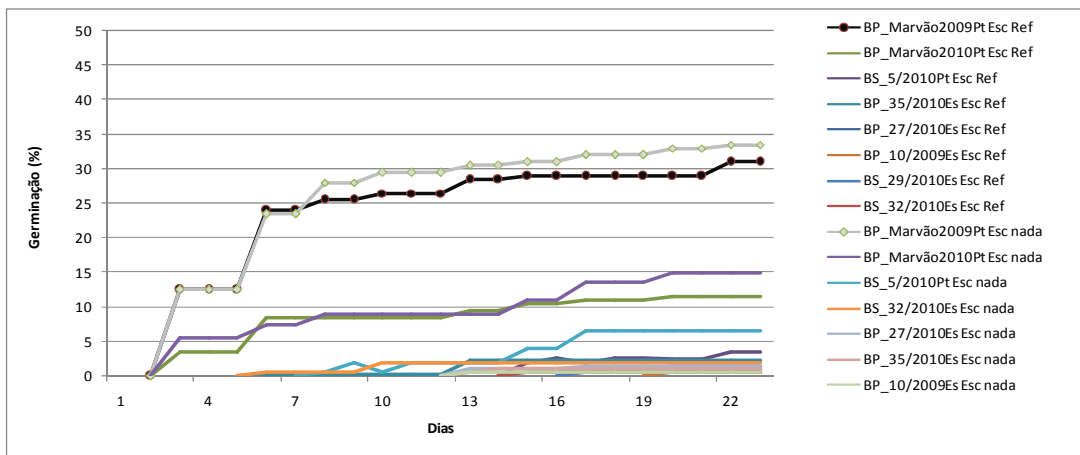


Figura 1 – Curvas de germinação acumulada de sementes de *Bellis spp.* a 20 °C e 0 h de fotoperíodo (Escuro).

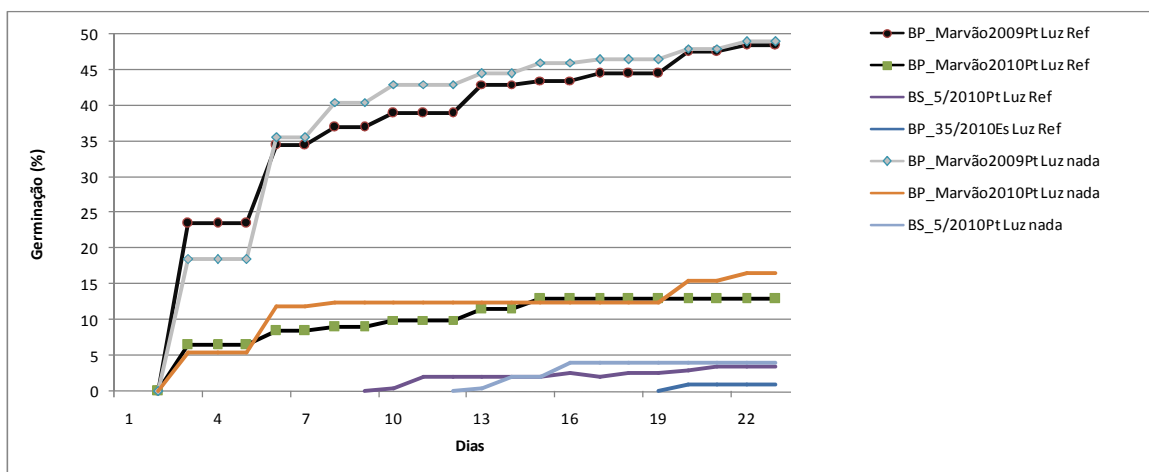


Figura 2 – Curvas de germinação acumulada de sementes de *Bellis spp.* a 20°C e 12 h de fotoperíodo (Luz).

Quadro 3 – Análise de variância da germinação de sementes de 8 *acessions* de *Bellis* spp. a 20 °C com fotoperíodo de 12h/12h e pré-tratamento de quebra de dormência de 7 dias de refrigeração a 5.°C

Factores	Germinação^a
Acession (Aces)	(%)
BP_Marvão2009Pt	40,5
BP_Marvão2010Pt	14,0
BP_27/2010Es	1,5
BP_35/2010Es	1,5
BP_10/2009Es	0,5
BS_5/2010Pt	4,4
BS_32/2010Es	1,3
BS_29/2010Es	0,5
BS_33/2010Es	0,0
Sig.*	**
Fotoperíodo (Fot)	
0 h Luz (Escuro)	7,4
12 h Luz	19,4
Sig.*	**
Pre-tratamento (Pret)	
7 dias refrigeração a 5.°C (Ref)	9,8
Nada	13,0
Sig.*	ns
Interações	
Acession x Fot	**
Acession x Pret	**
Pret x Fot	**
Acession x Pret x Fot	**

^aMédia sem transformação; ns, **, Não significativo ou significativo a $p < 0,01$, respectivamente.

A baixa capacidade germinativa obtida para as *Bellis* spp. pode dever-se à imaturidade das cipselas testadas, uma vez que devido à queda rápida dos frutos na maturação, uma proporção não determinada de cipselas colhidas estava imatura. Esta conclusão é consolidada pelo facto de que a *acession* de Marvão, colhida em ambos os anos (2009 e 2010) mais tardiamente que as restantes (Julho e Junho, respectivamente), obteve os melhores resultados globais. Ou seja, a época de colheita destas espécies deveria ser planeada para o mais tarde possível. No entanto, este planeamento não é simples, uma vez que na maioria dos locais de colheita, a floração termina muito cedo devido à falta de disponibilidade de água.

4. Conclusão

Os melhores resultados foram obtidos com fotoperíodo de 12 h de luz e sem pré-tratamento de quebra de dormência; no entanto, na modalidade de 0 h de fotoperíodo (escuro), houve germinação positiva de um maior número de *acessions*. O melhor resultado (48,5 %) foi obtido para a *acession* de *B. perennis* colhida em Marvão.

Os pesos das sementes (Quadro 2) podem ser uma ferramenta útil para distinguir as duas espécies de *Bellis spp.* estudadas, uma vez que as sementes de *Bellis sylvestris* têm quase o dobro da massa que as sementes de *Bellis perennis*.

Com estes resultados preliminares, conclui-se que existe uma enorme biodiversidade relativa à biologia reprodutiva das *acessions* estudadas. As diferentes *acessions* mostraram resultados de germinação muito díspares podendo, ou não, reflectir pressões selectivas diferentes em habitats diferentes.

A germinação obtida para as espécies estudadas foi relativamente baixa para fins comerciais, pelo que devem ser efectuados estudos futuros com outros tratamentos de quebra de dormência de semente, assim como diferentes tempos e condições de acondicionamento da semente.

Também é importante efectuar a caracterização morfológica e agronómica destas populações regionais com o objectivo de obter sementes adequadas para sua utilização em pastagens medicinais na região do Alentejo.

5. Referências bibliográficas

- Barry, T. N. (1998), The feeding value of chicory (*Cichorium intybus*) for ruminant livestock, *The Journal of Agricultural Science*, 131:3, pp. 251-257, Cambridge University Press.
- Baskin, C.C.; Baskin, J.M. (1998). *Seeds – Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination*. Academic Press. San Diego. Pp. 9 e 496.
- Bown, D. (1995), *The Royal Horticultural Society encyclopedia of herbs & their uses*. Dorling Kinderley. London, 424 pp.
- Caixinhas, M. L. L. (1988). *Aspectos Ecológicos da Germinação de Sementes de Infestantes*. UTL. Lisboa.
- Deane, J. C. *et al.* (2002), The effect of *Cichorium intybus* and *Lotus corniculatus* on nematode burdens and production in grazed lambs. UK Organic Research 2002 Conference, Aberystwyth, 26-28 March 2002. In: Powell, Jane and *et al.*, (Eds.) *Proceedings of the UK Organic Research 2002 Conference*, Organic Centre Wales, Institute of Rural Studies, University of Wales Aberystwyth, pp. 89-92.
- Ellis, R.H.; Hong, T.D.; Roberts, E. H. (1985), *Handbook of seed technology for genebanks. Vol. II. Compendium of specific germination. Information and test recommendations*. International Board For Plant Genetic Resources, Rome. [Inhttp://www2.bioversityinternational.org/publications/Web_version/52/begin.htm#Contents](http://www2.bioversityinternational.org/publications/Web_version/52/begin.htm#Contents), acesso a 20 Julho de 2010.
- Franco, J.A. (1984), *Nova flora de Portugal (Continente e Açores). vol.II. Clethraceae - Compositae*, [s.n.], Lisboa, p.351-353; 490-491.
- ISTA (1985), *International rules for seed testing*, Seed Science and Technology, New York.
- Kidane, A. *et al.* (2009), Effects of Maternal Protein Nutrition and Subsequent Grazing on Chicory (*Cichorium intybus*) on Parasitism and Performance of Lambs, *Journal of animal science*, 1910. doi:10.2527/jas.2009-2530.
- La Terra, S.; *et al.* (2006), The influence of single essences on conjugated linoleic acid and vaccenic acid content in cows milk. *J. Anim. Sci.* Vol. 86, E-Suppl. 2/*J. Dairy Sci.* Vol. 91, E-Suppl. 1
- Póvoa, O. (1999). *Distribuição e Propagação de Espécies com Interesse Medicinal, Dissertação Apresentada para Obtenção do Grau de Mestre*, Lisboa, ISA. [Policopiado].
- Snedecor, G.W. (1945). *Métodos Estatísticos*. (Tradução da 3ª ed. por Lefèvre, P. e Neto, I.), Direcção Geral dos Serviços Agrícolas, Lisboa. p. 421.
- Urbanczyk, J.; E. Hanczakowska; M. Swiatkiewicz (2002). Herb mixture as an antibiotic substitute in pig feeding. *Medycyna-Weterynaryjna*. 2002, 58: 11, 887-889.
- Vasconcelos, T. (2000), *Flora infestante das culturas de sequeiro do Alentejo*, Escola Superior Agrária de Beja. Beja, 143 pp.