

ESTUDO DA QUEBRA DE DORMÊNCIA EM SEMENTES DE PIORNO [*GENISTA TENERA* (JACQ. EX MURR.) O. KUNTZE]

M. D'Avó¹, José Grego¹, M. Lopes¹, Amélia Rauter², Jorge Justino¹ & M. Goulart¹

¹Escola Superior Agrária de Santarém

²Departamento de Química e Bioquímica/Centro de Química e Bioquímica, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa

RESUMO

O piorno [*Genista tenera* (Jacq. ex Murr.) O. Kuntze] é uma planta endémica da ilha da Madeira usada na medicina popular dado o seu efeito antidiabético. O presente estudo pretende avaliar o efeito da digestão ácida das sementes de piorno com ácido sulfúrico na redução da espessura do tegumento, rijo, da semente, para ultrapassar a dormência das sementes e assim maximizar a taxa de germinação. Um grupo de acessos do Instituto Superior de Agronomia foi digerido com ácido durante 0, 10, 20 e 40 minutos. Após a digestão usou-se carbonato de sódio a 5 % como agente neutralizante e em seguida as sementes foram lavadas em água corrente para eliminar resíduos do ácido. Para avaliar os melhores tempos de digestão as sementes foram colocadas a germinar em placas de petri, envolvidas em dupla camada de papel de filtro e a uma temperatura constante de 22 °C.

A digestão ácida das sementes teve um efeito estatisticamente significativo sobre a percentagem de germinação das sementes. No entanto, a percentagem de germinação obtida com a digestão ácida (abaixo dos 30 %) é pouco interessante do ponto de vista produtivo, daí a necessidade de se estudarem outros tratamentos.

Palavras-chave – Horticultura, dormência das sementes, dormência física, digestão ácida.

ABSTRACT

Genista tenera is a plant endemic to the island of Madeira and is used in folk medicine to control diabetes. In the present work we evaluate the effects of concentrated sulphuric acid as an efficient technique for reducing the thickness of hard seed coats and to overcome dormancy and so to bring the highest proportion of viable seeds to the point of germination. A group formed by accessions from “Instituto Superior de Agronomia” were placed in the concentrated acid for 0, 10, 20 and 40 minutes of treatment. After treatments, a 5% solution of sodium carbonate in water was used as a neutralizing agent and seeds were washed in running water to remove all traces of the acid. To assess the optimum time for acid scarification the seeds were put in *Petri* dishes and a sandwich paper filter, and the percentage of germinated seeds per treatment at constant 22°C was determined. Acid digestion significantly improved the germination but at rates lower than 30%. More work should be conducted to determine the optimum conditions to overcome the seed dormancy.

Keywords: Horticultural, seed dormancy, physical dormancy, acid digestion.

INTRODUÇÃO

O piorno [*Genista tenera* (Jacq. ex Murr.) O. Kuntze], planta endémica da ilha da Madeira classificada na subfamília *Papilionoideae* e família das *Fabaceae*. É um arbusto de folhagem escassa, acetinado-pubescente e esbranquiçada, que pode atingir 2,5m de altura, de ramos frágeis e arqueados, com folhas simples e muito pequenas, flores amarelas, por vezes avermelhadas. A planta cresce em escarpas rochosas do litoral desde os 50 até aos 1500 m de altitude (Vieira, 1992) e é utilizada pelas populações locais como adjuvante no tratamento da diabetes por via de infusões das partes aéreas da planta (Rauter *et al.*, 2009). Estudos bioquímicos da composição da planta mostram ser rica em alcalóides e flavonóides (Borges, *et al.*, 2001, Jung, *et al.*, 2006, Martins, *et al.*, 2005, Rauter, *et al.*, 2005 e 2009) considerados marcadores quimiotaxonómicos do género *Genista* (Harborne, 1994). Aqueles compostos para além dos estudos biofitofarmacológicos ao nível das células beta do pâncreas (efeito antidiabético) têm também sido incluídos em estudos epidemiológicos do foro cancerígeno, doenças

cardiovasculares (Mariappan *et al.*, 2006), doenças Alzheimer e Parkinson (Kaur and Geetha, 2006).

A importância do piorno como espécie medicinal impõe a implementação de estudos com vista ao conhecimento dos seus mecanismos de propagação tendo em vista uma possível utilização comercial da planta em regime cultural extensivo. O estudo que reportamos integra-se no projecto “*Novos agentes antidiabéticos a partir de Genista tenera - Isolamento, caracterização estrutural, síntese e mecanismos de acção*” cuja instituição proponente é o Departamento de Química e Bioquímica/Centro de Química e Bioquímica da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, sendo o Instituto Politécnico de Santarém – Escola Superior Agrária de Santarém uma das instituições da parceria.

Na propagação de qualquer planta que produza sementes viáveis usam-se técnicas de multiplicação vegetativa ou seminal. Contudo, a multiplicação seminal, desde que não existam problemas de estabilidade genética, apresenta vantagens de execução técnica e em termos de custos de produção. As sementes do piorno, como acontece em muitas espécies das *Fabaceae*, têm tegumento duro (McDonald, 1990) o que dificulta a absorção da água, o acesso de oxigénio ao embrião e mesmo a saída da radícula da jovem plântula produzida pela semente em fase de germinação, levando assim a uma germinação mais lenta e irregular das sementes. Aquela característica do tegumento é uma forma de dormência física das sementes. O grau de dureza do tegumento depende da espécie, da localização geográfica, e sobretudo, da influência que as condições climáticas terão sobre o processo de amadurecimento das sementes.

São várias as técnicas que podem ser utilizadas para quebrar a dormência de sementes duras, designadamente: escarificação mecânica, imersão em água quente, escarificação ácida e estratificação quente e húmida. Gonzalez-Andrés e Ortiz (1996) estudaram os mecanismos de germinação para várias espécies do género *Genista*, concluindo da eficácia da escarificação ácida com ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4 95-97%) e da influência do tempo de exposição ao ácido sobre a percentagem de semente germinada.

O objectivo do presente estudo foi testar o comportamento de sementes (acessos) de piorno oriundas do Instituto Superior de Agronomia, tratadas com H_2SO_4 (95-97%) e com diferentes tempos de exposição ao ácido.

MATERIAIS E MÉTODOS

As sementes (acessos) limpas e secas foram distribuídas em copos de vidro. Em cada copo foi colocado um volume de H_2SO_4 (95-97%) cerca de duas vezes superior ao volume aparente das sementes. Os tempos de exposição ao ácido foram de 0 (testemunha), 10, 20 e 40 minutos, num total de quatro tratamentos. As sementes durante a digestão foram agitadas mecanicamente, com agitadores magnéticos. Finalizada a digestão, o ácido foi neutralizado com uma solução de carbonato de sódio a 5%, seguindo-se uma lavagem das sementes em água corrente.

Na determinação da facultade germinativa usaram-se placas de *Petri* (cinco placas por tratamento) com algodão humedecido coberto por papel de filtro sobre o qual foram colocadas as sementes cobertas com nova folha de papel de filtro. À falta de informação sobre as temperaturas óptimas de germinação da espécie em estudo considerou-se a temperatura de 22°C, referência no nicho ecológico durante o período de propagação natural da espécie. Foram contabilizadas as sementes germinadas (radícula visível) no período de 70 dias, com registos de dois em dois dias.

Análise Estatística. Para determinar se as diferenças amostrais observadas, nos valores médios e medianos das variáveis, sugerem realmente diferenças entre as respectivas populações ou se são apenas variações casuais que podem ser esperadas entre amostras aleatórias da mesma população recorreremos a técnicas de inferência estatística não-paramétrica, dado que as variáveis consideradas não provêm de populações com distribuição normal ou aproximadamente normal (mesmo depois de efectuadas transformações matemáticas para simetrizar os dados e homogeneizar as variâncias). Para avaliar se o tratamento com ácido ($H_2SO_4_0$ – sem tratamento com ácido, i.e. tratamento testemunha; $H_2SO_4_{10}$ – 10 minutos; $H_2SO_4_{20}$ – 20 minutos e $H_2SO_4_{40}$ – 40 minutos de exposição ao ácido) influenciou significativamente a percentagem de germinação, recorreu-se ao teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, seguido da comparação múltipla de médias. Usou-se uma probabilidade de erro tipo I (α) de 0,05. O teste de Kruskal-Wallis foi realizado com o software PASW Statistics (SPSS, 2009)

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como se observa na Figura 1 a digestão ácida das sementes teve um efeito estatisticamente significativo sobre a percentagem de germinação das sementes ($X^2_{KW}(3) = 14,343$; $p = 0,002$ e $n = 36$), mas a percentagem de germinação manteve-se baixa (<30%). De acordo com a comparação múltipla de médias, os tratamentos com ácido apresentaram uma distribuição de percentagens significativamente diferentes do tratamento testemunha: H2SO4_0 ($p = 0,011$); H2SO4_10 ($p = 0,003$) e H2SO4_20 ($p = 0,001$). O desconhecimento de estudos de germinação com esta espécie inviabiliza uma análise comparativa. Percentagens de germinação abaixo dos 30 % são valores baixos que indiciam outros mecanismos de dormência.

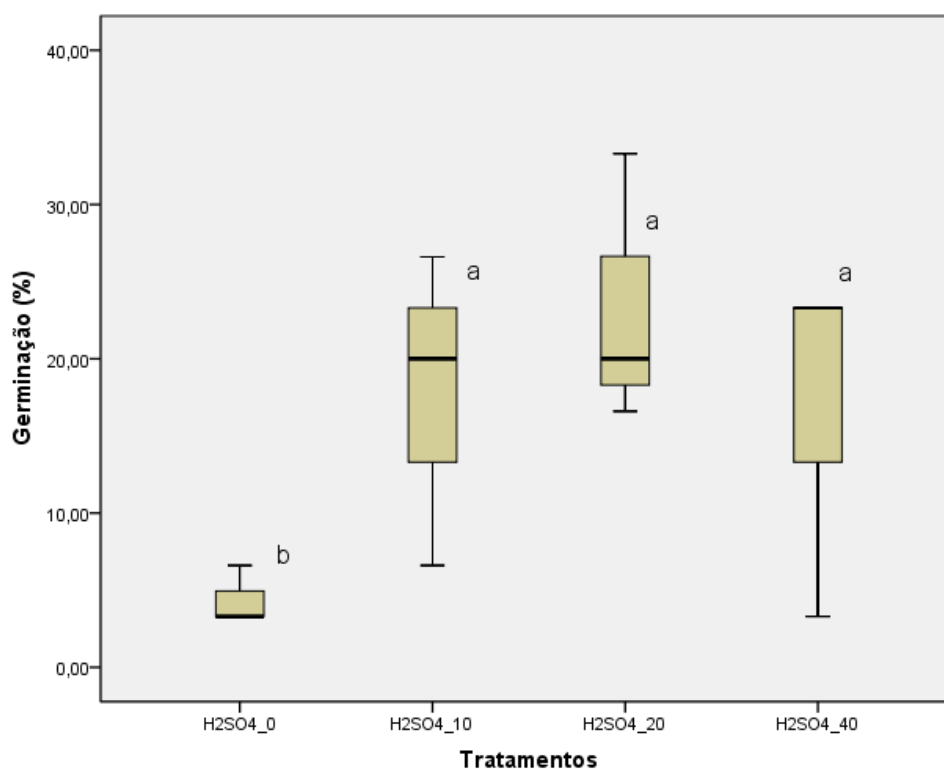


Figura 1. Distribuição da percentagem de germinação de acessos de piorno submetidos a 4 tratamentos com ácido sulfúrico concentrado. Distribuições com letras diferentes são significativamente diferentes de acordo com o teste de Kruskal-Wallis, seguido das comparações múltiplas de médias para $\alpha = 0,05$. A linha a negrito representa a mediana enquadrada entre o 1º Quartil (extremo inferior da caixa) e o 3º Quartil (extremo superior da caixa). As barras inferiores e superiores representam, respectivamente o mínimo e o máximo das distribuições. Não se observam outliers.

CONCLUSÕES

A percentagem de germinação obtida com a digestão ácida (abaixo dos 30 %) é pouco interessante do ponto de vista produtivo, daí a necessidade de se pesquisarem outros tratamentos. Para além da inibição física poder-se-á estar também em presença de uma inibição fisiológica por inibidores químicos que podem ser eliminados por imersão em água quente. Rega (2007) refere a necessidade de utilizar temperaturas elevadas dado que algumas sementes de espécies do género *Genista* germinam particularmente bem no seu meio natural, após um fogo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Borges, C., P. Martinho, A. Martins, A.P. Rauter and M.A.A. Ferreira, 2001. Structural characterisation of flavonoids and flavonoid-O-glycosides extracted from *Genista tenera* by fast-atom bombardment tandem mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom.*, 15: 1760-1767.
- González-Andrés F. and J. M. Ortiz, 1996. Potencial of *Cytisus* and allied genera (Genisteeae: Fabaceae) as forage shrubs. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 39: 2, 195 – 204.
- Harborne, J.B., 1994. Plants and their constituents. In *Phytochemical Dictionary of Leguminosae*, Harborne Jb (ed.). Chapman & Hall: London: 313-330.
- Jung, M., M. Park, H.C. Lee, Y.H. Kang, E.S. Kang and S.K. Kim, 2006. Antidiabetic agents from medicinal plants. *Current Medicinal Chemistry* 13, 1203-1218.
- Kaur, I.P. and T. Geetha, 2006. Screening methods for antioxidants. A review. *Mini-Reviews in medicinal Chemistry* 6, 305-312.
- Mariappan D., J. Winkler, V. Parthiban, M.X. Doss, J. Hescheler and A. Sachinidis, 2006. Dietary small molecules and large-scale gene expression studies: an experimental approach for understanding their beneficial effects on the development of malignant and non-malignant proliferative diseases. *Current Medicinal Chemistry* 13, 1481-1489.
- Martins, A., M. Wink, A. Tei, M. Brum-Bousquet, F. Tillequin and A. P. Rauter, 2005. A phytochemical study of the quinolizidine alkaloids from *Genista tenera* by gas chromatography-massspectrometry. *Phytochem. Anal.* 16, 264-266.
- Mcdonald, B.,1990. Practical woody plant propagation for nursery growers.Ed.B.T.Batsford Ltd. London

Rauter, A.P., A. Martins, C. Borges, J. Ferreira, J. Justino, M.R. Bronze, A.V. Coelho, Y.H. Choi and R. Verpoorte, 2005. Liquid chromatography-diode array detection-electrospray ionisation mass spectrometry/nuclear magnetic resonance analyses of the anti-hyperglycemic flavonoid extract of *Genista tenera* structure elucidation of a flavonoid-C-glycoside. *Journal of Chromatography*, 1089:59-64.

Rauter, A.P., A. Martins, R. Lopes, J. Ferreira, L.M. Serrralheiro, M.E. Araújo, C. Borges J. Justino, F.V. Silva, M. Goulart, J.T. Oates, J.A. Rodrigues, E. Edwards, J. P. Noronha, R. Pinto and H.M. Filipes, 2009. Bioactivity studies and chemical profile of the antidiabetic plant *Genista tenera*. *Journal of Ethnopharmacology*, 122:384-393.

Rega, M., 2007. Filogenesi del genere *Genista* L. (Fabaceae): evidenze molecolari e morfologiche. Tesi di Dottorato in Biologia Avanzata. Università Degli Studi di Napoli Federico II.

SPSS, 2009. PASW Statistics 18.0. SPSS, Inc: Chicago, IL.

Vieira, R., 1992. Flora da Madeira. O interesse das plantas endémicas Macarronésicas. Serviço Nacional de Parques, Reservas e Conservação da Natureza. Colecção Natureza e Paisagem N.º 11.