

X Congresso Internacional de Agroecologia

LIVRO DE ACTAS

LIBRO DE ACTAS
BOOK OF PROCEEDINGS

2 – 6 setembro 2024
Viseu | Portugal

Agroecologias do Mundo:
Unidas para enfrentar
as crises globais



X Congresso
Internacional
de **Agroecologia**



Politécnico
de Viseu



CERNAS
Centro de Estudos
de Recursos Naturais,
Ambiente e Sociedade



Fundação
para a Ciência
e a Tecnologia

Website

<https://events.ipv.pt/xcia/>

setembro 2024

Copyright © 2024

Direitos reservados para // Derechos reservados para // Rights reserved to

Instituto Politécnico de Viseu & CERNAS-IPV • Unidade de Gestão do Centro de Estudos de Recursos Naturais, Ambiente e Sociedade

Título // Título // Title

X Congresso Internacional de Agroecologia - Livro de Atas

Autores // Autores // Authors

Sofia G. Florença, Raquel P. F. Guiné, Cristina A. Costa, Madalena Machado, Sérgio Santos, Inês Pereira

Editor

Instituto Politécnico de Viseu CERNAS-IPV • Unidade de Gestão do Centro de Estudos de Recursos Naturais, Ambiente e Sociedade

Coordenação editorial // Coordinación editorial // Editorial coordination

Sofia G. Florença

Conceção Gráfica // Diseño Gráfico // Graphic Design

Sofia G. Florença

Composição // Composición // Composition

Sofia G. Florença

ISBN:

Desenvolvimento de protocolo de germinação para *Dianthus lusitanus*: promoção da biodiversidade urbana sustentável

Diogo, M. Graça¹; Reis, Carlos M G^{1,2,3}

¹ Instituto Politécnico de Castelo Branco, Escola Superior Agrária, 6001-909 Castelo Branco, Portugal, creis@ipcb.pt;

² Centro de Biotecnologia de Plantas da Beira Interior, Escola Superior Agrária, 6001-909 Castelo Branco;

³ Centro de Recursos Naturais, Ambiente e Sociedade (CERNAS) – Instituto Politécnico de Castelo Branco, 6000-084 Castelo Branco, Portugal

Resumo: A introdução de espécies da flora espontânea na paisagem urbana é um objetivo importante no contexto do desenvolvimento sustentável. A espécie *Dianthus lusitanus* é um endemismo ibero-norte-africano, do tipo caméfito, pertence à família Caryophyllaceae e ocorre em locais de exposição solar plena e em solos arenosos e ácidos. Contudo, as sementes desta espécie apresentam elevada dormência. Com o objetivo de desenvolver um protocolo de germinação para *D. lusitanus*, foram estudados o efeito de duas formas de conservação da semente e diferentes tratamentos com peróxido de hidrogénio (H₂O₂) na percentagem de germinação da semente. As duas formas de conservação da semente foram as seguintes: i) armazenamento no frio, a 6°C, por três meses (lote A) e ii) armazenamento à temperatura ambiente (lote B). Sementes de ambas as formas de conservação (lotes A e B) foram submetidas a cinco tratamentos de germinação: i) rega com água esterilizada (T1, controlo); ii) imersão das sementes em solução H₂O₂ a 1% por 30 minutos (T2); iii) imersão das sementes em solução H₂O₂ a 3% por 30 minutos (T3); iv) imersão das sementes em solução H₂O₂ a 1% durante um período de 15 h (*overnight*) (T4); e v) rega periódica com solução H₂O₂ a 50 mM (T5). Para cada tratamento foram estudadas 90 sementes, com três repetições de 30 sementes, num ensaio em blocos completos casualizados. As sementes foram incubadas a temperaturas alternadas 25/22°C (dia/noite) e com fotoperíodo 16/8h. Foi quantificada a percentagem de germinação após um período de 20 dias. Os dados obtidos foram sujeitos a análise de variância (ANOVA) e o teste post-hoc de Tukey foi usado. Os resultados mostraram que o efeito de interação entre a temperatura de conservação da semente e o tratamento com H₂O₂ não foi estatisticamente significativo. Diferenças estatísticas significativas foram registadas entre as duas formas de conservação da semente e entre tratamentos de germinação. Sementes conservadas no frio a 6°C apresentaram percentagens de germinação mais elevadas comparativamente às sementes conservadas à temperatura ambiente. As percentagens de germinação mais baixas registaram-se para os tratamentos T1 e T5 (respetivamente 11,1% e 22,2%). A percentagem de germinação mais elevada (83 %) verificou-se para o tratamento T4. O desenvolvimento de um protocolo para aumentar a taxa de germinação das sementes de *D. lusitanus* permite obter plantas com fins ornamentais e tem aplicação prática na conservação da biodiversidade e na revegetação de áreas degradadas. Os resultados obtidos são um contributo para a promoção da sustentabilidade e conservação dos recursos naturais.

Palavras-chave: Agroecologia urbana; biodiversidade; cravina-brava; dormência; peróxido de hidrogénio.

Abstract: The introduction of spontaneous flora species into the urban landscape is an important objective in the context of sustainable development. The species *Dianthus lusitanus* is an Ibero-North African endemism, of the chamaephyte type, belonging to the Caryophyllaceae family and occurring in locations with full sun exposure and in sandy and acidic soils. However, the seeds of this species exhibit high dormancy. With the aim of developing a germination protocol for *D. lusitanus*, the effect of two seed conservation

methods and different treatments with hydrogen peroxide (H_2O_2) on seed germination percentage was studied. The two seed conservation methods were as follows: i) cold storage at $6^\circ C$ for three months (lot A) and ii) storage at room temperature (lot B). Seeds from both conservation methods (lots A and B) were subjected to five germination treatments: i) watering with sterilized water (T1, control); ii) immersion of seeds in 1% H_2O_2 solution for 30 minutes (T2); iii) immersion of seeds in 3% H_2O_2 solution for 30 minutes (T3); iv) immersion of seeds in 1% H_2O_2 solution for a period of 15 hours (overnight) (T4); and v) periodic watering with 50 mM H_2O_2 solution (T5). For each treatment, 90 seeds were studied, with three repetitions of 30 seeds, in a randomized complete block design trial. The seeds were incubated at alternate temperatures of $25/22^\circ C$ (day/night) and with a photoperiod of 16/8h. The germination percentage was quantified after a period of 20 days. The data obtained were subjected to analysis of variance (ANOVA), and the Tukey post-hoc test was used. The results showed that the interaction effect between seed storage temperature and H_2O_2 treatment was not statistically significant. Significant statistical differences were recorded between the two seed conservation methods and among germination treatments. Seeds stored in cold at $6^\circ C$ showed higher germination percentages compared to seeds stored at room temperature. The lowest germination percentages were recorded for treatments T1 and T5 (11.1% and 22.2%, respectively). The highest germination percentage (83%) was observed for treatment T4. The development of a protocol to increase the germination rate of *D. lusitanus* seeds allows for obtaining plants for ornamental purposes and also has practical application in biodiversity conservation and re-vegetation of degraded areas. The results obtained can contribute to the promotion of sustainability and conservation of natural resources.

Keywords: biodiversity; hydrogen peroxide; seed dormancy; urban agroecology; wild carnation.

Introdução

A espécie *Dianthus lusitanus*, também conhecida como cravina-brava, é um endemismo ibero-norte-africano do tipo caméfito (Powo, 2023). É uma espécie perene, lenhosa e cespitosa, com caules finos e eretos, que podem atingir 45 cm de altura (Franco, 1971; Bernal et al., 1990). A floração ocorre entre finais de maio e meados de julho. *D. lusitanus* é uma espécie muito resistente, com preferência por locais com exposição solar plena, podendo crescer em terrenos ácidos, rochosos, pedregosos e áridos, fendas de rochas, escarpas e depósitos aluviais de cascalho (Fig. 1).

A flora espontânea pode gerar plantas com carácter estético, que podem ser cultivadas de forma ecologicamente sustentável em espaços naturais e jardins públicos e privados, com características agrícolas-biológicas notáveis, nomeadamente plasticidade ecológica e alta resistência a condições adversas (Ilie and Cosmulescu, 2023). As plantas autóctones estão adaptadas ao clima local e às condições do solo onde ocorrem naturalmente e fornecem néctar, pólen, frutos e sementes, que servem de alimento para insetos e pássaros e outros animais. O uso sustentado de plantas autóctones é uma forma de proteger a biodiversidade e os ecossistemas. A introdução de espécies da flora espontânea na paisagem urbana é um objetivo importante no contexto do desenvolvimento sustentável. Atualmente, existe uma preocupação clara em relação à seleção de plantas para propostas de planeamento urbano, sugerindo que a escolha deve ser baseada na ecologia da área. Isso envolve considerar espécies que fazem parte do potencial da vegetação natural (Machado 2023).

Devido à sua floração abundante, carácter perene, rusticidade e facilidade de manutenção, *D. lusitanus* é uma alternativa ornamental muito interessante no planeamento urbano, principalmente em locais com solos arenosos e ácidos. No entanto, as sementes desta espécie apresentam dormência e a percentagem de germinação é baixa.

Vários estudos indicam que a imbibição de sementes em soluções de peróxido de hidrogénio (H_2O_2) estimula a sua germinação (Fontaine et al., 1994; Barba-Espín et al., 2012; Ahsan et al., 2022; Barba-Espín et al., 2022), embora o mecanismo de ação do H_2O_2 na germinação não esteja totalmente compreendido (Dufková et al., 2019).

A compreensão das condições favoráveis para a germinação de *D. lusitanus* e o desenvolvimento de um protocolo podem facilitar a obtenção de plantas com fins ornamentais, além de terem aplicação prática na conservação da biodiversidade e na revegetação de áreas degradadas, promovendo a sustentabilidade e a conservação dos recursos naturais.

O presente trabalho teve por objetivo desenvolver um protocolo de germinação para sementes de *D. lusitanus*. Foram estudados o efeito de duas formas de conservação da semente e diferentes tratamentos com peróxido de hidrogénio na percentagem de germinação das sementes de *D. lusitanus*



Figura 1 – *Dianthus lusitanus*: A – aspeto geral da planta; B – detalhe de flor; C – aspeto da semente.

Metodologia

Sementes de *D. lusitanus* foram colhidas no início de julho de 2022 nas proximidades da cidade de Castelo Branco, Portugal (39°48'57.36" N, 7°29'32.83" W; 405 m). Foram estudados o efeito de duas formas de conservação da semente e diferentes tratamentos com H_2O_2 na percentagem de germinação da semente. As duas formas de conservação das sementes foram as seguintes: i) armazenamento no frio, a 6°C, por três meses (lote A) e ii) armazenamento à temperatura ambiente pelo mesmo período de tempo (lote B).

Após um período de conservação de três meses as sementes foram esterilizadas numa solução de NaOCl, contendo algumas gotas de Tween-20, por 10 minutos e depois enxaguadas três vezes em água destilada, de acordo com Lindsey et al., 2017. Sementes de ambos os lotes (A e B) foram submetidas a cinco tratamentos de germinação: i) rega com água esterilizada (T1, controlo); ii) imersão das sementes em solução H_2O_2 a 1% por 30 minutos (T2); iii) imersão das sementes em solução H_2O_2 a 3% por 30 minutos (T3); iv) imersão das sementes em solução H_2O_2 a 1% durante um período de 15 h (T4); e v) rega periódica com solução H_2O_2 a 50 mM (T5). Para cada tratamento foram estudadas 90 sementes, com três repetições de 30 sementes, num ensaio em blocos completos casualizados. As sementes foram colocadas em placas de Petri (diâmetro 9 cm) sobre papel de filtro, humedecido com água esterilizada (exceto para o tratamento v), incubadas a temperaturas alternadas de 25/22°C (dia/noite) e com fotoperíodo 16/8h. Foi quantificada a percentagem de germinação após um período de 20 dias. As sementes foram consideradas germinadas quando o ápice da raiz atingiu um comprimento de 1–2 mm. Os dados obtidos foram sujeitos a análise de variância (ANOVA) e o teste post-hoc de Tukey foi usado para detetar diferenças significativas

($p < 0,05$) entre médias de tratamentos. As transformações de arcoseno e raiz quadrada dos dados percentuais foram realizadas para corrigir situações de não normalidade, heterogeneidade de variância e falta de aditividade (Ahrens et al., 1990).

Resultados e Discussão

Registam-se diferenças significativas entre as duas formas de conservação das sementes (temperaturas de armazenamento), $F(4, 20) = 8,882$, $p = 0,007$, η^2 parcial = 0,308 (Quadro 1). No que se refere ao efeito dos tratamentos com H_2O_2 verifica-se que existem diferenças significativas entre tratamentos, $F(2, 20) = 38,651$, $p < 0,005$, η^2 parcial = 0,885. O efeito de interação entre a temperatura de conservação das sementes e o tratamento com peróxido de hidrogénio não foi estatisticamente significativo, $F(4, 20) = 1,676$, $p = 0,195$, η^2 parcial = 0,251 (Quadro 1).

Quadro 1 – Resultados da ANOVA

Origem	Soma de Quadrados	g.l.	Quadrado médio	F	Sig.	Eta parcial quadrado
Temperaturas de armazenamento	0,105	1	0,105	8,882	0,007	0,308
Tratamentos	1,834	4	0,458	38,651	0,000	0,885
Interação Temp. x tratam	0,080	4	0,020	1,676	0,195	0,251
Erro	0,237	20	0,012			
Total	19,715	30				

No conjunto dos tratamentos, valores mais elevados de percentagem de germinação ocorreram no lote de sementes conservadas no frio a 6°C (Lote A), comparativamente com as sementes conservadas à temperatura ambiente (Lote B) (Quadro 2). Contudo, para os tratamentos T3 e T4 os valores de percentagem de germinação são iguais em ambos os lotes (respetivamente, 50,0% e 83,3%).

Quadro 2 - Efeito de diferentes tratamentos com H_2O_2 na percentagem de germinação da semente de dois lotes de *Dianthus lusitanus* mantidos em duas condições diferentes de armazenamento. Lote A – sementes conservadas a 6°C ; Lote B – sementes conservadas à temperatura ambiente; T1 – rega com água esterilizada (controlo); T2 - imersão das sementes em solução H_2O_2 a 1% por 30 minutos; T3 - imersão das sementes em solução H_2O_2 a 3% por 30 minutos; T4 - imersão das sementes em solução H_2O_2 a 1% durante um período de 15 h; T5 - rega periódica com solução H_2O_2 a 50 mM.

Tratamento	Percentagem de germinação (%)	
	Lote A	Lote B
T1 (Controlo)	23,3 ^c ± 6,7	11,1 ^d ± 5,1
T2	60,0 ^{ab} ± 5,8	46,7 ^{bc} ± 11,6
T3	50,0 ^{bc} ± 10,0	50,0 ^b ± 8,8
T4	83,3 ^a ± 12,0	83,3 ^a ± 8,8
T5	47,8 ^{bc} ± 8,4	22,2 ^{cd} ± 8,4

Médias com diferentes sobrescritos alfabéticos na mesma coluna diferem significativamente ($p < 0,05$) de acordo com o teste post-hoc de Tukey.

Os valores mais baixos de percentagem de germinação observaram-se nos tratamentos T1, (controlo) e T5, para sementes do lote B (11,1% e 22,2 %, respetivamente). Os valores mais

elevados de percentagem de germinação (83,3%) verificaram-se no tratamento T4, no qual se fez imbibição das sementes em H_2O_2 a 1% durante um período de 15 h (Quadro 2). Estes resultados estão em consonância com trabalhos publicados previamente que relatam o efeito positivo na percentagem de germinação de sementes quando estas são

embebidas em soluções de H_2O_2 (Barba-Espín et al., 2012; Barba-Espín et al., 2022; Chu et al., 2022).

O H_2O_2 poderá atuar como molécula de sinalização no início da germinação de sementes, envolvendo mudanças específicas nos níveis proteômico, transcriptômico e hormonal o que resulta na aceleração do processo de germinação (Barba-Espín et al., 2012; Wojtyla et al., 2016). O tratamento com H_2O_2 não apenas promove atividades génicas relacionadas com a proliferação celular e crescimento, mas também leva à degradação mais rápida de RNAs mensageiros armazenados nas sementes que as mantêm dormentes (Chu et al., 2022). O H_2O_2 supera tanto a dormência física quanto a fisiológica, acelerando a transição das sementes da dormência para a germinação. Contudo concentrações elevadas de H_2O_2 podem originar danos graves nas sementes em germinação (Duval e NeSmith, 2020; Ahsan et al., 2022). Assim, a concentração de H_2O_2 e o tempo de tratamento precisam ser otimizados para cada espécie vegetal (Chu et al., 2022).

Conclusões

A introdução de espécies da flora espontânea na paisagem urbana é um objetivo importante no contexto do desenvolvimento sustentável. Devido à sua floração abundante, caráter perene, rusticidade e facilidade de manutenção, *D. lusitanus* é uma alternativa ornamental muito interessante para espaços públicos e privados. Um protocolo para a germinação de sementes de *D. lusitanus* foi estabelecido. A imersão das sementes de *D. lusitanus* numa solução de H_2O_2 a 1% durante um período de 15h permite aumentar significativamente a percentagem de sementes germinadas comparativamente ao tratamento de controlo. O desenvolvimento de um protocolo para aumentar a taxa de germinação das sementes tem ainda aplicação prática na conservação da biodiversidade, na revegetação de áreas degradadas e é um contributo para a promoção da sustentabilidade e conservação dos recursos naturais.

Agradecimentos

CERNAS-IPCB [UIDB/00681/2020] é financiado pela Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT).

Referências bibliográficas

- Ahrens W., Cox D., Budhwar G. (1990) Use of the Arcsine and Square Root Transformations for Subjectively Determined Percentage Data. *Weed Science*, 38(4-5), 452-458. doi:10.1017/S0043174500056824.
- Ahsan S. M., Shin J. H., Choi H. W. (2022) Availability of hydrogen peroxide solutions as a germination liquid medium for contamination-free in vitro seedling development of *Cannabis sativa*. *Hortic Sci Technol* 40(6):605-613. <https://doi.org/10.7235/HORT.20220055>.
- Barba-Espín G, Hernández J. A, Diaz-Vivancos P. (2012) Role of H_2O_2 in pea seed germination. *Plant Signal Behav* 7(2):193-5. doi: 10.4161/psb.18881.
- Barba-Espín G., Hernández J. A., Martínez-Andújar C., Díaz-Vivancos P. (2022) Hydrogen Peroxide imbibition following cold Stratification promotes seed germination rate and uniformity in peach cv. GF305. *Seeds* 1(1):28-35. <https://doi.org/10.3390/seeds1010004>.
- Bernal M., Laínz M., Muñoz-Garmendia F. (1990) *Dianthus* L. In: Castroviejo S, Laínz M, López Gonzáles G, Montserrat P, Muñoz Garmendia F, Paiva J, Villar L (Eds) Flora Iberica. Plantas vasculares de la Península Ibérica e Islas Baleares, Vol 2. Real Jardín Botánico, C.S.I.C., Madrid, 426–462.
- Chu C., Poore R. C., Bolton, M. D., Fugate, K. K. (2022) Mechanism of sugarbeet seed germination enhanced by hydrogen peroxide. *Front Plant Sci* 13:888519. doi: 10.3389/fpls.2022.888519.
- Dufková H., Berka M., Luklová M., Rashotte A. M., Brzobohatý B., Černý M. (2019) Eggplant germination is promoted by hydrogen peroxide and temperature in an

- independent but overlapping manner. *Molecules* 24:4270. doi: 10.3390/molecules24234270.
- Duval J. R., NeSmith D. S. (2000) Treatment with Hydrogen Peroxide and Seedcoat Removal or Clipping Improve Germination of 'Genesis' Triploid Watermelon. *Hortscience* 35(1):85–86.
- Fontaine O., Huault C., Pavis N., Billard J. P. (1994) Dormancy breakage of *Hordeum vulgare* seeds: effect of hydrogen peroxide and stratification on glutathione level and glutathione reductase activity. *Plant Physiol Biochem* 32:677-83.
- Franco J. A. (1971) Nova Flora de Portugal (Continente e Açores). Vol I (Lycopodiaceae – Umbelliferae). Soc. Astória, Lda. Lisboa.
- Ilie D., Cosmulescu S. (2023) Spontaneous Plant Diversity in Urban Contexts: A Review of Its Impact and Importance. *Diversity* 15(2):277. <https://doi.org/10.3390/d15020277>.
- Lindsey B., Rivero E., Calhoun C., Grotewold E., Brkljacic J. (2017) Standardized Method for High-throughput Sterilization of *Arabidopsis* Seeds. *J Vis Exp* (128), e56587, doi:10.3791/56587.
- Machado, M. R. (2023). Definition of the green infrastructure vegetation system: an approach to the city of Castelo Branco. *Sustainability* 15, 8177. <https://doi.org/10.3390/su15108177>.
- POWO (2023) Plants of the World Online. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. <http://www.plantsoftheworldonline.org/>.
- Wojtyła Ł., Lechowska K., Kubala S., Garnczarska M. (2016) Different modes of hydrogen peroxide action during seed germination. *Front Plant Sci* 4;7:66. doi: 10.3389/fpls.2016.00066.