

UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA  
**Instituto Superior de Agronomia**



**Conservação e valorização de *Asphodelus bento-rainhae* P.Silva  
e *Lavandula luisieri* (Rozeira) Rivas -Martínez da Beira Interior**

**Fernanda Maria Grácio Delgado**

Orientador:

Doutora Maria Edite Ribeiro Cardoso Texugo de Sousa

Co-Orientador:

Doutora Maria Lisete Coelho Lebreiro Caixinhas

Jurí

Presidente:

Reitor da Universidade Técnica de Lisboa

Vogais:

Doutora Zoila Maria Diaz Lifante, professora titular da Escuela Universitaria de Ingeniería Técnica Agrícola da Universidade de Sevilla, Espanha;

Doutora Maria Lúcia Almeida da Silva, professora auxiliar da Faculdade de Ciências da Universidade da Beira Interior;

Doutora Ana Maria da Silva Monteiro, professora auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa;

Doutora Maria Edite Ribeiro Cardoso Texugo de Sousa, professora auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa;

Doutora Manuela Rodrigues Branco Simões, professora auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa;

Doutora Maria Lisete Coelho Lebreiro Caixinhas, na qualidade de especialista.

**Doutoramento em Engenharia Agronómica**

Lisboa | 2010



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA  
**Instituto Superior de Agronomia**

**Conservação e valorização de *Asphodelus bento-rainhae* P.Silva  
e *Lavandula luisieri* (Rozeira) Rivas -Martínez da Beira Interior**

**Fernanda Maria Grácio Delgado**

Orientador:

Doutora Maria Edite Ribeiro Cardoso Texugo de Sousa

Co-Orientador:

Doutora Maria Lisete Coelho Lebreiro Caixinhas

Jurí

Presidente:

Reitor da Universidade Técnica de Lisboa

Vogais:

Doutora Zoila Maria Diaz Lifante, professora titular da Escuela Universitaria de Ingenieria  
Técnica Agrícola da Universidade de Sevilla, Espanha;

Doutora Maria Lúcia Almeida da Silva, professora auxiliar da Faculdade de Ciências da  
Universidade da Beira Interior;

Doutora Ana Maria da Silva Monteiro, professora auxiliar do Instituto Superior de Agro-  
nomia da Universidade Técnica de Lisboa;

Doutora Maria Edite Ribeiro Cardoso Texugo de Sousa, professora auxiliar do Instituto  
Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa;

Doutora Manuela Rodrigues Branco Simões, professora auxiliar do Instituto Superior de  
Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa;

Doutora Maria Lisete Coelho Lebreiro Caixinhas, na qualidade de especialista.

**Doutoramento em Engenharia Agronómica**

Tese apresentada neste Instituto para obtenção do grau de doutor



Em memória de

Maria Edite Ribeiro Cardoso Texugo de Sousa  
(1953 - 2010)

## Agradecimentos

A presente tese resultou de vários anos de trabalho de campo, desenvolvido na Beira Interior e de laboratório realizado nos Laboratórios de Biologia e de Protecção Vegetal da Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco (ESACB), no Laboratório de Química da Universidade da Beira Interior (UBI), no Laboratório de Biotecnologia do *Centre pour l'Agronomie et L' Agro-Industrie* de la Province de Hainaut (CARAH), Ath, Bélgica e do Centro de Ciências Medioambientales do *Consejo Superior de Investigaciones Científicas* (CCMA-CSIC) de Madrid, pelo que envolveu a participação e apoio de diversas entidades e pessoas.

Aos responsáveis das respectivas Instituições e aos responsáveis dos laboratórios, em especial ao Professor Doutor Jesus Rodilla e Professora Doutora Lúcia Silva da UBI, ao Doutor Mário Godoy e Doutora Gadenna Martine do CARAH e à Doutora Azucena Diaz-Coloma do CCMA-CSIC agradeço a colaboração, acolhimento e ensinamentos.

Ao ICNB por ter autorizado a recolha de material, no Sitio Serra da Gardunha, compreendendo o interesse destes estudos em *Asphodelus bento-rainhae*, para a preservação desta espécie.

Às minhas orientadora e co-orientadora Professora Doutora M<sup>a</sup> Edite de Sousa e Investigadora Doutora M<sup>a</sup> Lisete Caixinhas pelo interesse e incentivo, entusiasmo e competência, pelas sugestões e conhecimentos transmitidos e pela ajuda na fase final do trabalho escrito.

Aos meus colegas da equipa do projecto Agro 800, especialmente à Engenheira Conceição Amaro com a qual partilhei muito trabalho de campo, de laboratório e de análise de resultados, na caracterização morfológica de *Lavandula luisieri*, pelo seu saber, pela partilha naquilo que deve ser um trabalho de equipa e pela sua perspicácia e sentido de responsabilidade. Também aos colegas Engenheiro Eliseu Bettencourt da Unidade de Recursos Genéticos, Ecofisiologia e Melhoramento de Plantas do Instituto Nacional de Recursos Biológicos, I.P. (INRB) e Engenheira Sónia Dias do *Biodiversity International*, com os quais desenvolvemos a ficha de caracterização morfológica de *L. luisieri* e que depois à distância, me sugeriram e elucidaram em dúvidas pontuais, mas pertinentes, apoiando no final desta etapa de formação.

À Engenheira Rosário Oliveira (Rosarinho) pela dedicação no trabalho de campo, laboratório, elaboração conjunta de artigos para congressos, companheira de projectos, pela sua disponibilidade com as minhas filhas, dando o apoio necessário sempre que lhe solicitava.

Às colegas Engenheira Isabel Castanheira e Doutora Cristina Canavarro pela disponibilidade sempre demonstrada para, em conjunto procedermos à melhor análise estatística dos dados.

À Odete Gonçalves, Elvira Penedo, Sofia Martins, Cláudia Santos, Paula Palma, Ana Filipa Oliveira,

Manuela Borrego, Sérgio Rafael, Nelson Bolota e Cláudia Dias, agora já engenheiros(as) formados na ESACB, mas que, enquanto alunos e através dos seus estágios curriculares, trabalharam ao meu lado na recolha de material vegetal, instalação de ensaios de campo e de laboratório, exigindo em cada ano a renovação de aprendizagem de metodologias adoptadas. A todos pela sua persistência e paciência, principalmente, nos ensaios laboratoriais de germinação de sementes de *A. bento-rainhae*.

Aos Engenheiros Álvaro Alves e Bruno Paixão que através de programas de mobilidade conseguiram concretizar uma formação profissionalizante no CARAH da Bélgica e no CSIC em Madrid onde pudemos em conjunto desenvolver métodos e estudos que em muito contribuíram para o enriquecimento dos conhecimentos sobre *Lavandula luisieri*.

À Doutora Zoila Diaz Lifante pela disponibilidade em responder às minhas dúvidas, mas principalmente pela sua vinda a Portugal, para que em conjunto pudéssemos ter a percepção e a identificação correcta de alguns aspectos morfológicos e das espécies simpátricas de *A. bento-rainhae*, nas incursões pela Serra da Gardunha.

À Engenheira Sílvia Ribeiro, pelos trabalhos conjuntos de prospecção florística, pela identificação das espécies contribuindo para a caracterização fitossociológica das áreas de estudo, tanto de *Asphodelus bento-rainhae* como de *Lavandula luisieri*, pela sua capacidade de trabalho e apoio.

Aos meus colegas Professor Fernando Queirós Monteiro, Professor Doutor João Pedro Luz e Professora Doutora Margarida Ribeiro pela ajuda na revisão científica e pela crítica construtiva, na sua área do saber.

À Professora Doutora Luísa Ferreira Nunes que de um forma espontânea se disponibilizou, para desenvolver os desenhos apresentados na tese.

À Professora Doutora Ana Monteiro pela amizade e apoio prestado.

Às Engenheiras Isabel Rodrigues, Graça Diogo e Natália Roque pela disponibilidade e troca de saberes.

Às Doutoradas Ana Sofia Silva, Maria Eduarda Rodrigues e Maria Isabel Figueiredo pela ajuda na revisão e tradução do manuscrito

Ao Rui Salgueiro pela colaboração na formatação final da tese.

Ao Professor Doutor António Moitinho Rodrigues, meu Director que, ao ter feito o desafio para fazer parte da sua equipa de trabalho na Direcção da ESACB, durante estes anos, conseguiu demonstrar que com honestidade, capacidade de trabalho, amizade, compreensão e espírito de equipa em prol de objectivos comuns, tudo se consegue.

À minha mana Deolinda e cunhado João, pelo esforço redobrado e paciência permanentes que tiveram em cuidar dos pais quando eu não podia.

À minha mãe que sempre se orgulhou das suas filhas e que neste final não tem conseguido usufruir da vida que desejava.

À minha sogra Helena Galvão pela alegria e amizade.

À Inês pela ajuda, boa disposição e carinho, nesta fase final.

À Alice pela paciência e ajuda.

Ao Pedro e às minhas queridas Maria e Matilde (M&M), pela família que somos e pela paciência que tiveram.

À memória do meu pai.

Castelo Branco, Julho 2010

## Resumo

A protecção da biodiversidade vegetal e a exploração sustentada do seu potencial utilitário, foram as duas estratégias de base para o desenvolvimento deste trabalho que decorreu, maioritariamente na Beira Interior. A escolha das espécies teve como objectivos: pela via conservacionista, o estudo da espécie endémica com distribuição restrita à vertente Norte da Serra da Gardunha, espécie prioritária e em Perigo Crítico de Extinção, *Asphodelus bento-rainhae* P. Silva e, pela via utilitária, o estudo da espécie endémica do sudoeste da Península Ibérica, *Lavandula luisieri* (Rozeira) Rivas-Martínez.

Para *A. bento-rainhae* a germinação das sementes após quebra de dormência relacionada com inibição tegumentar e a viabilidade das mesmas, recentemente colhidas e após dois anos de conservação foram avaliadas. Os resultados indicam que o tratamento de escarificação mecânica por corte da testa das sementes foi o mais eficaz para quebrar a dormência existente nas mesmas. Verificou-se que a propagação predominantemente vegetativa da espécie nos locais de estudo, provavelmente, tem influência na homogeneidade morfológica dos exemplares estudados. Constataram-se decréscimos significativos no desenvolvimento dos órgãos florais e frutos em parcelas com elevado sombreamento, indiciando uma preferência da espécie para orlas e zonas com boa exposição solar, sendo, certamente, a estratégia a definir nos repovoamentos a estabelecer nos planos de reforço populacional a longo prazo.

No que concerne aos estudos das características morfológicas e genéticas, efectuados com *L. luisieri* em quatro populações distintas (Vila Velha de Ródão, Mata, Casal da Fraga e Penamacor), verificou-se que, a de população de Vila Velha de Ródão, apresentou maior variabilidade. Pela fragmentação do habitat e baixa acção antropomórfica, leva-nos a supor ser a população mais antiga e mais adaptada à conservação.

A composição química e actividade biológica foram também estudadas durante os anos de 2005 e 2006 nas quatro populações. Em 2006, foi estabelecido um campo de produção, em Castelo Branco, com a população de Penamacor, por apresentar melhores resultados em testes de bioactividade. A partir de folhas e inflorescências de exemplares deste campo, testou-se a actividade fago-inibidora nos anos de 2006 e 2007. Em 2009 estudou-se a composição química em diferentes estados fenológicos. O óleo essencial das quatro populações apresentou em comum o composto maioritário acetato de trans-a-necrodilo. A população cultivada manteve ou incrementou a sua actividade fago-inibidora. Verificou-se que a maior percentagem de compostos com acção fago-inibidora ocorreu em extracções de inflorescências em início de floração. A influência de 2 anos de conservação dos diásporos das quatro populações na germinação, foi estudada, tendo-se concluído não ocorrer diminuição significativa da capacidade germinativa.

Palavras chave: actividade fago-inibidora; ASPHODELACEAE; germinação; LAMIACEAE; morfologia; óleo essencial.





Conservation and sustainable use of *Asphodelus bento-rainhae* P. Silva and *Lavandula luisieri* (Rozeira) Rivas-Martínez from Beira Interior region, Portugal

## Abstract

The two underlying strategies for the development of this work, which was mainly carried out in the Beira Interior region, were: plant biodiversity protection and the potential sustainable use of this plant biodiversity. On the one hand, as far as conservation is concerned, an endemic species, *Asphodelus bento-rainhae* P. Silva, whose distribution is restricted to the north slope of the Gardunha mountain, was studied. This species is considered a priority and critically endangered species. On the other hand, as far as sustainable use is concerned, an endemic species of the southwestern Iberian Peninsula, *Lavandula luisieri* (Rozeira) Rivas-Martínez, was studied.

Several laboratory experiments were carried out in order to study *A. bento-rainhae* seed germination after breaking dormancy-related to hard seed coat. Some experiments were done with seeds recently harvested, while the other experiments were done with seeds after two years of conservation. The results showed that the mechanical scarification treatment was the most effective in overcoming seed dormancy. The predominantly vegetative propagation of the species in the sites under study (oak woods, chestnut woods and cherry tree orchard) may have influenced the morphological uniformity of the specimens studied. There are significant decreases in the development of both floral organs and fruits in shaded plots, which may indicate a preference of this species for both edges of woods and verges, which are exposed to sunlight. This should be taken into account when defining a future strategy for reforestation in long-term population reinforcement plans.

The morphological and genetic characteristics of four *L. luisieri* populations (Vila Velha de Ródão, Mata, Casal da Fraga and Penamacor) were studied. The population of Vila Velha de Ródão showed the highest variability, possibly both due to the habitat fragmentation observed in this area and limited agriculture use. This suggests that the population of Vila Velha de Ródão is both the oldest and the most adapted one to conservation.

*L. luisieri* chemical composition and its biological activity were also studied in the four populations in 2005 and 2006. The population of Penamacor showed the highest antifeedant action and therefore a field of *L. luisieri* was planted in Castelo Branco to be studied. The plants of this field were analysed chemically in 2006 and 2007 and this antifeedant activity was tested. In 2009, the composition of their essential oil in the different growth stages was analysed.

The essential oil of the Beira Interior region populations has in common the trans- $\alpha$ -necrodyle acetate, which is its main compound. The essential oil of the Castelo Branco population maintained or increased its antifeedant activity. The highest percentage of compounds with antifeedant activity occurred in extractions of inflorescences, in early flowering. Conserving the diaspores for the four populations for two years did not show any significant decrease in germination.

Keywords: antifeedant activity; ASPHODELACEAE; essential oil; germination; LAMIACEAE; morphology.



## Publicações apresentadas e relacionadas com a investigação realizada

### Artigos em revistas de internacionais com revisão editorial.

- F.DELGADO**, O.GONÇALVES, C.AMARO-SILVA, L.SILVA, R.CALDEIRA, I.CASTANHEIRA, R.OLIVEIRA, D.ALBERTO, P.JACINTO, E.SOUSA, L.CAIXINHAS (2006) Seed Germination and Essential Oil of *Lavandula luisieri* from Central Eastern Portugal . *Acta Hort.* (ISHS) 723: 283-288. [http:// www.actahort.org/books/723/723\\_38.htm](http://www.actahort.org/books/723/723_38.htm)
- DELGADO, F.**; RIBEIRO, S.; ALVES, A.; BETTENCOURT, E & DIAS, S (2010). Morphological, ecological and genetic variability of *Lavandula luisieri* (Rozeira) Rivas- Martínez in central eastern Portugal. *Plant Genetic Resources* **8**:82-90, doi:10.1017/S1479262109990219. Published on line by Cambridge University Press 05 Mar 2010.
- GONZALEZ- COLOMA, A., **DELGADO, F.**, RODILLA, J.M, SILVA, L & SANZ J. (2010). Chemical and biological profiles of *Lavandula luisieri* essential oils from Western Iberian Peninsula. *Biochemical Systematics and Ecology* ( admitido para publicação em 30-08-2010/ Ms.ref. nº BSE-D-10-00218R1)
- BARATA A. M.; ROCHA F. A.; LOPES V. M.; MORGADO J.; MAIA J.; BETTENCOURT E.; DIAS S.; **DELGADO F.**; COSTA M.; FARINHA N.; PÓVOA O.; SALGUEIRO L.; FIGUEIREDO A. C.; (2010). Networking on Conservation and Use of Medicinal, Aromatic and Culinary Plants Genetic Resources in Portugal . IHC. 23-26 August. Lisboa (in press ACTA Hort. (ISHS))

### Comunicações apresentadas em Congressos Científicos sob a forma de Comunicação oral

- DELGADO, F.**, GONÇALVES, O., MARTINS, S., CASTANHEIRA, I., AMARO-SILVA C., CALDEIRA, R., OLIVEIRA, R., ALBERTO D., JACINTO, P., SOUSA, E., CAIXINHAS, L. (2007A). Ecofisiologia da germinação de *Lavandula luisieri* (Rozeira) Rivas-Martínez. Comunicação apresentada no II Colóquio Nacional de Plantas Aromáticas e Medicinais. Vila das Caldas do Gerês. (Publicação em CD-ROM, email: [aph@aphhorticultura.pt](mailto:aph@aphhorticultura.pt))
- L.MARTÍN, L. SANTOS, L.F.JULIO, M.F. ANDRES, A.M.MAINAR, J.S.URIETA, **F. DELGADO**, J. BURILLO, J. SANZ, A.GONZÁLEZ-COLOMA (2009). Comparative biopesticidal properties and chemical profiles of supercritical fluid extracts of two *Lavandula luisieri* chemotypes. Proceedings " 8Th Phytochemical Society of Europe Meeting on Pesticides and 2Nd RSEQ- Grupo Especializado de Química de Productos Naturales Congress". La Palma

## Comunicações apresentadas em Congressos Científicos sob a forma de poster

- DELGADO, F.**, OLIVEIRA R., GONZÁLEZ-COLOMA A., MOHAMED N., SORIA, A.C., SANZ J., BURILLO J., RODILLA J., SILVA L. & REINA M. (2007b). Adaptação ao cultivo e valorização de *Lavandula luisieri*. Poster. In: II Colóquio Nacional de Plantas Aromáticas e Medicinais. Vila das Caldas do Gerês. (Publicação em CD-ROM, email: aph@aphhorticultura.pt)
- RIBEIRO, S., **DELGADO, F.**, ESPÍRITO-SANTO, M.D. (2010). Diversidade, Ecologia e Conservação das comunidades de *Asphodelus bento-rainhae*. VII Encontro Internacional da Associação Lusitana de Fitossociologia: "Novas Perspectivas da Fitossociologia" 13-16 Setembro. F.C.G., Lisboa.

# Índice

|   |      |
|---|------|
| Agradecimentos  | i    |
| Resumo  | iii  |
| Abstract  | v    |
| Trabalhos relacionados com a investigação realizada                       | vii  |
| Índice  | ix   |
| Índice de figuras   | xiii |
| Índice de quadros   | xv   |
| <b>Introdução</b>   | 1    |
| <b><i>Asphodelus bento-rainhae</i> P. Silva</b>                           |      |
| 1. Nomenclatura, ecologia, distribuição e estatuto                        | 11   |
| 2. Caracterização geo-edafoclimatológica e paisagística da zona em estudo | 15   |
| 3. Estudos fenológicos e morfológicos                                     | 19   |
| 3.1. Material e métodos   | 20   |
| 3.2. Resultados e discussão   | 21   |
| 3.2.1. Fenologia  | 21   |
| 3.2.2. Morfologia do sistema radicular                                    | 22   |
| 3.2.3. Morfologia das folhas  | 24   |
| 3.2.4. Morfologia do escapo floral  | 25   |
| 3.2.5. Morfologia da inflorescência                                       | 26   |
| 3.2.6. Características e número de flores                                 | 27   |
| 3.2.7. Características e morfologia dos frutos e sementes                 | 28   |
| 4. Produção de semente  | 31   |
| 4.1. Material e métodos   | 32   |
| 4.2. Resultados   | 35   |

|   |    |
|---|----|
| 5. Germinação e viabilidade das sementes  | 39 |
| 5.1. Influência dos tratamentos de quebra de dormência na capacidade germinativa                | 40 |
| 5.1.1. Material e métodos   | 41 |
| 5.1.2. Resultados   | 41 |
| 5.1.2.1 Germinação para sementes de 2006  | 41 |
| 5.1.2.2 Germinação para sementes de 2008  | 42 |
| 5.2. Testes de tetrazolium  | 44 |
| 5.2.1. Material e métodos   | 45 |
| 5.2.2. Resultados   | 45 |
| <b><i>Lavandula luisieri</i> (Rozeira) Rivas-Martínez</b>                                       |    |
| 6. Nomenclatura, distribuição e estatuto  | 51 |
| 7. Prospecção e inventariação regional  | 53 |
| 7.1. Material e métodos   | 54 |
| 7.1.1. Recolha de dados   | 54 |
| 7.1.2. Tratamento de dados  | 54 |
| 7.1.3. Análise de dados   | 55 |
| 7.2. Resultados   | 55 |
| 8. Caracterização dos locais estudados  | 59 |
| 8.1. Caracterização geoclimatológica e paisagística   | 59 |
| 8.2. Caracterização fitossociológica e ecológica  | 62 |
| 8.2.1. Material e métodos   | 62 |
| 8.2.2. Resultados   | 62 |
| 9. Caracterização morfológica   | 65 |
| 9.1. Material e métodos   | 65 |
| 9.2. Resultados e discussão   | 68 |
| 9.2.1. Características dos diásporos  | 68 |
| 9.2.2. Plantas <i>ex situ</i> 2006  | 68 |
| 9.2.3. Plantas <i>in situ</i> 2008  | 71 |
| 9.2.4. Comparação das características morfológicas <i>in situ</i> e <i>ex situ</i>              | 73 |
| 10. Caracterização genética   | 75 |
| 10.1. Material e métodos  | 75 |
| 10.2. Resultados  | 76 |
| 11. Variabilidade ecológica, morfológica e genética de <i>L. luisieri</i> na Beira Interior Sul | 79 |
| 12. Caracterização química  | 83 |
| 12.1. Material e métodos  | 85 |
| 12.1.1. Material vegetal 2005/06/07   | 85 |
| 12.1.2. Material vegetal 2009   | 86 |
| 12.1.3. Óleo essencial e extracto metanólico  | 86 |
| 12.2. Resultados e discussão  | 88 |
| 12.2.1. Óleos essenciais 2005   | 88 |
| 12.2.2. Óleos essenciais 2006/2007  | 90 |
| 12.2.3. Óleos essenciais 2009   | 92 |

|  |     |
|--|-----|
| 13. Estudos de bioactividade   | 95  |
| 13.1. Material e métodos   | 96  |
| 13.1.1. Insectos   | 96  |
| 13.1.2. Bioensaios com insectos  | 97  |
| 13.2. Resultados e discussão   | 98  |
| 14. Produção de diásporos/núculas  | 101 |
| 14.1. Material e métodos   | 101 |
| 14.2. Resultados   | 101 |
| 15. Ensaio de germinação   | 103 |
| 15.1. Material e métodos   | 104 |
| 15.2. Resultados   | 106 |
| <b>Conclusões e Considerações finais</b>   | 111 |
| Referências Bibliográficas   | 117 |
| Anexos   |     |
| Anexo I – Mapa de distribuição de <i>Asphodelus bento-rainhae</i> P. Silva e estruturas identificativas.       |     |
| Anexo II – Descritores para a caracterização morfológica de <i>Lavandula luisieri</i> (Rozeira) Rivas-Martínez |     |





## Índice de Figuras

|  |    |
|--|----|
| <b>Figura 1.1.</b> Distribuição de <i>Asphodelus bento-rainhae</i> P.Silva na Serra da Gardunha.   | 12 |
| <b>Figura 2.1.</b> Precipitação e temperatura médias registadas na estação meteorológica de Alcongosta, no período 2005-2008.  | 16 |
| <b>Figura 2.2.</b> Localização geográfica das parcelas de estudo de <i>A. bento-rainhae</i> .  | 17 |
| <b>Figura 3.1.</b> Evolução dos estados fenológicos de <i>A. bento rainhae</i> , <i>in situ</i> para os anos de 2005 a 2008.   | 22 |
| <b>Figura 3.2.</b> Planta e dilatações radiculares de <i>A. bento-rainhae</i> : carvalhal (A); castinçal (B); cerejal (C).   | 22 |
| <b>Figura 3.3.</b> Desenvolvimento radicular do ano: a) <i>in situ</i> ; b) após propagação vegetativa de rizoma.  | 23 |
| <b>Figura 3.4.</b> Aspectos gerais da morfologia de <i>A. bento-rainhae</i> .  | 30 |
| <b>Figura 5.1.</b> Subtipo 2b de plântula de <i>Asphodelus bento-rainhae</i> P. Silva.   | 38 |
| <b>Figura 5.2.</b> Curvas de germinação das sementes de 2006 para a modalidade II.   | 42 |
| <b>Figura 5.3.</b> Curvas de germinação das sementes de 2006 para a modalidade III.  | 42 |
| <b>Figura 5.4.</b> Curvas de germinação das sementes de 2008 para a modalidade II.   | 43 |
| <b>Figura 5.5.</b> Curvas de germinação das sementes de 2008 para a modalidade III.  | 43 |
| <b>Figura 5.6.</b> Viabilidade das sementes de 2006 e 2008, através do teste de tetrazólio.  | 46 |
| <b>Figura 5.7.</b> Aspecto geral das etapas de preparação das sementes de <i>A. bento-rainhae</i> .  | 47 |
| <b>Figura 6.1.</b> Distribuição de <i>Lavandula luisieri</i> (Rozeira) Rivas-Martínez.   | 52 |
| <b>Figura 7.1.</b> Mapa da localização da área de estudo e dos pontos amostrados para as 4 espécies inventariadas, destacando-se os resultados para <i>L.luisieri</i> .  | 56 |
| <b>Figura 8.1.</b> Locais de recolha de exemplares de <i>L. luisieri</i> , na Beira Interior Sul.  | 60 |
| <b>Figura 8.2.</b> Análise canónica de correspondências (CCA). <i>Triplot</i> com amostras (círculos), espécies (triângulos) e variáveis ambientais seleccionadas pelo teste de permutação Monte Carlo.                                  | 63 |
| <b>Figura 9.1.</b> Núculas de plantas de <i>L. luisieri</i> dos locais III, II, IV e I respectivamente, colhidas a 9 de Junho 2005 ( 10x).   | 68 |
| <b>Figura 9.2.</b> Análise canónica discriminante. <i>Biplot</i> com parâmetros morfológicos da análise quantitativa. Representação gráfica dos centróides de cada grupo nas funções discriminantes para as plantas <i>ex situ</i> 2006. | 70 |

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 9.3.</b> Análise canónica discriminante. <i>Biplot</i> com parâmetros da análise quantitativa. Representação gráfica dos centróides de cada grupo nas funções discriminantes para as plantas <i>in situ</i> 2008. | 72 |
| <b>Figura 9.4.</b> Características morfológicas de <i>L. luisieri</i> .   | 74 |
| <b>Figura 10.1.</b> Dendrograma obtido por análise UPGMA a partir de electroferogramas de AFLP da relação genética entre as quatro populações de <i>L. luisieri</i> da Beira Interior Sul.                                  | 77 |
| <b>Figura 11.1.</b> Análise de componentes principais (PCA). <i>Biplot</i> integrando características morfológicas, ecológicas e genéticas das populações (círculos) <i>ex situ</i> 2006.                                   | 80 |
| <b>Figura 11.2.</b> Análise de componentes principais (PCA). <i>Biplot</i> integrando características morfológicas, ecológicas, genéticas e níveis de destruição das populações (círculos) <i>in situ</i> 2008.             | 81 |

## Índice de Quadros

|  |    |
|--|----|
| <b>Quadro 2.1.</b> Caracterização geo-edáfica dos locais de colheita de plantas e diásporos de <i>Asphodelus bento-rainhae</i> , na serra da Gardunha. Níveis de destruição, exposição e ocupação do solo. | 17 |
| <b>Quadro 3.1.</b> Número de dilatações radiculares fusiformes/raiz.   | 23 |
| <b>Quadro 3.2.</b> Comprimento (cm) das dilatações radiculares fusiformes.   | 23 |
| <b>Quadro 3.3.</b> Diâmetro (cm) das dilatações radiculares fusiformes.  | 24 |
| <b>Quadro 3.4.</b> Diâmetro (cm) do sistema radicular.   | 24 |
| <b>Quadro 3.5.</b> Número de folhas/planta.  | 24 |
| <b>Quadro 3.6.</b> Comprimento das folhas (cm).  | 25 |
| <b>Quadro 3.7.</b> Largura média das folhas (cm).  | 25 |
| <b>Quadro 3.8.</b> Comprimento do escapo floral (cm).  | 25 |
| <b>Quadro 3.9.</b> Diâmetro do escapo floral (mm).   | 26 |
| <b>Quadro 3.10.</b> Comprimento dos ramos da inflorescência(cm).   | 26 |
| <b>Quadro 3.11.</b> Número de ramificações da inflorescência.  | 27 |
| <b>Quadro 3.12.</b> Número de flores total /planta (2005).   | 27 |
| <b>Quadro 3.13.</b> Número de frutos total /planta (2005).   | 28 |
| <b>Quadro 3.14.</b> Comprimento e largura da cápsula (10 frutos).  | 29 |
| <b>Quadro 3.15.</b> Comprimento e largura das sementes (10 sementes).  | 29 |
| <b>Quadro 4.1.</b> Número de frutos/planta das parcelas A, B e C para os anos de 2005,2006,2007,2008.  | 32 |
| <b>Quadro 4.2.</b> Número de sementes/fruto das parcelas A, B e C para os anos de 2005,2006,2007,2008.   | 33 |
| <b>Quadro 4.3.</b> Número de sementes sãs/fruto e sementes danificadas/fruto (2007).   | 33 |
| <b>Quadro 4.4.</b> Peso de 100 sementes (g) da parcela A, B e C (2007).  | 33 |
| <b>Quadro 5.1.</b> Modalidades de tratamento das sementes dos anos 2006 e 2008.  | 40 |
| <b>Quadro 5.2.</b> Efeito das modalidades de tratamento na germinação das sementes colhidas em 2006.   | 41 |
| <b>Quadro 5.3.</b> Efeito das modalidades de tratamento na germinação das sementes colhidas em 2008.   | 43 |
| <b>Quadro 5.4.</b> Capacidade germinativa após tratamentos (sementes colhidas em 2006).  | 44 |
| <b>Quadro 5.5.</b> Capacidade germinativa após tratamentos (sementes colhidas em 2008).  | 44 |
| <b>Quadro 5.6.</b> Percentagem de viabilidade das sementes para os dois anos em estudo.  | 45 |
| <b>Quadro 7.1.</b> Caracterização dos habitats de <i>Lavandula luisieri</i> na Beira Interior.   | 57 |

|   |     |
|---|-----|
| <b>Quadro 8.1.</b> Caracterização geoclimatológica dos locais de colheita de plantas e diásporos de <i>Lavandula luisieri</i> na região da Beira Interior Sul.  | 60  |
| <b>Quadro 9.1.</b> Descritores para caracterização morfológica de <i>Lavandula luisieri</i> . (dados na escala de 1-29).  | 67  |
| <b>Quadro 9.2.</b> Variação de alguns dos parâmetros quantitativos da análise morfológica de <i>L. luisieri</i> nos 4 locais (2006).  | 69  |
| <b>Quadro 9.3.</b> Variação de alguns dos parâmetros quantitativos da análise morfológica de <i>L. luisieri</i> nos 4 locais (2008).  | 72  |
| <b>Quadro 12.1.</b> Rendimento em óleo essencial de <i>Lavandula luisieri</i> de inflorescências e folhas (em verde e em seco) dos locais I,II,III e IV.  | 88  |
| <b>Quadro 12.2.</b> Concentração(%) dos componentes principais do óleo essencial das folhas e inflorescências de <i>Lavandula luisieri</i> .  | 89  |
| <b>Quadro 12.3.</b> Concentração dos compostos principais(%) do óleo essencial de folhas e inflorescências (2 anos de cultivo (2006,2007) e da população de origem P06) de <i>L. luisieri</i> .   | 91  |
| <b>Quadro 12.4.</b> Rendimento (%) de óleos essenciais de <i>L. luisieri</i> de inflorescências e folhas (em seco) em quatro estados fenológicos e factores climáticos (precipitação, humidade relativa e temperatura) do local de produção no ano de 2009 (ESACB). | 92  |
| <b>Quadro 12.5.</b> Concentração(%) dos compostos maioritários do óleo essencial de inflorescências em seco(Is) e folhas em seco (Fs) de <i>L. luisieri</i> ao longo de quatro estados fenológicos (2009).  | 93  |
| <b>Quadro 13.1.</b> Acção fago-inibidora de óleo essencial e extractos de <i>L. luisieri</i> (100 mg / cm <sup>2</sup> ) (P05;M05;VVR05;CF05).  | 98  |
| <b>Quadro 13.2.</b> Acção fago-inibidora de óleo essencial e extractos de <i>L. luisieri</i> (100 mg / cm <sup>2</sup> ) (P06;CB06;CB07).   | 99  |
| <b>Quadro 14.1.</b> Produção média de inflorescências e núculas de <i>L. luisieri</i> .   | 102 |
| <b>Quadro 14.2.</b> Temperatura e precipitação dos locais de estudos (média de 30 anos e ano de 2005).  | 102 |
| <b>Quadro 15.1.</b> Modalidades em função das condições: temperatura, fotoperíodo e tempo de conservação.   | 104 |
| <b>Quadro 15.2.</b> Capacidade germinativa e velocidade de germinação de <i>L. luisieri</i> .   | 106 |
| <b>Quadro 15.3.</b> Capacidade germinativa (%) de <i>L.luisieri</i> de Vila Velha de Ródão (Local I).   | 106 |
| <b>Quadro 15.4.</b> Capacidade germinativa (%) de <i>L.luisieri</i> da Mata (Local II).   | 107 |
| <b>Quadro 15.5.</b> Capacidade germinativa (%) de <i>L.luisieri</i> do Casal da Fraga (Local III).  | 107 |
| <b>Quadro 15.6.</b> Capacidade germinativa (%) de <i>L.luisieri</i> de Penamacor (Local IV).  | 107 |
| <b>Quadro 15.7.</b> Capacidade germinativa (%) com 40 dias de conservação.  | 108 |
| <b>Quadro 15.8.</b> Capacidade germinativa (%) com 75 dias de conservação.  | 108 |
| <b>Quadro 15.9.</b> Capacidade germinativa (%) com 288 dias de conservação.   | 108 |

## Introdução

Esta tese procura contribuir para a implementação e êxito dos acordos internacionais assumidos pelo país, na área da conservação da biodiversidade e dos recursos fitogenéticos, enquadrando-se dentro das acções a desenvolver a nível nacional, no âmbito da implementação da Convenção para a Diversidade Biológica (CDB) e do Plano de Acção Mundial para a Conservação e Utilização Sustentável dos Recursos Genéticos Vegetais para a Alimentação e Agricultura.

A Rede Natura 2000, uma das principais ferramentas para a conservação da biodiversidade, a nível nacional, encontra-se em fase de implementação.

O estudo de espécies vegetais autóctones com potencial interesse agrícola ou de conservação e a respectiva caracterização com vista à sua valorização e protecção, foram os objectivos deste trabalho.

Por constituir a região de abrangência regional da Escola Superior Agrária de Castelo Branco o estudo incidiu sobre a Beira Interior.

Sendo esta zona do país rica em diversidade genética e em recursos biológicos de plantas aromáticas e medicinais, compreendendo diversas espécies autóctones da família LAMIACEAE, a inventariação regional de *Lavandula luisieri* (Rozeira) Rivas-Martínez, *Origanum virens* Hoffmanns. & Link, *Rosmarinus officinalis* L. e *Thymus mastichina* L. foi efectuada numa primeira fase deste trabalho, no âmbito do Programa AGRO - Medida 8, Acção 8.1 (DE&D) Projecto n.º 800 (2004-2007) "Rede Nacional para a conservação e utilização das plantas aromáticas e medicinais", tendo posteriormente sido seleccionada a espécie endémica *Lavandula luisieri* (Rozeira) Rivas-Martínez com distribuição alargada ao sudoeste da Península Ibérica, para valorização, como biopesticida.

Integrada nesta região surge a espécie *Asphodelus bento-rainhae* P.Silva, com distribuição restrita à encosta Norte da Serra da Gardunha, considerada prioritária para a conservação pela Directiva 92/43/CEE (Anexo II), pelo que foi escolhida para estudos segundo esta vertente.

No decurso da investigação efectuada, a conservação *ex situ* de diásporos em banco de sementes e de plantas em campos de Caracterização/Produção e Jardim Botânico, assim como a propagação de plantas para reinstalação em locais sujeitos a diminuição das áreas de ocorrência, foram também propósitos estabelecidos.

## Enquadramento

A assinatura e ratificação, por Portugal, da Convenção para a Diversidade Biológica (CDB), respectivamente em 1992 e 1993 (Decreto-Lei nº 21/93 de 29 de Junho), e a sua entrada em vigor, com carácter vinculativo, em 1994, determinaram a realização de acções consentâneas com a salvaguarda do património genético vegetal e com a valorização destes recursos naturais.

Em 1996, a adopção do Plano de Acção Mundial para a Conservação e Utilização Sustentável dos Recursos Genéticos Vegetais para a Alimentação e Agricultura, embora de observância voluntária, também preconiza, encorajando e promovendo, uma congregação dos esforços, a nível global, para o reforço da capacidade institucional de incentivo à produção e utilização sustentável de recursos vegetais, assim como acções para a salvaguarda dos recursos genéticos e dos saberes tradicionais (FAO, 1996).

O território continental apresenta uma situação geográfica, que conjugada com o sistema orográfico, lhe confere uma diversidade de contextos climáticos, que associados a uma grande diversidade de materiais litológicos, se traduz na existência de uma larga variedade de tipos de solo (CARDOSO, 1973) e de habitats (ICN, 2006a).

Portugal integra o *hotspot* de biodiversidade ao nível mundial, a bacia mediterrânea. Esta bacia constitui uma região de elevado interesse devido ao grande número de espécies de plantas endémicas e, ao grau de ameaça a que se encontram sujeitas por destruição do seu habitat (MYERS *et al.*, 2000). Todavia, como referem CERDEIRA *et al.*, (2010) também as alterações climáticas, e a fragmentação territorial, são ameaças reconhecidas à persistência da diversidade biológica. As áreas protegidas foram definidas como relevantes para a conservação da biodiversidade, no entanto, não existe nenhum programa de monitorização que permita determinar a eficiência do sistema nacional de áreas protegidas e de outras medidas destinadas à conservação dos recursos biológicos (PROENÇA *et al.*, 2009)

Um dos aspectos mais pertinente a ser considerado e avaliado em termos de impacte ambiental, está relacionado com as alterações climáticas actuais. Estas são consideradas por DAVIS & SHAW (2001) e TRUILLER *et al.* (2005) como um dos factores mais importantes conducentes à extinção de muitas espécies.

O relatório da APA (2007) refere que, Portugal Continental, e, conseqüentemente, a Beira Interior, têm registado nos últimos anos intensas alterações climáticas. As ondas de calor de 2005 e 2006, a seca de 2004 e 2005, a mais severa dos últimos 65 anos, as inundações de Outubro (o mês mais chuvoso dos últimos 18 anos) e Novembro de 2006, revelam que o país tem sido particularmente afectado por fenómenos meteorológicos extremos, podendo a redução de espécies vegetais e o risco de incêndio tornarem-se uma consequência destas alterações.

Segundo os estudos de MONTEIRO-HENRIQUES & ESPÍRITO-SANTO (2010) o cenário de alteração climática até 2080 prevê uma modificação das condições bioclimáticas, com aumento de temperaturas e verões mais secos, do Sul para o Norte do país. Neste contexto, as condições climáticas que actualmente se verificam na Beira Interior transferir-se-ão, nos próximos setenta anos, para Trás-os-Montes e Alto Douro.

A promoção do aproveitamento sustentável do património genético vegetal, assim como

dos conhecimentos, usos, costumes e práticas tradicionais associados à utilização das plantas aromáticas, condimentares e medicinais, podem favorecer a fixação de produtores agrícolas. A tendência ainda actual, do fenómeno da desertificação populacional, poderá, assim, ser reduzida, principalmente no interior do país.

Em toda a Beira Interior e até à década de noventa, o envelhecimento populacional e a migração verificada para os centros urbanos eram os factores que mais contribuía para a desertificação do espaço rural. Segundo DELGADO (2008), na última década do século passado teve início um fenómeno designado por “ regresso às origens” que se tem acentuado nos últimos anos, muito pela força de factores externos ligados a condições de vida nos meios urbanos. Este fenómeno de atracção rural por parte de indivíduos externos, tenham ou não raízes familiares no meio, é muito interessante e pode constituir um elemento determinante na ocupação do “território” Beira Interior. Ainda segundo estudos efectuados por DELGADO (2008), os designados por “novos agricultores” têm sido um veículo de transferência de mais-valias obtidas em outros sectores de actividade para a agricultura, optando, normalmente, por uma agricultura dita sustentável, em particular a agricultura biológica e a produção integrada.

A prática de uma gestão sustentada dos recursos naturais, como forma de garantir no tempo a sua viabilidade económica, apresenta-se como um desafio para o agricultor actual.

As estratégias de interligação entre as boas práticas agrícolas e a biodiversidade são importantes, uma vez que a situação precária de alguns ecossistemas resultante do abandono de formas de agricultura mais tradicionais que sustentavam importantes tipos de biodiversidade conduziu a ameaças, tão ou mais importantes, para os ecossistemas semi-naturais, como a intensificação da produção (IA, 2005).

Segundo VASCONCELOS & CAIXINHAS, existiam cerca de 120 endemismos em 1991, já o Instituto do Ambiente refere, que Portugal continental possuía à data de 2005, só 86 espécies endémicas, destas, cerca de 10% com estatuto de ameaça e 4% protegidas. FIGUEIREDO *et al.* (2006), reportam cerca de 500 espécies da flora portuguesa, como plantas aromáticas e/ou medicinais, podendo parte delas constituir uma alternativa para sistemas agrícolas sustentáveis ou para rentabilização de terrenos marginais para a agricultura.

A União Europeia desenvolveu um “Plano de acção em matéria de biodiversidade para o sector da agricultura”(COM, 2001) que visa a diminuição dos impactos negativos da actividade agrícola sobre a biodiversidade.

As medidas agro-ambientais e a necessidade de protecção das culturas (que fornecem ao ser humano alimento) de doenças e pragas, usando métodos mais ecológicos e aceitáveis em termos de sustentabilidade dos sistemas, tem originado um crescente interesse na pesquisa de produtos naturais de origem vegetal como via alternativa aos pesticidas convencionais (LEY, 1990).

**No âmbito da valorização de espécies vegetais** surgem os estudos da utilização das mesmas, na protecção biológica ou integrada das culturas, quer seja por utilização directa ou pela extracção de compostos activos.

Produtos com origem natural, designados por biopesticidas, normalmente possuem uma acção lenta na protecção de culturas agrícolas, mas são mais seguros para o ser humano e



ambiente, apresentado um efeito residual baixo, ao contrário dos pesticidas convencionais. Os biopesticidas podem ser de origem vegetal ou microbiológica (COPPING & MENN, 2000). Já WEINZIERI em 1998, usa a designação *botanical insecticides* para plantas insecticidas, termo que se refere a plantas ou aos produtos delas derivados.

A utilização tradicional de plantas da família LAMIACEAE no controlo de pragas e parasitas é prática comum, num grande número de situações (MULAS, 2006).

A espécie *Lavandula luisieri* é referida por UPSON & ANDREWS (2004) como sendo utilizada medicinalmente em áreas rurais. Na região da Beira Interior é valorizada como espécie melífera, condimentar e medicinal, sendo mencionada em estudos etnobotânicos, com indicações para constipações, tosse, digestões difíceis, urticária e dores de cabeça (SILVA, 2003). A espécie não é, no entanto, actualmente, valorizada economicamente.

Actualmente, é reduzida a informação bibliográfica para esta espécie, podendo mencionar-se o trabalho de COSTA *et al.* (1998) referente à sua distribuição biogeográfica e, no mesmo ano CABELLO *et al.* apresentam resultados de germinação em endemismos ibéricos, incluindo estudos em *L. stoechas* subsp. *luisieri*. Em 2005, BALDOVINI *et al.* estudaram a actividade anti-bacteriana do óleo essencial e do extracto de *L. luisieri*. A actividade antioxidante de algumas espécies de *Lavandula* foi investigada por diversos autores, sendo o óleo essencial de *L. luisieri* o mais eficiente (BEIRÃO & BERNARDO-GIL, 2005; MATOS *et al.* 2009).

GARCIA-VALLEJO, em 1992, efectuou a caracterização químico-taxonómica de *Lavandula* spp. de Espanha. Neste trabalho, foi detectado, pela primeira vez, no óleo essencial de *L. luisieri*, um novo grupo de terpenos ciclopenténicos derivados do necrodano, únicos no reino vegetal, o que diferencia completamente a espécie, das congéneres: *L. stoechas* e *L. pedunculata*.

Os derivados do necrodano foram descobertos na secreção defensiva, produzida na glândula rectal do coleóptero (*Necrodes surinamensis*), originário da América Central e do Norte, ejectada por aspersão sempre que o insecto se encontrava perante outros insectos como: formigas, moscas e baratas (EISNER & MEINWALD, 1982; EISNER *et al.*, 1986; ROACH *et al.*, 1990). Estes autores, ao procederem à síntese química desta gama de compostos, evidenciaram que os referidos compostos possuíam uma acção repelente e irritante para insectos. Assim, pensa-se que terão também um papel importante de defesa da planta para diversas pragas. Estudos neste âmbito têm sido efectuados e alguns resultados já foram publicados por GONZÁLEZ-COLOMA *et al.* (2006) e DELGADO *et al.* (2007b).

**No âmbito da conservação de plantas silvestres** a utilização directa de germoplasma inclui acções como a reintrodução ou reforço de populações em habitats existentes, onde as mesmas tenham sofrido decréscimos acentuados, por factores antropogénicos relacionados com florestações, intensificação agrícola, abandono rural, urbanização, infra-estruturas e turismo (DOMINGOS *et al.*, 2009).

Pelos recenseamentos agrícolas efectuados pelo INE (2001), a década de 1989-1999 registou algumas transformações, com evolução contínua até aos nossos dias, no que diz respeito ao uso do solo da vertente norte da Serra da Gardunha, com o decréscimo de 5,8% da superfície agrícola útil (SAU) e um ligeiro aumento de cerca de 1,55% do número de explorações agrícolas, podendo comprometer a preservação do habitat do endemismo nacional *A. bento-rainhae*. O olival e os pomares de pessegueiros registaram um decréscimo na sua área, sendo a mesma ocupada pela cultura da cerejeira (RODRIGUES, 2006).

Em conformidade com o relatório do INE (2001), o aumento da área da cerejeira tem-se verificado por a mesma ter encontrado condições ideais de desenvolvimento, principalmente em Alcongosta, onde ocupa cerca de 70,3% do SAU da freguesia, estando presente em 96,5% das explorações agrícolas. Muitos cerejais foram instalados em antigos bosques de carvalhos e castanheiros, o habitat natural de *A. bento-rainhae*, espécie que, actualmente, não apresenta importância económica relevante.

A cultura da cerejeira parece constituir uma fonte de receita importante, geradora de emprego eventual (RODRIGUES, 2006). As freguesias onde esta actividade económica é mais expressiva integram o percurso turístico divulgado pela Câmara Municipal do Fundão - Rota da Cereja. A cereja nesta região beneficia de protecção da UE, estando criada a Identificação Geográfica Protegida (IGP) - Cereja da Cova da Beira (Despacho nº 48/94 de 20 de Janeiro).

As medidas de preservação da paisagem e da manutenção da biodiversidade não deverão inviabilizar economicamente as empresas agrícolas, sob pena de ocorrer, ainda mais, o abandono de sistemas agrários (COM, 2005), nem as práticas agrícolas deverão afectar a conservação da natureza e a diversidade biológica, como tem ocorrido, por exemplo, com as intervenções nos caminhos de acesso aos pomares de cerejeira (PINTO GOMES *et al.*, 1996; SOUSA, 1997; ADESGAR, 2004), bem como com a utilização de herbicidas na manutenção dos mesmos (GÓMEZ-CAMPO & MALATO-BELIZ, 1985), e que afectaram negativamente as populações de *A. bento-rainhae*.

Os primeiros estudos com esta espécie surgem na década de 90, sobretudo os relacionados com a distribuição geográfica e a ecologia da mesma (PINTO-GOMES, 1996 e PINTO-GOMES *et al.*, 1996), surgindo, também no mesmo ano, a mais recente revisão de botânica sistemática do género *Asphodelus* por DIAZ-LIFANTE & VALDÉS (1996). Posteriormente, COTRIM, *et al.* (2002) investigaram a diversidade genética de *A. bento-rainhae* e ESTEVES (2006) os factores ecológicos dos habitats preferenciais de desenvolvimento. O *trade-off* entre a gestão da cultura da cerejeira e a conservação do endemismo foi desenvolvido por RODRIGUES (2007) e RODRIGUES *et al.* (2009). No projecto LIFE – Natureza (1999-2003) designado por “*Asphodelus bento-rainhae*: medidas de conservação e gestão”, que decorreu com a Associação para o Desenvolvimento da Serra da Gardunha (ADESGAR) para além de outras abordagens, resultou na aquisição de áreas destinadas à conservação da espécie e a redefinição do limite do Sítio de Importância Comunitário - Serra da Gardunha (ICN, 2006).

## **Objectivos do Estudo**

**Justificando a escolha do tema da tese apresentada, mencionam-se os objectivos principais para cada espécie.**

### ***Asphodelus bento-rainhae* P. Silva**

1 - A diminuição da área da espécie, as alterações climáticas registadas e a baixa capacidade de reprodução sexuada, conduziram-nos ao estudo de populações representativas da

Serra da Gardunha, quanto à caracterização morfológica a fim de analisar as diferenças ocorridas desde a década de 90 e apresentadas por DIAZ LIFANTE & VALDÉS (1996).

- 2 - A germinação e a adaptação *ex situ* mereceram a nossa atenção com a finalidade de, futuramente, ser possível a reintrodução da espécie ou o aumento populacional em áreas consideradas sensíveis.

### **Lavandula luisieri (Rozeira) Rivas-Martínez**

- 3 - Os parâmetros morfológicos, genéticos e ecológicos que contribuem para a melhor caracterização da espécie foram avaliados e quantificados em quatro populações da Beira Interior.
- 4 - A composição química dos óleos essenciais de folhas e inflorescências de plantas *in situ* e *ex situ* foi analisada de 2005 a 2007. Em 2009 estudou-se a composição química ao longo dos diversos estados fenológicos.
- 5 - A bioactividade do óleo essencial e extracto metanólico foi testada em pragas agrícolas.
- 6 - Testes de germinação em condições controladas de temperatura e luz foram efectuados, tendo sido sempre considerado a origem e o tempo de conservação dos diásporos.

## **Estrutura da Tese**

A tese foi organizada em 2 partes: *Asphodelus bento-rainhae* P. Silva; *Lavandula luisieri* (Rozeira) Rivas- Martínez.

- Para *A. bento-rainhae* no ponto 1 apresentam-se as características nomenclaturais, a distribuição, ecologia, e estatuto de conservação. No ponto 2 efectua-se a caracterização geo-edafoclimatológica dos três locais seleccionados. No ponto 3 são apresentados os estados fenológicos durante os 4 anos de realização do estudo (2005-2008) traduzindo as diferenças ocorridas pelas distintas alterações climáticas. Sendo a estratégia de propagação da espécie, normalmente a vegetativa, os pontos 4 e 5 referem-se ao estudo de produção de semente, viabilidade e germinação.
- No ponto 6 iniciam-se os estudos em *L. luisieri* abordando as características nomenclaturais, a distribuição da espécie e o seu estatuto de conservação. A inventariação da espécie na Beira Interior, é a apresentada no ponto 7. Após definida a área de ocorrência da espécie, seleccionaram-se 4 locais distintos, em que dois integram Sítios de Importância Comunitária (Parque do Tejo Internacional e Reserva Natural da Serra da Malcata), efectuando no ponto 8 a sua caracterização geoclimatológica, paisagística, fitossociológica e ecológica. Na ausência de bibliografia para *L. luisieri* desenvolveu-se uma ficha de caracterização morfológica baseada nas normas internacionais do *International Plant Genetic Resources Institute* (IPGRI) para *L. angustifolia*. A referida ficha, foi testada e apresentados os resultados

de análise de plantas *in situ* e *ex situ* no ponto 9. Os estudos preliminares de caracterização genética das populações foram abordados no ponto 10. No ponto 11 foram relacionados todos os factores de variedade populacional referidos em 8, 9 e 10 permitindo a distinção das populações da Beira Interior. Numa perspectiva de valorização da espécie, estudos aprofundados da sua composição química foram efectuados em folhas e inflorescências colhidas em populações *in situ* e *ex situ* e em diferentes estados fenológicos, sendo apresentados no ponto 12. No ponto 13 demonstra-se a actividade fago-inibidora dos óleos essenciais e extractos metanólicos. No ponto 14 refere-se o resultado do estudo sobre a produção de núculas e no ponto 15 são divulgados os resultados dos testes de germinação.

Nas conclusões e considerações sobre os aspectos mais relevantes de cada estudo, formularam-se um conjunto de recomendações que se julga poderem contribuir para uma melhor conservação, gestão e valorização das espécies.

Perspectivaram-se linhas de investigação futura que podem complementar e aprofundar os resultados obtidos.



## ***Asphodelus bento-rainhae* P. Silva**

“ Of asphodel, that greeny flower, like a buttercup, upon its branching stem-  
save that it's green and wooden-  
I come, my sweet, to sing to you.  
We lived long together a life filled, if you will, with flowers.  
So that I was cheered when I came first to know  
that there were flowers also in hell.....”  
(WILLIAMS, 1994)





## 1. Nomenclatura, ecologia, distribuição e estatuto

A espécie *Asphodelus bento-rainhae* P. Silva conhecida vulgarmente por abrótea, abrótega, gamão ou bengala-de-são-josé, foi pela primeira vez, descrita em 1956 pelo botânico, engenheiro agrónomo António Pinto da Silva (P. SILVA, 1956). Segundo DÍAZ LIFANTE & VALDÉS (1996) existem duas subespécies, sendo uma circunscrita e endémica do Centro Oeste da Península Ibérica e designada por *A.bento-rainhae* P. Silva subsp. *bento-rainhae* e a outra, endémica das províncias de Ávila, Salamanca e Cáceres designada por *A.bento-rainhae* P. Silva subsp. *salmanticus* Z.Díaz & Valdés (Anexo1).

Alguns autores consideram o género *Asphodelus* L. como pertencendo à família LILIACEAE (TUTIN *et al.*, 1998; FRANCO & ROCHA AFONSO, 1994), enquanto outros consideram que, este deveria ser incluído numa outra família designada por ASPHODELACEAE de acordo com a classificação de KUBITZKI (1990) (DÍAZ LIFANTE & VALDÉS, 1996 ; MARBERLEY, 2008).

Neste trabalho segue-se a nomenclatura de FRANCO & ROCHA AFONSO (1994).

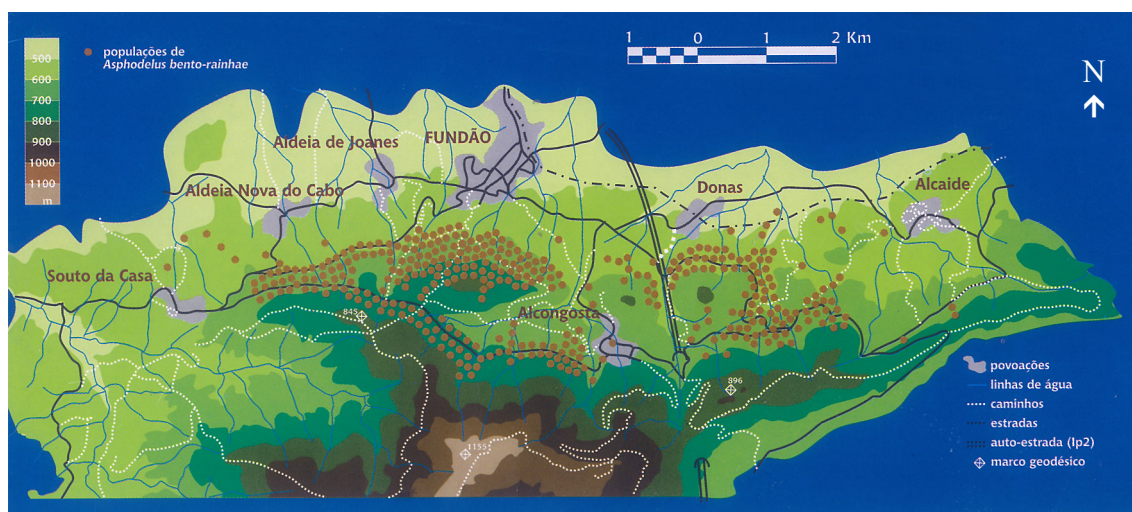
A abrótea da Gardunha, apresenta uma importância crescida para a conservação, uma vez que se trata de uma espécie endémica de Portugal continental, com uma área de distribuição reduzida (aproximadamente 7 Km<sup>2</sup>), estrutura populacional fragmentada e baixo número de indivíduos, ocorrendo apenas nas encostas da vertente Norte da Serra da Gardunha (tratando-se assim, de um endemismo lusitano exclusivo do sistema montanhoso central ibérico), entre os 490 e 850 m de altitude (DÍAZ LIFANTE & VALDÉS, 1996; PINTO GOMES *et al.*, 1996; COTRIM *et al.*, 2002 ).

Na Serra da Gardunha os seus locais de ocorrência preferencial são habitats que se encontram protegidos a nível comunitário e, estão incluídos na lista de habitats naturais e semi-naturais, constantes no anexo B-I do Dec. Lei n.º 49/2005, no âmbito da lista de Sítios de Interesse Comunitário (ICN, 2006a). A área designada por Sítio Serrada Gardunha apresenta solos profundos, geologicamente derivados de metamorfismo de contacto dos xisto-grauvaque, menos frequentemente de granitos. O Sítio reparte-se por sete freguesias do concelho do Fundão: Souto da Casa, Aldeia Nova do Cabo, Aldeia de Joanes, Fundão, Alcongosta, Donas e Alcaide (Figura 1.1) (ADESGAR, 2004).



Em termos de abundância, a espécie apresenta uma variação de este para oeste e de altitudes mais elevadas para as mais baixas. A sua ocorrência é maior na zona ocidental, com clima mais húmido e moderado, ao contrário das condições da zona oriental em que as características climáticas se acentuam quanto ao frio e à secura (PINTO & SILVA, 2001).

ESTEVES (2005) verificou a presença de *A. bento-rainhae* fora do limite do Sítio Serra da Gardunha, verificando que as plantas se encontram de uma forma agregada ( $d > 1,98$ ). Esta forma de distribuição, poderá estar condicionada pelo facto da espécie não apresentar nenhum mecanismo de dispersão específico das sementes, pelo que apresenta baixas taxas de germinação, havendo preferência da espécie pela propagação vegetativa. Por este facto, esta espécie apresenta uma diversidade genética intra-específica relativamente baixa (2%) (ADESGAR, 2004).



**Figura 1.1.** Distribuição de *Asphodelus bento-rainhae* P.Silva na Serra da Gardunha (ADESGAR, 2004).

Os habitats de *A. bento-rainhae* são o sub-bosque primário de carvalhais galaico-portugueses, de carvalho-negral (*Quercus pyrenaica* Willd.) e carvalho-roble ou alvarinho (*Quercus robur* L.) (9230), castiçais bem conservados de *Castanea sativa* Mill.(9260), explorados em regime de talhadia, embora se verifique também a sua ocorrência em áreas de cerejal de *Prunus avium* (L.) L. com e sem intervenção, principalmente, em taludes e orlas de caminhos onde não existe aplicação de herbicidas e mobilização frequente do solo (ICN, 2006a). SOUSA (1997) refere que houve adaptação da espécie às áreas de pinhal e às zonas de cerejal quando menos expostos à acção humana. Segundo ESTEVES (2005) a maior densidade de plantas em estado vegetativo ocorre nas orlas de carvalho e castiçal, enquanto que a maior ocorrência de plantas em floração se regista nas orlas de cerejal, exceptuando-se os cerejais intensivos.

De acordo com ICN (2006b), esta espécie encontra-se protegida pela seguinte legislação: Convenção de Berna (relativa à conservação da vida selvagem e do meio Natural da Europa, 1979) – Anexo I; Directiva 92/43/CEE – Anexos II, b) e IV, b) – espécie prioritária (1840); Decreto-Lei n.º 316/89, de 22 de Setembro – Anexo I; Decreto-Lei n.º 140/99 de 24 de Abril – Anexos B-II, b) e B-IV, b) – espécie prioritária. Aplicando os critérios de ameaça IUCN (versão3.1,2001) (IUCN,2010), a espécie é classificada “Em Perigo Crítico de Extinção” (CR) no entanto, deve ser considerada a reduzida possibilidade de expansão da espécie devido a áreas de ocorrência potencial

urbanizadas e as reduções anuais estimadas de 5% na área de ocupação e 7% na extensão de ocorrência (ICN,2006b).

A espécie *A. bento-rainhae* está considerada como um indicador de degradação ambiental, pelo facto de ser uma planta geófitica e o seu sistema rizomatoso e radicular subterrâneo ser resistente ao fogo, exibindo tendência a preencher as áreas recentemente ardidadas e sem nenhuma cobertura arbórea (ADESGAR, 2006).

Na serra da Gardunha existem outras espécies de *Asphodelus*, tendo-se encontrado na encosta sul, em contacto no limite ocidental, *Asphodelus serotinus* Wolley-Dod. como referido por ICN (2006b). Nas áreas em estudo encontrámos *Asphodelus macrocarpus* Parl. var. *macrocarpus*, espécie já referida como existente nesta região por DÍAZ LIFANTE & VALDÉS (1996), distinguindo-se particularmente de *Asphodelus bento-rainhae*, pela forma, dimensões e inserção das folhas, pela dimensão e inserção dos estames, pela dimensão e forma das cápsulas e pelas dilatações das raízes (DÍAZ LIFANTE, 2008, comunicação pessoal).



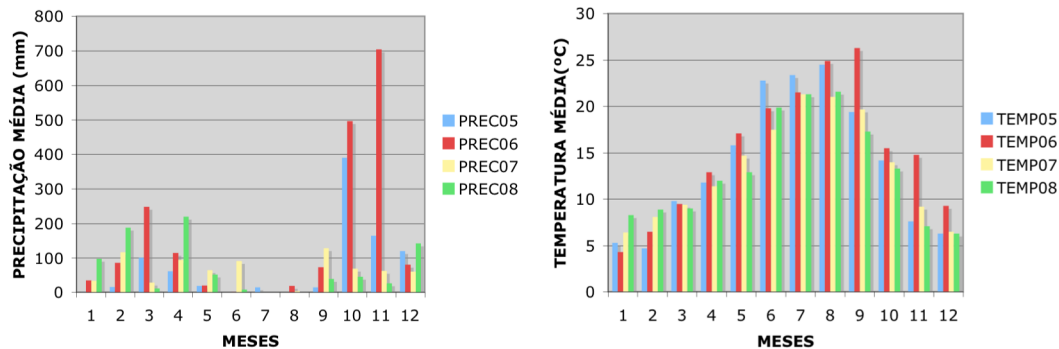
## 2. Caracterização geo-edafoclimatológica e paisagística da zona em estudo

As parcelas seleccionadas tiveram como base as zonas preferenciais de distribuição de *Asphodelus bento-rainhae* em 3 habitats distintos (A, B, C), que corresponderam, respectivamente a zonas de carvalhal, de castiçal em regime de talhadia e a um cerejal biológico, ocupadas maioritariamente por carvalho-negral (*Quercus pyrenaica* Willd.), castanheiro (*Castanea sativa* Mill.) e cerejeira (*Prunus avium* (L.) L.), respectivamente.

Foram recolhidas as coordenadas geográficas, utilizando um GPS (GeoExplorer 3, Trimble). Os pontos foram agrupados numa base de dados, para gerar um mapa de localização (Figura 2.2).

Os dados climáticos foram recolhidos na Estação Meteorológica automática de Alcongosta (N:40°06'56,6" W:7°30'11,4"), pertencente à Direcção Regional de Agricultura e Pescas do Centro (DRAPC), por ser a mais próximas dos locais seleccionados para o estudo (DRAPC, 2008).

A região caracteriza-se por ter um nº de horas de frio acumuladas abaixo dos 7°C, de Novembro a Fevereiro, no período de 30 anos, de 1781,2 horas. A temperatura média anual para o período de 2005-2008, apresentou uma média de 13,9°C com uma temperatura média máxima nos meses de Julho e Agosto de 2005 e 2006 (24°C) e o valor mais baixo da temperatura mínima, em Janeiro de 2007 (-4,3°C). A insolação média anual foi de 2698 horas. O valor de precipitação acumulada foi de 944mm, registando-se o menor valor de pluviosidade no período 2005-2008, nos meses de Junho e Agosto de 2005 (0mm) e os maiores valores de pluviosidade em Março-Abril nos anos 2005 (162,6mm) e 2006 (363,6mm) e em Abril-Junho de 2007 (250,8 mm) e Abril-Maio (272,2 mm) em 2008 (Figura 2.1).



**Figura 2.1.** Precipitação e temperatura médias registadas na estação meteorológica de Alcongosta, no período 2005-2008.

Segundo os dados bioclimatológicos, as parcelas encontrando-se todas na zona norte da serra da Gardunha inserem-se em região com termótipo mesomediterrânico superior e ombrótipo húmido inferior (RIVAS-MARTÍNEZ, 2004).

A zona de estudo está inserida na região mediterrânica; Sub-região Mediterrânica Ocidental; Superprovinça Mediterrânica Ibero-Atlântica; Província Luso-Extremadurensis, Sector Toledano-Tagano; Subsector Hurdano-Zezerense; Superdistrito Zezerense (COSTA *et al.*, 1998)

Foi compilada a informação e elaborado o quadro 2.1, onde se pode observar que as parcelas apresentam idêntica exposição e uma altitude circunscrita dentro dos limites descritos como limitativos da ocorrência de *A. bento-rainhae* (500-850m) (ADESGAR, 1999).

Os níveis de destruição foram atribuídos por observação *in situ*, assim como a caracterização da ocupação do solo em cada parcela, tendo também como base RIVAS-MARTÍNEZ (2004).

As análises sumárias dos solos de cada parcela foram efectuadas no Laboratório de Solos da Escola Superior Agrária de Castelo Branco (ESACB).

**Quadro 2.1.** Caracterização geo-edáfica dos locais de colheita de plantas e diásporos de *Asphodelus bento-rainhae*, na Serra da Gardunha. Níveis de destruição, exposição e ocupação do solo.

| Parcelas            | Coordenadas geográficas |               |              | Nível de destruição | Ocupação do solo e exposição  | Análise sumária do solo |         |  |                                 |
|---------------------|-------------------------|---------------|--------------|---------------------|---|-------------------------|---------|--|---------------------------------|
|                     | Latitude (N)            | Longitude (W) | Altitude (m) |                     |   | pH (H <sub>2</sub> O)   | M.O (%) | Fósforo* P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (ppm) | Potássio K <sub>2</sub> O (ppm) |
| <b>A- Carvalhal</b> | 40°07' 46,2"            | 7°30' 42,8"   | 574          | 2                   | Associação de carvalhal <i>Arbutum unedonis-Quercetum pyrenaicae genistetosum falcatae</i> , com clareiras de exposição | 5,4                     | 3,2     | 16   | >200                            |
| <b>B- Castinçal</b> | 40°07' 27,0"            | 7°31' 58,8"   | 658          | 1                   | Sob coberto de <i>Castanea sativa</i> Mill.   | 5,6                     | 4,1     | 73   | >200                            |
| <b>C- Cerejal</b>   | 40°07' 26,6"            | 7°31' 11,1"   | 721          | 3                   | Pomar de <i>Prunus avium</i> (L.) L., zonas abertas e de elevada exposição.   | 5,5                     | 4,4     | 7  | >200                            |

Níveis de destruição: 1 - Sem acção humana (não mobilização >30anos), castiçal em talhadia; 2 - Fogo, cortes e destruição florestal; 3 - Actividade agrícola em socalcos.

\*- Determinado pelo método de Egner- Riehm

M – Médio; M.B.- Muito Baixo; M.A. – Muito Alto



**Figura 2.2.** Localização geográfica das parcelas de estudo de *A. bento-rainhae* (□ Carvalhal, Castinçal, Cerejal).

Quanto à caracterização paisagística apresentada por CANCELA D'ABREU *et al.* (2004) do Sítio Serra da Gardunha, este insere-se na unidade de paisagem 65 - Serras da Gardunha, de Alvelos e do Moradal,

na sua extremidade oriental - norte. A serra da Gardunha é caracterizada por uma massa montanhosa que se ergue até aos 1227 metros, de cimos arredondados característicos das serras graníticas. Localiza-se na zona ocidental do Sistema Montanhoso Central Ibérico, fazendo a divisória entre a “Campina de Castelo Branco” e a “Cova da Beira”. A Nordeste, onde se inserem as parcelas de estudo, assume alguma importância na economia local a fruticultura (cereja e maçã). Os cerejais ocupam os terrenos com melhor aptidão agrícola, deixando de ser um uso do solo meramente florestal, como na maioria da unidade.

Nesta zona a paisagem é marcada pelos fortes sinais dependentes das estações do ano, dominados pelas cores quentes das folhagens caducas no Outono e a cor branca das cerejeiras em flor que, em socos, cobrem as encostas serranas conjuntamente com pinhais, matos e rochedos graníticos. Residualmente, observam-se castanheiros e carvalhais onde se associam as espécies de *Asphodelus*. *A. bento-rainhae* e *A. macrocarpus* apresentam-se como espécies simpátricas na área de ocorrência do primeiro.

Nesta parte oriental da serra, verifica-se a existência da maior diversidade paisagística da unidade, associada a uma coerência de usos que corresponde a uma situação próxima de um equilíbrio sustentável. Quanto à “riqueza biológica” a unidade apresenta baixa capacidade para suportar uma significativa diversidade biológica apresentando, porém, o endemismo local a espécie *A. bento-rainhae* (CANCELA D’ABREU *et al.*, 2004).

### 3. Estudos fenológicos e morfológicos

Segundo ADESGAR (2004) a floração de *Asphodelus bento-rainhae* ocorre entre Abril e Maio e a frutificação em Maio e Junho.

A espécie *A. bento-rainhae* pertence à classe das Monocotiledóneas (=Liliopsida). De acordo com a classificação de RAUNKIAER (1934) é um géofito rizomatoso, de rizoma oblíquo, com raízes tuberoso-fasciculadas, carnudas apresentando dilatações fusiformes, na maioria sésseis.

As folhas são lineares, glaucas, desde triangulares a caniculado-aquilhadas, com 3-12 mm de largura e 15-40cm de comprimento (P. SILVA, 1956; FRANCO & ROCHA AFONSO, 1994).

A inflorescência (cacho simples ou composto) é suportada por um escapo floral liso de 7-130cm x 3-8mm, simples ou com 2-5 ramos ascendentes de 15-35 cm (P. SILVA, 1956).

As brácteas florais com 7-9mm x 1-1,5mm são linear-setáceas, castanho-anegradas, não escariosas na base (FRANCO & ROCHA AFONSO, 1994) menores que o pedicelo frutífero (P. SILVA, 1956), que é delgado, articulado entre 1/4 e 1/3, menos vezes a 1/2 do seu comprimento e arqueado-ascendente (P. SILVA, 1956; FRANCO & ROCHA AFONSO, 1994)

As flores com tépalas de 11-14 mm são oblanceoladas quanto à forma, esbranquiçadas e com a nervura vermelho-acastanhada (P. SILVA, 1956) (Figura 3.4).

Os estames de 12-20 mm possuem os filetes mais compridos que as tépalas e anteras de 1,5-2,6 mm (DÍAZ LIFANTE & VALDÉS, 1996). O estilete (18-25 mm), excede os estames (P. SILVA, 1956). O ovário quase totalmente adnado ao receptáculo é truncado (DÍAZ LIFANTE & VALDÉS, 1996) (Figura 3.4).

O fruto é uma cápsula com 6,5-7mm x 6-8 mm, mitriforme, enérvea antes da maturação transversalmente nervoso-rugosa na deiscência, subtetraédrica, escavado-deprimida no ápice, com as valvas obcordadas, oblongas ou ovado-oblongas, (P. SILVA, 1956; FRANCO & ROCHA AFONSO, 1994 e DÍAZ LIFANTE & VALDÉS, 1996) (Figura 3.4).

As sementes são agudamente trigonais, atenuadas nas extremidades, negras, ligeiramente pontuado-rugosas (P. SILVA, 1956) (Anexo I).



A partir do ano de 2005, em populações da Serra da Gardunha e em parcelas de carvalhal, castiçal e cerejal, observaram-se os estados fenológicos e as características morfológicas de *A. bento-rainhae*, de forma a poder compreender as alterações morfológicas verificadas em populações actuais (2005-2008).

### 3.1. Material e métodos

O estudo da fenologia teve como base registos dos estádios principais de crescimento da Escala BBCH para monocotiledóneas (BLEIHOLDER, 1996) e estes, foram considerados quando 50% das plantas se encontravam nesse estágio de desenvolvimento. Todas as observações foram realizadas semanalmente ou em determinados períodos diariamente, durante quatro anos. Não foi efectuada a avaliação baseada nem em métodos qualitativos nem em métodos semi-quantitativos de avaliação fenológica. A escala adaptada contemplou as seguintes fases:

1. Desenvolvimento das folhas
  - 1.1 1ª folha (>3cm) claramente visível;
  - 1.9 9 ou mais folhas claramente visíveis (fase de roseta );
5. Desenvolvimento do escapo floral
  - 5.1 Início da formação do escapo floral;
  - 5.5 Primeiras flores individuais da inflorescência (ainda fechadas);
6. Floração
  - 6.1 Início da floração: 10% das plantas possuem inflorescência com as primeiras flores abertas;
  - 6.2 Plena floração: 50% das flores abertas;
7. Formação do fruto
  - 7.1 Primeiras cápsulas formadas;
  - 7.5 50% de cápsulas formadas;
8. Maturação dos frutos e sementes
  - 8.5 50% de frutos maduros;
  - 8.9 Maturação completa: sementes negras e duras;
9. Senescência
  - 9.7 Morte das partes aéreas;

As observações morfológicas efectuaram-se *in situ* em plantas da espécie *Asphodelus bento-rainhae* nas três parcelas seleccionadas (Quadro 2.1) durante os anos de 2005, 2006, 2007 e 2008.

Em cada parcela foram marcadas, aleatoriamente, 30 plantas repartidas por 3 repetições de 10 plantas, em 3 zonas distintas das parcelas em estudo. Nas plantas marcadas todas as características morfológicas foram analisadas individualmente.

Foram observados os seguintes órgãos: raiz, folhas, escapo floral, inflorescência, frutos e sementes.

Para o estudo do sistema radicular contabilizou-se em cada planta: número de dilatações fusiformes/raiz; comprimento e diâmetro medido a meio das dilatações fusiformes; diâmetro do sistema radicular.

Nas folhas foram estudados: número; comprimento e largura.

No escapo floral foi medido: comprimento; diâmetro ( medido 20 cm abaixo da inserção dos ramos) e observada a sua forma.

Os parâmetros analisados na inflorescência (fase de plena floração) foram: comprimento dos ramos; número de ramificações e número de flores total/planta.

As cápsulas retiraram-se das inflorescências frutificadas e contabilizaram-se. De 10 frutos da mesma planta foram medidos: comprimento e a largura. Avaliou-se a média de sementes por fruto (média de sementes sãs e média de sementes defeituosas) e o número total/planta.

Para as sementes foram medidos: comprimento e a largura em 10 sementes de cada planta e efectuado o peso de 100 sementes.

A interpretação estatística dos resultados foi efectuada por uma análise ANOVA univariada utilizando o programa SPSS 16.0 (MAROCO, 2003) a um nível de confiança pelo teste de Scheffé de  $p < 0,05$ .

## 3.2. Resultados e discussão

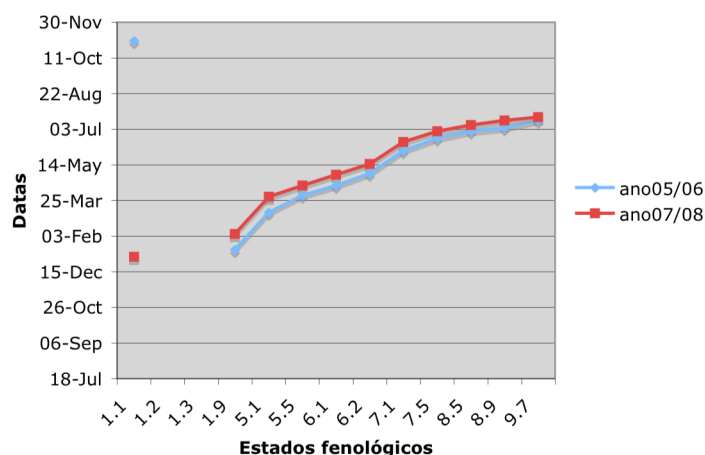
### 3.2.1. Fenologia

Os resultados das observações semanais *in situ* durante a época de Outono ao local do castiçal permitiu avaliar o desenvolvimento de *A. bento-rainhae* anualmente em função das condições edafo-climáticas (Figura 2.1), tendo-se verificado o abrolhamento **(1.1)**, no início do mês de Novembro em 2005 e 2006, ao contrário de 2007 e 2008 onde só em Janeiro se registou esta fase, provavelmente devido às condições climáticas dos dois últimos anos em que, a precipitação e temperaturas foram inferiores às registadas nos anos anteriores, no período outonal.

A roseta de folhas **(1.9)**, formou-se em meados de Janeiro em dois dos anos do estudo e só em Fevereiro nos anos 2007 e 2008. O início do aparecimento do escapo floral **(5.1)** ocorreu em Março desde o início até ao fim do mês e mostrou ser um processo lento dependente das condições edafo-climáticas do local e do ano.

O início da floração **(6.1)** deu-se mais tarde, em meados do mês de Abril, tendo sido observada a plena floração **(6.2)** no início do mês de Maio, prolongando-se até ao início do mês de Junho, onde se começou a verificar o início da frutificação **(7.1)**, que se prolongou até meados do mês de Julho.

A maturação dos frutos **(8.5)** teve início a meados de Junho e a maturação completa **(8.9)** em finais de Junho para os anos de 2005 e 2006 e só em meados de Julho, em 2007 e 2008 (Figura 3.1).



**Figura 3.1.** Evolução dos estados fenológicos de *A. bento-rainhae*, *in situ* para os anos de 2005 a 2008.

Verificou-se a ocorrência da senescência da parte vegetativa da planta (9.7) na fase final da frutificação (mês de Julho), registando-se nos meses seguintes até ao final da estação estival o envelhecimento da inflorescência frutífera.

### 3.2.2. Morfologia do sistema radicular

Na figura 3.2., observa-se uma planta em estado vegetativo, representativa de cada local de estudo.



**Figura 3.2.** Planta e dilatações radiculares de *A. bento-rainhae*: carvalho (A); castinçal (B); cerejal (C).

O tipo de solo (Quadro 2.1) e o ensombramento projectado pela vegetação existente em cada parcela proporcionou às plantas características morfológicas distintas, principalmente, quanto ao número e dimensão das raízes tuberoso-fasciculadas e à dimensão e formato do rizoma.

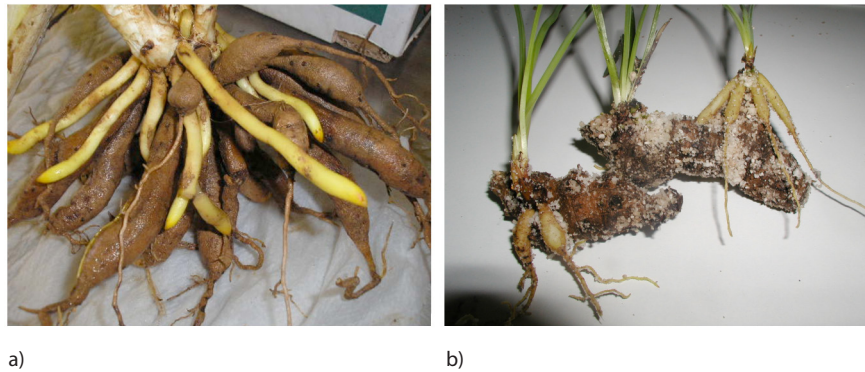
O rizoma apresenta-se na generalidade expandido obliquamente e é a partir deste que se desenvolve o sistema radicular.

As raízes carnudas e fusiformes, diferentes dos rizomas pela sua forma e, pela sua consistência, poderão ser limitadas a uma estação, caso as condições não sejam as mais favoráveis à

sobrevivência da planta, contrariamente aos rizomas que permanecem no solo durante vários anos.

Como referem AUGIER & MERAC (1982) a ramificação das raízes é geralmente pouco frequente ou nula, contrariamente à dos rizomas.

As raízes do ano apresentam-se lineares e esbranquiçadas só começando a exibirem engrossamento e acumulação de reservas no período final do ciclo produtivo da planta (Figura 3.3)



**Figura 3.3.** Desenvolvimento radicular, do ano: a) planta *in situ*, b) após propagação vegetativa do rizoma.

Em relação ao número de dilatações radiculares fusiformes/ raiz e em cada parcela, constatou-se que não existiam diferenças entre as mesmas, uma vez que as suas médias não diferiram significativamente entre si com se pode observar no quadro 3.1.

**Quadro 3.1.** Número de dilatações radiculares fusiformes/raiz.

| Parcelas     | Média |
|--------------|-------|
| A - Carvalho | 22 a  |
| B - Castiçal | 19 a  |
| C - Cerejal  | 31 a  |

Os valores afectados pela mesma letra não diferem significativamente ao nível de confiança de  $p < 0,05$ .

Pelo contrário verificou-se existirem diferenças significativas ao nível das três parcelas, no que respeita ao comprimento das dilatações radiculares fusiformes (Quadro 3.2).

**Quadro 3.2.** Comprimento (cm) das dilatações radiculares fusiformes.

| Parcelas     | Média do comprimento(cm) |
|--------------|--------------------------|
| A - Carvalho | 3,8 a                    |
| B - Castiçal | 2,9 b                    |
| C - Cerejal  | 4,4 a                    |

Os valores afectados pela mesma letra não diferem significativamente ao nível de confiança de  $p < 0,05$ .

Também para a média do diâmetro (cm) das dilatações radiculares não existiram diferenças significativas entre as três parcelas (Quadro 3.3).

**Quadro 3.3.** Diâmetro (cm) das dilatações radiculares fusiformes.

| Parcelas      | Média (cm) |
|---------------|------------|
| A - Carvalhal | 1,2 a      |
| B - Castinçal | 1,0 a      |
| C - Cerejal   | 1,3 a      |

Os valores afectados pela mesma letra não diferem significativamente ao nível de confiança de  $p < 0,05$ .

Em relação ao diâmetro do sistema radicular (Quadro 3.4.), considerou-se que existiram diferenças entre as três parcelas, uma vez que, as plantas do castinçal diferem significativamente das plantas das outras parcelas, pois apresentam um menor diâmetro do sistema radicular associado a um menos vigor e desenvolvimento vegetativo.

**Quadro 3.4.** Diâmetro (cm) do sistema radicular.

| Parcelas      | Média (cm) |
|---------------|------------|
| A - Carvalhal | 42,4a      |
| B - Castinçal | 27,9b      |
| C - Cerejal   | 40,0ab     |

Os valores afectados pela mesma letra não diferem significativamente ao nível de confiança de  $p < 0,05$ .

As plantas mais vigorosas, apresentaram raízes com dilatações radiculares fusiformes em maior número e de maiores dimensões.

### 3.2.3. Morfologia das folhas

Na análise do parâmetro morfológico, número médio de folhas não se verificaram diferenças significativas entre as plantas das parcelas (Quadro 3.5). Para DÍAZ LIFANTE & VALDÉS (1996), trata-se de um parâmetro sem importância taxonómica, podendo variar com a idade da planta e com as condições edafo-climáticas do local.

**Quadro 3.5.** Número de folhas/planta.

| Parcelas      | Média |
|---------------|-------|
| A - Carvalhal | 11a   |
| B - Castinçal | 10a   |
| C - Cerejal   | 10a   |

Os valores afectados pela mesma letra não diferem significativamente ao nível de confiança de  $p < 0,05$ .

Relativamente ao parâmetro comprimento das folhas as plantas do castinçal apresentaram valores distintos, significativamente das outras parcelas (Quadro 3.6). Porém, este parâmetro varia também em função da idade da planta e para DÍAZ LIFANTE & VALDÉS (1996) *A. bento-rainhae* está incluído no grupo das espécies, na secção *Asphodelus*, com folhas mais curtas.

**Quadro 3.6.** Comprimento das folhas (cm).

| <b>Parcelas</b> | <b>Média (cm)</b> |
|-----------------|-------------------|
| A - Carvalho    | <b>58,9a</b>      |
| B - Castiçal    | <b>52,9b</b>      |
| C - Cerejal     | <b>54,9a</b>      |

Os valores afectados pela mesma letra não diferem significativamente ao nível de confiança de  $p < 0,05$ .

Para FRANCO & ROCHA AFONSO (1994) o comprimento das folhas varia de 15-40 cm e DÍAZ LIFANTE & VALDÉS (1996), referem valores de 30-90 cm, que incluem os valores obtidos nas plantas observadas.

Quanto à largura das folhas e através da análise apresentada no quadro 3.7. pôde constatar-se a existência de diferenças significativas entre as plantas das populações das parcelas A e C e as da parcela B.

**Quadro 3.7.** Largura média das folhas(cm).

| <b>Parcelas</b> | <b>Média (cm)</b> |
|-----------------|-------------------|
| A - Carvalho    | <b>0,9a</b>       |
| B - Castiçal    | <b>0,6b</b>       |
| C - Cerejal     | <b>0,8a</b>       |

Os valores afectados pela mesma letra não diferem significativamente ao nível de confiança de  $p < 0,05$ .

As plantas observadas revelaram corresponder às dimensões referidas para esta característica por DÍAZ LIFANTE & VALDÉS (1998).

### 3.2.4. Morfologia do escapo floral

O escapo floral tem origem no centro da roseta foliar e apresenta-se, normalmente com porte erecto, suportando a inflorescência.

O comprimento varia em função da idade da planta e das condições edafo-climáticas, apresentou-se sempre superior à dimensão das folhas, em cada planta, característica referida por DÍAZ LIFANTE & VALDÉS (1996).

As plantas da parcela A apresentaram escapos de comprimento significativamente superior ao das plantas das parcelas B e C (Quadro 3.8).

**Quadro 3.8.** Comprimento do escapo floral (cm).

| <b>Parcelas</b> | <b>Média (cm)</b> |
|-----------------|-------------------|
| A - Carvalho    | <b>143a</b>       |
| B - Castiçal    | <b>127b</b>       |
| C - Cerejal     | <b>126b</b>       |

Os valores afectados pela mesma letra não diferem significativamente ao nível de confiança de  $p < 0,05$ .

Os valores obtidos para este parâmetro estão enquadrados nos valores referidos por P. Silva (1956).

Na análise do parâmetro diâmetro do escapo floral, foi possível verificar que na parcela de castiçal (B) as plantas exibiam escapos menos espessos, dimensão significativamente diferente das outras parcelas (Quadro 3.9).

**Quadro 3.9.** Diâmetro do escapo floral (mm).

| Parcelas      | Média (mm) |
|---------------|------------|
| A - Carvalhal | 6,1a       |
| B - Castiçal  | 4,4b       |
| C - Cerejal   | 6,3a       |

Os valores afectados pela mesma letra não diferem significativamente ao nível de confiança de  $p < 0,05$ .

Quanto à forma do escapo no conjunto das 90 plantas, 92% caracterizavam-se por serem plantas com a forma do escapo cilíndrica e 8% plantas com a forma do escapo pentagonal.

No que diz respeito a este parâmetro, estes valores encontram-se englobados nos descritos por DIAZ LIFANTE & VALDÉS (1996).

### 3.2.5. Morfologia da inflorescência

O comprimento da inflorescência está directamente relacionado com o comprimento do escapo floral e com a idade e desenvolvimento da planta.

Pelo quadro 3.10. pode observar-se que as plantas da parcela B são significativamente diferentes das das parcelas A e C, assim como também acontecia com o comprimento do escapo.

**Quadro 3.10.** Comprimento dos ramos da inflorescência (cm).

| Parcelas      | Média (cm) |
|---------------|------------|
| A - Carvalhal | 56,1a      |
| B - Castiçal  | 39,8b      |
| C - Cerejal   | 50a        |

Os valores afectados pela mesma letra não diferem significativamente ao nível de confiança de  $p < 0,05$ .

É possível verificar que o comprimento dos ramos da inflorescência nas plantas em estudo se revelou mais elevado do que FRANCO & ROCHA AFONSO (1994) referiram (15-35 cm).

O escapo floral, como já foi referido, pode ser simples ou ramificado, carácter que tem importância taxonómica no género *Asphodelus* (DIAZ LIFANTE & VALDÉS, 1996).

Este parâmetro é importante, na medida em que, através dele, podemos verificar que a planta teve um desenvolvimento com um maior número de ramificações condicionado por diversos habitats (Figura 3.4).

Pela análise estatística comparativa das plantas das diferentes parcelas, verificou-se que as plantas da parcela B se mostraram significativamente diferentes das plantas das restantes parcelas, com uma média de 3 ramificações por inflorescência/planta, relativamente às 4 das plantas das parcelas A e C (Quadro 3.11).

**Quadro 3.11.** Número de ramificações da inflorescência.

| Parcelas     | Média |
|--------------|-------|
| A -Carvalho  | 4a    |
| B - Castiçal | 3b    |
| C - Cerejal  | 4a    |

Os valores afectados pela mesma letra não diferem significativamente ao nível de confiança de  $p < 0,05$ .

Nas parcelas A e C, não se encontraram plantas com ramificações simples, nem duplas. As condições ligadas a melhores exposições solares nestas parcelas, poderá ser o factor ecológico a condicionar a ramificação das inflorescências. Este facto mostra que o local condiciona o desenvolvimento da planta através do número de ramificações e consequentemente o número de flores/planta.

P.SILVA (1956) refere que o número de ramificações é de 2-5, porém, DIAZ LINFANTE & VALDÉS (1996) referem 1- 4 e excepcionalmente 5 ramificações.

### 3.2.6. Características e número de flores

As flores são hermafroditas e entomófilas. O pólen amadurece numa fase em que o estigma não está receptivo, por este facto a presença constante de insectos aumenta as possibilidades de polinização (Figura 3.4).

As flores encontram-se no mesmo estado de desenvolvimento por andares.

O número de flores pode indiciar a produção de frutos e consequentemente de sementes.

A parcela B possui plantas com um número significativamente inferior de flores/planta do que as registadas nas parcelas A e C (Quadro 3.12).

**Quadro 3.12.** Número de flores total /planta (2005).

| Parcelas     | Média |
|--------------|-------|
| A -Carvalho  | 252a  |
| B - Castiçal | 115b  |
| C - Cerejal  | 265a  |

Os valores afectados pela mesma letra não diferem significativamente ao nível de confiança de  $p < 0,05$ .

As plantas com maior número de flores são exemplares que apresentavam maior comprimento da inflorescência, podendo-se dizer que, quanto maior o comprimento da inflorescência maior será o número de flores que a planta produzirá. As plantas com inflorescências simples desenvolvidas na parcela B formavam um menor número de flores.



Este parâmetro mostrou ser muito variável por planta e para cada local.

É possível constatar que o número de flores no ramo principal é consideravelmente superior às dos outros ramos da mesma inflorescência.

A terceira ramificação é aquela que possui maior número de flores a seguir ao ramo principal. Na maioria dos casos observados a segunda ramificação é aquela que possui menor número de flores.

O número de flores da inflorescência está relacionado com o verificado por ESTEVES (2005) em que plantas em orlas ou com maior exposição solar apresentavam inflorescências de maior tamanho. Segundo GOMES *et al.* (1996) a espécie necessita de luz para entrar em floração, pelo que estes factores se encontram correlacionados e originam uma ocorrência da espécie em clareiras, caminhos abertos e orlas, não florindo em matas ou outros locais de vegetação densa.

### 3.2.7. Características e morfologia dos frutos e sementes

Quanto ao número de frutos este parâmetro está directamente relacionado com a produção de flores e com a acção dos insectos polinizadores.

Nas plantas existentes no castiçal a média do número de frutos/planta foi significativamente inferior à observada nas outras parcelas (Quadro 3.13).

**Quadro 3.13.** Número de frutos total /planta (2005).

| Parcela              | Média       |
|----------------------|-------------|
| Parcela A -Carvalhal | <b>107a</b> |
| Parcela B - Castiçal | <b>13b</b>  |
| Parcela C - Cerejal  | <b>106a</b> |

Os valores afectados pela mesma letra não diferem significativamente ao nível de confiança de  $p < 0,05$ .

Foi possível constatar que o número de frutos no ramo principal foi consideravelmente superior ao dos outros ramos da mesma planta.

A cobertura arbórea na parcela B, pode ter contribuído para a formação de um menor número de frutos, uma vez que, se verificou uma reduzida actividade diária de visitas de insectos polinizadores.

Tudo indicia para que a melhor exposição solar seja, mais uma vez, um factor que condiciona uma melhor polinização, o amadurecimento do pólen e o vingamento dos frutos. A diferença de um nono de frutos da parcela B, relativamente ao número de flores poderá ser justificado por este factor ou também, pela baixa disponibilidade de recursos (STEPHENSON, 1981; LEE & BAZZAZ, 1982; DELPH, 1986; HERRERA, 1991) ou pela idade das plantas (WIENS *et al.*, 1987).

Das medições efectuadas (Quadro 3.14) pôde constatar-se que o comprimento e a largura médias dos frutos estavam dentro dos parâmetros que FRANCO & ROCHA AFONSO (1994) também enunciavam (6,5-7mm).

**Quadro 3.14.** Comprimento e largura da cápsula (10 frutos).

| <b>Locais</b>        | <b>Média do comprimento (mm)</b> | <b>Média da largura (mm)</b> |
|----------------------|----------------------------------|------------------------------|
| Parcela A -Carvalho  | <b>6,9a</b>                      | <b>6,7a</b>                  |
| Parcela B - Castiçal | <b>6,8a</b>                      | <b>6,5a</b>                  |
| Parcela C - Cerejal  | <b>6,9a</b>                      | <b>6,6a</b>                  |

Os valores afectados pela mesma letra não diferem significativamente ao nível de confiança de  $p < 0,05$ .

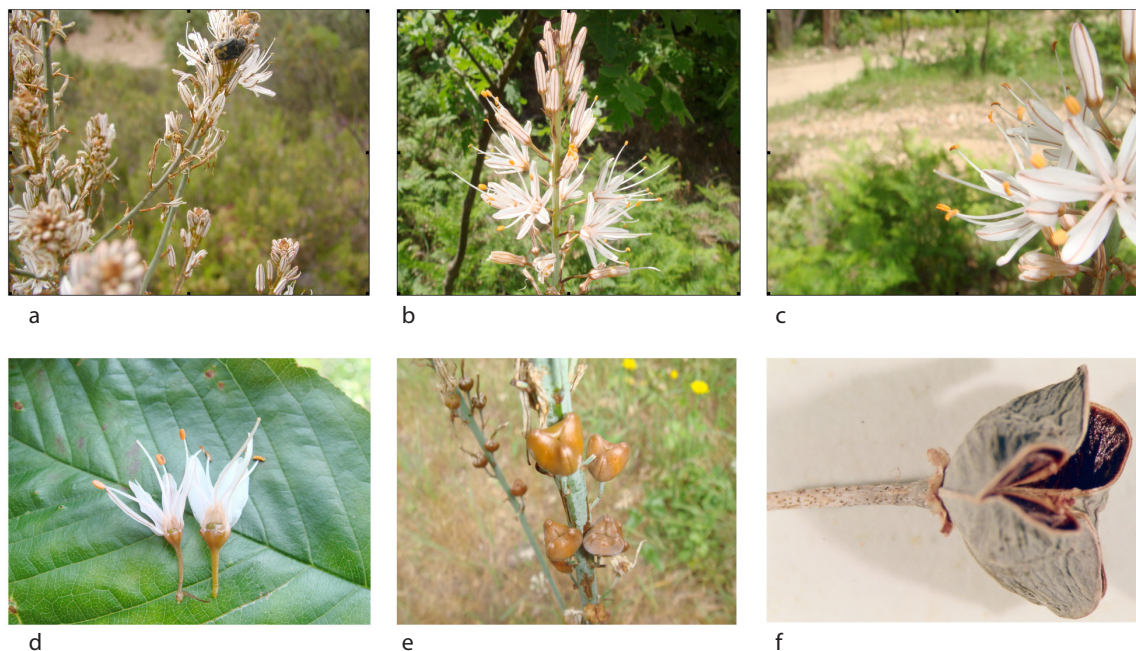
Pelo quadro 3.15 pode verificar-se que o comprimento e a largura médias das sementes estão dentro dos parâmetros que DIAZ LIFANTE & VALDÉS (1996) referiram. Sendo possível observar que as três parcelas apresentam valores muito próximos, não existindo diferenças significativas entre elas para este parâmetro

**Quadro 3.15.** Comprimento e largura das sementes (10 sementes).

| <b>Locais</b>        | <b>Média do comprimento (mm)</b> | <b>Média da largura (mm)</b> |
|----------------------|----------------------------------|------------------------------|
| Parcela A -Carvalho  | <b>4,01a</b>                     | <b>2a</b>                    |
| Parcela B - Castiçal | <b>3,96a</b>                     | <b>1,95a</b>                 |
| Parcela C - Cerejal  | <b>4,08a</b>                     | <b>2,11a</b>                 |

Os valores afectados pela mesma letra não diferem significativamente ao nível de confiança de  $p < 0,05$ .

As sementes apresentaram uma testa negra encrustada de fitomelanina, como é referido por WATSON & DALLWITZ (1992).



**Figura 3.4.** Aspectos gerais da morfologia de *A. bento-rainhae* a) inflorescência composta e coleóptero polinizador; b) inflorescência (cacho simples) c) flores (pormenor), tépalas oblanceoladas, esbranquiçadas e com nervura acastanhada; estames com filetes mais compridos que as tépalas, estames simultaneamente em diferentes estados de desenvolvimento d) corte das flores de *A. bento-rainhae* (esquerda) e *A. macrocarpus* (direita), diferenças na inserção, tamanho dos estames e do fruto e) frutificação de *A. bento-rainhae*, aspecto das cápsulas mitriformes f) cápsula nervoso-rugosa, na deiscência;

## 4. Produção de semente

A produção de semente anual em espécies vivazes, estando condicionada por factores fisiológicos e morfo-anatómicos da planta, também está relacionada com o habitat, factores edafo-climáticos, acção de herbívoros e polinizadores, contribui para a perpetuação da espécie ou para a constituição do banco de sementes permitindo *in situ* a conservação a longo prazo (DRAPER *et al.*, 2004).

Factores como a fenologia (LUBBERS & CHRISTENSEN, 1986; AGREN, 1988; KANG & PRIMACK, 1991), posição dos frutos na inflorescência e localização das sementes, no fruto ( BAWA & WEEB,1984; LEE & BAZZAZ,1986, SUTHERLAND, 1987; NAKAMURA, 1988; ANDERSSON, 1990; BYRNE & MAZER, 1990; ROCHA & STEPHENSON, 1990), podem, também, influenciar a produção e maturação dos frutos e sementes.

Quando se pretende preservar espécies naturais silvestres, um dos problemas constantes é que, normalmente o tamanho da amostra total de sementes é reduzido e nem sempre estas se encontram no mesmo estado de maturação.

A reduzida produção de sementes, que ocorre em diversas espécies já foi referida como resultante do abortamento de frutos (CHARLESWORTH, 1989 a,b), de baixas reservas nutritivas da planta (DELPH, 1986), pólen formado em pequena percentagem (LEE, 1988, CHARLESWORTH, 1989b) ou pela interacção existente entre os nutrientes e o pólen disponível (HERRERA, 1990). O vingamento de sementes com embriões mais vigorosos, também é indicado como factor condicionante em algumas espécies (CASPER, 1988). Algumas hipóteses casuais têm surgido, relativamente ao condicionamento da formação de sementes por factores genéticos (WIENS *et al.*, 1987; CHARLESWORTH, 1989b).

A conservação do germoplasma de espécies silvestres, de modo a torná-lo disponível, se necessário, para futuros programas de revegetação, reabilitação de efectivos populacionais ou de áreas onde se verificou redução da diversidade genética é um dos aspectos importantes a ter em conta, sempre que se pretenda contribuir para a conservação da biodiversidade vegetal.

O germoplasma conservado pode, também, ser utilizado em estudos que permitem complementar informações sobre a espécie, que de outra forma, por exemplo, *in situ*, não seriam realizáveis (DRAPER *et al.*, 2004).

## 4.1. Material e métodos

Este estudo foi efectuado para os 4 anos de observações e estudos de campo, tendo a análise sido efectuada por ano e por parcela.

Como indicado no ponto 3.1, em cada parcela foram marcadas aleatoriamente, 90 plantas, das quais se recolheram em sacos de polietileno os frutos (cápsulas) e/ou sementes.

Nas plantas marcadas todas as medições de produção de frutos e sementes foram analisadas individualmente.

Algumas observações sobre os insectos que visitavam as flores, foram efectuadas, anualmente durante o mês de Maio.

Foi efectuada a relação frutos/planta; sementes/frutos.

Os resultados foram sujeitos a uma análise ANOVA através do programa SPSS (versão 16.0) (MAROCO, 2003). Efectuou-se a comparação de médias a um nível de significância de 95%, pelo teste de Scheffé.

## 4.2. Resultados

De entre os insectos visitantes das flores de *Asphodelus bento-rainhae* encontrámos por ordem de frequência espécies do género *Bombus* sp., *Aphis* sp. e espécies distintas de coleópteros e himenópteros, também já referidos por ADESGAR (2004).

Consoante o ano, mais ou menos chuvoso na época de floração, a importância de cada insecto visitante, variou em abundância, como também já tinha sido demonstrado por OBESO (1992) para *Asphodelus albus* no Norte de Espanha.

O número de frutos variou ao longo dos anos e por parcela tendo-se verificado que a precipitação abundante nos meses de Março e Abril de 2006, 248mm e 115mm respectivamente, foram o factor condicionador da baixa produção de frutos obtida nesse ano. No ano de 2008 a precipitação de 220mm na última quinzena de Março terá, também contribuído para os baixos valores obtidos em todas as parcelas (Quadro 4.1).

O número de frutos por planta foi mais homogénea ao longo dos anos na mesma parcela, do que entre parcelas, o que seria de prever pelas condições do habitat existente na parcela B.

**Quadro 4.1.** Número de frutos/planta das parcelas A, B e C para os anos de 2005,2006,2007,2008.

| Número médio de frutos/planta |      |       |     |       |      |
|-------------------------------|------|-------|-----|-------|------|
| A2005                         | 107a | B2005 | 13b | C2005 | 106a |
| A2006                         | 69a  | B2006 | 49b | C2006 | 54b  |
| A2007                         | 130a | B2007 | 69b | C2007 | 47b  |
| A2008                         | 82a  | B2008 | 11c | C2008 | 75b  |

Os valores afectados pela mesma letra, na linha, não diferem significativamente ao nível de confiança de  $p < 0.05$ .

Relativamente ao nº de sementes / por fruto foi também o factor precipitação que afectou a polinização, a visita de agentes polinizadores e, como tal, pelos factores já referenciados, a parcela B relativamente a estes factores foi a que apresentou maiores diferenças produtivas nos anos 2006 e 2008. Foi o factor parcela/ano que mais influenciou a formação de sementes (Quadro 4.2).

No ano de 2007 na parcela C, a existência de teias abundantes causadas por pragas nas inflorescências, originaram perdas de frutos e consequentemente de sementes.

**Quadro 4.2.** Número de sementes/fruto das parcelas A, B e C para os anos de 2005,2006,2007,2008.

| Número médio de sementes/fruto |    |       |    |       |    |
|--------------------------------|----|-------|----|-------|----|
| A2005                          | 4a | B2005 | 4a | C2005 | 4a |
| A2006                          | 4a | B2006 | 2b | C2006 | 4a |
| A2007                          | 3b | B2007 | 4a | C2007 | 3b |
| A2008                          | 4a | B2008 | 3b | C2008 | 3a |

Os valores afectados pela mesma letra, na linha, não diferem significativamente ao nível de confiança de  $p < 0,05$

Esta situação interferiu directamente com a média de sementes por fruto sãs, que também evidencia menor valor na parcela C, comparativamente com as restantes parcelas, para o ano de 2007 (Quadro 4.3).

Quanto à média de sementes danificadas por fruto, verifica-se que a parcela de castiçal, apresenta uma média mais baixa de sementes danificadas, chegando a existir situações em que num fruto não existiam quaisquer sementes danificadas, as diferença, porém, não se mostraram significativas.

**Quadro 4.3.** Número de sementes sãs/fruto e sementes danificadas/fruto (2007).

| Locais                | Média sementes sãs / fruto | Média sementes danificadas /fruto |
|-----------------------|----------------------------|-----------------------------------|
| Parcela A - Carvalhal | 2a                         | 2a                                |
| Parcela B - Castiçal  | 3a                         | 2a                                |
| Parcela C - Cerejal   | 2a                         | 2a                                |

Os valores afectados pela mesma letra na coluna, não diferem significativamente ao nível de confiança de  $p < 0,05$ .

É de salientar o facto, de na parcela B, apesar de as plantas apresentarem um menor número de frutos, estes, possuírem um maior número de sementes vingadas e sãs.

O peso de 100 sementes é uma medida da qualidade utilizada na produção de plantas de uma determinada espécie, pois, sabendo a taxa de germinação poderemos através desta medida estimar, pelo peso, o número de plantas a obter, para um determinado objectivo (Quadro 4.4).

**Quadro 4.4.** Peso de 100 sementes (g) da parcela A, B e C (2007).

| Locais                | Média (g) |
|-----------------------|-----------|
| Parcela A - Carvalhal | 0,75a     |
| Parcela B - Castiçal  | 0,7a      |
| Parcela C - Cerejal   | 0,75a     |

Os valores afectados pela mesma letra não diferem significativamente ao nível de confiança de  $p < 0,05$

Os valores obtidos indicam-nos o peso de 0,7 a 0,75 g para 100 sementes de *A. bento-rainhae*.



## 5. Germinação e viabilidade das sementes

A reprodução sexuada é fundamental para a diversidade genética, contribuindo para que, a capacidade adaptativa das espécies em função das alterações ambientais seja mais elevada (PITÉ & AVELAR, 1996).

Como referem COTRIM *et al.* (2002), a variabilidade genética intra-populacional de *Asphodelus bento-rainhae* é baixa, o que poderá indiciar um padrão reprodutor predominantemente assexuado.

Para TRAVASSOS (1999) e ESTEVES (2005), o factor cobertura arbórea a que esteve sujeita a Serra da Gardunha até meados do séc. XX poderá ter condicionado a evolução e adaptação da espécie, com predominância da propagação assexuada e baixa diversidade genética, indiciando assim que as maiores potencialidades para a reprodução sexuada estariam intimamente associadas à existência de habitats abertos.

Segundo OBESO & VILLALBA (1991) em *Asphodelus albus* perante alguma limitação de recursos é favorecida a propagação vegetativa, sendo que a reprodução sexuada só ocorre, quando algo comprometa a primeira. Pelo que, concluíram que o equilíbrio entre ambos os processos, parece estar relacionado com o habitat ocupado.

O comportamento das sementes durante a germinação, é o resultado de um amplo conjunto de factores intimamente relacionados entre si, nomeadamente, os diferentes estados fenológicos e a ocorrência dos mesmos no decurso das estações do ano sofrendo alterações de acordo com a variação dos factores ambientais (alterações climáticas) (BAKER, 1972; SILVERTOWN, 1981).

Outros factores de extrema relevância são o habitat, a localização de substâncias de reserva na semente, a permeabilidade da testa da semente e factores externos: temperatura, luz, oxigénio e água, que parecem estar em consonância com o favorecimento da adaptação dos *taxa* ao meio em que se desenvolvem (BASKIN & BASKIN, 1998).

Contudo, a germinação pode ser condicionada pela existência de mecanismos de dormência, ou seja, períodos de repouso nos quais a semente é incapaz de germinar mesmo em condições favoráveis à germinação (HARPER, 1977; MAYER & POLJAKOFF-MAYBER, 1989).



De acordo com LABOURIAU (1983) podem ocorrer dormências, classificadas em: a) inatas ou primárias, que se estabelecem na semente antes da sua dispersão, por exemplo, por falta de maturação do embrião ou impossibilidade mecânica da recepção de estímulos; b) secundárias, que se instalam na semente após a dispersão e, para HARPER (1959) ainda existem as dormências: c) induzidas pelas condições ambientais, ou por mais de uma destas causas de cada vez.

No que se refere à tipologia fundamental de dormência em sementes, BASKIN & BASKIN (1998) distinguiram a existência de três tipos, são eles: 1) dormência morfológica, em que a semente se encontra imatura; 2) dormência física, por as sementes possuírem testas ou pericarpos impermeáveis e 3) dormência fisiológica, que previne a germinação até que uma alteração química surja no interior da semente.

Cumprе salientar que poderá ocorrer o fenómeno da combinação da dormência morfológica e fisiológica na mesma semente, denominando-se por dormência morfo-fisiológica. Por sua vez, a combinação da dormência física e da fisiológica raramente acontece e a combinação da dormência física e morfológica é claramente impossível ou de rara probabilidade.

Como DÍAZ LIFANTE (1993) comprovou, *Asphodelus fistulosus* possuía uma velocidade de embebição, medida no tempo como incremento de peso por absorção de água devida ao tamanho das sementes (2,8-3,5 mm) superior à de *A. bento-rainhae* (sementes com 4,5-7 mm), podendo germinar com cerca de 36 a 48% de embebição. Pelo contrário *A. bento-rainhae* com uma taxa de embebição superior a 60%, ainda não germinava, podendo pensar-se que possuía dormência física.

Segundo CAIXINHAS (1994), as inibições provocadas pela impermeabilização dos invólucros seminais não permitem a germinação, privando o embrião de oxigénio ou de água.

Relativamente, à quebra de dormência de sementes impermeáveis, ou com dormência física, vários tratamentos podem ser utilizados em laboratório. É frequente o uso de solventes orgânicos (álcool e acetona), que removem a camada cerosa de muitas leguminosas, ou ácidos fortes, como o ácido sulfúrico concentrado, que se tem mostrado eficiente para sementes de testa rígida (ODOEMENA, 1988; GRAAFF & VAN STADEN, 1993). Sendo também comum, a utilização de água quente e do aquecimento a seco, por reduzirem a impermeabilidade do tegumento de muitas sementes (WASHITANI, 1988). Por outro lado, o método da escarificação mecânica, que consiste na utilização de métodos abrasivos na testa da semente, tem sido utilizado em várias espécies, como por exemplo, *Halimium halimifolium* (PEÑA *et al.*, 1988) e *Avena fatua* (RAJU *et al.*, 1988).

A excisão de partes da unidade de dispersão é eficaz para monocotiledóneas como *Hordeum vulgare* (LENOIR *et al.*, 1986) e *Paspalum notatum* (WEST & MAROUSKY, 1989; BASKIN & BASKIN, 1998)

Segundo FENNER & TOMPSON (2005), para quebrar a dormência física de sementes *in situ* é necessária a presença de vários factores, tais como: elevadas temperaturas, grandes amplitudes térmicas ou fogo, não havendo necessidade de embebição da semente. Estas condições são de facto, frequentes em habitats com uma estação quente bem marcada.

As espécies do género, incluídas na secção *Asphodelus* (DÍAZ LIFANTE & VALDÉS, 1996) apresentam um carácter marcadamente pirófilo (ADESGAR, 2004), o que poderá levar a pensar que o fogo é um elemento indutor da germinação.

Segundo HANLEY & FENNER (1998), as espécies com dormência física parecem possuir embriões

mais resistentes a altas temperaturas que outras espécies, mostrando-se assim, como espécies resistentes ao fogo.

Como refere KEELEY (1991), o síndrome de "sementes refractárias" é pouco frequente em herbáceas vivazes, as quais se comportam melhor como "espécies resistentes", sendo plantas que suportam o fogo, pelo facto de terem as estruturas vegetativas enterradas no solo, comportando-se assim como geófitos.

Para STONE (1951), os incêndios têm como consequência imediata, a eliminação da sombra da vegetação lenhosa circundante, permitindo naturalmente a maior realização de fotossíntese pelas plantas em fase inicial de sucessão ecológica e desse modo, surge uma maior capacidade para a produção de sementes, conseqüentemente em poucos anos essas plantas estão aptas para se reproduzirem sexuadamente.

Como refere BRITTON (1973), é notória a alta longevidade que as sementes de *Asphodelus* spp. apresentam, permitindo dessa forma, que no solo se acumule um considerável banco de sementes nos locais onde ocorrem populações das diferentes espécies. As sementes de *A. fistulosus*, introduzidas na Austrália não germinaram no 1º ano, permanecendo viáveis durante vários anos. Para este autor, deveriam ser realizados estudos sobre a existência de uma dormência inata.

Segundo THOMPSON (1973), existem, entre outros, dois factores importantes que determinam o momento da germinação, por um lado, os ciclos diários de temperatura e por outro, os processos endógenos que regulam a dormência das sementes, considerando-os, como sendo os principais factores através dos quais as espécies se adaptam a determinados habitats com condições de temperatura e humidade óptimas para o seu desenvolvimento.

Em *Asphodelus* spp. o processo de germinação parece estar intimamente relacionado com o habitat ocupado pelos diferentes *taxons* e em equilíbrio com os ciclos biológicos que apresentam (DIAZ LIFANTE, 1993).

Contudo, o efeito do teor de nutrientes no solo tem-se mostrado ambíguo, constatando-se, no entanto, que a germinação é promovida por elevados níveis de azoto (VARIS & GEORGE, 1985; NAYLOR, 1993) e baixos níveis de potássio (BENECH ARNOLD *et al.*, 2004).

A germinação *in situ* de *A. bento-rainhae* tem lugar maioritariamente, durante o Outono e em função da latitude ocorre primeiro em populações mais meridionais (DIAZ LIFANTE, 1993). A mesma autora refere ainda, que a espécie apresenta melhores percentagens de germinação em sementeiras efectuadas no solo, do que em ensaios realizados em condições de laboratório.

Dos ensaios realizados por DIAZ LIFANTE (1993) em condições ambientais de laboratório, com diversas espécies de *Asphodelus*, incluindo *A. bento-rainhae*, considerando o número de sementes ensaiado para esta espécie (vinte e oito), resultou que não se puderam tirar conclusões para as condições experimentadas. Sendo que não se encontraram registos de ensaios de quebra de dormência para este género. Porém, a interacção entre a temperatura e a disponibilidade de água, revelou ser um factor muito importante para a germinação no género *Asphodelus*.

Refere CAIXINHAS (1994) que, se o momento em que as sementes são colocadas a germinar é considerado como o tempo zero, o período necessário à germinação da primeira semente é denominado tempo de latência.

De acordo com DIAZ LIFANTE (1993) nas espécies vivazes de ciclo biológico longo do género

*Asphodelus* o tempo de latência da germinação é mais longo e as percentagens de germinação alcançadas são mais baixas relativamente às espécies anuais do mesmo género.

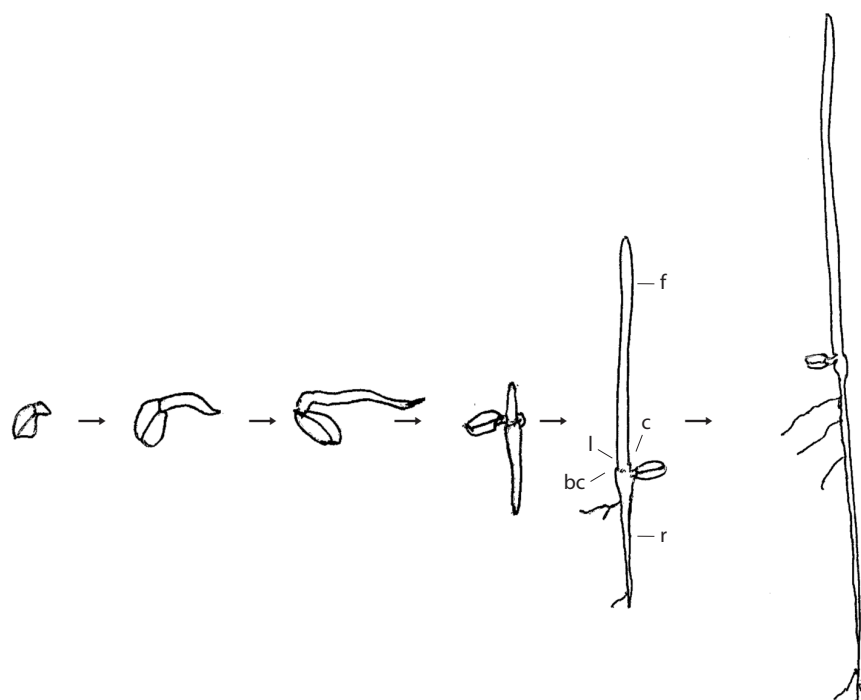
No género *Asphodelus* o primeiro órgão que eclode da semente é a radícula ou raiz primária, fazendo-o sempre pelo extremo mais agudo da semente. A raiz primária tem vida curta, sendo rapidamente substituídas por raízes adventícias, fasciculadas.

Segundo DÍAZ LINFANTE (1994) em *Asphodelus* reconhecem-se vários tipos de morfologia de plântulas de acordo com o processo germinativo.

Tipo 1 – germinação epígea. Ocorre em *A. fistulosus*, *A. ayardii*, *A. tenuifolius*, *A. acaulis* e *A. refractus*.

Tipo 2 – germinação é hipógea. De acordo com a natureza da lígula, distinguem-se três subtipos:

- Subtipo 2a, não se desenvolve uma lígula, ou apenas aparece uma pequena margem membranosa, com menos de 0,5 mm (*A. cerasiferus*);
- Subtipo 2b, desenvolve-se quase sempre uma lígula na base da primeira folha, mas não ultrapassa os 1,75 mm de comprimento, o que corresponde a menos de metade do comprimento da bainha do cotilédono (*A. macrocarpus* var. *macrocarpus* e var. *fuscescens*, *A. macrocarpus* subsp. *rubescens*, *A. aestivos*, *A. bento-rainhae* subsp. *bento-rainhae*, *A. bento-rainhae* subsp. *salmanticus*, *A. albus* subsp. *occidentalis* e *A. lusitanicus* var. *lusitanicus*) (Figura 5.1);
- Subtipo 2c, desenvolve-se sempre uma lígula que alcança mais de 1,75 mm de comprimento, o que equivale a metade ou mais do comprimento da bainha do cotilédono (*A. ramosus* var. *ramosus* e var. *africanus*, *A. ramosus* subsp. *distalis* e *A. lusitanicus* var. *ovoides*).



**Figura 5.1.** Subtipo 2b de plântula de *Asphodelus bento-rainhae* P. Silva. Apresenta-se o estágio de desenvolvimento final da plântula após ter terminado o primeiro período de crescimento vegetativo (c: cotilédono, f: 1ª folha fotossintética, l: lígula, r: raiz primária, bc: bainha do cotilédono). (Adaptado de DÍAZ LINFANTE (1994)).

Os últimos estádios de desenvolvimento de uma plântula, de tipo 2, coincidem com o final da Primavera e início de Verão e, as mesmas apresentam uma a várias folhas verdadeiras e de uma a várias raízes adventícias.

## 5.1. Influência dos tratamentos de quebra de dormência na capacidade germinativa

Em cada ano e em função das condições edafo-climáticas as plantas de *Asphodelus bentorainhae* recorrem à reprodução assexuada para que ocorra a sucessão dos diferentes estados fenológicos ao longo do ano.

A reprodução sexuada não é, de facto, a forma preferencial de propagação desta espécie pelo que, na perspectiva de manter e aumentar a variabilidade e preservação da espécie é muito importante conhecer os factores que poderão influenciar a incapacidade das sementes de germinarem.

Os estudos efectuados por DÍAZ LIFANTE (1993) pressupõem a existência de uma resistência física ao nível do tegumento para esta espécie, considerando que a existência de condições favoráveis (água, oxigénio e temperatura), não favorecem a germinação.

Em lotes de sementes colhidas entre os anos de 2005 e 2008, diferentes tratamentos foram utilizados a fim de ser ultrapassada a resistência física do tegumento.

Entre as modalidades de tratamento avaliou-se o efeito de:

- 1 - pré-refrigeração (frio seco 7° C/ 12 semanas);
- 2 - pré-refrigeração (frio húmido, 7°C/6 semanas);
- 3 - giberelinas (GA<sub>3</sub>, 5 ml/1000ml);
- 4 - escarificação química (ácido sulfúrico, 96%/5 min.);
- 5 - escarificação térmica (pré-aquecimento, T° 37°C/8 dias);
- 6 - escarificação mecânica (lixa de água P 1200);
- 7 - escarificação mecânica (corte com bisturi).

Para diferentes tempos de conservação, desde os 8 dias aos 746 dias ( $\pm$  2 anos), diversas condições, entre elas de temperatura e luz: temperaturas constantes de 11°C, 15°C e 25°C; alternâncias de temperaturas de 10°C/20°C e 10°C/25°C; fotoperíodo de 8h, 12h, 16h de luz e obscuridade, foram ensaiadas.

Mediante as baixas capacidades germinativas verificadas com sementes tratadas pelas modalidades 1,2,3,4 (< 9%) e os 10% de taxa de germinação atingida na modalidade 5, seleccionaram-se para os ensaios finais as modalidades de tratamento que eliminassem efectivamente, a dureza da testa, a qual dificulta a oxigenação e embebição do embrião (modalidades de tratamento 6 e 7 ). Cumpre salientar, que foram também seleccionadas as

condições mais favoráveis de temperatura e luz, de forma a obter a simulação das condições outonais para o local.

### 5.1.1. Material e métodos

Na metodologia aplicada, foram utilizadas sementes com 2 anos de conservação (colheita em Junho de 2006) e sementes com 25 dias de conservação (colheita em Julho de 2008), quando atingiram a maturação.

Nas sementes separadas por parcela de estudo, procedeu-se à limpeza através de crivos com malhas de diferentes diâmetros. Foram verificadas mediante lupa binocular todas as sementes utilizadas nos ensaios, eliminando as infestadas e as danificadas no processo de recolha e separação.

Antes da instalação dos ensaios, as sementes foram desinfectadas com hipoclorito de sódio a 1 % durante 30 minutos e lavadas abundantemente com água para remoção total do desinfectante.

Foram testadas três modalidades; testemunha e pré-tratamentos (Quadro 5.1), para as sementes das três parcelas de estudo: carvalhal (A), castiçal (B) e cerejal (C).

Para as sementes de 2008, na parcela de castiçal (B), não foi possível executar ensaios de germinação, pelo reduzido número devido provavelmente à ocorrência de um elevado número de dias com precipitação no mês de Abril (Figura 2.1) mês em que ocorre a polinização e fecundação.

**Quadro 5.1.** Modalidades de tratamento das sementes dos anos 2006 e 2008.

| Modalidades de tratamento | Sementes (ano) | Preparação das sementes  |
|---------------------------|----------------|--|
| I (Test.)                 | 2006/2008      | Água destilada entre papel de filtro.  |
| II                        | 2006/2008      | Escarificação mecânica por lixa de água P1200, passando cinco vezes pela semente.    |
| III                       | 2006/2008      | Escarificação mecânica por corte com bisturi, na extremidades da semente mais aguda. |

No que se refere à preparação do ensaio de germinação, esta decorreu numa câmara de fluxo laminar, utilizando caixas de Petri esterilizadas devidamente identificadas com a parcela, modalidade e repetição. As sementes foram colocadas entre papel de filtro Whatman de 90 mm e com algodão entre camadas, utilizando pinças esterilizadas num esterilizador de bancada.

Relativamente ao ensaio, este decorreu em fitoclima sujeito à temperatura de 15°C e fotoperíodo de 8h, tendo tido início em Julho de 2008, com a duração de 45 dias. Foram analisadas 4 repetições de 25 sementes por modalidade de tratamento, para cada parcela e para cada ano, num total de 100 sementes/parcela/ano.

No decorrer do ensaio foram registadas e removidas diariamente as sementes germinadas e repôs-se os níveis de humidade em cada repetição.

O tempo médio de germinação (TMG) foi calculado de acordo com a fórmula proposta por HARRINGTON (1962):

$$TMG = \frac{N_1T_1 + N_2T_2 + \dots + N_nT_n}{N_1 + N_2 + \dots + N_n}$$

(sendo  $N_1, N_2, \dots, N_n$  = nº de sementes germinadas no tempo  $T_1, T_2, \dots, T_n$ ).

Os resultados foram submetidos a uma análise de variância unifactorial utilizando o software SPSS (versão 16,00) (MAROCO, 2003), a um nível de confiança de  $p < 0,05$ , pelo teste de Sheffée.

## 5.1.2. Resultados

### 5.1.2.1 Germinação para sementes de 2006

Os resultados da germinação após os tratamentos das sementes (considerando a semente germinada após a eclosão da radícula) são apresentados no quadro 5.2.

Ao analisar o quadro 5.2. podemos constatar que o tempo médio de germinação e o tempo de latência, mais baixos foram registados, para todas as parcelas, na modalidade III, mostrando-se ser esta a mais favorável relativamente a estes parâmetros. Estes dois parâmetros em confronto com as maiores percentagens de germinação indiciam ser esta a modalidade de tratamento mais favorável, permitindo reduzir a incapacidade germinativa desta espécie devido à dureza da testa que impede a fase de embebição e a eclosão da radícula.

**Quadro 5.2.** Efeito das modalidades de tratamento na germinação das sementes colhidas em 2006.

| Modalidade | Parcela | Tempo de latência (dias) | TMG (dias) | Germinação (%) |
|------------|---------|--------------------------|------------|----------------|
| I (Test.)  | A       | 10                       | 15         | 3              |
|            | B       | 19                       | 24         | 2              |
|            | C       | 17                       | 22         | 3              |
| II         | A       | 7                        | 7          | 1              |
|            | B       | 5                        | 18         | 6              |
|            | C       | 3                        | 8          | 14             |
| III        | A       | 3                        | 5          | 58             |
|            | B       | 3                        | 4          | 69             |
|            | C       | 3                        | 4          | 87             |

As curvas de germinação obtidas permitem ilustrar a evolução da germinação ocorrida para cada parcela de estudo nas duas modalidades de tratamento (Figuras 5.2 e 5.3).

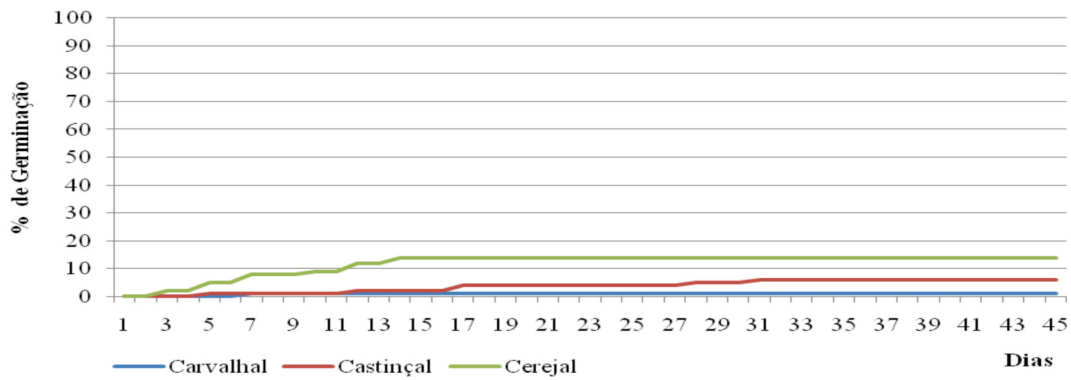


Figura 5.2. Curvas de germinação das sementes de 2006 para a modalidade II.

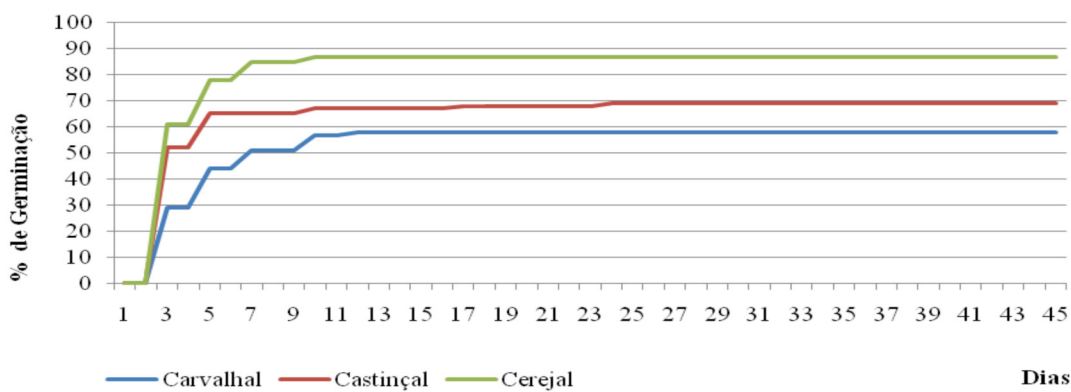


Figura 5.3. Curvas de germinação das sementes de 2006 para a modalidade III.

Comparando os resultados nas duas modalidades podemos constatar que foi a parcela de cerejal que registou melhores taxas de germinação, com 87 % para a modalidade III e 14 % para a modalidade II.

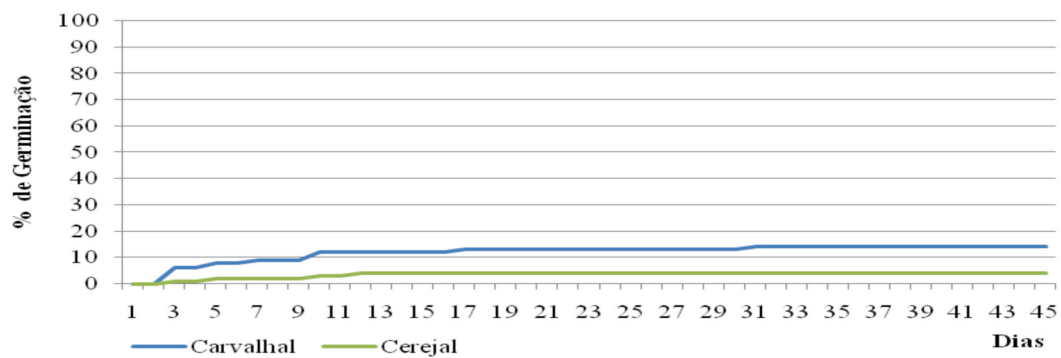
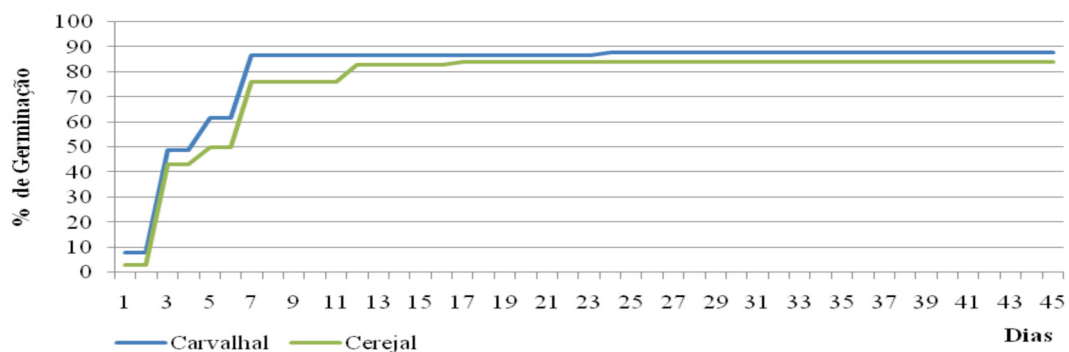
### 5.1.2.2 Germinação para sementes de 2008

Pelo quadro 5.3. e figuras 5.4. e 5.5. verifica-se que a parcela de carvalho apresentou os melhores resultados para a modalidade III, com 88 % de germinações e tempo médio de germinação à volta de 4 dias.

**Quadro 5.3.** Efeito das modalidades de tratamento na germinação das sementes colhidas em 2008.

| Modalidade | Parcela | Tempo de latência (dias) | TMG (dias) | Germinação (%) |
|------------|---------|--------------------------|------------|----------------|
| I          | A       | 12                       | 12         | 1              |
|            | C       | 0                        | 0          | 0              |
| II         | A       | 3                        | 8          | 14             |
|            | C       | 3                        | 8          | 4              |
| III        | A       | 1                        | 4          | 88             |
|            | C       | 1                        | 5          | 84             |

A evolução do processo germinativo encontra-se representada pelas curvas das figuras 5.4 e 5.5, podendo visualizar a rapidez de germinação para as sementes sujeitas à modalidade de tratamento III.

**Figura 5.4.** Curvas de germinação das sementes de 2008 para a modalidade II.**Figura 5.5.** Curvas de germinação das sementes de 2008 para a modalidade III.

Pelos resultados obtidos da germinação de sementes, colhidas em 2008, podemos constatar novamente, que o desgaste do tegumento através da utilização de lixa e o corte permite reduzir a incapacidade germinativa desta espécie devido à impermeabilidade do tegumento que impede a fase de embebição e a eclosão da radícula.



Pretendeu analisar-se se para cada ano de colheita o tratamento que induzia a melhores taxas de germinação em função do tempo de conservação ( 25 dias e 2 anos) (Quadro 5.4 e 5.5).

**Quadro 5.4.** Capacidade germinativa após tratamentos (sementes colhidas em 2006).

| Modalidades | Germinação (%) |
|-------------|----------------|
| I (Test.)   | 2,7 b          |
| II          | 7,3 b          |
| III         | 71,3 a         |

Os valores afectados pela mesma letra não diferem significativamente ao nível de confiança de  $p < 0,05$ .

**Quadro 5.5** Capacidade germinativa após tratamentos (sementes colhidas em 2008).

| Modalidades | Germinação (%) |
|-------------|----------------|
| I (Test.)   | 0,5 b          |
| II          | 9,0 b          |
| III         | 86,0 a         |

Os valores afectados pela mesma letra não diferem significativamente ao nível de confiança de  $p < 0,05$ .

Pelos quadros 5.4 e 5.5, verificam-se diferenças significativas nas modalidades ensaiadas. O melhor tratamento foi o corte da testa da semente, independentemente do local de origem das sementes, para os dois anos em estudo.

Numa análise final dos ensaios realizados, e para o ano de colheita das sementes, o início da germinação de *A. bento-rainhae* pode ocorrer logo ao 1º dia (Quadro 5.3), desde que efectuados pré-tratamentos de quebra de dormência tegumentar, contrariando deste modo, os resultados obtidos por DÍAZ LIFANTE (1993) com sementes de *Asphodelus bento-rainhae* subsp. *bento-rainhae* em que o início da germinação ocorreu após 8 dias, sem pré-tratamento.

A reduzida da taxa de germinação (21,43%) atingida nos ensaios em condições de laboratório por DÍAZ LIFANTE (1993), foram superadas após se ter efectuado o pré-tratamento de escarificação por corte da testa da semente, assim como, as 7-15 semanas necessárias para se atingir os 50% de germinação que na modalidade III decorreu entre os 4 e os 5 dias (Quadro 5.3).

## 5.2. Teste de tetrazólio

O teste de tetrazólio é rápido e de elevada importância para a avaliação da qualidade das sementes, porque, para além da viabilidade, o mesmo pode informar sobre o vigor e ainda identificar diversos problemas que afectam a germinação das mesma. Pelo facto de diversos tratamentos efectuados para testar a germinação em sementes de *A. bento-rainhae*, não terem resultado, efectuou-se o teste de avaliação da sua qualidade.

### 5.2.1. Material e métodos

Após os tratamentos de escarificação mecânica, as sementes que não germinaram foram sujeitas à determinação da sua viabilidade utilizando o teste de tetrazólio. Assim, as sementes com 25 dias (2008) e com 2 anos (2006), por parcela foram colocadas num copo de precipitação a agitar durante 24 horas a uma temperatura de 30 °C. Posteriormente, com o auxílio de uma pinça e bisturi esterilizado, fez-se um corte longitudinal nas sementes, evitando separar as duas partes da mesma e colocaram-se em caixas de Petri cobertas com solução cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazolium (TTC) a 1 % (COTTRELL, 1947) permanecendo no escuro, em estufa regulada para 30 °C, durante outras 24 horas.

Considerando que a coloração avermelhada surge pela redução do corante incolor tetrazolium (cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazolium) e esta, só ocorre se a cadeia transportadora de electrões da respiração celular estiver funcional, os órgãos corados no interior da semente permitem-nos identificar os tecidos vivos. A avaliação foi feita classificando as sementes em três grupos, de acordo com a percentagem da área colorida do embrião:

- grupo 1 (mais de 75 %);
- grupo 2 (de 25 a 75 %),
- grupo 3 (menos de 25 %) (ARAÚJO *et al.* 2000).

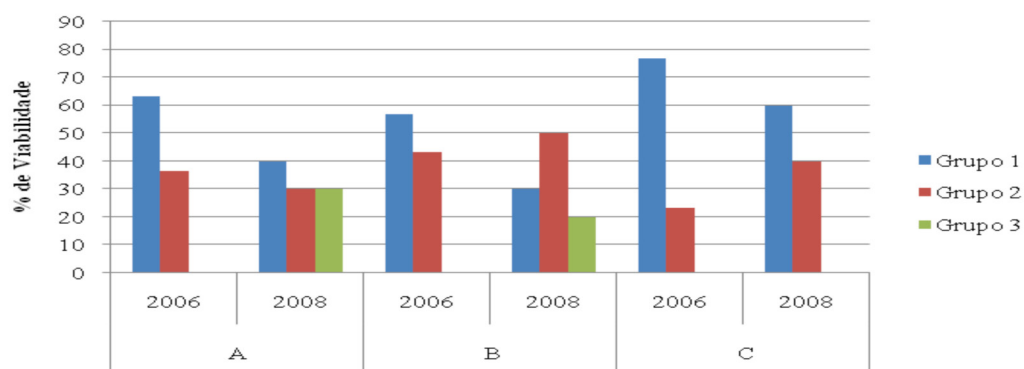
Considerou-se o grupo 1 como sendo o grupo com maior viabilidade, o grupo 2 viabilidade mediana e o grupo 3 sem viabilidade.

### 5.2.2. Resultados

Com base na análise do quadro 5.6. e da figura 5.6., pode constatar-se que as sementes com 2 anos de conservação (2006), não perderam a viabilidade. A maior percentagem de sementes viáveis registou-se na parcela de cerejal(C) para os 2 anos em estudo. Da análise comparativa da viabilidade das sementes para os dois anos em estudo, verifica-se que as sementes de 2006 são as mais viáveis, com 63,3%, 56,7% e 76,7% para as parcelas de carvalho(A), castinçal(B) e cerejal(C) respectivamente.

**Quadro 5.6.** Percentagem de viabilidade das sementes para os dois anos em estudo.

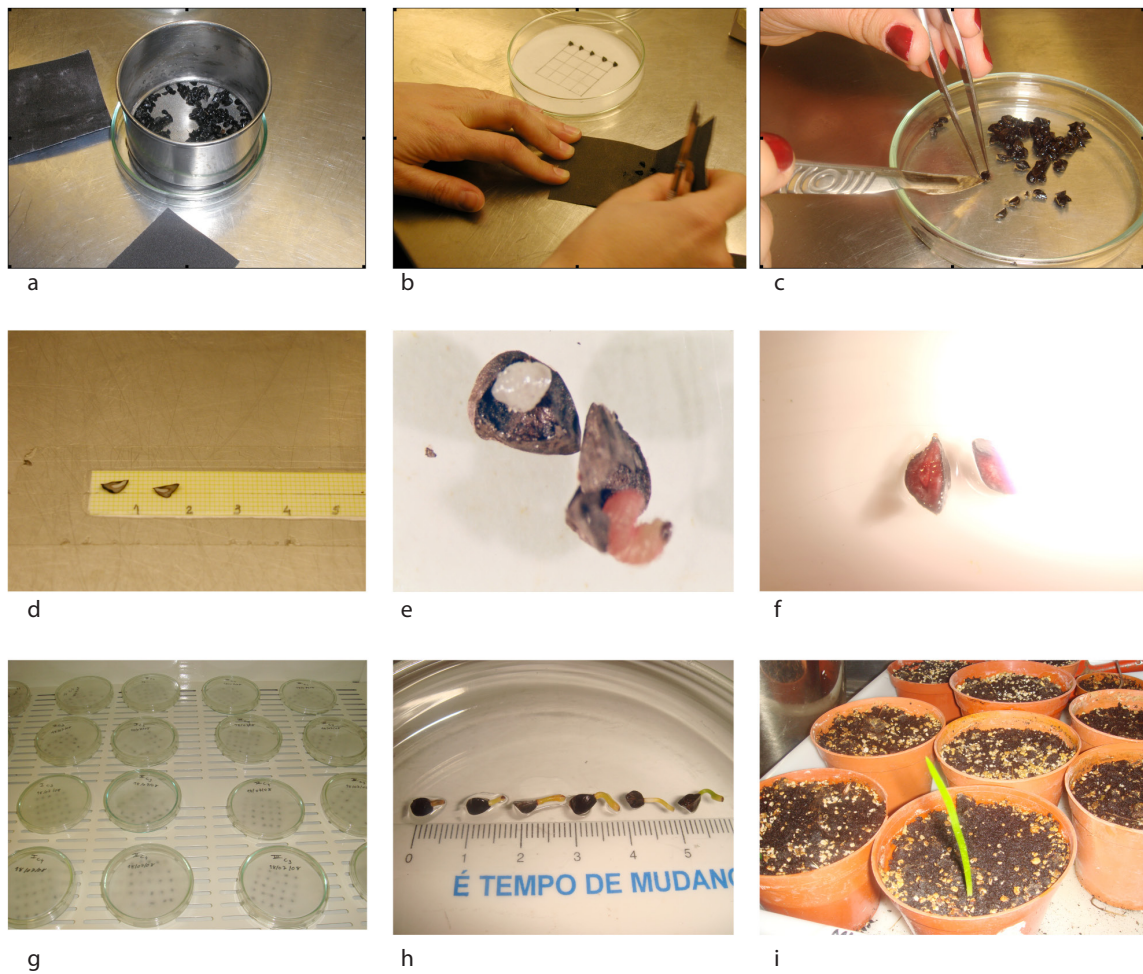
| Grupo | Parcela | Viabilidade sementes 2006 | Viabilidade sementes 2008 |
|-------|---------|---------------------------|---------------------------|
|       |         | (%)                       | (%)                       |
| 1     | A       | 63,3                      | 40,0                      |
|       | B       | 56,7                      | 30,0                      |
|       | C       | 76,7                      | 60,0                      |
| 2     | A       | 36,7                      | 30,0                      |
|       | B       | 43,3                      | 50,0                      |
|       | C       | 23,3                      | 40,0                      |
| 3     | A       | 0,0                       | 30,0                      |
|       | B       | 0,0                       | 20,0                      |
|       | C       | 0,0                       | 0,0                       |



**Figura 5.6.** Viabilidade das sementes de 2006 e 2008, através do teste de tetrazolium.

Comparando os resultados obtidos na germinação das sementes após tratamento na melhor modalidade (Mod. III) para 2008 e melhor local (cerejal) de colheita, com percentagens da ordem dos 84 % (Quadro 5.3), valor que fica aquém da percentagem de 100 % obtida nos testes de viabilidade, o que nos pode indicar que o tempo estabelecido para o ensaio (45 dias), não terá sido suficiente.

Verificou-se que em muitas sementes, principalmente na parcela do cerejal, foi identificado o ectoparasita *Eurytoma asphodelli* (Hymenoptera: Eurytomidae), em estado larvar e, quando sujeito a condições favoráveis de temperatura (25°C), fotoperíodo (16h), o insecto no estado adulto eclodiu do interior das sementes. Ao longo dos anos de estudo verificou-se ser uma praga constante na infestação das sementes de *A. bento-rainhae*. Em alguns lotes examinados os elevados níveis de infestação, inviabilizaram a realização de ensaios germinativos (Figura 5.7).



**Figura 5.7.** Aspecto geral das etapas de preparação das sementes de *A. bento-rainhae*: a) lavagem; b) escarificação mecânica com lixa; c) escarificação mecânica com corte da testa. d) morfologia das sementes em corte, podendo observar-se o embrião e o endosperma e) sementes parasitadas com larvas de *Eurytoma asphodelli*; f) semente viável após o teste de tetrazólio; g) aspecto geral do ensaio de germinação em fitoclima; h) sementes germinadas - aspecto da radícula ou raiz primária; i) 1ª folha fotossintética, após transplantação para vaso, das sementes germinadas.



## ***Lavandula luisieri* (Rozeira) Rivas- Martínez**

Pastor do gado branco  
Não arranques rosmaninho  
Pois é onde a virgem pura  
Estende os cueirinhos

O rosmano no outeiro  
Mesmo parece um jardim  
Eu a ti não te aborreço  
Tu aborreces-me a mim.

(in BATARDA FERNANDES, 1989)





## 6. Nomenclatura, distribuição e estatuto

Para esta espécie adopta-se a nomenclatura seguida por FRANCO (1984), e descrita como espécie, pela primeira vez, por RIVAS- MARTÍNEZ (1979).

Conhecida vulgarmente por: rosmaninho, rosmaninho-menor, rosmaninha, rosmano, rasmoninho, rasmono, lavanda-portuguesa, cabeçuda, arçanha e tomelo, foi pela primeira vez descrita por Rozeira, em 1949 como uma variedade de *Lavandula stoechas* L. (*L. stoechas* L. var. *luisieri* Rozeira) e posteriormente, em 1964, como uma sua subespécie (*L. stoechas* L. subsp. *luisieri* (Rozeira) Rozeira) (ROZEIRA, 1949 e 1964).

O epíteto específico *luisieri* é uma homenagem a Alphonse Luisier (1872-1957), um padre briologista suíço, que trabalhou em Portugal desde 1923, tendo sido editor da Brotéria de 1932 a 1957 ( STAFLEU & COWAN, 1981).

FRANCO (1984) considerou a inexistência de *L. stoechas* para Portugal pelo que, menciona 5 espécies portuguesas de *Lavandula*: ***Lavandula luisieri*** (Rozeira) Rivas-Martínez; ***L. pedunculata*** (Miller) Cav.; ***L. viridis*** L'Hér.; ***L. latifolia*** Medicus e ***L. multifida*** L..

UPSON & ANDREWS (2004) consideram no subgénero *Lavandula* as secções: ***Lavandula, Dentatae*** Suárez-Cerv. & Seoane-Camba e ***Stoechas*** Ging. e nesta incluem as espécies: ***L. stoechas*** L. subsp. ***stoechas***; ***L. stoechas*** L. subsp. ***luisieri*** (Rozeira)Rozeira, ***L. pedunculata*** (Miller) Cav. subsp. ***pedunculata***; ***L. pedunculata*** (Miller) Cav. subsp. ***cariensis*** (Boiss.) Upson & S. Andrews; ***L. pedunculata*** (Miller) Cav. subsp. ***atlantica*** (Braun-Blanq.) Romo; ***L. pedunculata*** (Miller) Cav. subsp. ***lusitanica*** (Chaytor) Franco; ***L. pedunculata*** (Miller) Cav. subsp. ***sampaiana*** ( Rozeira) Franco e ***L. viridis*** L'Hér..

As designações referidas por diferentes autores, para *L. luisieri*, são:

- ***Lavandula stoechas*** L. subsp. ***luisieri*** (Rozeira) Rozeira (GUINEA in TUTIN *et al.*, 1981);
- ***Lavandula luisieri*** (Rozeira) Rivas-Martínez (FRANCO, 1984);
- ***Lavandula stoechas*** L. subsp. ***luisieri*** (Rozeira) Rozeira (VALDÉS *et al.* 1987)
- ***Lavandula stoechas*** L. subsp. ***luisieri*** (Rozeira) Rozeira (MORALES, 2009).



*Lavandula luisieri* (Rozeira) Rivas-Martínez, uma espécie endêmica do sudoeste da Península Ibérica (Figura 6.1) está incluída na família LAMIACEAE (=LABIATAE). É uma espécie característica da classe *Cisto-Lavanduletae*. Esta classe compreende espécies produtoras de compostos aromáticos, engloba espécies das famílias CISTACEAE e LAMIACEAE, as quais caracterizam os matos do oeste mediterrâneo nos andares termo a supramediterrâneo seco e semiárido a sub-húmido (RIVAS-MARTÍNEZ *et al.* 2002a).

É uma espécie pioneira em áreas recentemente ardidadas, reproduzindo-se essencialmente, por semente (UPSON & ANDREWS, 2004).

Espécie referenciada com estatuto de conservação de “pouco preocupante” (*Least Concerning* (LC) ) frequente e por vezes localmente comum (UPSON & ANDREWS, 2004).



**Figura 6.1.** Distribuição de *Lavandula luisieri* (Rozeira) Rivas-Martínez (adaptado de UPSON & ANDREWS, 2004).

## 7. Prospecção e inventariação regional

Na colheita e prospecção efectuadas, recolheram-se plantas de populações espontâneas em diferentes locais da Beira Interior Sul, que se instalaram no campo de Caracterização/Demonstração da Escola Superior Agrária de Castelo Branco (ESACB), constituindo um campo de plantas-mãe.

A área de estudo inicial compreendeu sete distritos (Castelo Branco, Guarda, Viseu, Coimbra, Leiria, Santarém e Portalegre) num total de quarenta e seis concelhos, sendo que, apenas o distrito de Castelo Branco ficava incluído na sua totalidade e os restantes eram abrangidos parcialmente.

Esta área foi escolhida por constituir a zona de influência da ESACB, incluindo a Beira Interior Norte e a Beira Interior Sul. A prospecção foi efectuada em conjunto para as espécies *Lavandula luisieri*, *Rosmarinus officinalis* L., *Thymus mastichina* L. e *Origanum virens* Hoffmanns. & Link contempladas como prioritárias para estudos na Beira Interior para o projecto Agro 800 (AMARO *et al.* 2008).

Na prospecção efectuada só se encontraram populações de *L. luisieri* na Beira Interior Sul, tendo sido esta dividida em quatro grandes locais em função da latitude e altitude, integrando quatro distintas Unidades de Paisagem, tendo como base a caracterização da paisagem da Beira Interior e Pinhal do Centro (CANCELA D'ABREU *et al.*, 2004). Os locais foram ordenadas de Sul para Norte: **Local I – Tejo Superior e Internacional; Local II – Castelo Branco, Idanha-a-Nova; Local III – Serra da Gardunha e Local IV – Penha Garcia e Serra da Malcata.**

## 7.1. Material e métodos

### 7.1.1. Recolha de dados

- Divisão da área total aproximada de  $14 \times 10^6$  ha, em quadrículas 5x5 km, tendo como base o método das áreas mínimas de MÜLLER-DOMBOIS & ELLENBERG (1964), num total de 585 quadrículas, abrangendo a área de influência da ESACB (Beira Interior Norte e Beira Interior Sul).
- Selecção aleatória de 100 quadrículas, visitadas durante a Primavera e Verão do ano de 2005.
- Prospecção nas 100 quadrículas. Amostragem efectuada por transectos em ziguezague, de forma a maximizar a área visualizada (por parcela prospectada registou-se a presença ou ausência da espécie).
- Recolha da localização, com recurso à tecnologia GPS (GeoExplorer 3, TRIMBLER) para os locais onde se encontraram populações de *L. luisieri* (num total de 127 pontos). Ocorrência da espécie em 38 quadrículas (nº total de indivíduos, obtido por estimativa).
- Elaboração de base de dados contemplando a informação recolhida durante a prospecção (identificação da quadrícula, nome da espécie, densidade (1 até 6), frequência relativa, distribuição, tipo de solo, espécies dominantes, associadas e outras).

### 7.1.2. Tratamento de dados

- Transferência dos dados para o sistema de informação geográfica (SIG) (JOHNSTON, 1998).
- Produção de tema (*shapefile*) para os locais de ocorrência da espécie contendo uma base de dados digital com a informação recolhida durante a prospecção.
- Eliminação dos pontos com valores de densidade zero, por terem ocorrência fora da área de estudo ou em zonas privadas (quintais, jardins, etc.), não sendo por isso contemplados neste estudo.
- Classificação da densidade da população, de acordo com a seguinte ordem: 1 – Muito escasso; 2 – Escasso; 3 – Poucos indivíduos dispersos; 4 – Presente; 5 – Alta; 6 – Muito alta (BRAUN-BLANQUET, 1964).
- Elaboração de um tema de centróides das quadrículas, a partir do tema de pontos para cálculo dos mapas de probabilidade de ocorrência.
- Reclassificação do tema de centróides, com base na densidade ocorrida, atribuindo um valor médio de densidade a cada centróide, quando existia mais do que um registo da mesma espécie para a mesma quadrícula.
- Cálculo de mapas de probabilidade de ocorrência com utilização da ferramenta estatística "ArcGIS Geostatistical Analyst" pelo método de interpolação com a função "Ordinary Kriging" (MATHERON, 1973), com um modelo esférico de semivariograma e com inclusão de cinco vizinhanças.

### 7.1.3. Análise de dados

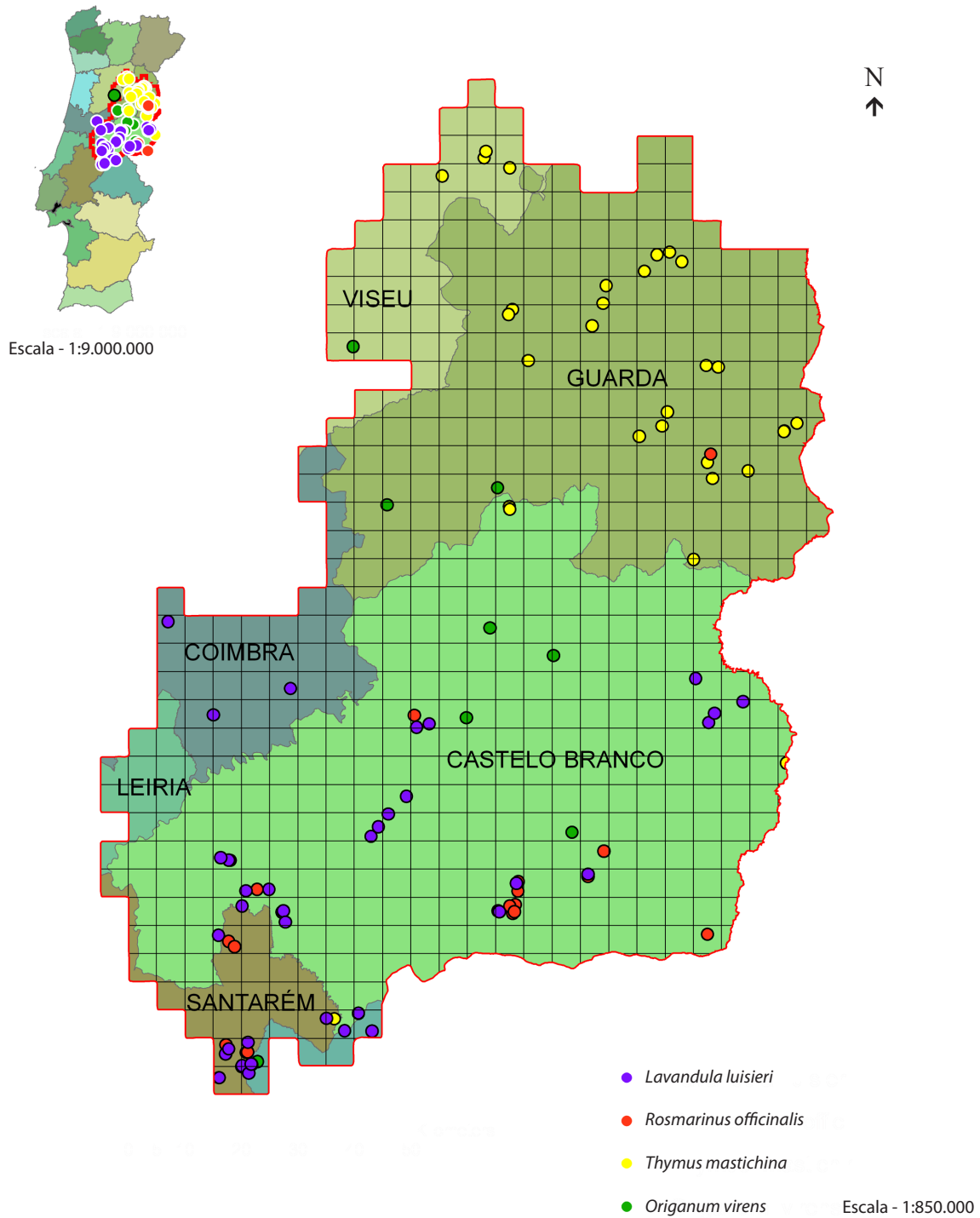
- Análise dos mapas de distribuição, com base no tema de pontos, após sobreposição aos temas de precipitação, temperatura, altimetria e ocupação do solo, caracterizando as condições de ocorrência registadas para cada espécie.
- Análise dos mapas de probabilidade elaborados através do tema de centróides, sobrepostos aos temas de precipitação, temperatura, altimetria e ocupação do solo, com análise das localizações prováveis para a ocorrência da espécie.
- Elaboração de *layouts*, contendo o mapa de probabilidade de ocorrência, a informação da localização efectiva da espécie e da sua densidade e a respectiva carta a analisar. Para o tema de ocupação de solo não foi possível produzir *layout* final, uma vez que se trata de uma área bastante vasta a uma escala (1:950 000) e com muitas ocupações distintas, não sendo perceptível, pelo que se optou por fazer a análise sem elaboração do mesmo.

## 7.2. Resultados

A análise da distribuição efectiva e potencial da espécie teve como base a densidade, e de acordo com a precipitação, temperatura, altimetria e ocupação do solo.

Foram registadas trinta e oito ocorrências da espécie, através de pontos GPS, contemplando diversa informação para elaboração da respectiva tabela de base de dados. Após eliminação dos pontos com densidades nulas, para o cálculo dos mapas de probabilidade, o número de registos foi reduzido para vinte e três.

Apresenta-se na figura 7.1. o mapa de localização final da área de estudo após sobreposição dos mapas de distribuição e dos pontos amostrados.



**Figura 7.1.** Mapa da localização da área de estudo e dos pontos amostrados para as 4 espécies inventariadas, destacando-se os resultados para *L.luisieri*

Tendo como base os dados já publicados no relatório final do projecto Agro 800 (AMARO *et al.*, 2008) apresenta-se no quadro 7.1 o resumo da ocorrência de *L. luisieri* na Beira Interior.

**Quadro 7.1.** Caracterização dos habitats de *Lavandula luisieri* na Beira Interior (adaptado de AMARO *et al.*, 2008).

|                                    | <b>Precipitação</b>  | <b>Temperatura</b>   | <b>Altimetria</b>   | <b>Ocupação do solo</b>  |
|------------------------------------|--|--|---|--|
| <b>Ocorrência</b>                  | Entre 700-1200 mm, embora com ocorrência para valores entre 1200-1400mm;       | Para valores entre 12,5 e 17,5 °C;   | Boa adaptação para altitudes até 700m;<br><br>Maiores densidades para valores até 400m; | Pinheiro bravo, azinheira, culturas anuais de sequeiro e pastagens naturais pobres ou áreas de vegetação baixa / matos de cistáceas;                     |
| <b>Probabilidade de ocorrência</b> | 10% para valores superiores a 1000mm; 30 a 50 % para valores entre 700-1000mm; | 10% para valores inferiores a 10 °C; 20-30 % para temperaturas entre 12,5 a 17,5 °C; 50% para temperaturas de 15-17,5°C; | 20-50% para altitudes até 700m; 10% para valores superiores a 700m;                     | 40-50% para ocupações com pinheiro bravo, eucaliptal, zonas de matos, olival, e zonas de floresta de transição; 10-40% para distintas ocupações de solo; |
| <b>Outras considerações</b>        | Adaptação a valores de precipitação moderados (600-1000mm);                    | Adaptação a climas mais quentes;<br><br>Sem registos para valores inferiores a 10 °C                                     | Adaptação a altitudes reduzidas;<br><br>Sem registos acima dos 700m                     | A ocupação do solo não parece ser um factor limitante à sua distribuição;  |

Como se verifica pelo quadro 7.1 a espécie ocorre preferencialmente entre as cotas de 400-700m, sendo referido por UPSON & ANDREWS (2004) que esta espécie ocorre desde os 20-900m. Encontra-se bem adaptada a horizontes bioclimáticos termotípicos mediterrâneos (termo- a meso-) (RIVAZ-MARTÍNEZ, 2005), a valores de precipitação entre 700 - 1200 mm. A ocupação do solo não parece ser um factor limitante à sua distribuição, ocorrendo nesta região frequentemente associada às plantações de *Pinus pinaster* Aiton, mas também associado a comunidades de *Quercus* L. e *Cistus* L..



## 8. Caracterização dos locais estudados

### 8.1. Caracterização geoclimatológica e paisagística

Da prospecção efectuada encontraram-se exemplares de *Lavandula luisieri* no **Local I** (Vila Velha de Ródão (VVR)), no **Local II** (Mata (M)), no **Local III** (Casal da Fraga (CF)) e no **Local IV** (Penamacor (P)) (Quadro 8.1 e Figura 8.1).

Foram registadas as coordenadas geográficas, utilizando um GPS (Geoexplorer3- TRIMBLER). Os pontos foram passados para base de dados, para gerar um mapa de localização (Figura 8.1).

Os dados climáticos foram recolhidos nas Estações Meteorológicas automáticas pertencentes à Direcção Regional de Agricultura e Pescas do Centro (DRAPC), mais próximas dos locais de prospecção e estudo, nomeadamente: estação de Ródão (N:39°40'47,5" W:7°36'56,4"); estação da Várzea (N:39°53'25,1" W:7°17'21,0"); estação da Fadagosa (N:40°01'46,5" W:7°26'36,3") e estação de Penamacor (N:40°14'50,9" W:7°15'50,3") (DRAPC,2008)

Os níveis de destruição foram atribuídos por observação *in situ*.

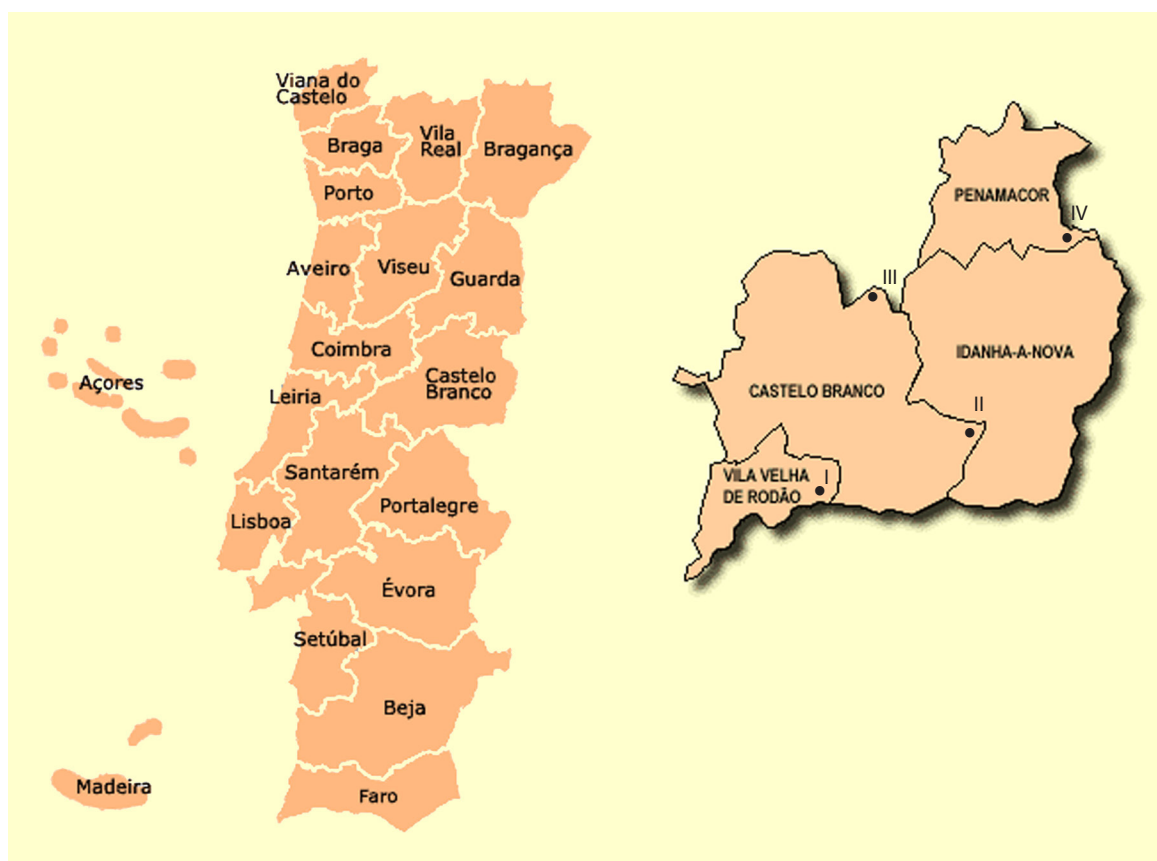
Os Termótipos e Ombrótipos denominados segundo RIVAS-MARTINEZ (2005) e MONTEIRO-HENRIQUES (2009).



**Quadro 8.1** Caracterização geoclimatológica dos locais de colheita de plantas e diásporos de *Lavandula luisieri* na região da Beira Interior Sul

| Local                       | Coordenadas geográficas |               |              | Nº de dias com frio acumulado (<7°C) | Precipitação anual (mm) | Nível de destruição | Termótipo         | Ombrótipo  |
|-----------------------------|-------------------------|---------------|--------------|--------------------------------------|-------------------------|---------------------|-------------------|------------|
|                             | Latitude (N)            | Longitude (W) | Altitude (m) |                                      |                         |                     |                   |            |
| I-Vila Velha de Rodão (VVR) | 39°40' 35,550"          | 7°38' 02,126" | 128          | 917                                  | 1075,8                  | 1                   | Termomediterrâneo | Sub húmido |
| II-Mata (M)                 | 39°53' 29,691"          | 7°19' 26,329" | 258          | 1093                                 | 1040,4                  | 4                   | Mesomediterrâneo  | Seco       |
| III-Casal da Fraga (CF)     | 40°02' 51,484"          | 7°34' 50,008" | 627          | 1407                                 | 1112,4                  | 2                   | Mesomediterrâneo  | Sub húmido |
| IV-Penamacor (P)            | 40°12' 06,741"          | 7°06' 22,085" | 558          | 1514                                 | 1325,8                  | 3                   | Mesomediterrâneo  | Sub húmido |

Níveis de destruição: 1 – Sem acção humana (não mobilização >50anos); 2 – Fogo e destruição florestal; 3 – Actividade florestal; 4 – Actividade agrícola e pastoreio.

**Figura 8.1.** Locais de recolha de exemplares de *L. luisieri*. Local I = VVR; Local II = M; Local II = CF; Local IV = P.

Quanto à caracterização paisagística, esta teve como base o trabalho realizado por CANCELA D'ABREU *et al.* (2004).

O Local I pertencendo à unidade de paisagem do Tejo Superior e Internacional, apresenta um carácter forte, agreste, com encaixe xistoso bem definido do Tejo, constituindo um obstáculo físico entre o Alentejo e as Beiras, com uma identidade média a elevada. As encostas mais íngremes apresentam olivais em socacos e nas menos declivosas encontra-se *L. luisieri* associada a pinhais, olivais, azinhais, sistemas arvenses de sequeiro e pastagens, como descrito no quadro 7.1.

O contexto de grandes dificuldade de acessos, de isolamento, onde parece que o tempo parou, favoreceu a permanência de importantes valores naturais, tanto em termos de vegetação, como de fauna, em particular aves, o que justificou a criação do Parque do Tejo Internacional (Dec.Lei nº 384-B/99 de 23 de Setembro) (CANCELA D'ABREU *et al.*, 2004) sendo, por isso, uma paisagem com elevado suporte de biodiversidade, encontrando-se um significativo número de espécies animais e vegetais com elevado valor para a conservação (ICN, 1996).

O Local II pertencente à unidade de paisagem de Castelo Branco-Penamacor-Idanha, apresenta um relevo baseado em colinas suaves e áreas planas, com algumas elevações, sendo o granito o elemento unificador, em grande parte responsável pela identidade beirã presente. A identidade desta unidade de paisagem é, em termos gerais, baixa a média, não se podendo considerar que tenha características raras ou únicas. A diversidade de usos e um complexo mosaico agrícola e florestal, sugere que a "riqueza biológica" seja fraca a média (CANCELA D'ABREU *et al.*, 2004).

O Local III pertence à unidade de paisagem da Serra da Gardunha e é marcada pela imponência do relevo montanhoso, pelo contraste entre cumes desnudados e as vertentes cobertas de vegetação arbórea e ainda, pela forte marca deixada pelos contínuos incêndios florestais. Zona de transição entre o xisto e o granito em que o uso do solo é predominantemente florestal (quase só pinhal e eucaliptal), sendo raras as áreas agricultadas. São os matos que, na primavera, introduzem cores vivas da sua floração (tojós, urzes, rosmaninhos e estevas), atribuindo a pouca dinâmica visual à paisagem. A identidade desta unidade da paisagem é marcada pelos aspectos negativos ligados a monoculturas florestais, ocorrência periódica de fogos florestais e desertificação humana (CANCELA D'ABREU *et al.*, 2004).

O Local IV pertencente à unidade de paisagem de Penha Garcia e Serra da Malcata é marcada pelo acidentado relevo e pela predominância do coberto florestal, em grandes manchas uniformes, compactas, sobretudo de pinheiro bravo (também eucalipto) e matos. Tratam-se de paisagens despovoadas, embora o uso dominante do solo reflita uma profunda alteração da vegetação natural por acção humana. A serra da Malcata é sobretudo constituída por xistos e rochas afins, sendo solos pobres com elevado risco de erosão. No sul da serra, onde se encontra o local IV, ocorrem extensas áreas de matos mediterrâneos densos e relativamente diversificados de acordo com a latitude e exposição, integrando giestas, urzes e medronheiros, estevas, rosmaninhos e sargacinhas (CANCELA D'ABREU *et al.*, 2004).

A uniformidade em grandes extensões dá a esta unidade uma identidade forte apesar da falta de adequação explícita dos usos actuais às características biofísicas existentes. Apesar da pobreza e mesmo degradação do coberto vegetal, a "riqueza biológica" presente (e potencial) é considerável, pelo que justificou a integração da maior parte da unidade na rede de áreas protegidas, denominada como Sítio Natura 2000 da Malcata, que inclui a Reserva Natural da Serra da Malcata, onde está inserida a área de estudo, a Zona de Protecção Especial de Aves Selvagens e a reserva Biogenética (Conselho da Europa) (ICN, 1996 e CANCELA D'ABREU *et al.*, 2004).

## 8.2. Caracterização fitossociológica e ecológica

Os levantamentos fitossociológicos são de extrema importância para o reconhecimento da diversidade biológica e distribuição das espécies.

De acordo com ALCARAZ (1996) o estudo da composição florística é fundamental para o conhecimento da estrutura da vegetação, possibilitando informação qualitativa e quantitativa sobre a área em estudo contribuindo para o poder decisório da optimização da gestão de cada tipo de habitats.

### 8.2.1. Material e métodos

De acordo com os conceitos fitossociológicos de BRAUN-BLANQUET (1979), modificados por GÉHU & RIVAS-MARTÍNEZ (1981) as amostras de campo foram recolhidas nos quatro locais de estudo que exibiam comunidades de *Lavandula luisieri* (Quadro 8.1). Estas foram analisadas tendo como base o critério da área mínima (a área mais pequena representativa da composição florística da comunidade), tendo como suporte os pressupostos de MÜLLER-DOMBOIS & ELLENBERG (1964). A percentagem de cobertura para cada *taxon* foi adaptada da escala de BRAUN-BLANQUET (1964).

A identificação das espécies nas comunidades, nos locais de estudo, foi efectuada de acordo com FRANCO (1984), CASTROVIEJO *et al.* (1993 e 1998) e FRANCO & ROCHA AFONSO (2003).

A caracterização fitoecológica para cada local foi realizada, incluindo parâmetros ambientais qualitativos e quantitativos: a) parâmetros bioclimáticos que definem os termotipos e ombrotipos (RIVAS-MARTÍNEZ, 2005; MONTEIRO-HENRIQUES, 2009); b) variáveis edáficas, incluindo factores fisiográficos (altitude, declive e exposição), factores geológicos (tipo de rocha) e factores pedológicos (textura, pH, potássio, fósforo e matéria orgânica).

Foi adoptada a tipologia sintaxonómica de RIVAS-MARTÍNEZ *et al.* (2001, 2002a e 2002b).

A relação entre as espécies e os factores ambientais foi analisada através de uma análise canónica de correspondências (CCA), usando o software CANOCO 4.5 (TER BRAAK & SMILAUER, 2002). Os dados foram normalizados e foi aplicado o teste de permutação de Monte Carlo (999 permutações) para detectar e eliminar variáveis redundantes encontradas através da CCA e para identificar e seleccionar variáveis chave.

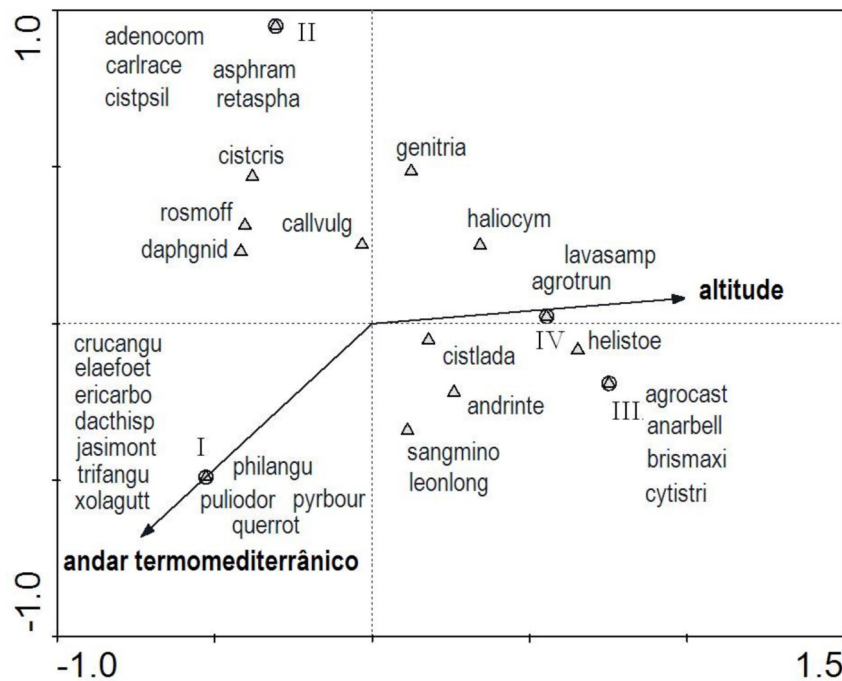
### 8.2.2. Resultados

As comunidades onde ocorre *Lavandula luisieri* representam uma etapa serial dos azinhais da série *Pyro bourgaeanae-Quercus rotundifoliae* S. (mesomediterrânica, seca a sub-húmida de

solos siliciliosos da Província Luso-Extremadurensis (Lousã, 2004) e dos sobreirais da série *Poterio agrimonioidis-Quercus suberis* S. (mesomediterrânica, sub-húmida, de solos siliciliosos da província Luso-Extremadurensis (Lousã, 2004)).

As diferenças ecológicas e florísticas foram identificadas pela CCA. Após o teste de permutação de Monte Carlo, a **altitude**, o **fósforo** e o **ombrotipo seco**, foram as variáveis ambientais que melhor explicaram o modelo de ordenação (Figura 8.2). A percentagem de variância acumulada foi de 78.9%.

Das comunidades onde ocorre *L. luisieri* três pertencem às séries de *Poterio agrimonioidis-Quercus suberis* S. e uma à comunidade *Pyro bourgaeanae-Quercus rotundifoliae* S.



**Figura 8.2.** Análise canónica de correspondências (CCA). Triplot com amostras (círculos), espécies (triângulos) e variáveis ambientais seleccionadas pelo teste de permutação Monte Carlo. Local I = VVR; Local II = M; Local II = CF; Local IV = P.

**Legenda:** adenocompl= *Adenocarpus complicatus*; agrocass= *Agrostis castellana*; agrotrun= *Agrostis truncatula*; anarbell= *Anarrhinum bellidifolium*; andrinte= *Andryala integrifolia*; asphram= *Asphodelus ramosus* subsp. *ramosus* var. *ramosus*; brismaxi= *Brisa maxima*; callvulg= *Calluna vulgaris*; carlrace= *Carlina racemosa*; cistcris= *Cistus crispus*; cistlada= *Cistus ladanifer*; cistpsil= *Cistus psilosepalus*; crucangu= *Crucianella angustifolia*; cytistri= *Cytisus striatus*; dacthisp= *Dactylis glomerata* subsp. *hispanica*; daphgnid= *Daphne gnidium*; elaefoet= *Elaeoselinum foetidum*; ericarbo= *Erica arborea*; genitria= *Genista triacanthus*; haliocym= *Halimium ocymoides*; helistoe= *Helichrysum stoechas*; jasimont= *Jasione montana*; lavasamp= *Lavandula pedunculata* subsp. *sampaiana*; leonlong= *Leontodon longirostis*; philangu= *Phillyrea angustifolia*; puliodor= *Pulicaria odora*; pyrbour= *Pyrus bourgaeana*; querrot= *Quercus rotundifolia*; retasphae= *Retama sphaerocephala*; rosmoff= *Rosmarinus officinalis*; sangmino= *Sanguisorba minor* subsp. *verrucosa*; trifangu= *Trifolium angustifolium*; xolagutt= *Xolantha guttata*.

O diagrama de ordenação da CCA (Figura 8.2) mostra um gradiente altitudinal entre as populações, levando a separar os locais III e IV dos locais I e II. O eixo 1 separa as comunidades de *L. luisieri* associadas a *Cytisus striatus* (Hill) Rothm. e a *Lavandula pedunculata* subsp. *sampaiana* que são espécies presentes nas comunidades de *L. luisieri* dos locais III e IV.

As comunidades de *L. luisieri* do locais II ocorrem em condições de ombrotipo seco e termótipo mesomediterrâneo e encontram-se também associadas à presença de *Retama sphaerocarpa* (L.)

Boiss. Assim, o local II pretence ao domínio territorial dos azinhais da série *Pyro bourgaeanae-Quercu rotundifoliae* S.

As comunidades de *Lavandula luisieri* do local I ocorrem em ombrótipo sub-húmido e termótipo termomediterrâneo, com uma diferenciação bioclimática das outras comunidades. O local I tem altos arbustos como sejam *Pyrus bourgaeana* Decne., *Phillyrea angustifolia* L. e *Erica arborea* L., indicando baixa acção antrópica. Por outro lado os locais II, III, e IV, são identificados como zonas em que há perturbação humana recente pela existência de *Cistus crispus* L. (Local II), *Anarrhinum bellidifolium* (L.) Willd. e *Carlina racemosa* L. (Local III), e *Cistus ladanifer* L. (Local IV), uma vez que se tratam de espécies primo-colonizadoras. Assim, o local I apresenta-se como o mais distinto dos outros locais de inventariação e estudo, quer pelas características fitossociológicas, quer pelas características bioclimáticas como se vê na figura 8.2.

## 9. Caracterização morfológica

A observação directa de caracteres morfológicos em diferentes indivíduos de uma população tem, desde sempre, contribuído para o conhecimento da variação natural, classificação, agrupamento de indivíduos e selecção de variedades. A expressão destas características é influenciada pelo ambiente (TRINDADE, 2006).

A caracterização morfológica de *Lavandula luisieri* teve como objectivos principais a comparação e análise dos parâmetros distintivos entre populações e resultados observados devido à aculturação e acção antropogénica (Local III: fogos florestais e Local IV: arroteamento de solo).

### 9.1 Material e métodos

Em 2005, foi colhido material vegetal aleatoriamente (plantas em 27 de Fevereiro e diásporos em 9 de Junho), de populações de *Lavandula luisieri* dos quatro locais de estudo (Quadro 8.1 e Figura 8.1), em áreas povoadas, nunca inferiores a 50m<sup>2</sup>. Foram transplantadas (conservação *ex situ*) trinta plantas de cada local para um campo de Caracterização/Demonstração na Quinta da Sr.<sup>a</sup> de Mércules – Escola Superior Agrária de Castelo Branco (ESACB).

O campo de Caracterização/Demonstração compreendia quatro parcelas de 8x1m, separadas entre si de 1,20m (correspondendo aos quatro locais) em que na parcela as plantas se encontravam instaladas segundo duas linhas de plantação com um compasso de 50X70 cm, tendo sido instalado um sistema de rega gota-a-gota.

A caracterização morfológica foi efectuada no ano de 2006, em plantas instaladas *ex situ* e no ano de 2008 em plantas *in situ*. A amostra para cada local e ano foi de dez plantas, num total de 40 plantas para cada ano.

Foram utilizados 35 parâmetros de caracterização morfológica. O quadro 9.1. baseado na lista de descritores desenvolvida por BETTENCOURT & DIAS (2008) e elaborado especificamente para a espécie, foi desenvolvido no âmbito do Programa Agro 800. As instruções dos métodos de observação e medição apresentam-se no anexo II. Os parâmetros de cor foram comparados utilizando o Royal Horticultural Society (RHS) Colour Chart. (RHS, 2001) e os da forma, utilizando o ilustrado por HICKEY & KING (2000).

A análise estatística dos dados de natureza quantitativa consistiu numa primeira fase, na realização de uma análise exploratória com o uso de métodos estatísticos simples, de forma a entender e complementar resultados finais e fornecer dados sobre a variabilidade das amostras em cada população. Para tal efectuou-se a média aritmética, desvio padrão, coeficiente de variação e intervalo de variação, conforme indicado para este tipo de análises de dados de características morfológicas por HIDALGO (2003) após o que se procedeu a uma análise de variancia univariada, metodologia que permitiu determinar o efeito da população/local em 10 plantas (repetições) (ZAR,1999). Na análise usou-se o software SPSS (versão 16.0) (MAROCO,2003), com níveis de significância da ordem de  $p < 0,05$  pelo teste de Sheffée.

As características morfológicas qualitativas foram analisadas percentualmente. As características quantitativas, foram ainda, sujeitas a uma análise canónica discriminante, com base em MAROCO (2003) que permitiu a constituição de grupos de zonas a partir das funções discriminantes e a análise de importância de cada uma das variáveis nessa discriminação, utilizando o teste de significância Wilks' lambda.

**Quadro 9.1.** Descritores para caracterização morfológica de *Lavandula luisieri*.\* (dados na escala de 1-29)

| <b>Código</b> | <b>Características/descriptores</b>         | <b>Escala- estatuto de descritores</b>   |
|---------------|---|--|
| <b>1</b>      | <b>Planta</b>                               |  |
| 1.1           | Porte                                       | 1-erecto; 3-arbustivo; 5-esférico/globuloso; 7-prostrado   |
| 1.2           | Tamanho                                     | 1-muito pequeno; 3-pequeno; 5-médio; 7-grande; 9-muito grande  |
| 1.3           | Densidade                                   | 1-pouco densa; 3-média; 5-densa  |
| <b>2</b>      | <b>Folha</b>                                |  |
| 2.1           | Intensidade da cor verde                    | 1-clara; 3-média; 5-escura   |
| 2.2           | Intensidade da cor cinzenta                 | 1-ausente ou muito clara; 3-fracas; 5-media; 7- intensa; 9- muito intensa  |
| 2.3           | Cor   | 1-acinzentado; 3-verde-acinzentado   |
| 2.4           | Limbo: recorte das margens                  | 1-inteira; 3-dentada fraca; 5-dentada forte; 7-crenado-dentada; 9-penatifendida; 11-sub-penatifendida  |
| 2.5           | Limbo: forma                                | 1-linear; 3-linear-oblonga; 5-lanceolada; 7-oblonga; 9-oblongo-lanceolada; 11-ensiforme  |
| 2.6           | Limbo: margens                              | 1-planas; 3-levemente revolutas; 5-revolutas; 7-acentuatadamente revolutas   |
| 2.7           | Pilosidade                                  | 1-glabrescente; 3-puberulenta; 5-tomentosa; 7-vilosa-pubescente  |
| <b>3</b>      | <b>Haste Floral</b>                         |  |
| 3.1           | Comprimento                                 | (mm)   |
| 3.2           | Diâmetro                                    | (mm)   |
| 3.3           | Comprimento do pedúnculo                    | (mm)   |
| 3.4           | Secção do pedúnculo                         | 1-quadrangular; 3-redondo  |
| 3.5           | Intensidade da cor verde                    | 1-muito claro; 3-claro; 5-medio; 7-escuro 9-muito escuro   |
| 3.6           | Pubescência                                 | 1-fracas; 3-media; 5-forte   |
| <b>4</b>      | <b>Espiga</b>                               |  |
| 4.1           | Largura                                     | (mm)   |
| 4.2           | Comprimento                                 | (mm)   |
| 4.3           | Forma                                       | 1-cónica estreita; 3-cónica; 5-cónica truncada; 7-cilíndrica; 9-sub-cilíndrica; 11-ovóide; 13-fusifforme; 15-rômbica estreita  |
| 4.4           | Secção da espiga                            | 1-quadrangular; 3-redonda  |
| 4.5           | Largura das brácteas férteis                | (mm)   |
| 4.6           | Forma das brácteas férteis                  | 1-linear; 3-linear-lanceolada; 5-cuneiforme; 7-obovada; 9-obovada-romboide; 11-rombóide-ovada; 13-obovada-orbicular; 15-ovada-orbicular; 17-ovada-mucronada; 19-cordado-reniforme; 21-cordada-mucronado; 23-obtriangular; 25-sub-orbicular; 27-sub-rectangular; 29-cordada |
| 4.7           | Cor principal das brácteas férteis          | 1-branca; 3-verde; 5-verde amarelado; 7-verde acinzentado; 9-violeta; 11-púrpura-avermelhado; 13-castanho; 15-púrpura  |
| 4.8           | Presença de bractéoles                      | 1-presente às vezes; 3-sempre presente   |
| 4.9           | Brácteas estéreis                           | 1-ausente; 3-presente  |
| 4.10          | Comprimento das brácteas estéreis           | (mm)   |
| 4.11          | Forma das brácteas estéreis                 | 1-linear; 3-elíptica; 5-oblonga; 7-oblancoelada; 9-sub-orbicular; 11-ovada; 13-obovada; 15-obovada-orbicular; 17-espatulada  |
| 4.12          | Cor principal das brácteas estéreis         | 1-branca; 3-verde; 5-esverdeado; 7-amarelado; 9-purpúrea; 11-liliacénea; 13-pálido-liliacénea; 15-violácea   |
| 4.13          | Ondulação das margens das brácteas estéreis | 1-fracas; 3-média; 5-forte   |
| <b>5</b>      | <b>Flor</b>                                 |  |
| 5.1           | Cor do cálice                               | 1-esverdeada; 3-púrpura; 5-violeta; 7-acinzentada  |
| 5.2           | Pubescência do cálice                       | 1-tomentoso; 3-puberulento; 5-viloso; 7-crespo-viloso; 9-hirsuto   |
| 5.3           | Cor da corola                               | 1-branca; 3-rosa; 5-púrpura; 7-púrpura-anegrada; 9-violeta; 11-violácea-esbranquiçada; 13-azul claro; 15-azul; 17- azul-escuro; 19- azul-violáceo  |
| 5.4           | Comprimento da corola                       | (mm)   |
| 5.5           | Data da floração                            | (dd-mm-aaaa)   |
| <b>6</b>      | <b>Sementes</b>                             |  |
| 6.1           | Peso de 100 sementes                        | (g)  |

\* Bettencourt &amp; Dias (2008).



## 9.2. Resultados e discussão

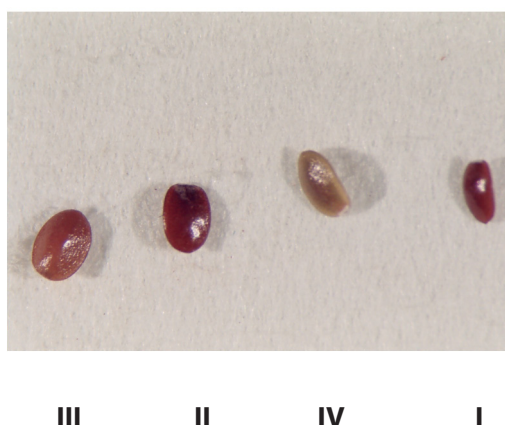
### 9.2.1. Características dos diásporos

Segundo MORALES (2009) os frutos de *Lavandula luisieri* são núculas.

No quadro 9.1, referente aos descritores morfológicos, as núculas são denominadas por sementes, por uma questão de simplicidade.

As dimensões das núculas variaram entre 1-1,3 x 0,4-0,8 mm; elipsóides; subtrigonais às vezes achatadas com as faces lisas por vezes aplanadas e com uma face convexa, quanto à forma, apresentando diversos tons de castanho, brilhantes e por vezes papilosas no ápice.

Segundo MORALES (2009), as dimensões definidas para a espécie *L. stoechas* subsp. *luisieri* variam entre 1,6-1,8 x 1,1-1,3 mm, ligeiramente superiores às encontradas nas plantas dos locais de estudo, podendo indiciar a escassez de precipitação ocorrida nesse ano (Quadro 14.2).



**Figura 9.1** Núculas de plantas de *L. luisieri* dos locais III, II, IV e I respectivamente, colhidas a 9 de Junho 2005 (10x).

Na figura 9.1 é notável a diferença de coloração apresentada pelas núculas dos diferentes locais de colheita, podendo indicar estados distintos de maturação.

### 9.2.2. Plantas *ex situ* 2006

Considerando os parâmetros fenotípicos de *Lavandula luisieri*, as plantas do local I são caracterizadas como pequenos arbustos com porte arbustivo, pelo contrário nos locais II, III e IV as plantas exibem um porte esférico/globuloso. As plantas apresentaram um tamanho médio (<50cm), uma cor de acinzentada (RHS191A) a verde-acinzentada (RHS189A); folhas de limbo inteiro, linear, de margens revolutas e tomentosas; inflorescências com pedúnculos que variaram entre 37 e 45 mm. Este parâmetros encontram-se de acordo com FRANCO (1984) e UPSON & ANDREWS (2004).

As plantas dos locais I e II apresentaram espigas cónico-truncadas e as dos locais III e IV espigas cilíndricas. As espigas com 63-68 mm de comprimento e 12-17 mm de largura tinham dimensões superiores às mencionadas por FRANCO (1984), GUINEA *in* TUTIN *et al.*(1981) e UPSON & ANDREWS (2004).

As brácteas estéreis sempre presentes variaram entre 26-32 mm, valores que se encontram de acordo com os descritos por FRANCO (1984), e UPSON & ANDREWS (2004). A forma predominante das brácteas estéreis é espatulada, no entanto nos locais II e III cerca de 50% das plantas apresentaram brácteas com forma elíptica como referido por UPSON & S.ANDREWS (2004); FRANCO (1984) considera a forma como oblanceolada. A cor principal das brácteas estéreis variou de pálido-liliacénea (RHS N81C) no local II a violácea (RHS N81A) no local I, III, e IV.

O cálice tomentoso e a cor da corola púrpura-anegrada (RHSN186B), variando o comprimento entre 4-6 mm, estes, são parâmetros também referidos por FRANCO (1984).

Através da análise estatística simples dos parâmetros quantitativos, as variáveis que nos indicam maior variabilidade na população são: o comprimento da haste floral e comprimento do pedúnculo, apresentando coeficientes de variação (CV) com valores entre 20 e 50%.

Dos 35 parâmetros morfológicos analisados (9 quantitativos e 25 qualitativos), os que contribuíram largamente para a variabilidade entre populações foram os que se encontravam relacionados com:

- **densidade da planta** (média a densa);
- **cor da folha** (intensidade da cor verde e intensidade da cor cinzenta);
- **forma da espiga** (cilíndrica a ovóide);
- **forma das brácteas férteis** (ovado-mucronada a cordado-mucronado);
- **cor principal das brácteas férteis** (verde a violeta);
- **cor principal da brácteas inférteis** ((pálido – liliacéneas (RHS 83D) a violeta (RHS N81A));
- **ondulação das margens das brácteas estéreis** (fraca a média);
- **cor do cálice** (verde (RHS 143D) a violeta (RHS 86B));
- **comprimento da corola** (4,1 – 6,2 mm), para este parâmetro FRANCO (1984) refere-se a um comprimento a variar entre 6 e 8 mm (Quadro 9.2)

**Quadro 9.2.** Variação de alguns dos parâmetros quantitativos da análise morfológica de *L. luisieri* nos 4 locais (2006).

| Locais   | Haste Floral |        |        |        | Espiga |        |        | Flor  |            |
|----------|--------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|-------|------------|
|          | 11           | 12     | 13     | 17     | 18     | 21     | 26     | 33    | 35         |
| I (VVR)  | 671,0 a      | 1,8 b  | 44,1 a | 13,1 a | 64,5 a | 9,7 a  | 25,7 a | 6,1 a | 0,035670 b |
| II (M)   | 670,0 a      | 2,1 ab | 40,3 a | 12,9 a | 62,6 a | 9,0 a  | 29,1 a | 4,1 b | 0,044590 a |
| III (CF) | 704,5 a      | 2,4 a  | 43,0 a | 13,5 a | 65,4 a | 10,2 a | 28,1 a | 6,0 a | 0,04271 ab |
| IV (P)   | 545,5 a      | 2,1 ab | 37,4 a | 13,4 a | 67,7 a | 9,8 a  | 32,0 a | 6,2 a | 0,048220 a |

Os valores de cada coluna afectados pela mesma letra não diferem significativamente ao nível de significância de 5 %.

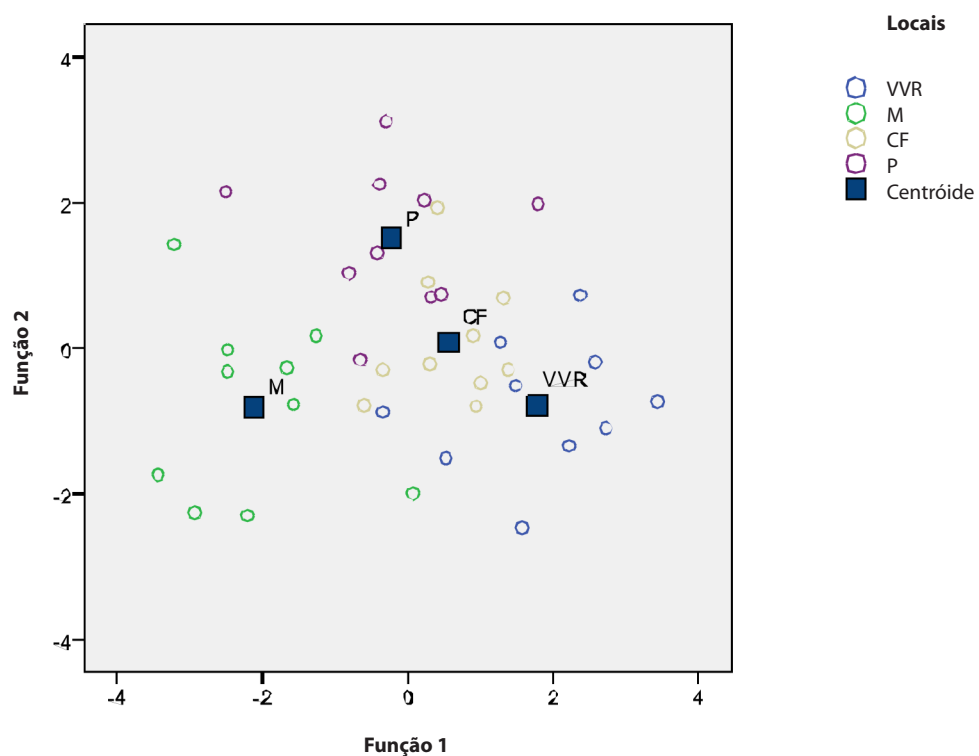
**Legenda:** 11- comprimento da haste floral; 12 – diâmetro da haste floral; 13- comprimento do pedúnculo; 17- largura da espiga; 18- comprimento da espiga; 21- largura das brácteas férteis; 26- comprimento das brácteas estéreis; 33- comprimento da corola; 35- peso de 100 núculas (sementes)

Pelo quadro 9.2 verifica-se que as características: diâmetro da haste floral (12), comprimento da corola (33) e peso das sementes (35) se mostraram significativamente diferentes entre locais.

A análise canónica discriminante (Figura 9.2) dos nove parâmetros quantitativos permitiu separá-los de forma a obter duas principais funções (valores próximos de 1) que explicam a variabilidade em 86,9% do total da variância dos dados analisados, indicando que:

- a função 1 (comprimento da corola) explica em 60% da variância total, a maior correlação das variáveis entre os locais;
- a função 2 (comprimento do pedúnculo; comprimento das brácteas estéreis, comprimento da espiga e peso de 100 sementes) explica em 26,9% de variância total, a correlação entre cada variável e qualquer função discriminante entre locais.

As funções mencionadas possuem um valor discriminatório e um valor significativo de Wilks'lambda. As coordenadas dos centróides também contribuem para isolar a população do local I nos eixos formados pelas funções seleccionadas. A população do local I é estatisticamente diferente das populações dos restantes locais (Figura 9.2).



**Figura 9.2.** Análise canónica discriminante. *Biplot* com parâmetros morfológicos da análise quantitativa. Representação gráfica dos centróides de cada grupo nas funções discriminantes para as plantas *ex situ* 2006. VVR=Local I; M=Local II; CF=Local III; P=Local IV.

### 9.2.3 Plantas *in situ* 2008

Em todos os locais as plantas apresentaram-se como pequenos arbustos (<50cm) com porte erecto e com pouca a média densidade, de cor verde-acinzentado (RHS 137B); folhas de limbo inteiro, linear, de margens levemente revolutas e tomentoso; inflorescências com pedúnculos quadrangulares, de comprimento a variar entre 18 mm (Local IV) e 28mm (Local I). Estes parâmetros encontram-se de acordo com FRANCO (1984) e UPSON & ANDREWS (2004).

As espigas com 47-60 mm de comprimento de acordo com UPSON & ANDREWS (2004), mas acima do indicado por FRANCO (1984) e por GUINEA *in* TUTIN *et al.*(1981) e 13-15 mm de largura, possuíam em todos os locais a forma cónico-truncada.

As brácteas estéreis sempre presentes, com comprimento de 23 a 28 mm, conforme referido por FRANCO(1984), VALDÉS *et al.*(1987) e UPSON & ANDREWS (2004); forma predominante oblanceolada também referida por FRANCO (1984); cor violácea (RHS 83C) de ondulação fraca a média. O cálice tomentoso e a cor da corola púrpura-anegrada (RHS N186B), também de acordo com o mencionado por FRANCO (1984).

Pelo quadro 9.3 verifica-se que dos parâmetros quantitativos, as variáveis que nos indicam maior variabilidade na população são: o comprimento da haste floral (11) e comprimento do pedúnculo (13), apresentando coeficientes de variação (CV) com valores entre 20 e 50%.

Nas populações *in situ*, os parâmetros que contribuíram para a variabilidade entre populações foram os que se encontravam relacionados com:

- **largura das brácteas férteis** (8-10mm) significativamente diferente no local II (8mm) dos outros locais;
- **largura da espiga** (13-15mm);
- **cor do cálice** (púrpura (RHS 187A) a violeta (RHS 83A));
- **comprimento das brácteas estéreis** (23-28mm);
- **comprimento do pedúnculo** (18mm (local IV) – 28mm (local I)) sendo o parâmetro que exhibe um coeficiente de variação (CV) maior em todos os locais, isto é, apresenta uma variabilidade média para esta característica nos locais I, II e III e uma variabilidade elevada no local IV;
- **tamanho da planta** (pequena < 25cm a grande 50cm < x < 75cm);
- **ondulação das brácteas estéreis** (fraca a média);
- **comprimento da haste floral** 184-297, significativamente distinta no local III; diâmetro da haste floral (2-2,6 mm) significativamente diferente no local I (2mm) dos locais III e IV;
- **comprimento da corola** (7-8 mm).

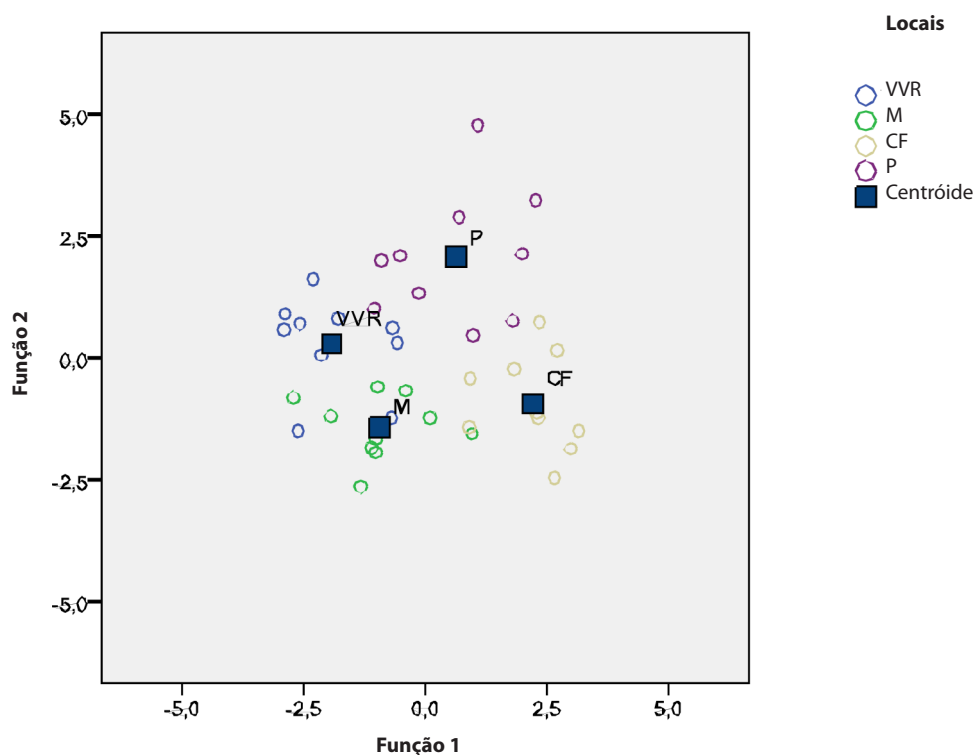
**Quadro 9.3.** Variação de alguns dos parâmetros quantitativos da análise morfológica de *L. luisieri* nos 4 locais (2008).

| Local    | Haste Floral |        |        |        | Espiga  |        |        | Flor  |            |
|----------|--------------|--------|--------|--------|---------|--------|--------|-------|------------|
|          | 11           | 12     | 13     | 17     | 18      | 21     | 26     | 33    | 35         |
| I (VVR)  | 185,8 b      | 2,0 b  | 28,0 a | 12,8 a | 52,7 ab | 8,3 bc | 24,7 a | 7,5 a | 0,049770 a |
| II (M)   | 199,3 b      | 2,3 ab | 26,5 a | 12,6 a | 46,5 b  | 7,6 c  | 22,5 a | 7,1 a | 0,091320 a |
| III (CF) | 297,0 a      | 2,6 a  | 22,7 a | 14,1 a | 60,6 a  | 9,5 ab | 25,9 a | 7,2 a | 0,044190 a |
| IV (P)   | 183,8 b      | 2,4 a  | 18,0 a | 14,6 a | 56,2 ab | 10,1 a | 27,7 a | 7,7 a | 0,046380 a |

Os valores de cada coluna afectados pela mesma letra não diferem significativamente ao nível de significância de 5 %.

**Legenda:** 11- comprimento da haste floral; 12 – diâmetro da haste floral; 13- comprimento do pedúnculo; 17- largura da espiga; 18- comprimento da espiga; 21- largura das brácteas férteis; 26- comprimento das brácteas estéreis; 33- comprimento da corola; 35- peso de 100 núculas (sementes)

Na análise discriminante a função 1 (comprimento da haste floral, diâmetro da haste floral, largura da espiga e peso de 100 sementes) contribui com 51% para o total de variância entre grupos sendo efectivamente a que possui maior poder de separação. A função 2 (largura das brácteas férteis, comprimento da corola, comprimento das brácteas estéreis, comprimento do pedúnculo) explica 37,6% da variância inter-grupal. As duas funções diferenciam os grupos de forma substancial (88,7% de variância explicada) e possuem um poder discriminatório significativo para níveis de Wilks' lambda.



**Figura 9.3.** Análise canónica discriminante. Biplot com parâmetros da análise quantitativa. Representação gráfica dos centróides de cada grupo nas funções discriminantes para as plantas *in situ* 2008. VVR=Local I; M=Local II; CF=Local III; P=Local IV.

As coordenadas dos centróides também contribuem para isolar as populações dos locais III e IV nos eixos formados pelas funções seleccionadas, as populações dos locais III e IV são estatisticamente diferentes das populações dos restantes locais (Figura 9.3), podendo as razões estar associadas aos factores de acção antropogénica em análise.

### 9.2.4 Comparação das características morfológicas *in situ* e *ex situ*

As plantas de *Lavandula luisieri* apresentaram-se como arbustos semi-lenhosos a lenhosos, pois os crescimentos do ano rapidamente se tornavam lenhosos. A ocorrência de crescimento anual acontecia quando as plantas se encontravam em floração. Os caules na base apresentaram com frequência ritidoma fendido. Os exemplares observados possuíam indumento curto, ramificado, denso e aveludado, verde acinzentado, muitas vezes bastante notório nas nervuras, distinguindo-se no campo da *L. pedunculata* e no laboratório de *L. stoechas*.

A comparação resultante da aculturação das plantas a um único local com características edafo-climáticas distintas dos locais de origem e, em que as plantas se tiveram que adaptar a novas condições de desenvolvimento, onde se introduziu a rega como factor de produção, fez com que após um ano de adaptação as plantas exibissem diferenças no seu desenvolvimento e características fenotípicas e, conseqüentemente, em todos os parâmetros não determinados geneticamente. Assim, o comprimento da haste floral passou a ser maior no campo de produção exibindo um comprimento médio de 545,5 -704,5 mm comparativamente a 183,8 - 297,0 mm nas plantas *in situ*, assim como, o comprimento do pedúnculo de 37,4- 44,1mm para 18-28mm.

O coeficiente de variação aumenta no caso das plantas em cultura, para estes dois parâmetros, verificando-se uma variabilidade média a elevada consoante o local. As plantas em cultura reagem à adaptação, através da maior alteração nos seus crescimentos vegetativos causada pelos factores mais favoráveis de produção.

Estas observações vêm corroborar o que referem UPSON & ANDREWS (2004) que algumas características morfológicas são alteradas quando as plantas são aculturadas, principalmente nas espécies que exibem crescimentos anuais, como é o caso da *L. luisieri*.

A espiga apresenta formas cónico - truncada e quadrangular, na sua maioria contrariando o que diz UPSON & ANDREWS (2004) e FRANCO (1984) que indicam ser cilíndrica ou menos vezes ovóide. A sua dimensão é sempre maior 2x de comprimento relativamente à largura de acordo com GUINEA *in TUTIN et al.*(1981), VALDÉS *et al.*(1987) e MORALES (2009).

A característica do pedúnculo ser mais comprido que a espiga, como indicado por MORALES (2009), para caracterizar a subespécie *luisieri* de *L. stoechas*, não se verifica em média, sendo porém, o parâmetro do comprimento do pedúnculo o que apresenta maior variabilidade nas populações da Beira Interior.

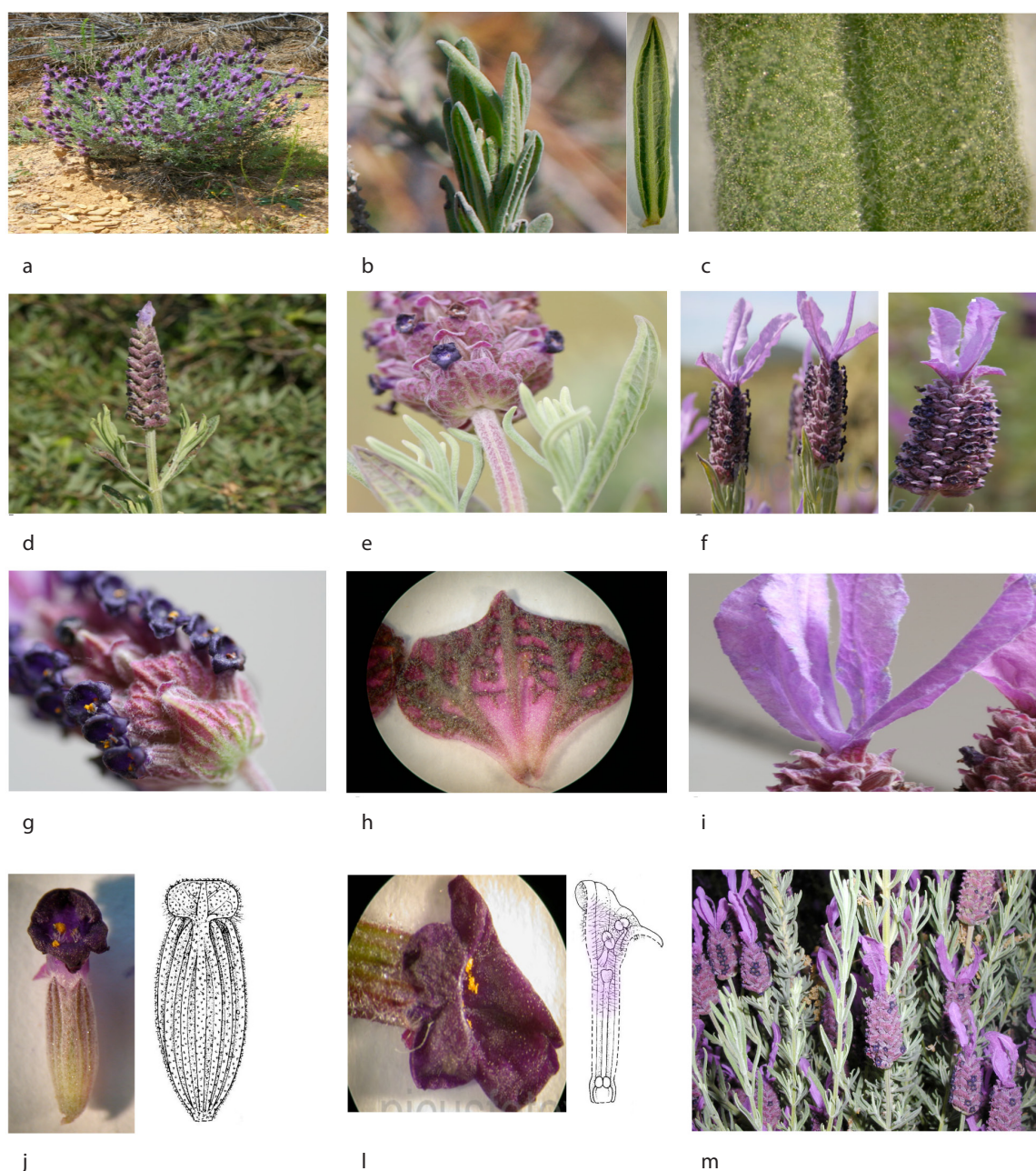
Características da espécie ocorrem tanto *in situ* como *ex situ*, casos da existência de indumento acinzentado e folhas axilares lanceoladas e muito maiores que as restantes.

Uma das características desta espécie é a presença de 4-6 brácteas estéreis, oblanceoladas,

elípticas e espatuladas, de cor violácea a púrpura, ondulação fraca a média, e de comprimento entre 22,5 mm a 32,0 mm, características registadas tanto *in situ* como *ex situ*.

A corola apresenta uma cor púrpura-anegrada, comprimento entre 6,0 mm a 7,7 mm e um anel simples de pêlos inseridos na abertura da fauce, estando de acordo com UPSON & ANDREWS (2004).

Na figura 9.4 podemos observar as diversas características morfológicas verificadas em exemplares de *L. luisieri* dos locais de estudo.



**Figura 9.4.** Características morfológicas de *L. luisieri*: a) porte arbustivo; b) folhas acinzentadas, limbo de margens revolutas; c) pormenor da pilosidade tomentosa; d) inflorescência em início de formação, pedúnculo com comprimento inferior ao comprimento da espiga; e) inserção das flores na espiga e folhas axilares lanceoladas muito maiores que as restantes; f) forma e tamanho da espiga; g) inserção das brácteas férteis; h) forma cordado-mucronado das brácteas férteis e coloração púrpura; i) cor líliacina das brácteas estéreis, ondulação fraca; j) cor, forma e pubescência do cálice; l) cor e comprimento da corola; m) aspecto geral de planta em plena floração;

## 10. Caracterização genética

A análise genética em espécies silvestres para conservação ou que se pretendem valorizar através da sua produção é um aspecto muito importante para programas de selecção cultural, uma vez que através dela, podemos obter informação sobre a diversidade genética, podendo servir de base a programas de selecção e melhoramento de populações ( MOHAMMADI & PRASANA, 2003).

Entender as bases genéticas das características morfológicas de diferentes espécies, ou dentro da mesma espécie, de diferentes populações, é de particular importância, principalmente ao nível taxonómico, uma vez que, as características morfológicas são a base para a descrição nos diversos sistemas de classificação (BACHMANN, 1983)

Pretendeu efectuar-se a análise da variabilidade genética das 4 populações em estudo, inferindo, assim quanto às diferenças a este nível, das populações da Beira Interior, contribuindo para a sua caracterização e discriminação, utilizando para tal a técnica de AFLP.

A técnica de AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*), baseada na reacção de PCR (*Polimerase Chain Reaction*) (MULLIS & FALOONA, 1987), acoplada à restrição por endonucleases (Vos *et al.*, 1995), apresenta inúmeras características - para além da rapidez e reprodutibilidade dos dados - que a tornam num sistema ideal para detectar variabilidade genética. Entre as inúmeras vantagens está, por exemplo, a variabilidade poder ser determinada em qualquer parte do genoma e num número de *loci* independentes não sujeitos à selecção natural (MAJER *et al.*, 1996).

### 10.1. Material e métodos

Este estudo decorreu no CARAH ( *Centre pour l'Agronomie et l'Agro-Industrie de la Province de Hainaut*) agregado à "Haute École Provinciale du Hainaut Occidental", Ath, Bélgica, no âmbito de um programa de mobilidade Sócrates/Erasmus no ano de 2008.



Por local, tendo como base o quadro 8.1, foram colocadas a germinar 300 sementes (3x100 sementes/placa de Petri), tendo-se obtido uma média de 76% de germinação, pelo que, de cada repetição foram obtidas três amostras de DNA por população, extraídas segundo o protocolo do reagente PlantDNAzol (Invitrogene®), das primeiras folhas verdadeiras.

Os protocolos utilizados e fornecidos pela *Applied Biosystems* foram utilizados para a produção de fragmentos amplificados (AFLP). Para o corte dos fragmentos de DNA foram usadas enzimas de restrição baseada na reacção de PCR, seguido pela ligação através de adaptadores no final dos fragmentos de restrição.

Para a amplificação selectiva dos fragmentos *Eco* RI – *Mse* I foram utilizados três pares de *primers* (Eco+ACA/*Mse*+CTA, Eco+AGC/*Mse*+CTT, Eco+AAG/*Mse*+CAA) (Vos *et al.*, 1995).

A detecção dos fragmentos foi efectuada mediante electroforese capilar num sequenciador automático ABI PRISM® 3100 Avant Genetic Analyzer (Applied Pharmacia, EUA), utilizando-se o marcador de peso molecular interno ROX 500 (CORRADINI *et al.*, 2002).

Para a análise dos resultados, foi determinada a presença (1) / ausência (0) dos fragmentos polimórficos detectados entre 30-500bp, construindo-se uma matriz binária de distância genética para as repetições dos quatro locais, utilizando Microsoft® Office Excel para cada uma das 3 combinações dos pares de *primers* usados.

Foi efectuada uma análise de *clusters*, com a aplicação do coeficiente de similaridade de Jaccard (JACCARD, 1908), seguido da análise fenigramática de médias aritméticas com o algoritmo UPGMA (*Unweighted Pair Group Method*) (ROHLF, 1997; <http://www.exetersoftware.com/>). Para o dendrograma final utilizou-se uma análise multivariada através do MVSP (*Multi-Variate Statistical Package*).

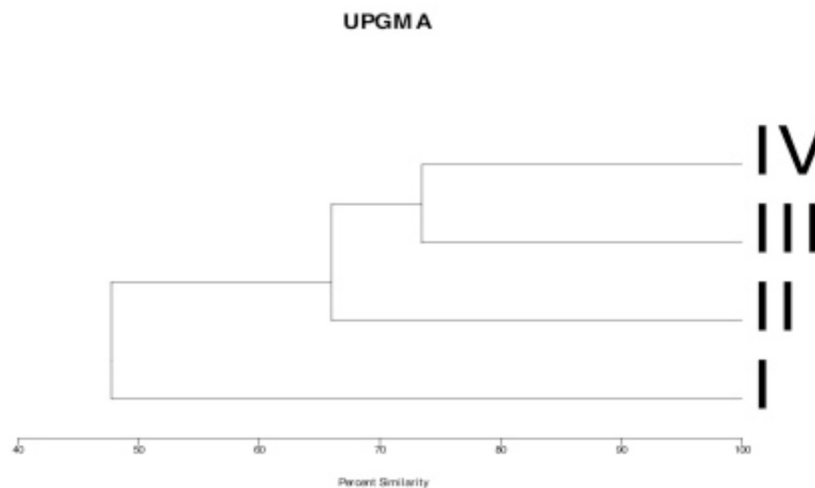
Com vista à medição da diferenciação genética ( $G_{st}$ ), a diversidade genética entre populações ( $H_s$ ) e a diversidade genética total ( $H_t$ ) em todos os loci e em indivíduos considerados em conjunto foram analisados, após o que se expressou a proporção da diversidade entre populações ( $G_{st}$ ). Para todos os cálculos e análises usou-se o software POPGENE version 1.21 (YEHAND POYLE, 1997).

## 10.2. Resultados

Os três pares de *primers* utilizados na AFLP originaram 550 fragmentos, dos quais 458 (83,4%) eram polimórficos. O *primer* que originou maior número de bandas polimórficas foi a combinação Eco+ACA/*Mse*+CTA (174 polimorfismo em 207 fragmentos) e a mais elevada percentagem de variação genética (77%) foi detectada na população do local I (VVR). A variação genética verificada entre as populações dos locais II e IV foi de 55,5% e 52,4%, respectivamente. O valor estimado da diferenciação genética entre populações foi de  $G_{st}=0,525$  ( $H_s=0,549$  e  $H_t=0,261$ ) indicando a maior variação entre populações e que a combinação do *primer* mais eficiente para detectar estas variações é Eco+AAG/*Mse*+CAA ( $G_{st}=0,561$ ).

Por outro lado, os resultados revelaram que conjuntamente com as variações genéticas verificadas entre populações, também existiam diferenças genéticas nas populações de *Lavandula luisieri*. O dendrograma separou todos os isolados, agrupando-os em três grupos distintos (Figura 10.1).

A maior similaridade genética entre populações verificou-se e entre os locais III e IV, com uma taxa de similaridade no grupo de 74%. A população do local II também se mostrou geneticamente similar às populações dos locais III e IV, com uma taxa de 66% de similaridade, porém, a população do local I exibiu um elevado grau diferencial dos locais II, III e IV com uma taxa de similaridade de 48% com estas populações e revelando a existência de uma vulnerável distância geográfico-genética entre os locais II, III e IV; observando-se assim, o efeito da fragmentação do habitat no local I.



**Figura 10.1** Dendrograma obtido por análise UPGMA a partir de electroferogramas de AFLP da relação genética entre as quatro populações de *Lavandula luisieri* da Beira Interior Sul. VVR=Local I; M=Local II; CF=Local III; P=Local IV.

Os resultados dos testes genéticos de similaridade foram algo expectáveis.

Na população do local I parece ter havido ocorrência de um fenómeno de especiação alopátrica: neste caso a população deve considerar-se geograficamente isolada. A diversidade do nicho ecológico, a capacidade de adaptação ao habitat e a selecção natural em resposta às condições ambientais, tiveram um papel fundamental na diferenciação específica desta população. Pela diversidade apresentada, terá passado por mais mutações genéticas, tendo-se separado das outras populações há mais tempo, indiciando, também ser a população mais antiga.

O elevado grau de polimorfismo no genoma dos indivíduos entre populações está relacionado com a biodiversidade, variações genéticas e adaptação. Os resultados dos processos evolutivos, sendo hereditários podem ser modificados por selecção natural.

Pensa-se que outros considerandos acerca da diversidade e variabilidade genética entre populações poderão ser retirados se se aumentarem o número de pares de *primers* iniciais, nos estudos das populações em causa.

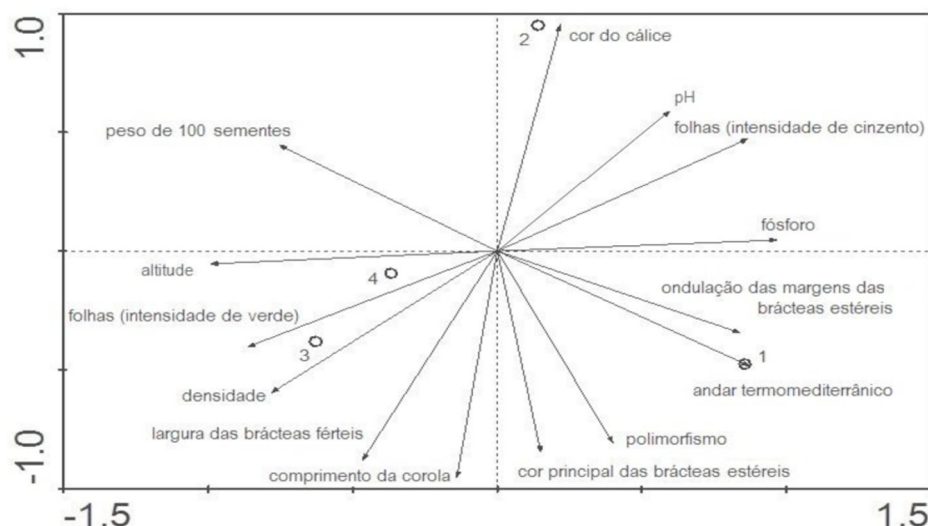


## 11. Variabilidade ecológica, morfológica e genética de *L. luisieri* na Beira Interior Sul

Tendo como base as variáveis ecológicas de cada local, as características morfológicas de cada população estudada e, o polimorfismo genético encontrado nas populações fez-se a análise conjunta destas variáveis para as plantas que se desenvolveram *ex situ* 2006 e *in situ* 2008, tendo neste último caso entrado também com as variáveis de perturbação em cada local, designadas no quadro 8.1. por níveis de destruição. Foram efectuadas duas análises de componentes principais (PCA), usando o software CANOCO 4.5 (TER BRAAK & SMILAUER, 2002). Os dados foram normalizados e determinadas as duas componentes principais.

Nas figuras 11.1. e 11.2. estão representadas as PCA de análise dos parâmetros de caracterização morfológica das plantas das populações *ex situ* e *in situ*, respectivamente os factores ecológicos e genéticos. Na figura 11.1. a percentagem cumulativa de variância é de 100%, nos 2 primeiros eixos (eixo principal e secundário). Na figura 11.2. a percentagem cumulativa da variância é de 90%, para os dois primeiros eixos, sendo 76% para o eixo principal e 14% para o secundário.

Na figura 11.1. o pH do solo mostra-se altamente correlacionado com os parâmetros morfológicos de distinção das populações (cor do cálice e intensidade da cor cinzenta das folhas). O primeiro eixo separa os locais de acordo com a altitude e temperatura, identificando o local I como tendo maior polimorfismo induzido pelas altas temperaturas.

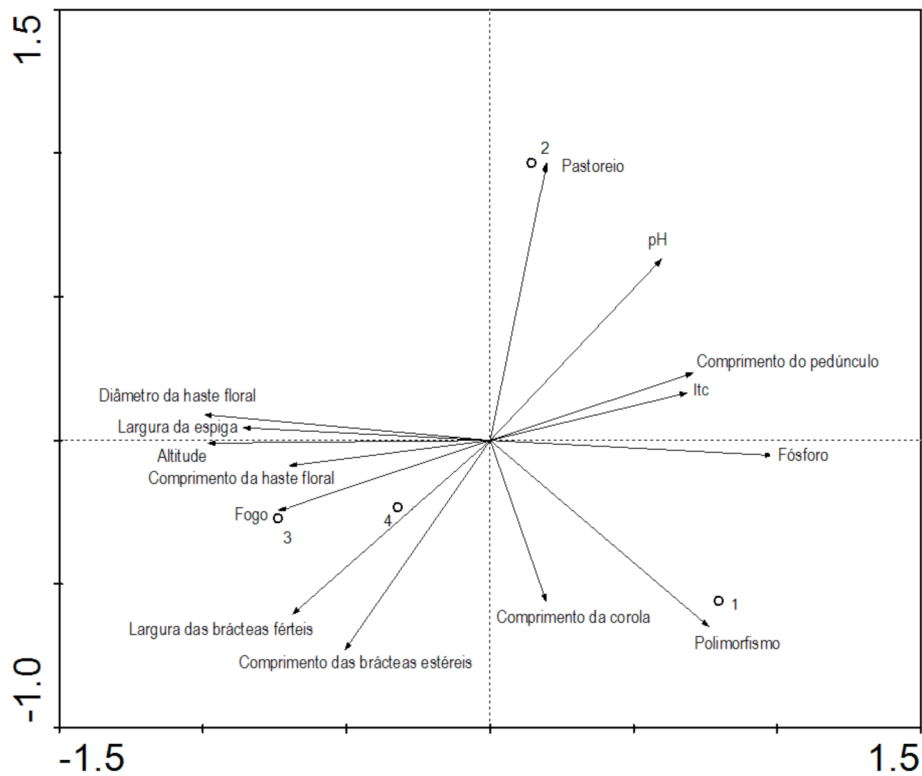


**Figura 11.1.** Análise de componentes principais (PCA). *Biplot* integrando características morfológicas, ecológicas e genéticas das populações (círculos) *ex situ* 2006. Local I (VVR) = 1; Local II (M) = 2; Local III (CF) = 3 e Local IV (P) = 4.

O método de caracterização genética utilizando AFLP não descodifica aspectos como sejam, o facto de, por processos evolutivos as populações terem sofrido uma taxa de mutação no património genético levando a uma distanciação da população de origem, por selecção natural, aspectos que parecem ser a explicação para o que se observa na figura 11.1.

A população do local I exhibe características distintivas das demais, como margens levemente onduladas e a cor mais violácea das brácteas estéreis, resultado da sua adaptação a factores mais favoráveis de produção existentes no campo *ex situ* (Figura 11.1), não se verificando ser características distintivas das demais, quando analisamos as características morfológicas desta população no seu local de origem (Figura 11.2).

Pelas figuras 11.1. e 11.2. verifica-se ainda, que características ecológicas como o teor em fósforo, se encontra inversamente correlacionado com a altitude e com características morfológicas como: comprimento da haste floral; diâmetro da haste floral e largura da espiga, para as populações *in situ* e na população *ex situ* com a intensidade de cor verde da folhagem.



**Figura 11.2.** Análise de componentes principais (PCA). *Biplot* integrando características morfológicas, ecológicas, genéticas e níveis de destruição das populações (círculos) *in situ* 2008. Local I (VVR) = 1; Local II (M) = 2; Local III (CF) = 3 e Local IV (P) = 4.

No caso da população do local I e pela figura 11.2 verifica-se uma associação a um índice de termicidade (Itc) elevado, assim como, a ser a população com maior polimorfismo, distinguindo-se das outras três. Encontra-se neste caso, assim como a população do local II, associada a níveis de secura e elevada evapotranspiração, pelo que, revela um menor tamanho do pedúnculo característica que poderá, à vista desarmada torná-la semelhante a *Lavandula stoechas* subsp. *stoechas in situ*. O elevado polimorfismo verificado nesta população leva-nos a admitir, mais uma vez e através desta análise, ser esta, a população mais antiga, pelo facto de se encontrar numa zona de baixa degradação ecológica com inexistência de acção antropomórfica e por apresentar um habitat fragmentado.



## 12. Caracterização química

A existência de quimiótipos em populações silvestres é particularmente frequente em espécies de algumas famílias, como as incluídas nas famílias APIACEAE e LAMIACEAE, muitas destas com elevado polimorfismo químico (CUNHA, 2005). Ocorre polimorfismo químico quando existe variabilidade para o mesmo tipo de compostos químicos num determinado *taxon*. Na bibliografia são referidos vários exemplos relacionados com óleos essenciais (TÉTÉNYI, 1970). Os factores que podem influenciar esta variabilidade química são de natureza diversa, podendo ser ambientais, ou dependendo da fisiologia ou do genoma da própria espécie.

As plantas denominadas de aromáticas, produzem metabolitos secundários que constituem os óleos essenciais, aromas ou essências, caracterizando-se estes por serem misturas líquidas, odoríferas, constituídas por inúmeros compostos voláteis, que lhe conferem propriedades únicas no reino vegetal (WILDWOOD, 1994).

Os óleos essenciais possuem uma diversidade de utilizações que vão desde a medicina natural, à alimentação, passando pela indústria de perfumes, cosmética, aditivos podendo ser também agentes antimicrobianos, antioxidantes, anti-radicalares e insecticidas (CUNHA, 2005).

Na sua maioria, as essências são praticamente incolores ou amareladas. São insolúveis em água, lipofílicas e solúveis em solventes orgânicos apolares (PRINS *et al.*, 2006). Acumulam-se em células especializadas ou em órgãos específicos da planta: pétalas, frutos, diásporos, raízes, rizomas, exsudados, e por vezes, em mais de um órgão da planta.

As diferenças das composições de óleos essenciais obtidos de distintos órgãos da mesma planta são particularmente evidentes em espécies de flores entomófilas (CUNHA, 2005) pelo que, a composição do óleo das flores, determinante na atracção de polinizadores é normalmente distinta, da do óleo extraído das folhas.

A planta produz óleos essenciais para: sobreviver; para agir no seu próprio processo de crescimento e reprodução; para atrair os insectos polinizadores; para repelir os predadores e para se defender de doenças e pragas.



Uma função relevante dos óleos essenciais diz respeito ao papel que desempenham na economia hídrica das plantas. Se por um lado contribuem na regulação da evapotranspiração, ao saturarem o ambiente envolvente dos estomas, por outro, as secreções aumentam o brilho da superfície foliar e regulam a temperatura por reflexão de radiações (CUNHA, 2005).

A qualidade de um óleo essencial depende de um certo número de factores que interagem uns com os outros, tais como: as condições do solo; o clima; a altitude e a época da colheita, este último factor de uma importância capital. As condições climáticas afectam com maior incidência a composição de óleos que são produzidos e acumulados em estruturas secretoras externas, como os tricomas glandulares. Alguns estudos têm sido realizados sobre a influência das condições climáticas no rendimento e variação da composição química de óleos essenciais podendo destacar-se os estudos de PALA-PAÚL *et al.*, (2001) e LAGO *et al.* (2006).

As variações sazonais foram referidas em diversas espécies aromáticas da família LAMIACEAE e outras famílias sujeitas a aculturação, incluindo *Salvia officinalis* L. (PUTIEVSKY *et al.*, 1986), *Origanum vulgare* Hoffmanns.& Link (PUTIEVSKY *et al.*, 1988) *Pelargonium graveolens* L'Hér. (PUTIEVSKY *et al.*, 1990) *Artemisia* sp. (PUTIEVSKY *et al.*, 1992) e *Micromeria* sp. (DUDAI *et al.*, 2001).

O estado fenológico das plantas pode também influenciar a composição dos óleos essenciais. Nos períodos de intensa actividade metabólica, como sejam a floração e a frutificação, a composição dos óleos pode variar significativamente (CUNHA, 2005). A variação no rendimento e na composição dos óleos foi referida em diversas plantas aromáticas (MAARSE, 1974; WERKER *et al.*, 1993, DUDAI *et al.* 1999; GERSHENZON *et al.*, 2000).

Diversos estudos têm sido efectuados sobre a composição química do óleo essencial de *Lavandula stoechas* L. bem como sobre a sua actividade biológica (GÖREN *et al.*, 2002), poucos reportam a estudos do óleo de *L. luisieri*.

O óleo essencial do rosmaninho é retirado das inflorescências e das folhas sendo produzido e acumulado em tricomas glandulares.

O óleo essencial de *L. luisieri* foi analisado pela primeira vez por GARCIA-VALLEJO *et al.* (1990). Posteriormente em 1992, GARCIA-VALLEJO, efectuou a caracterização químico-taxonómica de várias espécies do género *Lavandula* de Espanha. Em 1994, GARCIA-VALLEJO *et al.* identificaram a presença de monoterpenos irregulares ciclopenténicos derivados do necrodano como sendo: (1) *trans-α*-necrodol e (2) acetato de *trans-α*-necrodilo; SANZ & GARCIA-VALLEJO (2004) isolaram ainda, o acetato de *cis-α*-necrodilo em conjunto com (1) e (2).

GARCIA-VALLEJO *et al.* (1994) e LAVOINE-HANNEGELLE & CASABIANCA (2004) apresentam como compostos principais dos óleos de *L. luisieri*, de Espanha: 1,8-cineol, lavandulol, acetato de lavandulilo, linalol e os seus acetatos, também presentes noutras espécies do género *Lavandula*, além de uma série de compostos com a estrutura 1,2,2,3,4, pentametilciclopentano (necrodano). Segundo GARCIA-VALLEJO *et al.* (1990) *L. luisieri* pertencerá ao quimiótipo 1,8-cineol/ésteres e quimiótipo ésteres. Aparecendo os constituintes característicos deste quimiótipo em concentrações geralmente superiores a 10%, nos seus óleos.

Até ao momento, *L. luisieri* é a única espécie vegetal, fonte de derivados de necrodano. LAVOINE-HANNEGELLE & CASABIANCA (2004) referem o interesse que estes novos produtos podem vir a ter para a valorização e utilização industrial desta espécie. Assim, estes compostos conseguem obter-se à

escala industrial, desde que produzidos em extensas plantações, podendo introduzir na indústria da perfumaria novas notas aromáticas, criando perfumes de composição única. A razão pela qual estas plantas produzem estas estruturas químicas únicas é ainda desconhecido.

CAVANAGH & WILKINSON (2002), compilaram num artigo de revisão os efeitos dos óleos essenciais obtidos de espécies do género *Lavandula* e referiram que a utilidade dos óleos dessas espécies favoreciam, no geral, o relaxamento muscular, tinham efeito sedativo, anti-depressivo, anti-fúngica, anti-bacteriano, com efeito positivo no tratamento de queimaduras, picadas de insectos e dores de cabeça, sendo porém, diferentes os efeitos, consoante a espécie estudada. Demonstraram, também, ocorrer efeitos secundários sempre que estes óleos eram utilizados em elevadas concentrações.

## 12.1. Material e métodos

O estudo químico das populações dos quatro locais da Beira Interior Sul, foi efectuado, no ano de 2005, com vista à caracterização e à análise da importância dos constituintes do óleo essencial, tendo em conta que muitos destes compostos possam ter sido determinantes na selecção natural das espécies, mediando funções importantes. A identificação de ecótipos promissores para a valorização da espécie foi o objectivo final deste estudo.

Da escolha de um dos ecótipos (Local IV- Penamacor) pela importância revelada em determinados constituintes do seu óleo essencial, foi instalado, após propagação vegetativa, um campo de produção, pretendendo analisar-se a influência da aculturação na alteração dos constituintes dos óleos essenciais desta espécie. Estes estudos decorreram durante os anos de 2006 e 2007 (CB06 e CB07).

Em 2009 a instalação de outro campo de produção com o mesmo ecótipo (Local IV-Penamacor), teve como objectivo o estudo da evolução do rendimento e da composição do óleo essencial em diferentes estados fenológicos (1-antes da floração; 2-início da floração, 3-plena floração e 4-final da floração). Os registos climáticos foram efectuados no Posto Meteorológico da ESACB. O efeito da época da colheita no rendimento e composição do óleo de *L. luisieri* não se encontra referido na literatura.

### 12.1.1 Material vegetal 2005/06/07

Folhas (F) e inflorescências (I) foram colhidas *in situ* nos locais indicados no quadro 8.1, em plena floração, no mês de Maio, no ano de 2005 (VVR05; M05; CF05; P05). Este material foi separadamente sujeito a secagem (câmara de secagem com temperatura de 22°C, durante 42 dias), obtendo-se folhas em seco (Fs) e inflorescências em seco (Is).

As amostras das populações foram as seguintes, para cada local e ano:

- Local I (**VVR05**): amostras F, I e Fs
- Local II (**M05**): amostras F, I e Fs
- Local III (**CF05**): amostras F, I, Fs e Is
- Local IV (**P05**): anos 2005 (P05-Fs e P05-Is) e 2006 (P06-Fs)
- Campo de Produção Castelo Branco: **CB06**-Fs e Is e **CB07**-Fs e Is

As amostras CB06 e CB07, provenientes de plantas de um campo de produção experimental instalado no Campus Quinta Senhora de Mércules, Escola Superior Agrária de Castelo Branco (39° 50'N, 338m), provieram de propagação vegetativa, por estacas terminais, colhidas em Setembro de 2004 e mantidas em câmaras de enraizamento à temperatura de 25°C, e com fotoperíodo de 16 h de luz, de plantas *in situ* de Penamacor. A colheita de folhas e inflorescências foi efectuada também no mês de Maio, em 20 plantas no campo de produção experimental.

O campo de produção experimental consistiu em três blocos (repetições) casualizados por local (1,5 m de distância entre blocos) com 80 plantas no bloco em 4 linhas (8m/linha, 28,80m<sup>2</sup>) com uma distância de 1,20 x 0,40 m entre plantas (0,48m<sup>2</sup>/planta). A colheita do material vegetal foi efectuada nas 2 linhas centrais de cada bloco.

### 12.1.2 Material vegetal 2009

Para as amostras CB09 o campo experimental foi instalado em Abril de 2008, seguindo o mesmo modelo experimental do campo de 2006, as plantas também foram obtidas por propagação vegetativa de estacas terminais (câmara de enraizamento à temperatura de 25°C e fotoperíodo de 16h de luz).

Foram consideradas os seguintes estados fenológicos para a análise do rendimento em óleo e a sua composição: 1) antes do início da floração; 2) início da floração; 3) plena floração; 4) final da floração.

Em cada estado fenológico, foi colhido material vegetal (Folhas em seco (Fs) e Inflorescências em seco (Is)) de 5 plantas/repetição, num total de 15 plantas.

As amostras estudadas do campo experimental de Castelo Branco foram: CB09- Fs1; Fs2, Is2, Fs3, Is3; Fs4, Is4.

### 12.1.3 Óleo essencial e extracto metanólico

O procedimento foi igual para todos os ensaios realizados, tendo-se separado manualmente as inflorescências (I) das folhas (F) e pesado 100 gramas do material em verde (I;F) e em seco (Is, Fs).

A destilação foi realizada separadamente (inflorescências e folhas) num aparelho tipo Clevenger, de acordo com o método recomendado pela FARMACOPEIA PORTUGUESA (2002). O material a ser hidrodestilado foi colocado em balão de destilação de 2000 ml juntando-se 1000 ml de água destilada e reguladores de ebulição, durante 2 horas. O óleo obtido foi conservado em frasco escuro graduado, etiquetado e conservado a 4°C, até análise cromatográfica.

O rendimento em óleo foi obtido através da equação:

$$\text{Rendimento(\%)} = \frac{\text{volume de óleo obtido (ml)}}{\text{massa do material vegetal (g)}} \times 100$$

Uma outra parte de amostras de inflorescências e folhas foi extraída com metanol (MeOH) num aparelho Soxhlet e o solvente removido por vácuo. Este extracto foi utilizado nos ensaios de bioactividade.

O óleo essencial foi analisado por cromatografia gasosa acoplada a espectroscopia de massa (GC-MS) num cromatógrafo de gás Agilent 6890N (Agilent Technologies, Palo Alto, USA) acoplado a um espectrómetro de massa Agilent 5973 N (impacto electrónico 70 eV) (Agilent Technologies, Palo Alto, Califórnia, USA) e equipado com uma coluna capilar DB-5MS (filme de 0,25 µm de espessura) com 30 m x 0,25 mm (comprimento x diâmetro) (J&W Scientific, Folsom, Califórnia, USA). As condições de trabalho foram: amostras injectadas por razão de *split* (1:20) num volume de 0,2µl; gás de arraste: Hélio; temperatura do injector, 260°C; temperatura da coluna de cromatografia 60°C por 5 min, com acréscimos até atingir 270°C de 4°C min<sup>-1</sup>. Os espectros de massa por impacto electrónico (IE) e o tempo de retenção foram usados para identificação dos diversos compostos maioritários, comparando-os com os valores standards ou com base de dados da WILEY (2001). A quantificação dos componentes foi determinada pelo método de normalização interna com base na área dos picos sem correcção de factor de resposta.

No ano 2009 a análise foi efectuada por GS-MS, num cromatógrafo de gás FISIONS 8000, acoplado a um espectrómetro de massa FISIONS VG TRIO 1000 e, equipado com uma coluna capilar DB1 (filme de 0,25 mm de espessura) com 30m X 0,25 mm (comprimento x diâmetro) (J&W Scientific, Folsom, Califórnia, USA). As condições de trabalho foram: amostras injectadas por *split ratio* (1:20); temperatura do injector, 250 °C ; temperatura do detector, 280 °C; temperatura da coluna de cromatografia 60°C, com acréscimos até atingir 100°C de 3 °C min<sup>-1</sup>. Depois até atingir 180°C com acréscimos de 2,5°Cmin<sup>-1</sup>. A identificação foi efectuada tendo em atenção unicamente os compostos maioritários, seguindo a metodologia referida para as amostras dos anos anteriores.

Os objectivos definidos, foram: análise da existência de quimiótipos de *L. luisieri* na Beira Interior Sul (2005), efeito da aculturação de população seleccionada (P05) e composição dos óleos ao longo do ciclo vegetativo.

## 12.2. Resultados e discussão

O óleo essencial (OE) obtido das inflorescências apresentou na maioria dos casos uma cor amarelo-dourada. O líquido obtido em termos de odor tinha a particularidade de apresentar inicialmente um odor a cineol/mentol, mas no final um aroma mais quente, lembrando lúndano ou incenso. Resultados semelhantes foram referidos por LAVOINE-HANNEGELLE & CASABIANCA (2000). O óleo obtido da destilação das folhas apresentou uma coloração e um aroma menos acentuado.

### 12.2.1 Óleos essenciais 2005

O rendimento em óleo encontra-se indicado no quadro 12.1. evidencia-se que os maiores rendimentos se registam quando a extracção é realizada com as folhas verdes relativamente às inflorescências em verde excepto para o local IV- Penamacor no qual se obteve maior rendimento ao nível das inflorescências. Podendo referir como média de rendimento de extracção do material em verde para todos os locais de 0,49% para as inflorescências e 0,37% para as folhas.

**Quadro 12.1.** Rendimento em óleo essencial de *Lavandula luisieri* de inflorescências e folhas (em verde e em seco) dos locais I,II,III e IV.

| Local    | Material vegetal | Rendimento em verde(%) | Rendimento em seco(%) |
|----------|------------------|------------------------|-----------------------|
| I (VVR)  | Inflorescências  | 0,27                   | 0,08                  |
|          | Folhas           | 0,5                    | 0,08                  |
| II (M)   | Inflorescências  | 0,17                   | 0,09                  |
|          | Folhas           | 0,38                   | 0,05                  |
| III (CF) | Inflorescências  | 0,18                   | 0,07                  |
|          | Folhas           | 0,2                    | 0,08                  |
| IV (P)   | Inflorescências  | 0,7                    | 0,07                  |
|          | Folhas           | 0,4                    | 0,08                  |

Data de recolha do material vegetal: 11 de Maio 2005

Data de destilação do material em verde: 16 de Maio 2005

Data de destilação do material em seco: 27 de Junho 2005

O baixo rendimento obtido após secagem do material vegetal (< 0,1%) é evidenciado no quadro 12.1. O rendimento médio obtido pela extracção em seco nos quatro locais é de 0,08% para inflorescências e de 0,07% para as folhas, rendimentos inferiores aos obtidos por BEIRÃO & BERNARDO-GIL (2005) que obtiveram para inflorescências em seco 0,12%.

Este baixo rendimento do material vegetal proveniente do ano de 2005 pode estar relacionado com o facto de este ano ter sido um ano anormalmente seco no período da Primavera com temperatura média dos meses de Março a Junho (I-18°C ; II- 18°C, III- 16°C, IV-15°C) e precipitação média durante o mesmo período ( I- 25,8mm ; II-24mm, III-31mm, IV- 39mm) (DRAPC, 2008).

**Quadro 12.2.** Concentração (%) dos componentes principais do óleo essencial das folhas e inflorescências de *Lavandula luisieri*.

| Tr                                   | Componentes principais no óleo essencial |       |   |       |       |       |       |       |       |       |       |  |
|--------------------------------------|--|-------|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--|
|                                      | P05                                      |       |   | M05   |       |       | VVR05 |       |       | CF05  |       |  |
|                                      | Fs                                       | Is    | I | F     | I     | Fs    | I     | F     | Fs    | I     | Is    |  |
| 6.9                                  |  |       |   | 0.84  | 1.16  | 0.26  | 0.57  |       | 2.67  | 0.86  | 2.42  |  |
| 7.0                                  |  |       |   | 0.50  | 1.45  | 0.10  | 0.74  |       | 0.77  | 0.29  | 0.65  |  |
| 9.5                                  | 1.45                                     | 3.13  |   |       | 1.24  | 0.59  |       | 0.39  | 4.95  | 0.51  | 1.59  |  |
| 10.6                                 |  |       |   |       | 0.76  | 1.34  | 0.92  |       |       | 0.62  | 1.20  |  |
| 10.8                                 | 6.45                                     |       |   |       | 0.31  | 1.32  | 0.75  |       | 1.54  |       | 0.46  |  |
| 11.2                                 | 3.88                                     | 4.87  |   | 2.37  | 12.99 | 19.16 | 36.77 |       | 4.96  |       | 1.35  |  |
| 11.6                                 | 3.00                                     | 3.75  |   | 5.38  | 4.99  | 1.73  | 6.25  | 3.98  | 2.80  | 2.61  | 2.22  |  |
| 12.9                                 | 2.29                                     | 7.67  |   | 1.75  | 4.51  | 2.36  | 3.66  | 0.77  | 2.10  | 9.65  | 9.31  |  |
| 13.0                                 | 3.35                                     | 4.37  |   | 1.36  | 1.36  | 0.81  | 0.63  | 1.84  | 5.69  | 1.32  | 1.54  |  |
| 13.2                                 |  |       |   | 11.51 | 4.40  | 1.63  | 1.90  | 5.27  | 0.98  | 2.94  | 0.80  |  |
| 13.9                                 |  |       |   | 1.97  | 1.28  | 1.47  | 0.95  | 1.78  | 1.61  | 1.81  | 1.58  |  |
| 14.2                                 | 2.69                                     | 2.87  |   |       | 1.06  | 7.29  | 1.24  | 0.62  |       | 1.07  |       |  |
| 17.5                                 |  |       |   | 1.82  |       | 2.15  |       |       |       |       | 2.88  |  |
| 17.9                                 | 25.23                                    | 26.99 |   | 48.22 | 22.84 | 19.38 | 10.27 | 49.95 | 8.92  | 26.47 | 9.40  |  |
| 18.0                                 | 4.63                                     | 7.69  |   | 2.84  | 2.66  | 3.50  | 2.11  | 2.64  | 3.69  | 2.94  | 4.38  |  |
| 18.4                                 |  |       |   |       |       |       | 0.28  |       |       |       | 4.38  |  |
| 18.5                                 |  |       |   |       |       | 1.81  | 1.17  |       | 1.97  |       | 2.50  |  |
| 20.4                                 |  |       |   |       |       |       |       |       | 0.39  |       | 1.04  |  |
| 21.1                                 | 1.54                                     | 2.03  |   |       | 0.82  | 1.38  |       |       | 2.39  | 1.17  | 2.32  |  |
| 21.8                                 |  | 2.24  |   |       | 0.39  | 0.53  |       |       | 0.90  |       | 0.86  |  |
| 25.1                                 |  |       |   | 0.7   | 0.85  |       | 3.77  |       |       |       |       |  |
| 26.1                                 |  |       |   |       |       | 0.44  | 0.58  | 0.84  | 0.76  | 1.38  | 0.90  |  |
| 26.5                                 | 9.31                                     | 12.82 |   |       |       |       |       |       |       |       |       |  |
| 27.2                                 |  |       |   | 0.99  | 0.79  |       |       |       |       | 0.88  |       |  |
| 27.9                                 |  |       |   | 2.01  | 2.89  | 4.42  | 1.38  | 2.61  | 4.95  | 2.52  | 6.32  |  |
| 28.3                                 |  |       |   |       | 1.70  | 2.45  |       | 4.45  | 2.78  | 3.87  |       |  |
| 28.6                                 |  |       |   | 5.57  | 2.60  | 2.35  | 2.48  | 11.57 | 1.17  | 11.31 | 1.76  |  |
| 35.2                                 |  |       |   | 87.83 | 85.94 | 77.46 | 76.47 | 87.08 | 72.22 | 55.99 | 59.86 |  |
| Total de compostos identificados (%) | 78.43                                    | 63.94 |   | 87.83 | 85.94 | 77.46 | 76.47 | 87.08 | 72.22 | 55.99 | 59.86 |  |

**Legenda:** F, folhas em verde; Fs, folhas em seco; I, inflorescências em verde; Is, inflorescências em seco. Penamacor (P05), Mata (M05), Vila Velha de Ródão (VVR05), Casal da Fraga (CF05). Tr – tempo de retenção

A composição química do óleo essencial, de 2005 encontra-se representada no quadro 12.2.

O composto mais abundante na maioria dos locais e material analisado (em verde e seco) foi o acetato *trans-a*-necrodilo (**e**), sendo excepção nas inflorescências em verde do Local I – VVR em que predomina a fenchona (**b**). Os perfis químicos são:

**P05:** **e** >  $\beta$ -selineno > **c** e **f** (I e F). Presença de **d**-isómero, **Y2**, e **Y3** (F).

**M05:** mais compostos detectados em I do que F. (F) **e** > *cis-a*-necrodol (I) **e** > **b**; vestígios de **d**-isómero, **Y2** e **Y3**.

**VVR05:** (Fs) **b**  $\approx$  **e** > **d**-isómero. (I) **b** > **e** > linalol > valencene.

**CF05:** **e** > sesquiterpeno **s** > **d** (F) e **c** (I), presença do **d**-isómero e ambas as amostras; **e** (baixo teor, 9%) > **d**, **a**, **b** e viridiflorol (F); **c** e **e** > viridiflorol > **f** e acetato de terpenil (Is). Vestígios de **Y1**-**Y3** (F e I), presença de **Y2** (I).

Da comparação do material em seco com o material em fresco, para além de se ter obtido um menor rendimento em óleos, verifica-se um acréscimo no número de compostos que se conseguem separar e obter. Consta-se um acréscimo para a maioria das amostras nos compostos: *p*-cimeno, 1,8 cineol, fenchona, linalol e viridiflorol, pelo contrário houve um decréscimo para *cis-a*-necrodol, acetato *trans-a*-necrodilo (**e**), e **s**.

Segundo LAVOINE-HANNEGELLE & CASABIANCA (2004) nos óleos das inflorescências predominariam terpenóides mais regulares como a fenchona, cânfora e  $\alpha$ -pineno. Pelo contrário, GARCIA-VALLEJO *et al.* (1994), descreve os ecótipos espanhóis com domínio nos óleos das inflorescências de compostos como o acetato de *trans-a*-necrodol e de 1,8-cineol, aproximando-se mais da composição dos óleos obtidos em fase de plena floração, para os ecótipos portugueses da região em estudo, em que predomina o *trans-a*-necrodol e a fenchona.

Verifica-se também, diferenças químicas entre populações, em que **VVR05** e **M05** (ricas em **b** e **e**) se apresentam como as mais similares entre si. Este facto e neste ano, em especial, poderá ter tido como influência a falta de precipitação ocorrida e os valores de precipitação e temperatura terem sido muito semelhantes nestes dois locais (Tmédia: I, II-18°C e precipitação média: I–25,8mm ; II-24mm), considerando que estes dois locais são também, onde as populações ocorrem mais a sul, tendo as plantas que desenvolver estratégias para se adaptarem a condições mais adversas na época primavero-estival, como também nos é referido por MÜLLER – RIBEAU *et al.* (1997).

### 12.2.2 Óleos essenciais 2006/2007

No quadro 12.3. encontra-se a composição química dos óleos obtidos de inflorescências secas da população *in situ* do Local IV (Penamacor) em 2006 (**P06**) e de material vegetal, seco (Fs,Is) provenientes do campo de produção em Castelo Branco, em dois anos (**CB06** e **CB07**).

O composto mais abundante foi o acetato *trans-a*-necrodilo (**e**) para **CB06** (Fs e Is) e **CB07** (F) com teores mais elevados em folhas do que em inflorescências, a cânfora (**c**) foi o composto maioritário para **CB07** (Is). Os perfis químicos observados foram:

**CB06-Fs:** **e** > *p*-Cimeno > **f**  $\approx$  linalol > **a**. Presença de viridiflorol, lavandulol, **s**, e vestígios de **Y2** e **Y3**

**CB06-Is:** e ≈ viridiflorol > d > a ≈ c > f > b. Presença de d-isómero, acetato de terpenilol e vestígios de Y2 e Y3.

**CB07-Fs:** e > b > d ≈ f ≈ viridiflorol > c. Presença de Y2 e Y3.

**CB07-Is:** c > d > a > f > b. Presença de d-isómero.

**P06-Is:** e > c > ρ-Cimeno. Presença de f, viridiflorol, linalol, d-isómero e a.

**Quadro 12.3.** Concentração dos compostos principais(%) do óleo essencial de folhas e inflorescências (2 anos de cultivo (2006,2007) e da população de origem P06) de *Lavandula luisieri*.

| Tr <sub>1</sub>                     | Tr <sub>2</sub> | Compostos principais no óleo essencial  | Concentração (%) |       |       |       |       |
|-------------------------------------|-----------------|---|------------------|-------|-------|-------|-------|
|                                     |                 |   | P06              | CB06  |       | CB07  |       |
|                                     |                 |   | Is               | Fs    | Is    | Fs    | Is    |
| 7.1                                 | 5.6             | p-Cimeno  | 8.77             | 5,12  | 1.78  | 1.09  | 0.63  |
|                                     | 5.7             | α-Pineno  |                  | 1,21  | 1.75  |       |       |
|                                     | 7.9             | 1,8-Cineol (a)  |                  | 3,44  | 6.04  | 1.27  | 7.25  |
| 10.7                                | 8.6             | Óxido de linalol  | 1.14             | 1,20  | 0.53  |       |       |
|                                     | 8.7             | Ciclo-hexano  |                  |       | 2.58  | 1.8   | 1.78  |
| 11.2                                | 8.9             | Fenchona (b)  | 1.31             |       | 2.81  | 10.94 | 2.72  |
| 11.6                                | 9.3             | Linalol   | 2.04             | 4.16  | 2.62  | 1.94  | 0.78  |
| 12.9                                | 10.2            | Cânfora (c)   | 10.45            |       | 5.46  | 3.19  | 53.94 |
|                                     | 10.5            | Trans-α-necrodol  |                  |       |       | 1.44  |       |
|                                     | 10.7            | Isómero do óxido de linalol   |                  | 1.52  |       |       |       |
|                                     | 10.8            | Cis- α-necrodol   |                  |       |       | 1.56  |       |
|                                     | 10.9            | Lavandulol  |                  | 2.68  |       | 1.08  |       |
| 14.4                                | 11.1            | 2,3,4,4-tetrametil-5-metileno-2-cyclopentano-1-ona (d)  | 0.54             | 3.70  | 9.61  | 4.57  | 17.54 |
| 14.9                                | 11.9            | d Isómero (39,53,79,91,107(100),135,150)  | 2.03             |       | 1.23  |       | 1.27  |
| 18.1                                | 13.5            | Acetato trans-α-necrodilo (e)   | 42.81            | 37.41 | 11.26 | 23.98 | 1.99  |
| 18.5                                | 13.8            | Acetato cis-α-necrodilo (f)   | 2.81             | 4.23  | 3.07  | 4.34  | 0.75  |
|                                     | 13.9            | Acetato de bornilo  |                  |       |       |       | 3.97  |
|                                     | 14.1            | Acetato de di-hidrocareol   |                  |       | 2.63  |       |       |
|                                     | 15.1            | Acetato de terpenilo  |                  | 2.33  | 2.19  |       |       |
|                                     | 15.5            | Y2(43, 125,168(100), 210)   |                  | 3.08  | 2.00  | 1.83  | 0.5   |
|                                     | 15.9            | Y3 (43,97,107,125(100),168, 210)  |                  | 0.82  | 0.60  | 0.80  |       |
|                                     | 16.7            | β-Cariofileno   |                  |       | 0.75  | 0.73  |       |
|                                     | 17.2            | (+)-Ciclo-isosativeno   |                  |       | 1.36  |       |       |
|                                     | 18.0            | β-Selineno  |                  |       | 0.94  | 0.46  |       |
| 26.06                               | 18.7            | Δ-Cadineno  | 0.59             | 1.00  | 1.61  | 0.77  |       |
|                                     | 19.9            | Óxido de cariofileno  |                  |       |       | 0.90  |       |
|                                     | 20.1            | Viridiflorol  | 2.75             | 3.33  | 11.53 | 4.79  |       |
|                                     | 20.3            | Globulol  |                  |       | 2.11  | 2.11  |       |
|                                     | 20.4            | γ-Selineno  |                  |       | 1.96  |       |       |
|                                     | 21.6            | Valenceno   |                  |       | 2.79  |       |       |
|                                     | 35.2            | SesquiterpenoC <sub>17</sub> H <sub>28</sub> O <sub>3</sub> (s) (41,43(100),91,105,119,148,157,175,236) |                  | 2.11  |       |       |       |
| Total de compostos identificados(%) |                 |   | 75.24            | 79.21 | 66.28 | 94.59 | 69.59 |

**Legenda:** Is, inflorescências em seco; Fs, folhas em seco. Penamacor 2006 (P06), Castelo Branco, campo experimental 2006-2007 (CB06 e CB07). Tr<sub>1</sub>, tempo de retenção da coluna carbowax, Tr<sub>2</sub>, tempo de retenção de coluna de metil-silicone SPB-1.

Podemos observar que existem importantes diferenças químicas entre a população silvestre e as aculturadas. Adicionalmente, também se registaram diferenças importantes, tanto quantitativa



como qualitativamente nos tempos de retenção, entre amostras, na composição de acetato trans-a-necrodilo para P06 assim como para CB06 e CB07.

### 12.2.3 Óleos essenciais 2009

No quadro 12.4. encontra-se o rendimento dos óleos obtidos de inflorescências e folhas secas de plantas provenientes do campo de produção em Castelo Branco, no ano de 2009 (**CB09**), em quatro estados fenológicos das plantas, conforme descrito em 12.1.2.

**Quadro 12.4.** Rendimento (%) de óleos essenciais de *Lavandula luisieri* de inflorescências e folhas (em seco) em quatro estados fenológicos e factores climáticos (precipitação, humidade relativa e temperatura) do local de produção no ano de 2009 (ESACB).

|  | 1) antes da floração | 2) início da floração | 3) plena floração | 4) final da floração |
|--|----------------------|-----------------------|-------------------|----------------------|
| Rendimento em OE de folhas secas(%)          | 2,8                  | 1,05                  | 0,73              | 0,7                  |
| Rendimento em OE de inflorescências secas(%) | -                    | 2                     | 0,8               | 0,18                 |
| Precipitação(mm)                             | 4,2                  | 32,8                  | 19,2              | 27,4                 |
| Humidade relativa (%)                        | 58,6                 | 65,2                  | 56,8              | 57,5                 |
| Temperatura(°C)                              | 13                   | 11,6                  | 17,9              | 22,3                 |

De referir os elevados rendimentos obtidos, neste primeiro ano de produção, valores muito acima dos valores indicados por LAVOINE-HANNEGELLE & CASABIANCA (2000) 0,4%, e por BEIRÃO & BERNARDO-GIL (2005) que obtiveram para inflorescências em seco 0,12% e para folhas+inflorescências em seco 0,3%.

É evidente pela análise do quadro 12.4., o decréscimo contínuo dos teores em óleo nas folhas e nas inflorescências ao longo das fases fenológicas analisadas, não parecendo estar associado directamente só aos factores climáticos registados em cada uma das fases, mas sim, também, ao órgão em fase de maior actividade metabólica, aspectos registados igualmente por ARRIGONI-BLANCK *et al.* (2002) em *Hyptis pectinata* L. Poit .

A variação directa da produção de óleos com o aumento da precipitação e inversa com o aumento da temperatura foi verificada para *L. luisieri*, em conjunto com a actividade metabólica dos diferentes órgãos. O mesmo tinha sido referido para *Santolina rosmarinifolia* por PALA-PAUL *et al.*(2001) e para *H. pectinata* por ARRIGONI-BLANCK *et al.* (2002).

No quadro 12.5. encontra-se a composição química dos compostos maioritários dos óleos obtidos de inflorescências e folhas secas (Is e Fs) provenientes do campo de produção em Castelo Branco, em 2009 (**CB09**).

**Quadro 12.5.** Concentração(%) dos compostos maioritários do óleo essencial de inflorescências em seco(Is) e folhas em seco (Fs) de *Lavandula luisieri* ao longo de quatro estados fenológicos (2009).

| Tr    | Componentes                       | Quantidade (%)       |    |                       |       |                   |       |                      |       |
|-------|-----------------------------------|----------------------|----|-----------------------|-------|-------------------|-------|----------------------|-------|
|       |                                   | 1) antes da floração |    | 2) início da floração |       | 3) plena floração |       | 4) final da floração |       |
|       |                                   | Fs                   | Is | Fs                    | Is    | Fs                | Is    | Fs                   | Is    |
| 9,43  | <i>p</i> -cimeno                  | 4,46                 | -  | 4,03                  | 2,36  | 1,23              | 1,23  | 0,40                 | 1,19  |
| 10,05 | canfeno                           | 0,10                 | -  | 0,16                  | 0,75  | 0,07              | 0,35  | 0,16                 | 0,17  |
| 15,44 | 1,8-cineol                        | 16,35                | -  | 13,91                 | 2,72  | 15,47             | 3,45  | 6,33                 | 3,97  |
| 19,15 | fenchona                          | 1,36                 | -  | 1,39                  | 1,25  | 1,52              | 1,17  | 1,56                 | 0,05  |
| 23,37 | cânfora                           | 1,05                 | -  | 1,58                  | 20,76 | 3,08              | 8,23  | 42,93                | 12,01 |
| 33,30 | acetato <i>trans-a</i> -necrodilo | 8,05                 | -  | -                     | 20,29 | -                 | 16,62 | -                    | 3,46  |

No estado 1) antes da floração o óleo presente nas folhas têm maior predominância de 1,8-cineol e acetato *trans-a*-necrodilo.

O 1,8-cineol mantém-se como o composto representativo do óleo das folhas nos quatro estados fenológicos.

O acetato *trans-a*-necrodilo a partir do momento em que a planta inicia a floração passa a ser um dos compostos maioritários e a acumular-se nos tricomas glandulares das inflorescências, deixando de se acumular nas folhas, exibindo um pico de concentração máxima no início da floração, decrescendo a partir daí.

A cânfora também existente inicialmente nas folhas, em pequena quantidade vai aumentando ao longo dos quatro estados fenológicos, nas folhas, exibindo um pico máximo nas jovens inflorescências e uma elevada concentração nas folhas após plena floração.

O local de origem das plantas é determinante para a diferença na concentração dos diferentes compostos de um óleo essencial, veja-se por exemplo o caso de *L. stoechas* ssp. *stoechas* de origem turca, que em estudos efectuados por GÖREN *et al.* (2002) em que os compostos principais foram a pulegona (40,37%), o mentol (18,09%) e a mentona (12,57%) ao contrário de estudos efectuados por KOKKALOU (1988) na mesma espécie de origem grega em que os compostos maioritários eram a fenchona (30,85%) e o acetato de pinocarvil (10,20%).

No caso da *L. luisieri* predominam o acetato *trans-a*-necrodilo e a cânfora nas inflorescências e o acetato *trans-a*-necrodilo e o 1,8-cineol, nas folhas.

Estes resultados levam-nos a inferir que a *L. luisieri* da Beira interior é um quimiótipo muito distinto dos quimiótipos *L. stoechas* e *L. luisieri* de Espanha.



## 13. Estudos de bioactividade

As moléculas bioactivas existentes nas espécies vegetais ocorrem como metabolitos secundários, não contribuindo para o crescimento e metabolismo básico das plantas, mas possuindo um papel fundamental na defesa das mesmas, contra herbívoros, doenças e pragas, auxiliando à sobrevivência das espécies (Cox, 1990).

Um elevado número de metabolitos secundários de plantas (compostos fenólicos, alcalóides e terpenóides) possuem a capacidade de alterar a fisiologia e comportamentos de pragas, podendo gerar fontes de pesticidas botânicos naturais. Foram registadas diversas actividades biológicas, quando se utilizavam metabolitos secundários, incluindo toxicidade, acção repelente, acção fago-inibidora e propriedades de regulação do crescimento, por produtos naturais (HUANG & Ho, 1998; CHIAM *et al.*, 1999). Apesar de estarem demonstradas acções destruidoras em insectos, pelos designados insecticidas botânicos, somente uma meia dúzia está legalmente aprovado para ser utilizado em países industrializados (ISMAN, 2006). Segundo o mesmo autor, existem, actualmente quatro importantes produtos botânicos registados para utilização no controlo de insectos (piretro, rotenona, azadiractina (neem) e óleos essenciais), em conjunto com outros três (riânia, nicotina e sabadila) de utilização limitada. O sistema de agricultura que mais utiliza este tipo de insecticidas é o sistema baseado na agricultura biológica.

Diversos estudos baseados neste conhecimento têm sido levados a cabo, para serem testadas possibilidades de utilização do óleo essencial em pragas de produtos armazenados e fungos de diversas plantas (OWUSU, 2000; BEKELE & HASSANALI, 2001; PASCUAL VILLALOBOS & BALLESTA ACOSTA, 2003)

Os óleos essenciais têm tido recentemente, uma atenção especial por parte da comunidade científica pelo largo espectro de acção evidenciado, pelo facto de serem compostos por uma mistura de monoterpenos, fenóis e sesquiterpenos (ISMAN, 2005). O sucesso comercial dos óleos essenciais teve início nos anos 90, sendo na sua maioria inofensivos para pássaros, mamíferos e peixes (ISMAN, 1999; STROH *et al.*, 1998).

Compostos que diminuem a apetência dos insectos para se alimentarem, os designados por fago-inibidores têm merecido uma atenção especial dos investigadores de forma a poderem ser

potencialmente utilizados em sistemas de produção integrada (LEY, 1990).

Fago-inibidores ou fago-repelentes, são substâncias naturais que têm a propriedade de interromper a alimentação do insecto, podendo o efeito ser temporário ou permanente. Os fago-inibidores geralmente agem sobre o sistema nervoso central dos insectos e são específicos para determinadas espécies. Um exemplo clássico de fago-inibidor é a azadiractina (PINTO *et al.*, 2002), um triterpeno isolado de *Azadirachta indica* A. Juss e *Melia azedarach* L. que faz parte do conjunto das alomonas muito activas sobre vários insectos (AMARO, 2003).

De entre os compostos já pesquisados e estudados, os terpenóides, têm sido os que têm suscitado maior interesse no que diz respeito à sua integração em testes de bioactividade em pragas agrícolas (GONZÁLEZ-COLOMA *et al.*, 1995, 1996 e 2005; GUTIERREZ *et al.*, 1997), tendo evidenciado elevados efeitos de toxicidade, mortalidade em larvas, inibição de crescimento, repelência e fago-inibição.

A actividade insecticida de vários terpenos como o 1,8-cineol,  $\alpha$ -terpineol, timol, citronelal e citronelol,  $\alpha$  e  $\beta$ -pineno, mirceno, linalol, carvacrol, limoneno, mentol entre outros, já foi evidenciada sobre diversos insectos (AGARWAL *et al.*, 2001; HARBONE, 1993; ISMAN *et al.*, 2001; TAPONDJOU *et al.*, 2005)

Neste trabalho apresentam-se os estudos efectuados com as diversas populações de *L. luisieri* (Quadro 8.1.) comparando a acção do óleo essencial e extracto metanólico na actividade insecticida sobre as pragas fitófagas: *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae), *Myzus persicae* (Sulzer) e *Rhopalosiphum padi* (L.) (Homoptera: Aphididae).

## 13.1. Material e métodos

Os bioensaios foram realizados no Departamento de “Protección Vegetal do Instituto de Ciências Agrárias - Centro de Ciências Medioambientales - Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)”, em Madrid, no âmbito da cooperação científica Luso-Espanhola-Convénio GRICES-CSIC (2006/2007) - Projecto “Estudos dos metabolitos secundários dos géneros *Halimium*, *Cistus*, *Lavandula*, *Delphinium* e *Aconitum* da Península Ibérica”.

### 13.1.1 Insectos

Os insectos *Spodoptera littoralis*, *Myzus persicae* e *Rhopalosiphum padi*, utilizados nos ensaios de actividade biológica foram seleccionados por serem pragas de elevada incidência sobre culturas hortícolas com importância económica, pela sua capacidade de transmissão de vírus para as culturas (*M. persicae* e *R. padi*), assim como, pela sua disponibilidade, facilidade de crescimento e manutenção em laboratório.

As populações de insectos foram mantidas em câmara de crescimento a  $22\pm 1^\circ\text{C}$ , 60-70% HR (humidade relativa) e um fotoperíodo de 16h de luz.

O crescimento e manutenção de *S. littoralis* foi efectuada em caixas de plástico de diferentes dimensões dependendo do estado larvar, tamanho e número. As larvas foram alimentadas com uma dieta artificial geral para noctuídeos (POITOUT & BUES, 1970) e os adultos com uma solução açucarada. Os afídeos mantiveram-se em câmaras climatizadas sobre os seus hospedeiros secundários, isto é, *M. persicae* sobre plantas de pimento (*Capsicum annuum* L. var. Yolo Wonder) e *R. padi* sobre cevada (*Hordeum vulgare* L.), cobertas com cones de plástico ventilados sendo transferidos para plantas frescas cada 7-10 dias, mantendo-se nas mesmas condições ambientais.

### 13.1.2 Bioensaios com insectos

A finalidade destes ensaios foi analisar a capacidade repelente e fago-inibidora dos óleos essenciais e extractos a curto prazo.

Os testes foram conduzidos com duas larvas do sexto instar (L6) de *S. littoralis* e com dez adultos de *M. persicae* e *R. padi* como descrito em BURGUEÑO-TAPIA *et al.* (2008), em cada modalidade.

Os testes com *S. littoralis* basearam-se em medir a preferência das larvas por discos de folhas (tratadas e controlo), da planta hospedeira de *C. annuum*, colocadas em placa de Petri. A superfície dos discos ( $1\text{cm}^2$ ) foi tratada superficialmente com a substância a testar. Cada ensaio consistiu em 5 placas de Petri com duas larvas do lepidóptero por placa, seguindo a metodologia previamente descrita por GONZÁLEZ-COLOMA *et al.*, (1995 e 1996).

Uma vez atingidos os 75% da superfície dos discos foliares controlo consumida, as áreas intactas foram medidas de acordo com a metodologia de ESCOUBAS *et al.* (1993). Após o término do ensaio, calcularam-se as percentagens de fago-inibição (%FI) as quais foram calculadas como descrito em REINA *et al.* (2001) em que:

$$\% \text{FI} = 1 - \left(\frac{T}{C}\right) \times 100$$

T e C correspondem às áreas consumidas de discos de folhas tratados e controlo, respectivamente.

Foi considerado que o produto testado era activo quando FI era superior a 75%.

No caso dos afídeos, os ensaios realizados determinaram o efeito dos compostos sobre a sua persistência e conseqüente alimentação. Em cada ensaio foram utilizados 20 caixas de plástico com uma camada fina de agar (2,5%), tapadas e ventiladas, com 10 insectos ápteros em cada uma.

Com *M. persicae* utilizaram-se meios discos de folhas de *C. annuum* e para *R. padi* dois fragmentos de um folíolo de *H. vulgare*, por caixa. Cada meio disco e fragmento de folíolo foi tratado com o óleo ou com o extracto metanólico (tratamento) e na outra metade só o metanol (controlo). As caixas incubaram a  $22\pm 1^\circ\text{C}$ , fotoperíodo de 16h de luz e foram colocadas em posição invertida, por 24 horas, em condições de luz indirecta.

Tanto o óleo essencial como o extracto foram introduzidos, sobre as folhas numa dose de 100 mg/cm<sup>2</sup>.

Após o período do ensaio, precedeu-se à contagem dos afídeos que se encontravam na folha tratada (%T) e na folha controlo (%C).

Os valores médios foram sujeitos a uma análise de variância em que as diferenças significativas ao nível de 5% pelo teste de Mann-Whitney  $\pm$  desvio padrão (n = 10), foram evidenciadas.

## 13.2. Resultados e discussão

No quadro 13.1. podem observar-se os efeitos fago-inibidores dos óleos essenciais e extracto do ano de 2005, das folhas e inflorescências das plantas dos quatro locais em estudo.

**Quadro 13.1.** Acção fago-inibidora de óleo essencial e extractos de *Lavandula luisieri* (100 mg / cm<sup>2</sup>) (P05;M05;VVR05;CF05).

| Local <sup>a</sup> | Parte da planta <sup>b</sup> | OE/<br>Extracto <sup>c</sup> | <i>S. littoralis</i> | <i>M. persicae</i> |                 | <i>R. padi</i>  |                 |
|--------------------|------------------------------|------------------------------|----------------------|--------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|                    |                              |                              | %FI <sup>d</sup>     | %C <sup>e</sup>    | %T <sup>e</sup> | %C <sup>e</sup> | %T <sup>e</sup> |
| P05                | Fs                           | OE                           | 96* $\pm$ 1.89       | 59 $\pm$ 2.23      | 41 $\pm$ 2.23   | 56 $\pm$ 1.78   | 44 $\pm$ 1.78   |
|                    | Is                           | OE                           | 97* $\pm$ 1.58       | 64 $\pm$ 3.35      | 36* $\pm$ 3.35  | 65 $\pm$ 3.35   | 35* $\pm$ 3.35  |
|                    | Fs+Is                        | MeOH                         | 77* $\pm$ 4.74       | 63 $\pm$ 4.02      | 37* $\pm$ 4.02  | 67 $\pm$ 3.35   | 33* $\pm$ 3.35  |
| M05                | I                            | OE                           | 41 $\pm$ 3.16        | 60 $\pm$ 4.02      | 40 $\pm$ 4.02   | 67 $\pm$ 4.47   | 33* $\pm$ 4.47  |
| VVR05              | Fs                           | OE                           | 68* $\pm$ 2.63       | 60 $\pm$ 4.47      | 40 $\pm$ 4.47   | 34 $\pm$ 6.04   | 66 $\pm$ 6.04   |
| CF05               | F                            | OE                           | 74* $\pm$ 3.48       | 85 $\pm$ 4.47      | 15* $\pm$ 4.47  | 58 $\pm$ 4.92   | 42 $\pm$ 4.92   |
|                    | I                            | OE                           | 66* $\pm$ 3.48       | 50 $\pm$ 7.15      | 50 $\pm$ 7.15   | 62 $\pm$ 3.80   | 38* $\pm$ 3.80  |

**Legenda:** <sup>a</sup> VVR05, Vila Velha de Ródão2005; M05, Mata2005; CF05, Casal da Fraga2005; P05, Penamacor2005. <sup>b</sup> F, Folhas verdes; Fs, Folhas secas; I, Inflorescências verdes; Is, Inflorescências secas <sup>c</sup>OE, óleo essencial; MeOH, extracto metanólico. <sup>d</sup>% FI, percentagem de fago inibição. <sup>e</sup>T e C correspondem à % de afídeos instalados em discos de folhas tratadas e controlo, respectivamente.

A acção fago-inibidora do óleo essencial extraído de P05 das Fs e Is, foi mais activa em *S. littoralis*. O óleo essencial de plantas colhidas em VVR05 (Fs), CF05 (F, I) e o extracto metanólico de P05, exibiram actividade moderada para o mesmo insecto. *M. persicae* mostrou-se altamente sensível a CF05 (F) e P05 (I) e o extracto MeOH (P05) exibiu uma actividade moderada. *R. padi* foi moderadamente afectado por P05 (Is) e pelo seu extracto em MeOH, por M05 (I) e CF05 (I).

Com base nestes resultados foi escolhida a população de Penamacor (P05) para continuar a ser estudada tanto *in situ* como em campo de cultura, parecendo-nos ser a população mais promissora em termos de produção e selecção. A população de Casal da Fraga também evidenciou percentagens de fago-inibição consideráveis, mas um devastador incêndio na zona Sul da Serra da Gardunha no Verão de 2005 fez com que o local III ficasse completamente ardido, só se verificando regeneração de vegetação pós-fogo no ano seguinte. As plantas regeneraram por semente.

No quadro 13.2. observamos os efeitos fago-inibidores dos óleos e extractos de uma população *in situ* (P06) e da mesma população aculturada em dois anos seguidos (CB06 e CB07).

As amostras mais activas para *S. littoralis* foram extraídas de CB07 (Is e Fs), de CB06 (Fs) e de P06 (Fs), enquanto ambos os extractos de CB07 MeOH foram moderadamente activos para este insecto. Os afídeos mostraram ser sensíveis aos óleos de CB07 (Is e Fs), enquanto os extractos metanólicos e os óleos de P06 (Is), CB06 (Fs) e os seus extractos foram moderadamente activos para estes insectos.

**Quadro 13.2.** Acção fago-inibidora de óleo essencial e extractos de *Lavandula luisieri* (100 mg / cm<sup>2</sup>) (P06;CB06;CB07).

| Origem <sup>a</sup> | Parte da planta <sup>b</sup> | Extracto <sup>c</sup> | <i>S. littoralis</i> |                 | <i>M. persicae</i> |                 | <i>R. padi</i>  |  |
|---------------------|------------------------------|-----------------------|----------------------|-----------------|--------------------|-----------------|-----------------|--|
|                     |                              |                       | %FI <sup>d</sup>     | %C <sup>e</sup> | %T <sup>e</sup>    | %C <sup>e</sup> | %T <sup>e</sup> |  |
| P06                 | Is                           | OE                    | 82*±4.43             | 67±3.35         | 33*±3.35           | 62±2.90         | 38*±2.90        |  |
| CB06                | Is                           | OE                    | 51±4.11              | 59±2.23         | 41±2.23            | 56±1.34         | 44±1.34         |  |
|                     | Fs                           | OE                    | 90*±3.16             | 64±4.02         | 36*±4.02           | 65±4.25         | 35*±4.25        |  |
|                     | Fs+Is                        | MeOH                  | 56±3.16              | 70±3.80         | 30*±3.80           | 64±3.57         | 33*±3.57        |  |
| CB07                | Is                           | OE                    | 95*±1.58             | 98±0.89         | 2*±0.89            | 96±2.23         | 4*±2.23         |  |
|                     | Fs                           | OE                    | 98*±0.94             | 99±0.89         | 1*±0.89            | 99±0.89         | 1*±0.89         |  |
|                     | Is                           | MeOH                  | 70±3.48              | 68±3.80         | 32*±3.80           | 60±2.46         | 40±2.46         |  |
|                     | Fs                           | MeOH                  | 67±9.17              | 63±6.48         | 37*±6.48           | 73±4.02         | 27*±4.02        |  |

**Legenda:** <sup>a</sup>Penamacor 2006 (P06), Castelo Branco 2006 e 2007 (CB06-07). <sup>b</sup>F, Folhas verdes; Fs, Folhas secas; l, Inflorescências verdes; Is, Inflorescências secas <sup>c</sup>OE, óleo essencial; MeOH, extracto metanólico. <sup>d</sup>% FI, percentagem de fago inibição. <sup>e</sup>T e C correspondem à % de afídeos instalados em discos de folhas tratadas e controlo, respectivamente.

Estes resultados justificam o papel defensivo da planta e a sua acção fago-inibidora, proposto anteriormente para óleos da *L. luisieri* (GONZÁLEZ-COLOMA *et al.*, 2006) e demonstram que, com a aculturação a espécie não perde estas características. Principalmente os óleos das folhas evidenciam uma acção mais intensa sobre os insectos testados, verificando-se um acréscimo, principalmente para CB07.

Estudos similares com *Salvia broussonettii* (LAMIACEAE) foram efectuados quanto à toxicidade e efeito fago-inibidor em *Spodoptera littoralis* e *Lepinotarsa decemlineata* e comparados os resultados também em células do insecto Sf9 (FRAGA *et al.*, 2005) tendo-se verificado resultados positivos ao nível dos terpenóides existentes nos óleos e extractos desta espécie.

Ao longo dos anos 80 e 90, no nosso país, e em particular pelas exigências da agricultura biológica, o interesse pelos insecticidas naturais, como a piretrina e a nicotina incluídas em caldas tem sido crescente. As razões desta opção fundamentam-se no facto de serem pesticidas naturais, de curta persistência, admitindo-se, por vezes, serem pouco tóxicos para o Homem e auxiliares (AMARO, 2003). Porém a elevada toxicidade da nicotina para o Homem e da azadiractina, nicotina, piretrina e rotenona para os auxiliares não justificam a sua utilização em protecção integrada como nos indica AMARO (2003).

O novo Regulamento de colocação de pesticidas de uso agrícola no mercado, aprovado para a união europeia em Janeiro de 2009 e que deverá ser aplicável em Agosto de 2010, impõe a adopção de critérios rigorosos na avaliação de características quer sejam: carcinogénicas; mutagénicas; perturbação endócrina, toxicidade para a reprodução e elevada persistência ambiental, autorizando apenas a sua aprovação quando a exposição humana for considerada negligenciável, estabelecendo ao mesmo tempo mecanismos de substituição dos pesticidas mais tóxicos por alternativas não químicas (EU,2009).



Segundo MEXIA (2008), estas mudanças legislativas, desde que não desvirtuadas na sua aplicação, associadas à crescente chegada ao mercado de pesticidas com níveis elevados de eficácia e selectividade e perfis toxicológicos e ecotoxicológicos mais favoráveis, muitos deles provenientes do aproveitamento de metabolitos secundários de plantas superiores, permitirão, finalmente, a promoção da prática da protecção e produção integradas com qualidade, com recurso à luta química apenas quando necessário e não existirem alternativas, enquanto acto profissional responsável.

Assim, a próxima etapa destes estudos deverá ser, tendo em conta esta linha de pensamento e acção, o desenvolvimento de ensaios de toxicidade na utilização dos óleos de *L. luisieri* para o Homem, auxiliares e meio ambiente, antes de poderem ser industrializados e comercializados.

O futuro da comercialização de insecticidas botânicos, naturais foi objecto de uma revisão por ISMAN (2006) tendo verificado que só um número muito reduzido destes insecticidas têm tido sucesso no mercado dos pesticidas e da produção agrícola.

## 14. Produção de diásporos/núculas

A produção de diásporos é um aspecto que nos permite admitir que, a frequência de uma espécie cujo tipo de propagação é preferencialmente sexuadas, entre outros factores, está relacionada com o número de sementes formadas, o seu modo de dispersão e o tipo de dormência apresentada (CAIXINHAS,1988).

### 14.1. Material e métodos

Procedeu-se à colheita das inflorescências de 30 plantas nos locais de estudo (Quadro 8.1) em 9 de Junho de 2005.

Após um período de secagem, 8 dias em local seco e arejado, à temperatura ambiente de laboratório, separaram-se e limpam-se os frutos.

As pesagens foram efectuadas em balança digital (METTLER, Mod. AB-104S).

### 14.2. Resultados

Pelo quadro 14.1 verifica-se que no local III se obtiveram inflorescências com maior peso. Por sua vez o local IV aparece como sendo a zona com as inflorescências com menor peso.

**Quadro 14.1.** Produção média de inflorescências e núculas de *L. luisieri*.

| Local           | Peso 100 inflorescências (g) | Peso de núculas(g) / 100 inflorescências | Peso 1000 núculas(g) | Número médio de núculass/ inflorescência |
|-----------------|------------------------------|--|----------------------|--|
| <b>I (VVR)</b>  | 17,87                        | 0,4334                                   | 0,2828               | 15                                       |
| <b>II (M)</b>   | 20,93                        | 1,4758                                   | 0,4186               | 35                                       |
| <b>III (CF)</b> | 25,16                        | 1,5603                                   | 0,3791               | 41                                       |
| <b>IV (P)</b>   | 13,81                        | 0,924                                    | 0,3341               | 28                                       |

O ano de 2005, foi extremamente deficiente em pluviosidade exibindo temperaturas acima da média no período de Primavera (Março-Junho), como se pode observar pelo quadro 14.2, comparativamente com os valores médios de 30 anos de precipitação e temperatura para a região. Sendo este período o de formação e maturação dos frutos, estes valores poderão ser distintos dos observados em anos considerados, até à data normais. Porém, tendo em conta os acréscimos de temperatura que se têm verificado, devido às alterações climáticas, poderemos admitir que os dados obtidos, no ano de 2005, se aproximarão de uma realidade futura.

**Quadro 14.2.** Temperatura e precipitação dos locais de estudos (média de 30 anos e ano de 2005).

|                    | Temperatura média (°C) | Precipitação média (mm) |
|--------------------|------------------------|-------------------------|
| Média (1971-2000)  | 13,51                  | 60,2                    |
| VVR (Mar-Jun 2005) | 17,97                  | 25,8                    |
| M (Mar-Jun 2005)   | 17,83                  | 24                      |
| CF(Mar-Jun 2005)   | 15,73                  | 31,15                   |
| P(Mar-Jun 2005)    | 15,15                  | 39,15                   |

Fonte: Serviços DRAPC, 2008

Outros factores terão que ser estudados de forma a inferir sobre o que influencia estas diferenças produtivas. Porém, a termicidade do local I leva-nos a admitir que, a maturação dos frutos ocorre numa data anterior à dos outros locais, assim como a perda de água verificada nas plantas, devida a uma maior transpiração, serão factores que contribuem para esta diferença de valores.

## 15. Germinação

Em 1998, CABELLO *et al.*, realçam a importância da escarificação para a espécie *L. stoechas* subsp. *luisieri* como meio de quebra de dormência. Para tal, usaram a acetona, ácido sulfúrico e peróxido de hidrogénio. Verificaram que em ensaios à obscuridade as taxas de germinação foram muito baixas, no entanto, em ensaios à luz e com a utilização dos elementos escarificadores obtiveram respectivamente, taxas da ordem dos 71,75%, 83% e 83,25%. Segundo os mesmos autores, a coerência dos resultados obtidos deve-se certamente ao facto do fruto apresentar um pericarpo espesso, que estes autores consideraram, necessitar de escarificação para facilitar a germinação.

Em 2000, FOTIOU *et al.*, estudaram a importância da data de sementeira para o uso de *L. stoechas* em floricultura, tendo apresentado resultados em que a espécie atingiu a taxa germinativa de 100%, sem tratamentos específicos de escarificação.

No que diz respeito à influência da luz na germinação as sementes são classificadas geralmente em três grupos segundo o seu comportamento em relação à luz branca:

- fotossensivelmente positivas, quando germinam melhor à luz branca do que na obscuridade;
- fotossensivelmente negativas se a germinação é inibida pela luz;
- aparentemente sem fotossensibilidade se a germinação é independente da luz (CÔME, 1970; MAYER & POLJAKOFF-MAYBER, 1989; BASKIN & BASKIN, 1988).

Quanto à espécie em estudo, CABELLO *et. al.*, (1998), realçam que *Lavandula stoechas* subsp. *luisieri* é fotossensivelmente positiva. Esta conclusão foi resultado de uma série de ensaios realizados na luz/obscuridade. Os mesmos autores justificam este facto pela espécie se encontrar adaptada a ambientes heliófilos e mediterrânicos.

A temperatura óptima de germinação para *L. stoechas* foi investigada em 2000 por MAHER *et al.*. Após os ensaios com temperaturas constantes de 10, 15, 20, 25 e 30°C (12h de luz, 4000 lux), verificaram que para todas as temperaturas, se obtiveram percentagens de germinação acima dos 70%.

Segundo PÉREZ-GARCIA *et al.*(2003) factores como a água e a temperatura poderão levar a taxas de germinação de 50% ao fim de uma semana, em plantas da família LAMIACEAE.

As núculas de *L. luisieri* não se dispersam de uma só vez, ficando nas espigas, sendo dispersas durante um período longo de tempo, que pode ir até vários meses após a maturação das mesmas. A sua disseminação é feita, muitas vezes, pelas ovelhas que se alimentam das inflorescências em período de escassez de vegetação e as defecam a alguma distância, verificando-se por isso poucas germinações junto da planta-mãe, mas um enriquecimento de populações em locais mais distantes, pode ocorrer.

Conhecer as condições ambientais necessárias para as sementes germinarem é um dos aspectos de inegável utilidade prática, sendo que, esta informação é em regra vasta em espécies agronómicas, hortofrutícolas e florestais, não se podendo dizer o mesmo relativamente às plantas espontâneas e, muito menos se estas são endémicas, tal como, a *L. luisieri* espécie endémica do sudoeste da Península ibérica.

A diferença de comportamento germinativo exibida pelas núculas, de diversas espécies da família LAMIACEAE, de origem mediterrânea e colhidas em diferentes locais, foi referida por PÉREZ-GARCIA *et al.*(2003) pelo que, o estudo da germinação do rosmaninho da Beira Interior foi efectuado para quatro locais de ocorrência da espécie na região (Quadro 8.1).

O trabalho realizado teve como objectivo, para além da avaliação da acção conjunta da temperatura e luz sobre a germinação, a influência de mais dois parâmetros: a origem geográfica e o tempo de conservação.

## 15.1. Material e métodos

Considerando os quatro locais distintos de colheita, pretendeu comparar-se como já foi referido, as temperaturas (constantes e alternas), o fotoperíodo e o tempo de conservação (Quadro 15.1).

**Quadro 15.1.** Modalidades em função das condições: temperatura, fotoperíodo e tempo de conservação.

| Modalidade | Condições        |                     | Tempo de conservação (dias) |
|------------|------------------|---------------------|-----------------------------|
|            | Temperatura (°C) | Fotoperíodo (Horas) |                             |
| A          | 25°              | 8                   | 40                          |
| B          | 8/18°            | 8                   | 40                          |
| C          | 25°              | 8                   | 75                          |
| D          | 25°              | 16                  | 75                          |
| E          | 8/18°            | 8                   | 110                         |
| F          | 8/18°            | 8                   | 288                         |
| G          | 25°              | 16                  | 288                         |

O material recolhido foi colocado em sacos de papel, em local seco e arejado, devidamente identificado.

As núculas foram limpas e armazenados em tubos de ensaio rolhados no escuro, à temperatura ambiente de laboratório, cerca de 25°C e com níveis abaixo dos 40% de humidade relativa.

Os ensaios de germinação foram efectuados em câmaras climatizadas com controlo automático de temperatura (precisão  $\pm 1^\circ\text{C}$ ) e luz. Para a modalidade **D**, a luz foi a resultante das condições ambientais de uma sala de laboratório, sujeita a uma média de 1200 lux /dia.

As núculas foram colocados em placas de Petri de 10 cm de diâmetro, sobre discos de papel de filtro Whatman nº1, que se mantiveram humedecidos durante todo o ensaio com água destilada e esterilizada. Para tal colocou-se um fragmento de algodão na placa, sendo o mesmo humedecido sempre que necessário, evitando ou tentando evitar os problemas causados com o excesso de humidade, conforme o descrito pela ISTA (2002).

Na ausência de bibliografia específica, os ensaios decorreram a temperaturas resultantes da observação das médias da máxima e da mínima dos diferentes locais de colheita (tentando simular as condições reais de germinação no Outono) ou as recomendadas pela ISTA (2002), para *Lavandula angustifolia*.

Para as condições estudadas, foram efectuadas quatro repetições com 100 núculas por local de colheita.

Após a montagem dos ensaios, foram feitas observações e registos diários das sementes germinadas durante 21 dias, de acordo ISTA (2002).

Considerou-se que um diásporo intacto havia germinado quando a radícula eclodia do epicarpo da núcula, à semelhança do que acontece nas sementes quando a radícula eclode dos invólucros seminais (CAIXINHAS, 1988).

As sementes germinadas foram retiradas diariamente, para evitar possíveis contaminações.

Os parâmetros analisados foram: taxa máxima de germinação, também designada por capacidade germinativa (CÔME, 1982), e a velocidade de germinação. Este parâmetro foi expresso pelo tempo de latência e pelo tempo médio de germinação (TMG), sendo o primeiro o tempo necessário para que as primeiras sementes de cada lote germinem e o segundo calculado de acordo com a fórmula proposta por HARRINGTON (1962):

$$\text{TMG} = \frac{N_1T_1 + N_2T_2 + \dots + N_nT_n}{N_1 + N_2 + \dots + N_n}$$

(sendo  $N_1, N_2, \dots, N_n = n^\circ$  de sementes germinadas no tempo  $T_1, T_2, \dots, T_n$ ).

Os resultados obtidos foram tratados por uma análise de variância bi-factorial utilizando o software SPSS (versão 16.0)(CANOCO, 2003), a um nível de significância de 5% pelo teste de Sheffée.

## 15.2. Resultados

Pelo quadro 15.2. podem observar-se taxas de germinação e velocidades da mesma, em função das diferentes modalidades ensaiadas.

**Quadro 15.2.** Capacidade germinativa e velocidade de germinação de *Lavandula luisieri*.

| Local    | Modalidade | Tempo de latência (dias) | TMG (dias) | Taxa de Germinação (%) |
|----------|------------|--------------------------|------------|------------------------|
| I (VVR)  | A          | 5                        | 16         | 94                     |
|          | B          | 5                        | 7          | 92                     |
|          | C          | 3                        | 12         | 85                     |
|          | D          | 4                        | 13         | 91                     |
|          | E          | 6                        | 9          | 96                     |
|          | F          | 5                        | 6          | 89                     |
|          | G          | 6                        | 15         | 80                     |
| II (M)   | A          | 10                       | 21         | 81                     |
|          | B          | 5                        | 7          | 93                     |
|          | C          | 5                        | 15         | 81                     |
|          | D          | 5                        | 16         | 82                     |
|          | E          | 5                        | 9          | 91                     |
|          | F          | 5                        | 6          | 92                     |
|          | G          | 9                        | 22         | 65                     |
| III (CF) | A          | 5                        | 13         | 93                     |
|          | B          | 5                        | 7          | 91                     |
|          | C          | 3                        | 9          | 93                     |
|          | D          | 4                        | 12         | 94                     |
|          | E          | 6                        | 9          | 86                     |
|          | F          | 5                        | 6          | 75                     |
|          | G          | 6                        | 13         | 78                     |
| IV (P)   | A          | 6                        | 19         | 88                     |
|          | B          | 6                        | 8          | 94                     |
|          | C          | 3                        | 12         | 88                     |
|          | D          | 4                        | 14         | 95                     |
|          | E          | 7                        | 9          | 78                     |
|          | F          | 5                        | 6          | 70                     |
|          | G          | 6                        | 17         | 68                     |

No que diz respeito à velocidade de germinação, foram as modalidades que simulam condições outonais (temperatura alternas de 8/18°C e fotoperíodo de dias curtos) que, para todos os locais tiveram melhores resultados, tendo-se atingido valores médios de 6 a 9 dias nas Modalidades **B**, **E** e **F**, comparativamente com os valores de 11 a 21 dias nas restantes modalidades (Quadro 15.2).

Os quadros 15.3.,15.4.,15.5.,15.6., resumizam os resultados da capacidade germinativa, por local, em função do tempo de conservação e das condições de germinação, após análise de variância bi-factorial.

**Quadro 15.3.** Capacidade germinativa (%) de *L.luisieri* de Vila Velha de Ródão (Local I).

| Tempo de conservação (dias) | Condições de germinação |         |           |
|-----------------------------|-------------------------|---------|-----------|
|                             | 8/16°C; 8h              | 25°C;8h | 25°C; 16h |
| 40                          | 92,3 a                  | 93,8 a  |           |
| 75                          |                         | 85,3a   | 90,75a    |
| 110                         | 96a                     |         |           |
| 288                         | 89a                     |         | 79,8a     |

Os valores de cada coluna afectados pela mesma letra não diferem significativamente ao nível de significância de 5 %.

Para as sementes colhidas em Vila Velha de Ródão (Quadro 15.3) não existem diferenças significativas entre o tempo de conservação e as condições ensaiadas.

No quadro 15.4 apenas se verificaram diferenças significativas para o tempo de conservação de 288 dias na temperatura constante de 25°C e fotoperíodo de 16h.

**Quadro 15.4.** Capacidade germinativa (%) de *L.luisieri* da Mata (Local II).

| Tempo de conservação (dias) | Condições de germinação |          |           |
|-----------------------------|-------------------------|----------|-----------|
|                             | 8/16°C; 8h              | 25°C; 8h | 25°C; 16h |
| 40                          | 92,5a                   | 81,3 a   |           |
| 75                          |                         | 81,3a    | 82,3a     |
| 110                         | 91,3a                   |          |           |
| 288                         | 91,8a                   |          | 65b       |

Os valores de cada coluna afectados pela mesma letra não diferem significativamente ao nível de significância de 5 %.

No quadro 15.5 apenas se verificarem diferenças significativas para o tempo de conservação de 288 dias nas condições ensaiadas, observando-se a acção do tempo de conservação na redução significativa da capacidade germinativa.

**Quadro 15.5.** Capacidade germinativa (%) de *L.luisieri* do Casal da Fraga (Local III).

| Tempo de conservação (dias) | Condições de germinação |          |           |
|-----------------------------|-------------------------|----------|-----------|
|                             | 8/16°C; 8h              | 25°C; 8h | 25°C; 16h |
| 40                          | 90,5a                   | 92,75a   |           |
| 75                          |                         | 92,5a    | 94,3a     |
| 110                         | 85,5ab                  |          |           |
| 288                         | 74,5b                   |          | 78b       |

Os valores de cada coluna afectados pela mesma letra não diferem significativamente ao nível de significância de 5 %.

No quadro 15.6 verificaram-se diferenças significativas para o tempo de conservação de 110 dias para a alternância de 8°/18°C e fotoperíodo de 8h e para os 288 dias de conservação nas condições ensaiadas.

**Quadro 15.6.** Capacidade germinativa (%) de *L.luisieri* de Penamacor (Local IV).

| Tempo de conservação (dias) | Condições de germinação |          |           |
|-----------------------------|-------------------------|----------|-----------|
|                             | 8/16°C; 8h              | 25°C; 8h | 25°C; 16h |
| 40                          | 94,3a                   | 88 a     |           |
| 75                          |                         | 87,5a    | 94,5a     |
| 110                         | 78b                     |          |           |
| 288                         | 70,3b                   |          | 67,8b     |

Os valores de cada coluna afectados pela mesma letra não diferem significativamente ao nível de significância de 5 %.

A análise da capacidade germinativa em função do tempo de conservação, apresenta-se resumida nos quadros 15.7.,15.8.,15.9.



Só se verificam diferenças significativas em termos de capacidade germinativa, nas diferentes condições analisadas quando as sementes se encontram em período de armazenamento de 288 dias.

Verificou-se apenas uma ligeira redução das taxas germinativas das sementes colhidas em exemplares da Mata e Penamacor, na temperatura contínua de 25°C e fotoperíodo de 16h (Quadro 15.9), no entanto, a capacidade germinativa foi ainda assim, elevada para as sementes testadas (superior a 65%).

**Quadro 15.7.** Capacidade germinativa (%) com 40 dias de conservação.

| Locais | Condições de germinação |           |
|--------|-------------------------|-----------|
|        | 8/16°C; 8h              | 25°C; 16h |
| I      | 92,3a                   | 93,8a     |
| II     | 92,5a                   | 81,3a     |
| III    | 81,3a                   | 92,8a     |
| IV     | 94,3a                   | 88a       |

Os valores de cada coluna afectados pela mesma letra não diferem significativamente ao nível de significância de 5 %.

**Quadro 15.8.** Capacidade germinativa (%) com 75 dias de conservação.

| Locais | Condições de germinação |           |
|--------|-------------------------|-----------|
|        | 25°C; 8h                | 25°C; 16h |
| VVR    | 85,3a                   | 90,8a     |
| M      | 81,3a                   | 82,3a     |
| CF     | 92,5a                   | 94,3a     |
| P      | 87,5a                   | 94,5a     |

Os valores de cada coluna afectados pela mesma letra não diferem significativamente ao nível de significância de 5 %.

**Quadro 15.9** Capacidade germinativa (%) com 288 dias de conservação.

| Locais | Condições de germinação |           |
|--------|-------------------------|-----------|
|        | 8/16°C; 8h              | 25°C; 16h |
| VVR    | 89a                     | 78,8a     |
| M      | 91,8a                   | 65b       |
| CF     | 74,5b                   | 78ab      |
| P      | 70,3b                   | 67,8ab    |

Os valores de cada coluna afectados pela mesma letra não diferem significativamente ao nível de significância de 5 %.

Dos estudos efectuados, observou-se que, as plantas com as quatro origens diferentes podem ser propagadas por via sexuada pois as núculas do lote colhido em 9 de Junho de 2005 mostraram taxas germinativas entre 65% após 288 dias de conservação e 95% após 75 dias de conservação.

As núculas comportam-se como indiferentes ao aumento do fotoperíodo diurno, uma vez que as taxas germinativas são semelhantes tanto com 8 como com 16 horas de luz.

A capacidade germinativa mantém-se ao longo do tempo de conservação havendo uma ligeira redução após 288 dias de armazenamento.

Ao contrário do que CABELLO *et al.* (1998) referem, não foi necessária a estratificação para que se obtivessem percentagens de germinação para todas as origens dos diásporos superiores a 65%

---

com um máximo de 96%, nos períodos pós – colheita ensaiados.

Em todos os locais e modalidades, as sementes revelaram capacidades germinativas acima dos 81%, no ano de colheita (40 dias de conservação), o que reflecte o seu elevado poder germinativo a partir do momento, que tenham à sua disposição o factores como a temperatura, luz e água.



## Conclusões e Considerações finais

O trabalho realizado permitiu-nos avaliar diversos aspectos relacionados com factores de caracterização de *Asphodelus bento-rainhae* e *Lavandula luisieri*, destacando-se os resultados obtidos no conhecimento sobre o processo germinativo, estudos morfológicos e adaptação *ex situ*. Para a espécie *L. luisieri* a análise da composição química e acção fago-inibidora dos óleos e extractos, assim como, um estudo no âmbito da genética, foram também aspectos investigados pela primeira vez, nas quatro populações da Beira Interior. Os resultados obtidos apresentam tendências divergentes para as duas espécies.

### ***Asphodelus bento-rainhae* P. Silva**

Em *A. bento-rainhae* e relativamente aos diferentes tratamentos ensaiados para a quebra de dormência tegumentar foi a escarificação mecânica por corte que permitiu obter maiores taxas de germinação em sementes com 25 dias de conservação (>84%) e com 2 anos de armazenamento (>58%). A temperatura de 15°C e o fotoperíodo de 8h luz, foi a condição, na qual as elevadas taxas germinativas verificadas confirmam que a época outonal é a mais favorável para que a germinação ocorra no solo. A metodologia seguida para a quebra de dormência imposta pelo tegumento permitiu abrir novas perspectivas na investigação de métodos que impliquem a manipulação da germinação no solo, uma vez que os resultados obtidos anteriormente por ADESGAR (2004) tinham sido inconclusivos. Para o método de escarificação mecânica com utilização de lixa, preconiza-se um tempo superior a 45 dias, para o término do levantamento dos resultados dos ensaios.

No habitat natural a planta tem preferência para o desenvolvimento vegetativo, podendo os elevados teores de potássio no solo das parcelas de ocorrência de *A. bento-rainhae*, ser condicionante da germinação, como é referido por BENECH ARNOLD *et al.* (2004) para outras espécies.

Estes estudos deverão ser alvo de investigação futura, efectuando-se ensaios de ecologia da germinação *in situ*, para a espécie.

O crescimento anual do rizoma, permitiu constatar que as plantas analisadas quanto às características morfológicas e, quando comparadas com as mencionadas por DIAZ-LIFANTE & VALDÉS (1996), se apresentaram semelhantes. No entanto, para o castinçal observaram-se diferenças no desenvolvimento das plantas, em função do habitat, tendo-se verificado decréscimos para as seguintes características: comprimento das dilatações radiculares fusiformes; diâmetro do sistema radicular; comprimento e largura das folhas; comprimento e diâmetro do escapo floral; comprimento e número de ramificações da inflorescência; número de flores total/planta; número de frutos total/planta. Estes aspectos indiciam uma relação directa negativa entre a cobertura arbórea e as características morfológicas da espécie. A exposição solar condiciona positivamente a polinização, o amadurecimento do pólen, o vingamento dos frutos e a disponibilidade de recursos.

A infestação verificada nas sementes, predominantemente nos exemplares da parcela C-cerejal, onde a praga entomófaga *Eurytoma asphodelli* necessita da espécie para completar o seu estado larvar, leva-nos a propor outra linha de investigação para o estudo dessa praga, como auxiliar na cultura da cerejeira, uma vez que muitos calcídeos são ectoparasitas de larvas de insectos.

Verificámos que, quando ocorriam elevados níveis de precipitação e temperaturas superiores às habituais, para o ano, uma antecipação dos estados fenológicos era evidente.

Tendo em vista uma futura adaptação da espécie *ex situ*, transplantaram-se para vasos de barro, em Março de 2006, 10 plantas de cada local (Carvalhal, Castinçal e Cerejal) em que o substrato era constituído por solo de origem. Desta adaptação verificou-se que as plantas, no primeiro ano, não exibiram o estado fenológico da floração. Nos anos seguintes e após as plantas terem superado a crise de transplantação verificou-se já haver a formação de folhas, flores, frutos e sementes. Este ensaio preliminar poderá abrir caminhos para a plantação de indivíduos na Serra da Gardunha, uma vez que a transplantação, desde que seja efectuada com os devidos cuidados não oferece problemas, podendo por esta via aumentos de núcleos populacionais ou introduzir a espécie, em locais favoráveis mas, em que actualmente ela deixou de existir.

As plantas de *A. bento-rainhae*, obtidas por via seminal, encontram-se, também, envasadas e serão alvo de reintrodução no local Sítio Serra da Gardunha, procedendo-se à instalação e conservação *in situ*, de acordo com as directivas do CBD (2002).

**Tendo em conta os estudos efectuados e pelos resultados obtidos, sugerem-se diversas acções de gestão no Sítio Serra da Gardunha:**

- Aumento de áreas com melhor exposição solar ou utilização das orlas dos habitats privilegiados de *A. bento-rainhae* para estratégias nos futuros repovoamentos.
- Necessidade de gestão dos habitats onde a espécie ocorre. Nas áreas florestais, por exemplo, deverá ser reduzida a cobertura arbórea de modo a aumentar a exposição à luz e assim promover a floração. Evitar e condicionar a reflorestação intensiva.
- Restrição de edificações fora dos perímetros urbanos, assim como, estradas ou alargamento das existentes, em áreas de ocorrência da espécie.

- Limpeza selectiva de matos, no Inverno, em zonas de risco de incêndio elevado.
- Protecção dos habitats potenciais, nomeadamente carvalhais nas áreas de ocorrência potencial da espécie, assim como, contribuição para o adensamento dos povoamentos de castanheiro de talhadia, efectuando a manutenção desta tipologia produtiva conforme já foi apresentado por SILVA *et al.* (2002). Estes autores através da utilização da tecnologia SIG, por modelação da Serra da Gardunha revelaram, não existir, actualmente tendência espacial e estrutural do bosque (Carvalho/Castinçal), o que diminui a capacidade do mesmo funcionar como garante estável de habitat da espécie a preservar. Preconiza-se o aumento da área de bosque em áreas de média a baixa altitudes (550-800) e o incremento de áreas de corredor e tampão entre e ao redor das unidades actuais de bosque natural e semi-natural.
- A gestão e manutenção dos actuais cerejais, assim como, com a conservação do *A. bento-rainhae*, passa por alterar algumas técnicas culturais e filosofias existentes, uma vez que, segundo RODRIGUES *et al.* (2009) o uso de herbicidas e mobilizações do solo são as principais ameaças à espécie, nos pomares. Como nos indica RODRIGUES (2006) a utilização de cortes nos taludes dos pomares de cerejeira, para a eliminação do revestimento com vegetação espontânea parece exercer um contributo muito positivo para o *trade-off* entre a produção de cereja e o *A. bento-rainhae*. Pelas medidas agro-ambientais, a utilização da Protecção Integrada nos pomares de cerejeira, é actualmente, alvo de apoio aos produtores que praticam o enrelvamento da entrelinha (IDRHA,2004).
- As políticas deverão ser progressivamente equilibradas na perspectiva de integração da conservação com as necessidades económicas da região. A gestão de uma área a conservar pode não ser viável sem a intervenção das populações locais, mas, terão que se criar condições para que esta gestão não crie políticas de subsídio mas sim de remuneração. A integração dos agentes locais como gestores de habitats, incutindo nos proprietários a mesma atitude e orientação será com certeza um das primeiras medidas a adoptar. Assim, deverão ser promovidas actividades com sustentabilidade económica que favoreçam a conservação dos valores naturais do Sítio e a sensibilização pública, para a salvaguarda da abrótea, nomeadamente incentivando os fruticultores a adoptarem métodos ecológicos na gestão dos cerejais.

## ***Lavandula luisieri* (Rozeira) Rivas-Martinez**

Para *L. luisieri* a análise integrada dos parâmetros relativos à caracterização morfológica *in situ* e *ex situ*, genéticos e ecológicos de cada uma das quatro populações estudadas, levaram-nos a distinguir uma delas como a mais antiga e portanto a mais adequada à adaptação face às alterações climáticas.

Pela avaliação da composição química dos óleos essenciais de folhas e inflorescências de exemplares *in situ* e *ex situ* e ao longo de alguns estados fenológicos verificou-se que o componente principal das populações desta região era o acetato trans-a-necrodilo.

O material vegetal utilizado apresentou menor variabilidade na sua composição química quando comparada com os resultados obtidos anteriormente em populações da zona central e sul de Espanha e no sul de Portugal. As populações de Espanha apresentaram elevados teores de 1,8 cineol, fenchona, cânfora e 2,3,4,4-tetrametil-5-metileno-2-ciclopenteno 1-ona (SANZ *et al.* 2004; GONZALEZ-COLOMA *et al.*, 2006) e, nas do sul de Portugal, o composto maioritário foi sempre o 1,8 cineol. O acetato trans-a-necrodilo apareceu como composto minoritário (MATOS *et al.*, 2009). Pelos resultados que obtivemos pode concluir-se que as populações da Beira Interior se comportam como populações quimicamente distintas das referidas anteriormente.

A bioactividade foi testada em pragas agrícolas, tendo sido demonstrada uma elevada aptidão fago-inibidora nos exemplares da população de Penamacor. Do ponto de vista ecológico *L. luisieri* fica reconhecida neste trabalho como sendo uma espécie com aptidão especial para ser utilizada como biopesticida.

Os estudos que efectuámos sobre as características morfológicas, não estão de acordo com os referidos por MORALES (2009). Este autor considera que *L. luisieri* é uma subespécie de *L. stoechas* indicando-nos, por isso, que esta poderia ter sido originada por hibridação entre a *L. stoechas* típica com a *L. pedunculata* no sudoeste da Península Ibérica, dando então lugar a formas intermédias difíceis de atribuir a uma ou outra espécie. Também, pelos estudos químicos, efectuados neste trabalho os exemplares analisados, possuem como composto maioritário o acetato trans-a-necrodilo, composto que não se encontra identificado em óleo de *L. stoechas*, pelo que, a espécie existente na Beira Interior nos parece distinta de *L. stoechas*.

Os estudos genéticos realizados deixam antever algumas considerações importantes : a elevada variabilidade genética apresentada pelos indivíduos de *L. luisieri* de Vila Velha de Ródão sugere uma elevada relação com a não existência de factores de perturbação humana neste local há mais de 50 anos, como é o caso de mobilizações ou deixa antever hipótese da acção da fragmentação do habitat ou antiguidade da população. Como é referido por BEJA - PEREIRA *et al.* (2010), a adaptação de uma espécie/população a condições adversas, mais ou menos extremas, é favorecida pela existência de elevada diversidade genética nos indivíduos que a constituem. Assim, a preservação de populações em locais com baixa perturbação humana, através do estabelecimento de reservas genéticas, pensa-se ser, a mais efectiva medida para a conservação da biodiversidade e da variabilidade genética de espécies endémicas, pelo que esta população poderá vir a integrar o Parque do Tejo Internacional, uma vez que o local se encontra muito próximo do limite oeste do mesmo.

As plantas de *L. luisieri* produzidas durante os anos em que decorreu este trabalho encontram-se conservadas *ex situ* em campo de caracterização e em campo de produção na ESACB. Os diásporos estão conservados, por local de origem e ano no Banco Português de Germoplasma Vegetal (BPGV) e exemplares de cada local foram herborizados, encontrando-se no herbário de Plantas Aromáticas e Medicinais da Beira Interior, em implementação na ESACB.

Algumas plantas foram também utilizadas para o estabelecimento de protocolos em estudos de propagação *in vitro*, no laboratório de Biologia da ESACB (MARCHUETA, 2008) e no laboratório de Biotecnologia do CARAH, na Bélgica, tendo-se obtido resultados muito positivos com *L. luisieri*. Estes protocolos deverão ser melhorados e avaliados de forma a estabelecer alternativas de propagação e conservação desta espécie.

Encontram-se em execução ensaios de adaptação e produção em dois locais distintos da Península Ibérica: Campo A- Beira Interior- Quinta da Sr<sup>a</sup> de Mércules, Castelo Branco e Campo B- Aragão- Comarca do Campo de Cariñena, Saragoça. O objectivo destes campos é estudar a aculturação de duas populações previamente seleccionadas (população portuguesa - Penamacor e população espanhola - Toledo), por terem apresentado resultados promissores em teste de bioactividade. O sistema de produção é em Agricultura Biológica. Nestes ensaio pretende-se comparar e estudar:

- A influência do local de produção no comportamento das duas populações;
- A produção de biomassa;
- O momento óptimo de colheita, em função do teor em óleo essencial e composição química;
- A análise simultânea da acção fago-inibidora /época de colheita.

Pretende-se com estes estudos, contribuir para o conhecimento no âmbito do estabelecimento em cultura, desta espécie, na Península Ibérica.

A transposição de todos os estudos efectuados, para uma produção industrial, só será possível com o envolvimento dos “novos agricultores”, sensibilizados para a instalação de culturas alternativas, para utilização industrial, e das empresas que vendo um potencial estratégico de interesse compensatório, ou pela via ambientalista ou unicamente comercial, poderão criar condições de apoio e incentivos à produção. Atingido este patamar, estudos da introdução de outros factores de produção (fertilização e rega), deverão ser considerados, assim como, a mecanização da cultura, principalmente no que respeita à poda, colheita e secagem do material a utilizar. O estudo económico associado à produção será outra linha para trabalhos futuros.

A utilização dos extractos, óleos essenciais ou compostos isolados puros, deverá ainda, ser testada quanto à sua acção no ecossistema, como sejam, quanto à persistência no mesmo, acção nociva nos agentes de polinização e auxiliares, ou acções secundárias nos insectos ou plantas.

Esta espécie, sendo característica da vegetação xerofítica nacional, poderá ser, também aproveitada para a sua introdução em Jardinagem ou como Planta Ornamental envasada, carecendo estas utilizações alternativas de estudos culturais e de manutenção da espécie.

Para a sua utilização como arbusto em espaços ajardinados, há necessidade de se experimentarem tecnologias de produção como: rega; poda para controlo de porte e épocas ideais de plantação e controlo fitossanitário. Esta espécie apresenta elevada sensibilidade a problemas de encharcamento, pelo que deverá ser um factor a ter em consideração, neste estudos.

No caso da sua valorização como planta envasada, deverão ser, alvo de investigação aspectos como: estudos de propagação vegetativa; selecção da população com melhor capacidade de adaptação cultural e melhor performance ornamental; estudos sobre o substrato ideal e as técnicas culturais a estabelecer para esta forma condicionada de desenvolvimento vegetativo; estudos de técnicas de manutenção de porte e floração (podas e tratamentos com reguladores de crescimento).

Para finalizar, esperamos que, para além da comunidade técnica e científica, o poder local e as empresas, possam vir a desempenhar um papel importante e, até, fundamental, para a conservação e valorização das espécies da Beira Interior que considerámos relevantes estudar.





## Referências Bibliográficas

- ADESGAR—Associação de Defesa e Desenvolvimento da Serra da Gardunha (1999). *1º Relatório de progresso do projecto Life-Natureza - Asphodelus bento-rainhae - medidas de conservação e gestão*. ADESGAR, Fundão.
- ADESGAR (2004). *Asphodelus bento-rainhae – medidas de conservação e gestão*. Projecto LIFE nºB4-3200/98/518. Relatório final. ADESGAR, Fundão
- ADESGAR (2006). *Livro Vermelho da Serra da Gardunha*. Parte 1 e 2. ADESGAR, Fundão.
- AGARWAL, M., WALIA, S., DRINGRA, S. & KHAMBAY, B.P.S (2001). Insect growth inhibition, antifeedant and antifungal activity of compounds isolated/derived from *Zingiber officinale* Roscoe (ginger) rhizomes. *Pest Management Science* 3 (57): 289-300.
- AGREN, J. (1988). Between-year variation in flowering and fruit set in frost-prone and frost-sheltered populations of dioecious *Rubus chamaemorus*. *Oecologia* 76: 175-183.
- ALCARAZ, F.(1996). Fitosociología integrada, paisaje y biogeografía, in: LOID, J (ed.) *Advances in Phytosociology*, Euskal Herriko Unibertsitatea, pp.191.
- AMARO, P. (2003). *A Protecção Integrada*. ISA/Press, Lisboa.
- AMARO, C., DELGADO, F., CALDEIRA, R., ALBERTO, D., CASTANHEIRA, I., OLIVEIRA, R. & JACINTO, P. (2008). Relatório final ESACB. In: *Rede Nacional para a Conservação e Utilização de Plantas Aromáticas e Medicinais*, Projecto AGRO n.º 800. Direcção-Geral de Agricultura e Desenvolvimento Rural. Série Relatórios n.º 133, Lisboa.
- ANDERSSON, S. (1990). No evidence for selective seed maturation in *Anchusa officinalis* (Boraginaceae) *Oikos* 57: 88-93.
- APA – Agência Portuguesa do Ambiente (2007). *Relatório do Estado do Ambiente*. Agência Portuguesa do Ambiente, Lisboa

- ARAÚJO, R.F., ARAÚJO, E.F. & SILVA, R.F. (2000). O teste de tetrazólium em camada de aleurona na avaliação da qualidade de sementes de milho danificadas durante a colheita e durante o armazenamento. *Revista Brasileira de Sementes* 22 (1): 104-109.
- ARRIGONI-BLANK, M.F., OLIVEIRA, R.L.B., MENDES, S.S., SILVA, P.A., ANTONIOLLI, A.R., VILAR, J.C., CAVALCANTI, S.C.H. & BLANK, A.F. (2002) Seed germination, phenology, and antidematogenic activity of *Peperomia pellucida* (L.). H.P.K. *BMC Pharmacology* 2 (12). [http:// www.biomedcentral.com/1471-2210](http://www.biomedcentral.com/1471-2210)
- ARRIGONI-BLANK, M.F., CAMPOS, D.A., BLANK, A.F., ANTONIOLLI, A.R., CAETANO, L.C. AZEVEDO, V.G. & SILVA-MANN, R. (12/03/10). Influência do estágio de desenvolvimento no teor e na actividade analgésica do óleo essencial de sambacaita (*Hyptis pectinata* L. Poit). <http://www.abhorticultura.com.br/biblioteca/arquivos.htm>
- AUGIER, J. & MERAC, M.L.R. (1982). *Cours de Botanique, I Les Monocotylédones*. Editions Lechevalier S.A.R.L., Paris.
- BACHMANN, K. (1983). Evolutionary genetics and genetic control of morphogenesis in flowering plants. *Evolutionary Biology* 16 :157-208.
- BAKER, H.G. (1972). Seed weight in relation to environmental conditions in California. *Ecology* 53: 997-1010.
- BALDOVINI, N., LAVOINE-HANNEGUELLE, S., FERRANDO, G., DUSART, G. & LIZZANI-CUVELIER, L. (2005). Necrodane monoterpenoids from *Lavandula luisieri*. *Phytochemistry* 66: 1651-1655.
- BASKIN, C.C. & BASKIN, J.M. (1988). Germination ecophysiology of herbaceous plant species in a local flora. *Journal Ecology* 69: 1017-1059
- BASKIN, C.C. & BASKIN, J.M. (1998). Seeds. Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination. Academic Press, San Diego, CA, USA.
- BATARDA FERNANDES, R. (1989). A botânica na poesia popular portuguesa. *Anuário Sociedade Broteriana* 55:19-20.
- BAWA, K.S. & WEEB, C. J.(1984). Flower, fruit, and seed abortion in tropical forest trees: implications for the evolution of paternal and maternal reproductive patterns. *American Journal of Botany* 71: 736-751.
- BEIRÃO, A.R.B. & BERNARDO-GIL, M.G. (2005) Antioxidants from *Lavandula luisieri*. *Proceedings of 2<sup>nd</sup> Mercosur Congress on Chemical Engineering*. Rio de Janeiro.
- BEKELE, J. & HASANALI, A. (2001). Blend effects in the the toxicity of the essential oil constituents of *Ocimum kilimanscharicum* and *Ocimum kenyense* (Labiatae) on two post-harvest insect pest. *Phytochemistry* 57:385-391.
- BENECH-ARNOLD, R.L. & SANCHEZ, R.A. (ed.) (2004). *Handbook of Seed Physiology : Applications to Agriculture*. Food Product Press and The Haworth Reference Press, New York.
- BETTENCOURT, E. & DIAS, S. (2008) Descritores para caracterização morfológica de *Lavandula luisieri* (Rozeira) Rivas-Martínez. In: *Rede Nacional para a Conservação e Utilização de Plantas Aromáticas e Mediciniais*, Projecto AGRO n.º 800. Direcção-Geral de Agricultura e Desenvolvimento Rural. Série Relatórios n.º 133, Lisboa.

- BLEIHOLDER, H. (1996). *Compendio para la Identificación de los Estádios Fenológicos de Espécies Mono y Dicotiledóneas Cultivadas. Escala BBCH extendida*. BASF, Limburgerhof.
- BRAUN-BLANQUET, J. (1979). *Fitosociologia. Bases para el estudio de las comunidades vegetales*. Ed. Blume, Madrid.
- BRAUN-BLANQUET, J. (1964). *Pflanzensoziologie*. 3<sup>rd</sup> ed. Grundzüge der Vegetationskunde, Springer-Verlag, Vienna, New York.
- BRITTON, R.S. (1973). Onion weed...good management can help! *Journal Department Agricultural South Australia* **76**:100-104.
- BURGUEÑO-TAPIA, E., GONZÁLEZ-COLOMA, A., CASTILLO, L. & JOSEPH-NATHAN, P. (2008). Antifeedant and phytotoxic activity of hidroxyperzone and related molecules. *Zeitschrift Naturforschung* **63c** : 221-225.
- BYRNE, M. & MAZER, S.J. (1990). The effect of position on fruit characteristics, and relationships among components of yield in *Phytolacca rivinoides* (Phytolaccaceae). *Briotropica* **22**: 353-365.
- CABELLO, M.L., RUIZ, T. & DEVESA, J.A. (1998). Ensayos de germinación en endemismos ibéricos. *Acta Botânica Malacitana* **23** (Vol XXIII) : 59-69.
- CAIXINHAS, M.L. (1988). *Aspectos Ecológicos da Germinação das Sementes Infestantes*. Tese de Doutoramento em Biologia. Universidade de Lisboa, Lisboa
- CANCELA D'ABREU, A., PINTO-CORREIA, T. & OLIVEIRA, R. (2004). *Contributos para a Identificação e Caracterização da Paisagem em Portugal Continental*, Vol-III. Direcção-Geral do Ordenamento do Território e Desenvolvimento Urbano, Lisboa, pp. 97-218.
- CARDOSO, J.C., BESSA, M.T. & MARADO, M.B. (1973). Carta de Solos de Portugal (1: 1 000 000). *Agronomia Lusitana* **33**:481-602.
- CASPER, B.B. (1988). Evidence for selective embryo abortion in *Cryptantha flava*. *American Nature* **132**: 318-326.
- CASTROVIEJO, S., AEDO, C., CIRUJANO, S., LAINZ, M., MONTSERRAT, P., MORALES, R. MUÑOZ GARMENDIA, F., NAVARRO, C., PAIVA, J. & SORIANO, C. (eds) (1993). *Flora Ibérica*. Plantas Vasculares de la Península Ibérica e Islas Baleares. Vol. III (Plumbaginaceae(partim) – Capparaceae). Real Jard. Bot., Madrid, C.S.I.C.
- CASTROVIEJO, S. (Coord) (1997). *Flora Ibérica*. Plantas Vasculares de la Península Ibérica e Islas Baleares. Vol VI (Ebenaceae-Sxifragaceae). Muñoz Garmendia F and Navarro C. Eds, Real Jard. Bot., Madrid: C.S.I.C.
- CAVANAGH, H.M.A. & WILKINSON, J.M. (2002). Biological activities of lavender essential oil. *Phytotherapy Research* **16**: 301-308.
- CHARLESWORTH, D. (1989 a). Why plants produce so many more ovules than seeds? *Nature* **338**: 21-22
- CHARLESWORTH, D. (1989 b). Evolution of low female fertility in plants: pólen limitation, resource allocation and genetic load. *Trends Ecological Evolution* **4**: 289-292.

- CHIAM, W.Y., HUANG, Y. CHEN, S.X. & Ho, S.H. (1999). Toxic and antifeedant effects of allyldisulfide on *Tribolium castaneum* (Coleóptera: Tenebrionidae) and *Sitophilus zeamais* (Coleóptera: Curculionidae). *Journal Economic Entomology* **92**: 239-245.
- COM – Comissão das Comunidades Europeias (2001). *Plano de Acção em Material de Biodiversidade para o Sector da Agricultura*. Comunicação da Comissão do Conselho e ao Parlamento Europeu, Vol. II, Bruxelas
- COM (2005). *Indicadores da Integração das Preocupações de Carácter Ambiental na Política Agrícola Comum*. Comissão das Comunidades Europeias, Bruxelas.
- CÔME, D. (1970). *Les Obstacles a la Germination*. *Monographies de Physiologie Végétales*. Collection Dirigée Par le Professeur P. E. Pilet. Masson e Cie. Paris.
- CÔME, D. (1982). Germination. In: *Croissance et Développement*. Physiologie Végétale II. (ciclostilado). Paris, pp.129-225.
- COPPING, L.G. & MENN, J.J. (2000). Biopesticides : a review of their action, applications and efficacy. *Pest Management Science* **56**: 651-676.
- CORRADINI P., EDILIN C., BRUNEAU A. & BOUCHARD A. (2002). Architectural and genotypic variation in the clonal shrub *Taxus canadiensis* as determined from random amplified polymorphic DNA and amplified fragment length polymorphism. *Canadian Journal of Botany* **80** : 205-219.
- COSTA, J.C., AGUIAR, C., CAPELO, J.H., LOUSÁ, M. & NETO, C. (1998). Biogeografia de Portugal Continental. *Quercetea* **0**: 5-56.
- COTRIM, H.M., SILVA, J.P., FAY, M.F. & CHASE, M.W. (2002). Analysis of genetic diversity in *Asphodelus bento-rainhae* P.Silva towards a conservation strategy. Poster. In: *II Congresso Internacional sobre a situação da Rede Natura 2000 nos Países Mediterrâneos*, Lisboa.
- COTTRELL, H.J. (1947). Tetrazolium salt as a seed germination indicator. *Nature* **159**: 748.
- COX P.A. (1990). Ethnopharmacology and the search for new drugs. In: Ciba Foundation (ed.) *Bioactive compounds from plants*, Wiley, Chichester (Ciba Foundation Symposium 154), pp 40-55
- CUNHA A.P. (2005). Farmacognosia e Fitoquímica. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa.
- DAVIS, M.S. & SHAW, R.G. (2001). Range shifts and adaptive responses to quaternary climate change. *Science* **292**: 673-679.
- DELGADO, F. (2008). Beira Interior: os Caminhos do desenvolvimento rural. In: FIGUEIREDO *et al.* *Os territórios de baixa densidade*, ed. Câmara Municipal de Proença-a-Nova / Centro de Ciência Viva.
- DELGADO, F, GONÇALVES O, AMARO-SILVA, C, SILVA L, CALDEIRA, R, CASTANHEIRA, I, OLIVEIRA, R, ALBERTO, D, JACINTO, P, SOUSA, E, & CAIXINHAS, L. (2006). Seed Germination and Essential Oil of *Lavandula luisieri* from central eastern Portugal. *Acta Horticulturae (ISHS)* **723**: 283-288. [http://www.actahort.org/books/723/723\\_38.htm](http://www.actahort.org/books/723/723_38.htm)
- DELGADO, F., GONÇALVES, O., MARTINS, S., CASTANHEIRA, I., AMARO-SILVA C., CALDEIRA, R., OLIVEIRA, R., ALBERTO D., JACINTO, P., SOUSA, E., CAIXINHAS, L. (2007a). Ecofisiologia da germinação de *Lavandula luisieri* (Rozeira) Rivas-Martínez. Comunicação apresentada no II Colóquio Nacional de Plantas Aromáticas e Medicinais. Vila das Caldas do Gerês. (Publicação em CD-ROM, email: aph@aphhorticultura.pt)

- DELGADO, F., OLIVEIRA R., GONZÁLEZ-COLOMA A., MOHAMED N., SORIA, A.C., SANZ J, BURILLO J., RODILLA J., SILVA L. & REINA M. (2007b). Adaptação ao cultivo e valorização de *Lavandula luisieri*. Poster. In: II Colóquio Nacional de Plantas Aromáticas e Medicinais. Vila das Caldas do Gerês. (Publicação em CD-ROM, email: aph@aphhorticultura.pt)
- DELGADO, F., RIBEIRO S., ALVES A., BETTENCOURT E. & DIAS S. (2010). Morphological, ecological, and genetic variability of *Lavandula luisieri* (Rozeira) Rivas-Martínez in central eastern Portugal. *Plant Genetic Resources* **8**: 82-90 DOI: 10.1017/S1479262109990219
- DELPH, L.F. (1986). Factors regulating fruit and seed production in the desert annual *Lesquerella gordonii*. *Oecologia* **69**:471-476.
- DÍAZ LIFANTE, Z. (1993). Observaciones sobre el comportamiento en la germinación de las semillas de *Asphodelus* L. (*Asphodelaceae*). *Lagascalia* **17**(2): 329-352.
- DÍAZ LIFANTE, Z. (1994). Desarrollo y morfología de las plántulas en el género *Asphodelus* L. (*Asphodelaceae*). *Webia* **49**(1): 75-92
- DÍAZ LIFANTE, Z. & VALDÉS, B. (1993). Desarrollo y morfología de las plantas en el género *Asphodelus* L. (*Asphodelaceae*). *Webia* **49**(1): 75-89.
- DÍAZ LIFANTE, Z. & VALDÉS, B. (1996). *Boissiera. Mémoires de botanique systématique*. Vol 52 .Genève.
- DOMINGOS, T., SEQUEIRA, E. MAGALHÃES, M., VALADA, T. VICENTE, L., MARTINS, H. & FERREIRA, M. (2009). Promotores de alteração nos ecossistemas. In: PEREIRA, H.M., DOMINGOS, T., VICENTE, L. & PROENÇA, V. (eds) *Ecossistemas e Bem-Estar Humano. Avaliação para Portugal do Millennium Ecosystem Assessment*. Escolar Editora, Lisboa, pp.57-89.
- DRAPC- Direcção Regional de Agricultura e Pescas Centro (2008). Dados climáticos das estações meteorológicas regionais da Beira Interior, (cedência institucional).
- DRAPER, D., MARQUES, I., GRAELL, A.R., COSTA, F. & MARTINS- LOUÇÃO, M.A. (2004). Conservação de recursos genético. O Banco de sementes “ António Luís Belo Correia”. In: *Curso Avançado sobre “ Métodos de conservação a longo prazo de recursos fitogenéticos: conservação pelo frio”*. 3-7 de Maio. IICT/ ISA, Tapada da Ajuda, Lisboa.
- DUDAI, N., LEWINSOHN, E. LARKOV, O. KATZIR, I., RAVID, U. & PUTIEVSKY, E. (1999). Dynamics of yield components and essential oil production in a commercial hybrid sage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **47**: 4341-4345.
- DUDAI, N., LARKOV, O., RAVID, U., PUTIEVSKY, E. & LEWINSOHN, E. (2001). Developmental control of monoterpenes content and composition in *Micromeria fruticosa* (L.) Druce. *Annals of Botany* **88**: 349-354.
- EISNER, T. & MEINWALD, J. (1982). Defensive spray mechanism of a silphid beetle (*Necrodes surinamensis*). *Psyche* **87**: 357-367.
- EISNER, T., DEYRUP, M., JACOBS, R. & MEINWALD, J. (1986). Necrodols: antiinsectan terpenes from defensive secretion of camion beetle (*Necrodes surinamensis*). *J. Chem. Ecol.* **12**: 1407-1415.
- ESCOUBAS, P., LAJIDE, L. & MIZUTANI, J. (1993). An improved leaf-disk antifeedant bioassay and its application for the screening of Hokkaido plants. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **66**: 99-108.

- ESTEVES, M.L. (2005). Contribuição para o estudo da ecologia e da conservação de *Asphodelus bento-rainhae* P.Silva. Dissertação de Mestrado, Universidade dos Açores, Castelo Branco, Portugal.
- EU - European Union (2009). EU action on pesticides. Our food has become greener. *Factsheet, DG Health & Consumers*, Mar. 2009, 2 pp.
- FAO - Food and Agricultural Organization of the United Nations (1996). Declaração de Roma sobre a Segurança Alimentar Mundial e Plano de Acção da Cimeira Mundial da Alimentação, <http://www.fao.org/DOCREP/003/W3613P/W3613POO.htm>, (consultado a 03-06-2010)
- FARMACOPEIA PORTUGUESA (2002). *Farmacopeia Portuguesa VII*, Vol.2. Infarmed, Lisboa, pp.175-176.
- FENNER, M. & THOMPSON, K. (2005). *The Ecology of Seed*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, pp. 250
- FIGUEIREDO, A.C., BARROSO, J.G. & PEDRO, L.G. (2006). Plantas aromáticas e medicinais. Factores que afectam a produção. In: FIGUEIREDO, A.C., BARROSO, J.G. & PEDRO, L.G. (eds), *Potencialidades e Aplicações das Plantas Aromáticas e Medicinais, Curso Teórico- Prático*, pp.1-18 (2ª Ed.), Edição da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa- Centro de Biotecnologia Aplicada, Lisboa, Portugal.
- FOTIOU, M. P., TRIANDAPHYLLOU, N. & CHRONOPOULOS, J. (2000). Studies on propagation of species of the xerophytic vegetation of Greece with potential Floricultural use. Proc. IV Int. Symp. New. Flor. Crops. *Acta Horticulturae* **541**: 269-272
- FRAGA, B. M., DIAZ, C. E., GUADANO, A., & GONZALEZ-COLOMA, A. (2005). Diterpenes from *Salvia broussonetii* roots and their insecticidal activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53**: 5200-5206.
- FRANCO, J.A. (1984). *Nova Flora de Portugal (Continente e Açores)*, Vol II. (CLETHRACEAE-COMPOSITAE). Sociedade Astória, Lda, Lisboa, pp.172-185
- FRANCO, J.A. & ROCHA AFONSO, M.L. (1994). *Nova Flora de Portugal (Continente e Açores)*, Vol. III – Fascículo I (ALISMATACEAE – IRIDACEAE). Escolar Editora, Lisboa, pp.39-42.
- FRANCO, J.A. & ROCHA AFONSO, M.L. (2003) *Nova Flora de Portugal (Continente e Açores)*, Vol. III (II) (GRAMINEAE). Escolar Editora, Lisboa.
- GARCIA-VALLEJO, M.I. (1992). *Aceites Esenciales de las Lavandulas Ibéricas Ensayo de la Quimiotaxonomia*. Tese de Doutoramento, Universidade de Madrid, Madrid, Espanha.
- GARCIA-VALLEJO, M.C., GARCIA-VALLEJO, M. I. & VELASCO- NEGUERUELA, A. (1990). Essential oils of genus *Lavandula* L. in Spain. Proceedings of the 11th International Congresso of essential oils, fragrances and flavours. *Chemistry analyses and structure* **4**:15-26. New Deli. Índia
- GARCIA-VALLEJO, M.I., GARCIA-VALLEJO, M.C., SANZ, J., BERNAS, M. & VELASCO- NEGUERUELA, A. (1994). Necrodane (1,2,2,3,4-pentamethylcyclopentana) derivatives in *Lavandula luisieri*, new compounds to the plant kingdom. *Phytochemistry* **36**: 43-45.
- GÉHU, J.M. & RIVAS-MARTÍNEZ, S. (1981). *Notions fondamentales de phytosociologie in Syntaxonomie*, J. Cramer, Vaduz.

- GERSHENZON, J. MCCONKEY, M.E. & CROTEAU, R. B. (2000). Developmental regulation of monoterpene biosynthesis in glandular trichomes of peppermint. *Plant Physiology* **122**: 203-213.
- GÓMEZ-CAMPO, C., & MALATO-BELIZ, J. (1985). *The Iberian Peninsula in Plant Conservation in the Mediterranean Area*, Junk Publishers, Dordrecht, 269 pp.
- GOMES, C.J.P., SILVEIRA, S.C. & GONÇALVES, P.C. (1996). A distribuição geográfica e a ecologia do *Asphodelus bento-rainhae* P. Silva. *Actas do I Colóquio Internacional de Ecologia da Vegetação*. Departamento de Ecologia da Universidade de Évora.
- GONÇALVES, M. (2000). A protecção integrada na cerejeira. *Actas de Comunicações*. Jornadas da Cereja da Cova da Beira. Cooperativa dos Fruticultores da Cova da Beira, CERCOBE, DRABI, Fundão, pp. 36-50.
- GONZÁLEZ- COLOMA, A., REINA, M., CABRERA,R., CASTAÑERA, P. & GUTIERREZ, C. (1995). Antifeedant and toxic effects of sesquiterpenes from *Senecio palmensis* to Colorado potato beetle. *Journal of Chemical Ecology* **21**: 1255-1270.
- GONZÁLEZ- COLOMA, A., TERRERO, D., PERALES, A., ESCOUBAS, P. & FRAGA, B.M. (1996). Insect antifeedant ryanodane diterpenes from *Persea indica*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **44**: 296-300.
- GONZÁLEZ-COLOMA, A., GUADAÑO, A., TONN, C.E. & SOSA, M.E. (2005). Antifeedant/insecticidal terpenes from *Asteraceae* and *Labiatae* species native to Argentinean semi-arid lands. *Zeitschrift für Naturforschung* **60**: 855-886.
- GONZÁLEZ-COLOMA, A., MARTÍN-BENITO, D., MOHAMED, N., GARCIA-VALLEJO, M.C. & SORIA, A. C. (2006). Antifeedant effects and chemical composition of essential oils from different populations of *Lavandula luisieri* L. *Biochemical Systematics and Ecology* **34**: 609-616.
- GÖREN, A.C., TOPÇU, G., BILSEL, G., BILSEL,M., AYDOGMUS,Z. & PEZZUTO, J.M. (2002). The chemical constituents and biological activity of essential oils of *Lavandula stoechas* ssp. *stoechas*. *Zeitschrift für Naturforschung* **57c**: 797-800.
- GRAAFF, J.L. & VAN STADEN, J. (1983). The effect of different chemical and physical treatments on seed coat structure and seed germination of *Sesbania* species. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie* **112**: 221-230.
- GUINEA, E. (1981) *Lavandula* L. in TUTIN T.G., HEYWOOD V.H., BURGESS N.A., MOORE D.M., VALENTINE D.H., WALTERS S.M., & WEBB D.A. *Flora Europaea*, Vol 3. Cambridge University Press, Cambridge, pp 187-188.
- GUTIERREZ, C., FERERES, A., REINA, M., CABRERA,R., GONZÁLEZ- COLOMA, A. (1997). A behavioral and sublethal effects of structurally related lower terpenes on *Myzus persicae*. *Journal of Chemical Ecology* **23**: 1641-1650.
- HANLEY, M.E. & FENNER, M. (1998). Pré-germination temperature and survivorship and onward growth of Mediterranean fire-following plant species. *Acta Oecologica-International Journal of Ecology* **19**: 181-187.
- HARBONE, J.B. (1993). *Ecological Biochemistry*. 4ªed. Academic Press, London



- HARPER, J. L. (1959). The ecological significance of dormancy. In: *Proceedings of IV International Congresso of Crop Protection* (Hamburg, 1957), pp. 415-420.
- HARPER, J. L. (1977). *Population Biology of Plants*. Academic Press, London.
- HARRINGTON, J.F. (1962). The effect of temperature on germination of several kinds of vegetables seeds. *Actas XXI<sup>th</sup> Intern. Horticul. Congress* **2**:435-441. Bruxelas
- HERRERA, C.M. (1990). Brood size reduction in *Lavandula latifolia* (Labiatae): a test of alternative hypotheses. *Evolutionary Trend Plant* **4**: 99-105.
- HERRERA, C.M. (1991). Dissecting factors responsible for individual variation in plant fecundity. *Ecology* **72**:1436-1448.
- HICKEY, M. & KING, C. (2000). *The Cambridge Illustrated Glossary of Botanical Terms*. Cambridge University Press, Cambridge. United Kingdom.
- HIDALGO, R. (2003). Variabilidade genética y caracterización de especies vegetales. In: FRANCO, T.L. & HIDALGO, R. (eds) *Análisis estadístico de datos de caracterización morfológica de recursos fitogenéticos*. Boletín Técnico nº 8, Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI), Cali, Colômbia, pp.2-26.
- HUANG, Y. & HO, S.H. (1998). Toxicity and antifeedant activities of cinnamaldehyde against the grain storage insects, *Tribolium castaneum* (Herbst) and *Sitophilus zeamais* Motsch. *Journal Stored Product Resources* **3**: 11-17.
- IA – Instituto do Ambiente (2005). *Relatório do Estado do Ambiente 2003*, Portugal, Instituto do Ambiente, Ministério do Ambiente e do Ordenamento do Território, Amadora.
- ICN - Instituto de Conservação da Natureza (1996). *Lista Nacional de Sítios- Continente. Directiva Habitats (92/43/CEE). Proposta preliminar*. Instituto da Conservação da Natureza, Direcção de Serviços da Conservação da Natureza, Lisboa.
- ICN (2006a). *Plano Sectorial da Rede Natura 2000*. Sítios da Lista Nacional. Instituto da Conservação da Natureza, Direcção de Serviços da Conservação da Natureza, Lisboa.
- ICN (2006b). *Plano Sectorial da Rede Natura 2000*. Flora. Instituto da Conservação da Natureza, Direcção de Serviços da Conservação da Natureza, Lisboa.
- IDRHA – Instituto de Desenvolvimento Rural e Hidráulica (2004). *Medidas Agro-Ambientais*. Ministério de Agricultura, do Desenvolvimento Rural e Pescas, Lisboa.
- INE – Instituto Nacional de Estatística (2001). *Recenseamentos gerais da agricultura- Dados comparativos 1989-1999*. INE, Lisboa (CD-Rom).
- ISMAN, M.B. (1999). Pesticides based on plant essential oils. *Pestic Outlook* **10**: 68-72.
- ISMAN, M.B. (2005). Problems and opportunities for the commercialization of insecticides. In: REGNAULT-ROGER, C. PHILOGENE, B.J.R. & VICENT, R. (eds) *Biopesticides of plant origin*. Lavoisier, Paris, pp. 283-291.
- ISMAN, M.B. (2006). The role of botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and increasingly regulated world. *Annual Revue Entomology* **51**: 45-66

- ISMAN, M.B., WAN, A.J. & PASSREITER, C.M. (2001). Insecticidal activity of essential oils to the tobacco cutworm *Spodoptera litura*. *Fitoterapia* **1** (72): 65-68.
- ISTA - International Seeds Testing Association (2002). *International Rules for Seed Testing. Seed Science and Technology*, **28** (suppl.).
- IUCN – The World Conservation Union (2010). Red List Categories and Criteria, version 3.1.2001. in: *IUCN Survival Commission. IUCN Red List of Threatened Species*. Version 2010.1. < [www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org) > citado em 03 Junho 2010.
- JACCARD, P. (1908). Nouvelles recherches sur la distribution florale. *Bull. Soc. Vaud. Sci. Nat.* 44: 223-270.
- JOHNSTON C.A. (1998). Geographic information systems in ecology. Blackwell Science, Oxford, pp 239.
- KANG, H & PRIMACK, R.B. (1991). Temporal variation of flowers and fruit size in relation to seed yield in Celandine Poppy (*Chelidonium majus*: Papaveraceae). *American Journal of Botany* **78**: 711-722.
- KEELEY, J. E. (1991). Seed germination and life history syndromes in California chaparral. *Botanic Revue* **57**: 81-116
- KOKKALOU, E. (1998). The constituents of the essential oil from *Lavandula stoechas* growing wild in Greece. *Planta Medica* **54**: 58-59.
- KUBITZKI, K. (ed.) (1990). The Families and Genera of Vascular Plants. Vol. I: KRAMER, K. U.; GREEN, P. S. (eds.): *Pteridophytes and Gymnosperms*. XIII. 404 S., 216 Abb. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokyo, Hong Kong.
- LABOURIAU, L. G. (1983). *A Germinação das Sementes*. Secretaria Geral da OEA, Washington.
- LAGO, J.H.G., FÁVERO, O.A. & ROMOFF, P. (2006). Microclimatic factors and phenology influences in the chemical composition of the essential oils from *Pittosporum undulatum* Vent. leaves. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **17** (7): 1334-1338.
- LAVOINE-HANNEGUELLE S. & CASABIANCA H. (2000). Une lavande hors du commun: la lavande luisieri. Actas. 19<sup>th</sup> Journées Internationales Huiles essentielles et Extraits, Dignes les Bains, APPAM, F-04400 Dignes les Bains (Publicação em CD-ROM, email: [APPAM@wanadoo.fr](mailto:APPAM@wanadoo.fr))
- LAVOINE-HANNEGUELLE S. & CASABIANCA H. (2004). New compounds from the essential oil and absolute of *Lavandula luisieri* L. *Journal of Essential Oil Research* **16**: 445-448
- LEE, T.D. (1988). Patterns of Fruit Production. In: Lovett-Doust, J., Lovett-Doust, L. (eds). *Reproductive plant ecology. Patterns and strategies*. Oxford University Press, New York, pp. 179-202
- LEE, T.D. & BAZZAZ, F.A. (1982). Regulation of fruit and seed production in an annual legume, *Cassia fasciculata*. *Ecology* **63**:1363-1373.
- LEE, T.D. & BAZZAZ, F.A. (1986). Maternal regulation of fecundity: non-random ovule abortion in *Cassia fasciculata* Michx. *Oecologia* **68**: 459-465.
- LENOIR, C. CORBINEAU, F. & CÔME, D. (1986). Barley (*Hordeum vulgare*) seed dormancy as related to glumella characteristics. *Physiologia Plantarum* **68**: 301-307.

- LEY, S.V. (1990). Synthesis of antifeedants for insects: novel behaviour-modifying chemicals from plants. In: Ciba Foundation (ed.) *Bioactive compounds from plants*, Wiley, Chichester (Ciba Foundation Symposium 154), pp 80-98
- LOUSÁ, M. (2004). Bioclimatologia e séries de vegetação de Portugal. *Lazaroa* 25: 83-86.
- LUBBERS, A.E. & CHRISTENSEN, N.L. (1986). Intraseasonal variation in seed production among flowers and plants of *Thalictrum thalictroides* (Ranunculaceae). *American Journal of Botany* **73**: 190-203.
- MAARSE, H. (1974). Volatile oil of *Origanum vulgare* L. ssp. *vulgare*. Changes in composition during maturation. *The Flavour Industry* **III**: 278-281.
- MABBERLEY, D.J. (2008). *Mabberley's Plant-Book. A portable dictionary of plants, their classification and uses*, 3<sup>rd</sup> ed., Cambridge University Press, Cambridge
- MAHER, J.; GERASOPOULOS, D. & MALOUPA, E. (2000). Temperature and light effects on germination of *Lavandula stoechas* seeds. Proc. IV. Int. Symp. New Flor. Crops. *Acta Horticulturae* **541**: 261-264.
- MAJER D., MITHEN R, LEWIS B.G., VOS P. & OLIVER R.P. (1996). The use of AFLP fingerprinting for the detection of genetic variation in fungi. *Mycological Research* **100**: 1107-1111.
- MARCHUETA, M.M. (2008). *Micropropagação de Lavandula luisieri (Rozeira) Rivas- Martínez*. Relatório do Trabalho de Fim de Curso. Escola Superior Agrária. Castelo Branco.
- MAROCO, J. (2003). *Análise Estatística - Com utilização do SPSS*, 1<sup>a</sup> Edição, Ed. Sílabo, Lisboa.
- MATHERON, G. (1973). Principles of geostatistics. *Economic Geology* **58**: 1246-1266
- MATOS, F., MIGUEL, M.G., DUARTE, J., VENÂNCIO, F., MOITEIRO, C., CORREIA, A.I.D., FIGUEIREDO, A.C., BARROSO, J.G. & PEDRO, L.G. (2009). Antioxidant Capacity of the Essential Oils from *Lavandula luisieri*, *L. stoechas* subsp. *lusitanica*, *L. stoechas* subsp. *lusitanica* x *L. luisieri* and *L. viridis* grown in Algarve (Portugal). *Journal of Essential Oils Research* **21**: 327-336.
- MAYER, A.M. & POLJAKOFF-MAYBER, A. (1989). *The Germination of Seeds*. 4<sup>th</sup> edition. Pergamon Press, Elmsford, NY.
- MEXIA, A. (2008). A luta química na protecção integrada. In: *Fármacos, Saúde e Ambiente*, Universidade Católica Editora, Unipessoal, Lda., Lisboa.
- MOHAMMADI, S. A. & PRASANNA, B.M. (2003). Analysis of genetic diversity in crop plants- salient statistical tools and considerations. *Crop Science* **43**: 1235-1248.
- MONTEIRO-HENRIQUES T. (2009). *Fitossociologia e paisagem da bacia hidrográfica do rio Paiva e das bacias contíguas da margem esquerda do rio Douro, desde o Paiva ao rio Tejo (Portugal)*. Tese de doutoramento. Instituto Superior de Agronomia. Lisboa.
- MONTEIRO-HENRIQUES, T. & ESPÍRITO-SANTO, M.D. (2010). Climate change and outdoor regional living plant collections: an example from mainland Portugal, *Biodivers Conserv.* DOI 10.1007/s10531-010-9864-3.
- MORALES (2009). *Lavandula*. Fam. Labiatae. In: *Flora Ibérica* Vol 12.. Real Jardín Botánico. [http:// www. floraiberica.es/ floraiberica/ texto/ imprenta/ tomoXII/ entrega\\_3/12\\_140\\_37 Lavandula.pdf](http://www.floraiberica.es/floraiberica/texto/imprenta/tomoXII/entrega_3/12_140_37_Lavandula.pdf), consultado a 28-II-2010

- MULAS, M. (2006). Traditional uses of Labiatae in the mediterranean area. *Acta Horticulturae* **723**: 25-32.
- MÜLLER-DOMBOIS, D. & ELLENBERG, H. (1964) *Aims and methods of vegetation ecology*. New York: John Wiley & Sons, 547 pp.
- MÜLLER-RIBEAU, F.J., BERGER, B.M., YEGEN, O. & ÇAKI, C., (1997). Seasonal variations in the chemical composition of essential oils of selected aromatic plants growing wild in Turkey. *Journal of Agricultural Food Chemistry* **4**: 4821- 4825.
- MULLIS K.B. & FALOONA F.A. (1987). Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods in Enzimology* **155**: 335-350.
- MYERS, N., MITTERMEIR, R.A., MITTERMEIR, C.G., DA FONSECA, G.A.B. & KENT, J. (2000). Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* **403** (6772):853-858.
- NAKAMURA, R.R. (1988). Seed abortion and seed size variation within fruits of *Phaseolus vulgaris*: pollen donor and resources limitation effects. *American Journal of Botany* **75**: 1003-1010.
- NAYLOR, R.E.L. (1993). The effect of parent plant nutrition on seed size, viability and vigour and on germination of wheat and triticale at different temperatures. *Annals of Applied Biology* **123**:379-390.
- NÉMETH É., BERNÁTH J., HÉTHELYI É. (1993). Diversity in chemotype reaction affected by ontogenetical and ecological factors. *Acta Horticulturae* **344**:178-187.
- OBESO, J.R. (1992). Pollination ecology and seed set in *Asphodelus albus* (Liliaceae) in Northern Spain. *Flora* **187**:219-226.
- OBESO, J.R. & VILLALBA, C.J. (1991). Morfologia y reproducción en dos poblaciones de *Asphodelus albus* Miller (Liliaceae). *Anales Jardín Botánico Madrid* **48**: 189-200
- ODOEMENA, C.S. (1988). Breaking of seed coat dormancy in a medicinal plant *Tetrapleura tetraptera* (Schum & Thonn). *Journal of Agricultural Sciences* **111**: 393-394.
- ORESTES CERDEIRA, J., ALAGADOR, D., PINTO, L.S., TRIVIÑO, M, BRÁS, M, CABEZA, M., ARAÚJO, M.B. & GASTON, K.J. (2010). *Fragmentação e conservação da biodiversidade*. Semana da Biodiversidade e Conservação da Natureza. Biodiversidade que futuro, comunicação oral, Instituto Superior de Agronomia-UTL, Lisboa (Publicação de resumos em CD-ROM- ISA).
- OWUSU, E.O. (2000). Effect of some Ghanaian plant components on control of two stored-product insect pests of cereals. *Journal of Stored Products Research* **37**: 85-91.
- PALA-PAÚL, J., PÉREZ-ALONSO, M.J., VELASCO-NEGUERUELA, A., PALA-PAÚL, R. SANZ, J. & CONEJERO, F. (2001). Seasonal variation in chemical constituents of *Santolina rosmarinifolia* L. spp. *rosmarinifolia*. *Biochemical Systematic Ecology* **29**: 658- 663.
- PASCUAL VILLALOBOS, M.J. & BALLESTA ACOSTA, M.C. (2003). Chemical variation in an *Ocimum basilicum* germplasm collection and activity of the essential oils on *Callosobruchus maculatus*. *Biochemical Systematic and Ecology* **31**:673-679.
- PEÑA, J., APARÍCIO-TEJO, P. & SANCHEZ-DIAZ, M. (1988). Dormancy mechanism and the effect of scarification in the germination of *Halimium halimifolium* seeds. *Journal of Plant Physiology* **132**: 54-58.

- PEREIRA, M.O.B.R.P. (1996). *Freguesia de Alcongoستا*. Direcção Regional de Agricultura da Beira Interior, Castelo Branco, Portugal.
- PÉREZ-GARCIA, F., HORNERO, J.E. & GONZÁLEZ-BENITO, M.E. (2003). Interpopulation variation in seed germination of five Mediterranean *Labiatae* shrubby species. *Israel Journal of Plant Sciences* **51**:117-124.
- P. SILVA (1956). *Asphodelus bento-rainhae* P. Silva, sp.nov., *Agronomia Lusitana* **18** (1): 20-21.
- PINTO, A. C., SILVA, D.H.S., BOLZANI, V.S., LOPES, N.P. & EPIFANIO, R.A. (2002) Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. *Quím. Nova* [online]. **25**, suppl.1 [cited 2010-03-13], pp. 45-61. Available from: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-40422002000800009&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422002000800009&lng=en&nrm=iso)>. ISSN 0100-4042. doi: 10.1590/S0100-40422002000800009
- PINTO-GOMES, C.J. (1996). *Distribuição e Estatuto de Ameaça das Espécies da Flora a Proteger*. Relatório Final, Universidade de Évora, Évora.
- PINTO-GOMES, C.J., SILVEIRA, S.C. & GONÇALVES, P.C.C. (1996). A distribuição geográfica e a ecologia do *Asphodelus bento-rainhae* P. Silva. Actas. I Colóquio Internacional de Ecologia da Vegetação. Universidade de Évora, Évora, p. 321330.
- PINTO M.J. & SILVA J.P. (2001). *How much habitat connectivity affects the regional trend?*. Poster. V Congresso da Sociedade Portuguesa de Ecologia, Lisboa.
- PITÉ, M.T. & AVELAR, T. (1996). *Ecologia das Populações e das Comunidades. Uma Abordagem Evolutiva do Estudo da Biodiversidade*. Fundação Calouste Gulbenkian. Lisboa
- POINTOUT, S. & BUES, S. (1970). Elevage de plusieurs especes de Lepidopteres *Noctuidae* sur milieu artificiel simplifié. *Annales de Zoologie Ecologie Animale* **2**: 79-91.
- POPINIGIS F. (1985). *Fisiologia da semente*. 2 ed. AGIPLAN. 289. Brasil
- PRINS, C.L., LEMOS, C.S.L. & FREITAS, S.P. (2006). Efeito do tempo de extração sobre a composição e o rendimento do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis*). *Revista Brasileira Plantas Medicinai* **8** (4):92-95.
- PROENÇA, V. QUEIROZ, C.F., ARAÚJO, M. & PEREIRA, H.M. (2009). Biodiversidade. In: PEREIRA, H.M., DOMINGOS, T., VICENTE, L. & PROENÇA, V. (eds) *Ecosistemas e Bem-Estar Humano. Avaliação para Portugal do Millennium Ecosystem Assessment*, Escolar Editora, Lisboa, pp.127-179
- PUTIEVSKY, E., RAVI, U. & DUDAI, N. (1986). The influence of season and harvest frequency on essential oil and herbal yield from a puré clone of sage (*Salvia officinalis*) grown under cultivated conditions. *Journal of Natural Products* **49**: 326-329.
- PUTIEVSKY, E., RAVI, U. & DUDAI, N. (1988). Phenological and seasonal influences on essential oil of a cultivated clone of *Origanum vulgare* L. *Journal of Science of Food and Agriculture* **43**:225-248.
- PUTIEVSKY, E., RAVI, U. & DUDAI, N. (1990). The effect of water stress on yield components and essential oil of *Pelargonium graveolens* (L.). *Journal of Essential Oil Research* **2**:111-114.
- PUTIEVSKY, E., RAVI, U., DUDAI, N., CARMELI, D. & ESHEL, A. (1992). Variation in essential oil of *Artemisia judaica* chemotypes related to phenological and environmental factors. *Flavour and Fragrance Journal* **7**: 253-257.

- RAJU, M.V.S., HSIAO, A.J. & MCINTYRE, G.I. (1988). Seed dormancy in *Avena fatua*. IV. Further observations on the effect of mechanical injury on water uptake and germination in different pure lines. *Botanical Gazette* **149**:419-426.
- RAUNKIÆR, C. (1934). The Life Forms of Plants and Statistical Plant Geography, being the collected papers of C. Raunkiær. In: FRANK N. EGERTON (ed.) *History of Ecology Series*, Oxford University Press, Oxford. Reprinted 1978, Ayer Co Pub.
- REINA, M., GONZÁLEZ-COLOMA, A., GUTIÉRREZ, C., CABRERA, R., RODRÍGUEZ M.L., FAJARDO, V. & VILLARROEL, L. (2001). Defensive chemistry of *Senecio miser*. *Journal of Natural Products* **64** (1): 6-11.
- RHS (2001). *Colour chart*. The Royal Horticultural Society ed, London
- RIVAS-MARTÍNEZ S. (1979) *Lavandula luisieri* (Rozeira) Rivas- Martínez. *Lazaroa* 1: 110.
- RIVAS-MARTÍNEZ, S. (27/08/2004). *Global Bioclimatics. Clasificación Bioclimática de la Tierra*. <http://www.globalbioclimatics.org>. Consultado a 25-IV-2006.
- RIVAS-MARTÍNEZ, S. (2005). *Avances en Geobotánica. Discurso de Apertura del Curso Académico de la Real Academia Nacional de Farmacia del año 2005*. <http://www.ucm.es/info/cif/book/ranf2005.pdf>
- RIVAS-MARTÍNEZ S., FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ F., LOIDI J., LOUSÁ M., & PENAS A. (2001) Syntaxonomical Checklist of Vascular Plant Communities of Spain and Portugal to association level. *Itinera Geobotanica* 14: 5-341.
- RIVAS-MARTÍNEZ S., DÍAZ T. E., FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ F., IZCO J., LOIDI J., LOUSÁ M., & PENAS A. (2002a.) Vascular Plant Communities of Spain and Portugal. Addenda to the syntaxonomical checklist of 2001. *Itinera Geobotanica* 15: 5-432.
- RIVAS-MARTÍNEZ S., DÍAZ T.E., FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ F., IZCO J., LOIDI J., LOUSÁ M., & PENAS A. (2002b) Vascular Plant Communities of Spain and Portugal. Addenda to the syntaxonomical checklist of 2001. *Itinera Geobotanica* 15: 433-922.
- ROACH B., EISNER T. & MEINWALD J. (1990). Defense mechanisms of Arthropods:  $\alpha$ - et  $\beta$ -necrodols, novel terpenes from a carrion beetle (*Necrodes surimanensis*, *Silphidae*, *Coleoptera*). *Journal Organic Chemistry* **55**: 4047-4051.
- ROBERTS, E. M. & SMITH, R. D. (1977) *Dormancy and Pentose Pathway*. In: A.A. KHAN, ed. *The Physiology and Biochemistry of Seed Dormancy and Germination*, Amsterdam, pp.385-441
- ROCHA, O.J. & STEPHENSON, A.G. (1990). Effect of ovule position on seed production, seed weight, and progeny performance in *Phaseolus coccineus* L. ( Leguminosae). *American Journal of Botany* 77: 1320-1329.
- RODRIGUES, I.M. (2006) *Contributo para a gestão das relações entre a cultura da cerejeira e a conservação de *Asphodelus bento-rainhae* na Serra da Gardunha*. Dissertação de Mestrado, Universidade dos Açores, Castelo Branco, Portugal.
- RODRIGUES, I.M., GIL, F.S. & DENTINHO, T.P. (2009). Trade-off between cherry production and endemism conservation in Serra da Gardunha, Portugal. *Revista Portuguesa de Estudos Regionais* **20**: 119-126

- ROHLF, F.J. (1997). *NTSYS-pc. Numerical taxonomy and multivariate analysis system version 2.01*. Department of Ecology and Evolution, State University of N York, New York.
- ROZEIRA A. (1949). A secção *Stoechas Gingis*, do género *Lavandula* Linn. *Brotéria* 28 (**fasc.I-II**): 1-84
- ROZEIRA, A. (1964). A subespécie portuguesa de *Lavandula stoechas* L. *Agronomia Lusitanica*. **24**:172-173 [datado de 1962 publicado em 1964]
- SANTOS, S. (2004). *Plantas medicinais da península de Setúbal. Contribuição para o conhecimento da sua relevância etnobotânica*. Relatório final de Licenciatura em Biologia. Faculdade de Ciências de Lisboa, Lisboa.
- SANZ J. & GARCIA-VALLEJO M. C. (2004). Analysis of volatile components of *Lavandula luisieri* L. by direct thermal desorption-gas chromatography-mas spectrometry. *Journal Chromatogr.* **1024**: 139-146.
- SILVA, J.P., AFONSO, F. & FERNANDEZ, P. (2002). A tendência espacial no bosque da serra da Gardunha. Um modelo probabilístico com base em SIG. Actas, *VII Encontro de Utilizadores de Informação Geográfica*. Oeiras
- SILVA, S. (2003). Etnobotânica das PAM- Sua aplicação no desenvolvimento rural. Trabalho de fim de curso de Engenharia de Ordenamento dos Recursos Naturais. Escola Superior Agrária. Castelo Branco.
- SILVERTOWN, J. W. (1981). Seed size, life span and germination date as coadapted features of plant life history. *American Naturalist* **118**: 860-864.
- SOUSA, P. R. (1997). Distribuição de *Asphodelus bento-rainhae* P. Silva, sua Ecologia. Planta Endémica da Serra da Gardunha. E.S.F., Fundão.
- STAFLEU F.A. & COWAN, R.S (1981). *Taxonomic Literature* (edn 2). Bohn, Scheltema & Holkema, Utrecht/Antwerp, dr.W.Junk b.v., Publishers, The Hague/Boston. (*cit in* UPSON & ANDREWS, 2004)
- STEPHENSON, A.G. (1981). Flower and fruit abortion: proximate causes and ultimate functions. *Annual Revue Ecology System* **12**:253-279.
- STONE, E. C. (1951). The stimulation effect of fire on the flowering of the golden Brodiaea (*Brodiaea ixioides* Wats. var. *lugens* Jeps.). *Ecology* **32**: 534-537.
- STROH, L., WAN, M.T., ISMAN, M.B. & MOUL, M.J. (1998). Evaluation of the acute toxicity to juvenile Pacific coho salmon and rainbow trout of some plant essential oils, a formulated product and the carrier. *Bulletin Environmental Contaminant Toxicology* 60:923-930.
- SUTHERLAND, S. (1987). Why hermaphroditic plants produce many more flowers than fruits: experimental tests with *Agave mckelveyana*. *Evolution* **41**:750-759.
- TAPONDJOU, A.L., ADLER, C., FONTEMEC, D.A., BOUDA, H. & REICHMUTH, C. (2005). Bioactivities of cymol and essential oils of *Cupressus sempervirens* and *Eucalyptus saligna* against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium confusum* Val. *Journal of Stored Products Research* 1 (**41**): 91-102.
- TER BRAAK, C.J.F. & SMILAUER, P. (2002) *CANOCO reference manual and user's guide to Canoco for Windows: Software for Canonical Community Ordination (version 4.5)*. Microcomputer Power, Ithaca, NY, US.

- TÉTÉNYI P. (1970) *Infraspecific chemical taxa of medicinal plants*. AKad, Kiado, Budapest.
- THOMPSON, P. A. (1973). Seed germination in relation to ecological and geographical distribution, in: W. H. HEYWOOD (ed.) *Taxonomy and ecology*. Academic Press, London, pp. 225-245.
- TRAVASSOS, J.S. (1999). *Serra da Gardunha Que História*. ADRACES, Fundação.
- TRINDADE, H. (2006). Plantas Aromáticas e Medicinais e Biologia Molecular. In: FIGUEIREDO, A.C., BARROSO, J.G. & PEDRO, L.G.(Eds), *Potencialidades e aplicações das plantas aromáticas e medicinais*. Curso Teórico - Prático (2ª Ed.), Edição da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa- Centro de Biotecnologia Vegetal, Lisboa, pp. 88-97.
- TRUILLER, W., ALBERT, C., ARAÚJO M.B. (2005). Climate change threts to plant diversity in Europe. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **102**:8245-8250.
- TUTIN T.G., HEYWOOD V.H., BURGES N.A., MOORE D.M., VALENTINE D.H., WALTERS S.M., & WEBB D.A. (1981). *Flora Europaea*, Vol 3. Cambridge University Press, Cambridge.
- TUTIN, T.G., HEYWOOD, V.H. BURGES, N.A., MOORE, D.M., VALENTINE, D.H., WALTERS, S.M. & WEEB, D.A. (01/01/98) *Flora Europea*. Royal Botanic Garden Edinburgh. Digital version of *Flora Europaea*. <http://rbg-web2.rbge.org.uk/cgi-bin/nph-readbtreetree.pl>
- UPSON, T. & ANDREWS, S. (2004). *The Genus Lavandula*. Timber Press, Inc., Portland, pp.234-235.
- VALDÉS, B., TALAVERA, S. & FERNÁNDEZ-GALIANO, E. (eds) (1997). *Flora Vascular de Andalucía Occidental 2*. KETRES ed., S.A., Barcelona, pp.408 - 455.
- VARIS, S. & GEORGE, R.A.T. (1985). The influence of mineral nutrition on fruit yield, seed yield and quality in tomato. *Journal of Horticultural Science* **60**:373-376.
- VASCONCELOS, M.T. & CAIXINHAS, L. (1991). Plantas endémicas. In: L Caixinhas, et al. ed. *Botânica II*, Circulo dos Leitores, Lisboa, pp.160-169.
- VEGIS, A. (1963). Climatic control of germination, bud break and dormancy. In: *Environmental control of plant growth*. L. T. Evans Ed., Academic Press, New York and London. (Cit. in CÔME, 1970).
- VOS P., HOGERS R., BLEEKER M., REIJANS M, VAN DE LEE T., HORNES M., FRIJTERS A., POT J., PELEMAN J., KUIPER M. & ZABEAU M. (1995). AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research* **23**: 4407-4414.
- WASHITANI, I. (1988). Effects of high temperatures on the permeability and germinability of the hard seeds of *Rhus javanica* L. *Annals of Botany* **62**: 13-16.
- WEINZIERI, R. A. (1998). Botanical insecticides. Soaps and oils. In: RECHCIGL, J. E. & RECHCIGL, N. A. *Biological and biotechnological control of insect pest*: 101-121.
- WERKER, E., PUTIEVSKY, E. RAVID, U. DUDAI, N. & KATZIR, I. (1993). Glandular hairs and essential oil in developing leaves of *Ocimum basilicum* L. *Annals of Botany* **71**: 43-50.
- WEST, S.H. & MAROUSKY (1989). Mechanism of dormancy in *Pensacola Bahiagrass*. *Crop Science* **29**:789-791.



- WIENS D., CALVIN, C.L., WILSON, C.A., DARVERN, C.I., FRANK, D. & SEAVEY, S.R. (1987). Reproductive success, spontaneous embryo abortion, and genetic load in floaring plants. *Oecologia* **71**:501-509
- WILDWOOD C. (1994). *Aromaterapia*. Editorial Estampa Medicina Alternativas, Lisboa. p.19.
- WILEY (2001). Registry of Mass Spectral Data. Mc Lafferty FW & Stauffe DB, New York.
- WILLIAMS, W.C. (1994). *Asphodel, That Greeny Flower & Other Love Poems*. New Directions Publishing Corporation, Chicago.
- ZAR J.H. (1999). *Biostatistical analyses*, 4<sup>th</sup> edition, Prentice Hall, New Jersey.

## Legislação

- Decreto-Lei n.º 316/89, de 22 de Setembro. Diário da República nº 219/1989 – I Série A. (22-09-1989). Ministério do Planeamento e Administração do Território, Lisboa.
- Decreto-Lei n.º 140/99 de 24 de Abril. Diário da República nº 96/1999 – I Série A. Ministério do Ambiente, Lisboa.
- Despacho nº 48/94 de 20 de Janeiro. *Diário da República* nº 28/1994 – II Série A. (03-02-1994). Ministério da Agricultura, Lisboa.
- Directiva do Conselho nº 92/43/CEE de 21 de Maio. Jornal Oficial da Comunidade Europeia L 206. (22-07-1992).
- Portaria nº 1212/2003 de 16 de Outubro. *Diário da República* nº 240/2003 – I Série B. Ministério da Agricultura, Desenvolvimento Rural e Pescas, Lisboa

## **Anexos**



## Anexo I

### Mapa de distribuição de *Asphodelus bento-rainhae* P. Silva e estruturas identificativas



A

Mapa de distribuição: \**A. bento-rainhae* P. Silva–subsp. *bento-rainhae* e •*A. bento-rainhae* P. Silva subsp. *salmanticus* Z. Diaz & Valdés

B

Estruturas identificativas da espécie (a- sistema radicular e base da roseta; b- secção de uma folha; c- inflorescência; d- detalhe do perianto, androceu e gineceu; e- cápsula; f- semente).

(Adaptado de DIAZ LIFANTE & VALDÉS, 1996)



## Anexo II

### Descritores para a caracterização morfológica de *Lavandula luisieri* (Rozeira) Rivas-Martínez

#### Considerações gerais

**A** – As observações, quantitativas e qualitativas, devem ser efectuadas sobre 10 plantas escolhidas ao acaso ou partes de cada uma dessas 10 plantas

**B** – Uma vez as plantas escolhidas ao acaso, devem ser marcadas e todas as observações, quantitativas e qualitativas, devem ser efectuadas sobre essas mesmas plantas

**C** – As observações respeitantes à secção **Planta** devem ser efectuadas no Inverno, antes do desenvolvimento da haste floral

**D** – As observações respeitantes às secções **Folha; Haste floral; Espiga e; Flor**, devem ser efectuadas com as plantas em plena floração

**E** – As observações respeitantes à secção **Haste floral** devem ser efectuadas na haste floral mais desenvolvida

**F** – As observações respeitantes à secção **Espiga** devem ser efectuadas na espiga da haste floral mais desenvolvida

**G** – As observações respeitantes à secção **Flor** devem ser efectuadas nas flores da espiga da haste floral mais desenvolvida

**H** – As observações respeitantes a cor deverão, preferencialmente, ser efectuadas com recurso à *Royal Horticultural Society Colour Chart*, com os órgãos a observar sobre fundo branco e sob luz natural

#### Descrição

**2.5** – Folha. Forma do limbo. Observação feita nas folhas do terço médio da haste floral mais desenvolvida, excluindo a espiga. Observação de 1 folha/planta, em 10 plantas ao acaso

**2.7** – Folha. Pilosidade. Observação feita nas folhas do terço médio da haste floral mais desenvolvida, excluindo a espiga. Observação de 1 folha/planta, em 10 plantas ao acaso. Observação à lupa, na página superior da folha

**3.1** – Haste floral. Comprimento. Inclui espiga. Média, em mm, da haste floral mais desenvolvida/planta, em 10 plantas ao acaso

- 3.2** – Pedúnculo. Diâmetro. Medido no terço médio excluindo a espiga. Média, em mm, da haste floral mais desenvolvida/planta, em 10 plantas ao acaso
- 3.3** – Pedúnculo. Comprimento do pedúnculo. Medida da base da espiga até ao primeiro par de folhas.
- 3.5** – Pedúnculo. Intensidade da cor verde. Observação feita no terço médio da haste floral mais desenvolvida/planta, excluindo a espiga, em 10 plantas ao acaso
- 3.6**– Pedúnculo. Pubescência. Observação feita na haste floral mais desenvolvida/planta, em 10 plantas ao acaso. Observação à lupa
- 4.1** – Espiga. Largura da espiga medida na sua parte mais larga. Média, em mm, da espiga da haste floral mais desenvolvida, por planta, em 10 plantas ao acaso
- 4.2** – Espiga. Comprimento da espiga. Média, em mm, da espiga da haste floral mais desenvolvida/planta, em 10 plantas ao acaso
- 4.4** – Espiga. Secção. Observação feita na espiga da haste floral mais desenvolvida/planta, em 10 plantas ao acaso
- 4.5**– Espiga. Largura das brácteas férteis. Observação feita na espiga da haste floral mais desenvolvida. Média, em mm, de 1 bráctea da base da espiga/espiga/planta, em 10 plantas ao acaso, medida na sua parte mais larga
- 4.6** – Espiga. Forma das brácteas férteis. Observação feita na espiga da haste floral mais desenvolvida. Observação feita no terço médio da espiga, 1 bráctea/espiga, em 10 plantas ao acaso
- 4.7** – Espiga. Cor principal das brácteas férteis. Observação feita na espiga da haste floral mais desenvolvida. Observação feita no terço médio da espiga, 1 bráctea/espiga, em 10 plantas ao acaso
- 4.8** – Espiga. Presença de bractéolas. Observação feita na espiga da haste floral mais desenvolvida. Observação feita na espiga da haste floral mais desenvolvida, em 10 plantas ao acaso
- 4.9** – Espiga. Brácteas estéreis. Observação feita na espiga da haste floral mais desenvolvida/planta, em 10 plantas ao acaso
- 4.10** – Espiga. Comprimento das brácteas estéreis. Observação feita na espiga da haste floral mais desenvolvida. Média, em mm, de 1 bráctea/espiga/planta, em 10 plantas ao acaso
- 4.11** – Espiga. Forma das brácteas estéreis. Observação feita na espiga da haste floral mais desenvolvida, 1 bráctea/espiga/planta, em 10 plantas ao acaso
- 4.12** – Espiga. Cor principal das brácteas estéreis. Observação feita na espiga da haste floral mais desenvolvida, 1 bráctea/espiga/planta, em 10 plantas ao acaso
- 4.13** – Espiga. Ondulação das margens das brácteas estéreis. Observação feita na espiga da haste floral mais desenvolvida, 1 bráctea/espiga/planta, em 10 plantas ao acaso
- 5.1** – Flor. Cor do cálice. Observação feita na espiga da haste floral mais desenvolvida, 1 cálice/espiga/planta, em 10 plantas ao acaso
- 5.2**– Flor. Pubescência do cálice. Observação feita na espiga da haste floral mais desenvolvida, 1 cálice/espiga/planta, em 10 plantas ao acaso. Observação à lupa

**5.3**– Flor. Cor da corola. Observação feita na espiga da haste floral mais desenvolvida, 1 corola/espiga/planta, em 10 plantas ao acaso

**5.4**– Flor. Comprimento da corola. Observação feita na espiga da haste floral mais desenvolvida. Média, em mm, de 1 corola/espiga/planta, em 10 plantas ao acaso

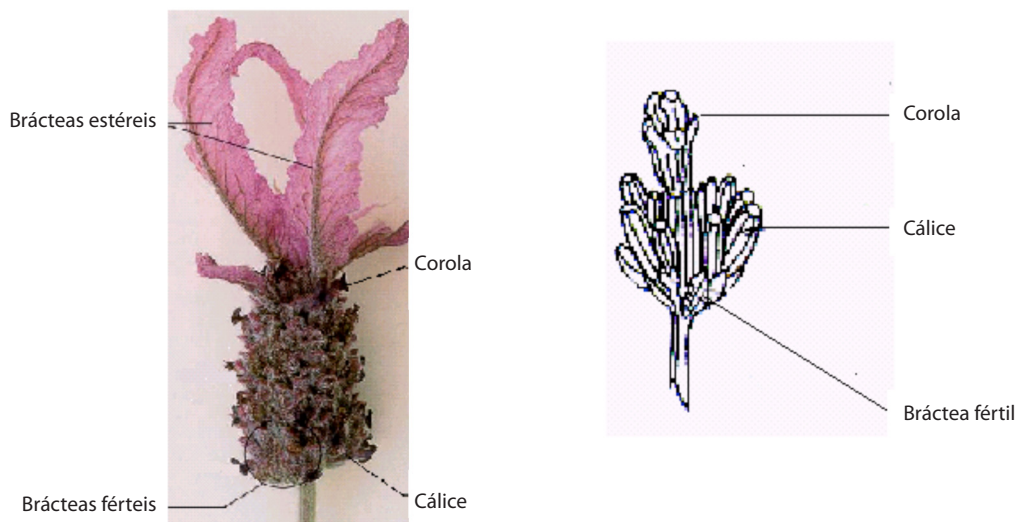
**5.5**– Data da floração. Observação em plena floração. Data quando pelo menos 50% das plantas estão em floração

**6.1** – Peso de 1.000 sementes. Peso, em gramas, de 1.000 sementes ao acaso, de entre as sementes sãs

## 1.1 Porte da planta

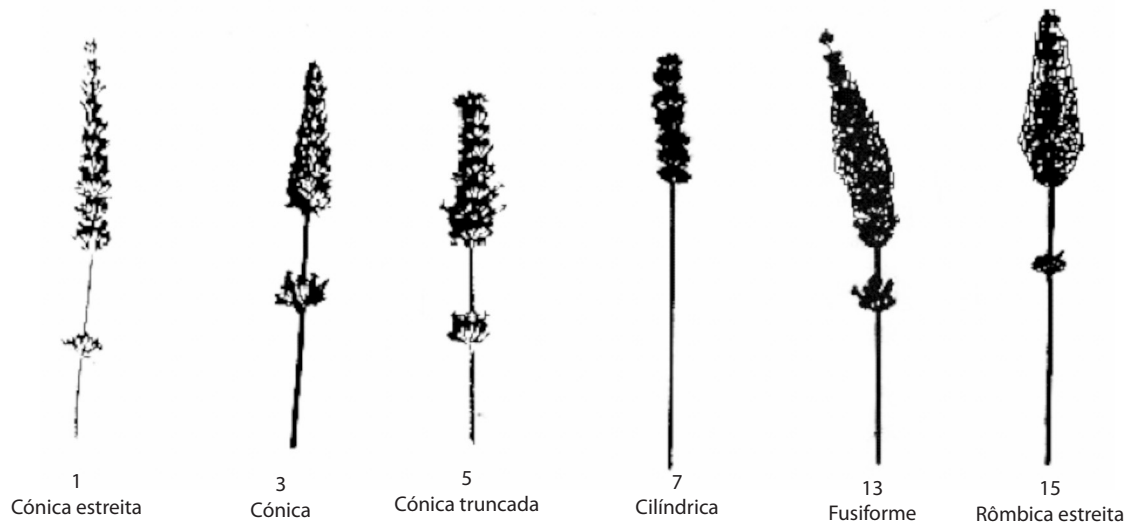


## 4. Espiga





### 4.3 Forma da espiga



### 3.1 Comprimento da haste floral

### 3.3 Comprimento do pedúnculo

### 4.2 Comprimento da espiga

