

Cultivares autóctones de oliveira – aspetos da caracterização morfológica do endocarpo

Ana Patrícia da Silva Branca

Curso de licenciatura em Agronomia

2020

Ana Patrícia da Silva Branca

Cultivares autóctones de oliveira – aspetos da caracterização morfológica do endocarpo

Relatório de estágio curricular do tipo II – Introdução às Atividades de I&DE, apresentado para obtenção do grau de licenciado em agronomia conferido pelo Instituto Politécnico de Portalegre

Orientador interno: Ana Isabel S. R. Cordeiro

Orientador Externo: Carla Inês

Arguente: António Cordeiro

Presidente do Júri: Rute Santos

Classificação: 19 valores

Escola Superior Agrária de Elvas

2020

Agradecimentos

Queria em primeiro lugar agradecer à Doutora Carla Inês, pois não há palavras para agradecer todos os seus conhecimentos prestados, a sua ajuda, os seus conselhos e o modo como sempre me apoiou e incentivou, as críticas e sugestões sempre pertinentes e a paciência e simpatia com que sempre me recebeu o meu muito muito obrigado.

À professora Doutora Ana Cordeiro agradecer primeiramente o entusiasmo com que nos transmite os conhecimentos, o carinho, a preocupação e atenção, obrigado por ter aceite ser minha orientadora e me ter dado esta oportunidade.

Também quero agradecer à escola Superior Agrária de Elvas e a todos os professores do meu curso pela elevada qualidade do ensino oferecido.

Aos professores reconheço um esforço gigante com muita paciência e sabedoria. Foram eles que me deram recursos e ferramentas para evoluir um pouco mais todos os dias.

Ao INIAV e a toda a sua equipa por me ter recebido tão bem.

E neste momento tão especial das nossas vidas, em que todas as possibilidades se apresentam à nossa frente, eu quero dedicar uma palavra de homenagem e agradecimento a todos que estiveram ao meu lado durante estes anos, aos meus colegas de curso e amigos um especial agradecimento por terem feito parte desta luta, por terem me apoiado, pois sem vocês eu não teria chegado até aqui.

Ao meu marido a compreensão e paciência demonstrada durante o período do curso, obrigado.

À minha avo paterna, quem me apoiou, quem me ajudou a crescer, quem me fez chegar até aqui, eu agradeço de coração.

Em último e o mais valioso para mim sem eles não seria possível concretizar este sonho, aos meus filhos Daniela e Tomás, obrigado por me fazerem sonhar, sentir melhor, crescer, rir, acreditar, querer mudar e ir em frente, sem vocês não seria possível.

Resumo

No Alentejo, Portugal, a oliveira (*Olea europaea* L.) tem uma grande importância socioeconómica. O património olivícola português contém uma enorme diversidade genética, mas o seu potencial permanece ainda pouco divulgado. No presente estudo foi realizada a caracterização morfológica (UPOV *Test Guidelines*) dos endocarpos de seis cultivares autóctones de oliveira. As árvores encontram-se na Coleção Portuguesa de Referência de Cultivares de Oliveira. Todas as cultivares apresentaram o mesmo tipo de expressão em duas características, simetria (posição B) e número de sulcos na extremidade basal. As características que apresentaram maior diversidade foram o comprimento, o formato do ápice e o formato da base (ambos na posição A). Algumas cultivares apresentaram características únicas entre o grupo avaliado: 'Cordovil de Serpa' com endocarpo fortemente assimétrico (posição A), enquanto nas restantes observou-se ligeiramente assimétrico, e 'Blanqueta de Elvas' a única sem mucrão. Para todos os tipos de registos há que confirmar a ausência de erros. Quando os dados resultaram da apreciação do observador (observação visual), a verificação ou inspeção preliminar pode ser feita visualmente. Para observações objetivas (medição), recorreu-se a representações gráficas para identificar pequenos grupos de observações discrepantes. A determinação do peso do endocarpo de uma cultivar por medição do peso total da amostra em comparação com o peso obtido pela medição individual dos endocarpos foi idêntica para 'Cordovil de Serpa' e 'Verdeal de Serpa'. No entanto, esse procedimento pode levar a um peso médio do endocarpo diferente do que seria se a dispersão dos dados fosse considerada. É crucial completar e reorganizar o conhecimento sobre a diversidade de recursos genéticos de oliveira. A conservação, identificação e caracterização das cultivares de oliveira desempenham um papel fundamental para o sector olivícola nacional atender às novas exigências económicas e sustentáveis.

Palavras-chave: caracterização morfológica; cultivares autóctones; endocarpo; *Olea europaea* L.; UPOV *Test Guidelines*.

Abstract

In Alentejo region, Portugal, the olive tree (*Olea europaea* L.) has a great socio-economical importance. Portuguese olive patrimony contains very rich and diverse genetic resources, but their potentials remain still largely unknown. In the present study, morphological characterization (UPOV Test Guidelines) of the endocarp of six autochthonous olive cultivars was performed. Trees are grown in Portuguese Olive Cultivars Collection. All cultivars showed the same type of expression in two characteristics, Symmetry (position B) and number of grooves on basal end. The endocarp phenotypic traits length, shape of apex and shape of base (both in position A) showed the highest variation. Some cultivars showed an unique characteristic among the group evaluated: 'Cordovil de Serpa' was strongly asymmetric (position A) while the others were weakly asymmetric, and 'Blanqueta de Elvas' was the only one without mucron. All kinds of data have to be without mistake. When data resulted on the basis of the expert's judgment (visual observation) the preliminary check or inspection could be done visually. For objective observations (measurement) graphical displays were used to identify small groups of discrepant observations. Single measurement of a group of stones to determine the cultivar stone weight, compared to the weight obtained by measurement of individual stones, showed no differences for 'Cordovil de Serpa' and 'Verdeal de Serpa'. However this procedure can lead to a medium endocarp weight different than it will be if data dispersion were considered. It's crucial to complete and reorganize the best knowledge of the high diversity of genetic resources of the olive tree. The conservation, identification and characterization of olive cultivars are able to play a key role to national olive growing to meet the new economic and sustainable demands.

Key words: autochthonous cultivars; endocarp; morphologic characterization; *Olea europaea* L.; UPOV Test Guidelines.

Abreviaturas, Siglas e Acrónimos

ADN – Ácido desoxirribonucleico

CNV – Catálogo Nacional de Variedades

CPRCO – Coleção Portuguesa de referência de cultivares de oliveira

CPVO – Instituto Comunitário das Variedades Vegetais (em inglês *Community Plant Variety Office*)

DGAV – Direção Geral de Alimentação e Veterinária

DRAP – Direções Regionais de Agricultura e Pescas

g – gramas

ICVV – Instituto Comunitário das Variedades Vegetais

INE – Instituto Nacional de Estatística

INIAV – Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária

I.P. – Instituto Público

IPGRI – Instituto Internacional de Recursos Genéticos Vegetais (em inglês *International Plant Genetic Resources Institute*)

M– Medição

MG – Medição de um grupo de órgãos da planta

mm – milímetros

MS – Medição singular de órgãos da planta

OCDE – Organização de Cooperação e Desenvolvimento Económico

PNRGV – Plano Nacional para os Recursos Genéticos Vegetais

PQ – pseudo-qualitativas

QL – Qualitativas

QN – Quantitativas

S – Singular

UE – União Europeia

UPOV – União Internacional para a Proteção das Obtenções Vegetais

V – Visual

VG – Observação visual de um grupo de órgãos da planta

VS – Observação visual de órgãos singulares

Índice Geral

Agradecimentos.....	i
Resumo.....	ii
Abstract.....	iii
Abreviaturas, Siglas e Acrónimos.....	iv
Índice Geral.....	vi
Índice de Tabelas.....	viii
Índice de Figuras.....	ix
1. Introdução e Objetivos.....	1
1.1. Introdução.....	1
1.2. Objetivos.....	2
2. Revisão Bibliográfica.....	3
2.1. A oliveira e a Humanidade.....	3
2.2. A expansão da cultura da oliveira.....	3
2.3. O olival no mundo.....	4
2.4. A olivicultura em Portugal.....	5
2.4.1. Regiões olivícolas.....	5
2.4.2. Cultivares autóctones.....	6
2.5. A necessidade de caracterizar os genótipos de oliveira.....	7
2.6. Caracterização primária, secundária e molecular.....	8
2.7. Bancos de Germoplasma de <i>Olea europaea</i> L.....	9
2.7.1. Preservação da diversidade varietal em Portugal.....	9
2.8. Evolução das metodologias para a caracterização da oliveira.....	10
2.8.1. Surgimento do ICVV / CPVO.....	12
2.8.2. Direção Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV).....	13
2.9. Metodologia UPOV, <i>Olea europaea</i> L. (TG/99/4 de 2011).....	14
2.9.1. Material utilizado.....	14
2.9.2. Método de análise.....	15
2.9.3. Avaliação DUS (distinção, uniformidade e estabilidade).....	15
2.10. Oliveira: a espécie e alguns aspetos da sua morfologia.....	16
2.10.1. Tronco.....	16
2.10.2. Folhas.....	17
2.10.3. Frutos.....	17
2.10.4. Endocarpos.....	18

3. Materiais e Métodos.....	19
3.1. Caraterização da parcela experimental.....	19
3.1.1. Delineamento experimental da Parcela de Avaliação	20
3.2. Material vegetal	20
3.3. Caraterização do clima da região	21
3.4. Preparação dos endocarpos	23
3.5. Metodologia UPOV, <i>Olea europaea</i> L. – TG/99/4 (UPOV, 2011)	25
3.5.1. Familiarização /introdução à Tabela de Caraterísticas	27
3.6. Caraterização Morfológica dos endocarpos	28
3.7. Validação dos dados.....	31
3.7.1. Verificação da qualidade dos dados	32
3.7.2. Comparar os métodos de observação	32
3.7.3. Correspondência entre os registos de medição (M) e os níveis /notas de expressão UPOV	33
4. Resultados	35
4.1. Qualidade dos dados	37
4.1.1. Características pseudo-qualitativas.....	37
4.1.2. Características quantitativas	39
4.1.3. Distribuição normal dos dados.....	42
4.2. Método de observação	44
5. DISCUSSÃO	46
6. CONCLUSÕES.....	50
7. Bibliografia	51
Anexo I	54

Índice de Tabelas

Tabela 2.1. - Distribuição da superfície de olival por continentes e por destino do fruto 2019 (Vilar <i>et al.</i> , 2019).	4
Tabela 3.1. – Distribuição por tipos das características observadas ao nível do endocarpo.....	29
Tabela 4.1. – Peso médio (g) do endocarpo de cultivares de oliveira segundo uma medição individual de cada órgão (MS) ou uma única medição do número total de órgãos (MG).	45

Índice de Figuras

Figura 2.1. - Evolução da área de olival (ha) em Portugal continental entre os anos 2000 e 2018 (Vilar <i>et al.</i> , 2019).....	6
Figura 2.2. – Diversidade morfológica em folhas de oliveira (Inês & Cordeiro, 2017).	17
Figura 2.3. – Diversidade morfológica na expressão do mamilo em frutos de oliveira segundo o TG/99/4 (UPOV, 2011).....	17
Figura 2.4. - Diversidade morfológica em endocarpos de azeitonas.	18
Figura 3.1.- Parcela de Avaliação I (delineada a amarelo) que se situa na Herdade do Reguengo do INIAV, I.P. em Elvas	19
Figura 3.2. - Esquema exemplo da distribuição das oliveiras de um determinado genótipo instalados na CPRCO, INIAV, I.P., Elvas.....	20
Figura 3.4. – Gráfico termopulviométrico da região de Elvas para o período 1982-2012.	22
Figura 3.5. - Processo de descaroçamento dos endocarpos.	24
Figura 3.6.- Observação do fruto (à esquerda) e do endocarpo (à direita) na posição A e na posição B de acordo com o TG/99/4 (UPOV, 2011).....	25
Figura 3.7. - Forma do endocarpo na posição B, segundo os descritores do Documento TG/99/4 (UPOV, 2011).....	30
Figura 3.8. – Medição do comprimento (à esquerda) e medição da largura na posição B (à direita).....	31
Figura 4.1. – Diversidade fenotípica em endocarpos de seis cultivares autóctones de oliveira. A, ‘Azeiteira’; B, ‘Cobrançosa’; C, ‘Galega Vulgar’; D, ‘Blanqueta de Elvas’; E, ‘Cordovil de Serpa’; F, ‘Verdeal de Serpa’.....	35
Figura 4.2.- Perfil morfológico para as características do endocarpo de seis cultivares autóctones de oliveira.....	36
Figura 4.3. – Histogramas da forma do ápice do endocarpo na posição A de seis cultivares de oliveira.....	37
Figura 4.4. – Histograma da forma da base do endocarpo na posição A de seis cultivares de oliveira.....	38
Figura 4.5.- Diagrama de Caixa-e-bigodes para o comprimento do endocarpo (mm) de seis cultivares de oliveira. Estão representados todos os valores de comprimento tomados nas amostras colhidas para cada uma das cultivares.....	40
Figura 4.6- Diagrama de Caixa-e-bigodes para a largura do endocarpo (mm) na posição B de seis cultivares de oliveira. Estão representados todos os valores de larguras tomados nas amostras colhidas para cada uma das cultivares.....	40
Figura 4.7.- Diagrama de Caixa-e-bigodes para o peso do endocarpo (g) de seis cultivares de oliveira. Estão representados todos os valores de peso tomados nas amostras colhidas para cada uma das cultivares.....	41

Figura 4.8 – Histograma (A) e diagrama Q-Q Normal (B) para a largura do endocarpo na posição B da cultivar ‘Cobrançosa’. Estão representados todos os valores tomados na amostra.	42
Figura 4.9. – Histograma (A) e diagrama Q-Q Normal (B) para o peso do endocarpo da cultivar ‘Cobrançosa’. Estão representados todos os valores tomados na amostra.	43
Figura 4.10. – Histograma (A) e diagrama Q-Q Normal (B) para o peso do endocarpo da cultivar ‘Cobrançosa’, representado pelo logaritmo natural do peso, $\ln(\text{peso})$. Estão representados todos os valores tomados na amostra.	44

I. Introdução e Objetivos

I.1. Introdução

A Península Ibérica, em comparação com a maioria das outras regiões da Europa, tem sido referida como uma das regiões que mais será afetada pelas alterações climáticas. Os efeitos mais mencionados são o aumento da temperatura e menor precipitação total anual, com episódios de chuva mais concentrados (Cordeiro & Inês, 2018). Um cenário assim terá consequências ao nível da capacidade produtiva das plantas, nomeadamente da oliveira e das várias cultivares existentes. Intensos períodos de alternância de produções, baixo vigoramento dos frutos ou mesmo ausência de produção poderão tornar-se episódios recorrentes. A substituição de genótipos poderá ser a melhor solução para continuar a ter uma olivicultura competitiva e cada vez mais sustentável e em sintonia com a preservação do ecossistema. Genótipos melhor adaptados ao meio requerem menos *inputs* (rega, nutrientes, fitofármacos...) para atingir e manter os níveis de produção desejados.

As circunstâncias edafoclimáticas causam distinta revelação do potencial genético de uma mesma cultivar, não só ao nível agronómico e tecnológico, mas inclusivamente ao nível da morfologia da planta. E aqui estão incluídos parâmetros como por exemplo o vigor da árvore, a forma das folhas, peso e forma dos frutos assim como dos endocarpos.

Um dos pontos fortes do setor olivícola em Portugal assenta na enorme diversidade existente de cultivares autóctones. Porém não basta existirem muitas. Esses materiais têm de ser conhecidos, identificados e a informação devidamente registada para não se “perderem no esquecimento”. A proteção, conservação e caracterização das cultivares autóctones é fundamental, e para isso tem de ser estabelecido um Banco de germoplasma da espécie.

No INIAV, I.P., Elvas, Herdade do Reguengo, foi criada a Coleção Portuguesa de Referência de Cultivares de Oliveira e plantadas duas parcelas de avaliação de materiais em 2012. Numa dessas parcelas, a quase totalidade das oliveiras são de genótipos autóctones provenientes das principais regiões olivícolas do país. Desde então, têm-se vindo a desenvolver estudos de caracterização primária (morfológica) e secundária (agronómica) da diversidade varietal autóctone de oliveira, paralelamente a aspetos da

caracterização molecular e outros estudos no sentido da valorização e afirmação de materiais no leque de opções dos olivicultores.

1.2. Objetivos

A correta caracterização, identificação e avaliação dos materiais é indispensável para valorizar e proteger as cultivares autóctones alvo de reputações pouco fundamentadas e substituídas, por vezes, quase “às cegas” por cultivares estrangeiras (Inês & Cordeiro, 2019). As cultivares de oliveira autóctones do Alentejo são de enorme importância para a diferenciação e valorização dos azeites (e azeitona de conserva) desta região e por isso foram selecionadas seis das mais importantes no sentido de aprofundar e tornar mais rápida a avaliação e análise de aspetos da caracterização morfológica do endocarpo segundo a metodologia UPOV – TG/99/4 de 2011.

Para este trabalho experimental delinearão-se os seguintes objetivos principais:

- Preparação de endocarpos a partir das respetivas amostras de frutos;
- Execução da metodologia de caracterização morfológica, para dominar as técnicas de observação e registo da diversidade fenotípica encontrada;
- Avaliação da qualidade dos dados e perspicácia na identificação de erros;
- Análise de vantagens e desvantagens da caracterização realizada ou para cada endocarpo individualmente ou um único registo após a observação e/ou medição geral da amostra.

2. Revisão Bibliográfica

2.1. A oliveira e a Humanidade

A oliveira tem acompanhado a História da Humanidade e funde-se com a tradição e a cultura dos povos mediterrânicos perdendo-se no tempo a sua origem. O vínculo ficou expresso nos diversos componentes da vida das pessoas desde a alimentação, usos medicinais, passando pela arte, e até na religião. Os egípcios, em 6 000 a.C., atribuíam a Ísis mulher de Osíris, Deus supremo da sua mitologia, o mérito de ensinar a cultivar a oliveira. A árvore era símbolo de imortalidade, sabedoria, paz, abundância e triunfo. A oliveira é presença ativa na mitologia grega, na Bíblia e no Alcorão. O sumo do seu fruto, o azeite, que os árabes chamavam *az-zait*, faz parte da trilogia dos produtos sagrados de religiões monoteístas, a par do pão e do vinho (Reis, 2014).

2.2. A expansão da cultura da oliveira

A domesticação da oliveira iniciou-se nas épocas Paleolítica e Neolítica, possivelmente na Mesopotâmia, passando para o Egito, ilhas da Ásia Menor, Grécia Continental, Assíria e difundiu-se pela bacia do Mediterrâneo a partir do século VI a.C. (Reis, 2014). A vinda para a Península Ibérica deveu-se nomeadamente ao Romanos e aos Fenícios. O azeite assumiu um papel de destaque no comércio nacional. Há referência, num foral da cidade de Silves de 1266, que o azeite figurava como moeda de troca comercial. Durante os Descobrimentos os portugueses, e outros navegadores, levaram a oliveira e os seus produtos para regiões sem tradição olivícola.

As populações de formas selvagens de oliveira, mais ou menos numerosas e localizadas no centro de origem da espécie, foram o ponto de partida para a domesticação e posterior exportação de genótipos (Cordeiro & Inês, 2018). A oliveira passou por uma seleção varietal empírica, realizada localmente, dos genótipos que mostravam as características mais valorizadas. Os materiais que ganhavam mais importância e interesse eram os eleitos para proceder à multiplicação vegetativa.

O tempo de seleção varietal da oliveira, possivelmente, ocorreu num número reduzido de gerações e, portanto, as atuais cultivares não estão geneticamente muito distantes dos seus progenitores ancestrais (Inês & Cordeiro, 2017).

2.3. O olival no mundo

O olival apresentou uma disseminação pelos países da Bacia Mediterrânica de Oriente para Ocidente. Segundo Escobar *et al.* (2017) o habitat do olival concentra-se entre as latitudes 30° e 45°, tanto no hemisfério Norte como no hemisfério Sul, em regiões climáticas do tipo Mediterrâneo. Atualmente a instalação e exploração de olival está presente em mais de 40 países (Escobar *et al.*, 2017).

A produção de azeite, a nível mundial, está limitada principalmente por questões edafoclimáticas, em virtude das necessidades de frio da oliveira para completar o seu ciclo reprodutivo (Cordeiro & Inês, 2018; Cordeiro & Martins, 2002). Atualmente, cerca de 95% da superfície oleícola mundial está concentrada na Bacia Mediterrânica (países dos continentes Africano, Asiático e Europeu), como se pode constatar na tabela 2.1..

Tabela 2.1. - Distribuição da superfície de olival por continentes e por destino do fruto 2019 (Vilar *et al.*, 2019).

Continentes	Superfície olival		Mesa		Azeite	
	Hectares	% do total	Hectares	% no continente	Hectares	% no continente
África	3.634.660	31,36%	510.142	14,04%	3.124.518	85,96%
América	325.019	2,80%	108.185	33,29%	216.834	66,71%
Ásia	1.456.483	12,57%	267.658	18,38%	1.188.826	81,62%
Europa	6.130.582	52,90%	652.718	10,65%	5.477.864	89,35%
Oceânia	42.653	0,37%	1.288	3,02%	41.365	96,98%
Total	11.589.397	100%	1.539.990	13,29%	10.149.406	86,71%

Só os países produtores da União Europeia (Espanha, Itália, França, Grécia, Portugal, Chipre, Croácia, Eslovénia e Malta) são responsáveis por 64% da produção a nível mundial. Os outros principais países produtores são a Tunísia (10%), a Turquia (7%), a Síria (4%), Marrocos (5%) e a Argélia (3%) (Casa do Azeite, 2019).

2.4. A olivicultura em Portugal

A produção olivícola é, e foi, muito importante para o desenvolvimento socioeconómico das regiões do interior de Portugal. A maior mudança na olivicultura ocorreu na segunda metade do séc. XIX com a instalação de olivais alinhados. A oliveira era a cultura predileta para as encostas, em virtude da rusticidade da espécie, e as planícies férteis dedicadas ao trigo e outros cereais (Marques, 2018).

Em 1954, o património oleícola nacional era composto por 570 000 ha de oliveiras, repartidos por quase todo o território nacional. O êxodo rural, em simultâneo com o desenvolvimento industrial, causaram a redução progressiva de mão-de-obra para a olivicultura. De produções da ordem das 90.000 toneladas nos anos 50 do séc. XX, passou-se para valores médios de cerca de 35.000 toneladas nos anos 80 (Casa do Azeite, 2019).

Em 1995 a superfície olivícola não ultrapassava os 340 000 ha (COI, 2009). No contexto da Política Agrícola Comum (PAC) outras culturas (cereais, pecuária...) apresentavam-se como soluções mais rentáveis no curto prazo aos agricultores (Pinto, 2007). No início do séc. XXI, o Ministério da Agricultura adotou uma série de medidas com vista a encorajar os agricultores a reconverter os olivais existentes e a plantar mais área de olival (COI, 2009).

A nível mundial, Portugal é o nono país com maior área de olival, o sétimo maior produtor de azeitona e o oitavo maior produtor de azeite (COI, 2019). Comparativamente ao início do século, o olival está diferente nas técnicas de manejo da cultura e principalmente na densidade de plantação. Em 1999, o olival tradicional ocupava a quase totalidade da área de olival. Atualmente, o olival tradicional ocupa 134 mil ha (37,2% do total), o olival intensivo ocupa 119 mil ha (33,2%) e o olival de alta densidade, superintensivo ou em sebe ocupa 108 mil ha (29,6%) (COI, 2019). Nos últimos 20 anos, o olival português passou por uma profunda transformação: de um olival tradicional e timidamente competitivo converteu-se num olival moderno e eficiente (COI, 2019).

2.4.1. Regiões olivícolas

Em algumas regiões o olival foi estabelecido como uma cultura fundamental para a dinamização da agricultura.

Contudo, é possível encontrar oliveiras por todo o território nacional.

As principais regiões olivícolas de Portugal são o Alentejo (Alto e Baixo Alentejo), a Terra Quente em Trás-os-Montes, a Beira Baixa, a Beira Alta e o Ribatejo. É no olival tradicional destas regiões que se encontra a maior riqueza em diversidade varietal autóctone, e onde o risco de erosão genética também é maior (Inês & Cordeiro, 2017). É no Alentejo que a área agrícola destinada à olivicultura mais tem evoluído nos últimos cerca de vinte anos como representa a figura 2.1. Naturalmente, é também a região que mais azeitona e azeite produz.

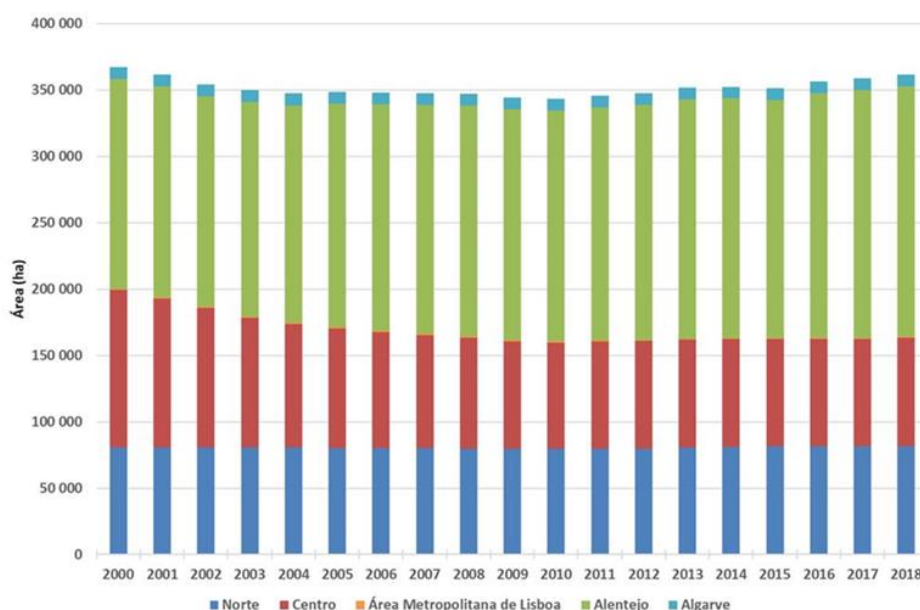


Figura 2.1. - Evolução da área de olival (ha) em Portugal continental entre os anos 2000 e 2018 (Vilar et al., 2019).

Nota: região do Alentejo a verde.

Em 2018, o Alentejo produziu 76% da azeitona produzida em Portugal, três vezes mais do que em 1999, quando os registos foram de 25,3% da produção total (Silva, 2019). Contribuiu para esta posição do Alentejo no panorama olivícola nacional as extensas áreas de planície, o empreendimento de regadio do Alqueva e a reconversão de olivais tradicionais em explorações mais intensivas e modernizadas.

2.4.2. Cultivares autóctones

A riqueza varietal autóctone de oliveira em Portugal é imensa, o que se reflete nos azeites e azeitonas de conserva típicos de cada região. Compõem esta imensa

diversidade genética as formas selvagens da espécie e as formas domesticadas com as suas cultivares e denominações varietais mais ou menos difundidas pelo território nacional.

As cultivares autóctones (formas domesticadas) que prevalecem nos olivais de cada uma das regiões olivícolas são características dessa região e, geralmente, não são dominantes nas outras regiões (Inês & Cordeiro, 2017). Existem as cultivares principais, as cultivares secundárias e as cultivares locais ou denominações varietais. O grande fator de diferenciação destas classificações tem a ver com o grau de difusão ou dispersão dos materiais. Para ser uma cultivar principal é porque existem olivais desses materiais em todas as regiões olivícolas do país. No caso de cultivares secundárias existem olivais desses materiais, mas os mesmos extinguem-se numa área de um até dois ou três concelhos vizinhos. As cultivares locais são os materiais menos difundidos e a sua representatividade pode ser apenas ao nível de uma freguesia e/ou pés singulares desse genótipo em pequenas explorações agrícolas familiares.

Em Portugal, as duas cultivares principais portuguesas de oliveira são a ‘Cobrançosa’ e a ‘Galega Vulgar’. Entre as cultivares secundárias enumeram-se por exemplo a ‘Azeiteira’ ou ‘Azeitoneira’, a ‘Blanqueta de Elvas’, a ‘Carrasquenha de Elvas’, a ‘Conserva de Elvas’, a ‘Cordovil de Elvas’, a ‘Cordovil de Serpa’ ou ‘Cordovil de Moura’, a ‘Galego Grado de Serpa’, a ‘Redondil’, a ‘Verdeal de Serpa’ ou ‘Verdeal Alentejana’ e a ‘Maçanilha Algarvia’ (Leitão *et al.*, 1986; Perestrelo, 2008). Entre as cultivares estrangeiras que têm assumido grande importância no sector destaca-se a espanhola ‘Arbequina’, seguida de materiais como ‘Arbosana’, ‘Picual’, ‘Koroneiki’ e alguma ‘Hojiblanca’ (Silva, 2019).

2.5. A necessidade de caracterizar os genótipos de oliveira

Em algumas centenas de anos, e com um número reduzido de gerações, a diversidade genética em oliveira gerada nos países da Bacia Mediterrânica foi enorme (Inês & Cordeiro, 2017). Aos materiais ou cultivares que começavam a adquirir importância era necessário atribuir-lhes uma designação para os discriminar dos demais. Ao serem levados para outras regiões, onde também a sua plantação assumisse importância, seria muito provável que outras designações – sinónimas – para aquele mesmo genótipo surgissem (Inês & Cordeiro, 2019). Deste modo foram surgindo, naturalmente, nas várias regiões olivícolas situações de sinónimas e homónimas. Por exemplo existem

referências do século XVIII a um material na região de Coimbra designado por ‘Durazia’, o qual parece apontar para o que atualmente se conhece por ‘Galega Vulgar’ (Inês & Cordeiro, 2017). O facto de a ‘Galega Vulgar’ ser uma cultivar oriunda de viveiros da região de Coimbra também corroboram a hipótese anterior. Contudo Cordeiro *et al.* (2014) referem que Almeida (1982) sugeriu que a ‘Durazia’ de Coimbra seria uma cultivar da região do Ribatejo, a ‘Lentrisca’ ou ‘Lentisca’, e que nada tem a ver com a ‘Galega Vulgar’.

A correta identificação de situações ambíguas relativamente à designação de materiais de oliveira é uma tarefa complexa mesmo apenas ao nível de uma única região tradicionalmente olivícola. Quando se estende este objetivo para o panorama nacional e depois internacional toma níveis de complexidade, exigência e morosidade muito elevados.

2.6. Caracterização primária, secundária e molecular

Os procedimentos legais para qualificar e identificar cultivares em fruteiras estão assentes na caracterização morfológica e estudo de aspetos do fenótipo de acordo com os descritores da UPOV e do IPGRI (*International Plant Genetic Resources Institute*).

Os métodos de caracterização e identificação de cultivares baseados no estudo do fenótipo tornam-se por vezes demorados devido à longa fase juvenil das árvores quando provêm de semente (Alves, 2007) ou, para as plantas obtidas por multiplicação vegetativa, do número de anos após plantação até à primeira produção. As más práticas culturais, como uma poda muito intensa ou mal efetuada, condicionam a realização de uma caracterização correta, por retardarem o desenvolvimento da planta (Cançado *et al.*, 2012).

Os marcadores moleculares em *Olea europaea L.* têm sido utilizados em estudos sobre a migração da espécie entre os diferentes continentes (Cançado *et al.*, 2012). Tornaram-se ferramentas muito fortes na análise da multiplicidade genética. Segundo Simões e Mendonça (2016) existem diferentes tipos de marcadores moleculares e, portanto, quando se fala em caracterização molecular é necessário ter em conta se os autores desses trabalhos seguiram igual metodologia. Outra aplicabilidade da biologia molecular é se determinados marcadores moleculares permanecerem relacionados com

características de interesse, esses marcadores tornam-se importantes na rapidez dos programas de melhoramento (Alves, 2007).

Ainda não existe uma metodologia de caracterização da oliveira perfeita. A caracterização molecular, atualmente, oferece a vantagem de abreviar a seleção de materiais numa fase muito juvenil como sucede no melhoramento, mas não está suficientemente desenvolvida para caracterizar e identificar cultivares. A caracterização molecular recorre a marcadores num número limitado e, portanto, o facto de dois materiais coincidirem em todos os marcadores analisados não garante que se trate da mesma cultivar. A resposta conclusiva advém da caracterização primária (morfológica) e secundária (agronómica).

2.7. Bancos de Germoplasma de *Olea europaea* L.

Os Bancos de Germoplasma de Oliveira são geralmente coleções de árvores estabelecidas *ex situ*. Na maioria dos países olivícolas da região Mediterrânica existe este tipo de projetos para a conservação, preservação e valorização da variabilidade genética de oliveira existente. Em oliveira, enumeram-se 23 Coleções Nacionais (em Portugal é a CPRCO) e 3 Coleções Mundiais: em Córdova (Espanha), em Marrakech (Marrocos) e em Ismir (Turquia).

A plantação dos genótipos em coleção *ex situ* permite que esses materiais manifestem potencialidades genéticas anteriormente ocultas ou condicionadas pelo meio. De um conjunto de materiais, sujeitos às mesmas condições de solo, clima e manejo da cultura como acontece numa Coleção, determinado genótipo pode manifestar um comportamento que promova a sua imediata divulgação ou então ser selecionado para progenitor num programa de melhoramento genético (Inês & Cordeiro, 2017).

2.7.1. Preservação da diversidade varietal em Portugal

O Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV) I.P, em 2014, elaborou a primeira proposta para o Plano Nacional para os Recursos Genéticos Vegetais (PNRGV). A diversidade intervietal em oliveira está instalada *ex situ* em coleção de campo localizada na Herdade do Reguengo do INIAV Pólo de Elvas e inclui 134 denominações varietais – Coleção Portuguesa de Referência de Cultivares de Oliveira (CPRCO) (MAM, 2015). São três, as parcelas experimentais que constituem a

CPRCO, uma das parcelas é para a Conservação e Preservação dos materiais e as outras duas parcelas para a Avaliação da diversidade instalada.

A diversidade intravarietal das cultivares – ‘Cobrançosa’ e ‘Galega Vulgar’, prospectada nas principais regiões olivícolas portuguesas, foi instalada em parcelas experimentais estabelecidas em propriedades particulares – Quinta do Escarambunheiro (Mirandela) e em Veiros (Estremoz). Um duplicado desta diversidade também está conservada no INIAV Polo de Elvas, na Escola Superior Agrária de Santarém e na Companhia das Lezírias. Para a cultivar ‘Negrinha do Freixo’ foi estabelecida uma coleção na DRAPN, Quinta do Valongo, Mirandela. Um duplicado desta coleção também foi estabelecido no INIAV Polo de Elvas (MAM, 2015) e finalmente fazer referência a uma coleção de oliveiras procedentes de semente das cultivares ‘Galega Vulgar’ e ‘Cobrançosa’ em polinização livre. No Arquipélago da Madeira existe também uma população nativa da família das Oleaceas, género *Olea* spp, a *Olea maderensis* (Lowe) Rivas Mart. & del Arco bastante frequente também nas ilhas Desertas e Porto Santo. De acordo com alguns autores esta espécie nativa do arquipélago trata-se de uma subsp. de *Olea europaea* (MAM, 2015).

2.8. Evolução das metodologias para a caracterização da oliveira

Cordeiro *et al.* (2014) fazem referência a um trabalho de Sá do ano de 1791, circunscrito ao distrito de Moncorvo, em que um conjunto de 13 materiais terá sido submetido a uma classificação baseada em características morfológicas como a dimensão do pedúnculo e o tamanho dos frutos. Desse conjunto de “variedades” foi assim considerada a presença em alguns casos de “subvariedades”. Os mesmos autores (Cordeiro *et al.*, 2014) referem um trabalho mais recente de Ciferri *et al.* (1942) no qual foi estabelecido um esquema descritivo de cultivares de oliveira bastante ambicioso e robusto para a época uma vez que integrava características morfológicas e agronómicas. A metodologia foi aplicada em materiais de oliveira existentes em Toscana (Itália) e como resultado foram identificadas 70 cultivares.

Nos países de tradição olivícola foram surgindo tentativas de elaboração e implementação de procedimentos com vista à caracterização e identificação da diversidade genética intervartietal existente. Porém, não era possível garantir se os materiais eram os mesmos ou eram diferentes. Por exemplo, a mesma cultivar

estabelecida em diferentes regiões olivícolas muito provavelmente irá apresentar variações em diversas características morfológicas e também agronómicas (Cordeiro *et al.*, 2014). O vigor vegetativo e o porte das oliveiras podem variar em consequência das diferentes condições do meio (solo, humidade, ventos fortes...) que as plantas experimentam. Condições de stresse ambiental podem induzir variações mais profundas nos órgãos da planta, nomeadamente ao nível da morfologia das folhas, das inflorescências e dos frutos. Em oliveiras de sequeiro e num ano de pouca chuva o tamanho e a forma dos frutos podem apresentar-se bastante distintos do que é considerado o normal para aquela cultivar.

Uma metodologia internacional com vista à correta identificação do material vegetal de *Olea europaea* L. era crucial porque o intercâmbio de plantas dentro do mesmo país e entre países produtores (os tradicionais e os novos produtores) acompanhou o crescimento e a expansão do sector. Numa iniciativa do Conselho Oleícola Internacional (COI) e que abrangeu a maioria dos países da região Mediterrânea com tradição olivícola foi criado o projeto RESGEN 97-CT-01 (*Conservation, Caractérisation, Collecte et Utilisation des Ressources Génétiques de l'olivier*). Assim foi possível integrar o conhecimento dos respetivos centros de investigação e estabelecer um esquema de caracterização comum, baseado em características morfológicas (ou características primárias) e características secundárias, onde estão agrupadas características agronómicas, pomológicas, tecnológicas e mesmo aspetos da fenologia das plantas (COI, 1997).

Em Portugal, no ano de 2009, teve início uma parceria entre a revista Vida Rural e o autor coordenador da obra “Grande Livro das Castas – Portugal Vitícola”, Hans Jörg Böhm fundador da empresa PLANSEL. Neste novo projeto foi proposto um trabalho de identificação das variedades de oliveiras e o repto foi concretizado com a participação de uma equipa pluridisciplinar na área do sector olivícola, nomeadamente colaboradores do ex- L/INIA – INRB, atual INIAV, I.P., Elvas (documentação varietal técnica e científica, registo fotográfico em alta resolução e comportamento sanitário), o Prof. Dr. Pedro Fevereiro da ITQP/IBET/FCVL (identificação molecular e verificação de sinónimas e homónimas), o Prof. José Gouveia do ISA (descrição sensorial e analítica do azeite varietal), e o Prof. Dr. Augusto Peixe (capacidade de propagação vegetativa varietal). Em concordância com os diferentes participantes foi decidido reunir um total de 32 cultivares que seriam publicadas individualmente em cada nova edição da revista. As cultivares que foram objeto deste Relatório de Estágio também estavam incluídas no

conjunto de cultivares acordado, nomeadamente ‘Azeiteira’ (Cordeiro *et al.*, 2009a), ‘Blanqueta de Elvas’ (Cordeiro *et al.*, 2009b), ‘Cobrançosa’ (Cordeiro *et al.*, 2010a), ‘Cordovil de Serpa’ (Cordeiro *et al.*, 2010b), ‘Galega Vulgar’ (Cordeiro *et al.*, 2010c) e ‘Verdeal de Serpa’ (Cordeiro *et al.*, 2012).

Em 1961, em Paris, ocorreu a Convenção Internacional para a Proteção das Obtenções Vegetais. Esta Convenção criou a União Internacional para Proteção das Obtenções Vegetais (UPOV), uma organização intergovernamental sediada em Genebra (Suíça). Posteriormente realizaram-se revisões ao tratado inicial em 1972, 1978 e 1991. O objetivo maior da área de atuação da UPOV é o desenvolvimento de novas variedades vegetais que representem ou aportem uma mais-valia para a sociedade e paralelamente um sistema eficaz para a proteção dessas variedades. Desde então têm sido publicados os procedimentos a aplicar às espécies vegetais e as diretrizes para a oliveira foram publicadas no ano de 2011.

2.8.1. Surgimento do ICVV / CPVO

O Instituto Comunitário das Variedades Vegetais (ICVV) (em inglês: *Community Plant Variety Office*, CPVO) é uma agência da União Europeia, sediada em França mais precisamente na cidade de Angers. Esta agência foi criada no ano de 1995 com o intuito de incentivar a criação de novas variedades de plantas na UE, através do fornecimento de garantias para uma melhor proteção de propriedade intelectual dos respetivos obtentores. O ICVV coordena o maior sistema dos direitos de variedades vegetais no mundo, com base na revisão de 1991 da Convenção UPOV.

Numa análise efetuada pela UPOV, e descrita por Santos (2016), o sector da agricultura é, na generalidade dos países em vias de progresso, o principal pilar para a evolução económica e o sector que mais emprego gera, estimando-se que cerca de 80% da população destes países retira rendimento da agricultura. No entanto, o sector da agricultura não é, por si só, nestes países, suficientemente dinâmico para responder aos estímulos criados pelo desenvolvimento e assim diminuir a pobreza rural e os impactos das alterações climáticas. O maior constrangimento dos países em vias de desenvolvimento é não haver nem ter havido um melhoramento das variedades vegetais autóctones. Através do referido estudo da UPOV, pode-se concluir que o melhoramento das variedades vegetais nos países desenvolvidos, incitou um aumento dos rendimentos na agricultura, ao contrário do que acontece nos países em vias de

desenvolvimento. Estima-se que as variedades vegetais melhoradas tenham contribuído em 50% para o crescimento dos rendimentos da agricultura na Europa (Santos, 2016).

Desde 1995 foram tratados pelo ICVV mais de 68.000 pedidos de título de direito de variedades - das quais foram concedidos mais de 53.000 – e atualmente mais de 28.000 novas variedades de plantas estão protegidas na EU pelo ICVV (Bruins, 2020). Nos últimos 25 anos o ICVV recebeu pedidos de título de direito para variedades pertencentes a mais de 2.000 taxa botânicas (Bruins, 2020). Estes números refletem a determinação e zelo dos obtentores de variedades vegetais empenhados em comercializar os seus produtos detentores de alguma mais-valia, algo que os torna diferentes dos restantes.

Um dos principais fatores de sucesso de uma organização como o ICVV reside na sua capacidade de trabalhar em conjunto com a EU e as autoridades nacionais de cada país membro. O trabalho de cooperação alcança mesmo autoridades públicas fora da EU. Além disso o ICVV tem promovido uma relação construtiva com o setor privado mais interessado e/ou preocupado com esta temática. Recentemente, o presidente do ICVV – Martin Ekvad – numa entrevista à *Europeanseed* (Bruins, 2020) referiu que no Instituto que ele lidera estão convencidos de que as plantas têm um grande papel a desempenhar na abordagem aos atuais desafios de sustentabilidade. Novas variedades de plantas, adaptadas às necessidades ou condicionalismos do meio onde são colocadas, permitem que os agricultores produzam de forma mais saudável e usando menos recursos naturais, principalmente os mais escassos como a água e a superfície do solo, resistir a condições climáticas mais severas ou a ataques mais intensos de pragas e doenças.

2.8.2. Direção Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV)

Em Portugal, é da competência da DGAV, a inscrição de variedades no Catálogo Nacional de Variedades (CNV). O estudo e avaliação da distinção, homogeneidade/uniformidade e estabilidade (DUS) das variedades são efetuados com base em ensaios de campo e de laboratório. As características a observar baseiam-se nas recomendações dos princípios diretores do ICVV, da UPOV, da Organização de Cooperação e Desenvolvimento Económico (OCDE) e da DGAV.

No TG/99/4 (UPOV, 2011) são consideradas 41 características para a descrição de materiais de *Olea europaea* L. e algumas delas estão acompanhadas por um asterisco (*).

Este tem a função de indicar que a característica é muito discriminante e por isso essencial para a harmonização internacional de descrições de cultivares. No total são 24 características com (*) e devido à sua robustez nos testes DUS foram as adotadas para integrar o Questionário Técnico elaborado pela DGAV para os materiais vegetais desta espécie.

Os vários e obrigatórios Ensaio de Valor Agronómico são realizados no território nacional através da Rede Nacional de Ensaio coordenada pela DGAV, em colaboração estreita entre as Direções Regionais de Agricultura e Pescas (DRAP), o Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV) e outras entidades com as quais foram celebrados protocolos para o efeito.

2.9. Metodologia UPOV, *Olea europaea* L. (TG/99/4 de 2011)

O Guião ou Protocolo (em inglês: *Test Guidelines*, TG) onde estão estabelecidos os princípios a aplicar para a correta observação e análise dos testes de distinção, uniformidade e estabilidade (em inglês: *distinctness, uniformity and stability*, DUS) aplicável a todas as variedades de *Olea europaea* L. foi publicado no ano de 2011 com a referência TG/99/4, disponível para *download* na página web da UPOV (www.upov.int) em quatro línguas (inglês, francês, alemão e espanhol).

As plantas selecionadas e as condições de campo em que as mesmas estão implantadas para a realização dos testes DUS têm de cumprir um conjunto de normas ou obrigações acordadas pelas autoridades competentes. Essas diretrizes abrangem: a) o material utilizado; b) o método de análise; c) a avaliação de distinção, uniformidade e estabilidade; d) a seleção de variedades e o delineamento experimental; e e) a familiarização com a tabela das características a analisar.

2.9.1. Material utilizado

O requerente deve dispor no mínimo de 5 plantas em campo, e estas, salvo exceções determinadas pelas autoridades competentes, devem estar em pé-franco, ou seja, nas suas próprias raízes. As plantas devem estar sob condições que assegurem um ótimo desenvolvimento para a expressão de características varietais e por isso deve estar também assegurada uma boa sanidade vegetal, não apresentando sintomas de nenhuma praga ou doença importante ou grave. A aplicação de tratamentos deve ser cautelosa e ter em atenção que determinados componentes podem afetar a expressão de

características varietais. Novamente a última palavra pertence à autoridade competente e no caso de algum tratamento mais agressivo ser feito os detalhes dessa ação devem constar do questionário/relatório de caracterização final.

2.9.2. Método de análise

A duração prevista para os testes DUS é de dois ciclos de crescimento consecutivos. De qualquer forma podem ser necessários mais ciclos de crescimento, nomeadamente em situações de oliveiras com poucos anos de campo e com início da fase produtiva mais tardio. É essencial que as plantas tenham uma produção de frutos satisfatória em cada um dos anos analisados, e por vezes as primeiras produções são bastante heterogéneas (del Río & Caballero, 1994; Tous *et al.*, 2011).

Os testes DUS são normalmente efetuados num único local. Contudo estão previstos procedimentos para as situações em que é necessária a sua execução em mais do que um local. O delineamento experimental deve permitir ou assegurar que a remoção de órgãos das plantas para fins de medição ou contagem não comprometa as restantes e necessárias observações até ao final do ciclo de crescimento.

2.9.3. Avaliação DUS (distinção, uniformidade e estabilidade)

Por vezes, as diferenças observadas entre cultivares são tão evidentes que apenas um ciclo de crescimento poderia ser suficiente para garantir que se tratavam de materiais diferentes. Porém, as condições edafoclimáticas podem condicionar a expressão de características varietais (León *et al.*, 2020; Tous *et al.*, 2011; del Río & Caballero, 1994) e como tal são exigidos os dois ciclos de crescimento (podendo ser mais) para assegurar que as diferenças observadas são suficientemente consistentes. Determinar se as diferenças entre cultivares são fortes e evidentes depende, nomeadamente, do tipo de expressão de cada uma das características que foram analisadas.

No tópico Materiais e Métodos deste trabalho são mais detalhadamente desenvolvidos conceitos e procedimentos para a caracterização morfológica de materiais de oliveira, principalmente no que respeita aos endocarpos.

2.10. Oliveira: a espécie e alguns aspetos da sua morfologia

A oliveira (*Olea europaea* L.) pertence à família botânica Oleaceae e é uma angiosperma dicotiledónea (Rapoport, 2017). O género *Olea* compreende 35 espécies diferentes entre elas a *Olea europaea* L. que produz frutos comestíveis. Na espécie estão contempladas as formas cultivadas e as formas selvagens ou zambujeiros. Não existe propriamente consenso sobre como subclassificar tais formas, porém e de um modo geral considera-se que as cultivares, ou seja as formas cultivadas da espécie, pertencem à subespécie *sativa* (*Olea europaea* L. subsp. *sativa*) e as formas selvagens à subespécie *sylvestris* (*Olea europaea* L. subsp. *sylvestris*) (Rapoport, 2017).

Sendo este trabalho de relatório de estágio focado em aspetos da caracterização morfológica de cultivares (método UPOV), segue-se uma breve descrição sobre as partes ou órgãos da oliveira que mais peso têm para a elaboração dos testes DUS.

2.10.1. Tronco

O tronco da oliveira cresce em perímetro anual, mas a velocidade de crescimento, embora condicionada pelo meio, é uma característica varietal como o demonstram vários estudos em coleção (Henriques *et al.*, 2017; Inês *et al.*, 2017a; Inês *et al.*, 2018; León *et al.*, 2020). Henriques *et al.* (2017) reportaram diferentes áreas de seção do tronco para oliveiras de várias cultivares autóctones portuguesas plantadas na mesma parcela e no mesmo ano. Por exemplo a cultivar ‘Galega Vulgar’ apresentou ao 4.º ano após a plantação o dobro da área seccional do tronco da cultivar ‘Redondal’ (Henriques *et al.*, 2017).

Em árvores muito antigas, a camada interior do tronco pode apodrecer, deixando o interior do tronco com uma cavidade pronunciada. Este fenómeno pode não afetar drasticamente a produtividade e o crescimento da árvore, mas o tronco fica mais frágil e impossibilita a utilização de vibradores de tronco para a colheita da azeitona. Em árvores com rega, a madeira é mais macia e a casca mais fina do que em árvores de sequeiro (Seabra, 2018).

2.10.2. Folhas

A oliveira é uma espécie perenifólia, como tal as suas folhas persistem normalmente dois a três anos. As folhas são simples, inteiras, de pecíolo curto, limbo lanceolado e nervura central marcada, apresentando uma coloração verde-escura e brilham na página superior devido à espessa cutícula. Por sua vez, a página inferior tem uma cor branco-prateado porque está coberta por pêlos epidérmicos ou tricomas (Rapoport, 2017). De um modo geral, os habitantes de países com tradição olivícola, como é o caso de Portugal, sabem o que é a folha da oliveira e imediatamente formam uma imagem na sua cabeça da folha da oliveira padrão. Porém, as folhas podem apresentar uma vasta diversidade de formas, tamanhos e configurações como se vê na figura 2.2..



Figura 2.2. – Diversidade morfológica em folhas de oliveira (Inês & Cordeiro, 2017).

2.10.3. Frutos

O fruto da oliveira, a azeitona, botanicamente é uma drupa. Encontra-se pendurado no ramo pelo pé ou pedúnculo nas axilas das folhas (Rapoport, 2017). É composto por uma única semente e três tecidos primordiais: epicarpo, mesocarpo e endocarpo ou caroço (Rapoport, 2017).

Também para a azeitona existe uma imagem ou forma padrão, mas este órgão pode apresentar uma enorme diversidade de configurações e tamanhos. Um desses aspetos é



Figura 2.3. – Diversidade morfológica na expressão do mamilo em frutos de oliveira segundo o TG/99/4 (UPOV, 2011).

a presença de mamilo no ápice. Na figura 2.3. apresenta-se o exemplo da cultivar ‘Hojiblanca’ que não tem mamilo (1 – Ausente ou ligeiro) e a cultivar ‘Limoncillo’ que tem uma expressão forte dessa característica (3 – Forte).

2.10.4. Endocarpos

O endocarpo ou caroço é de tamanho mais ou menos pequeno e rijo, sendo o tecido mais interior da azeitona. As células e tecidos do endocarpo começam a diferenciar-se durante a primeira fase de crescimento do fruto. Ao final de seu crescimento em tamanho intensifica-se a deposição de lenhina (Rapoport & Moreno-Alías, 2017). Considera-se terminada a fase de endurecimento do endocarpo quando não se consegue dividir a azeitona por corte transversal por exemplo com um canivete.

De modo geral, os endocarpos apresentam várias formas, tamanhos e níveis de rugosidade como se pode verificar na figura 2.4..



Figura 2.4. - Diversidade morfológica em endocarpos de azeitonas.

Das 13 características que constituem os testes DUS – TG/99/4 (UPOV, 2011) – para a caracterização morfológica dos endocarpos ou caroços (ANEXO 1), 10 dessas características surgem com a anotação de um asterisco (*). O número total destas características é 24, o que significa que os endocarpos são os órgãos da oliveira que permitem maior diferenciação entre as cultivares.

3. Materiais e Métodos

3.1. Caracterização da parcela experimental

As oliveiras das cultivares estudadas, ao nível de aspetos da caracterização morfológica dos endocarpos, estão instaladas na Parcela de Avaliação I da Coleção Portuguesa de Referência de Cultivares de Oliveira (CPRCO) (Figura 3.1.). A CPRCO é da responsabilidade do INIAV, I.P., e está localizada na Herdade do Reguengo em Elvas. Além da Parcela de Avaliação I também constituem a CPRCO a Parcela de Avaliação 2 e a Parcela de Conservação / Preservação antigo Campo Pés-mãe. Este Campo fora instalado na década de 80 do século XX com o propósito de fornecer material vegetal para a atividade viveirista do Departamento de Olivicultura.



Figura 3.1.- Parcela de Avaliação I (delineada a amarelo) que se situa na Herdade do Reguengo do INIAV, I.P. em Elvas

As parcelas da CPRCO são regadas por gota-a-gota e o controlo de pragas e doenças obedece às Normas de Produção Integrada do Olival (DGADR, 2010). O controlo da flora espontânea realiza-se pela passagem de um destroçador na entrelinha e aplicação de herbicida na linha. No período de primavera, e nas Parcelas de Avaliação, é realizada uma passagem de poda, isto é, trata-se de uma poda de formação e/ou manutenção para eliminar ramos mal inseridos e para a eliminação da rebentação basal do tronco.

3.1.1. Delineamento experimental da Parcela de Avaliação

A Parcela de Avaliação I contém atualmente 56 genótipos, sendo cinco deles cultivares estrangeiras e desempenhando, nesta situação, essencialmente papel de cultivar testemunha. Os restantes 51 genótipos são materiais autóctones e repartem-se por cultivares principais, cultivares secundárias ou regionais, e denominações varietais.

A disposição dos materiais seguiu uma distribuição aleatória por blocos, num total de seis blocos. Os genótipos estão representados por duas plantas lado-a-lado em cada bloco, o que perfaz um total de doze plantas por cada material (Figura 3.2.). O compasso de plantação é de 7m na entrelinha e 5m na linha.

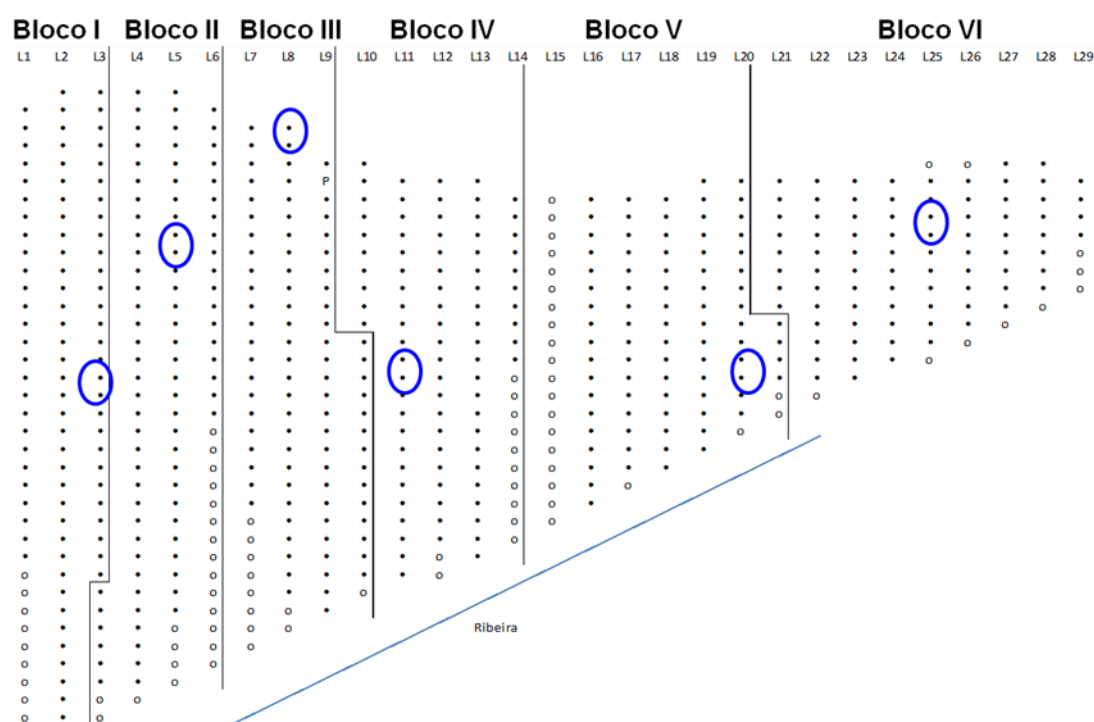


Figura 3.2. - Esquema exemplo da distribuição das oliveiras de um determinado genótipo instalados na CPRCO, INIAV, I.P., Elvas.

3.2. Material vegetal

Neste trabalho utilizaram-se dois grupos de genótipos de oliveira instalados na CPRCO. As oliveiras de todos eles são materiais monoclonal e estão plantadas assentes nas próprias raízes.

O primeiro grupo constituído por dezassete génotipos obtidos em ações de prospeção nas principais regiões olivícolas portuguesas. A caracterização destes materiais foi iniciada recentemente e o ano de 2019 correspondeu ao primeiro ciclo de crescimento examinado. A participação deste trabalho foi na remoção da polpa (descaroçamento) e limpeza dos endocarpos, para ser depois realizada a caracterização morfológica, segundo o procedimento descrito em TG/99/4 (UPOV, 2011).

O segundo grupo constituído pelas cultivares ‘Azeiteira’, ‘Blanqueta de Elvas’, ‘Cobrançosa’, ‘Cordovil de Serpa’, ‘Galega Vulgar’ e ‘Verdeal de Serpa’. As oliveiras de todas elas foram plantadas na Parcela de Avaliação I em junho de 2012. Para este grupo de materiais já estava concluída a caracterização morfológica da cultivar e por isso pareceu oportuno analisar aspetos práticos da compilação e análise dos dados obtidos no endocarpo.

3.3. Caracterização do clima da região

O Clima é o conjunto de estados do tempo que caracterizam uma determinada região e um dos principais elementos de classificação de um ecossistema e/ou vegetação. A Organização Mundial de Meteorologia recomenda que a análise climática seja efetuada de 30 em 30 anos.

Em Elvas, segundo a classificação climática de Köppen-Geiger (figura 3.3.), a classificação

do clima é “Csa”, que representa um clima Mediterrânico, com verão quente e seco e inverno frio (IPMA, 2020).

Apresenta-se oportuno e expedito averiguar com maior detalhe o comportamento das variáveis climáticas temperatura e precipitação para a região de Elvas. Um gráfico termopluviométrico permite representar simultaneamente a variação da temperatura e da precipitação ao longo do ano.

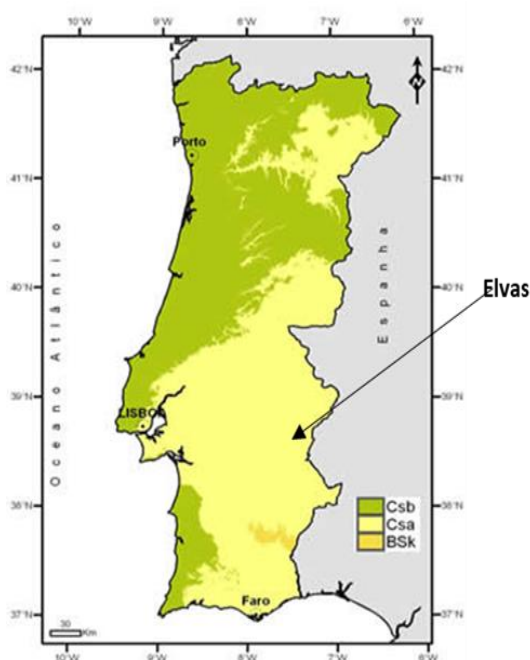


Figura 3.3. – Classificação climática de Köppen-Geiger para Portugal continental.

Na Figura 3.4. apresenta-se a representação gráfica

termopluiométrica da região de Elvas para o período de tempo entre 1982 e 2012. Os meses cujas barras representativas da precipitação se encontram abaixo da linha da temperatura média correspondem a meses secos, pelo contrário, quando as barras superam a linha da temperatura média correspondem a meses húmidos.

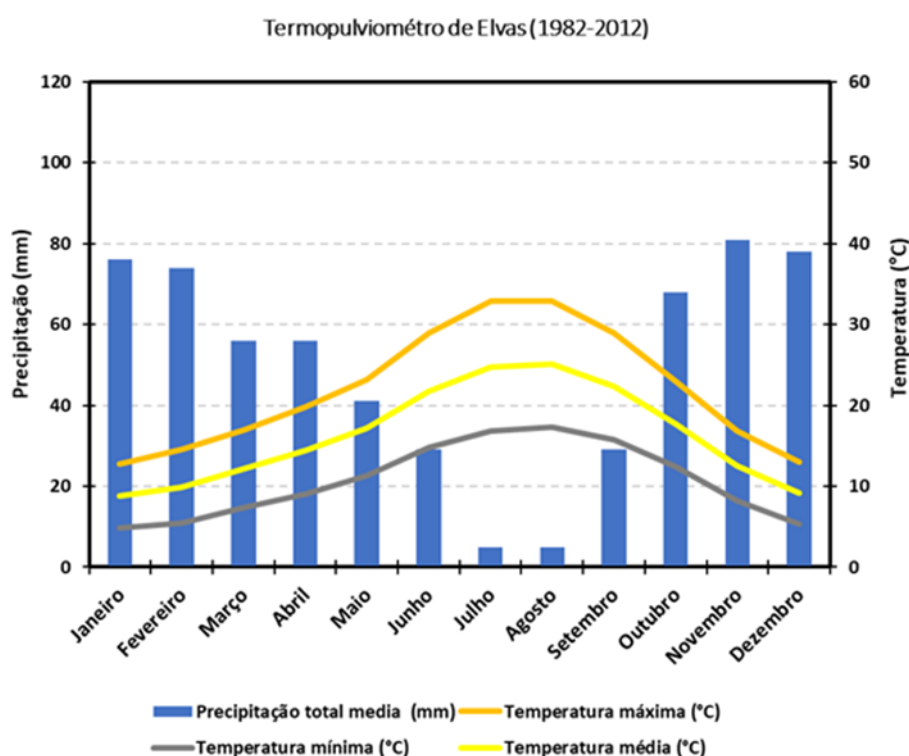


Figura 3.4. – Gráfico termopluiométrico da região de Elvas para o período 1982-2012. (fonte: <https://pt.climate-data.org/europa/portugal/elvas/elvas-7061/>)

Elvas apresenta uma secura estival acentuada, com temperaturas elevadas, podendo chegar a atingir os 45°C. No outono, e principalmente no inverno, o frio pode ser bastante rigoroso, com alguma precipitação e as geadas matinais frequentes, em resultado de temperaturas negativas durante a noite. A temperatura média anual é de 16.3 °C e a pluviosidade média anual de 598 mm (IPMA, 2020).

3.4. Preparação dos endocarpos

De acordo com o procedimento estipulado pela UPOV para a espécie *Olea europaea* L. – Documento TG/99/4 (UPOV, 2011) – a maioria das observações ao nível do fruto devem ser feitas em frutos maduros e na época de colheita. Considera-se época de colheita, e em concreto para esta finalidade, quando 80% dos frutos na árvore já mudaram de cor. As observações ao nível do endocarpo devem ser realizadas com os caroços da mesma amostra utilizada para a análise de variabilidade morfológica dos frutos.

Para as observações do endocarpo é necessário que os caroços estejam secos e completamente livres de restos de polpa de azeitona. Após a caracterização das amostras de frutos seguiu-se o procedimento da remoção da polpa. Para o descaroçamento temos uma amostra de 50 frutos (figura 3.5. A) intactos e no estado de maturação ideal para cada cultivar. Utilizou-se um descaroçador manual de cerejas (figura 3.5. B). Colocam-se os frutos um a um no descaroçador (figura 3.5. C) e depois pressiona-se a alavanca para assim a ponteira metálica perfurar a polpa e expulsar o caroço (figura 3.5. D e E). Previamente coloca-se uma caixa por baixo deste equipamento para a qual irá cair o endocarpo (figura 3.5. F).

Depois desse processo aos endocarpos é adicionada água (figura 3.5. G), para ir apodrecendo a polpa. Esta etapa dura cerca de um mês e vai-se trocando a água semanalmente. Terminado esse período os endocarpos são friccionados numa rede tipo passador ou escorredor para retirar restos de polpa que ainda permaneçam agarrados aos sulcos do endocarpo e depois é lhes adicionada uma solução aquosa de 50% lixívia tradicional na qual permanecem durante uma noite (figura 3.5. H). No dia seguinte, colocam-se os endocarpos novamente no passador e efetua-se como que uma ligeira “massagem” com um esfregão, tendo o cuidado de não exercer demasiada pressão que possa danificar a superfície dos caroços, ou para resíduos de acesso mais difícil até mesmo uma escova de dentes (figura 3.5. I). Quando os endocarpos estiverem totalmente livres de resíduos de polpa, passam-se uma última vez por água limpa e colocam-se no recipiente com papel absorvente (figura 3.5. J).

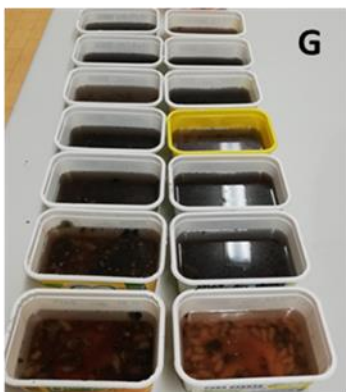
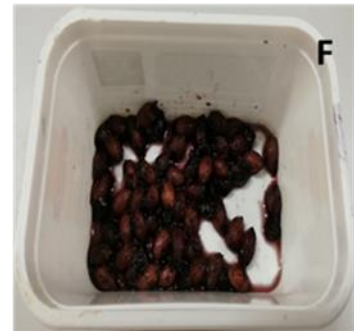
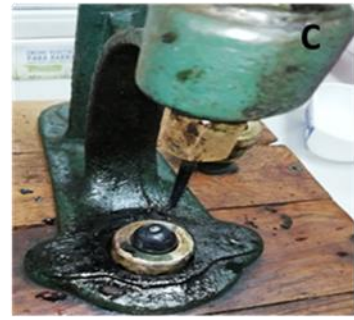
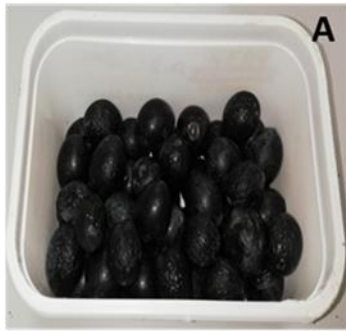


Figura 3.5. - Processo de descaroçamento dos endocarpos.

3.5. Metodologia UPOV, *Olea europaea* L. – TG/99/4 (UPOV, 2011)

Na Revisão Bibliográfica foram apontados determinados conceitos teóricos e universais a respeito da Metodologia UPOV para a oliveira. De um modo geral pode dizer-se que além de dois ciclos de crescimento e do número mínimo de plantas em campo, elas têm de já ter iniciado a fase adulta ou produtiva e apresentar produções de fruto satisfatórias, Porém outros aspetos são essenciais de conhecer, compreender e respeitar.

a) Número e partes ou órgãos de plantas a observar

Todas as observações individuais, ou seja, em plantas singulares, devem ser feitas em pelo menos 5 plantas ou em partes retiradas de cada uma dessas plantas. Para as observações de partes ou órgãos, o número de explantes a retirar deve ser 5 por cada árvore (5x5=25 partes ou órgãos). Quaisquer outras observações, nomeadamente avaliações de grupo, devem ser feitas em todo o conjunto de pelo menos 5 plantas exigidas para efeitos dos testes DUS.

b) Posições de observação

Para o fruto e para o endocarpo, e para determinadas características, são utilizadas duas posições para a realização das observações. A posição A refere-se à posição em que o órgão tem a maior assimetria. A posição B encontra-se a partir da posição A e fazendo uma rotação de 90° ao longo do eixo longitudinal de forma a apresentar-se ao observador a parte mais desenvolvida do órgão e também a parte com maior simetria (figura 3.6.).

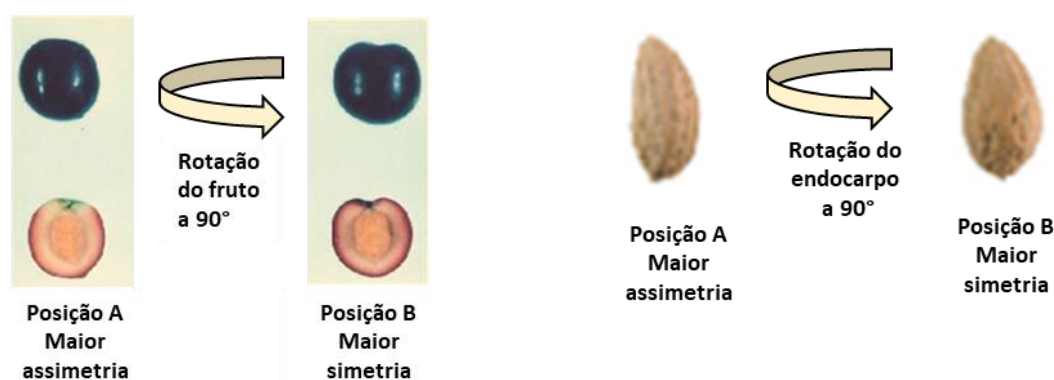


Figura 3.6.- Observação do fruto (à esquerda) e do endocarpo (à direita) na posição A e na posição B de acordo com o TG/99/4 (UPOV, 2011).

c) Método de observação

As observações podem ser do tipo “visual” (V) ou do tipo “medição” (M). As observações do tipo “visual” baseiam-se na experiência sensorial do observador e estão contemplados pontos de referência como cultivares exemplo e comparações lado-a-lado. As observações do tipo “medição” trata-se de uma observação objetiva recorrendo a uma escala linear calibrada, nomeadamente régua, balanças, datar, contagens...

d) Tipo de características

Caraterísticas qualitativas (QL), são características expressas em estados descontínuos (por exemplo o sexo das plantas: dioica feminina (1), dioica masculina (2), monoica unissexual (3), hermafrodita monoica (4). Estes estados são autoexplicativos e têm significados independentes. Todos os estados são necessários para descrever toda a gama da característica, e cada forma de expressão pode ser descrita por um único estado. A ordem dos estados não é importante. Como regra, e para facilitar o entendimento, podemos considerar que este tipo de características não é influenciado ambiente.

Caraterísticas quantitativas (QN), são aquelas em que a sua expressão abrange toda a gama de variação de um extremo ao outro. A expressão pode ser registada numa escala linear unidimensional, contínua ou discreta. O intervalo de expressão é dividido em vários estados de acordo com a finalidade da descrição. Por exemplo o comprimento do caule: muito curto (1), curto (3), médio (5), longo (7), muito longo (9). A divisão assim elaborada procura fornecer uma distribuição uniforme em toda a escala.

Caraterísticas pseudo-qualitativas (PQ), nesta situação, o intervalo de expressão é pelo menos parcialmente contínuo, mas varia em mais de uma dimensão. Por exemplo a forma: oval (1), elíptica (2), circular (3), obovada (4); esta característica não pode ser adequadamente descrita apenas definindo duas extremidades de uma escala linear. De maneira semelhante às características qualitativas (descontínuas) - daí o termo “pseudo-qualitativo” – cada estado individual / singular de expressão precisa ser identificado para descrever adequadamente a variabilidade da característica.

e) Registo das observações

O registo das observações pode ser relativo a um “grupo de plantas” (G) ou relativo a “plantas singulares ou individuais” (S). Assim sendo, é efetuado um único registo para um grupo de plantas (ou partes dessas plantas) ou então são anotados os registos correspondentes a um determinado número de plantas singulares ou individuais (ou partes dessas plantas). As observações (G) originam um único registo por cultivar e então não é possível, nem necessário, aplicar métodos estatísticos aos dados obtidos das cultivares analisadas para averiguar a existência de diferenças.

3.5.1. Familiarização /introdução à Tabela de Caraterísticas

As caraterísticas contempladas no Documento TG/99/4 (UPOV, 2011) foram aprovadas pela UPOV para os testes DUS e de entre elas os membros da união podem selecionar as mais adequadas para as suas situações nacionais, porém a dinâmica de funcionamento e interpretação da Tabela mantêm-se.

a) Níveis de expressão e as notas correspondentes

As caraterísticas apresentam níveis de expressão e a cada nível corresponde uma nota numérica, que pode variar de 1 até 9. Este método permite definir a caraterística e harmonizar as descrições e facilita o registo de dados e o intercâmbio de descrições na União.

No caso de caraterísticas qualitativas e pseudo-qualitativas, todos os níveis de expressão são possíveis para classificar a caraterística. Para caraterísticas quantitativas pode ser apresentada uma versão abreviada da escala para assim diminuir o tamanho da Tabela de Caraterísticas (tabela 3.). Por exemplo, para uma caraterística com 9 níveis de expressão, a apresentação desses níveis no TG/99/4 pode ser abreviada da seguinte maneira:

Tabela 3. – Tabela de Caraterísticas

Nível de expressão	Nota numérica
Pequeno	3
Médio	5
Grande	7

Contudo, importa esclarecer que todos os 9 níveis de expressão existem e devem ser utilizados quando necessário para assim descrever as variedades (tabela 3.a):

Tabela 3.a – Distribuição dos 9 níveis de expressão

Nível de expressão	Nota numérica
Muito pequeno	1
Muito pequeno a pequeno	2
Pequeno	3
Pequeno a médio	4
Médio	5
Médio a grande	6
Grande	7
Grande a muito grande	8
Muito grande	9

Na Tabela de Características também são indicadas cultivares exemplo para a maioria dos níveis de expressão no sentido de clarificar ou informar com exemplos concretos o observador. No fim da Tabela de Características também estão incluídas explicações para características agrupadas pelas partes da planta, ou órgão que está a ser observado (por exemplo: folha, fruto, endocarpo...), e explicações para características individuais.

Ao longo do Documento TG/99/4 (UPOV, 2011), específico para *Olea europaea* L., são reportados outros documentos gerais para uma consulta mais minuciosa, comuns a várias ou até mesmo a todas as espécies, como é o caso da Introdução Geral – TG/1/3 “General Introduction” – ou a análise de distinção – TGP/9 “Examining Distinctness”.

3.6. Caracterização Morfológica dos endocarpos

Terminada a limpeza e acondicionamento das amostras de endocarpos, os mesmos estão prontos para a caracterização morfológica. Os genótipos em estudo foram caracterizados um de cada vez, como é natural, para evitar riscos de troca ou mistura de endocarpos entre amostras. Na bancada de trabalho colocou-se uma folha de papel branco sobre a

qual se fez a disposição alinhada de todos os endocarpos que constituíam a amostra. Cada endocarpo foi observado / avaliado individualmente (VS ou MS). Após a observação, é registada a nota numérica associada à classe ou nível de expressão da característica que o observador encontrou como mais adequada. As características analisadas estão agrupadas por características qualitativas, características pseudo-qualitativas e características quantitativas (Tabela 3.1.).

Tabela 3.1. – Distribuição por tipos das características observadas ao nível do endocarpo.

Qualitativas (QL)	Pseudo-qualitativas (PQ)	Quantitativas (QN)
Mucrão (38)*	Forma na posição B (28)	Comprimento (29)
	Distribuição dos sulcos na base (36) *	Largura na posição B (30)
	Forma do ápice na posição A (37) *	Razão comprimento/largura (31) *
	Forma da base na posição A (39) *	Peso (32) *
		Simetria na posição A (33) *
		Simetria na posição B (34) *
		N.º sulcos na base (35) *
		Rugosidade (40) *

* **Caraterística muito discriminante**

Nota: o número entre parenteses indica a posição numérica da característica na Tabela de Características do Documento TG/99/4 (UPOV, 2011).

Para as características qualitativas, pseudo-qualitativas e algumas quantitativas, nomeadamente as simetrias, o número de sulcos e a rugosidade, o registo da nota era feito após a observação do endocarpo segundo a amplitude de níveis ou classes de expressão indicados na Tabela de Características (ANEXO I). O Documento TG/99/4 também indica uma cultivar-exemplo para cada classe como forma de esclarecer ou minimizar as dúvidas.

Para determinar os níveis de expressão para a característica 28 – Forma na posição B – uma característica PQ, coloca-se o endocarpo na posição B, posição de maior simetria, e determina-se qual o nível de expressão (1, oval; 2, oblongo, 3, elíptico...) que melhor descreve aquela forma (Figura 3.7.).

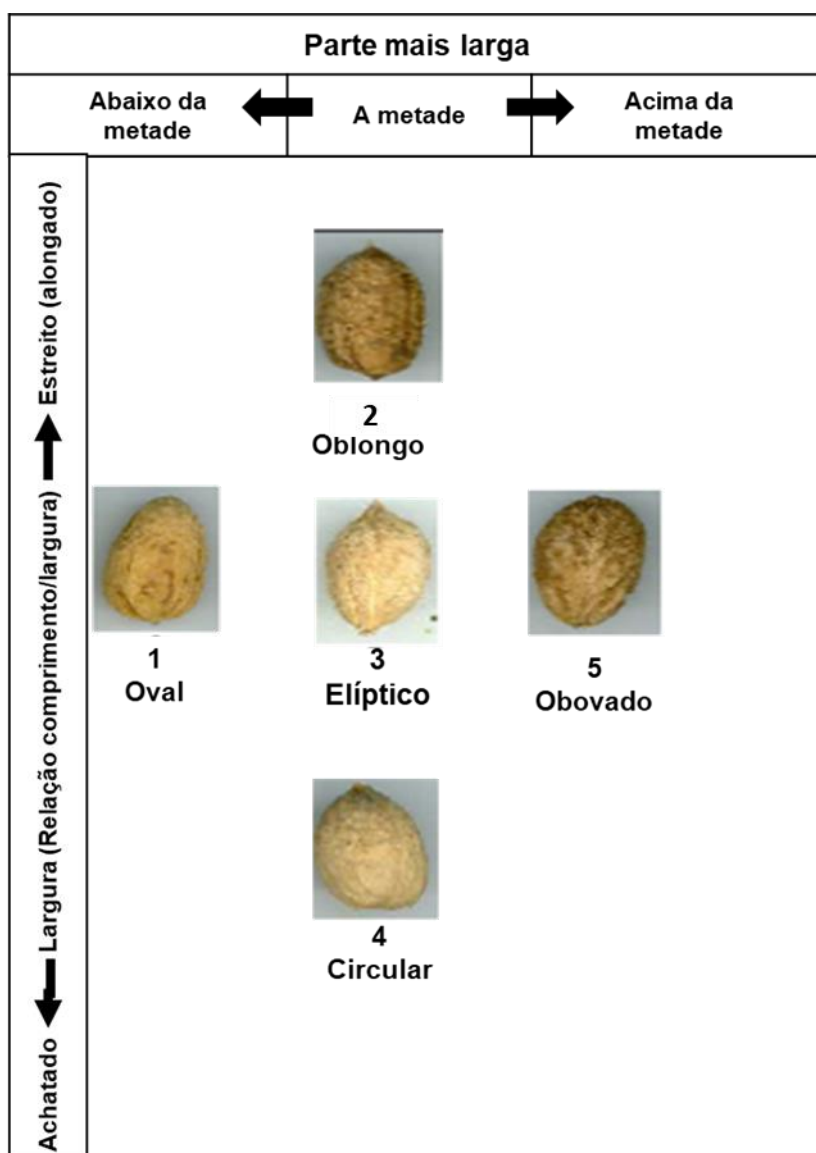
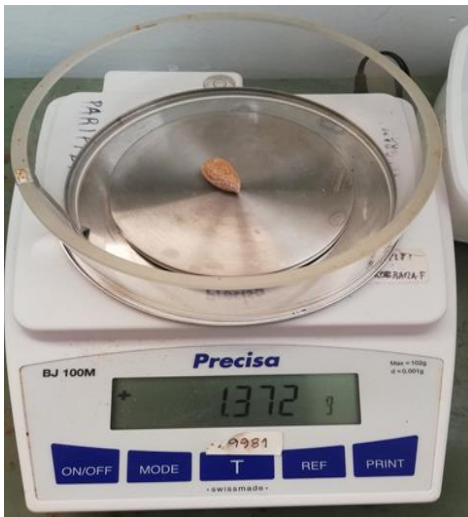


Figura 3.7. - Forma do endocarpo na posição B, segundo os descritores do Documento TG/99/4 (UPOV, 2011).

Para as características quantitativas 29 – Comprimento – e 30 – Largura na posição B – efetuou-se a medição individual com um paquímetro digital (ou craveira) (*Mitutoyo, Digital Absolute AOS*) (Figura 3.8.). A medição da característica 32 – Peso – também foi individual recorrendo a uma balança digital (*Precisa, B1 100 M*) (Figura 3.9.). A característica 31 – Razão comprimento/largura – foi determinada individualmente utilizando os valores obtidos aquando da medição das características 29 e 30.



Figura 3.8. – Medição do comprimento (à esquerda) e medição da largura na posição B (à direita).



Uma vez recolhidos os dados sobre os níveis de expressão e/ou valores de medição de todas as características seguir-se-á a determinação ou avaliação do que dominou em cada amostra para construir uma caracterização final.

Figura 3.9. – Medição do peso do endocarpo.

3.7. Validação dos dados

Esta parte experimental do trabalho foi aplicada ao segundo grupo de genótipos constituído pelas cultivares ‘Azeiteira’, ‘Blanqueta de Elvas’, ‘Cobrançosa’, ‘Cordovil de Serpa’, ‘Galega Vulgar’ e ‘Verdeal de Serpa’. É importante que os dados não apresentem erros. No processo de caracterização morfológica descrito foram efetuados registos de observações visuais (V) ou registos obtidos por medição (M). Além disso, da amostra

observada pode resultar um único registo para um grupo de plantas ou partes dessas plantas (G) ou então um registo para cada planta ou partes dessas plantas (S) e que seguem naturalmente para uma análise estatística.

Uma vez concluída a recolha de dados é necessário realizar a validação dos mesmos antes de iniciar a avaliação de diferenças, tal como é indicado no Documento TGP/8 “Use of Statistical Procedures in DUS Testing” (UPOV, 2019). Além disso, a avaliação / validação preliminar dos registos pode ser feita em todos os dados, quer eles sejam ou não posteriormente submetidos a análise estatística.

3.7.1. Verificação da qualidade dos dados

Para a verificação da qualidade dos dados obtidos por observação visual (a maioria) optou-se pela observação / análise visual dos registos anotados, cálculo da moda e construção de gráficos de distribuição de frequências (histogramas) para cada cultivar.

Para a verificação da qualidade dos dados obtidos por medição (três características: 29 – Comprimento, 30 – Largura e 32 – Peso) optou-se pela construção de diagramas de Caixa-e-bigodes (*Box-plot*) aos quais estão inerentes o cálculo de variáveis como a média, valor máximo e mínimo... Aquando de situações com valores discrepantes foi necessário averiguar os motivos e quando possível proceder à sua retificação. A construção de histogramas para estas características também auxiliou na verificação da qualidade dos dados ao permitir averiguar em que medida o registo para cada cultivar se ajustavam a uma curva normal.

a) Distribuição normal dos dados

Para avaliar a distribuição normal dos dados além dos histogramas de frequências construíram-se figuras como diagramas Q-Q normal (em inglês *normal Q-Q Plots*) e o teste de Kolmogorov-Smirnov (intervalo de confiança de 95%) (SPSS Statistics 17.0) para a normalidade dos dados das características cujo método de observação foi por medição (M), nomeadamente o comprimento, a largura (posição B) e o peso do endocarpo.

3.7.2. Comparar os métodos de observação

Pelo método de observação primeiramente utilizado obteve-se um registo para cada endocarpo de uma amostra (VS ou MS), porém para determinadas características (onze em treze) poder-se-ia ter optado por realizar um único registo (VG ou MG) para cada amostra de endocarpos (mais informação no tópico 3.5.). E, de acordo com o TG/99/4

(UPOV, 2011), as características para as quais se poderia ter apenas um único registo são: 28 – Forma (posição B); 29 – Rácio comprimento / largura; 32 – Peso; 33 – Simetria (posição A); 34 – Simetria (posição B); 35 – Número de sulcos a partir da base; 36 – Distribuição dos sulcos; 37 – Forma do ápice (posição A); 38 – Mucrão; 39 – Forma da base (posição A); 40 – Rugosidade.

Para as características qualitativas, pseudo-qualitativas, rácio comprimento / largura, simetrias, n.º de sulcos e rugosidade (Tabela 3.1.) realizou-se um único registo para cada amostra de endocarpos (VG). Este registo foi então comparado ao nível de expressão anteriormente obtido, por exemplo, pelo cálculo da moda.

Para a característica quantitativa peso mediu-se o peso de toda a amostra e depois calculou-se o valor médio de cada endocarpo (MG). Os dois pesos médios do endocarpo para cada cultivar, obtido por MS e por MG, apresentaram na maioria das situações uma ligeira variação. Para averiguar se existia uma diferença estatística entre ambos realizou-se um teste paramétrico, o One-Sample T-test (SPSS Statistics 17.0), com uma probabilidade de aceitação de 95% e homogeneidade de variâncias assegurada. Para a cultivar ‘Cobrançosa’ foi necessário trabalhar com os valores do peso transformados [ln (peso)] para cumprir as premissas para a realização de testes paramétricos.

3.7.3. Correspondência entre os registos de medição (M) e os níveis /notas de expressão UPOV

No Documento TG/99/4 (UPOV, 2011), os níveis de expressão para as características são apresentados de forma qualitativa à qual está associada uma nota numérica (ver tópico 3.5.1.). Para as características cujo método de observação é a medição (M), a escolha, por exemplo, entre o que é pequeno ou pequeno-médio torna-se bastante complicada. É certo que são apresentadas cultivares exemplo, mas por vezes são materiais que não dispomos em Portugal e/ou consoante a característica que seja avaliada pode ser impossível conciliar no tempo os órgãos objeto de observação em igual estado do desenvolvimento.

Para contornar este problema, a equipa dedicada à caracterização morfológica de germoplasma de *Olea europaea* L. no INIAV, I.P., Elvas, apoiou-se também numa anterior metodologia de caracterização de materiais de oliveira, criada pelo COI, no âmbito do projeto RESGEN 97-CT-01 (ver tópico 2.8). A mais-valia aportada por esta metodologia

é o facto de para as características avaliadas por medição, a cada nível de expressão está associada uma amplitude de valores da escala utilizada.

Por exemplo, a característica 32 – Peso – apresenta no Documento TG/99/4 (UPOV, 2011) níveis possíveis desde o Muito baixo (1) até Muito elevado (9), mas sem apresentar as amplitudes de pesos compreendidos para cada cultivar exemplo. Por seu lado, esta característica na metodologia RESGEN 97-CT-01 apresenta quatro níveis de expressão: Baixo (< 0,3 g); Médio (0,3 – 0,45 g); Elevado (0,45 – 0,7 g); Muito elevado (> 0,7 g). A avaliação paralela com as duas metodologias foi utilizada para três características do endocarpo, nomeadamente 29 – Comprimento, 30 – Largura (posição B), 31 – Rácio comprimento/largura, e 32 – Peso.

4. Resultados

As seis cultivares de oliveira utilizadas para aprofundar aspetos da caracterização morfológica dos endocarpos são materiais autóctones do Alentejo. Na Figura 4.1. apresenta-se a diversidade presente nos seus endocarpos.



Figura 4.1. – Diversidade fenotípica em endocarpos de seis cultivares autóctones de oliveira. A, ‘Azeiteira’; B, ‘Cobrançosa’; C, ‘Galega Vulgar’; D, ‘Blanqueta de Elvas’; E, ‘Cordovil de Serpa’; F, ‘Verdeal de Serpa’.

Na Figura 4.2. apresenta-se o perfil morfológico do endocarpo, segundo o procedimento descrito pela UPOV (2011) para a espécie *Olea europaea* L. (Documento TG/99/4), das seis cultivares de oliveira estudadas.

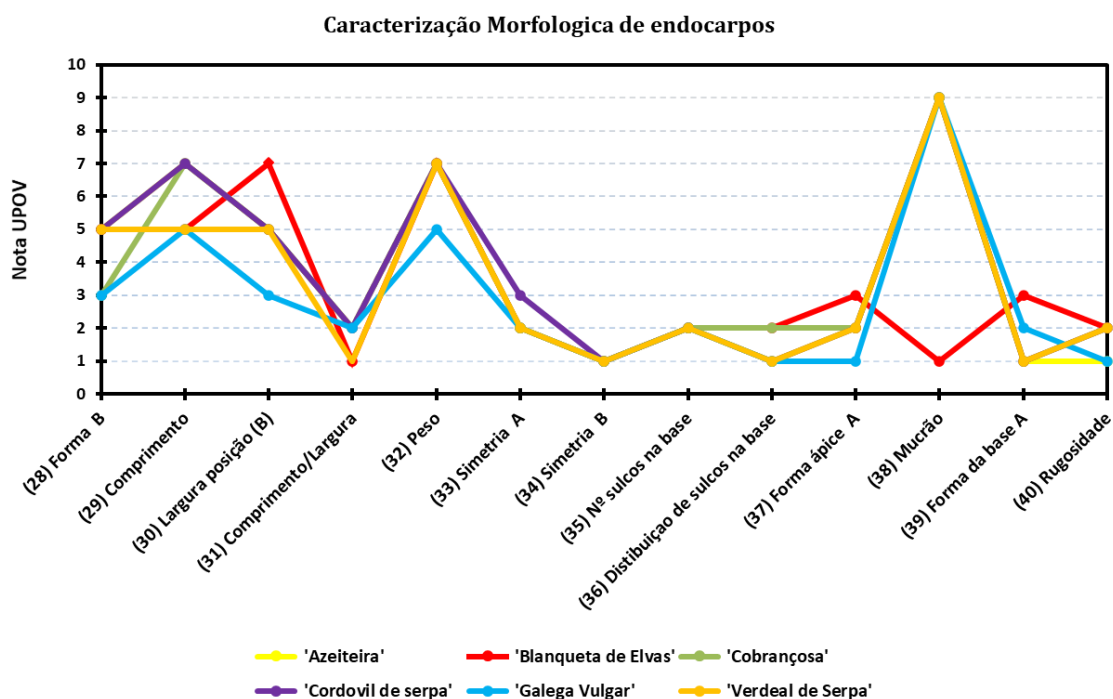


Figura 4.2.- Perfil morfológico para as características do endocarpo de seis cultivares autóctones de oliveira.

Nota: Caracterização dos endocarpos segundo a metodologia UPOV (2011) – TG/99/4; características analisadas desde a correspondente ao número 28 – Forma do endocarpo na posição B – até à característica 40 – Rugosidade; Posição A refere-se à posição de maior assimetria e Posição B refere-se à posição de maior simetria do órgão.

Pode-se verificar a existência de diversidade entre as cultivares de oliveira estudadas pela ocorrência de linhas de perfil morfológico não sobrepostas. Contudo essa diversidade é mais pronunciada em algumas características e nula em outras como aconteceu para a característica 34 – Simetria na posição B – e para a característica 35 – Número de sulcos a partir da base (Figura 4.2.).

Esta análise geral da diversidade morfológica do endocarpo também evidenciou cultivares que se afastaram do nível de expressão mais comum de determinada característica no grupo de materiais estudados. Apenas 'Blanqueta de Elvas' apresentou o nível I de expressão para a única característica qualitativa do endocarpo (Tabela 3.1), a característica 38 (Figura 4.2.). Ou seja, é a única cultivar que não possui mucrão (1). 'Cordovil de Serpa' foi a única cultivar que apresentou o nível 3 de expressão para a característica 33 (Figura 4.2.), ou seja, enquanto os demais materiais são ligeiramente

assimétricos (2) na posição de maior assimetria (posição A), esta cultivar é fortemente assimétrica (3). Por último, ‘Galega Vulgar’ foi a única cultivar que apresentou o nível 5 de expressão para a característica 32 (Figura 4.2.), ou seja, enquanto os demais materiais apresentam peso do endocarpo elevado (7), os endocarpos de ‘Galega Vulgar’ apresentam um peso ligeiramente inferior correspondente ao nível médio (5).

4.1. Qualidade dos dados

As observações e o correspondente registo da expressão observada realizaram-se para cada endocarpo do número total da amostra (S). Variou o tipo de observação, visual (V) ou medição (M), de acordo com o carácter da característica em causa. Com o conjunto dos registos construíram-se histogramas para observar como se distribuía a diversidade dos níveis de expressão possíveis.

4.1.1. Características pseudo-qualitativas

Nas Figuras 4.3. e 4.4. apresenta-se o resultado do tipo de análise ou verificação acima referido tomando como exemplo a característica 37 – Forma do ápice – e a característica 39 – Forma da base – ambas na posição A.

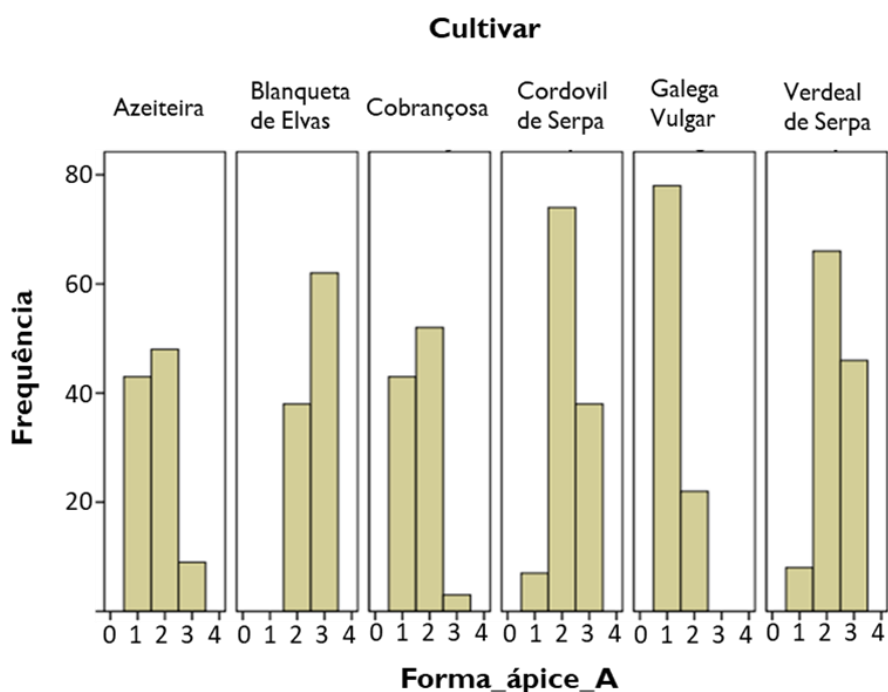


Figura 4.3. – Histogramas da forma do ápice do endocarpo na posição A de seis cultivares de oliveira.

Nota: Caracterização dos endocarpos segundo a metodologia UPOV (2011) – TG/99/4; característica analisada corresponde ao número 37; Posição A refere-se à posição de maior assimetria do órgão.

Relativamente à Forma do ápice (na posição A) observou-se que em algumas situações determinado nível de expressão era muito evidente na amostra, nomeadamente nas cultivares ‘Cordovil de Serpa’ e ‘Galega Vulgar’ (Figura 4.3.). Em ‘Cordovil de Serpa’ o ápice era predominantemente obtuso (2), enquanto em ‘Galega Vulgar’ apresentou uma forma bicuda (1). É certo que em todas as cultivares se observou um maior número de registos de determinado nível de expressão, contudo em ‘Azeiteira’ e ‘Cobrançosa’ as proporções entre dois níveis de expressão foram muito próximas (Figura 4.3.).

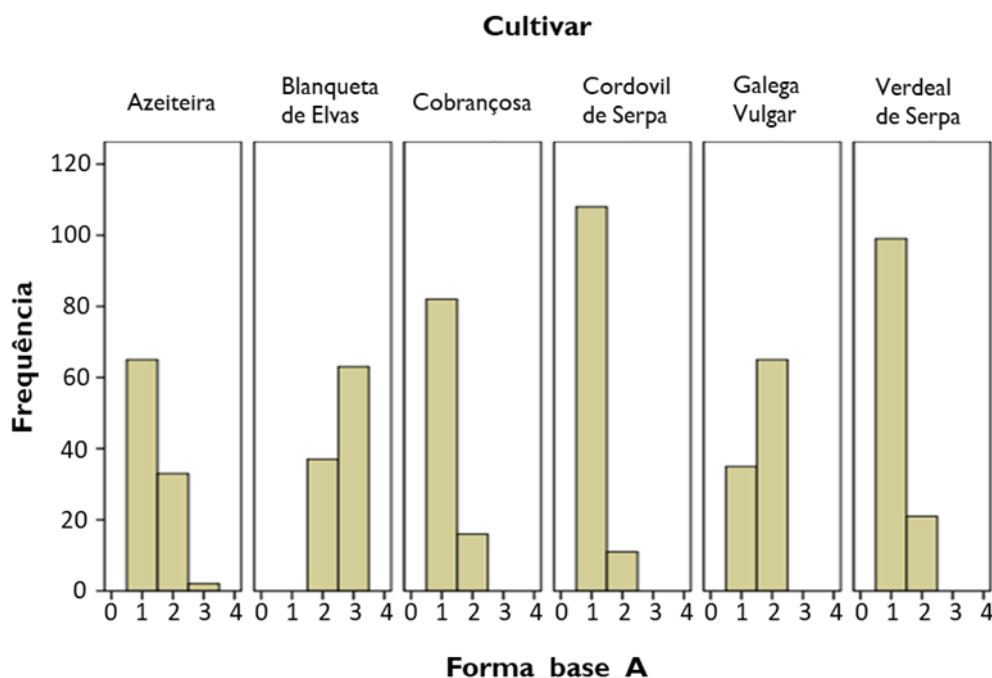


Figura 4.4. – Histograma da forma da base do endocarpo na posição A de seis cultivares de oliveira.

Nota: Caracterização dos endocarpos segundo a metodologia UPOV (2011) – TG/99/4; característica analisada corresponde ao número 39; Posição A refere-se à posição de maior assimetria do órgão.

Para a Forma da base (na posição A) observou-se algo semelhante à situação anterior. Em algumas cultivares determinado nível de expressão era muito evidente na amostra, nomeadamente em ‘Azeiteira’, ‘Cobrançosa’, ‘Cordovil de Serpa’ e ‘Verdeal de Serpa’ (Figura 4.4.). Nestes materiais a base apresenta uma forma bicuda (1). Na cultivar ‘Blanqueta de Elvas’ a base é mais achatada (3), enquanto ‘Galega Vulgar’ apresentou uma base mais arredondada (2) (Figura 4.4.).

Quanto às restantes características pseudo-qualitativas do endocarpo (Tabela 3.1), 28 – Forma na posição B – e 36 – Distribuição dos sulcos na base – a prevalência dos níveis de expressão em cada cultivar era claramente evidente. Relativamente à característica

28, os endocarpos de ‘Cobrançosa’ e ‘Galega Vulgar’ apresentam forma elíptica (3), enquanto para as restantes cultivares a forma apresentou-se obovada (5) (Figura 4.2.). ‘Azeiteira’, ‘Cordovil de Serpa’, ‘Galega Vulgar’ e ‘Verdeal de Serpa’ apresentam os sulcos uniformemente distribuídos (1) em redor da base (Figura 4.2.). Por sua vez, ‘Blanqueta de Elvas’ e ‘Cobrançosa’ apresentam os sulcos ligeiramente agrupados (2) em redor da base.

4.1.2. Características quantitativas

Para auxiliar na validação da qualidade dos dados de características quantitativas, optou-se pelo diagrama de Caixa-e-bigodes (em inglês *Box-plot*). Na Figura 4.5. apresenta-se o diagrama *Box-plot* para a característica 30 – Comprimento dos endocarpos (mm) – das seis cultivares de oliveira estudadas. Observa-se que, no geral, a cultivar com os endocarpos mais compridos foi a ‘Cobrançosa’, com uma amplitude de valores entre 14,5 mm e 20,2 mm, seguida de ‘Cordovil de Serpa’ com valores entre 14,1 mm e 19,0 mm. Os endocarpos mais achatados pertenceram à ‘Blanqueta de Elvas’ onde se observaram comprimentos desde 11,1 mm até 15,2 mm. Além disso esta cultivar apresentou dois comprimentos muito mais pequenos ($\leq 10,0$ mm) e relativamente afastados da média, do que os restantes valores para esta cultivar (Figura 4.5.). Apenas as cultivares ‘Cobrançosa’ e ‘Cordovil de Serpa’ não apresentaram valores de comprimento do endocarpo, relativamente à média, muito maiores, ou muito menores, do que as restantes observações da respetiva cultivar (Figura 4.5.).

Na Figura 4.6. apresenta-se o diagrama *Box-plot* para a característica 31 – Largura dos endocarpos (mm) na posição B – das seis cultivares de oliveira estudadas. Observa-se que, no geral, a cultivar com os endocarpos mais largos foi a ‘Blanqueta de Elvas’, com uma amplitude de valores entre 7,8 mm e 10,6 mm; inversamente a ‘Galega Vulgar’ apresentou os endocarpos mais finos, com valores entre 6,0 mm e 8,2 mm (Figura 4.6.). ‘Cobrançosa’ e ‘Verdeal de Serpa’ apresentaram alguns registos de larguras do endocarpo excepcionalmente elevados, comparativamente à sua média, tendo em conta a restante amostra destas cultivares (Figura 4.6.).

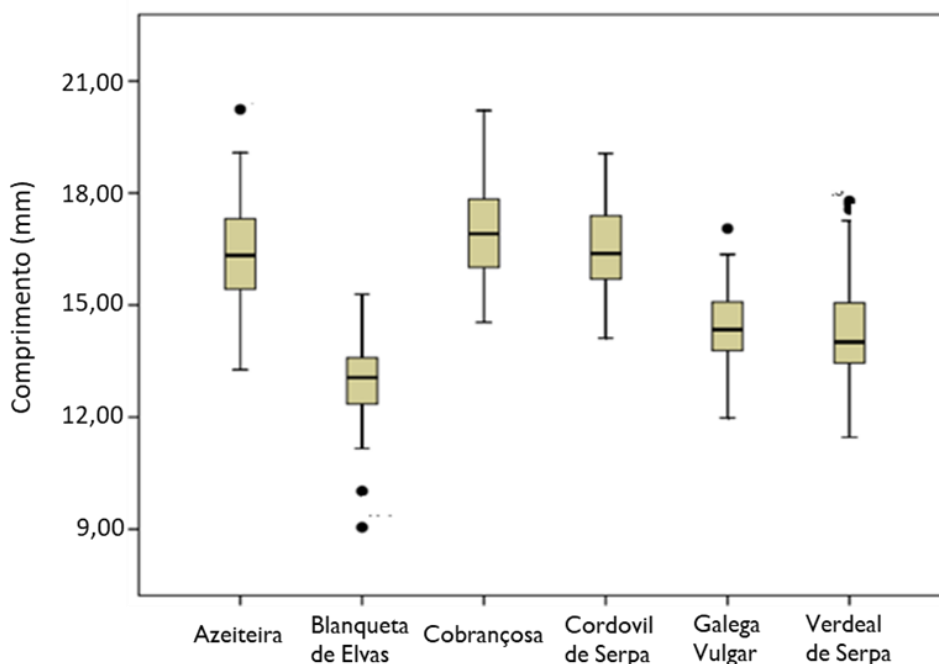


Figura 4.5.- Diagrama de Caixa-e-bigodes para o comprimento do endocarpo (mm) de seis cultivares de oliveira. Estão representados todos os valores de comprimento tomados nas amostras colhidas para cada uma das cultivares.

Nota: Caracterização dos endocarpos segundo a metodologia UPOV (2011) – TG/99/4; característica analisada corresponde ao número 29.

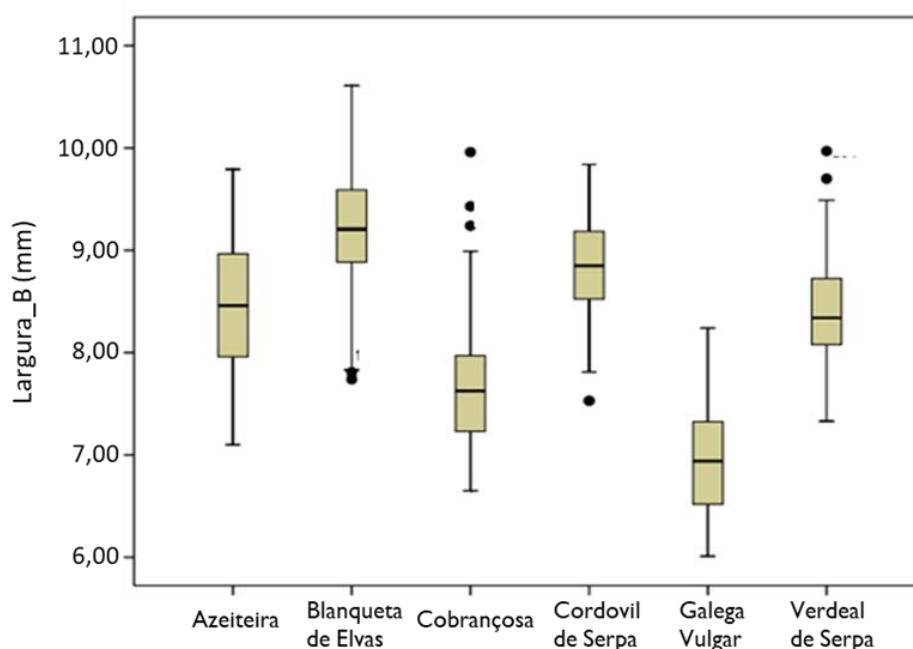


Figura 4.6- Diagrama de Caixa-e-bigodes para a largura do endocarpo (mm) na posição B de seis cultivares de oliveira. Estão representados todos os valores de larguras tomados nas amostras colhidas para cada uma das cultivares.

Nota: Caracterização dos endocarpos segundo a metodologia UPOV (2011) – TG/99/4; característica analisada corresponde ao número 30; Posição B refere-se à posição de maior simetria do órgão.

Na Figura 4.7. apresenta-se o diagrama *Box-plot* para a característica 32 – Peso dos endocarpos (g) – das seis cultivares de oliveira estudadas. Observa-se que, no geral, a cultivar com os endocarpos mais pesados foi a ‘Cordovil de Serpa’, com uma amplitude de valores entre 0,39 g e 0,83 g. As duas cultivares com os endocarpos mais leves foram ‘Galega Vulgar’ e ‘Verdeal de Serpa’ com o limite inferior de 0,23 g e 0,26 g, respetivamente, e peso mais elevado da amostra de 0,55 g e 0,62 g, respetivamente (Figura 4.7.). A ‘Verdeal de Serpa’ apresentou dois valores extremos (sobrepastos) de pesos do endocarpo maior ou igual que 0,72 g; ‘Galega Vulgar’ apresentou um peso excecionalmente elevado, um *outlier*, e afastado da média, de 0,92 g (Figura 4.7).

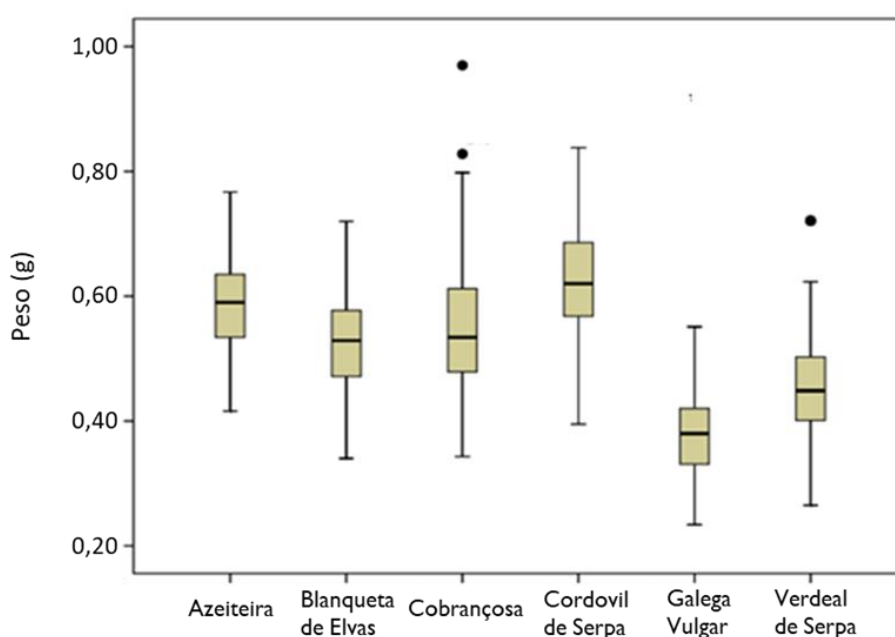


Figura 4.7.- Diagrama de Caixa-e-bigodes para o peso do endocarpo (g) de seis cultivares de oliveira. Estão representados todos os valores de peso tomados nas amostras colhidas para cada uma das cultivares.

Nota: Caracterização dos endocarpos segundo a metodologia UPOV (2011) – TG/99/4; característica analisada corresponde ao número 32.

O valor extremo de peso do endocarpo observado em ‘Galega Vulgar’ representava um erro na transcrição de dados dos registos manuais para a folha de cálculo (mais detalhes na Discussão do trabalho) e, portanto, após a correção prosseguiu-se com a análise da qualidade dos dados.

4.1.3. Distribuição normal dos dados

O teste de Kolmogorov-Smirnov para a normalidade dos dados revelou que relativamente ao comprimento do endocarpo todas as observações realizadas nas seis cultivares apresentam uma distribuição normal ($\text{Sig.} > 0,05$). O mesmo se verificou para a característica largura na posição B, em que apenas ‘Cobraçosa’ apresentou o resultado do teste de normalidade muito próximo da rejeição da hipótese nula (H_0 : a amostra segue uma distribuição normal). Em relação ao peso dos endocarpos, os dados de ‘Cobraçosa’ não seguiam uma distribuição normal ($\text{Sig.} \leq 0,05$).

Na Figura 4.8. apresenta-se uma análise gráfica para averiguar como estava a distribuição dos dados para a largura do endocarpo na posição B da cultivar ‘Cobraçosa’, uma vez que o resultado do teste da normalidade suscitou algumas dúvidas.

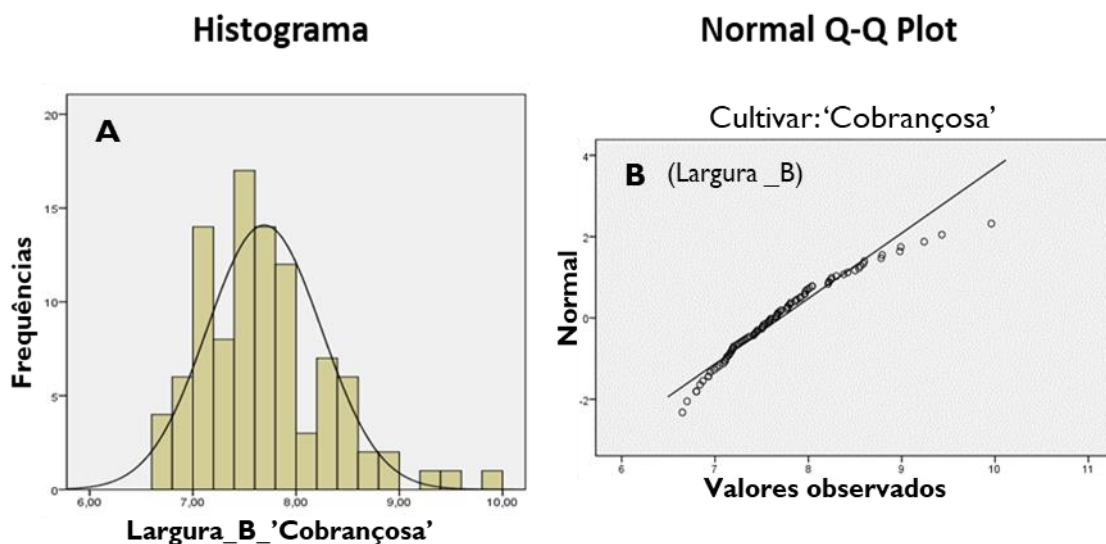


Figura 4.8 – Histograma (A) e diagrama Q-Q Normal (B) para a largura do endocarpo na posição B da cultivar ‘Cobraçosa’. Estão representados todos os valores tomados na amostra.

Nota: Caracterização dos endocarpos segundo a metodologia UPOV (2011) – TG/99/4; característica analisada corresponde ao número 30; Posição B refere-se à posição de maior simetria do órgão.

Da observação do histograma para a largura do endocarpo (Figura 4.8.A) nota-se que a distribuição não se afasta largamente da normalidade, mas apresenta uma ligeira assimetria positiva. Pelo diagrama Q-Q normal (Figura 4.8.B) constata-se a mesma situação, a maioria das observações caem muito próximas da linha traçada pelos valores esperados se o conjunto de dados estivesse normalmente distribuído, porém valores

mais pequenos e principalmente os valores de largura mais elevados afastam-se mais da reta.

Na Figura 4.9. apresenta-se uma análise gráfica para averiguar causas para a não distribuição normal dos dados do peso do endocarpo da cultivar 'Cobraçosa'. O histograma para os pesos do endocarpo de 'Cobraçosa' apresenta um ligeira assimetria positiva (Figura 4.9.A) e um valor extremo de peso elevado, sendo este bastante evidente no diagrama Q-Q normal (Figura 4.9.B).

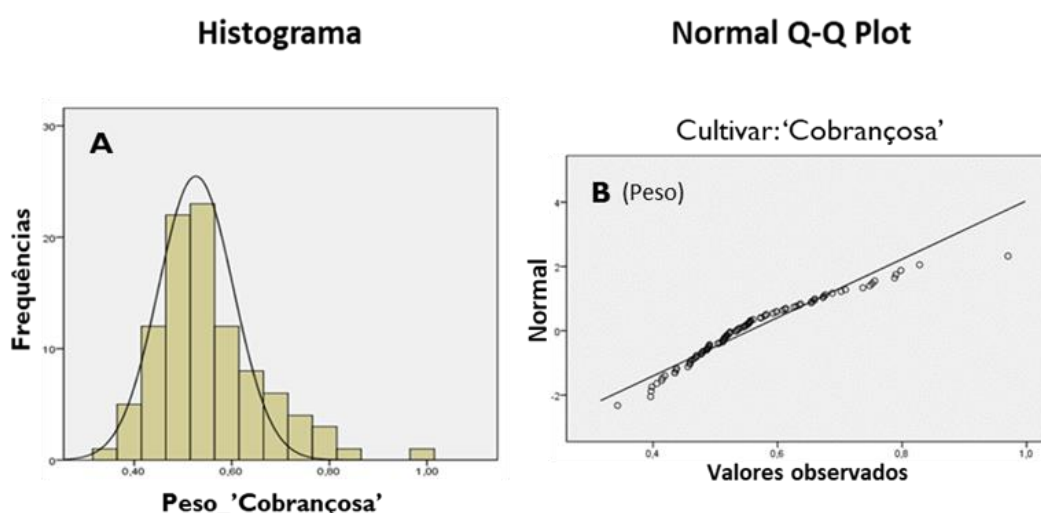


Figura 4.9. – Histograma (A) e diagrama Q-Q Normal (B) para o peso do endocarpo da cultivar 'Cobraçosa'. Estão representados todos os valores tomados na amostra.

Nota: Caracterização dos endocarpos segundo a metodologia UPOV (2011) – TG/99/4; característica analisada corresponde ao número 32.

Pela observação dos endocarpos armazenados identificou-se a existência de alguns órgãos com maiores dimensões, e por isso também com maior peso. Nos registos manuais efetuados pelo observador não se detetou nenhum valor realmente discrepante e na folha de cálculo também não se identificaram erros na inserção de valores. A forma mais imediata de contornar o problema foi através de uma transformação de variável (Figura 4.10.) e eliminação do valor de peso muito elevado visível na Figura 4.9. e indicado no diagrama *Stem-and-leaf* como *outlier* (gráfico não apresentado).

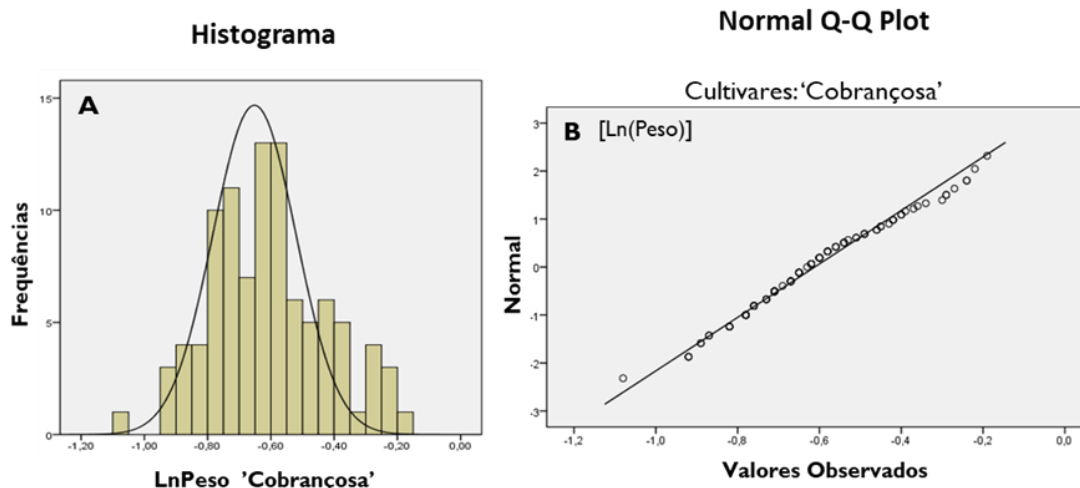


Figura 4.10. – Histograma (A) e diagrama Q-Q Normal (B) para o peso do endocarpo da cultivar ‘Cobraçosa’, representado pelo logaritmo natural do peso, ln(peso). Estão representados todos os valores tomados na amostra.

Nota: Caracterização dos endocarpos segundo a metodologia UPOV (2011) – TG/99/4; característica analisada corresponde ao número 32.

O melhor ajuste dos valores de pesos do endocarpo à distribuição normal, uma vez realizada a transformação de variável, ficou mais evidente no diagrama Q-Q normal (Figura 4.10.B). As observações caem muito mais próximas da linha traçada pelos valores esperados se o conjunto de dados estivesse normalmente distribuído, comparativamente aos valores originais (Figura 4.9.B). Após este melhoramento dos dados conseguiu-se o pressuposto da normalidade dos dados segundo o teste de Kolmogorov-Smirnov (Sig.> 0,05).

4.2. Método de observação

No Documento TG/99/4 (UPOV, 2011) estão contemplados dois métodos de observação (V e M) e duas formas de registo (S e G). No trabalho apresentado, a caracterização dos endocarpos foi realizada ao nível de cada órgão individualmente. Significa que dependendo do tipo de característica temos registos do tipo MS (*measurement of a number of individual plants or parts of plants*) ou do tipo VS (*visual assessment by observation of individual plants or parts of plants*). Um desses casos verificou-se com a característica 32 – Peso – porque pelos descritores bastaria utilizar o método MG (*single measurement of a group of plants or parts of plants*). Na Tabela 4.1. apresenta-se os resultados para o peso médio do endocarpo das cultivares estudadas segundo os dois procedimentos.

Tabela 4.1. – Peso médio (g) do endocarpo de cultivares de oliveira segundo uma medição individual de cada órgão (MS) ou uma única medição do número total de órgãos (MG).

Peso médio do endocarpo			
	MS	MG	Sig.
'Azeiteira'	0,590	0,548	0,000
'Blanqueta de Elvas'	0,523	0,495	0,001
'Cobrançosa'	0,612	0,524	0,043
'Cordovil de Serpa'	0,621	0,621	0,967
'Galega Vulgar'	0,376	0,360	0,012
'Verdeal de Serpa'	0,456	0,455	0,901

Nota: Caracterização dos endocarpos segundo a metodologia UPOV (2011) – TG/99/4; característica analisada corresponde ao número 32; Médias são significativamente diferentes a uma $P \leq 0,05$ pelo teste *One-Sample T-test*.

Observou-se que, de um modo geral, a medição individual dos caroços originou pesos superiores aos obtidos pela medição do peso do número total de endocarpos, com exceção das cultivares 'Cordovil de Serpa' e 'Verdeal de Serpa' que apresentaram o mesmo peso (Tabela 4.1.). Perante esta situação surge a dúvida: será que as diferenças de peso assim obtidas são significativas? Segundo a comparação de médias, com um grau de confiança de 95%, as diferenças de pesos (consequência do método de observação utilizado) verificadas nas amostras de 'Azeiteira', 'Blanqueta de Elvas', 'Cobrançosa' e 'Galega Vulgar' são significativas ($Sig. \leq 0,05$).

5. DISCUSSÃO

O trabalho apresentado reúne aspetos da caracterização morfológica de cultivares de oliveira, nomeadamente os procedimentos e parâmetros relacionados com o endocarpo. Houve uma familiarização com o procedimento para a preparação dos endocarpos, prévio à caracterização. No processo de remoção da polpa da azeitona e completa limpeza do caroço foram utilizadas amostras de genótipos de oliveira para os quais se iniciou a caracterização morfológica, e portanto ainda necessitarão de pelo menos mais um ciclo de crescimento para a mesma estar terminada. Recorrendo a cultivares já caracterizadas, procurou-se analisar com maior detalhe aspetos da caracterização do fenótipo dos seus endocarpos.

De um modo geral, para proceder à caracterização morfológica, é necessário constituir uma mostra uniforme e representativa, avaliar as características de acordo com método adotado – TG/99/4 (UPOV, 2011) – analisar a qualidade dos dados obtidos, procurando valores anómalos, e então depois elaborar um relatório de caracterização.

Uma representação gráfica dos valores obtidos de cada característica pode funcionar como uma ferramenta mais ou menos robusta para validar os registos recolhidos manualmente. Por exemplo, a representação gráfica da distribuição de frequências (histogramas), ou o gráfico *Stem-and-Leaf*, podem auxiliar na identificação de pequenos grupos discrepantes na amostra. O diagrama de Caixa-e-bigodes (*Box-plot*) é uma forma bastante expedita para ter uma visão geral da dispersão dos dados de cada característica, nomeadamente quando o método de observação foi medição (M).

A avaliação da qualidade dos dados de características com método de observação visual não apresentou dificuldades porque a prevalência de um nível de expressão foi em todos os casos evidente. Na avaliação da qualidade dos dados obtidos por medição (Comprimento, Largura e Peso), deu-se preferência aos diagramas de Caixa-e-bigodes e observaram-se valores afastados da amplitude entre o mínimo e o máximo considerados pelo método para a construção da “caixa-e-bigodes” (Figuras 4.5., 4.6. e 4.7.). Contudo, o registo mais impactante observou-se na característica 32 – Peso – para a cultivar ‘Galega Vulgar’ (Figuras 4.7.). Uma vez que o estudo foi aplicado a endocarpos, os mesmos permaneciam armazenados e devidamente identificados, tornando possível uma segunda consulta da diversidade morfológica que apresentavam. A permanência do objeto de estudo nas mesmas condições permite, se necessária, uma correção ou

ponderação, porém as observações motivadoras de valores discrepantes, extremos ou anormais, apenas devem ser removidas quando a situação realmente o obrigar como indica o Documento TGP/8 (UPOV, 2019). Da análise visual dos endocarpos armazenados resultou que a amostra era relativamente homogênea. Um valor extremo tão elevado para 'Galega Vulgar' equacionou imediatamente a hipótese de se tratar de um erro aquando da inserção de dados na folha de cálculo. O confronto do registo manual dos pesos com os registos inseridos na folha de cálculo comprovou que o valor extremo de 0,92 g deveria ser 0,392 g. Corrigiu-se o erro e continuou a análise dos dados.

Também foi necessário clarificar situações dúbias, como se passou em relação à Largura na posição B em 'Cobrançosa', e corrigir as situações em que os dados não cumpriam a premissa de normalidade dos dados, nomeadamente a característica Peso do endocarpo em 'Cobrançosa'. O facto de esta cultivar ter apresentado mais dificuldades relativamente à qualidade dos dados, nomeadamente verificar-se a distribuição normal dos dados provenientes de medição, pode indicar que o material ainda não estaria totalmente estabilizado. Por vezes, os parâmetros morfológicos relacionados com órgãos como as folhas e os frutos não manifestam logo nos primeiros ciclos de crescimento e primeiras produções o nível de expressão característico da cultivar (del Río & Caballero, 1994; Tous *et al.*, 2011). Considera-se que os endocarpos estão mais estáveis, o que não significa que não possam ocorrer episódios do mesmo género.

Outro aspeto abordado neste trabalho foi a comparação entre métodos de observação. Todas as características do endocarpo foram avaliadas individualmente, ou seja, caroço a caroço. Porém, segundo a metodologia apresentada no Documento TG/99/4 (UPOV, 2011) este procedimento tão minucioso apenas é aplicado, no caso do endocarpo, para as características Comprimento e Largura na posição B. A maioria das características consideradas para o endocarpo pertencem ao "grupo" VG (*visual assessment by a single observation of a group of plants or parts of plants*) ou seja após uma observação cuidada da amostra bastaria um único registo para a característica. Para as características cuja avaliação é por método visual pode resultar bem eleger um nível de expressão apenas pela observação da amostra. Porém, se o observador não estiver familiarizado com o procedimento e com a diversidade varietal na espécie, o risco de cometer uma avaliação mais afastada do fenótipo dominante na amostra aumentou grandemente. Para as três características obrigatoriamente sujeitas a medição, no caso do Comprimento e da

Largura essa medição é sempre individual, no caso do Peso comparou-se, para cada cultivar, o peso médio da medição individual (MS) e da medição do grupo (MG). Em relação às cultivares ‘Cordovil de Serpa’ e ‘Verdeal de Serpa’ não haveria nenhum problema, uma vez que o valor de peso médio obtido foi idêntico (Tabela 4.1.), com a vantagem de maior rapidez no procedimento MG. No que diz respeito às demais cultivares, o método de observação MG originou um peso médio inferior ao obtido pelo método de observação MS. Para a característica Peso foi necessário elaborar “pontes” com o método de caracterização RESGEN 97-CT-01 (COI, 1997) para que se conseguisse construir intervalos de pesos do endocarpo para os níveis de expressão do TG/99/4. Assim considerou-se que o peso médio (5) seria para pesos entre os 0,3 g e 0,45 g, e o peso elevado (7) seria para pesos entre os 0,45 g e 0,7 g. Futuramente pode ser necessário desdobrar estas duas classes de pesos para também considerarmos os níveis de expressão médio-alto (6) e alto-muito alto (8) considerados na metodologia UPOV. O método de observação MG pode condicionar a correta definição de níveis de expressão intermédios por não considerar a dispersão dos valores registados e, neste caso, cultivares apresentarem a característica peso ligeiramente inferior ou superior ao que seria mais correto.

Um perfil morfológico como o apresentado na Figura 4.2. é uma forma expedita de apresentar uma visão geral da diversidade apresentada pelos materiais em comparação, mas só deve ser elaborado após se confirmar a qualidade dos dados. Outros autores já tinham publicado Fichas Varietais de cultivares, entre elas as seis cultivares aqui apresentadas. Porém, na altura em que esse trabalho foi elaborado a CPRCO ainda não existia e por isso apresentou-se pertinente comparar os resultados. A característica onde mais discordância se verificou, foi em relação à forma do endocarpo, exceto em ‘Cobrançosa’ (Cordeiro *et al.*, 2010a) e ‘Galega Vulgar’ (Cordeiro *et al.*, 2010b). Nesses trabalhos e no relatório aqui apresentado a forma do endocarpo foi elíptica. Para as demais cultivares, o motivo da divergência está na posição de observação do endocarpo, na metodologia UPOV é na posição B e na metodologia COI, utilizada pelos autores das Fichas Varietais publicadas na Vida Rural, é na posição A. A forma do ápice e da base foram características para as quais a caracterização apresentada nas Fichas Varietais e comparativamente a este trabalho, segundo a metodologia UPOV, também apresentou ligeiras variações. Os resultados de ‘Blanqueta de Elvas’ aqui apresentados divergem quase todos dos apresentados nas Fichas Varietais (Cordeiro *et al.*, 2009b). Além das

diferentes posições de observação para o endocarpo, atualmente já se percebeu que o material disponível desta cultivar para a realização da caracterização destes autores ao estar numa parcela de sequeiro condicionou fortemente o fenótipo da cultivar.

Portugal tem vindo a afirmar-se no setor olivícola e um dos pontos fortes tem sido a qualidade do produto final. A qualidade é o resultado das boas práticas no olival e no lagar, mas também da oferta de um produto diferenciado e com características não encontradas noutros produtores. Esta mais-valia é introduzida pelas cultivares autóctones. Para fazer bom uso da diversidade varietal existente é necessário, como ponto de partida, conhecer e diferenciar os materiais. Para o inventário e caracterização de cultivares servir para se conhecer os materiais difundidos pelo olival tradicional das regiões olivícolas e depois utilizar essa diversidade de forma fundamentada, é essencial que o método de caracterização seja único, não gerando assim mais confusão e entropia no que seria a solução.

6. CONCLUSÕES

Os endocarpos das seis cultivares estudadas apresentam o mesmo nível de expressão para as características Simetria na posição B (simétrico) e Número de sulcos a partir da base (entre 7 a 10).

As características do endocarpo que apresentaram maior grau de diversidade entre as cultivares estudadas foram o Comprimento, a Forma do ápice na posição A, e a Forma da base na posição A. Para as restantes oito características, as cultivares estudadas apresentaram dois grupos de níveis de expressão.

Algumas cultivares foram únicas no nível de expressão de características do endocarpo, nomeadamente: ‘Galega Vulgar’ apresentou Peso médio e as restantes Peso elevado; ‘Cordovil de Serpa’ apresentou Simetria na posição A fortemente assimétrica e as restantes ligeiramente assimétrica; ‘Blanqueta de Elvas’ não apresentou Mucrão e nas restantes o mesmo estava presente.

Para as características de observação visual, o cálculo da moda apresentou-se como uma forma expedita para identificar qual o nível de expressão dominante nas amostras analisadas. Se o observador tiver bastante prática até pode optar por avaliar endocarpos de forma aleatória na amostra e realizar um único registo não prejudicando a acurácia do resultado.

Para as características de observação por medição, foi essencial elaborar gráficos e diagramas no sentido de identificar valores discrepantes ou extremos. É aconselhável que o conjunto dos registos efetuados em cada amostra se aproxime de uma distribuição normal.

A determinação do Peso do endocarpo pelo método dos descritores, medição única para toda a amostra (MG), pode originar um resultado de classe de peso inferior ou superior ao mais correto por este método de observação não contemplar o grau de dispersão de pesos que pode existir na amostra.

7. Bibliografia

Alves, M. (2007). Caracterização e estrutura genéticas da cultivar de oliveira 'cobrançosa' e sua relação com o zambujeiro. Tese de mestrado, Biologia (Biologia Celular e Biotecnologia). Universidade de Lisboa, Faculdade de Ciências. Consultado a 26 de março de 2020. Disponível em https://repositorio.ul.pt/bitstream/10451/1358/1/19956_ulfc080528_tm.pdf.

Bruins, M. (2020, abril). Celebrating 25 Years of CPVO: President Martin Ekvad Looks Back and Ahead. *Europeanseed*. 32-36. Consultado em julho de 2020. Disponível <https://www.europeanseed.com/docs/books/volume-7/issue-2/?page=34>.

Cançado, G., Sant'Ana, G., Borges do Val, A., & Ferreira, J. (2012). Marcadores Moleculares de DNA e suas aplicações na caracterização, identificação e melhoramento Genético da oliveira. Consultado a 26 de março 2020. Disponível em file:///C:/Users/user/Downloads/cap8-oliveira-2012_marcadores.pdf.

Casa do Azeite. (2019). Consultado em 14 abril de 2020. Disponível em <http://www.casadoazeite.pt/Profissionais/Dados-sector>.

COI. (1997). *Méthodologie pour la caractérisation primaire des variétés d'olivier*. Project RESGEN 97-CT-01.

COI. (2019). Consultado em 25 maio de 2020. Disponível em <https://www.confagri.pt/comercio-azeite-rota-crescimento-todo-mundo/>.

Cordeiro, A.M., Calado, M.L., Morais, N.; Miranda, A., & Carvalho, M.T. (2009a, Maio). 'Azeiteira'. *Vida Rural*. Pág.17.

Cordeiro, A.M., Calado, M.L., Morais, N., Miranda, A., & Carvalho, M.T. (2009b, Setembro). 'Blanqueta'. *Vida Rural*. Pág.19.

Cordeiro, A.M., Calado, M.L., Morais, N., Miranda, A., & Carvalho, M.T. (2010a, Fevereiro). 'Cobrançosa'. *Vida Rural*. Pág.19.

Cordeiro, A.M., Calado, M.L., Morais, N., Miranda, A., & Carvalho, M.T. (2010b, Maio). 'Cordovil de Serpa'. *Vida Rural*. Pág.17.

Cordeiro, A.M., Calado, M.L., Morais, N., Miranda, A., & Carvalho, M.T. (2010c, Novembro). 'Galega Vulga'. *Vida Rural*. Pág.17.

Cordeiro, A.M., Calado, M.L., Morais, N., Miranda, A., & Carvalho, M.T. (2012, Maio). 'Verdeal de Serpa'. *Vida Rural*. Pág.19.

Cordeiro, A.M., & Inês, C. (2018). Que potencialidade podemos retirar de cultivares tradicionais de oliveira portuguesas? INIAV, I.P.

Cordeiro, A.M., Inês, C., & Morais, N. (2014). Principais cultivares de oliveira existentes em Portugal. In: P. Jordão (coord. científico), *Boas práticas no olival e no lagar*. pp.: 44-51. INIAV, I.P. 1.ª ed. ISBN: 978-972-579-041-0

Cordeiro, A. M., & Martins, P. (2002). Épocas de Floração de Variedades de Oliveira na Região de Elvas. *Melhoramento*, 38:205-214.

del Río, C., & Caballero, J.M. (1994). Preliminary agronomical characterization of 131 cultivars introduced in the olive germplasm bank of Cordoba in March 1987. *Acta Hort.* 356, 110-115. Consultado em 29 de maio de 2020. Disponível em <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1994.356.24>

DGADR. (Direção-Geral de Agricultura e Desenvolvimento Rural). (2010). *Produção Integrada do Olival*. 2.ª edição. Lisboa: DSIGA – Divisão de Planeamento, Documentação e Informática. 105 pp. ISBN: 978-972-8649-96-8. Consultado em 29 de maio de 2020. Disponível em https://www.dgadr.gov.pt/images/docs/prod_sust/normas_pi/Prodi_olival.pdf

Henriques, A., Inês, C., Rodrigues, F.M., Santana, C., & Cordeiro A.M. (2017). Caracterização dos hábitos de crescimento em seis cultivares de oliveira portuguesas. Livro de Resumos VIII Congresso Ibérico de Ciências Hortícolas, Coimbra, 07-10 junho, p. 173. ISBN: 978-972-8936-27-3

Inês, C., Arias-Calderón, R., Gomez-Jimenez, M.C., & Cordeiro, A.M. (2017a). Coleção Portuguesa de Referência de Cultivares de Oliveira (CPRCO): vigor vegetativo e produção de 31 cultivares na campanha de 2016/17. Livro de Resumos VIII Congresso Ibérico de Ciências Hortícolas, Coimbra, 07-10 junho, p. 163. ISBN:978-972-8936-27-3

Inês, C., Calado, S., Cordeiro, A.I., & Cordeiro, A.M. (2018). Arquitetura da árvore de cultivares de oliveira (*Olea europaea* L.) tradicionais portuguesas. VIII Simpósio Nacional de Olivicultura, Santarém, Portugal, June 7th – 9th.

Inês, C., & Cordeiro A.M., (2017). Como podem os recursos genéticos responder às necessidades de uma olivicultura moderna? (INIAV, I.P.). *Vida Rural* N.º 1831 pp. 36-38.

Inês, C., & Cordeiro A.M. (2019). Caracterização morfológica de cultivares de oliveira (INIAV, I.P.). *Oleavitis* N.º 38 pp. 2-4.

Leitão, F.A., Potes, M.F, Calado, M.L., & Almeida, F.J. (1986). Descrição de 22 Cultivares de Oliveira Cultivadas em Portugal. Ministério da Agricultura, Pescas e Alimentação, Direcção - Geral de Planeamento e Agricultura, Lisboa, pp.18 - 102.

León, L., Díaz-Rueda, P., Belaj, A., De la Rosa, R., Carrascosa, C., & Colmenero-Flores, J.M. (2020). Evaluation of early vigor traits in wild olive germplasm. *Scientia Horticulturae* 264: 109157. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.109157>.

MAM. (2015). Plano Nacional para os Recursos Genéticos Vegetais. INIAV, I.P. - Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, Ministério da Agricultura e do Mar. 30pp.

Marques, A. (2018). Análise Técnico-Financeira de um Olival em Dois Modos de Produção Diferentes: Biológico e Convencional. Tese de Mestrado em Gestão de Empresas Agrícolas Coimbra. Instituto Politécnico de Coimbra: Instituto Superior de Contabilidade e Administração de Coimbra. Consultado em 20 de março de 2020. Disponível em https://comum.rcaap.pt/bitstream/10400.26/27868/1/Ana_Marques.pdf

Martin, E. (2005). Presidente do ICVV. Consultado em 27 de março de 2020. Disponível em https://europa.eu/european-union/about-eu/agencies/cpvo_pt

Perestrelo, R. (2008). Caracterização do olival em Modo de Produção Biológico versus Convencional. Tese de dissertação de mestrado em Agricultura Sustentável, Instituto Politécnico de Portalegre, Elvas.

Rapoport, H. F. (2017). Botânica y Morfología. In: Barranco, D., Fernández-Escobar, R., & Rallo, L. (Ed. Coord.) El cultivo del olivo (7.ª Edición), pp. 37-64. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa. ISBN:978-84-8476-714-5.

Reis, P. (2014). O Olival em Portugal, Dinâmicas, Tecnologias e Relação com o Desenvolvimento Rural. Animar, Lisboa 2014. ISBN: 978-989-8748-06-5.

Santos, F. (2016). A Patente na Biotecnologia: uma perspetiva Jurídica – Tese de mestrado em Direito de Empresa e dos Negócios. Universidade Católica do Porto.

Saramago, I. (2009). Olival em Modo de Produção Biológica. Mestrado em Produção Integrada. Instituto Politécnico de Beja. Escola Superior Agraria de Beja.

Seabra, A. (2018). Rentabilidade do Olival Regado no Alentejo. Tese de mestrado, Engenharia Agronómica. Instituto superior de agronomia, Universidade de Lisboa. Consultada em julho de 2020. Disponível em <https://www.repository.utl.pt/bitstream/10400.5/17895/1/Tese%20Ana%20Maria%20Seabra.pdf>

Silva. (2019). Jornal económico. Consultado em 18 de março 2020. Disponível em <https://jornaleconomico.sapo.pt/noticias/alentejo-lidera-em-olival-e-producao-de-azeitona-e-azeite-em-portugal-518140>

Simões, D. (2016). Aplicação de Marcadores de ADN para identificação de cultivares de oliveira, (INIAV, I.P.).

Tous, J., Romero, A., Hermoso, J., & Ninot A. (2011). Mediterranean clonal selections evaluated for modern hedgerow olive oil production in Spain. *Calif Agr* 65(1):34-40. Consultada em julho de 2020. Disponível em <https://doi.org/10.3733/ca.v065n01p34>.

UPOV, 2011. TG/99/4 - Olive (*Olea europaea* L.). Guidelines for the conduct of tests for distinctness, uniformity and stability. International Union for the Protection of New Varieties of Plants. Geneva.

UPOV, 2019. TGP/8 - Use of Statistical Procedures in DUS Testing. International Union for the Protection of New Varieties of Plants. Geneva.

Vilar, J., Santos, P., Caño, S., Caldeira, B., Dias, P.P., & Rosário, L. (2019). Alentejo: A liderar a olivicultura Moderna e Internacional. Relatório final. Consultado em 12 junho, 2020. Disponível em <https://www.oliveoiltimes.com/wp-content/uploads/2019/12/portugal-olive-growing-report.pdf>

<https://pt.climate-data.org/europa/portugal/elvas/elvas-7061/>. Consultado em julho de 2020.

<https://www.ipma.pt/pt/educativa/tempo.clima/>. Consultado em julho de 2020.

Anexo I

Excerto do Documento TG/99/4 (UPOV, 2011)



TG/99/4

ORIGINAL: English

DATE: 2011-10-20

INTERNATIONAL UNION FOR THE PROTECTION OF NEW VARIETIES OF PLANTS
GENEVA

<p>OLIVE</p> <p>UPOV Code: OLEAA_EUR</p> <p><i>Olea europaea</i> L.</p>
--

GUIDELINES
FOR THE CONDUCT OF TESTS
FOR DISTINCTNESS, UNIFORMITY AND STABILITY

Alternative Names:*

<i>Botanical name</i>	<i>English</i>	<i>French</i>	<i>German</i>	<i>Spanish</i>
<i>Olea europaea</i> L.	Olive	Olivier	Ölbaum, Olive	Olivo

The purpose of these guidelines ("Test Guidelines") is to elaborate the principles contained in the General Introduction (document TG/1/3), and its associated TGP documents, into detailed practical guidance for the harmonized examination of distinctness, uniformity and stability (DUS) and, in particular, to identify appropriate characteristics for the examination of DUS and production of harmonized variety descriptions.

ASSOCIATED DOCUMENTS

These Test Guidelines should be read in conjunction with the General Introduction and its associated TGP documents.

* These names were correct at the time of the introduction of these Test Guidelines but may be revised or updated. [Readers are advised to consult the UPOV Code, which can be found on the UPOV Website (www.upov.int), for the latest information.]

	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielsorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
25. (*) (+)	VG	Fruit: nipple	Fruit : mamelon	Frucht: Höcker	Fruto: protuberancia	
QN	(c)	absent or weak	absente ou faible	fehlend oder gering	ausente o ligera	Hojiblanca 1
		moderate	moyenne	mäßig	moderada	Pajarero 2
		strong	forte	stark	fuerte	Limoncillo, MGS ASC315 3
26. (*) (+)	VG	Fruit: shape of base in position A	Fruit : forme de la base en position A	Frucht: Form der Basis in Position A	Fruto: forma de la base en posición A	
QN	(c)	rounded	arrondie	abgerundet	redondeada	Gordal Sevillana, MGS GRAP541 1
		rounded to truncate	arrondie à tronquée	abgerundet bis gerade	redondeada a truncada	2
		truncate	tronquée	gerade	truncada	Manzanilla de Sevilla 3
27. (+)	VG	Fruit: bloom of surface	Fruit : pruine sur la surface	Frucht: Bereifung der Oberfläche	Fruto: pruina de la superficie	
QN	(c)	weak	légère	gering	leve	Coratina, Picual 3
		medium	moyenne	mittel	media	Frantoio 5
		strong	forte	stark	fuerte	Barnea 7
28. (+)	VG	Stone: shape in position B	Noyau : forme en position B	Stein: Form in Position B	Hueso: forma en posición B	
PQ	(e)	ovate	ovale	eiförmig	ovado	Bella di Spagna 1
		oblong	oblongue	rechteckig	oblongo	Leccino 2
		elliptic	elliptique	elliptisch	elíptico	Hojiblanca, MGS GRAP541 3
		circular	circulaire	kreisförmig	circular	Itrana 4
		obovate	obovale	verkehrt eiförmig	obovado	Aloreña 5

	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota	
29.	MS	Stone: length	Noyau : longueur	Stein: Länge	Hueso: longitud		
QN	(e)	short	court	kurz	corto	Arbosana	3
		medium	moyen	mittel	medio	Konservolia	5
		long	long	lang	largo	Bella di Cerignola	7
30.	MS	Stone: width in position B	Noyau : largeur en position B	Stein: Breite in Position B	Hueso: anchura en posición B		
QN	(e)	narrow	étroit	schmal	estrecho	Koroneiki	3
		medium	moyen	mittel	medio	Mission	5
		broad	large	breit	ancho	Gordal Sevillana	7
31.	VG	Stone: ratio length/ width	Noyau : rapport longueur/largeur	Stein: Verhältnis Länge/Breite	Hueso: relación longitud/anchura		
QN	(e)	slightly elongated	légèrement allongé	leicht langgezogen	ligeramente alargado	Arbequina	1
		moderately elongated	modérément allongé	mäßig langgezogen	moderadamente alargado	Barouni	2
		very elongated	très allongé	stark langgezogen	muy alargado	Bella di Cerignola	3
32.	MG	Stone: weight	Noyau : poids	Stein: Gewicht	Hueso: peso		
QN	(e)	very low	très faible	sehr gering	muy bajo		1
		low	faible	gering	bajo	Arbequina	3
		medium	moyen	mittel	medio	Imperial, Itrana	5
		high	élevé	hoch	elevado	Barouni, Picudo	7
		very high	très élevé	sehr hoch	muy elevado	Gordal Sevillana	9
33.	VG	Stone: symmetry in position A	Noyau : symétrie en position A	Stein: Symmetrie in Position A	Hueso: simetría en posición A		
QN	(e)	symmetric	symétrique	symmetrisch	simétrico	Arbequina	1
		weakly asymmetric	légèrement asymétrique	leicht asymmetrisch	ligeramente asimétrico	Lechin de Sevilla, MGS MARIENSE	2
		strongly asymmetric	fortement asymétrique	stark asymmetrisch	fuertemente asimétrico	Picudo	3

	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
34. VG (*) (+)	Stone: symmetry in position B	Noyau : symétrie en position B	Stein: Symmetrie in Position B	Hueso: simetría en posición B		
QN (e)	symmetric	symétrique	symmetrisch	simétrico	Hojiblanca	1
	weakly asymmetric	légèrement asymétrique	leicht asymmetrisch	ligeramente asimétrico	Lechin de Sevilla, MGS MARIENSE	2
	strongly asymmetric	fortement asymétrique	stark asymmetrisch	fuertemente asimétrico	Pajarero	3
35. VG (*) (+)	Stone: number of grooves on basal end	Noyau : nombre de cannelures à l'extrémité basale	Stein: Anzahl Furchen am Basisende	Hueso: número de surcos en la base		
QN (e)	less than 7	inférieur à 7	weniger als 7	menos de 7	Bical, MGS GRAP541	1
	between 7 and 10	entre 7 et 10	zwischen 7 und 10:	entre 7 y 10	Picual	2
	more than 10	supérieur à 10	mehr als 10	más de 10	Manzanilla Prieta	3
36. VG (*) (+)	Stone: distribution of grooves on basal end	Noyau : distribution des sillons fibrovasculaires à l'extrémité basale	Stein: Verteilung der Furchen am Basisende	Hueso: distribución de surcos en la base		
PQ (e)	evenly distributed	répartis uniformément	gleichmäßig verteilt	repartidos uniformemente	Hojiblanca, MGS GRAP541, MGS MARIENSE	1
	weakly grouped around suture	faiblement regroupées au niveau de la suture	leicht um die Naht gruppiert	levemente agrupados en torno a la sutura		2
	strongly grouped around suture	fortement regroupés au niveau de la suture	stark um die Naht gruppiert	firmemente agrupados en torno a la sutura	Villalonga	3
37. VG (*) (+)	Stone: shape of apex in position A	Noyau : forme du sommet en position A	Stein: Form der Spitze in Position A	Hueso: forma del ápice en posición A		
PQ (e)	acute	pointu	spitz	agudo	Picudo	1
	obtuse	obtus	stumpf	obtuso		2
	rounded	arrondi	abgerundet	redondeado	Chorrúo	3

	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota	
38.	VG	Stone: mucron	Noyau : mucron	Stein: aufgesetzte Spitze	Hueso: mucrón		
(*) (+)							
QL	(e)	absent	absent	fehlend	ausente	Lucio, MGS MARIENSE	1
		present	présent	vorhanden	presente	Chorroo, MGS GRAP561	9
39.	VG	Stone: shape of base in position A	Noyau : forme de la base en position A	Stein: Form der Basis in Position A	Hueso: forma de la base en posición A		
(*) (+)							
PQ	(e)	acute	pointue	spitz	aguda	Cornezuelo de Jaen	1
		rounded	arrondie	abgerundet	redondeada	Morona	2
		truncate	tronquée	gerade	truncada	Azapa, MGS GRAP561	3
40.	VG	Stone: rugosity of surface	Noyau : rugosité de la surface	Stein: Rauheit der Oberfläche	Hueso: rugosidad de la superficie		
(*)							
QN	(e)	weak	légère	gering	leve	Lechin de Sevilla	1
		medium	moyenne	mittel	media	Cacereña, Manzanilla de Sevilla	2
		strong	forte	stark	fuerte	Bodoquera, MGS ASC315	3
41.	VG	Time of fruit ripening	Époque de maturité du fruit	Zeitpunkt der Fruchtreife	Época de comienzo de madurez del fruto		
(+)							
QN	(c)	very early	très précoce	sehr früh	muy temprana		1
		early	précoce	früh	temprana	Picual	3
		medium	moyenne	mittel	media	Gordal Sevillana	5
		late	tardive	spät	tardía	Hojiblanca	7
		very late	très tardive	sehr spät	muy tardía	Don Carlo	9

