



Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia

Mestrado em Biologia da Conservação

Dissertação

**Seed balls em clima Mediterrânico: avaliação da sua eficácia
na promoção de espécies de flora nativa para restauro
ecológico.**

Pedro Antunes da Costa

Orientador(es) | Anabela Dias Belo
Mariana P. Fernandes

Évora 2024



Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia

Mestrado em Biologia da Conservação

Dissertação

**Seed balls em clima Mediterrânico: avaliação da sua eficácia
na promoção de espécies de flora nativa para restauro
ecológico.**

Pedro Antunes da Costa

Orientador(es) | Anabela Dias Belo
Mariana P. Fernandes

Évora 2024



A dissertação foi objeto de apreciação e discussão pública pelo seguinte júri nomeado pelo Diretor da Escola de Ciências e Tecnologia:

Presidente | Carla Pinto Cruz (Universidade de Évora)

Vogais | Anabela Dias Belo (Universidade de Évora) (Orientador)
Catarina Isabel Rodrigues Meireles (Universidade de Évora) (Arguente)

Agradecimentos

A presente dissertação foi possível apenas com o contributo de várias pessoas que me acompanharam durante esta etapa, às quais passo a agradecer. Primeiramente agradeço à minha esposa 刘立亚, que com a sua persistência me incentivou a voltar à universidade para estudar algo do meu interesse, nunca é tarde para melhorar o nosso conhecimento acerca do mundo que nos rodeia.

Agradeço às minhas orientadoras: à investigadora Mariana Pucarinho, por todo o seu constante apoio, explicações, correções, tempo e paciência, desde o início do trabalho de campo até à entrega da dissertação; à Professora Anabela Belo, pela proposta de tema e pelas importantes e atenciosas correções da dissertação. O seu empenho e dedicação no desenvolvimento deste tema e a transmissão do seu conhecimento científico melhoraram a minha experiência neste ramo, e estou muito grato por isso.

Agradeço à investigadora Paula Matono pelo seu aconselhamento, sugestões e companhia durante a análise de dados e o desenvolvimento manual das bolas de sementes.

Agradeço o apoio fornecido pelo Banco de Sementes do Departamento de Biologia da Universidade de Évora, o qual disponibilizou de suas instalações e materiais, sem os quais estes ensaios não poderiam ter sido realizados.

Agradeço igualmente a todos os professores do mestrado Biologia da Conservação. O meu tempo despendido neste curso foi positivo: grande parte das aulas foi muito interessante e gostei de me debruçar na maioria dos trabalhos / testes / apresentações para avaliação. Estou grato pelos conhecimentos e curiosidades que muitos deles me transmitiram durante as aulas, saídas de campo ou visitas.

Quero agradecer também a todos os colegas de curso que me acompanharam, em especial ao Diogo Sá e à Luena Marques, que me ajudaram e com quem passei bastante tempo à volta de trabalhos, saídas e afins. Ao João Canedo também!

Agradeço também ao resto da minha família por me ter acompanhado nesta e em outras fases, por me ouvir e apoiar sempre que necessário.

Obrigado a todos e desejo que desfrutem da leitura desta dissertação.

Seedballs em clima Mediterrânico: avaliação da sua eficácia na promoção de espécies de flora nativa para restauro ecológico

Resumo

Em clima Mediterrânico, o restauro ecológico com sementeira é limitado por dificuldades na germinação e desenvolvimento de plantas. A técnica de *seedballs* poderá melhorar algumas dessas limitações, pretendendo este estudo determinar a composição mais adequada e a sua capacidade de proteção face a predadores sob condições mediterrânicas.

Em parcelas experimentais, semeámos seis espécies herbáceas individualmente em duas composições de *seedballs* (com e sem cinza) e com sementeira tradicional (referência). A taxa de germinação, tempo médio de germinação e o desenvolvimento das plantas foram avaliados. A predação de sementes foi avaliada num ensaio de cafeteria.

Seedballs Cinza permitem, pelo menos, uma germinação similar à sementeira tradicional e um desenvolvimento de plantas mais eficaz do que as *seedballs* sem cinza. Ambas as composições conferem proteção face à predação. É possível utilizar *seedballs* em clima mediterrânico com resíduos industriais e domésticos, porém o reajuste da composição ou dimensão da *seedball* pode ser benéfico.

Palavras-chave: revestimento de sementes, germinação, estabelecimento de plantas, predação de sementes, economia circular

Seedballs in Mediterranean climate: assessing their effectiveness in establishing native plants for ecological restoration

Abstract

In Mediterranean climate, ecological restoration using seeding is limited by challenges in plant germination and development. The seedball technique may alleviate some of these limitations, and this study aims to determine the most suitable composition and its capacity to protect against predators under Mediterranean conditions.

In experimental plots, we individually sowed six herbaceous species using two seedball compositions (with and without ash) and traditional seeding as a reference. The germination rate, mean germination time, and plant development were evaluated. Seed predation was assessed through a cafeteria trial.

Ash-containing seedballs allow for germination rates similar to traditional seeding and promote more effective plant development than seedballs without ash. Both compositions provide protection against predation. It is feasible to use seedballs in Mediterranean climates with industrial and domestic residues; however, adjusting the composition or size of the seedball may be beneficial.

Keywords: seed coating, germination, establishment, predation, circular economy

Índice geral

1. Introdução	1
1.1. Problemática do restauro ecológico	1
1.2. A problemática do uso de sementes em restauro ecológico	3
1.3. O revestimento como um tratamento de sementes	4
1.5. Caso de estudo	8
2. Materiais e métodos	10
2.1. Seleção de espécies	10
2.2. Ensaio de viabilidade de sementes	11
2.3. Ensaio de campo	12
2.3.1. Área de estudo	12
2.3.2. Desenvolvimento das <i>seedballs</i>	14
2.3.3. Ensaio de <i>Seedballs</i>	15
2.3.4. Ensaio de Predação	18
2.4. Análise de dados	19
2.4.1. Ensaio de Predação	21
3. Resultados	22
3.1. Avaliação da viabilidade dos lotes de sementes	22
3.2. Avaliação do Ensaio de <i>Seedballs</i>	22
3.2.1. Germinação	22
3.2.2. Germinação por espécie	24
3.2.3. Desenvolvimento	26
3.2.4. Desenvolvimento por espécie	26
3.2.5. Influência ambiental na germinação e sobrevivência das plantas	27
3.2.6. Avaliação da degradação das <i>seedballs</i>	30
3.3. Avaliação do Ensaio de Predação	31
4. Discussão de resultados	34

4.1. Ensaio de <i>Seedballs</i>	34
4.1.1. Germinação.....	34
4.1.2. Desenvolvimento.....	37
4.2. Ensaio de Predação	40
4.3. Viabilidade da utilização de resíduos industriais no fabrico de <i>seedballs</i>	41
5. Considerações finais.....	43
6. Referências bibliográficas	45
7. Apêndices.....	54
Apêndice I. Parâmetros químicos dos substratos que constituem as <i>seedballs</i>	54
Apêndice II. Organização do campo experimental	55
Apêndice III. Fatores ambientais e tipo de tratamento que influenciaram a germinação	56
Apêndice IV. Fatores ambientais e tipos de tratamento que influenciaram a sobrevivência	58

Índice de figuras

- Figura 1 A:** A área de estudo localiza-se no distrito de Évora. **B:** Localização do campo experimental do MED – Instituto Mediterrâneo para a Agricultura, Ambiente e Desenvolvimento, situado no Pólo da Mitra da Universidade de Évora: 1. Campo de ensaio; 2. Estação meteorológica da Herdade da Mitra; 3. Pólo da Mitra. (adaptado de Google, 2023)..... 13
- Figura 2:** Temperatura média e precipitação total mensal entre setembro de 2022 e maio de 2023, o que corresponde ao período em que as *seedballs* estiveram na área de estudo 13
- Figura 3 A:** Parcela com 1 m² e com 9 réplicas (*seedballs*). **B:** As réplicas de cada parcela foram posicionadas uma distância aproximada entre réplicas adjacentes. 15
- Figura 4 A:** Germinação positiva de *Brachypodium distachyon*. a partir de uma *seedball*. **B:** Planta considerada como um desenvolvimento positivo de *Briza maxima* a partir de uma *seedball*. 16
- Figura 5:** Réplica do Ensaio de Predação com 3 *Seedballs* Cinza, 3 *Seedballs* e 50 sementes livres (neste caso, *Cynara humilis*). 18
- Figura 6:** Percentagem da germinação das sementes entre os diferentes tratamentos (linha horizontal: mediana; ponto a preto: média). Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as percentagens de germinação das sementes dos diferentes tipos de tratamento. A comparação estatística foi efetuada com recurso ao teste de Mann-Whitney. 23
- Figura 7:** Tempo médio de germinação (TMG) das sementes entre os diferentes tratamentos (linha horizontal: mediana; ponto a preto: média; pontos a cinzento: pontos extremos). Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) no tempo médio de germinação entre os diferentes tipos de tratamento. A comparação estatística foi efetuada com recurso ao teste de Mann-Whitney.. 23
- Figura 8:** Percentagens de germinação das sementes entre os diferentes tratamentos por espécie (linha horizontal: mediana; ponto a preto: média; pontos a cinzento: pontos extremos). Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) no tempo médio de germinação entre os diferentes tipos de tratamento A comparação estatística foi efetuada com recurso ao teste de Mann-Whitney.. 24
- Figura 9:** Tempo médio de germinação (TMG) das sementes entre os diferentes tratamentos por espécie (linha horizontal: mediana; ponto preto: média). Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) no tempo médio de germinação entre os diferentes tipos de tratamento. A comparação estatística foi efetuada com recurso ao teste de Mann-Whitney. 25

Figura 10: Percentagem de desenvolvimento entre os três tipos de tratamento (linha horizontal: mediana; ponto a preto). Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) na percentagem de desenvolvimento entre os diferentes tipos de tratamento. A comparação estatística foi efetuada com recurso ao teste de Mann-Whitney.26

Figura 11: Percentagens de desenvolvimento entre os diferentes tratamentos por espécie (linha horizontal: mediana; ponto a preto: média; pontos a cinzento: pontos extremos; caixa: média). Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) na percentagem de desenvolvimento das plantas entre os diferentes tipos de tratamento. A comparação estatística foi efetuada com recurso ao teste de Mann-Whitney.27

Figura 12: Análise de Redundância relativa aos fatores ambientais que influenciaram os resultados obtidos nas parcelas de *Seedball* e *Seedball* Cinza. Os acrónimos usados referem-se a: GERM – germinação de sementes; FOL – plantas que desenvolveram 1^{as} ou 2^{as} folhas verdadeiras, mas que não chegaram a adultos; ADU – plantas que atingiram o estado de adulto; COT – plantas que apenas desenvolveram cotilédones. Os acrónimos a preto são variáveis independentes: ALT – média da altura da vegetação; FOLH – folhada; SOLO – solo nu; SOMB – intensidade de sombra; VEGT – vegetação espontânea.28

Figura 13: Análise de Redundância relativa aos fatores ambientais que influenciaram os resultados obtidos nas parcelas de Referência. Os acrónimos usados referem-se a: GERM – germinação de sementes; FOL – plantas que desenvolveram 1^{as} ou 2^{as} folhas verdadeiras, mas que não chegaram a adultos; ADU – plantas que atingiram o estado de adulto; COT – plantas que apenas desenvolveram cotilédones. Os acrónimos a preto são variáveis independentes: CROST – crosta viva no solo; FOLH – folhada; SOMB – intensidade de sombra; VEGT – vegetação espontânea.29

Figura 14: Percentagem de degradação ocorrida nas *seedballs* ao fim de dois períodos distintos: Tempo 1 (desde a instalação do ensaio até ao fim do inverno) e Tempo 2 (desde o fim do Tempo 1 até ao final do ensaio). Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) na percentagem de degradação de *seedballs* entre diferentes tipos de tratamento no mesmo tempo. Números romanos diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) na percentagem de degradação de *seedballs* entre diferentes tipos de tratamento em tempos diferentes31

Figura 15: Percentagem de predação das sementes entre os vários tratamentos (linha horizontal: mediana; ponto a preto: média). Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) na percentagem de predação das sementes entre os diferentes tipos de tratamento. A comparação estatística foi efetuada com recurso ao teste de Mann-Whitney.32

Figura 16: Percentagens de predação das sementes entre os diferentes tratamentos por espécie (linha horizontal: mediana; ponto a preto: média; pontos a cinzento: pontos extremos). Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) na percentagem de predação de sementes entre os diferentes tipos de tratamento. A

comparação estatística foi efetuada com recurso ao teste de Mann-Whitney, com a excepção da espécie *Coleotephus myconis* para a qual se usou o teste ANOVA....33

Figura II. 1: Organização das parcelas instaladas no campo experimental no início do outono. O Ensaio de *Seedballs* foi constituído por sequências de diferentes parcelas. Cada quadrado representa uma parcela de 1m² com apenas uma espécie num dos três tipos de tratamento disponíveis. Cada sequência de parcelas está numerada com o mesmo número (ex. Bm1, Bm1, Bm1), tendo cada espécie a totalidade de três destas sequências, dispostas aleatoriamente em diferentes localizações na área de estudo. O Ensaio de Predação foi colocado ao lado de algumas das parcelas sob forma de uma experiência de cafetaria. Cada uma das espécies possuiu 3 réplicas (ex. 1Bm, 2Bm, 3Bm)..... 55

Índice de tabelas

Tabela 1: Caracterização das seis espécies selecionadas e respectivos lotes de sementes.	12
Tabela 2: Categorias de níveis de intensidade de sombra atribuídas a cada parcela do campo experimental.....	17
Tabela 3: Categorias atribuídas ao formato das <i>seedballs</i> após o fim do período de chuvas mais abundante e ao final do ensaio.	17
Tabela 4: Viabilidade (média \pm erro-padrão) dos lotes das espécies utilizadas.	22
Tabela I.1 1: Parâmetros químicos dos substratos que constituem as <i>seedballs</i>	54
Tabela III. 2: Valores de um modelo linear generalizado (GLM) que relacionou vários fatores ambientais com a germinação das sementes por espécie. A cor azul representa variáveis com valores significativos.....	56
Tabela IV. 1: Valores de um modelo linear generalizado (GLM) que relacionou vários fatores ambientais com a sobrevivência das plantas por espécie. A cor azul representa variáveis com valores significativos.....	58

Abreviaturas

UE – União Europeia

SB – *Seedball* (sem cinza)

SBC – *Seedball* Cinza

REF – Referência

1. Introdução

1.1. Problemática do restauro ecológico

Atualmente a definição de restauro ecológico mais aceita é a da Sociedade para o Restauro Ecológico (SER) que o refere como: “*processo que auxilia a recuperação de um ecossistema que tem sido degradado, danificado ou destruído*” (SER, 2004). Distingue-se assim da prática da conservação, ciência que se foca maioritariamente na prevenção de maiores perdas nos ecossistemas (Porensky et al., 2024). No fundo, o restauro ecológico consiste numa série de medidas que facilitam ou iniciam a recuperação de um dado ecossistema face a distúrbios frequentemente associados direta ou indiretamente a causas antrópicas (SER, 2004).

Quando possível, os planos de restauro tendem a selecionar um estágio do ecossistema de referência a fim de formularem objetivos exequíveis nas condições ecológicas locais, económicas, sociais e/ou legais (SER, 2004). A trajetória ecológica é traçada com base nesses objetivos, auxiliando na criação de um ecossistema estrutural e funcionalmente resiliente (SER, 2004). A resiliência pode ser alcançada com intervenções de natureza variada que refletem as necessidades da área em questão. Muitas vezes o restauro ecológico consiste simplesmente na remoção ou modificação de uma causa de distúrbio, deixando que os processos ecológicos façam uma recuperação independente (SER, 2004). Um bom exemplo disto seria o desmantelamento de uma barragem, permitindo recuperar o caudal histórico de um curso de água, medida indispensável à recuperação de um ecossistema lótico do qual as espécies nativas dependem (Kanehl et al., 1997). Em outros casos, é necessária a implementação de um conjunto de ações mais complexo, como o restabelecimento de espécies e/ou controlo de espécies invasoras (SER, 2004). As publicações científicas sobre restauro ecológico têm vindo a crescer rapidamente nas últimas três décadas, particularmente após a declaração da Década do Restauro de Ecossistemas pela Organização das Nações Unidas, a decorrer entre 2021 e 2030 (Shen et al., 2023), interesse que acabou por alcançar os círculos políticos da União Europeia (UE).

No último relatório sobre o estado da natureza na UE constata-se que mais de três quartos dos habitats protegidos pela Diretiva Habitats se encontram em mau estado de conservação, havendo uma deterioração dos valores em relação ao relatório anterior (European Environment Agency, 2020). A fim de melhorar esta situação, a Comissão Europeia criou a denominada “Lei do Restauro da Natureza”. Entre outros parâmetros, a nova legislação estabelece que cada Estado-Membro tenha medidas efetivas de restauro

ecológico que abranjam 20% das áreas em mau estado de conservação até 2030, expandindo essa área para 60% até 2040 e 90% até 2050 (Regulamento [UE] 2024/1991, 2024). A promulgação desta lei é um passo importante na mitigação da perda de biodiversidade entre as diferentes áreas bioclimáticas europeias, entre elas, a da região de clima mediterrânico.

A bacia do Mediterrâneo está classificada como um *hotspot* de biodiversidade por conter um elevado número de plantas endémicas (≥ 1500 espécies) e onde apenas subsiste menos de 30% da sua vegetação original (Mittermeier et al., 2011). Esta classificação reforça a importância do restauro ecológico nestas áreas, uma vez que a alocação de recursos em regiões de elevada biodiversidade pode resultar num maior benefício ecológico (Myers et al., 2000). No entanto, apesar de ser caracterizada por invernos relativamente suaves e húmidos, os seus verões quentes e secos, além da irregularidade da precipitação (Harding e Palutikof, 2009), são circunstâncias que podem tornar o restauro ecológico desafiante nesta região. Em regiões de clima mediterrânico, como na Península Ibérica, a disponibilidade de água e nutrientes do solo são fatores ambientais cruciais que afetam a distribuição da vegetação e produtividade das plantas (Joffre e Rambal, 2001). Os solos são geralmente pobres em matéria orgânica e com baixa disponibilidade de fósforo (Vallejo et al., 1999). Em que medida o empobrecimento em nutrientes dificulta o restauro ecológico é uma questão em debate (existe elevada endemicidade de flora nativa em solos pobres), mas a sua interação com a seca pode ter um efeito sinérgico para com o *stress* hídrico das plântulas (Vallejo et al., 2012a). Porém, é reconhecido que as plântulas costumam responder bem ao incremento de fertilizantes, quer sejam inorgânicos ou orgânicos (Vallejo et al., 2012a). Existem várias opções passíveis de serem aplicadas em planos de restauro, sendo o composto de lodo de esgoto e o calcário triturado as opções geralmente menos dispendiosas (Pérez-Gimeno et al., 2019). Quanto à disponibilidade de água em clima mediterrânico, há uma elevada variabilidade espacial e sazonal devido à irregularidade da precipitação, que ocorre principalmente durante o inverno (Aschmann, 1973). Durante o verão, a precipitação é escassa e irregular, originando períodos de seca que podem persistir por dois ou três meses (Harding e Palutikof, 2009), o que pode ter algum efeito negativo na germinação, mas que restringe principalmente o crescimento e o estabelecimento, acabando por estes períodos constituírem o maior fator de mortalidade de plantas quando se restaura áreas degradadas sob condições mediterrânicas (Vallejo et al., 2012a). Não obstante, a rega raramente é implementada devido aos elevados custos inerentes (Vallejo et al., 2012a). O aumento da aridez na Península Ibérica poderá agravar o sucesso dos planos de restauro, especialmente em áreas como a sudeste da península,

onde as projeções indicam mudanças bioclimáticas acentuadas (Andrade e Contente, 2020). As dificuldades para o restauro ecológico poderão ser acrescidas não só devido ao aumento de períodos de *stress* hídrico, mas conseqüentemente, também pelo aumento da frequência e severidade dos incêndios rurais (Parente et al., 2019)

Dada a necessidade crescente de restauro ecológico na Península Ibérica e, as suas condições gradualmente mais adversas, torna-se fundamental a investigação e avaliação de técnicas de restauro que possam ser adaptadas a essas circunstâncias.

1.2. A problemática do uso de sementes em restauro ecológico

Em projetos de restauro que envolvam áreas amplas ou, de um ecossistema de elevada biodiversidade, o uso de sementes é a opção com melhores resultados em termos de custo-benefício quando comparados com a plantação de plântulas de viveiros (Pérez-Gimeno et al., 2019). O uso de sementeira direta necessita de menos tempo e esforço quando comparado com a produção em viveiro, reduzindo o custo ainda mais aquando do plantio (Jarrar et al., 2023). Por exemplo, o uso de *Artemisia tridentata* Nutt. de viveiro é dez vezes mais dispendioso quando comparado com a sementeira direta (Schuman et al., 2005). A acessibilidade económica contribui para que a sementeira direta seja o método de restauro ecológico mais usado em regiões com algum nível de aridez (Shackelford et al., 2021). Em áreas de declive acentuado ou de difícil acesso, onde se situam muitas das áreas protegidas, os custos económicos de restauro ecológico são maiores devido a um maior esforço laboral ou à necessidade de equipamento especializado (Wilson et al., 2011), e nessas circunstâncias a sementeira direta não é uma possibilidade.

A irregularidade do clima mediterrânico pode comprometer o uso de sementeira direta pela germinação e estabelecimentos incertos (Vallejo et al., 2012a). Para além de fatores abióticos, sabe-se que o efeito de predação de sementes pode modificar a dinâmica das comunidades de plantas (ex.: Andersen, 1989). Áreas de elevada densidade de granívoros podem limitar o desenvolvimento de determinadas espécies de plantas, caso estas façam parte da sua preferência alimentar (Crawley et al., 1995; Watkinson et al., 1989). Outro fator em consideração no uso de sementeira direta é a competição com plantas invasoras e/ou nativas (Andersen, 2020; Kaligarič et al., 2006). Assim, de acordo com Ceccon et al. (2016), são menos de 10% as sementes postas em campo que se estabelecem efetivamente e produzem plantas adultas.

As dificuldades do uso de sementes começam desde a sua aquisição: o mercado de plantas nativas está muitas vezes por explorar ou é quase inexistente. Assim, a quantidade e diversidade de sementes disponíveis no mercado é reduzida (Merritt e Dixon, 2011a). Isto relaciona-se com a dificuldade de recolha de sementes na natureza, que em larga escala pode ter um impacto negativo no ecossistema (Nevill et al., 2018); na difícil distribuição derivada da morfologia que muitas sementes têm (Chambers, 2000) e com a inviabilidade de armazenamento que as sementes recalcitrantes detêm (Merritt e Dixon, 2011b). O conhecimento limitado à cerca das condições óptimas de germinação da maioria das espécies silvestres e o facto de muitas delas apresentarem dormência (Baskin e Baskin, 2014), também dificultam o desenvolvimento deste mercado.

Numa época onde, o restauro ecológico é necessário para áreas cada vez mais extensas, torna-se importante o desenvolvimento de técnicas simples e fiáveis que possam melhorar alguns dos aspetos desfavoráveis quando se usam sementes em restauro ecológico.

1.3. O revestimento como um tratamento de sementes

Todos os procedimentos feitos no pós-colheita, limpeza de sementes incluída, visam a melhoria da germinação e do estabelecimento posterior da planta e/ou facilitam a distribuição da semente ou outros materiais necessários quando da sementeira (Halmer, 2008; Taylor et al., 1998). São práticas retratadas como procedimentos modernos, mas o seu uso e aperfeiçoamento têm uma base histórica com séculos, ou mesmo com milhares de anos (Evenari, 1980). As técnicas de tratamento de sementes podem ser categorizadas em: processamento (ex.: separação por cores); desinfeção (ex.: termoterapia); tratamentos hidratantes (ex.: condicionamento osmótico (*Osmo-Priming*)); escarificação (ex.: escarificação mecânica) e revestimento de sementes (*seed coating*) (Halmer, 2008; Jarar et al., 2023). O revestimento de sementes consiste na aplicação de uma camada de material(s) no exterior das sementes (Pedrini et al., 2020). Os materiais usados podem ser divididos em dois grupos: os aglutinantes (*binders*) e os agentes de enchimento (*fillers*). Os aglutinantes servem para manter outros materiais aderidos à superfície da semente, como por exemplo, fungos micorrízicos, enquanto os agentes de enchimento conferem volume e peso às sementes originais (Pedrini et al., 2020). O uso desta técnica é generalizado na agricultura desde há muitas décadas, onde se desenvolveram processos industriais para a sua aplicação em larga escala (Taylor et al., 1998), mas a sua aplicação em sementes

nativas continua limitada a ensaios experimentais (Pedrini et al., 2020). A passagem desta informação para a área da conservação é dificultada pelo facto de a indústria agroquímica ter interesse em manter a confidencialidade das técnicas que desenvolveu para espécies agrícolas e hortícolas (Pedrini et al., 2017).

A aplicação direta de um revestimento em sementes nativas não é sempre possível: a sua morfologia é muito variada, sendo muitas vezes necessária a redução ou remoção de estruturas exteriores (Guzzomi et al., 2016; Pedrini et al., 2017), um processo que pode ser extenso e moroso. Frequentemente, o difícil maneio de sementes nativas também se estende à incompatibilidade com a distribuição mecânica devido à sua reduzida dimensão e/ou irregularidade (Chambers, 2000; Gornish et al., 2019). Se um material for aplicado à sua superfície, as sementes ficam mais homogéneas e/ou de maior dimensão, facilitando o seu manuseamento e distribuição pelas áreas alvo de restauro ecológico (Hoose et al., 2019). Ademais, os variados ingredientes que têm sido testados podem ter finalidades diferentes e aditivas, como aumentar a sobrevivência das sementes, por exemplo através da proteção contra predadores, agentes patogénicos ou herbicidas (Brown et al., 2018; Pedrini et al., 2017; Taylor et al., 2020), ou aumentar a resistência das sementes e plântulas face a *stresses* ambientais, adicionando ingredientes ativos como fungos micorrízicos, bactérias ou ácido salicílico (Pedrini et al., 2021; Rocha et al., 2019). A germinação pode também ser promovida com a adição de nutrientes, hormonas ou hidrogel (Mangold e Sheley, 2007; Pedrini et al., 2021).

Os revestimentos de sementes com interesse para o restauro ecológico incluem:

Microencapsulação (*microencapsulation*) - ingredientes ativos são protegidos e integrados em pequenas cápsulas que incorporam o revestimento da semente. Por exemplo, Zvinavashe et al. (2019) usou estirpes de *Rhizobium sp.* numa matriz à base de biomateriais (fibroína e tralose) com o intuito de mitigar o efeito da salinização em *Phaseolus vulgaris*.

Revestimento em película (*film coating*) - consiste numa fina camada de revestimento com menos de 5-8% do peso da semente (Afzal et al., 2020). As utilidades dos princípios ativos são variadas, incluindo o efeito repelente, como em Taylor et al. (2020), que desenvolveram um revestimento eficiente contra roedores à base de pó de *Capsicum chinense* x *C. frutescens*, óleo de *Azadirachta indica* e carvão ativado.

Incrustação (*encrusting*) - aglutinantes em pó e líquidos são aplicados, o que modifica a forma e peso das sementes (8 a 500%), apesar disso, a silhueta original das sementes ainda é perceptível (Afzal et al., 2020; Pedrini et al., 2020). Exemplificando utilidades do método, Pedrini et al. (2021) demonstraram que a incrustação com ácido salicílico aumentou a sobrevivência e crescimento das plantas.

Peletização (*pelleting*) - os materiais adicionados alteram o peso (>500%) e o aspeto das sementes ao ponto de não serem reconhecíveis após a aplicação do revestimento (Afzar et al., 2020; Taylor et al., 1998). Neste método, uma extrusora permite que os diversos materiais sejam moldados e cortados em diversas formas (Afzar et al., 2020).

Cada uma das categorias pode ser subdividida de acordo com materiais usados ou a forma do produto adquirida após a aplicação do revestimento. Por exemplo, o resultado de uma peletização pode acontecer sob a forma de *seedpillows* (almofadas de sementes); *seedcubes* (cubos de sementes); *seedpods* (vagens de sementes); *extruded pellets* (péletes extrudidos); *conglomerates* (conglomerados); *seed agglomerates* (aglomerados de sementes) e *seedballs* (bolas de sementes). Por não existir uma terminologia exata que defina cada subcategoria, os termos usados podem variar consoante o autor (Gornish et al., 2019; Jarrar et al., 2023; Pedrini et al., 2020). Exemplificando, veja-se que *conglomerates* e *seed agglomerates* podem aparecer como sinónimos (Pedrini et al., 2020), mas noutras publicações aparecem em subcategorias separadas (Jarrar et al., 2023). Neste estudo, o aglomerado de sementes de forma esférica é abordado como uma “*seedball*”, seguindo o termo inglês que traduz literalmente os ideogramas (種子球 zhǒng zǐ qiú) usados pelo autor nipónico que primeiramente popularizou este tipo de revestimento: Masanobu Fukuoka (Mach, 2009).

1.4. Seedballs

Masanobu Fukuoka desenvolveu um modo de agricultura sustentável, sem mobilização do solo ou adição de produtos de síntese denominada por Agricultura Natural. Entre as várias técnicas que criou para este conceito, Fukuoka reinventou e aperfeiçoou

um antigo método de tratamento de sementes: as *seedballs* (Mach, 2009). As *seedballs* são uma técnica ancestral de tratamento de sementes que data de há pelo menos 2000 anos. Os antigos povos da atual República Popular da China já revestiam sementes de arroz em barro a fim evitar que estas ficassem à deriva durante a sementeira dos arrozais (Ni, 1997 *apud* Taylor et al., 1998). Fukuoka concebeu as suas *seedballs* para poder deixar de usar fungicidas e pesticidas na sementeira da cultura cerealífera de inverno, período em que tinha muitas perdas resultantes de roedores e outras pestes (Fukuoka et al., 1991). Foi bem-sucedido quando envolveu as sementes em barro. Por fim, tinha concebido um método de sementeira sem lavoura, onde as sementes estavam protegidas de predadores e apenas germinavam quando as condições meteorológicas eram adequadas. Para determinadas condições ou espécies concebeu outras fórmulas de *seedballs*. Por exemplo, em algumas situações (ex.: espinafres, cenouras) juntava cinza e noutras sugeria um duplo revestimento: o primeiro com terra e o segundo com barro (para reabilitação de solos degradados em zonas áridas). Cada *seedball* era feita com 1 centímetro de diâmetro e continha quatro a cinco sementes. Porém, com a experiência, notou que o ideal seria inserir uma semente por unidade de distribuição (Fukuoka et al., 1991). Embora Fukuoka tenha inicialmente concebido as suas *seedballs* para fins agrícolas, elas também podem ser adaptadas a outras finalidades, como o restauro ecológico.

No fundo, as *seedballs* são o resultado de uma peletização de sementes com pelo menos um agente de enchimento, obtendo unidades de distribuição esféricas. Sendo um revestimento de sementes, os constituintes usados refletem as potenciais necessidades da(s) espécie(s) na área alvo de restauro ecológico, podendo contribuir para transpor determinadas barreiras logísticas (ex.: pequena dimensão da semente) e/ou ecológicas (ex.: crosta do solo, solo hidrófobo) (Madsen et al., 2016; Pedrini et al., 2020). Em suma, as razões do seu uso residem na otimização de um ou mais dos seguintes parâmetros: distribuição; proteção contra predadores ou outros distúrbios; germinação e estabelecimento de plântulas (Gornish et al., 2019). Em algumas zonas do mundo, como no Quênia ou na Índia, o uso de *seedballs* para reflorestação chega a ser bastante popular, mesmo sem um suporte científico robusto que permita averiguar o sucesso de tais campanhas (Berto e Brown, 2023; Parmar, 2023; Williams, 2022).

Em geral, os estudos científicos referentes ao uso de *seedballs* no âmbito do restauro ecológico têm aumentado ao longo do tempo. Gornish et al. (2019) verificaram que os resultados da técnica podem ser variados: a partir de 1970 notaram uma proporção próxima entre efeitos positivos, negativos e neutros (em termos de germinação, emergência, densidade, biomassa e sobrevivência) entre os vários estudos incluídos na sua revisão

bibliográfica. Por exemplo, Overdyck et al. (2013) demonstraram que as *seedballs* têm um efeito positivo face a predadores, mas que o estabelecimento foi apenas beneficiado significativamente numa das três espécies incluídas no estudo. Noutros casos, há situações onde apesar do reconhecimento do efeito protetor das sementes, a germinação é demasiado prejudicada, mesmo em condições hidrológicas favoráveis, ao ponto de não se poder viabilizar o uso da técnica (Jones et al., 2014). Mais recentemente, Xu et al. (2023) obtiveram várias vantagens (ex.: maior sobrevivência) face a outros métodos durante trabalhos de restauro de pradarias marinhas. Em suma, desde que não prejudiquem demasiado a germinação ou o estabelecimento das plantas, as *seedballs* podem ser potencialmente viáveis em restauro ecológico devido aos seus efeitos benéficos nas sementes em termos de distribuição, eficiência, proteção ou pela adição de melhoramentos (Gornish et al., 2019). Para além disso, é um método que também pode ser valorizado pela sua aptidão em ações de sensibilização ambiental (Crosby e Vanni, 2023; Emídio, 2021; Williams, 2022).

Sabendo alguns dos potenciais benefícios e desvantagens no uso de *seedballs* em restauro ecológico, torna-se importante a investigação desta técnica sob condições mediterrânicas a fim de se avaliar em que situações a mesma poderá ser uma mais-valia na crescente necessidade de restauro nos habitats mediterrânicos.

1.5. Caso de estudo

No presente estudo, e, face ao contexto anteriormente exposto do aumento da necessidade e dificuldades de restauro ecológico em áreas protegidas mediterrânicas, é abordado o desenvolvimento e testagem de *seedballs* sob clima mediterrânico. Tanto quanto foi possível apurar na bibliografia consultada, este é o primeiro estudo que avalia a eficácia de *seedballs* na promoção de flora nativa sob condições mediterrânicas. Assim, a informação advinda deste estudo responde a algumas questões, importantes no campo da investigação e utilização de sementes nativas e para os profissionais ligados à área do restauro ecológico.

As *seedballs* desenvolvidas têm como base a utilização de subprodutos industriais e domésticos (argila negra, um desperdício da indústria cerâmica e cinza, proveniente da queima de quercíneas em lareiras domésticas). A utilização de subprodutos como matérias-primas adequa-se às normas da UE, que projeta a redução de resíduos e a sua valorização noutras fileiras produtivas no âmbito de uma transição para uma economia circular

(Comissão Europeia, 2020). Sabendo que um dos obstáculos ao restauro ecológico é a obtenção de fundos suficientes para a sua implementação, e que os seus custos aumentam em áreas de maior declive e/ou dificuldades de acesso (King, 1991; Wilson et al., 2011), o aproveitamento de subprodutos poderá baixar os custos de produção e diversificar as opções de utilização das *seedballs*. Os subprodutos foram combinados com argila branca em diferentes proporções, sendo um dos objetivos deste estudo determinar qual das duas composições de *seedballs* é a mais adequada para uso em restauro ecológico. As diferentes composições e dimensões das *seedballs* deram continuidade a um estudo anterior a este (Emídio, 2021).

As seis espécies de flora selecionadas são provenientes de populações regionais e possuem ampla distribuição. Sabendo que as espécies com sementes pequenas tendem a ser omitidas de planos de restauro devido às dificuldades no seu processamento e/ou estabelecimento (Hoose et al., 2019; Madsen et al., 2016), e, também que tendem a ser mais predadas/removidas que outros tamanhos de sementes (Doust, 2011), salienta-se a importância deste estudo ao possibilitar um meio adequado para distribuição e proteção de sementes pequenas. Assim, também foram incluídos no estudo sementes de diferentes dimensões, o que poderá estabelecer quais as dimensões de sementes que melhor se adequam a esta técnica, além de se poder verificar quais as espécies mais aptas e a que composições se ajustam melhor.

O objetivo geral desta dissertação é avaliar o potencial das *seedballs* enquanto técnica de restauro ecológico ao testar duas composições de *seedballs* sob condições mediterrânicas. Mais concretamente, pretende-se responder às seguintes questões:

- I. Serão as *seedballs* adequadas para assegurar a germinação de sementes de plantas nativas? Qual das composições é a mais adequada?
- II. Serão as *seedballs* adequadas para assegurar a sobrevivência de plantas nativas? Qual das composições é a mais adequada?
- III. Terão as *seedballs* a capacidade de proteger as sementes face a predadores? Qual das composições é a mais adequada?
- IV. Serão os subprodutos (argila negra e cinza) aptos para fabrico de *seedballs* em contexto de restauro ecológico?

2. Materiais e métodos

2.1. Seleção de espécies

Para o presente estudo selecionaram-se seis espécies de plantas herbáceas que podem fazer parte de planos de restauro ecológico: *Brachypodium distachyon* (L.) P.Beauv; *Briza maxima* L.; *Coleostephus myconis* (L.) Rchb.f; *Cynara humilis* L.; *Lotus castellanus* Boiss. & Reut; *Silene colorata* Poir. A nomenclatura e a caracterização biológica das espécies seguiram a Flora-On (2024) e Castroviejo (1986-2012), tendo vários critérios sido considerados para a seleção:

I. Ampla distribuição regional – enquanto indicador de espécies que se estabelecem em condições mais generalistas na região da área de estudo (Alentejo Central, Portugal), logo, com melhor oportunidade de se obterem dados suficientes para a avaliação da eficácia das *seedballs* e garantir a adaptação das espécies num habitat onde efetivamente são capazes de se estabelecerem. Pode igualmente indicar que possuem um elevado nível de interações dentro do habitat (ex.: serem uma fonte de alimento).

II. Abranger uma elevada variabilidade de tipos de sementes / espécies – permite compreender se certos tipos de sementes ou espécies são mais adequados ao uso em *seedballs*.

III. Serem plantas herbáceas – que completem o seu ciclo de vida num curto espaço de tempo e cujas sementes tendem a ter menor dormência do que plantas lenhosas. Em estudos de germinação e estabelecimento de curta duração, permitem uma avaliação mais rápida e eficaz.

As sementes das espécies eleitas foram colhidas em áreas de montado no concelho de Montemor-o-Novo no final da sua época de amadurecimento (primaveras de 2017 a 2022), respeitando as normas constantes no Manual de Colheita de Sementes para Espécies Silvestres, garantindo-se que se colhia, no máximo, 20% das sementes maduras de cada população (ENSCONET, 2009). As sementes recolhidas foram limpas, desumidificadas a 15% de humidade e armazenadas em recipientes de vidro hermeticamente fechados à temperatura ambiente. Estes lotes de sementes foram usados nos testes de viabilidade (agosto de 2022) e nas *seedballs* (setembro de 2022). Tazi et al. (2018) definem um lote de sementes como uma quantidade identificável de sementes de uma única espécie, registada sob um único número de referência e cuja origem e historial são conhecidas.

Os lotes de sementes das espécies do estudo foram caracterizados de acordo com o seu tipo biológico, peso de 1000 sementes e volume médio (Tabela 1). O peso médio de 1000 sementes foi calculado de acordo com o protocolo do ISTA (ISTA, 2015), conseguido por uma estimativa mediante uma seleção de 10 réplicas de 100 sementes escolhidas de modo aleatório. O volume médio foi calculado de acordo com Casco e Dias (2008), baseado numa amostra de 30 sementes escolhidas aleatoriamente e segundo a fórmula $Vol = \pi \times L \times W \times T / 6$, onde L – comprimento, W – largura e T – espessura. As medições foram efetuadas com recurso a uma craveira digital (POWERFIX – Profi +; IAN 94500), salientando que *B. distachyon* e *B. maxima* foram medidas com os respetivos apêndices. A partir dos volumes obtidos para cada uma das espécies do estudo e, fundamentado nos valores globais de volume de sementes de espécies do mediterrâneo (Ganhão e Dias, 2019), estabeleceram-se três classes de dimensão de sementes: pequenas (<1 mm³); médias ([1 – 20] mm³) e grandes ([20 – 85] mm³) (Tabela 1). A definição destas classes está de acordo com um estudo anterior (Emídio, 2021).

2.2. Ensaio de viabilidade de sementes

Para assegurar a viabilidade das sementes usadas no estudo, realizaram-se ensaios de germinação, seguidos de testes de viabilidade, a cada lote de sementes das espécies selecionadas.

O ensaio de germinação ocorreu em caixas de Petri (9 cm de diâmetro) com ágar a 1% como substrato. Para cada lote utilizaram-se quatro réplicas (caixas de Petri) com 25 sementes cada. O ensaio de germinação foi realizado numa câmara de germinação (FITOCLIMA S600PLH – Aralab 1680; Portugal) e teve uma duração de 30 dias. As sementes foram incubadas a 20°C com um fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 horas de escuro.

As sementes germinadas foram contadas duas vezes por semana e retiradas da caixa de Petri. Para garantir uma germinação efetiva, foi considerado que a semente germinou após ser visível uma radícula de 1-2 mm. Após cada monitorização, as caixas de Petri foram reorganizadas aleatoriamente, diminuindo o possível efeito da sua posição na germinação (Yang *et al.*, 1999).

Após o ensaio de germinação, avaliou-se a viabilidade das sementes não germinadas através do teste do corte. As sementes que não germinaram foram cortadas ao meio com o auxílio de um bisturi para se examinar o seu interior. De acordo com a morfologia do

embrião, as sementes foram consideradas como viáveis ou inviáveis. Considerou-se como uma semente viável aquela com um embrião bem desenvolvido, normalmente de textura firme e totalmente branco (Gosling et al., 2003).

Tabela 1: Caracterização das seis espécies selecionadas e respetivos lotes de sementes. EP é a abreviatura para o erro padrão.

Espécie	Família	Ecologia	Tipo biológico	Ano da recolha	Volume médio (mm ³) (± EP)	Peso de 1000 sementes (g)	Classe de tamanho da semente
<i>Brachypodium distachyon</i> (L.) P.Beauv	Poaceae	não nitrófila	terófito	2017	13,28 ± 0,63	0,49	grande
<i>Briza maxima</i> L.	Poaceae	não nitrófila	terófito	2019	44,33 ± 1,77	0,27	grande
<i>Coleostephus myconis</i> (L.) Rchb.f.	Asteraceae	subnitrófila	terófito	2020	1,19 ± 0,1	0,05	médio
<i>Cynara humilis</i> L.	Asteraceae	não nitrófila	hemicriptófito	2018	64,65 ± 3,15	5,64	grande
<i>Lotus castellanus</i> Boiss. & Reut.	Fabaceae	não nitrófila	terófito	2022	0,38 ± 0,02	0,05	pequena
<i>Silene colorata</i> Poir.	Caryophyllaceae	não nitrófila	terófito	2019	0,58 ± 0,04	0,05	pequena

2.3. Ensaio de campo

2.3.1. Área de estudo

A área de estudo situa-se no distrito de Évora (fig. 1A), sendo uma região que se encontra sob influência de um macroclima mediterrâneo. O seu andar bioclimático é de um termótipo mesomediterrâneo inferior com um ombrótipo seco superior (Monteiro-Henriques et al., 2015). A avaliação da eficácia das *seedballs* decorreu num campo experimental do MED – Instituto Mediterrâneo para a Agricultura, Ambiente e Desenvolvimento, localizado no Pólo da Mitra da Universidade de Évora aproximadamente a uma latitude de 38°31'30.95"N por uma longitude de 8° 0'57.50"W (Google, 2023; fig. 1B). O espaço encontra-se inserido numa área de montado de quercíneas a uma altitude que ronda os 252 m, tem um ligeiro declive (c.a. 3,7°) e encontra-se virado entre Este – Sudeste. Está também vedado, o que impossibilita a entrada de gado ou de mamíferos silvestres de grande porte.

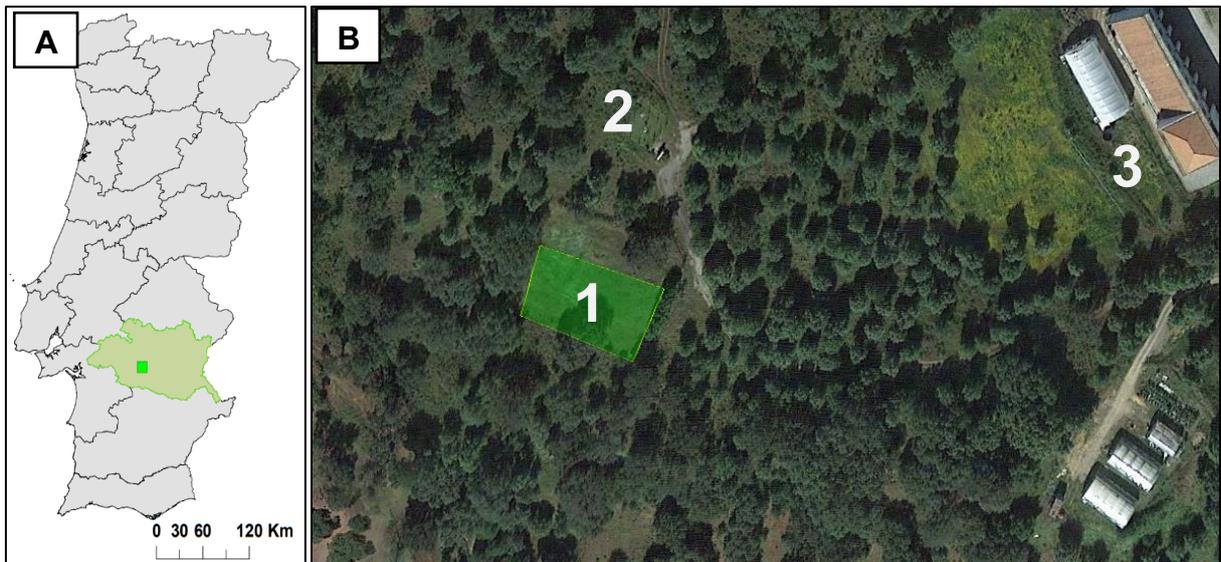


Figura 1 A: A área de estudo no distrito de Évora. **B:** Localização do campo experimental do MED – Instituto Mediterrâneo para a Agricultura, Ambiente e Desenvolvimento, situado no Pólo da Mitra da Universidade de Évora: 1. Campo de ensaio; 2. Estação meteorológica da Herdade da Mitra; 3. Pólo da Mitra. (adaptado de Google, 2023).

Segundo as Normais Climatológicas de 1981 - 2010, a temperatura média na região é de 16,2 °C e existe uma precipitação média anual de 587 mm (IPMA, 2022). Durante o decurso deste estudo, a temperatura média foi de 15,6 °C e a precipitação total foi de 457 mm (fig. 2; ICT, 2023).

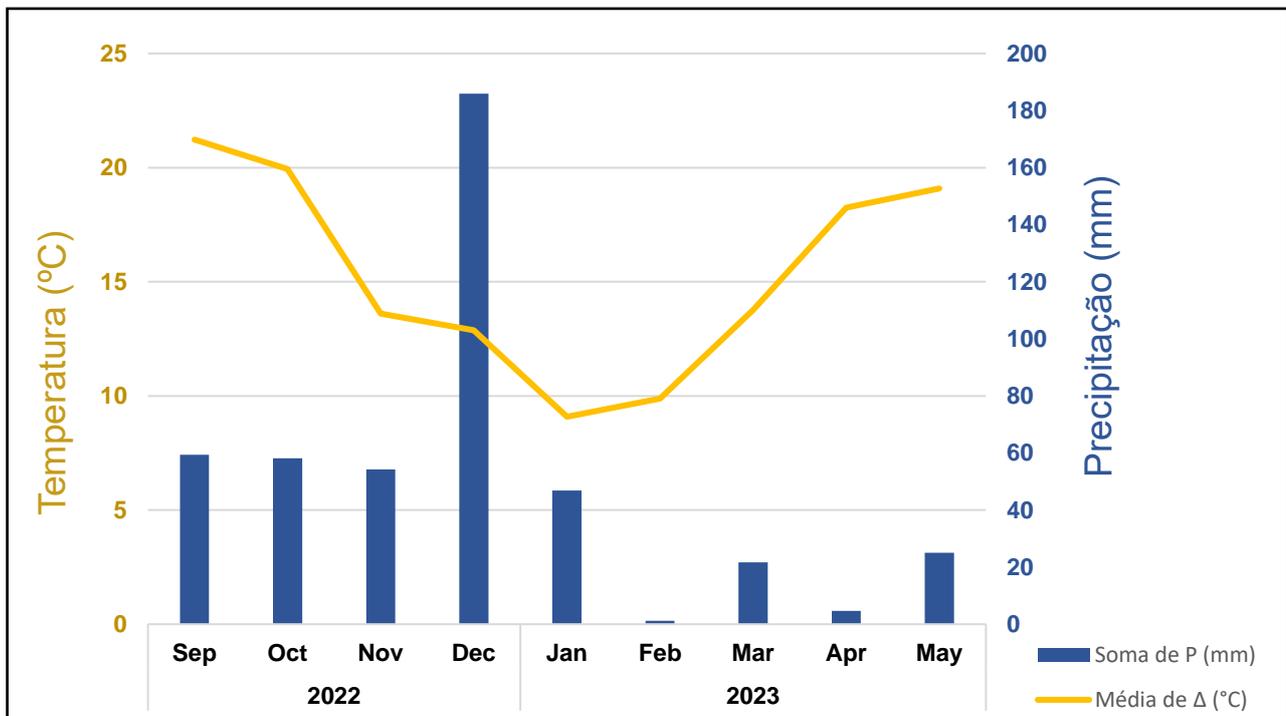


Figura 3: Temperatura média e precipitação total mensal durante o ensaio de *seedballs* (setembro de 2022 a maio de 2023).

2.3.2. Desenvolvimento das *seedballs*

Neste estudo testaram-se duas composições de *seedballs*. Uma formada por 50% de argila negra e 50% argila branca, designada doravante por *Seedball* ou SB; a outra composta por 50% de argila negra, 25% de argila branca e 25% cinza, designada doravante por *Seedball* Cinza ou SBC. As propriedades químicas dos substratos que constituem as *seedballs* podem ser consultadas no Apêndice I. Tabela I e foram analisadas no laboratório AmbiTerra. Por comparação com a ausência de revestimento, a sementeira tradicional está designada doravante por Referência ou REF.

Os vários substratos foram previamente macerados, possibilitando uma melhor quantificação das proporções e homogeneização da mistura. O formato esférico foi obtido manualmente, unindo e moldando os substratos com a adição de água. No interior de cada *seedball* foram colocadas sete sementes de uma espécie, possibilitando a avaliação individual por espécie e a quebra das argilas do revestimento durante a emergência das sementes. Foram excluídas da experiência sementes visivelmente danificadas. As *seedballs* foram deixadas a secar (1 dia) antes de serem colocadas na área de estudo. As matérias-primas utilizadas incluíram subprodutos industriais (argila negra e cinza), o que contribui para a transição para um mercado circular (Comissão Europeia, 2020). A argila negra é um reaproveitamento de resíduos provenientes da indústria de cerâmica, possuindo um elevado teor de matéria orgânica (22,9%). A cinza proveio de madeira de quercíneas utilizada em lareiras domésticas, podendo ser uma fonte de importantes macro elementos para as plantas, incluindo fósforo e potássio (Symanowicz et al., 2018). A argila branca, que é usada na manufatura de cerâmica, foi doada por uma fábrica de cerâmica para o desenvolvimento deste estudo. Este constituinte confere uma maior plasticidade à *seedball*, podendo possibilitar que as raízes de plantas menos vigorosas consigam romper o substrato aquando a sua germinação.

As *seedballs* foram concebidas em dois diâmetros diferentes, o pequeno (1,5 cm) e o grande (2,5 cm). Plantas com sementes pequenas ou médias (ex.: *C. myconis*, *L. castellanus*, *S. colorata*) foram testadas recorrendo a *seedballs* pequenas. Em contrapartida, plantas que possuem sementes de maiores dimensões (ex.: *B. distachyon*, *B. maxima*, *C. humilis*), foram inseridas em *seedballs* grandes. Estes tamanhos foram estabelecidos baseados num estudo anterior (Emídio, 2021).

2.3.3. Ensaio de *Seedballs*

A instalação de *seedballs* no campo experimental, que foi organizado em parcelas de 1m² (fig. 3A), decorreu em setembro de 2022. A disposição das parcelas obedeceu a sequências de três tratamentos (*Seedball* Cinza, *Seedball*, Referência; ver Apêndice II.), distribuídos com um espaçamento de 1m² entre eles e contendo apenas uma espécie por parcela. Para cada espécie, estabeleceram-se 3 destas sequências de tratamentos, instaladas aleatoriamente em localizações distintas a fim de se evitar que ficassem circunscritas a uma área específica do campo experimental.

Nas parcelas com *seedballs* (*SB* ou *SBC*) foram colocadas 9 *seedballs* da mesma composição. Nas parcelas de REF realizou-se a sementeira de sete sementes, simulando uma gradagem superficial em 9 locais com recurso a uma pá. Apesar de algumas das espécies utilizadas crescerem espontaneamente na área de estudo, a natureza dos tratamentos e o seguimento de registos durante as monitorizações permitiram identificar sem margem de erro as plantas provenientes das réplicas do ensaio. Salienta-se também que, apesar deste procedimento ser uma técnica de sementeira, neste estudo está denominado como um tipo de “tratamento” a fim de facilitar a perceção e explicação do ensaio. A disposição de cada réplica no interior de cada parcela obedeceu ao uso de um quadrado de 1m² subdividido (fig. 3B), ficando cada uma localizada a cerca de 20cm em relação às réplicas adjacentes.

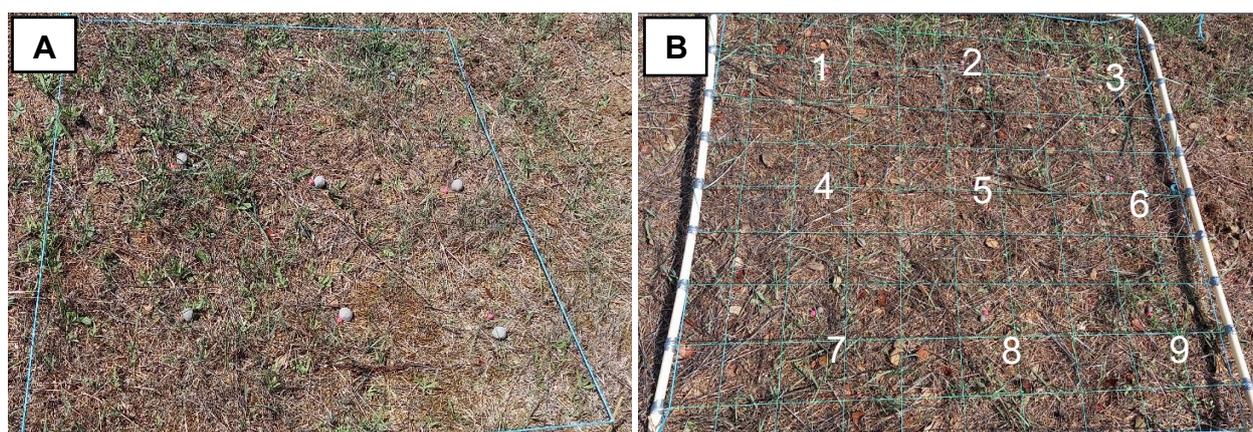


Figura 6 A: Parcela com 1 m² e com 9 réplicas (*seedballs*). **B:** As réplicas de cada parcela foram posicionadas uma distância aproximada entre réplicas adjacentes.

A monitorização iniciou-se em outubro de 2022 e terminou em maio de 2023. Até dezembro de 2022, o campo experimental foi monitorizado semanalmente através do registo do número de plantas presentes no dia da monitorização em cada réplica, tanto nas

parcelas com *seedballs* como nas situações de REF. Entre janeiro e maio de 2023, as monitorizações prosseguiram a cada quinzena.

As características físicas das *seedballs* impedem a visualização exata das várias fases da germinação que ocorrem no seu interior. Assim, na contagem de plântulas germinadas em *seedballs*, considerou-se como germinada a plântula que apresentasse cotilédones visíveis (ex.: fig. 4A). Além da contagem de plântulas, também se registou informação adicional relevante (indivíduos com cotilédones, indivíduos com primeiras folhas e indivíduos adultos). Foi considerado um desenvolvimento positivo as plantas que atingiram o estado de vida adulto (com ou sem floração; ex.: fig. 4B). Dado a presença de diferentes grupos biológicos, esta definição permitiu englobar e comparar os dados das espécies terófitas e hemicrófitas.

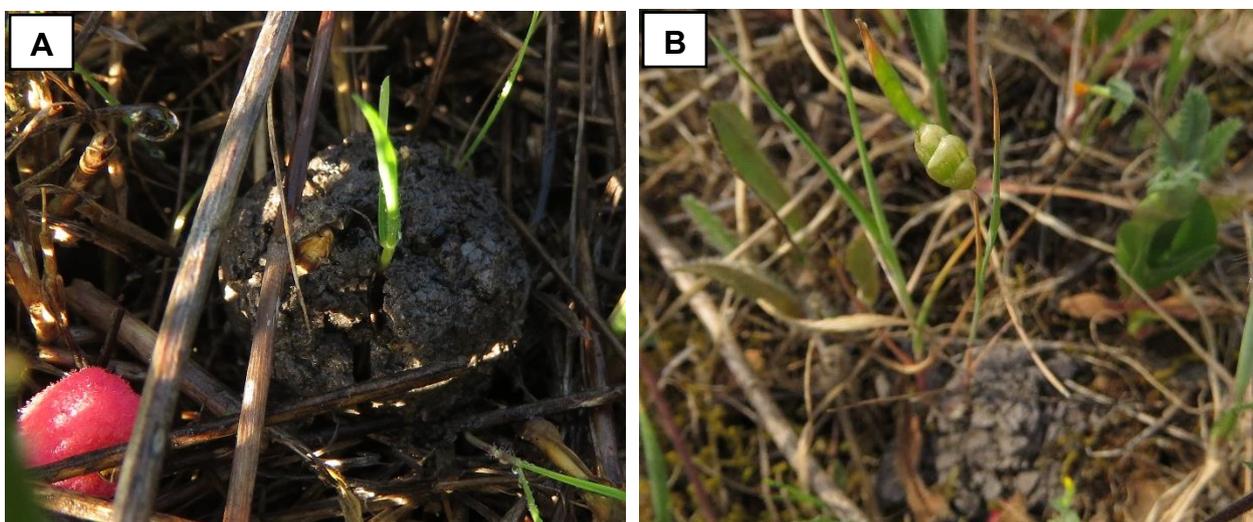


Figura 4 A: Germinação positiva de *Brachypodium distachyon*. a partir de uma *seedball*. **B:** Planta considerada como um desenvolvimento positivo de *Briza maxima* a partir de uma *seedball*.

Após o período de maior precipitação (dezembro de 2022), fez-se uma caracterização das características biofísicas de cada parcela a fim de se verificar se as características individuais de cada parcela poderiam influenciar a germinação e/ou a sobrevivência das plantas. Para cada parcela foi registado: o declive ($^{\circ}$), cobertura total de vegetação espontânea (%), solo nu (%), crosta viva (ex.: musgo, antóceros) (%) e, folhada (%), bem como a altura média da vegetação (cm). A intensidade de sombra de cada parcela também foi estimada recorrendo à copa de arvoredo adjacente como referência (Tabela 2).

Tabela 2: Categorias de níveis de intensidade de sombra atribuídas a cada parcela do campo experimental.

Categoria	Definição
0	Completamente exposto ao sol.
1	Fora de copa. Alvo de sombra durante uma parte do dia.
2	Fora de copa. Com sombra durante uma grande parte do dia.
3	No limiar de copa. À sombra a maior parte do dia.
4	Sob copa. Predominantemente à sombra.

A influência das condições meteorológicas foi baseada nos dados provenientes da estação meteorológica da Herdade da Mitra (Universidade da Évora), situada num espaço adjacente ao do campo experimental (c.a. 100 m). Foram recolhidos dados da precipitação total diária e temperatura média diária durante todo o período do ensaio (ICT, 2023).

Para averiguar a persistência das *seedballs* no meio, a consistência do seu formato foi averiguada em dois momentos do ensaio: após a época de chuvas mais abundantes (início de março de 2023) e ao final do ensaio (fim de maio de 2023). Atribuíram-se categorias que caracterizaram a integridade física das *seedballs* (Tabela 3).

Tabela 3: Categorias atribuídas ao formato das *seedballs* após o fim do período de chuvas mais abundante e no final do ensaio.

Categorias	Definição
Inteira	Deformação mínima.
Parcialmente Desfeita	Mais de 50% da <i>seedball</i> presente.
Desfeita	Menos de 50% da <i>seedball</i> presente.
Totalmente Desfeita	Pasta irregular, sem qualquer aparência esférica.

2.3.4. Ensaio de Predação

O efeito protetor das *seedballs* foi testado recorrendo a uma experiência de cafeteria instalada em setembro de 2022 conjuntamente com o Ensaio de *Seedballs* (ver Apêndice II.). Para tal, e para cada espécie, dispuseram-se em cima de um papel de lixa (11x15 cm) 6 *seedballs* (3 SBC e 3 SB; fig. 5). Dispuseram-se também 50 sementes livres sobre a lixa como Referências, número que se encontra dentro dos valores de outros ensaios de predação (Westerman et al., 2003; Westerman et al., 2011) e próximo do número total de sementes contidas nas *seedballs* em cada lixa (7 sementes x 3 *seedballs* x 2 composições = 42 sementes).

Como sugerido noutros estudos (Westerman et al., 2003; Westerman et al., 2011), o papel de lixa (*Rhynometal P80*) foi pulverizado com cola (*Photo Mount 3M*) para fixar levemente as *seedballs* e, sobretudo, as sementes livres, simulando as condições de sementes à superfície do solo sem proteção. De seguida, polvilhou-se areia no espaço de lixa sobrente para evitar que a cola pudesse afetar negativamente a locomoção de microfauna (ex.: insetos). Para cada espécie estabeleceram-se três réplicas, colocadas próximas das parcelas do Ensaio de *Seedballs* da espécie correspondente e fixadas ao solo com um prego. Não ocorreu reposição das sementes durante o decorrer do ensaio.



Figura 5: Réplica do Ensaio de Predação com 3 *Seedballs* Cinza, 3 *Seedballs* e 50 sementes livres (exemplo de *Cynara humilis*).

O Ensaio de Predação durou quatro semanas, tendo sido finalizado quando a germinação das espécies no Ensaio de *Seedballs* se iniciou de forma relevante. Este intervalo de tempo garantiu que o Ensaio de Predação abrangesse o período de maior

vulnerabilidade das sementes face a predadores (desde a sementeira até ao início da germinação efetiva). A monitorização consistiu na contagem semanal de sementes livres sobre as lixas de papel durante quatro semanas. Após esse período, procedeu-se à contagem final das sementes restantes no papel de lixa e daquelas ainda no interior das *seedballs*.

2.4. Análise de dados

Previamente às análises estatísticas foi avaliada a normalidade e a homogeneidade dos dados recorrendo aos testes de Shapiro-Wilk e de Barlett, respetivamente. O nível de significância foi estabelecido em 0,05 e as análises estatísticas foram realizadas com o programa R (R Core Team, 2004). Vários pacotes de R foram utilizados: *car* (Fox e Weisberg, 2019); *dplyr* (Wickham et al., 2023); *FD* (Laliberté et al., 2014); *ggplot2* (Wickham, 2016); *greppel* (Slowikowski, 2024); *gridExtra* (Auguie, 2007); *multcompView* (Graves et al., 2023); *PERMANOVA* (Vicente-Gonzalez e Vicente-Villardón, 2021); *readxl* (Wickham e Bryan, 2023) e *vegan* (Oksanen et al., 2022).

2.4.1 Ensaio de *Seedballs*

Para assegurar a qualidade das sementes utilizadas, calculou-se a percentagem de viabilidade dos lotes de sementes de cada uma das espécies do estudo, de acordo com a seguinte fórmula: $\text{Viabilidade (\%)} = (\text{SV} \times 100) / \text{NT}$, onde SV é o número de sementes viáveis (número de sementes germinadas mais o número de sementes viáveis que não germinaram) e NT o número total de sementes.

No ensaio de *seedballs* foi aplicado um fator de correção de viabilidade à germinação, conseguido pela subtração do número de sementes inviáveis ao total de sementes. A aplicação do fator de correção de viabilidade permitiu uma comparação direta entre as espécies e uma correta interpretação dos resultados. De outro modo, diferentes percentagens de germinação poderiam ser também consequência da viabilidade de sementes, dificultando a avaliação da influência de outros fatores que também afetam a germinação. Após o Ensaio de *Seedballs* foram calculados os seguintes parâmetros:

1. Percentagem de germinação (%) = $(G \times 100) / (T - Va)$, onde G é o número de sementes germinadas, T é o total de sementes e Va é o número de sementes vazias.

2. Tempo de médio de germinação (TGM) = $\sum (ni * ti) / \sum ni$, onde ni é o número de sementes germinadas no dia i e ti é o número de dias de ensaio até ao dia i.

3. Percentagem de desenvolvimento (%) = $(S \times 100) / (G)$, onde S é o número de plantas adultas (com ou sem floração) e G é o total de sementes germinadas.

A existência de diferenças significativas entre as duas composições de *seedball* e as situações de Referência foi avaliada globalmente e por espécie relativamente às percentagens de germinação, TGM e percentagem de desenvolvimento. Caso se verificassem os pré-requisitos de normalidade e homogeneidade, recorreu-se à análise de variância (ANOVA) seguida por testes *post hoc* de Tukey. Caso não se verificassem os pré-requisitos, utilizaram-se testes não paramétricos de Mann-Whitney.

De forma a averiguar a relação entre as características ambientais de cada parcela e a germinação e desenvolvimento das plantas, os resultados obtidos em todas as réplicas de *seedballs* foram submetidas a uma Análise de Redundância. As variáveis dependentes foram definidas como: germinação das sementes (GERM); plantas apenas com cotilédones (COT); plantas que desenvolveram 1^{as} ou 2^{as} folhas verdadeiras, mas que não chegaram a adultos (FOL); plantas que atingiram o estado de adulto (ADU). Foram consideradas as seguintes variáveis independentes: média da altura da vegetação (ALT); intensidade de sombra (SOMB); declive (DEC); características biofísicas das parcelas (crosta viva do solo (CROST); folhada (FOLH); área de formigueiro (FOR); palha (PAL); solo nu (SOLO); vegetação espontânea (VEGT) e pedra (PEDRA). Como as situações de REF têm uma interação diferente com as variáveis ambientais, optou-se por fazer uma Análise de Redundância para as situações REF e outra para as *seedballs* (SB e SBC).

Para se identificarem os fatores ambientais mais determinantes na germinação e sobrevivência das plantas, foram efetuados dois modelos lineares generalizados (GLM), considerando como variáveis independentes a Temperatura, Precipitação, Tempo e tipo de tratamento (SB, SBC, REF). Os dados de temperatura e precipitação foram obtidos na base de dados da estação meteorológica da Herdade da Mitra (ICT, 2023), tendo sido usados para calcular os valores mensais de temperatura média e precipitação total entre os meses de setembro de 2022 e maio de 2023. Em caso de falha nestes dados meteorológicos, os

dados foram obtidos através de uma interpolação com os dados correspondentes das estações meteorológicas de Alcáçovas e Évora, efetuada com recurso a uma regressão linear. A variável Tempo corresponde a onze períodos de 2 a 4 semanas, consoante a frequência de monitorização para os quais se calcularam os valores médio de germinação / sobrevivência acumuladas. Salienta-se que para os valores de sobrevivência registados nos três tipos de tratamento, foram consideradas as plantas vivas, incluindo todos os seus estágios de desenvolvimento.

Os dados foram transformados antes da realização da Análise de Redundância, recorrendo à normalização, assim como dos GLM, utilizando $\log(x+1)$ (dados contínuos) e $\text{asen}\sqrt{}$ (dados percentuais).

As percentagens de degradação das *seedballs* foram baseadas numa amostragem qualitativa em dois momentos do ensaio: o Tempo 1, desde a instalação do ensaio até ao fim do período de chuvas mais abundantes (outubro-março de 2023; precipitação acumulada ≈ 349 mm); e o Tempo 2, desde o fim do Tempo 1 até ao final do ensaio (março-maio de 2023; precipitação acumulada ≈ 52 mm; ICT, 2023). As percentagens de degradação de cada categoria (Inteira; Parcialmente Desfeita; Desfeita; Totalmente Desfeita) foram submetidas a uma Anova Multivariada Permutacional (PERMANOVA) entre tratamentos dentro de cada tempo e entre tempos diferentes, com base no coeficiente de semelhanças de *Bray-Curtis*.

2.4.2. Ensaio de Predação

Após o Ensaio de Predação, calculou-se a percentagem de predação (%) = $100 \cdot ((S \cdot 100) / T - Va)$, onde S é o número de sementes não predadas, T é o total de sementes germinadas e Va é o número de sementes vazias

A existência de diferenças significativas na percentagem de predação entre as duas composições de *seedball* e as Referências foi avaliada globalmente e por espécie com recurso ao teste não paramétrico de Mann-Whitney.

3. Resultados

3.1. Avaliação da viabilidade dos lotes de sementes

A viabilidade dos lotes (Tabela 4) foi elevada para a maioria das espécies e variou entre 70 e 99%. A maioria das espécies teve uma viabilidade acima de 90%.

Tabela 4: Viabilidade (média \pm erro-padrão (EP)) dos lotes das espécies utilizadas.

Espécie	Viabilidade % (\pm EP)
<i>Brachypodium distachyon</i> (L.) P.Beauv	97,00 \pm 1,91
<i>Briza maxima</i> L.	96,00 \pm 1,63
<i>Coleostephus myconis</i> (L.) Rchb.f.	75,00 \pm 5,26
<i>Cynara humilis</i> L.	70,00 \pm 2,58
<i>Lotus castellanus</i> Boiss. & Reut.	99,00 \pm 1,00
<i>Silene colorata</i> Poir.	99,04 \pm 0,96

3.2. Avaliação do Ensaio de *Seedballs*

3.2.1. Germinação

A percentagem de germinação de sementes variou consoante o tipo de tratamento aplicado (fig. 6). Em SBC e REF a germinação é estatisticamente equivalente (31% e 38%, respetivamente) enquanto que em SB a germinação é significativamente inferior ($p=0,01$; 25%).

Quanto ao tempo médio de germinação (fig. 7), observou-se que as sementes das situações de REF germinaram significativamente ($p<0,001$) mais rápido (51 dias) do que ambos os tratamentos de *seedballs* (61 dias), estes não apresentando diferenças significativas entre eles ($p>0,05$).

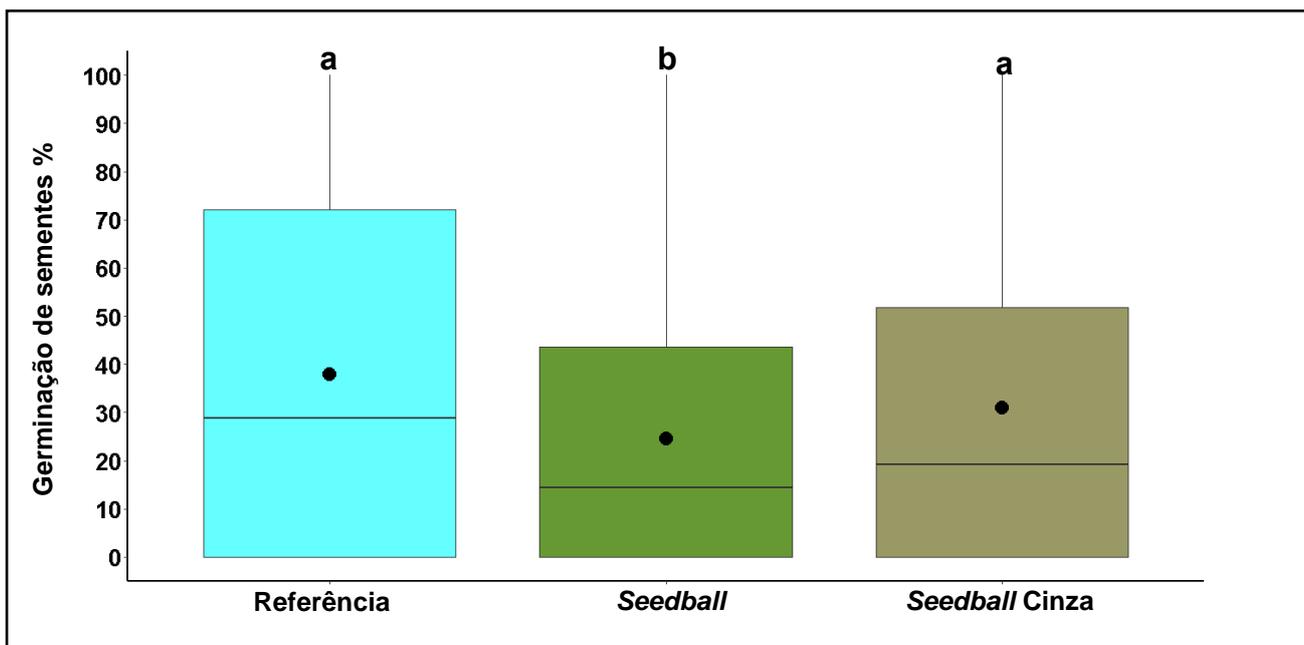


Figura 6: Percentagem da germinação das sementes entre os diferentes tratamentos (linha horizontal: mediana; ponto a preto: média). Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as percentagens de germinação das sementes dos diferentes tipos de tratamento. A comparação estatística foi efetuada com recurso ao teste de Mann-Whitney.

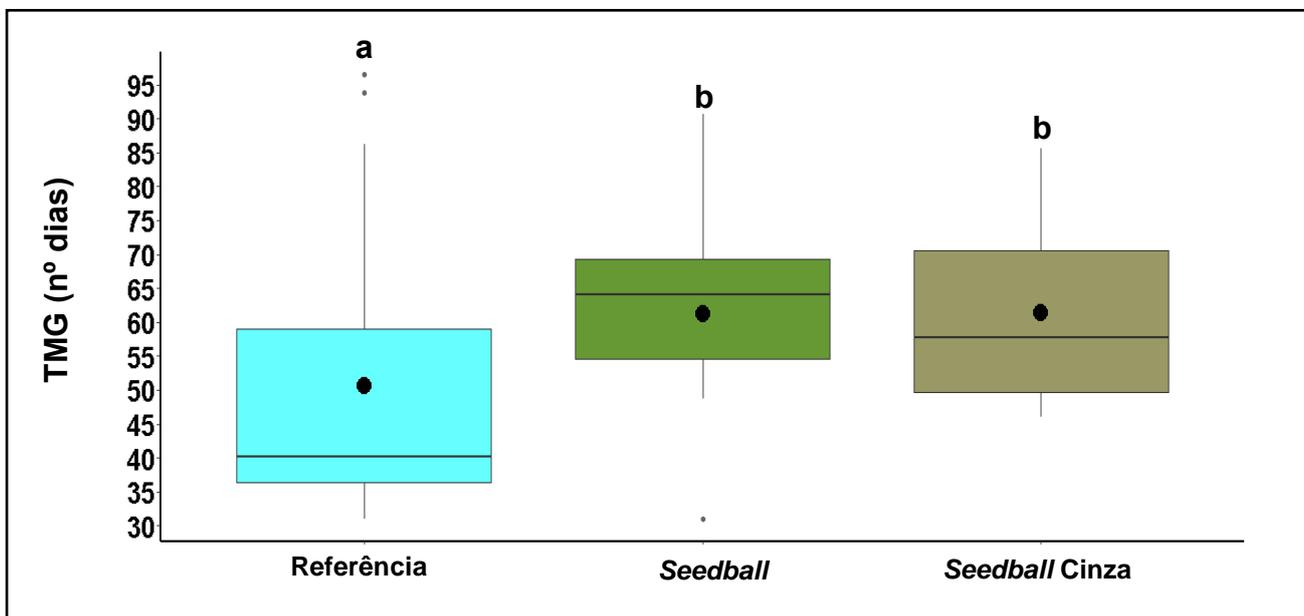


Figura 7: Tempo médio de germinação (TMG) das sementes entre os diferentes tratamentos (linha horizontal: mediana; ponto a preto: média; pontos a cinzento: pontos extremos). Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) no tempo médio de germinação entre os diferentes tipos de tratamento. A comparação estatística foi efetuada com recurso ao teste de Mann-Whitney.

3.2.2. Germinação por espécie

As percentagens de germinação das sementes variaram consoante a espécie e o tratamento usado (fig. 8). Em geral, verificou-se que SBC teve uma germinação mais próxima aos valores REF num maior número de espécies. Destaca-se *L. castellanus* que apresentou uma germinação significativamente superior ($p=0,04$) nas *seedballs* em comparação com as suas REF (14 - 19% comparado com 7%, respetivamente), mas em contrapartida, também exibiu a menor germinação das espécies em estudo

A maior percentagem de germinação ocorreu nas parcelas REF da *C. humilis* (71%) e a menor nas parcelas de SB com *S. colorata* (6%).

A espécie que germinou melhor foi *C. humilis*, tendo obtido taxas elevadas de germinação em todos os tratamentos (entre 54% e 71%). *Brachypodium distachyon* obteve uma germinação semelhante e relativamente elevada em todos os tratamentos (entre 38% e 54%).

Considerando os dois tratamentos de *seedballs*, houve duas espécies em que as SBC revelaram uma germinação significativamente mais elevada ($p<0,01$): *C. myconis* (25,9% comparado com 6%) e *B. maxima* (27% comparado com 9%).

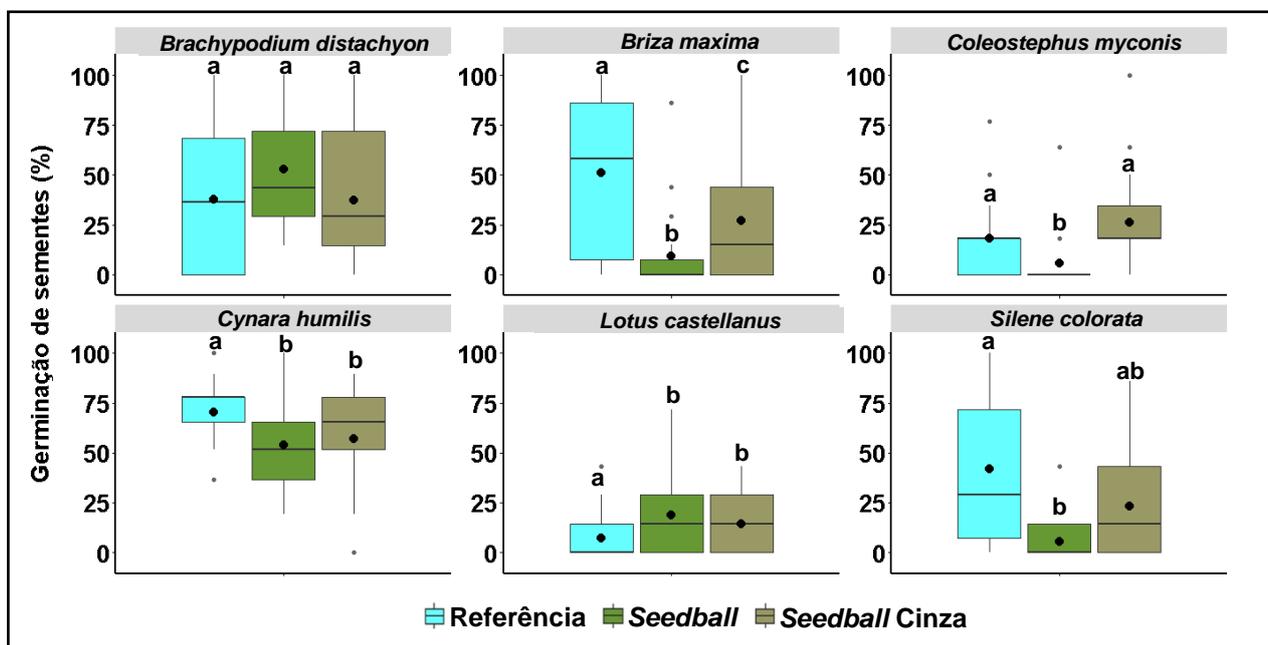


Figura 8: Percentagens de germinação das sementes entre os diferentes tratamentos por espécie (linha horizontal: mediana; ponto a preto: média; pontos a cinzento: pontos extremos). Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p<0,05$) no tempo médio de germinação entre os diferentes tipos de tratamento. A comparação estatística foi efetuada com recurso ao teste de Mann-Whitney.

O tempo médio de germinação variou consoante a espécie e o tratamento efetuado (fig. 9). As sementes contidas nas *seedballs* tenderam a germinar depois das situações de Referência, com a exceção da *L. castellanus*, que germinou significativamente ($p < 0,001$) antes (59 – 64 dias comparados com 83 dias, respetivamente).

Em geral, a espécie que germinou mais depressa foi a *S. colorata* (entre 37 e 51 dias) e a espécie onde se verificou uma germinação mais tardia foi o *L. castellanus* (entre 59 e 83 dias).

Considerando os dois tipos de tratamentos de *seedballs*, o tempo médio de germinação não obedeceu a nenhum padrão, dependeu da espécie. Por exemplo, houve uma espécie onde a SBC foi significativamente mais demorada ($p < 0,001$): *B. distachyon* (80 dias comparados com 60 dias); mas também houve duas espécies onde no mesmo tratamento se verificou uma germinação significativamente mais rápida ($p < 0,001$): *C. humilis* (55 dias comparados com 69 dias); *C. myconis* (51 dias comparados com 70 dias).

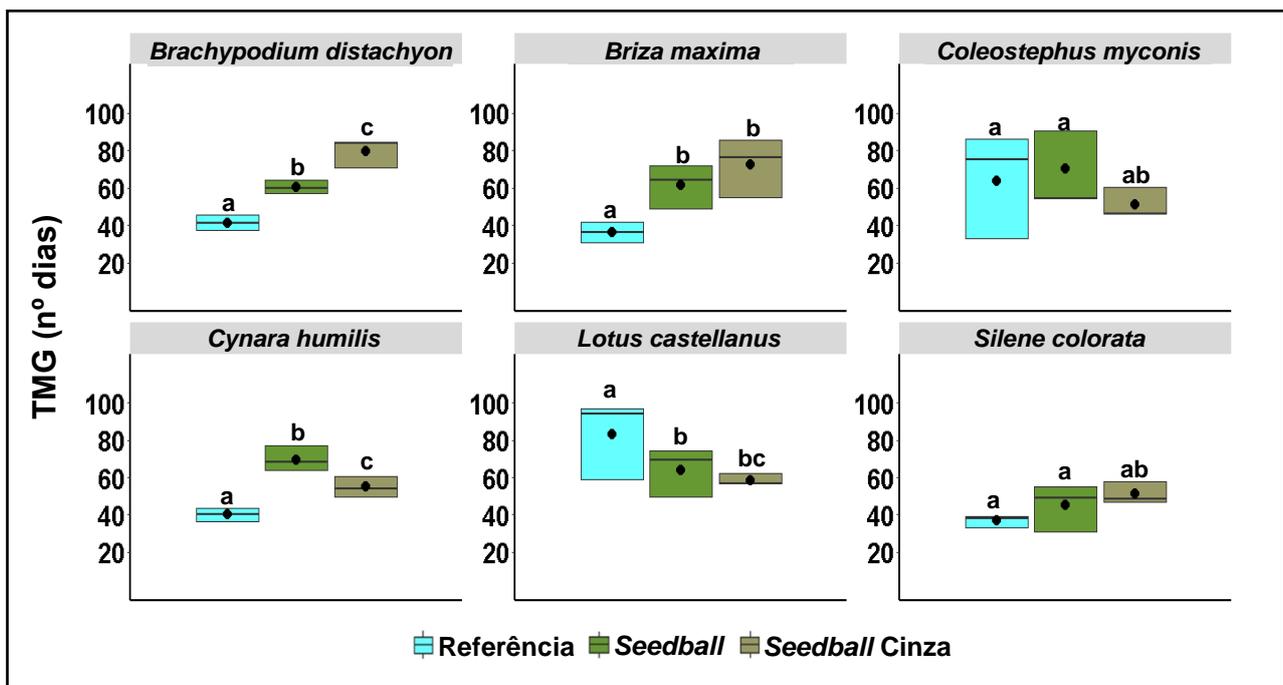


Figura 9: Tempo médio de germinação (TMG) das sementes entre os diferentes tratamentos por espécie (linha horizontal: mediana; ponto a preto: média). Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) no tempo médio de germinação entre os diferentes tipos de tratamento. A comparação estatística foi efetuada com recurso ao teste de Mann-Whitney.

3.2.3. Desenvolvimento

Globalmente, o desenvolvimento das plantas (fig. 10) que cresceram nas parcelas de REF (66%) foi significativamente superior ($p < 0,001$) à das que cresceram a partir das *seedballs* (SB - 37% e SBC - 33%).

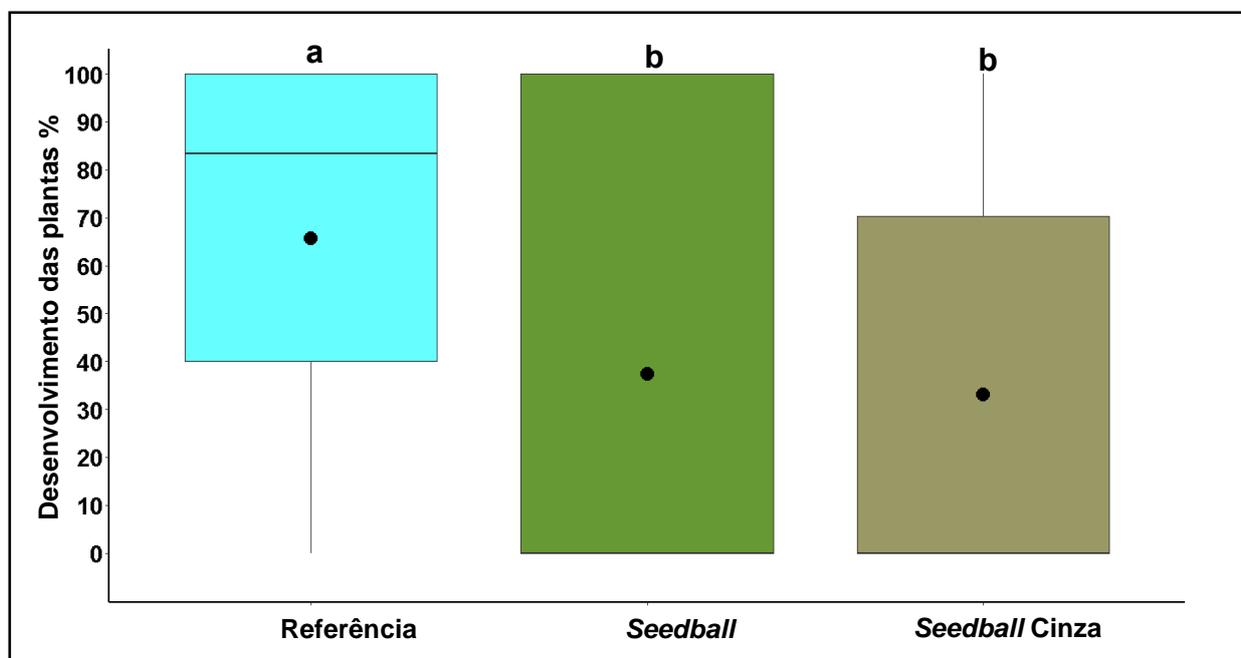


Figura 10: Percentagem de desenvolvimento das plantas entre os três tipos de tratamento (linha horizontal: mediana; ponto a preto: média). Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) na percentagem de indivíduos adultos entre os diferentes tipos de tratamento. A comparação estatística foi efetuada com recurso ao teste de Mann-Whitney.

3.2.4. Desenvolvimento por espécie

A percentagem de desenvolvimento das plantas variou consoante a espécie e o tratamento aplicado (fig. 11). Na generalidade, as plantas provenientes de *seedballs* tiveram um desenvolvimento equivalente ao das parcelas de REF.

A percentagem mais elevada de desenvolvimento foi obtida pela REF da *B. maxima* (91%), sendo esta significativamente diferente apenas das SBC ($p = 0,014$). Na posição oposta, houve espécies com tratamentos de *seedballs* sem qualquer percentagem de desenvolvimento: *S. colorata* em SB; *C. myconis* em SB e SBC.

Brachypodium distachyon apresentou as taxas de desenvolvimento mais elevadas em todos os tratamentos (entre 73% e 88%), não se tendo verificado diferenças significativas entre tratamentos.

Considerando as duas composições de *seedballs*, *C. humilis*, teve uma percentagem de desenvolvimento significativamente mais elevada em SBC ($p=0,02$; 31% comparado com 14% na SB). No resto das espécies não se registaram diferenças significativas entre estes dois tratamentos.

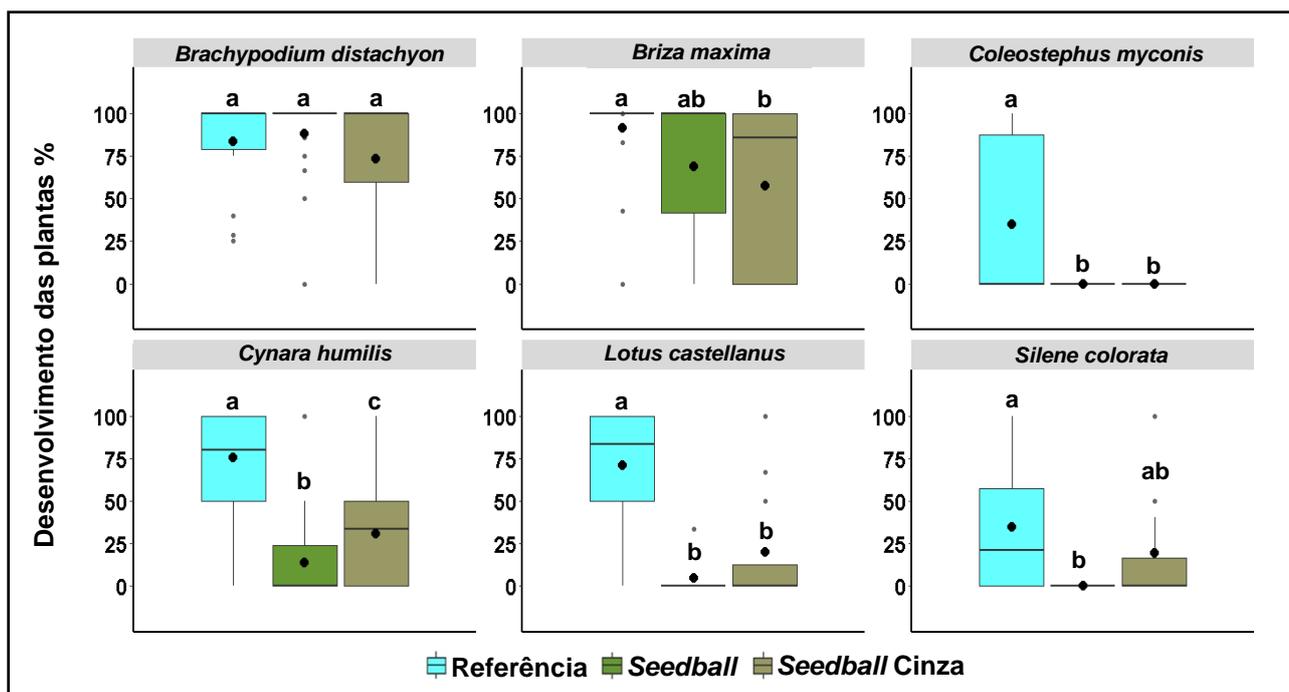


Figura 11: Percentagens de desenvolvimento das plantas entre os diferentes tratamentos por espécie (linha horizontal: mediana; ponto a preto: média; pontos a cinzento: pontos extremos). Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) na percentagem de desenvolvimento das plantas entre os diferentes tipos de tratamento. A comparação estatística foi efetuada com recurso ao teste de Mann-Whitney.

3.2.5. Influência ambiental na germinação e sobrevivência das plantas

As análises de redundâncias determinaram a existência de variáveis ambientais que influenciaram os resultados obtidos na germinação e desenvolvimento das plantas tanto nas *seedballs* como nas referências. Na Análise de Redundância das *seedballs*, permaneceram as variáveis significativas da média da altura da vegetação, intensidade de sombra, solo nu e vegetação espontânea. A variável da folhada apenas permaneceu para uma melhor interpretação gráfica (fig. 12). Em contrapartida, no modelo para as Referências permaneceram a intensidade de sombra, crosta viva e folhada. A variável da vegetação

espontânea permaneceu no modelo apenas para facilitar a compreensão gráfica (fig. 13). Tanto a Análise de Redundância feita para as parcelas com *seedballs*, como a da relativa às parcelas REF, têm uma boa percentagem de explicação (89%, 93%, respetivamente), principalmente ao longo do eixo 1 (71%, 78%, respetivamente).

Os três tipos de parcelas (SB, SC, REF) encontram-se dispersos de forma semelhante ao longo do campo gráfico. Isto sugere que ambos os tratamentos estiveram sujeitos às mesmas influências ambientais. O mesmo ocorreu com a disposição gráfica das diferentes espécies.

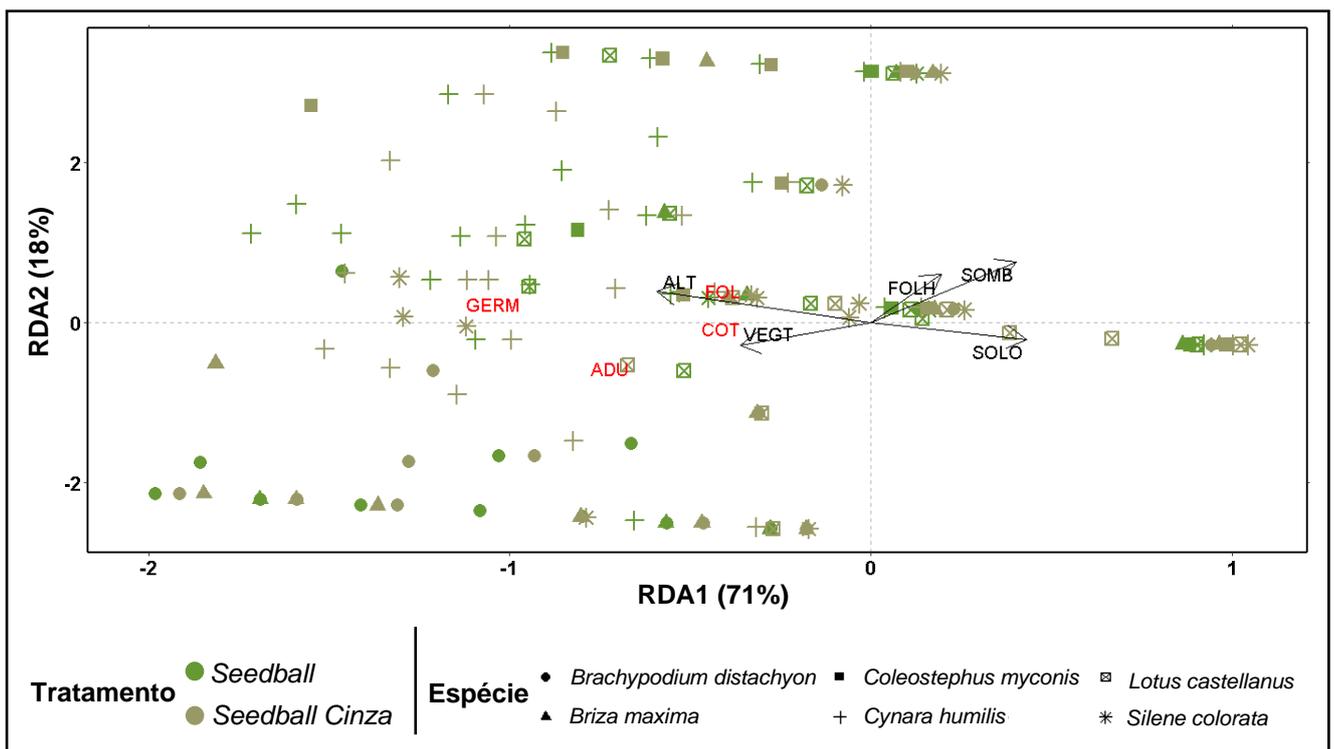


Figura 12: Análise de redundância relativa aos fatores ambientais que influenciaram os resultados obtidos nas parcelas de *Seedball* e *Seedball Cinza*. Os acrónimos usados referem-se a: GERM – germinação de sementes; FOL – plantas que desenvolveram 1^{as} ou 2^{as} folhas verdadeiras, mas que não chegaram a adultos; ADU – plantas que atingiram o estado de adulto; COT – plantas que apenas desenvolveram cotilédones. Os acrónimos a preto são variáveis independentes: ALT – média da altura da vegetação; FOLH – folhada; SOLO – solo nu; SOMB – intensidade de sombra; VEGT – vegetação espontânea.

O desenvolvimento das plantas provenientes das *seedballs* foi positivamente influenciado pela altura e vegetação espontânea, tendo-se verificado uma maior germinação e maior presença de indivíduos de diferentes estados de desenvolvimento (ex.: plantas com folíolos; indivíduos adultos) em locais onde também se desenvolveu vegetação espontânea relativamente alta. Lugares com maior cobertura de folhada, solo nu ou sob

forte ensombramento não desenvolveram muitas plantas. Esta situação foi diferente para as plantas das parcelas de REF. Neste tratamento, a germinação e os indivíduos adultos tenderam a estar associados a áreas com maior cobertura de folhada. No extremo oposto, existiram também muitas réplicas associadas a áreas com forte desenvolvimento de crosta viva, onde as plantas não conseguem passar da fase dos cotilédones.

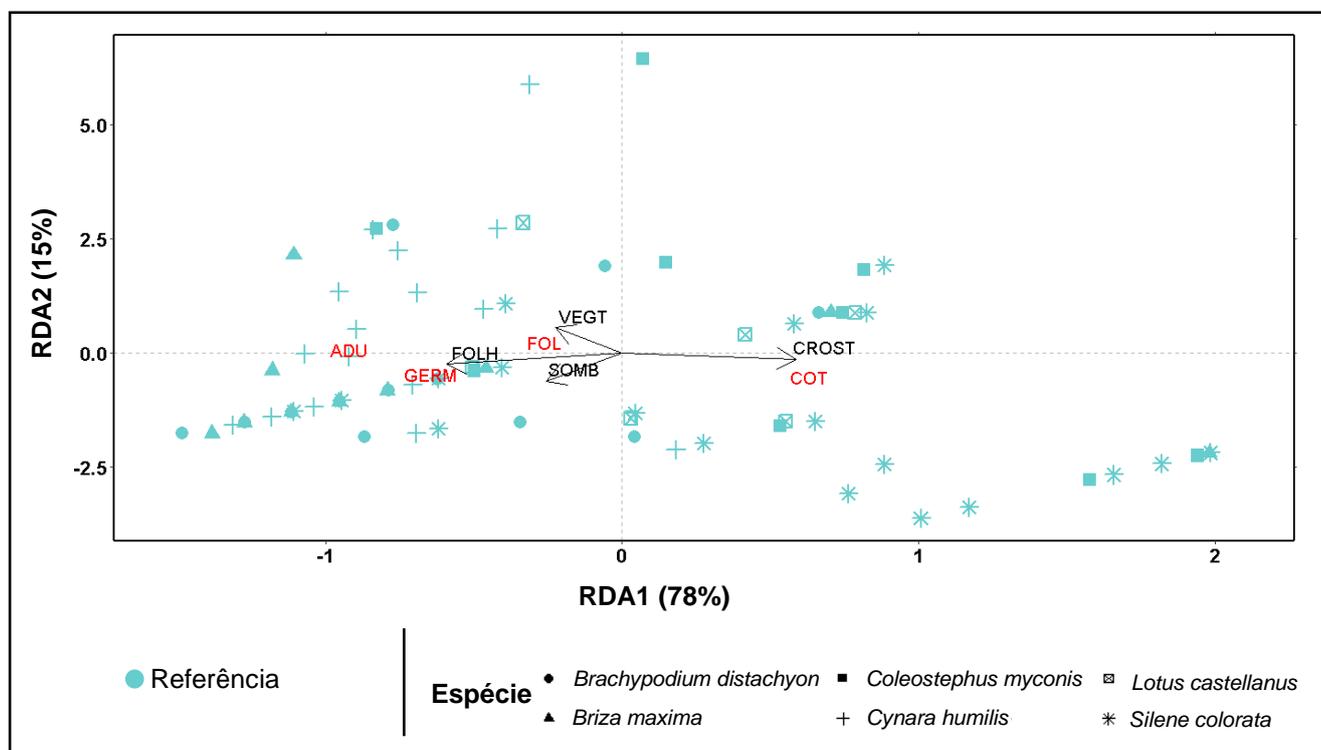


Figura 13: Análise de Redundância relativa aos fatores ambientais que influenciaram os resultados obtidos nas parcelas de Referência. Os acrónimos usados referem-se a: GERM – germinação de sementes; FOL – plantas que desenvolveram 1^{as} ou 2^{as} folhas verdadeiras, mas que não chegaram a adultos; ADU – plantas que atingiram o estado de adulto; COT – plantas que apenas desenvolveram cotilédones. Os acrónimos a preto são variáveis independentes: CROST – crosta viva no solo; FOLH – folhada; SOMB – intensidade de sombra; VEGT – vegetação espontânea.

As análises de redundância também permitiram constatar outros pressupostos anteriormente averiguados, ou pelo menos, constatados aquando monitorizações no campo de ensaio. Por exemplo, no caso dos tratamentos de *seedballs*, verifica-se que a *C. humilis* está associada a uma elevada germinação; que a maioria dos indivíduos adultos são de *B. maxima* e *B. distachyon* e que maioria de *C. myconis* apenas desenvolveu primeiras folhas verdadeiras e/ou cotilédones. O constrangimento do desenvolvimento de *C. myconis* também ocorreu nas REF, desta vez crescendo principalmente em réplicas sob efeito de crosta viva. A maioria das plantas que atingiram o estado de adulto nas parcelas

REF foram sobretudo *C. humilis*, *B. maxima* e *B. distachyon*, crescendo em réplicas associadas a folhada, muitas vezes também sob ensombramento.

O modelo linear generalizado (GLM) permitiu averiguar como certos parâmetros (precipitação, temperatura, tempo) ambientais influenciaram a germinação e o desenvolvimento das plantas (ver Apêndice III. e IV.).

O aumento da precipitação afetou positivamente a germinação de todas as espécies de forma significativa ($p < 0,01$). *Cynara humilis* revelou-se a espécie onde os valores de germinação se alteraram mais em função do aumento de precipitação. A precipitação também favoreceu significativamente a sobrevivência de *B. maxima* e *C. humilis* ($p < 0,001$), registando-se um aumento da sua sobrevivência em períodos com maior precipitação.

Quando à influência da temperatura na germinação, alterações nesta variável apenas foram significativas para a *S. colorata* ($p = 0,03$). Um aumento da temperatura tendeu a aumentar a germinação desta espécie. No entanto, o aumento da temperatura potenciou a diminuição significativa ($p < 0,01$) na sobrevivência das espécies *B. distachyon*, *B. maxima* e *C. myconis*.

A variável Tempo corresponde à passagem de tempo em que o ensaio esteve instalado. A germinação de metade das espécies (*B. maxima*, *C. humilis*, *S. colorata*) ocorreu no início do ensaio (outono / inverno), demonstrado pelo efeito negativo significativo que o aumento da variável Tempo teve. Na sobrevivência das plantas, esta variável teve um efeito significativo para a maioria das espécies ($p < 0,01$). Com a exceção de *S. colorata* e *L. castellanus*, a passagem do tempo corresponde a uma redução da sobrevivência.

Em termos de tratamentos aplicados às parcelas, a germinação de *S. colorata* e *B. maxima* diminuiu significativamente em SB. Em relação à sobrevivência das plantas, *C. myconis* e *C. humilis* sobreviveram significativamente menos em parcelas de SB, mas sobreviveram melhor em parcelas REF.

3.2.6. Avaliação da degradação das seedballs

As *seedballs* degradaram-se com o passar do tempo (fig. 14) e o seu estado de degradação foi avaliado no Tempo 1 (da instalação do ensaio até ao fim do período de chuvas mais abundantes) e no Tempo 2 (desde o fim do Tempo 1 até ao final do ensaio). Em termos gerais, a maioria da degradação ocorreu durante o Tempo 1. Ao longo do Tempo 2, as *seedballs* permaneceram praticamente inalteradas, não havendo diferenças

significativas entre ambas as composições de *seedballs* do Tempo 1 com as correspondentes *seedballs* dos Tempo 2.

A composição das *seedballs* influenciou o seu estado de degradação. SBC tenderam a obter um estado de degradação significativamente maior ($p=0,001$) que as SB. Ao final do Tempo 1, a maioria das SBC já estavam totalmente desfeitas (79%), o que não sucedeu com as SB (31%).

No final do ensaio, 80% das SBC atingiram o grau de degradação máxima (Totalmente Desfeitas), enquanto nas SB apenas 28% das suas réplicas se degradaram até esse ponto.

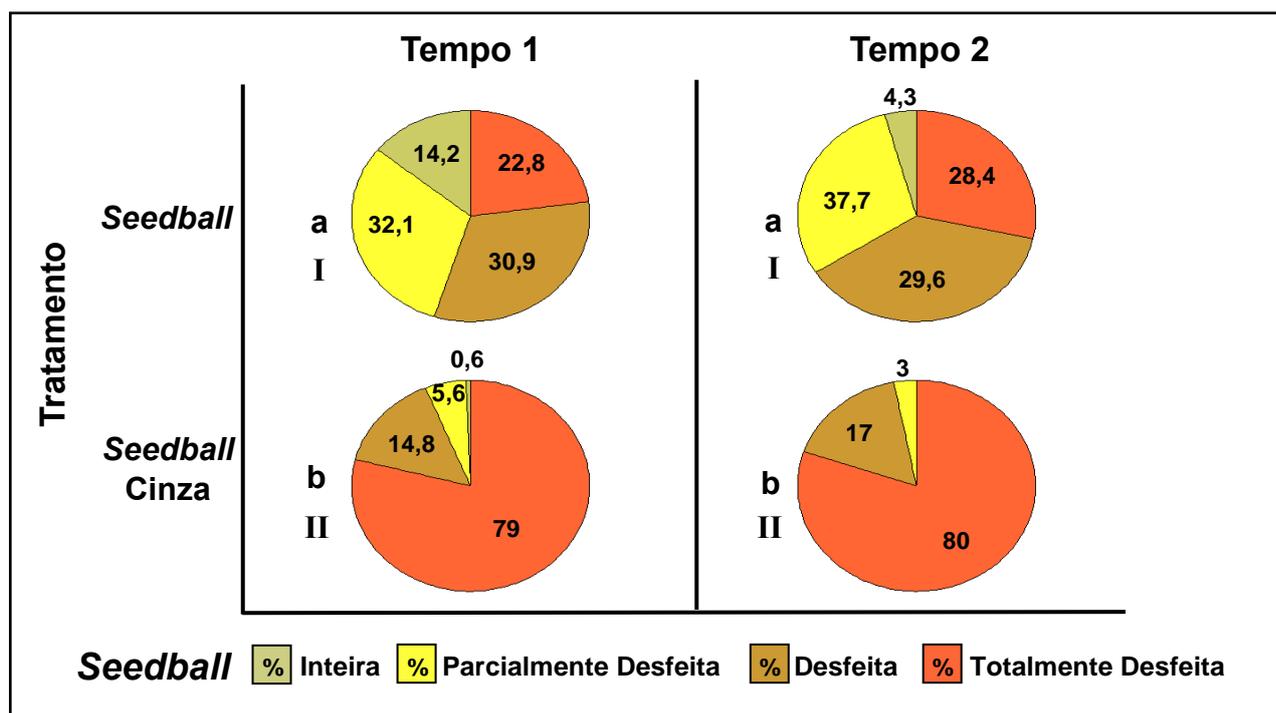


Figura 14: Percentagem de degradação ocorrida nas *seedballs* ao fim de dois períodos distintos: Tempo 1 (desde a instalação do ensaio até ao fim do período de chuvas mais abundantes) e o Tempo 2 (desde o fim do Tempo 1 até ao final do ensaio). Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p<0,05$) na percentagem de degradação de *seedballs* entre diferentes tipos de tratamento no mesmo Tempo. Números romanos diferentes indicam diferenças significativas ($p<0,05$) na percentagem de degradação de *seedballs* entre diferentes tipos de tratamento em Tempos diferentes.

3.3. Avaliação do Ensaio de Predação

No Ensaio de Predação verificaram-se diferenças do efeito de predação conforme o tratamento aplicado (fig. 15). As sementes livres dispostas como situações de Referência foram significativamente ($p<0,001$) mais predadas que os tratamentos *seedballs* (72%

comparado com 32% e 30%, respetivamente). Não se registaram diferenças significativas na percentagem de predação entre os dois tipos de composição de *seedball*.

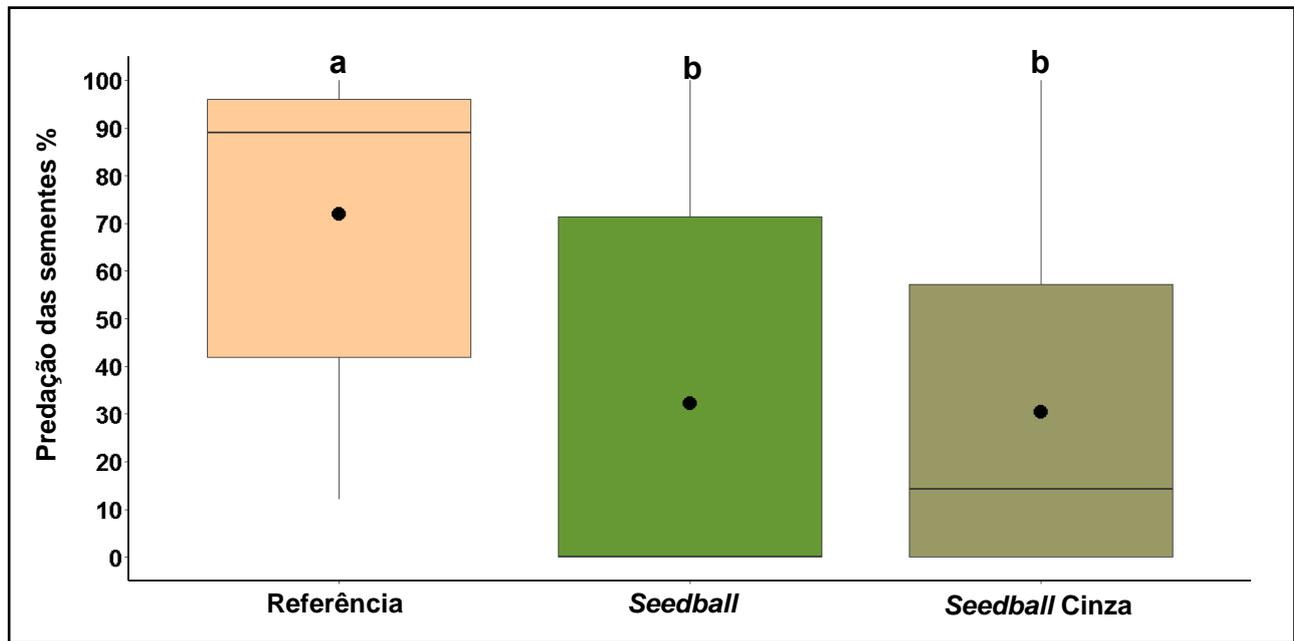


Figura 15: Percentagem de predação das sementes entre os vários tratamentos (linha horizontal: mediana; ponto a preto: média). Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) na percentagem de predação das sementes entre os diferentes tipos de tratamento. A comparação estatística foi efetuada com recurso ao teste de Mann-Whitney.

A predação de sementes variou por espécie (fig. 16). De um modo geral, a predação de sementes em *seedballs* foi significativamente menor quando comparada com a que ocorreu nas REF. Não existiram diferenças significativas entre as duas composições de *seedballs* por espécie. *Silene colorata* e *L. castellanus* foram a exceção, tendo obtido uma taxa de predação relativamente elevada e semelhante em todos os tratamentos (entre 62% e 95%).

A percentagem mais elevada de predação ocorreu na REF de *S. colorata* (95%). Por outro lado, houve vários tratamentos de *seedballs* com 0% de predação, nomeadamente as SB de *C. humilis*, *B. distachyon*, *B. maxima* e as SBC de *C. humilis*. De facto, nestas três espécies, qualquer uma das composições de *seedball* obteve uma percentagem muito reduzida de predação (entre 0% e 8%), sendo significativamente inferiores aos valores de predação obtidos nas situações de REF (entre 47% e 86%).

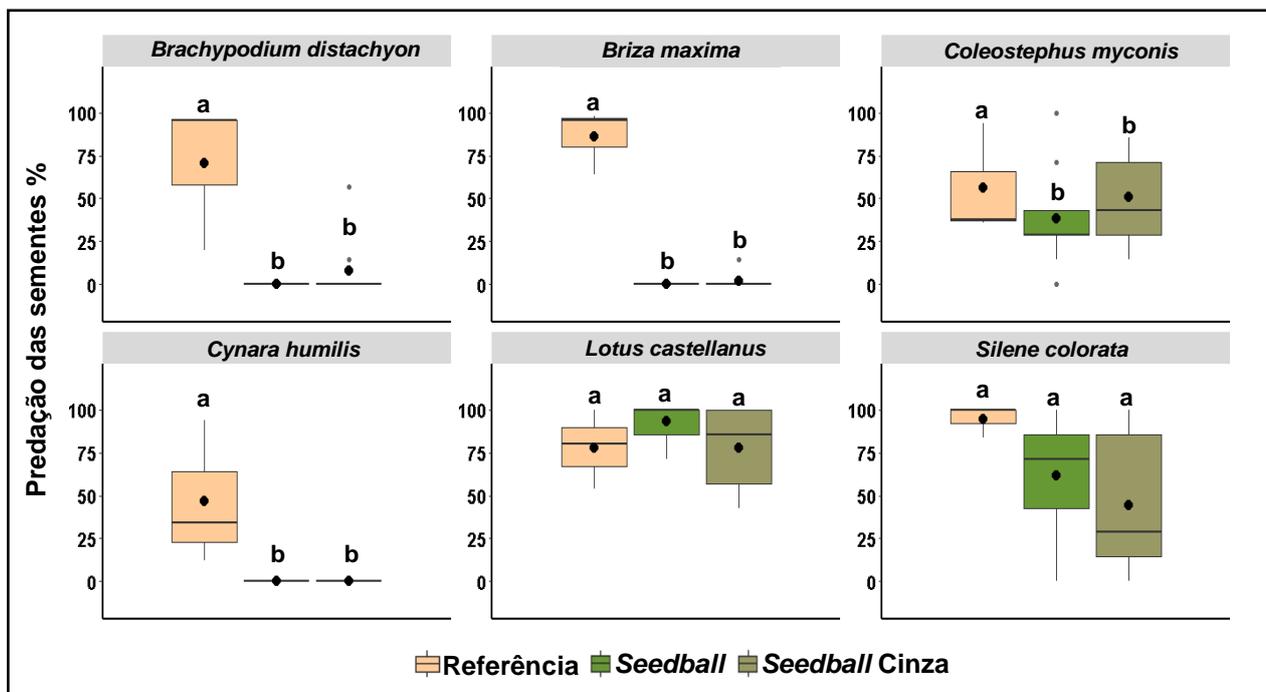


Figura 16: Percentagens de predação das sementes entre os diferentes tratamentos por espécie (linha horizontal: mediana; ponto a preto: média; pontos a cinzento: pontos extremos). Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) na percentagem de predação de sementes entre os diferentes tipos de tratamento. A comparação estatística foi efetuada com recurso ao teste de Mann-Whitney, com a exceção da espécie *Coleostephus myconis* para a qual se usou o teste ANOVA.

4. Discussão de resultados

4.1. Ensaio de *Seedballs*

4.1.1. Germinação

Em geral, a germinação nas *seedballs* foi bem-sucedida, apresentando valores próximos aos das situações de Referência. De facto, a maioria das espécies (*B. distachyon*, *L. castellanus*, *C. myconis*, *S. colorata*) atingiu, em pelo menos um dos tratamentos de *seedball*, um valor de germinação igual ou superior ao verificado na Referência. Todas as espécies tiveram um aumento significativo de germinação com o aumento da precipitação, demonstrando a enorme importância da água neste processo (Vasconcellos, 1995). Adicionalmente, a germinação das sementes das *seedballs* esteve também associada a parcelas onde se desenvolveu uma vegetação espontânea vigorosa. Ou seja, as sementes germinaram melhor sob as condições presentes nessas parcelas, independente de serem sementes provenientes do banco de sementes ou de *seedballs*. Para este resultado poderá ter contribuído a formação de condições microclimáticas em algumas parcelas, por exemplo, a abundância de caules e folhagem da vegetação espontânea parece ter reduzido a incidência de radiação solar, diminuindo a evaporação e aumentando a formação de orvalho na parcela, o que contribuiu para a manutenção da humidade local (Geiger, 1959). Este pressuposto não ocorreu de igual forma nas parcelas REF: nestas a germinação esteve predominantemente relacionada com a presença de folhada e sombra, características que contribuem igualmente para a retenção de água na parcela. A sementeira tradicional efetuada nas REF pode ter reduzido a presença de plantas espontâneas pela destruição física aquando da gradagem superficial e/ou pela inibição do banco de sementes devido a este ter sido transferido para uma inadequada profundidade (Benvenuti et al., 2001), supondo que a maioria das sementes viáveis se tenham acumulado à superfície do solo desde a última mobilização generalizada (2016). Ainda que nas situações de Referência, as sementes tenham germinado mais rapidamente do que nas *seedballs*, esta situação era espectável. As sementes peletizadas tendem a demorar mais tempo a germinar (Brown et al., 2019; Emídio, 2021; Jawahar e Umarani, 2019; Madsen et al., 2012), já que um revestimento à base de argilas confere um certo nível de impermeabilidade (Romariz, 1996). O movimento de ar e água foi, assim, restringido à superfície das sementes e em direção à sua micrópila, retardando quer a adsorção de água quer as trocas gasosas, e, portanto, o aumento do tempo médio de germinação. Por outro lado, a gradagem superficial do solo nas réplicas das REF deixou-o mais solto, o que, comparativamente às *seedballs*, facilitou

o processo germinativo destas sementes, requerendo menor quantidade de água para germinarem e menor resistência mecânica, logo, favorecendo a um menor tempo médio de germinação.

Comparando as duas composições de *seedballs*, a SBC revelou-se como a melhor em termos de promoção da germinação, tendo os resultados obtidos sido significativamente superiores aos da SB e semelhantes aos da REF. Após a época de maior precipitação (349 mm de precipitação acumulada), grande parte das SBC já se encontravam na categoria de Totalmente Desfeitas (79%), circunstância que terá seguramente facilitado a absorção de água pela semente e a posterior emergência das plântulas. A adição de cinza (25%) e a redução da quantidade de argila branca produziu um substrato menos compacto e mais arejado, o que permitiu uma degradação mais rápida das SBC, ao mesmo tempo que diminuiu as dificuldades de emergência das plântulas, não tendo nenhuma espécie sido influenciada negativamente com a utilização desta composição, exceto *B. distachyon*, que teve uma germinação significativamente mais demorada neste tratamento. A explicação pode residir no facto de, apesar das cinzas serem um fertilizante natural (Stark, 1979), a sua presença pode inibir a germinação de sementes devido a um pH elevado, causado por níveis elevados de hidróxidos e bicarbonatos (Thomas e Wein, 1990). À medida que as SBC se degradaram, a concentração de cinzas diminuiu, deixando de inibir a germinação de algumas sementes. Ainda assim, os resultados obtidos fundamentam *Seedball* Cinza como a melhor composição de *seedballs* em termos da germinação alcançada.

O tratamento com SB proporcionou resultados inferiores para várias espécies (*B. maxima*, *C. myconis*, *S. colorata*), tendo influenciado negativamente espécies de diferentes tamanhos de sementes. Tendo uma composição apenas à base de argilas (100% comparados com 75%), as SB revelaram-se menos aptas à germinação das suas sementes. Tal como nos outros tratamentos, uma grande parte das sementes em campo não germinou por não ter existido água suficiente para que se iniciasse o processo de embebição (ICT, 2023). Para as sementes que conseguiram iniciar a germinação, o processo foi dificultado pela insuficiente degradação, uma vez mais condicionada pelo ano seco (ICT, 2023). Grande parte das SB mantiveram a sua integridade física ao longo de todo o período do ensaio, a maioria delas pertencendo às duas categorias de menor degradação (4% Inteira e 38% Parcialmente Desfeita). Assim, uma vez que a exposição aos elementos tendeu a não ser suficiente para a sua degradação, este substrato ofereceu uma maior resistência mecânica à emergência das plântulas e reduziu a chance de as radículas penetrarem no solo abaixo da *seedball*, contribuindo para que muitas SB ficassem desconectadas da

superfície do solo, situação que é equiparável à retratada noutros estudos (Davies et al., 2018; Jones et al., 2014).

Ainda que, na generalidade, a germinação não tenha sido severamente deprimida com a utilização dos tratamentos de *seedballs*, *B. maxima* surge como uma exceção ao avaliarmos os resultados por espécie. A taxa de germinação dos tratamentos de *seedballs* desta espécie é muito inferior quando comparada com os resultados obtidos através de sementeira tradicional. O baixo desempenho germinativo talvez possa ser explicado, em parte, pela inadequada dimensão das *seedballs* utilizadas para esta espécie. Embora as sementes de *B. maxima* tenham apêndices largos, o seu volume médio é bastante inferior quando comparado com o das outras espécies onde o tamanho grande de *seedball* também foi utilizado (*B. distachyon*, *C. humilis*). Quando comparamos as taxas de germinação obtidas pelas espécies com sementes grandes (*B. distachyon*, *B. maxima*, *C. humilis*) com as espécies com sementes pequenas (*C. myconis*, *L. castellanus*, *S. colorata*), verifica-se que as últimas obtiveram percentagens de germinação mais baixas na maioria dos tratamentos. Independentemente do tratamento, o Ensaio de Predação comprovou que as sementes pequenas apresentam taxas de predação relativamente mais elevadas, possivelmente pelas suas *seedballs* se terem degradado mais rapidamente, deixando as sementes expostas à mercê dos predadores. Tendo o ensaio ocorrido durante um ano seco (ICT, 2023), é assumido que a produtividade geral das plantas é menor, sabendo-se que um dos efeitos da seca é a menor produção de sementes tanto em volume como em número (Szilagyi et al., 2003). Nestas circunstâncias, a pressão granívora pode ter sido mais elevada pela diminuição de outras fontes de alimento. Em paralelo, o menor tamanho das sementes também significa menores reservas de nutrientes, normalmente gerando plântulas mais frágeis (Westoby et al., 1996), podendo a sua presença nem ter sido registada caso o processo germinativo tenha apenas ocorrido no interior da *seedball*. Ademais, as sementes pequenas tendem a ser facilmente inibidas por uma profundidade excessiva (Benvenuti et al., 2001), o que talvez tenha ocorrido também nos tratamentos de *seedballs*. Ainda que os tamanhos das *seedballs* usados tivessem sido os mais adequados (Emídio, 2021), essa dimensão pode ainda não ser suficiente dado o tamanho reduzido das sementes pequenas (*C. myconis*, *L. castellanus*, *S. colorata*). Além do reajustamento da dimensão, uma outra forma de contrariar isto é aumentar o número de sementes em cada *seedball*, o que poderá facilitar a quebra das argilas e potenciar a germinação.

4.1.2. Desenvolvimento

Em geral, o desenvolvimento das plantas pós-germinação foi sofrível em ambos os tratamentos de *seedballs*, quando comparados com a taxa significativamente mais elevada das REF. Apesar das *seedballs* serem ricas em matéria orgânica e elementos importantes para o desenvolvimento das plantas, estes constituintes não parecem ter contribuído significativamente para o estabelecimento das plantas. Tal como na germinação, a sobrevivência das plantas provenientes das *seedballs* ocorreu maioritariamente em parcelas onde a vegetação espontânea também se desenvolveu, favorecida por condições microclimáticas que mantiveram a humidade e reduziram a radiação solar (Geiger, 1959). Na ausência de tais condições, as plantas das situações REF sobreviveram melhor em parcelas associadas à sombra e à folhada, características que também auxiliaram na redução do *stress* hídrico.

À medida que o ensaio decorria, a mortalidade das plantas naturalmente foi ocorrendo. A passagem do tempo influenciou significativamente a maioria das espécies (*B. distachyon*, *B. maxima*, *C. myconis*, *C. humilis*), estas sobrevivendo menos principalmente durante a segunda metade do ensaio. A senescência é expectável para as espécies terófitas, que completam o seu ciclo biológico durante uma única estação de crescimento, subsistindo durante períodos menos favoráveis apenas em estado de semente (Raunkiaer, 1934). No caso da *C. humilis*, tal como outras hemicriptófitas, a parte aérea da planta seca após a primavera, mantendo-se as gemas de renovo protegidas durante a época desfavorável (Raunkiaer, 1934). Assim, existe a chance de se ter contabilizado indevidamente a mortalidade de indivíduos que na realidade não o estavam.

À medida que as estações avançam, a temperatura tem tendido a aumentar, causada por mudanças na quantidade de radiação solar recebida, o que, combinado com menor e menos frequente precipitação, geram períodos de seca meteorológica. No ano de estudo houve meses excepcionalmente secos, como fevereiro ou abril, onde o total de precipitação foi quase zero (ICT, 2023), circunstâncias que contribuíram para os resultados menos favoráveis tanto para germinação, mas sobretudo para a sobrevivência das plantas. O aumento da temperatura contribuiu para a mortalidade das plantas, tendo influenciado negativamente *B. distachyon*, *B. maxima* e *C. myconis*. Parte da influência negativa da temperatura é explicada pela senescência destas espécies, ainda que possam ter existido plantas anuais que não puderam completar o seu ciclo devido à *secura*, exacerbada por temperaturas elevadas especialmente durante abril, que foi especialmente quente e seco, com média de temperatura máxima de 25,3 °C e uma precipitação total apenas de 4 mm

(ICT, 2023), valores bastante inferiores às Normais Climatológicas para a região (IPMA, 2022). As plântulas são extremamente sensíveis a situações de déficit hídrico até que o seu sistema radicular esteja bem desenvolvido no solo (Vallejo et al., 2012b), apesar de ser suposto que as plantas das *seedballs* prossigam com o normal enraizamento na terra, esta situação muitas vezes não ocorreu pela insuficiente degradação da *seedball*, o que fez com que as radículas ficassem despegadas do solo e, por vezes, expostas. Esta situação ocorreu maioritariamente em *seedballs* de espécies com sementes grandes, tendo o ano seco e temperaturas altas (ICT, 2023) contribuído para a menor degradação das *seedballs* e para o aumento da dificuldade de desenvolvimento radicular, tanto na *seedball* como na penetração do solo fora desta, o que decerto reduziu o estabelecimento e aumentou a mortalidade das plantas. Porém, também houve casos, como em réplicas de *B. distachyon*, que concluíram o seu ciclo biológico sem que existisse uma degradação efetiva da *seedball*, por vezes mesmo sem as raízes enraizarem no solo. Este pressuposto pode indicar que os nutrientes contidos nas *seedballs* podem ser suficientes para promover a sobrevivência de plantas em casos em que o enraizamento não é bem-sucedido. Por outro lado, também existem espécies onde esta vantagem não se verificou. *C. humilis*, por ser uma espécie de sementes vigorosas, quebra as argilas, ficando por vezes com as raízes expostas e com menor capacidade de usar os nutrientes das *seedballs* para o seu desenvolvimento.

Ainda que a vegetação espontânea tenha conferido um certo grau de proteção contra a temperatura às plântulas, a determinado ponto também competiu com elas. Desde o período inicial da germinação que as plantas espontâneas partem com um avanço significativo, já que as sementes provenientes das *seedballs* tendem a germinar mais tarde devido às próprias características do revestimento. Talvez este facto seja a razão mais importante para o menor desenvolvimento das sementes das *seedballs*. A menor competição interespecífica em réplicas REF, devido à gradagem superficial, pode explicar, em parte, a melhor sobrevivência de algumas das espécies (*C. myconis*, *C. humilis*) nestas parcelas. Para além disso, considerando que a dispersão de sementes é essencialmente local (<100 m) (Cain et al., 2000), algumas das espécies da vegetação espontânea poderão estar melhor adaptadas a algumas das características microclimáticas do local (ex.: exposição geográfica) (Lenssen et al., 2014), competindo e sobrevivendo melhor que aquelas provenientes das *seedballs* ou das Referência. Por outro lado, também pode ter existido competição intraespecífica, marcadamente em réplicas de *C. humilis*, uma espécie com requisitos espaciais mais pronunciados que as outras espécies, tendo-se observado em campo a sobreposição de indivíduos mais pequenos por outros mais vigorosos. Este pressuposto explica, em parte, a mortalidade desta espécie principalmente durante

segunda metade do ensaio, período onde as plântulas já requeriam mais espaço para o seu desenvolvimento. Sobreviveu significativamente melhor em parcelas REF por estas réplicas oferecerem mais espaço do que nas *seedballs*, podendo isto, ter contribuído para a relativa baixa taxa de desenvolvimento desta espécie em SB e SBC. As causas de mortalidade das plantas (ex.: seca, soterramento, herbivoria por invertebrados como *Berberomeloe castuo* e *Drusia valenciennii*) não foram objetivo deste estudo, mas decerto envolveram uma complexidade de interações com ou sem efeito sinérgico.

Lotus castellanus e *S. colorata* não foram significativamente afetados por nenhuma das variáveis abióticas incluídas no modelo linear generalizado. Sabendo que o nicho bioclimático da *S. colorata* tende a ser o mais seco de todas as espécies do estudo e que *L. castellanus* tende a desenvolver-se em áreas de um índice ombrotérmico estival inferior a algumas das espécies (*B. maxima*, *C. myconis*) (Flora-On, 2024), os resultados da sobrevivência destas duas espécies devem ter sido influenciados principalmente por fatores bióticos verificados em campo, mas não contabilizados, como a competição com vegetação espontânea e a herbivoria.

Analisando a progressão de resultados da germinação e desenvolvimento de plantas provenientes das *seedballs* por espécie, apenas *B. distachyon* obteve, em ambos os parâmetros, resultados relativamente elevados, não havendo diferenças significativas em relação à REF. A sua preferência microclimática, que lhe permite crescer em zonas mais secas que outras espécies (*B. maxima*, *C. myconis*) (Flora-On, 2024), e a sua capacidade de regeneração foliar após danos físicos (Chapman, 1996), terão contribuído para este resultado. Ainda que não com tão elevadas percentagens como *B. distachyon*, a *Seedball* Cinza de *S. colorata* conseguiu ser estatisticamente igual às suas REF em ambos os parâmetros. Nas restantes espécies, em pelo menos um dos parâmetros, seja na germinação ou no desenvolvimento, não foram obtidos resultados satisfatórios. Por exemplo, *C. humilis*, apesar de ter obtido taxas de germinação em *seedballs* elevadas e próxima das REF, não houve muitas plantas que desenvolvessem o estado de adulto em qualquer das composições de *seedballs*, havendo percentagens de desenvolvimento das situações de REF muito superiores às dos tratamentos de *seedballs*.

Ainda que na generalidade, a sobrevivência das plantas não tenha sido favorecida, estes resultados não devem ser desmotivadores da utilização desta técnica em restauro ecológico. Em clima Mediterrânico, as condições para um estabelecimento bem-sucedido são muitas vezes esporádicas, variando espacial e temporalmente, o que faz com que muitas espécies de flora apostem numa diversificação de estratégias de germinação nas suas sementes (*bet hedging*). A incorporação adicional de *seedballs* junto de sementeira

tradicional poderia reforçar as chances de germinação e conseqüentemente de sobrevivência das plantas nas áreas alvo de restauro ecológico. Este pressuposto foi sugerido por Davies et al. (2018), que, ao combinarem os resultados obtidos das *seedpillows* com as sementes não peletizadas, alcançaram o sucesso de restauro ecológico num maior número de condições.

Dado que existem outros parâmetros em consideração durante um plano de restauro (Gornish et al., 2019), a utilização destas *seedballs* de forma isolada pode continuar a ser vantajosa em situações a que a sementeira tradicional não responde. Por exemplo, em trabalhos em áreas de acesso complicado ou quando a utilização de espécies com sementes pequenas, característica que torna difícil a sua distribuição mecânica (Andersen, 2020; Wilson et al., 2011). Adicionalmente, as *seedballs* que não se desfizeram podem potencialmente manter viáveis as sementes que não germinaram até ao próximo período hídrico adequado, podendo criar e/ou reforçar bancos de sementes a longo prazo, tendo o mesmo sido sugerido por outro estudo (Jones et al., 2014).

4.2. Ensaio de Predação

Ambos os tratamentos de *seedballs* demonstraram ter a capacidade de inibir a predação sobre as sementes, não existindo diferenças significativas entre as duas composições. O mesmo efeito foi observado em outros estudos de diferentes fórmulas de sementes peletizadas (Jones et al., 2014; LoPresti et al., 2023; Overdyck et al., 2013; Taylor et al., 2020). O revestimento torna as sementes menos apelativas para os predadores, reduzindo o seu consumo principalmente pela inerente barreira física (LoPresti et al., 2023). Para alguns predadores, o acesso às sementes é fisicamente dificultado devido ao aumento do volume e/ou à sua incapacidade de removerem o revestimento. Em outros casos, a alteração do exterior da semente deve torna-la menos apelativa para consumo, quer pelo aumento do esforço necessário para o seu aproveitamento, quer pela redução da sua perceção de qualidade (LoPresti et al., 2023). Ao não se degradarem imediatamente, as *seedballs* efetivamente mantiveram a sua função protetora durante as primeiras fases do processo germinativo, período em que pode ocorrer uma predação elevada de sementes (Andersen, 1989).

A taxa de predação de sementes é muito elevada nas REF de espécies com sementes grandes (*B. distachyon*, *B. maxima*, *C. humilis*), tendo qualquer dos tratamentos de *seedballs* obtido uma percentagem de predação de sementes bastante baixa. Em

contrapartida, as espécies de sementes pequenas tiveram uma predação relativamente elevada em todos os tratamentos. Estes resultados, podem ser devido ao facto de as *seedballs* pequenas se degradarem mais rapidamente que as grandes, permitindo que os predadores as removam e/ou consumam. Por outro lado, salvaguarda-se que as diferenças podem resultar da ineficiência humana na contagem das sementes sobrantes. A identificação das sementes que permaneceram dentro das *seedballs* foi um processo minucioso e de difícil execução devido à tonalidade escura das composições, mas, particularmente, pela reduzida dimensão das sementes (*C. myconis*, *L. castellanus*, *S. colorata*) ou pela sua deterioração física (*C. myconis*).

4.3. Viabilidade da utilização de resíduos industriais no fabrico de *seedballs*

Os subprodutos industriais usados no desenvolvimento de *seedballs* produziram com sucesso unidades de distribuição de sementes. Uma das razões para o uso de sementes peletizadas é na optimização da distribuição de sementes (Gornish et al., 2019). As sementes, incluindo as de pequena dimensão, que são normalmente excluídas de planos de restauro ecológico (Hoose et al., 2019; Madsen et al., 2016) foram integradas com sucesso na composição das *seedballs*, possibilitando uniformização e volume suficientes para que no futuro possam ser distribuídas por meios mecânicos. Em paralelo, para uma eficiente distribuição de sementes, estas têm de permanecer na área onde são distribuídas, o que pode ser particularmente difícil no caso de sementes pequenas (Chambers, 2000). Com exceção de um caso onde uma *seedball* foi movimentada, presumivelmente por fauna, todas as outras *seedballs* mantiveram a sua posição na área de estudo durante todo o período do ensaio, pelo que se pode considerar que as soluções testadas garantem uma distribuição eficiente de sementes em áreas hipotéticas de restauro ecológico.

A utilização de resíduos (argila negra, cinza) no fabrico de *seedballs* foi também sancionada pelos resultados obtidos nos ensaios, apesar de alguma variação dos resultados dependendo da espécie e composição aplicada. Uma das espécies (*B. distachyon*) obteve mesmo resultados semelhantes à sua Referência, tanto em termos de germinação como de desenvolvimento.

O uso de resíduos industriais promove a transição para uma economia circular (Comissão Europeia, 2020). Embora tenham sido usados resíduos industriais no desenvolvimento das *seedballs*, não existe informação precisa dos custos inerentes da

utilização desta técnica em larga escala. Estes dados poderão facultar uma informação mais precisa acerca das vantagens e desvantagens económicas em comparação com outras técnicas de sementeira.

5. Considerações finais

Este estudo demonstrou que, sob condições mediterrânicas, a técnica de sementeira de *seedballs* pode potencializar uma germinação equivalente às Referências, apesar de nem sempre se verificar o mesmo no desenvolvimento das plantas, particularmente em anos secos.

Verificaram-se que os resultados, tanto nos parâmetros de germinação como os de desenvolvimento, variaram por espécie e tratamento, tendo as plantas de sementes pequenas obtido valores relativamente mais baixos na maioria das situações. Existe uma espécie com resultados favoráveis em todos os tratamentos e parâmetros (*B. distachyon*), uma espécie com *Seedball* Cinza semelhante à Referência (*S. colorata*) e várias espécies onde pelo menos um dos parâmetros foi semelhante ou melhor (*B. maxima*, *C. myconis*, *L. castellanus*, *S. colorata*). Paralelamente, este estudo demonstrou que as *seedballs* podem conferir um grau elevado de proteção às sementes face a predadores e podem ser fabricadas parcialmente com recursos a resíduos industriais (argila negra, cinza), promovendo a economia circular.

A técnica pode ser incorporada em planos de restauro ecológico em áreas amplas caso seja combinada com outras técnicas de sementeira com o objetivo de incrementar as hipóteses de sucesso e/ou no reforço de bancos de sementes a longo prazo. Contudo, é aconselhável que a investigação da técnica continue para obter mais resultados, principalmente a nível da sobrevivência. A composição do revestimento usado no tratamento designado como *Seedball* (sem cinza), por ter demonstrado influência negativa em quatro espécies, tanto na germinação (*B. maxima*, *S. colorata*), como no desenvolvimento (*C. myconis*, *C. humilis*), deve ser excluída. Pelo facto de os resultados terem variado significativamente entre espécies, nomeadamente entre as que têm sementes maiores e mais pequenas, a testagem de outros tamanhos de *seedballs* poderia melhorar alguns dos resultados obtidos, como por exemplo, a relativa baixa germinação de espécies com sementes de menor volume (*B. maxima*, *C. myconis*, *L. castellanus*, *S. colorata*). Para estes casos, também é sugerido que se testem *seedballs* com um maior número de sementes no interior, pressuposto que talvez facilite a germinação destas plântulas pelo aumento da força de desagregação da *seedball* conferida pelas radículas de um maior número de indivíduos. Para o mesmo intuito se poderia testar a inserção de sementes de tamanho grande junto de sementes de tamanho pequeno. Em espécies de sementes de volume grande, como a *C. humilis*, a redução do número de sementes por

seedball deve ser considerada de forma a evitar a possível competição intraespecífica e para diminuir as situações de raízes expostas devido à quebra vigorosa das argilas.

Face à necessidade crescente de restauro ecológico, é relevante que se elabore um estudo que relacione os custos económicos associados ao uso desta técnica em larga escala. A disponibilidade dessa informação facilitará a sua comparação em relação a outras técnicas, consequentemente, auxiliando o processo de decisão sobre as medidas a tomar durante o planeamento de ações de restauro ecológico.

6. Referências bibliográficas

- Afzal, I., Javed, T., Amirkhani, M. e Taylor, A. G. (2020). Modern seed technology: Seed coating delivery systems for enhancing seed and crop performance. In *Agriculture (Switzerland)* (Vol. 10, Issue 11, pp. 1–20). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/agriculture10110526>
- Andersen, A. N. (1989). How important is seed predation to recruitment in stable populations of long-lived perennials? *Oecologia*, 81, 310-315. <https://doi.org/10.1007/BF00377076>
- Anderson, R. M. (2020). *Novel techniques to improve restoration of native rangeland species* (Tese de mestrado, Brigham Young University).
- Andrade, C. e Contente, J. (2020). Climate change projections for the Worldwide Bioclimatic Classification System in the Iberian Peninsula until 2070. *International Journal of Climatology*, 40(14), 5863–5886. <https://doi.org/10.1002/joc.6553>
- Aschmann, H. (1973). Distribution and peculiarity of Mediterranean ecosystems. In F. di Castri e H. A. Mooney (Eds.), *Mediterranean type ecosystems* (Vol. 7). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-642-65520-3_2
- Auguie, B. (2017). *gridExtra: Miscellaneous functions for "grid" graphics* (R package version 2.3). <https://CRAN.R-project.org/package=gridExtra>
- Baskin, C. C. e Baskin, J. M. (2014). "Seeds: Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination." In *Seeds: Ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination* (Chap. 12, p. 1006). Academic Press. *Academic Press*.
- Benvenuti, S., Macchia, M. e Miele, S. (2001). Quantitative analysis of emergence of seedlings from buried weed seeds with increasing soil depth. *Weed Science*, 49(4), 528–535. [https://doi.org/10.1614/0043-1745\(2001\)049\[0528:QAOEOS\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1614/0043-1745(2001)049[0528:QAOEOS]2.0.CO;2)
- Berto, B. e Brown, V. S. (2023). Ten years to restore the planet: a seedy situation. *Restoration Ecology*, 31(3). <https://doi.org/10.1111/rec.13755>
- Brown, V. S., Ritchie, A. L., Stevens, J. C., Harris, R. J., Madsen, M. D. e Erickson, T. E. (2018). *Protecting direct seeded grasses from herbicide application: can new extruded pellet formulations be used in restoring natural plant communities?* <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.5500834.v1>
- Cain, M. L., Milligan, B. G. e Strand, A. E. (2000). Long-distance seed dispersal in plant populations. *American Journal of Botany*, 87(9), 1217-1227. <https://doi.org/10.2307/2656714>
- Casco, H. e Dias, L. S. (2008). Estimating seed mass and volume from linear dimensions of seeds. *Seed Science and Technology*, 36(1), 230-236. <https://doi.org/10.15258/sst.2008.36.1.28>

- Castroviejo, S. (coord. gen.). (1986–2012). Flora Iberica 1–8, 10–15, 17–18, 21. CSIC, Madrid: Real Jardín Botánico. http://www.floraiberica.es/miscelania/aviso_legal.php. Consultado em 22-01-2023
- Ceccon, E., González, E. J. e Martorell, C. (2016). Is Direct Seeding a Biologically Viable Strategy for Restoring Forest Ecosystems? Evidences from a Meta-analysis. *Land Degradation and Development*, 27(3), 511–520. <https://doi.org/10.1002/ldr.2421>
- Chambers, J. C. (2000). Seed movements and seedling fates in disturbed sagebrush steppe ecosystems: Implications for restoration. *Ecological Applications*, 10(5), 1400-1413. [https://doi.org/10.1890/1051-0761\(2000\)010\[1400:SMASFI\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/1051-0761(2000)010[1400:SMASFI]2.0.CO;2)
- Chapman, G. P. (1996). The assumption of form. In *The biology of grasses* (p. 43). CAB International.
- Comissão Europeia. (2020). *Um novo plano de ação para a economia circular: COM/2020/98 final*. Bruxelas.
- Crawley, M. J. e Long, C. R. (1995). Alternate bearing, predator satiation and seedling recruitment in *Quercus robur* L. *Journal of Ecology*, 83(4), 683–696. <https://doi.org/10.2307/2261636>
- Crosby, A. e Vanni, I. (2023). Planty Design Activism: Alliances with Seeds. *Design and Culture*, 15(1), 3–26. <https://doi.org/10.1080/17547075.2022.2125146>
- Davies, K. W., Boyd, C. S., Madsen, M. D., Kerby, J. e Hulet, A. (2018). Evaluating a seed technology for sagebrush restoration across an elevation gradient: Support for bet hedging. *Rangeland Ecology & Management*, 71(1), 19-24. <https://doi.org/10.1016/j.rama.2017.07.006>
- Doust, S. J. (2011). Seed removal and predation as factors affecting seed availability of tree species in degraded habitats and restoration plantings in rainforest areas of Queensland, Australia. *Restoration Ecology*, 19(5), 617–626. <https://doi.org/10.1111/j.1526-100X.2010.00681.x>
- Emídio, M. (2021). *Avaliação da utilização de argila negra na produção de seed balls em contexto climático mediterrânico* (Dissertação de Mestrado, Universidade de Évora).
- ENSCONET. (2009). *ENSCONET Seed Collecting Manual for Wild Species*. The European Native Seeds Conservation Network (ENSCONET). https://www.luomus.fi/sites/default/files/files/collecting_protocol_english.pdf.
- European Environment Agency. (2020). *State of nature in the EU: results from reporting under the nature directives 2013-2018*. Publications Office of the European Union.
- Evenari, M. (1980). The history of germination research and the lesson it contains for today. *Israel Journal of Plant Sciences*, 29(1-4), 4-21. <https://doi.org/10.1080/0021213X.1980.10676873>
- Flora-On: Flora de Portugal Interactiva. (2024). Sociedade Portuguesa de Botânica. www.flora-on.pt. Consultado em 09-08-24

- Fox, J. e Weisberg, S. (2019). *An R companion to applied regression* (3rd ed.). Sage Publications. <https://socialsciences.mcmaster.ca/jfox/Books/Companion/>
- Fukuoka, M. (1991). *The natural way of farming: The theory and practice of green philosophy* (F. P. Metreaud, Trad.). Japan Publications
- Ganhão, E. e Dias, L. S. (2019). *Seed volume database*. Departamento de Biologia, Universidade de Évora. Évora.
- Geiger, R., Aron, R. H. e Todhunter, P. (1959). *The climate near the ground* (2.^a ed.). Harvard University Press.
- Google. (2023). *Google Earth* [programa de computador]. <https://www.google.com/earth/>. Consultado em 23-04-24
- Gornish, E., Arnold, H. e Fehmi, J. (2019). Review of seed pelletizing strategies for arid land restoration. *Restoration Ecology*, 27(6), 1206–1211. <https://doi.org/10.1111/rec.13045>
- Gosling, P. G. (2003). Viability testing. In R. D. Smith, J. B. Dickie, S. H. Linington, H. W. Pritchard, & R. J. Probert (Eds.), *Seed conservation: Turning science into practice* (pp. 445–481). The Royal Botanic Gardens.
- Graves, S., Piepho, H. P. e Dorai-Raj, S. (2023). *multcompView: Visualizations of paired comparisons* (R package version 0.1-9). <https://CRAN.R-project.org/package=multcompView>
- Guzzomi, A. L., Erickson, T. E., Ling, K. Y., Dixon, K. W. e Merritt, D. J. (2016). Flash flaming effectively removes appendages and improves the seed coating potential of grass florets. *Restoration Ecology*, 24, S98–S105. <https://doi.org/10.1111/rec.12386>
- Halmer, P. (2006, August). Seed technology and seed enhancement. In *XXVII International Horticultural Congress-IHC2006: International Symposium on Seed Enhancement and Seedling Production* (Vol. 771, pp. 17-26).
- Harding, A. e Palutikof, J. (2009). The climate system. In J. Woodward (Ed.), *The physical geography of the Mediterranean*. Oxford Academic. <https://doi.org/10.1093/oso/9780199268030.003.0013>
- Hoose, B. W., Call, R. S., Bates, T. H., Anderson, R. M., Roundy, B. A. e Madsen, M. D. (2019). Seed conglomeration: a disruptive innovation to address restoration challenges associated with small-seeded species. *Restoration Ecology*, 27(5), 959–965. <https://doi.org/10.1111/rec.12947>
- Instituto de Ciências da Terra (ICT). (2023). *Dados meteorológicos da Estação Meteorológica da Herdade da Mitra, Évora*. Universidade de Évora. Consultado em <https://www.icterra.pt/estacoes/mitra/>. Consultado em 12-01-23
- Instituto Português do Mar e da Atmosfera (IPMA). (2022). *Normal Climatológica – Évora / Cidade 1981-2010* (Versão 2.2). Instituto Português do Mar e da Atmosfera. <https://www.ipma.pt>. Consultado em 12-01-23

- ISTA. (2015). Rules Proposals for the International Rules for Seed Testing 2015 Edition. ISTA. Bassersdorf, Switzerland.
- Jarrar, H., El-Keblawy, A., Ghenai, C., Abhilash, P. C., Bundela, A. K., Abideen, Z. e Sheteiwy, M. S. (2023). Seed enhancement technologies for sustainable dryland restoration: Coating and scarification. In *Science of the Total Environment* (Vol. 904). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.166150>
- Jawahar, R. e Umarani, R. (2019). Development of seed cube technology with enhanced seeds of *Albizia lebbek* for rapid propagation in fallow lands. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 8(6), 1603–1613. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2019.806.193>
- Joffre, R. e Rambal, S. (2001). Mediterranean Ecosystems. In *Encyclopedia of Life Sciences*. Wiley. <https://doi.org/10.1038/npg.els.0003196>
- Jones, L. C., Schwinning, S. e Esque, T. C. (2014). Seedling ecology and restoration of blackbrush (*Coleogyne ramosissima*) in the Mojave Desert, United States. *Restoration Ecology*, 22(5), 692–700. <https://doi.org/10.1111/rec.12128>
- Kaligarič, M., Škornik, S., Ivančič, A., Rebeušek, F., Sternberg, M., Kramberger, B. e Senčič, L. (2006). Germination and survival of endangered *Pulsatilla grandis* (Ranunculaceae) after artificial seeding, as affected by various disturbances. *Israel Journal of Plant Sciences*, 54(1), 9-17. <https://doi.org/10.1560/Q170-4171-P887-1871>
- Kanehl, P. D., Lyons, J. e Nelson, J. E. (1997). Changes in the habitat and fish community of the Milwaukee River, Wisconsin, following removal of the Woolen Mills Dam. *North American Journal of Fisheries Management*, 17(2), 387-400. [https://doi.org/10.1577/1548-8675\(1997\)017%3C0387:CITHAF%3E2.3.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8675(1997)017%3C0387:CITHAF%3E2.3.CO;2)
- King, D. M. (1991). *Costing out restoration*. *Restoration and Management Notes*, 9, 15–21. <https://doi.org/10.3368/er.9.1.15>
- Laliberté, E., Legendre, P. e Shipley, B. (2014). *FD: Measuring functional diversity from multiple traits, and other tools for functional ecology* (R package version 1.0-12.1). <https://CRAN.R-project.org/package=FD>
- Lenssen, J. P. M., Van Kleunen, M., Fischer, M. e De Kroon, H. (2004). Local adaptation of the clonal plant *Ranunculus reptans* to flooding along a small-scale gradient. *Journal of Ecology*, 92(4), 696-706. <https://doi.org/10.1111/j.0022-0477.2004.00896.x>
- LoPresti, E. F., Pan, V. S., Girvin, C., Barber, G., Jaeger, S. e Orrock, J. L. (2023). Sandy seeds: Armour or invisibility cloak? Mucilage-bound sand physically protects seeds from rodents and invertebrates. *Journal of Ecology*, 111(3), 540-551. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.14077>
- Mach, T. (2009). *Masanobu Fukuoka's Enduring Influence on New Agrarian Movements Abroad*. <https://doi.org/http://doi.org/10.14990/00000479>

- Madsen, M. D., Davies, K. W., Boyd, C. S., Kerby, J. D. e Svejcar, T. J. (2016). Emerging seed enhancement technologies for overcoming barriers to restoration. In *Restoration Ecology* (Vol. 24, pp. S77–S84). Blackwell Publishing Inc. <https://doi.org/10.1111/rec.12332>
- Mangold, J. M. e Sheley, R. L. (2007). Effects of soil texture, watering frequency, and a hydrogel on the emergence and survival of coated and uncoated crested wheatgrass seeds. *Ecological Restoration*, 25(1), 6-11. <https://doi.org/10.3368/er.25.1.6>
- Merritt, D. J. e Dixon, K. W. (2011a). Restoration seed banks-a matter of scale. *Science*, 332(6028), 424–425. <https://doi.org/10.1126/science.1203083>
- Merritt, D. J. e Dixon, K. W. (2011b). An unorthodox approach to forest restoration – response. *Science*, 333(6041), 36-37. <https://doi.org/10.1126/science.333.6038.36-b>
- Mittermeier, R., Turner, W., Larsen, F., Brooks, T. e Gascon, C. (2011). Global biodiversity conservation: the critical role of hotspots. In *Biodiversity hotspots: distribution and protection of conservation priority areas* (pp. 3-22). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- Monteiro-Henriques, T., Martins, M. J., Cerdeira, J. O., Silva, P., Arsénio, P., Silva, Á., ... e Costa, J. C. (2016). Bioclimatological mapping tackling uncertainty propagation: application to mainland Portugal. *International Journal of Climatology*, 36(1), 400-411. <https://doi.org/10.1002/joc.4357>
- Myers, N., Mittermeier, R. A., Mittermeier, C. G., da Fonseca, G. A. B. e Kent, J. (2000). Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, 403, 853-858. <https://doi.org/10.1038/35002501>
- Nevill, P. G., Cross, A. T. e Dixon, K. W. (2018). Ethical seed sourcing is a key issue in meeting global restoration targets. In *Current Biology* (Vol. 28, Issue 24, pp. R1378–R1379). Cell Press. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2018.11.015>
- Ni, B. R. (1997). Seed coating, film coating, and pelleting. In Chinese Association of Agricultural Sciences, Department of Agriculture, Ministry of Agriculture, People's Republic of China, & China National Seed Group Corporation (Eds.), *Seed industry and agricultural development* (pp. 737-747).
- Oksanen, J., Simpson, G., Blanchet, F. G., Kindt, R., Legendre, P., Minchin, P. R., O'Hara, R. B., Solymos, P., Stevens, M. H. H., Szoecs, E., Wagner, H., Barbour, M. G., Bedward, M., Bolker, B., Borcard, D., Carvalho, G., Chirico, M., De Cáceres, M., Durand, S., Evangelista, H., FitzJohn, R., Friendly, M., Furneaux, B., Hannigan, G., Hill, M., Lahti, L., McGlinn, D., Ouellette, M., Ribeiro Cunha, E., Smith, T., Stier, A., Ter Braak, C. J. F. e Weedon, J. (2022). *vegan: Community Ecology Package* (R package version 2.6-4). <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>
- Overdyck, E., Clarkson, B. D., Laughlin, D. C. e Gemmill, C. E. (2013). Testing broadcast seeding methods to restore urban forests in the presence of seed predators.

Restoration Ecology, 21(6), 763–769. <https://doi.org/10.1111/j.1526-100X.2012.00933.x>

- Parente, J., Amraoui, M., Menezes, I. e Pereira, M. G. (2019). Drought in Portugal: Current regime, comparison of indices, and impacts on extreme wildfires. *Science of the Total Environment*, 685, 150-173. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.298>
- Parmar, S. P. (2023). Seed ball campaign: An effective implementation tool against global warming and deforestation. *Journal of Environmental Engineering and Studies*, 8(1).
- Pedrini, S., Merritt, D. J., Stevens, J. e Dixon, K. (2017). Seed Coating: Science or Marketing Spin? In *Trends in Plant Science* (Vol. 22, Issue 2, pp. 106–116). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.11.002>
- Pedrini, S., Balestrazzi, A., Madsen, M. D., Bhalsing, K., Hardegree, S. P., Dixon, K. W. e Kildisheva, O. A. (2020). Seed enhancement: getting seeds restoration-ready. In *Restoration Ecology* (Vol. 28, Issue S3, pp. S266–S275). Blackwell Publishing Inc. <https://doi.org/10.1111/rec.13184>
- Pedrini, S., Stevens, J. C. e Dixont, K. W. (2021). Seed encrusting with salicylic acid: A novel approach to improve establishment of grass species in ecological restoration. *PLoS ONE*, 16(6 June). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0242035>
- Pérez-Gimeno, A., Navarro-Pedreño, J., Almendro-Candel, M. B., Gómez, I. e Zorpas, A. A. (2019). The use of wastes (organic and inorganic) in land restoration in relation to their characteristics and cost. *Waste Management and Research*, 37(5), 502–507. <https://doi.org/10.1177/0734242X19828171>
- Porensky, L., Veblen, K. E. e Young, T. (2024, 16 de agosto). *Ecological restoration*. *Encyclopedia Britannica*. <https://www.britannica.com/science/ecological-restoration>. Consultado em 18-08-24
- Raunkiaer, C. (1934). *The life forms of plants and statistical plant geography*. Oxford University Press.
- R Core Team. (2024). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing. <https://www.r-project.org/>
- Regulamento [UE] 2024/1991 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 24 de junho de 2024, relativo ao restauro da natureza e que altera o Regulamento [UE] 2022/869. *Jornal Oficial da União Europeia*, L 1991, 1-93. <http://data.europa.eu/eli/reg/2024/1991/oj> . Consultado em 20-09-24
- Rocha, I., Ma, Y., Souza-Alonso, P., Vosátka, M., Freitas, H. e Oliveira, R. S. (2019). Seed Coating: A Tool for Delivering Beneficial Microbes to Agricultural Crops. In *Frontiers in Plant Science* (Vol. 10). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01357>
- Romariz, C. (1995). Argila. *Verbo – Enciclopédia Luso-Brasileira de Cultura* (Vol. 2, pp. 1087-1089). Editorial Verbo.

- Schuman, G. E., Vicklund, L. E. e Belden, S. E. (2005). Establishing *Artemisia tridentata* ssp. *wyomingensis* on mined lands: Science and economics. In *Arid Land Research and Management* (Vol. 19, Issue 4, pp. 353–362). <https://doi.org/10.1080/15324980500299748>
- Shackelford, N., Paterno, G. B., Winkler, D. E., Erickson, T. E., Leger, E. A., Svejcar, L. N., Breed, M. F., Faist, A. M., Harrison, P. A., Curran, M. F., Guo, Q., Kirmer, A., Law, D. J., Mganga, K. Z., Munson, S. M., Porensky, L. M., Quiroga, R. E., Török, P., Wainwright, C. E., ... Suding, K. L. (2021). Drivers of seedling establishment success in dryland restoration efforts. *Nature Ecology and Evolution*, 5(9), 1283–1290. <https://doi.org/10.1038/s41559-021-01510-3>
- Shen, Z., Tian, Y., Yao, Y., Jiang, W., Dong, J., Huang, X., Wu, X., Farooq, T. H. e Yan, W. (2023). Ecological restoration research progress and prospects: A bibliometric analysis. In *Ecological Indicators* (Vol. 155). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2023.110968>
- Slowikowski, K. (2024). *ggrepel: Automatically position non-overlapping text labels with 'ggplot2'* (R package version 0.9.5). <https://CRAN.R-project.org/package=ggrepel>
- Society for Ecological Restoration International Science (SER), Grupo de Trabalho sobre Ciência e Política. (2004). *Princípios da SER Internacional sobre o restauro ecológico*. Society for Ecological Restoration. www.ser.org.
- Stark, N. (1979). Plant ash as a natural fertilizer. *Environmental and experimental Botany*, 19(2), 59-68. [https://doi.org/10.1016/0098-8472\(79\)90009-1](https://doi.org/10.1016/0098-8472(79)90009-1)
- Symanowicz, B., Becher, M., Jaremko, D. e Skwarek, K. (2018). Possibilities for the use of wood ashes in agriculture. *Journal of Ecological Engineering*, 19(3), 219-224. <https://doi.org/10.12911/22998993/86156>
- Szilagyi, L. (2003). Influence of drought on seed yield components in common bean. *Bulgarian Journal of Plant Physiology*, 29(3-4), 320-330.
- Taylor, A. G., Allen, P. S., Bennett, M. A., Bradford, K. J., Burris, J. S. e Misra, M. K. (1998). Seed enhancements. *Seed Science Research*, 8(2), 245–256. <https://doi.org/10.1017/s0960258500004141>
- Taylor, J. B., Cass, K. L., Armond, D. N., Madsen, M. D., Pearson, D. E. e St. Clair, S. B. (2020). Deterring rodent seed-predation using seed-coating technologies. *Restoration Ecology*, 28(4), 927-936. <https://doi.org/10.1111/rec.13158>
- Tazi, M., Hall, G., Sika, G. e Kugbei, S. (2018). *Seeds toolkit: Module 3: Seed quality assurance*. Rome: The Food and Agriculture Organization of the United Nations and Africa Seeds.
- Thomas, P. A. e Wein, R. W. (1990). Jack pine establishment on ash from wood and organic soil. *Canadian Journal of Forest Research*, 20(12), 1926–1932. DOI <https://doi.org/10.1139/x90-258>

- Vallejo, V. R., Bautista, S. e Cortina, J. (1999). Restoration for soil protection after disturbances. In L. Trabaud (Ed.), *Life and environment in the Mediterranean* (pp. 301-343). WIT Press.
- Vallejo, V. R., Allen, E. B., Aronson, J., Pausas, J. G., Cortina, J. e Gutiérrez, J. R. (2012a). Restoration of Mediterranean-type woodlands and shrublands. In J. van Andel & J. Aronson (Eds.), *Restoration ecology: The new frontier* (2nd ed., pp. 130-144). Blackwell Publishing Ltd.
- Vallejo, V. R., Smanis, A., Chirino, E., Fuentes, D., Valdecantos, A. e Vilagrosa, A. (2012b). Perspectives in dryland restoration: Approaches for climate change adaptation. *New Forests*, 43(5–6), 561–579. <https://doi.org/10.1007/s11056-012-9325-9>
- Vasconcellos, J. (1995). Germinação. *Verbo – Enciclopédia Luso-Brasileira de Cultura* (Vol. 6, pp. 454-455). Editorial Verbo.
- Vicente-Gonzalez, L. e Vicente-Villardón, J. L. (2021). PERMANOVA: Multivariate analysis of variance based on distances and permutations (R package v. 0.2.0). <https://CRAN.R-project.org/package=PERMANOVA>
- Watkinson, A. R., Lonsdale, W. M. e Andrew, M. H. (1989). Modelling the Population Dynamics of an Annual Plant *Sorghum intrans* in the Wet-Dry Tropics. *Journal of Ecology*, 77(1), 162–181. <https://doi.org/10.2307/2260923>
- Westerman, P. R., Wes, J. S., Kropff, M. J. e Van der Werf, W. (2003). Annual losses of weed seeds due to predation in organic cereal fields. *Journal of Applied Ecology*, 40(5), 824-836. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2664.2003.00850.x>
- Westerman, P. R., Luijendijk, C. D., Wevers, J. D. A. e van der Werf, W. (2011). Weed seed predation in a phenologically late crop. *Weed Research*, 51(2), 157-164. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.2010.00834.x>
- Westoby, M., Leishman, M. e Lord, J. (1996). Comparative ecology of seed size and dispersal. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 351(1345), 1309–1318. <https://doi.org/10.1098/rstb.1996.0118>
- Wickham, H. (2016). *ggplot2: Elegant graphics for data analysis*. Springer-Verlag. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-24277-4>
- Wickham, H. e Bryan, J. (2023). *readxl: Read Excel files* (R package version 1.4.3). <https://CRAN.R-project.org/package=readxl>
- Wickham, H., François, R., Henry, L., Müller, K. e Vaughan, D. (2023). *dplyr: A grammar of data manipulation* (R package version 1.1.4). <https://CRAN.R-project.org/package=dplyr>
- Williams, P. (Produtor), Barrington, R. (Produtor da série) e Attenborough, D. (Apresentador) (2022). *Human worlds* (Temporada 1, Episódio 5) [Série documental]. In Green World. BBC.

- Wilson, K. A., Lulow, M., Burger, J., Fang, Y.-C., Andersen, C., Olson, D., O'Connell, M. e McBride, M. F. (2011). Optimal restoration: Accounting for space, time, and uncertainty. *Journal of Applied Ecology*, 48(3), 715–725. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2011.01975.x>
- Xu, S., Zhou, Y., Qiao, Y., Yue, S., Zhang, X., Zhang, Y., Liu, M., Zhang, Y. e Zhang, Z. (2023). Seagrass restoration using seed ball burial in northern China. *Restoration Ecology*, 31(1). <https://doi.org/10.1111/rec.13691>
- Yang, J., Lovett-Doust, J. e Lovett-Doust, L. (1999). Seed germination patterns in green dragon (*Arisaema dracontium*, Araceae). *American Journal of Botany*, 86(8), 1160–1167. <https://doi.org/10.2307/2656980>
- Zvinavashe, A. T., Lim, E., Sun, H. e Marelli, B. (2019). A bioinspired approach to engineer seed microenvironment to boost germination and mitigate soil salinity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116(51), 25555–25561. <https://doi.org/10.1073/pnas.1915902116>

7. Apêndices

Apêndice I. Parâmetros químicos dos substratos que constituem as *seedballs*

Tabela I.1 1: Parâmetros químicos dos substratos que constituem as *seedballs*.

	pH	Fósforo (P) mg/Kg	Potássio (K) mg/Kg	Matéria orgânica %	Magnésio (Mg) mg/Kg	Azoto (N) %
Argila negra		1,35	146,1	22,9	757,8	0,27
Argila branca	5,01	39,62	81,77	0,6	618,2	0
Cinza	10,86	1172	132664,8	26,5	7438,2	0

Apêndice II. Organização do campo experimental

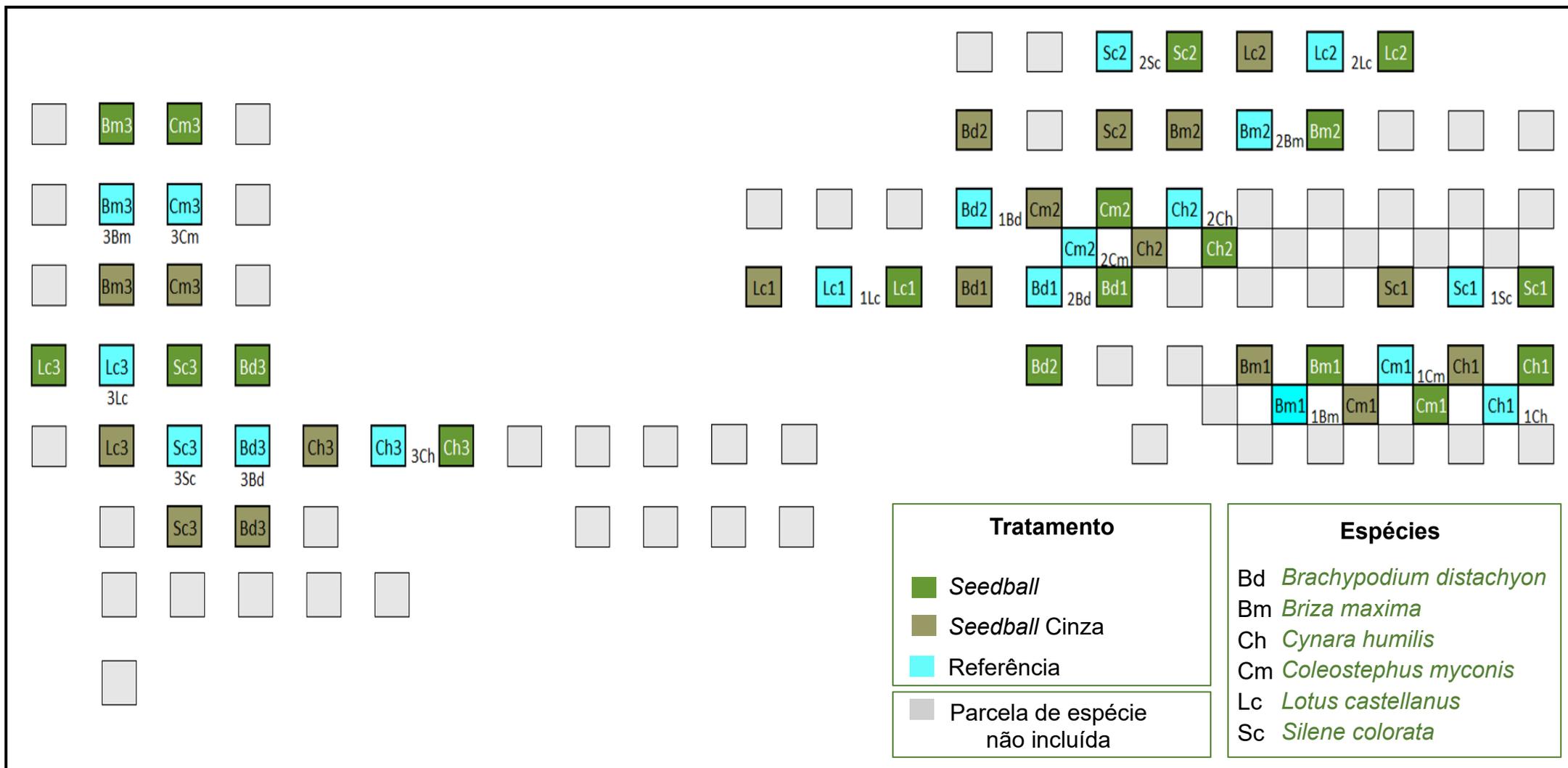


Figura II. 1: Organização das parcelas instaladas no campo experimental no início do outono. O Ensaio de *Seedballs* foi constituído por sequências de diferentes parcelas. Cada quadrado representa uma parcela de 1m² com apenas uma espécie num dos três tipos de tratamento disponíveis. Cada sequência de parcelas está numerada com o mesmo número (ex. Bm1, Bm1, Bm1), tendo cada espécie a totalidade de três destas sequências, dispostas aleatoriamente em diferentes localizações na área de estudo. O Ensaio de Predação foi colocado ao lado de algumas das parcelas sob forma de uma experiência de cafeteria. Cada uma das espécies possuiu 3 réplicas (ex. 1Bm, 2Bm, 3Bm).

Apêndice III. Fatores ambientais e tipo de tratamento que influenciaram a germinação

Tabela III. 2: Valores de um modelo linear generalizado (GLM) que relacionou vários fatores ambientais com a germinação das sementes por espécie. A cor azul representa variáveis com valores significativos.

<i>Brachypodium distachyon</i> (L.) P.Beauv					
	Estimativa	Erro padrão	Teste de Wald	Intervalo de confiança (95%)	Valor P
Tempo	-0,103060	0,059605	2,98966	[-0,219883; 0,013763]	0,083798
Temperatura	-0,188587	0,171241	1,21285	[-0,524213; 0,147039]	0,270768
Precipitação	0,097440	0,024236	16,16471	[0,049939; 0,144941]	0,000058
Seedball	0,009471	0,024238	0,15268	[-0,038034; 0,056976]	0,695987
Seedball cinza	-0,015540	0,024238	0,41104	[-0,063045; 0,031966]	0,521440
Referência	0,006069	0,026889	0,05094	[-0,046633; 0,058771]	0,821440

AIC= -54,629447

<i>Briza maxima</i> (L.)					
	Estimativa	Erro padrão	Teste de Wald	Intervalo de confiança (95%)	Valor P
Tempo	-0,116688	0,046111	6,403957	[-0,207063; -0,026313]	0,011387
Temperatura	0,000517	0,132474	0,000015	[-0,259127; 0,260160]	0,996889
Precipitação	0,058077	0,018749	9,595209	[0,021330; 0,094824]	0,001951
Seedball	-0,039535	0,019108	4,280992	[-0,076986; -0,002084]	0,038541
Seedball cinza	0,002374	0,019108	0,015430	[-0,035077; 0,039824]	0,901143
Referência	0,037161	0,019108	3,782395	[-0,000289; 0,074612]	0,051794

AIC= -102,371803

<i>Coleostephus myconis</i> (L.) Rchb.f.					
	Estimativa	Erro padrão	Teste de Wald	Intervalo de confiança (95%)	Valor P
Tempo	-0,056537	0,038062	2,206439	[-0,131137; 0,018062]	0,137436
Temperatura	-0,082310	0,109349	0,566600	[-0,296630; 0,132010]	0,451613
Precipitação	0,040372	0,015476	6,805277	[0,010040; 0,070705]	0,009089
Seedball	-0,022509	0,017171	1,718464	[-0,056163; 0,011145]	0,189891
Seedball cinza	0,018923	0,015477	1,494769	[-0,011412; 0,049258]	0,221478

Referência	0,003586	0,015477	0,053688	[-0,026749; 0,033922]	0,816765
------------	----------	----------	----------	-----------------------	----------

AIC= -133,569965

Cynara humilis (L.)

	Estimativa	Erro padrão	Teste de Wald	Intervalo de confiança (95%)	Valor P
Tempo	-0,167914	0,062549	7,20677	[-0,290507; -0,045321]	0,007263
Temperatura	-0,092832	0,179698	0,26688	[-0,445034; 0,259370]	0,605436
Precipitação	0,101382	0,025433	15,89064	[0,051535; 0,151229]	0,000067
Seedball	-0,003968	0,025919	0,02343	[-0,054769; 0,046833]	0,878339
Seedball cinza	-0,006496	0,025919	0,06281	[-0,057297; 0,044305]	0,802105
Referência	0,010464	0,025919	0,16297	[-0,040337; 0,061265]	0,686434

AIC= -42,002202

Lotus castellanus Boiss. & Reut.

	Estimativa	Erro padrão	Teste de Wald	Intervalo de confiança (95%)	Valor P
Tempo	-0,051890	0,031204	2,765324	[-0,113048; 0,009269]	0,096327
Temperatura	-0,156412	0,089647	3,044180	[-0,332116; 0,019292]	0,081027
Precipitação	0,033871	0,012688	7,126630	[0,009003; 0,058738]	0,007595
Seedball	0,008319	0,012930	0,413910	[-0,017024; 0,033662]	0,519991
Seedball cinza	0,002718	0,012930	0,044179	[-0,022625; 0,028061]	0,833521
Referência	-0,011037	0,012930	0,728542	[-0,036380; 0,014306]	0,393356

AIC= -179,692335

Silene colorata Poir.

	Estimativa	Erro padrão	Teste de Wald	Intervalo de confiança (95%)	Valor P
Tempo	-0,123078	0,039022	9,94827	[-0,199560; -0,046597]	0,001610
Temperatura	0,239474	0,112108	4,56295	[0,019747; 0,459200]	0,032671
Precipitação	0,068916	0,015867	18,86554	[0,037818; 0,100013]	0,000014
Seedball	-0,039060	0,016170	5,83487	[-0,070753; -0,007367]	0,015712
Seedball cinza	0,016776	0,016170	1,07635	[-0,014917; 0,048469]	0,299516
Referência	0,022284	0,016170	1,89909	[-0,009409; 0,053977]	0,168180

AIC= -135.422683

Apêndice IV. Fatores ambientais e tipos de tratamento que influenciaram a sobrevivência

Tabela IV. 1: Valores de um modelo linear generalizado (GLM) que relacionou vários fatores ambientais com a sobrevivência das plantas por espécie. A cor azul representa variáveis com valores significativos

<i>Brachypodium distachyon</i> (L.) P.Beauv					
	Estimativa	Erro padrão	Teste de Wald	Intervalo de confiança (95%)	Valor P
Tempo	-0,844515	0,228255	13,68911	[-1,29189; -0,397144]	0,000216
Temperatura	-0,935214	0,338229	7,64541	[-1,59813; -0,272298]	0,005692
Precipitação	0,045492	0,054059	0,70815	[-0,06046; 0,151446]	0,400058
Seedball	-0,027179	0,048628	0,31239	[-0,12249; 0,068130]	0,576217
Seedball cinza	-0,028436	0,049778	0,32632	[-0,12600; 0,069128]	0,567833
Referência	0,055615	0,051786	1,15332	[-0,04588; 0,157114]	0,282856

AIC= 32,227900

<i>Briza maxima</i> (L.)					
	Estimativa	Erro padrão	Teste de Wald	Intervalo de confiança (95%)	Valor P
Tempo	-1,09328	0,167990	42,35380	[-1,42253; -0,76402]	0,000000
Temperatura	-2,02558	0,322897	39,35244	[-2,65844; -1,39271]	0,000000
Precipitação	0,19401	0,046511	17,39943	[0,10285; 0,28517]	0,000030
Seedball	-0,01220	0,048096	0,06432	[-0,10646; 0,08207]	0,799791
Seedball cinza	-0,02639	0,048096	0,30110	[-0,12066; 0,06788]	0,583196
Referência	0,03859	0,045948	0,70535	[-0,05147; 0,12865]	0,400991

AIC= 31,569437

<i>Coleostephus myconis</i> (L.) Rchb.f.					
	Estimativa	Erro padrão	Teste de Wald	Intervalo de confiança (95%)	Valor P
Tempo	-1,09827	0,401472	7,48362	[-1,88514; -0,311404]	0,006226
Temperatura	-1,80535	0,643567	7,86927	[-3,06672; -0,543981]	0,005028
Precipitação	0,08323	0,099640	0,69782	[-0,11206; 0,278525]	0,403516
Seedball	-0,24267	0,109256	4,93319	[-0,45681; -0,028528]	0,026346
Seedball cinza	0,02690	0,088432	0,09250	[-0,14643; 0,200219]	0,761026
Referência	0,21577	0,087758	6,04528	[0,04377; 0,387774]	0,013944

AIC= 78,743533

***Cynara humilis* (L.)**

	Estimativa	Erro padrão	Teste de Wald	Intervalo de confiança (95%)	Valor P
Tempo	-0,542723	0,167530	10,49468	[-0,871077; -0,214369]	0,001197
Temperatura	-0,222048	0,283647	0,61283	[-0,777985; 0,333889]	0,433726
Precipitação	0,166680	0,047262	12,43809	[0,074050; 0,259311]	0,000421
Seedball	-0,091992	0,042793	4,62118	[-0,175865; -0,008119]	0,031580
Seedball cinza	-0,051425	0,041935	1,50382	[-0,133616; 0,030766]	0,220085
Referência	0,143417	0,041630	11,86819	[0,061823; 0,225011]	0,000571

AIC= 32,661471

***Lotus castellanus* Boiss. & Reut.**

	Estimativa	Erro padrão	Teste de Wald	Intervalo de confiança (95%)	Valor P
Tempo	0,314546	0,522989	0,361729	[-0,71049; 1,339587]	0,547547
Temperatura	0,647800	0,747026	0,751986	[-0,81634; 2,111945]	0,385848
Precipitação	0,108301	0,118466	0,835762	[-0,12389; 0,340490]	0,360612
Seedball	-0,060112	0,113935	0,278365	[-0,28342; 0,163196]	0,597775
Seedball cinza	0,063206	0,111458	0,321581	[-0,15525; 0,281660]	0,570659
Referência	-0,003093	0,109228	0,000802	[-0,21718; 0,210990]	0,977406

AIC= 114,067039

***Silene colorata* Poir.**

	Estimativa	Erro padrão	Teste de Wald	Intervalo de confiança (95%)	Valor P
Tempo	-0,184721	0,280201	0,434602	[-0,73391; 0,364463]	0,509739
Temperatura	-0,066725	0,508154	0,017242	[-1,06269; 0,929239]	0,895530
Precipitação	0,025915	0,085186	0,092546	[-0,14105; 0,192877]	0,760965
Seedball	-0,077583	0,114021	0,462980	[-0,30106; 0,145894]	0,496234
Seedball cinza	0,011220	0,079248	0,020045	[-0,14410; 0,166543]	0,887413
Referência	0,066363	0,079562	0,695726	[-0,08958; 0,222302]	0,404224

AIC= 75,673843