



UNIVERSIDADE
DE ÉVORA

Departamento de Paisagem, Ambiente e Ordenamento

Licenciatura em Ecologia e Ambiente

**Análise do efeito de fungos micorrízicos arbusculares (AMF) no
crescimento e desenvolvimento de eucalipto (*Eucalyptus globulus*) em viveiro**

Relatório do Trabalho Final

Realizado por: Mariana Sereia (nº55066)

Supervisora e Orientadora: Professora Doutora Isabel Brito

Évora

2025



UNIVERSIDADE
DE ÉVORA

Departamento de Paisagem, Ambiente e Ordenamento

Licenciatura em Ecologia e Ambiente

**Análise do efeito de fungos micorrízicos arbusculares (AMF) no
crescimento e desenvolvimento de eucalipto (*Eucalyptus globulus*) em viveiro**

Relatório do Trabalho Final

Realizado por: Mariana Sereia (nº55066)

Supervisora e Orientadora: Professora Doutora Isabel Brito

Évora

2025



Agradecimentos

Ao Diogo, meu namorado e colega, melhor amigo, conselheiro, companheiro, porto seguro e a pessoa sem a qual não estaria aqui. A tua ajuda, suporte incondicional, humildade, amizade, generosidade e leveza foi o que me permitiu superar todas as dificuldades e chegar até estar aqui.

À Professora Doutora Isabel Brito, agradeço por toda a ajuda, compreensão, ensinamentos e oportunidades. Agradeço por enquanto professora me cativar o interesse por microbiologia e enquanto orientadora, me auxiliar em todos os passos deste processo, por fornecer todos os instrumentos necessários, por todo o conhecimento que me permitiu adquirir e pela sua forma genuína e amável de orientar, explicar e ensinar.

Ao Professor Doutor Pedro Santos, obrigada não só pelo seu excelente trabalho como diretor de curso e professor mas também pela sua amabilidade e a sincera e sempre presente disponibilidade para ajudar.

Aos meus pais, agradeço todos os vossos esforços e sacrifícios, todo o acompanhamento ao longo do meu percurso escolar e académico, toda a paciência, compreensão e auxílio nos momentos difíceis. Obrigada por estarem presentes nas vitórias e nas derrotas, nos momentos bons e maus e por sem pensarem duas vezes em colocarem o meu bem estar e os meus objetivos à frente dos vossos sempre me fazendo acreditar que era possível.

À Dona Helena e ao Senhor José, meus amigos ,conselheiros, ajudantes e apoiantes, obrigada por toda a ajuda que me deram durante todo este tempo, pela vossa paciência ,compreensão, compaixão, carinho e sobretudo por serem os meus segundos pais.

À minha Alice e ao meu José João, meus avós, meus amigos e meus conselheiros, agradeço por terem feito a minha infância tão colorida e feliz, por desde sempre me terem feito querer sempre ser uma pessoa cada vez melhor para fazer justiça às pessoas que são e por me inspirarem todos os dias.

Ao resto da minha família, que me viu evoluir ao longo dos anos e me acompanhou em cada processo e um grande obrigada também aos meus avós paternos que com muitos sacrifícios e luta me permitiram estar aqui.

À Íris, amiga e colega. obrigada por toda a tua companhia, concelhos e amizade durante a nossa licenciatura e todo este processo, sem ti não teria sido igual.



Aos meus colegas de turma, que tornaram esta fase da vida mais fácil, leve e feliz e especialmente ao Luís e ao João pela ajuda nas regas quando não era possível de outra forma, agradeço pela vossa amizade, ajuda e ombro-amigo.

À The Navigator Company, que forneceu todos os materiais necessários para este estágio ser possível.

Resumo

O *Eucalyptus globulus* é uma espécie florestal de grande relevância económica e ambiental em Portugal, destacando-se como principal matéria-prima da indústria da papel e celulose. Contudo, a sua expansão levanta desafios, como o impacto sobre os recursos hídricos, risco de incêndios e a sustentabilidade do solos. A simbiose com fungos micorrízicos arbusculares (AMF) é fundamental para o crescimento do eucalipto, melhorando a absorção de nutrientes, a tolerância a stresses e a saúde do solo. Este relatório teve como objetivo analisar o efeito da estratégia baseada na utilização de *developers* na promoção de uma micorrização precoce, em plantas de eucalipto em viveiro. Foram testados diferentes tratamentos como o corte e depósito superficial da biomassa dos *developers*, com ou sem distúrbio do solo, comparando-se com um controlo sem *developers*. Os resultados deste estudo demonstram que, em viveiro, a presença de fungos micorrízicos arbusculares (AMF) promoveu a colonização eficiente das raízes de eucalipto, especialmente após a pré-instalação de plantas *developer* como serradela e lolium e a conjugação dos dois, melhorando o potencial de absorção de nutrientes. Observou-se elevada sobrevivência em todos os tratamentos e uma evolução positiva do crescimento das plantas, com destaque para tratamentos com maior diversidade funcional e solo perturbado, embora no controlo as plantas tenham apresentado maior crescimento inicial. Apesar de todos os tratamentos terem mantido capacidade fotossintética adequada, os sistemas mais biodiversos revelaram tendência para maior eficiência na absorção de fósforo. Conclui-se que estratégias de micorrização precoce e gestão cuidadosa do solo e das plantas *developer* são fundamentais para otimizar o crescimento, a resiliência e a qualidade do *Eucalyptus globulus* em viveiro.



Abstract

Eucalyptus globulus is a forest species of high economic and environmental relevance in Portugal, standing out as the main raw material for the cellulose and paper industry. However, its expansion raises challenges such as the impact on water resources, fire risk, and soil sustainability. Symbiosis with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) is essential for eucalyptus growth, improving nutrient uptake, stress tolerance, and soil health. This report aimed to analyze the effect of the strategy based on the use of *developers* to promote early mycorrhization in eucalyptus plants in nurseries. Different treatments, such as cutting and surface deposition of *developer* biomass, with or without soil disturbance, were tested and compared to a control without *developers*. The results of this study show that, in nursery conditions, the presence of AMF promoted efficient colonization of eucalyptus roots, especially after the pre-installation of *developer* plants like serradella and azevém and their combination, improving nutrient absorption potential. High survival was observed in all treatments and positive evolution in plant growth, with emphasis on treatments with greater functional diversity and disturbed soil, although control plants showed greater initial growth. Despite all treatments maintaining adequate photosynthetic capacity, the more biodiverse systems tended to higher efficiency in phosphorus uptake. It is concluded that early mycorrhization strategies and careful management of the soil and *developer* plants are fundamental to optimizing the growth, resilience, and quality of *Eucalyptus globulus* in nursery conditions.



Índice

Agradecimentos.....	I
Resumo	II
Abstract.....	III
Introdução	1
Materiais e métodos.....	10
Resultados.....	16
Discussão	25
Conclusão	29
Referências Bibliográficas.....	33



Introdução

A cultura de eucalipto (*Eucalyptus globulus*) em Portugal é um fenómeno de enorme relevância histórica, económica e ambiental, com grande influência na transformação da paisagem e do tecido socioeconómico do país. Originalmente vindo da Austrália, a sua introdução no nosso país deu-se entre 1854 (Coutinho, 1886 como citado em Alves *et al.*, 2007) ou 1859 (Pimentel, 1859 como citado em Alves *et al.*, 2007) e era algo atrativo devido a características como o crescimento rápido e troncos aprumados e esguios sendo uma fonte fácil e acessível de madeira para uso nas explorações agrícolas e como combustível. Porém, a expansão do eucalipto deveu-se durante muitos anos, à curiosidade botânica em propriedades privadas sendo utilizado para o embelezamento de parques e jardins e pelas suas propriedades medicinais. O primeiro destino de produção comercial do eucalipto foi a produção de travessas de caminhos de ferro sendo as primeiras plantações com essa finalidade efetuadas pela Companhia Real dos Caminhos de Ferro Portugueses, através da instalação definitiva nas áreas reservadas das estações, casas de guarda e ao longo das linhas. Entretanto, observa-se um período em que o recurso ao eucalipto não tem aumentos importantes e só a partir da década de 1940 é que se torna numa importante fonte de matéria-prima para a produção da pasta para papel (Alves *et al.*, 2007).

À época torna-se uma espécie de grande importância em Portugal, sendo a principal matéria-prima da indústria de celulose e papel, tendo sido Portugal o pioneiro a nível mundial na utilização desta espécie para a produção de papel, devido à sua elevada capacidade produtiva em grande parte do território nacional e às excelentes propriedades da madeira para a pasta de celulose. Além da indústria papeleira, a madeira de eucalipto é utilizada na construção civil, no fabrico de postes, estacas, bem como para fins energéticos. Esta espécie também contribui para a maior e melhor produção de matéria-prima para a bioeconomia circular sendo que as respostas e soluções que podem nascer da floresta de eucalipto vão desde aditivos alimentares a biocompósitos e de biocombustíveis avançados à nanocelulose, substituindo materiais de origem fóssil em setores como embalagens, materiais de construção, têxteis, bioenergia, produtos farmacêuticos e componentes de automóveis (My Planet, 2024).

A produtividade do eucalipto depende do clima, do solo, das práticas de gestão adotadas e também do investimento em melhoramento genético e das técnicas silvícolas



aplicadas. Esta conjugação de fatores assegura a competitividade do setor e posiciona Portugal como um dos líderes europeus na produção de celulose de fibra curta (Manta *et al.*, 2021).

A nível económico a fileira do eucalipto é um importante motor da economia portuguesa, destacando-se pela criação de valor em todo o tecido socioeconómico nacional. Segundo a Biond-Associação das Bioindústrias de Base Florestal, em 2022, a fileira do eucalipto registou vendas anuais de 4.008 milhões de euros, o que representa cerca de 1,7% do PIB, sendo mais de 4.000 milhões de euros destinados á exportação e assegurando aproximadamente 5% do total das exportações portuguesas e 56% das exportações florestais. O setor é fortemente ancorado em produção nacional, com um coeficiente de Valor Acrescentado Nacional (VAN) superior a 80% nas exportações, reflexo da utilização de matérias-primas portuguesas e de mão de obra local. A The Navigator Company, por exemplo, é a terceira maior exportadora do país e aquela que mais valor acrescenta, contando com 73% de fornecedores nacionais em 2023. Portugal é então o maior produtor europeu de papel e cartão não revestido(UWF), com uma cota de 20,9% e a marca de papel “Navigator” lidera mundialmente no segmento premium de papéis de impressão e escrita. O impacto da fileira na economia rural é igualmente expressivo, promovendo anualmente a transferência direta de 325 milhões de euros para os 18 distritos do continente, abrangendo aquisições de madeira, rendas fundiárias e contratação de serviços florestais a mais de 200 empresas especializadas (Produtores Florestais, 2024).

Um dos principais desafios desta espécie está ligado aos recursos hídricos, já que os eucaliptos têm grande influência sobre os recursos hídricos subterrâneos por serem plantados em regime muito denso. Num clima quente na estação seca e numa floresta densa, a evapotranspiração é muito mais elevada do que a infiltração, o que contribui grandemente para o empobrecimento do solo em água e para uma redução significativa da mesma na zona de água subterrânea. É esta influência que é claramente corresponsável pelo desaparecimento dos caudais das nascentes (Lima *et al.*, 1998). Os dados obtidos diretamente da população reforçam a ideia de que uma floresta densa tem fortes implicações sobre os recursos hídricos, isto é, causa a diminuição ou perda total das reservas hídricas subterrâneas que dão origem às captações mais superficiais sobretudo numa zona quente e seca (Lima *et al.*, 1998). Já relativamente ao solo, as plantações de eucalipto explorados intensivamente, sobretudo em regime de talhadia, em povoamentos



de elevada densidade e em rotações curtas, conduzem a elevada imobilização de nutrientes na biomassa e nos horizontes orgânicos do solo (Poore & Fries, 1985; Florence, 1986; Hopmans et al., 1993 como citado em Madeira *et al.*, 2007). Neste regime, a continuidade do povoamento é garantida pelo aproveitamento de rebentos de parte da árvore que permanece agarrada ao solo após o abate ou de raiz como definido no Decreto-Lei nº.169/2001 de 25 de maio. Considera-se também que os eucaliptos se adaptam a solos com baixo teor de nutrientes, o que é consubstanciado pela numerosa ocorrência de simbioses radicais (micorrizas) e pelo uso de limitada quantidade de nutrientes para a produção de biomassa, em resultado de um eficiente ciclo interno de nutrientes, sobretudo no que toca ao fósforo (P) e ao azoto (N) (Crane & Raison, 1980; Florence, 1986 como citado em Madeira *et al.*, 2007). Por isso, os eucaliptos poderão melhorar a qualidade dos solos, especialmente aqueles que ocorrem em áreas degradadas (Davidson, 1985 como citado em Madeira *et al.*, 2007). Nas áreas de plantação, a produção e valores como a biodiversidade devem coexistir, podendo esta simultaneidade trazer inclusivamente benefícios à produtividade e à manutenção destas florestas tendo como exemplo a ajuda no controlo de pragas. A política europeia tem criado convenções e acordos para garantir a implementação e manutenção das boas práticas florestais tais como o o Programme for the Endorsement of Forest Certification (PEFC) e o Forest Stewardship Council® (FSC®) que consistem em certificações atribuídas por entidades independentes e adotadas voluntariamente pelas empresas, comprometendo-se estas com a gestão responsável das florestas, respeitando critérios em termos ambientais, sociais e económicos. Para garantir uma produção sustentável durante os curtos ciclos de produção de espécies como o *Eucalyptus globulus*, salvaguardando a biodiversidade e a resiliência da plantação é necessário gerir responsabilmente a floresta sendo um trabalho contínuo e que requer a presença no terreno. Dependendo do regime de exploração e da presença ou não de sobcoberto, existem características que se refletem na diversidade e complexidade florística e faunística e nas espécies observadas em dada plantação de eucalipto como por exemplo como acontece no caso da The Navigator Company, onde se aguarda 12 anos até ao primeiro corte e depois é feita uma exploração em talhadia, com um ciclo de 12 anos e de até três rotações. Em relação á flora, a preservação dos valores naturais da floresta está assegurada nos eucaliptais geridos de forma sustentável, que coexistem lado a lado em zonas de interesse para a conservação, como bosques ripícolas, manchas de vegetação autóctone, matos mediterrâneos (por exemplo medronhais) e bosques naturais, como os compostos por carvalhos, azinheiras e sobreiros



e nas plantações recentes, em que o sol incide diretamente no solo e ocorrem tojos (*Ulex europaeus*) ou urzes (*Calluna vulgaris*), espécies pioneiras importantes, estabilizando e protegendo o solo da erosão e as árvores jovens de ventos e geadas, que tinham sido anteriormente sido removidas, na preparação do terreno para a plantação. Esta vegetação aumenta a riqueza orgânica na superfície do solo, essencial para a retenção de nutrientes, reduzindo a sua perda por lixiviação e diminuindo a quantidade que percola no solo. O eucalipto permite também a criação de condições para a sucessão ecológica de outras espécies nativas, como o sobreiro e algumas espécies de carvalhos, que ocorrem dentro dos eucaliptais, caso as práticas de gestão florestal as favoreçam, bem como outras, arbustivas ou subarbustivas e espécies perenes com raízes mais profundas. Obtendo-se um solo visivelmente menos coberto mas nem por isso menos rico. Relativamente á fauna, a floresta plantada de forma uniforme convidará um leque não tão variado de espécies a nela viver, já que durante a maturação do eucaliptal, o tipo de habitat que constitui está, também ele, em evolução, impactando as espécies que passam a ocorrer neste espaço. Contudo, mesmo no início deste ciclo, representam um papel importante de interligação entre áreas de floresta natural e ainda como habitats complementares, utilizados como espécies que não ocorrem apenas em habitats abertos. Funcionam ainda como um tampão entre áreas agrícolas e florestas naturais. Com o avançar de alguns estudos dedicados ao tema em Portugal continental, realizados pela Universidade de Aveiro e pela Faculdade de Ciências de Lisboa, verifica-se que o eucaliptais são utilizados por vertebrados como veados, javalis, lebres, pequenos mamíferos entre outros e podem ter um papel na conservação sobretudo quando são mantidos espaços naturais no interior ou nas zonas limítrofes das plantações (Biodiversidade,2024). Por exemplo a raposa (*Vulpes vulpes*) utiliza os eucaliptais, sobretudo na fase madura, quando este se assemelha mais á floresta natural. Devido ao crescimento apumado dos eucaliptos e à ausência de suporte adequado à construção de ninhos, as plantações de eucalipto são pouco usadas por aves de rapina para nidificação. No entanto, a águia-de-bonelli (*Aquila fasciata*), espécie com estatuto “Vulnerável”(VU), pode utilizar grandes eucaliptos para a nidificação, assim como já pontualmente se observou com outras aves de rapina como no caso do açor (*Accipiter gentilis*) e da águia-de-asa-redonda (*Buteo buteo*). Para proteger estas espécies no período da reprodução e evitar atividades impactantes no terreno são definidas zonas tampão á volta dos ninho, definidas caso a caso. Já no caso de ecossistemas ribeirinhos, está bem documentado que a plantação de eucaliptos nas galerias ripícolas tem efeitos negativos, com impacte sobre o funcionamento destes ecossistemas, alterando a

quantidade, qualidade, sazonalidade e taxa de decomposição dos detritos e reduzindo a diversidade das comunidades de invertebrados. No entanto, as medidas de gestão florestal como a constituição de buffers de proteção a estes cursos de água onde não se promove a plantação produtiva evita este impacte negativo (Biodiversidade, 2024).

Em relação ao risco de incêndios florestais o facto de o regime de fogo não ter sido influenciado pela extensão das florestas de eucalipto do país não significa que não o venha a ser no futuro. A preocupação reside nas consequências dos mega-incêndios dos últimos anos, propiciadores de abandono do espaço rural e conducentes a paisagens florestais mais contínuas e estruturalmente mais simples. As soluções técnicas são conhecidas e implicam gestão ativa e profissional e um incremento significativo da gestão do combustível e da silvicultura preventiva (Fernandes & Guimar, 2018). A legislação portuguesa tem procurado responder a estes desafios, alternando entre períodos de liberalização e restrição de plantação. Destacam-se o Decreto-Lei nº 175/88 de 17 de maio, que criou restrições à expansão do eucaliptal em Portugal, proibindo a conversão de montados de sobro e azinho em eucaliptal e limitando a criação de grandes áreas contínuas desta espécie, com o objetivo de proteger a biodiversidade e os ecossistemas autóctones, o Decreto-Lei nº 96/2013 de 19 de julho, que estabeleceu um novo regime jurídico para a arborização e rearborização, facilitando a plantação de eucalipto ao simplificar os processos de autorização e comunicação prévia, e revogando o Decreto-Lei nº 175/88 de 17 de maio resultando num aumento significativo da área plantada com esta espécie e a por fim a Lei nº 77/2017 de 17 de agosto que alterou o Decreto-Lei nº 96/2013 de 19 de julho e reforçou as restrições à expansão do eucaliptal, proibindo novas plantações em áreas onde a espécie não existia previamente, exigindo projetos e autorizações para novas plantações e promovendo a substituição por espécies autóctones, com vista à sustentabilidade e à redução do risco de incêndio.

Os fungos micorrízicos arbusculares (AMF), pertencem ao Filo *Glomeromycota* e classe *Glomeromycetes* (glomeromicetos). São um dos principais componentes da microbiota do solo e representam uma das simbioses mais abundantes, uma vez que formam relações simbióticas com a maioria das plantas terrestres, colonizando raízes (Ceola, 2015). Este tipo de fungos proporciona uma grande variedade de benefícios para a planta hospedeira como facilitar uma maior aquisição de nutrientes, particularmente o fósforo e outros elementos de difusão lenta, pela extensa rede de micélio extra-radicular (ERM) que amplia significativamente o volume do solo explorado pelas raízes das plantas (Harrison &



Vanbuuren, 1995; Jansa *et al.*, 2003 como citado em Brito *et al.*, 2021), estar associado ao transporte de água até às raízes (Püschel *et al.*, 2020 como citado em Brito *et al.*, 2021), aumentar o vigor e o crescimento sobre stresses bióticos (por exemplo doenças transmitidas pelo solo) e abióticos (toxidade proveniente dos metais) quando bem colonizado (Brito *et al.*, 2021), alterar a regulação da expressão genética e produção de hormonas pela planta hospedeira (Cameron *et al.*, 2013; Harrison, 1999; Poulsen *et al.*, 2005 como citado em Brito *et al.*, 2021). Para além disso proporcionam benefícios indiretos como a agregação física das partículas do solo e melhoria da sua estabilidade estrutural (Rillig & Mummey, 2006 como citado em Brito *et al.*, 2021) e através do ERM proporcionam nicho de habitat para outros micróbios do solo, especialmente bactérias (Toljander *et al.*, 2008 como citado em Brito *et al.*, 2021). Quando bem instalada, a colonização micorrízica proporciona à planta hospedeira bio-proteção contra stresses bióticos e abióticos (Brito *et al.*, 2021). Todos estes benefícios contribuem para o crescimento das plantas hospedeiras permitindo um melhor e mais rápido desenvolvimento das mesmas.

Durante o processo de produção de plantas micorrizadas, diferentes espécies de fungos micorrízicos arbusculares devem ser testados em uma mesma planta, sob as mesmas condições ambientais, para seleccionar espécies fúngicas eficientes, quanto à capacidade de promover melhor crescimento vegetativo, melhoria nutricional e fitossanitária ao seu hospedeiro (Saggin Júnior & Siqueira, 1995 como citado em Lima & Sousa, 2014). Alguns autores também já constataram, em plantações de eucalipto, que a idade da planta tem influência sobre o tipo de associação micorrízica, de modo que, inicialmente, há colonização por fungos micorrízicos arbusculares substituída, progressivamente, por associações de fungos ectomicorrízicos (Mello *et al.*, 2006 como citado em Lima & Sousa, 2014). O conhecimento da eficiência simbiótica de espécies de fungos micorrízicos arbusculares, em diferentes clones de eucalipto, serve como suporte para otimizar o processo de produção de jovens plantas de eucalipto micorrizadas, visando ao melhor desenvolvimento dos clones, na fase de viveiro e consequentemente melhor estabelecimento destas plantas em campo, com vistas a reduzir as perdas, durante estas etapas, e os custos com a aplicação de fertilizantes químicos e pesticidas (Lima & Sousa, 2014).

O fungos micorrízicos arbusculares tem uma grande contribuição para o desenvolvimento de plantas no seu geral mas também em específico no caso do eucalipto como observado

pela autora Mônica Meinert em 1998 na dissertação sobre o Efeito da inoculação dos fungos micorrízico arbuscular, *Glomus clarum* (Nicol. & Schenck) e ectomicorrízico, *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker & Couch, sobre a colonização radicular, crescimento e nutrição de *Eucalyptus globulus* Labill quando os tratamentos nos quais as plantas que receberam inoculação com micorrizas arbusculares (MA), foram aquelas que apresentaram em termos gerais: plantas de eucalipto com maior altura, raízes mais longas e pesadas, melhor relação raiz/parte aérea e maior concentração de fósforo nas raízes. Assim como evidenciado por Leonardo Andrade (2023) na dissertação sobre o Potencial de utilização de Fósforo de fontes orgânicas em *Eucalyptus grandis* e *E. globulus*: Influência da micorriza arbuscular que concluiu, que *Eucalyptus globulus* destaca-se pela sua eficiência na utilização de fósforo (P) proveniente de diferentes fontes, incluindo aquelas menos solúveis. Esta capacidade superior está associada à elevada atividade de enzimas fosfatases secretadas pelas raízes, que facilitam a mineralização e absorção do fósforo. Concluiu também a importância do contributo da necromassa bacteriana, que fornece nutrientes essenciais como azoto, fósforo e carbono. Esta matéria orgânica estimula a atividade das hifas dos AMF e de outros microrganismos do solo, o que permite uma maior atividade enzimática das raízes e, conseqüentemente, a um melhor aproveitamento do fósforo disponível.

A colonização das raízes das culturas, iniciada a partir de um micélio extra-radicular (ERM) intacto previamente desenvolvido por plantas hospedeiras micotróficas (*Developers*), ocorre mais cedo e forma uma associação micorrízica geralmente mais eficaz do que quando iniciada por outros propágulos, como esporos ou fragmentos de raízes. Em condições onde a toxicidade por manganês limitava o crescimento de trigo, a presença de ERM intacto resultou numa colonização arbuscular quatro vezes superior num crescimento da planta 2,7 vezes maior em comparação com o solo perturbado em que a rede de ERM tinha sido destruída. O mesmo padrão foi observado em trevo subterrâneo, com maior taxa de colonização micorrízica, maior peso de nódulos radiculares e maior teor de azoto, sendo que o crescimento da parte aérea nestas plantas foi 4,7 vezes superior quando o ERM estava intacto do que quando tinha sido fragmentado por perturbação do solo (Brito *et al.*, 2013; Alho *et al.*, 2015), em sistemas agrícolas, o controlo químico das plantas hospedeiras (em vez da mobilização do solo) preserva o ERM e permite uma colonização mais rápida e eficiente das culturas seguintes. Estes resultados demonstram que a micorrização precoce, através da manutenção do ERM

intacto, é fundamental para maximizar os benefícios da simbiose micorrízica. Outra mais valia da micorrização precoce de AMF é a redução do choque de transplante, que consiste na redução temporária do crescimento e da vitalidade das plantas após serem removidas do local onde germinaram e estabelecidas em um novo ambiente. Isto porque ao contrário das raízes, os AMF estabilizam rápido em novos ambientes e consequentemente podem reduzir o choque de transplante através do fornecimento de água e nutrientes à planta servindo como regulador e auxiliando-a a ajustar-se a um novo solo (Huey *et al.*, 2019). Sendo esta contribuição dos AMF comprovada por estudos, como no artigo científico *Mycorrhizal Fungi Increase Growth and Reduce Transplant Injury in Avocado* cujos resultados demonstram que os abacates não micorrizados murchavam ou morriam durante o processo de transplante, ao contrário dos abacates micorrizados que, devido à micorrização, apresentaram uma maior capacidade de absorção de água e de manter a humidade adequada, tendo um desempenho significativamente maior (John *et al.*, 1978). O choque de transplante é um dos principais desafios no estabelecimento de novos povoamentos de eucalipto, representando uma causa recorrente de perdas e insucesso na fase inicial das plantações. Este fenómeno é principalmente causado devido a mudanças ambientais enfrentadas pela planta e à limitação temporária do sistema radicular até se estabilizar no novo solo, comprometendo a absorção de água, nutrientes e resistência ao stress (Close *et al.*, 2005). A importância de utilizar a população nativa de fungos micorrízicos arbusculares (AMF) reside na sua elevada biodiversidade e adaptação ao ecossistema local, conferindo vantagens face aos inóculos micorrízicos comerciais. Solos florestais pouco perturbados apresentam comunidades de AMF mais diversificadas, capazes de estabelecer relações simbióticas eficazes e funcionais com as plantas, melhorando a absorção de nutrientes, a tolerância ao stress e a defesa contra patógenos. Preservar e promover a microbiota nativa do solo potencia a adaptação das plantas e maximiza os benefícios da micorrização dos eucaliptais.

Brito *et al* (2021) desenvolveram uma estratégia inovadora baseada na utilização de plantas hospedeiras micotróficas (*Developers*), para promover a formação de uma rede de micélio extra-radicular (ERM) no solo antes da instalação da cultura principal. Esta abordagem consiste em cultivar previamente plantas como *Ornithopus compressus* e *Lolium rigidum*, e posteriormente eliminar a vegetação por via química ou corte, sem mobilização do solo, de modo a preservar o ERM intacto.



O objetivo da investigação e trabalho realizado é analisar o efeito da estratégia descrita em Brito *et al.* (2021), na micorrização precoce de plantas de eucalipto produzidas em viveiro. Em termos práticos, antes da instalação da estacaria de eucalipto, promove-se no solo o desenvolvimento da rede de micélio extra-radicular (ERM) de fungos micorrízicos arbusculares (AMF), pelo crescimento prévio de uma planta micotrófica (*Developer*). Ao emitir as primeiras raízes, a planta de eucalipto será mais precocemente colonizada pelos AMF, o que lhe poderá conferir uma série de vantagens comparativas, nomeadamente a redução do choque de transplante. Serão comparadas as plantas de eucalipto na presença ou ausência de uma rede de ERM previamente desenvolvida por plantas de serradela ou uma mistura de serradela e de azevém, comparando os efeitos dessa associação no desenvolvimento das plantas. Neste estudo foram avaliados os seguintes parâmetros: taxa de colonização micorrízica dos *Developers*, parâmetros fisiológicos das plantas de eucalipto que refletem o seu potencial fotossintético, peso seco da parte aérea e altura das plantas, peso fresco e comprimento das raízes e por fim taxa de colonização micorrízica dos *developers* e do eucalipto e foram definidos os seguintes tratamentos, tendo cada um a sua função e objetivo:

Serradela/Corte/solo perturbado (SCD): Avaliou o efeito da introdução da leguminosa e da perturbação do solo na dinâmica dos AMF e nutrientes.

Serradela/Corte/solo não perturbado (SCU): Permitiu estudar o impacto da leguminosa em solos estáveis e manutenção de comunidades nativas de AMF.

Serradela+Azevém/Corte/ solo perturbado (SLCD): Testou o efeito da diversidade funcional perante a perturbação do solo na promoção e diversidade das AMF.

Serradela+Azevém/Corte/solo não perturbado(SLCU): Analisou o efeito sinérgico da diversidade de plantas e solo estável nas comunidades de AMF.

Controlo: Serviu como referência, avaliando o impacto dos outros tratamentos na biologia do solo e crescimento do eucalipto.

Este trabalho, realizado no âmbito da unidade curricular Trabalho Final, consiste na compilação de dados, experiência e conhecimento que tive a oportunidade de ao longo de vários meses ir adquirindo através do estágio que se realizou no Departamento de Biologia, no polo da Mitra da Universidade de Évora com orientação da professora Doutora Isabel Brito.

Materiais e métodos

Seguindo a estratégia de Brito et al. (2021) antes da instalação das estacas de eucalipto procedeu-se ao crescimento das plantas *Developers*, espécies micotróficas semeadas antes da cultura principal com o objetivo de estimular e manter uma rede ativa de micélio extra-radicular de AMF no solo, facilitando a colonização rápida e eficiente das raízes logo que se desenvolvam a partir da estaca de eucalipto.

A Figura 1 ilustra o delineamento experimental utilizado no estudo. Tendo sido instalados cinco tabuleiros, cada um com 60 alvéolos correspondentes a cada um dos cinco tratamentos distribuídos da seguinte forma:

- Dois tabuleiros com Serradela
- Dois tabuleiros com Serradela + Azevém
- Um tabuleiro de Controlo

Esta organização dos tabuleiros é essencial e é definida de modo a que se possa comparar os vários tipos de tratamentos em condições variadas. Sendo essa a razão para existirem dois tabuleiros de serradela e dois de serradela+lollium, permitindo que cada um represente um nível diferente de perturbação do solo. Um dos tabuleiros de cada *developer* será submetido a perturbação do solo após o crescimento inicial das plantas o que pode promover a alteração da comunidade de fungos micorrízicos, sendo fundamental para perceber o efeito dessa perturbação na recuperação dos AMF. Os restantes tabuleiros permaneceram não perturbados, mantendo intacta a estrutura do solo e o tabuleiro de controlo permaneceu não perturbado e sem qualquer tipo de plantação, servindo de referência para avaliar a influência das práticas sem mobilização nem plantação de *developers* na preservação da biodiversidade de AMF.

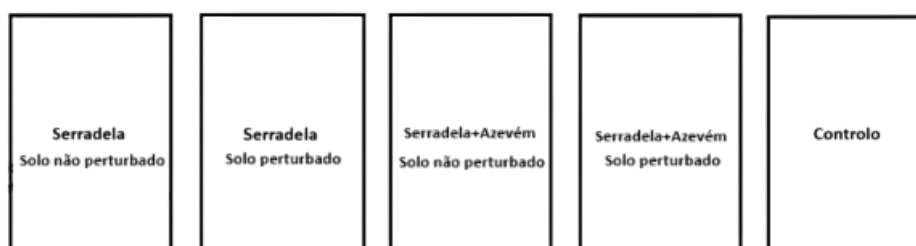


Figura 1:Esquema dos tabuleiros

Esta definição dos tabuleiros, portanto, permite estudar comparativamente:

- O efeito da perturbação do solo (perturbado vs. não perturbado)
- O impacto da diversidade funcional de plantas (leguminosa vs. leguminosa+gramínea)
- O papel de sistemas sem plantas (controlo).

A serradela (*Ornithopus compressus* L.) sendo uma leguminosa, fixa azoto atmosférico, melhora a fertilidade do solo e é altamente eficiente na promoção da atividade dos AMF, criando uma rede de micélio densa e funcional. O azevém (*Lolium multiflorum*), por sua vez, contribui para a estruturação física do solo e para a manutenção da rede micorrízica, protegendo o solo da erosão e mantendo a atividade do micélio. A combinação serradela+azevém potencia a diversidade funcional do inoculo micorrízico presente no solo uma vez que cada espécie vegetal se liga preferencialmente a determinadas espécies de AMF (Torrecillas *et al.*, 2012), assegurando uma micorrização precoce e eficiente e oferece sinergias que promovem uma maior produtividade, resiliência e sustentabilidade do sistema florestal, criando condições ideais para o desenvolvimento vigoroso do eucalipto nas fases iniciais do seu ciclo produtivo.

O primeiro passo deste trabalho consistiu na obtenção de plântulas de serradela e de azevém. Assim, no dia 14 de fevereiro de 2025 as sementes de serradela e azevém foram colocadas a germinar. Como ilustrado nas Figuras 1 e 2, para a germinação em laboratório foi utilizando papel de cozinha humedecido num tabuleiro de metal. É fundamental criar um ambiente controlado, livre de contaminantes e com humidade constante, fatores cruciais para a ativação metabólica das sementes e a avaliação precisa da sua viabilidade. Este método facilita a observação direta do processo germinativo, o que é crucial para garantir a qualidade antes da plantação tendo as seguintes etapas:

1. Num tabuleiro realizou-se uma “cama” com várias folhas de papel de cozinha;
2. Foi embebido em água destilada como demonstrado na Figura 1 pois é a disponibilidade de água que ativa o processo germinativo.

3. Aplicaram-se as sementes aleatoriamente mas com um espaço mínimo entre elas para que se pudessem desenvolver e posteriormente serem retiradas sem danificar as radículas.(Figuras nº2 e 3).



Figura 2:Passo 1 e 2
Fonte: Mariana Sereia



Figura 3:Tabuleiro com sementes de serradela
Fonte: Mariana Sereia



Figura 4:Tabuleiro com sementes de azevém
Fonte: Mariana Sereia

As Figuras 5 e 6 mostram o tamanho das plântulas antes do seu transplante. Quatro dias depois, a 18/02/2025, procedeu-se á crivagem do solo e á realização da mistura 1:1 de solo crivado e do substrato utilizado pela Navigator para o enraizamento das estacas de eucalipto. A mistura foi introduzida nos alvéolos com o cuidado de usar no fundo um tampão feito com papel de cozinha para evitar a fuga da mistura e de água. Prepararam-se 5 tabuleiros com 60 alvéolos cada. No dia seguinte, com os tabuleiros preparados foram colocadas as plântulas de serradela e azevém com o auxílio de pinças e extremo cuidado devido á fragilidade das plantas neste estado inicial (Figuras 7,8 e 9).



Figura 5: Sementes de serradela germinadas.
Fonte: Mariana Sereia



Figura 6:Sementes de azevém germinadas.
Fonte :Mariana Sereia



Figura 7:Plantação da serradela e do azevém
Fonte: Mariana Sereia



Figura 8: Serradela plantada
Fonte: Mariana Sereia



Figura 9: Serradela e azevém plantados
Fonte: Mariana Sereia

No dia 26/3/2025, 5 semanas e 6 dias depois da germinação no intuito da realização da taxa de colonização micorrizica dos *developers*, efetuou-se a colheita de 12 plantas e a sua preparação prévia, que consiste na separação das raízes das partes aéreas (Figuras 10, 11 e 12). Procedendo-se então á coloração das raízes seguindo o método de Philips e Hayman 1970. Este método inicia-se com a lavagem e corte das raízes em pequenos segmentos, que são, em seguida, despigmentados com uma solução de Hidróxido de Potássio (KOH) 10%, na autoclave a 121°C durante 10 minutos (Figura 13), facilitando a observação dos fungos. Após passar as cassetes por água, aplica-se o corante azul de Tripiano 0,1% que vai a banho maria a 70°C durante 15 minutos (Figura 14), evidenciando as estruturas micorrízicas como hifas, vesículas e arbúsculos. O excesso de corante é removido e as amostras são conservadas em glicerol (Figura 15), sendo então observadas ao microscópio para identificar e quantificar a colonização micorrízica. Este procedimento é particularmente importante nesta fase do processo, porque permite confirmar se as plantas dos *developers* possuem uma comunidade de fungos micorrízicos arbusculares bem estabelecida antes da plantação do eucalipto, que é a cultura principal. Avaliar a taxa de colonização prévia é crucial para garantir que o solo e as plantas estão a promover a rede simbiótica necessária ao sucesso da micorrização do eucalipto. Só com este diagnóstico é possível relacionar, de forma fundamentada, as condições iniciais do sistema com os resultados observados no desenvolvimento futuro do eucalipto, validando o efeito dos diferentes tratamentos e práticas de gestão do solo.



Figuras 10, 11 e 12: Preparação das raízes para o início do procedimento

Fonte: Acervo pessoal



Figura 13: Células em Hidróxido de Potássio (KOH) 10%
Fonte: Mariana Sereia



Figura 14: Células a corar em Azul Typano 0,1%
Fonte: Mariana Sereia

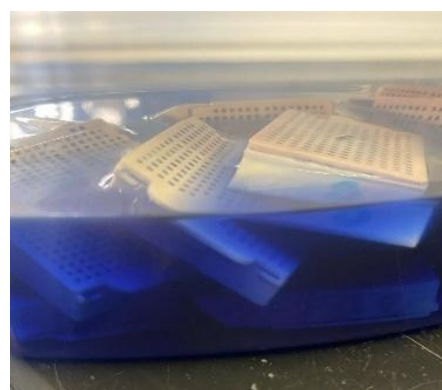


Figura 15: Células conservadas em Glicerol
Fonte: Mariana Sereia

Os *Developer* foram periodicamente regados e mantidos em crescimento durante semanas. No dia 3/4/2025, 6 semanas e alguns dias depois da germinação, em metade dos tabuleiros o solo foi retirado dos alvéolos e crivado (4mm) (Figura 16), de forma a quebrar rede de ERM previamente desenvolvida no solo pelas plantas *Developer*. Depois de crivado, o solo foi novamente colocado nos alvéolos e a parte aérea do *Developer* destruída é deixada à superfície, tal como aconteceu no tratamento em que o solo não foi perturbado (Figura 17 e 18).



Figura 16: Esvaziamento dos alvéolos
Fonte: Mariana Sereia



Figura 17: Solo perturbado
Fonte: Mariana Sereia



Figura 18: Corte da parte aérea dos *developers*
Fonte: Mariana Sereia

No dia 8/4/2025 procedeu-se à instalação das estacas de eucalipto (*E. globulos*, clone G1202) (Figuras 19 e 20), entretanto fornecidas pelo viveiros da Navigator Company. O primeiro passo foi o humedecimento do solo para a melhor adaptação da estacaria de eucalipto e logo em seguida a plantação cuidadosa da mesma.



Figura 19: Estacaria de eucalipto
Fonte: Mariana Sereia



Figura 20: Estacas de eucalipto plantadas
Fonte: Mariana Sereia

A partir do momento que a plantação foi concluída, foi necessário um cuidado acrescido com a rega e a que condições a que a estacaria estaria exposta. Um dos cuidados prestados, que já sido prestado também para os *Developers*, foi a conservação dos tabuleiros numa estufa, que ao ativar um sistema de refrigeração assim que se atingisse 25 graus, protegia as plantas dos efeitos das altas temperaturas. Outro aspeto essencial foi a rega, com que foi necessário um cuidado especial e sempre que possível realizada com água desmineralizada, sendo essencial que as folhas estivessem o maior tempo possível húmidas tendo a rega dois passos: a rega dos alvéolos e a pulverização dos mesmos.

Para melhorar que o processo de desenvolvimento das estacas do eucalipto não estivesse limitado pela disponibilidade de nutrientes, no dia 3/6/2025, 8 semanas após a plantação, foram adicionadas as quantidades regularmente utilizadas para plantas em viveiro de adubo (Osmocote Bloom) em cada alvéolo, sendo este essencial devido à sua razão NPK de 2: 1: 3 promovendo o crescimento compacto e saudável das plantas.

No dia 8 de julho, 13 semanas após a plantação, realizou-se a medição dos parâmetros fotossintéticos das plantas de eucalipto como a clorofila, o FV e o Pi através dos equipamentos Chlorophyll Content Meter model CL-01 da marca Hansatech Instruments e do Pocket PEA Chlorophyll Fluorimeter da mesma marca. Após a medição de todos os parâmetros necessários procedeu-se ao esvaziamento dos alvéolos, descarte do excesso de solo, separação da parte aérea e da raiz, armazenamento das raízes em recipientes com

água e sacos de plástico e por fim a medição e o armazenamento da parte aérea das plantas em cartuchos de papel .

Já no laboratório, as raízes foram encaminhadas diretamente para o frigorífico para evitar perdas de água por evaporação ou decomposição. Isto porque o frio permite manter intacto o teor de humidade original, garantindo que o valor registado como "peso fresco" corresponde efetivamente à quantidade real de água e biomassa no momento da colheita. Já a parte aérea foi inserida na estufa para garantir a remoção completa de toda a água por evaporação sob temperatura controlada (65°C). Só assim é possível determinar o chamado "peso seco", que corresponde exclusivamente à matéria orgânica e mineral, sem o efeito variável da humidade.

Ao longo dos dias, foi realizada a lavagem, medição e pesagem das raízes de todos os tratamentos, assim como a pesagem da parte aérea das plantas dos mesmos. Com todas estas etapas realizadas, dia 10 de julho realizou-se a coloração das raízes de eucalipto, permitindo que dia 14 se iniciasse a observação ao microscópio das raízes coradas e se desse início da realização da taxa de colonização das raízes de eucalipto.

Para a realização das análises estatísticas foi utilizado o programa SPSS e os testes Post-Hoc (Turkey).

Resultados

Para avaliar o vigor das plantas de eucalipto, dia 15/5 cerca de 5 semanas da sua plantação, definiram-se 3 classes: Classe 0: planta morta, Classe 1: Estado intermédio (duvidosa) e Classe 2: plantas vivas ou mais desenvolvidas.



Figura 21: Classe 0: Planta morta
Fonte: Mariana Sereia



Figura 22: Classe 1: Estado intermédio (duvidosa)
Fonte: Mariana Sereia



Figura 23: Classe 2: plantas vivas ou mais desenvolvidas
Fonte: Mariana Sereia

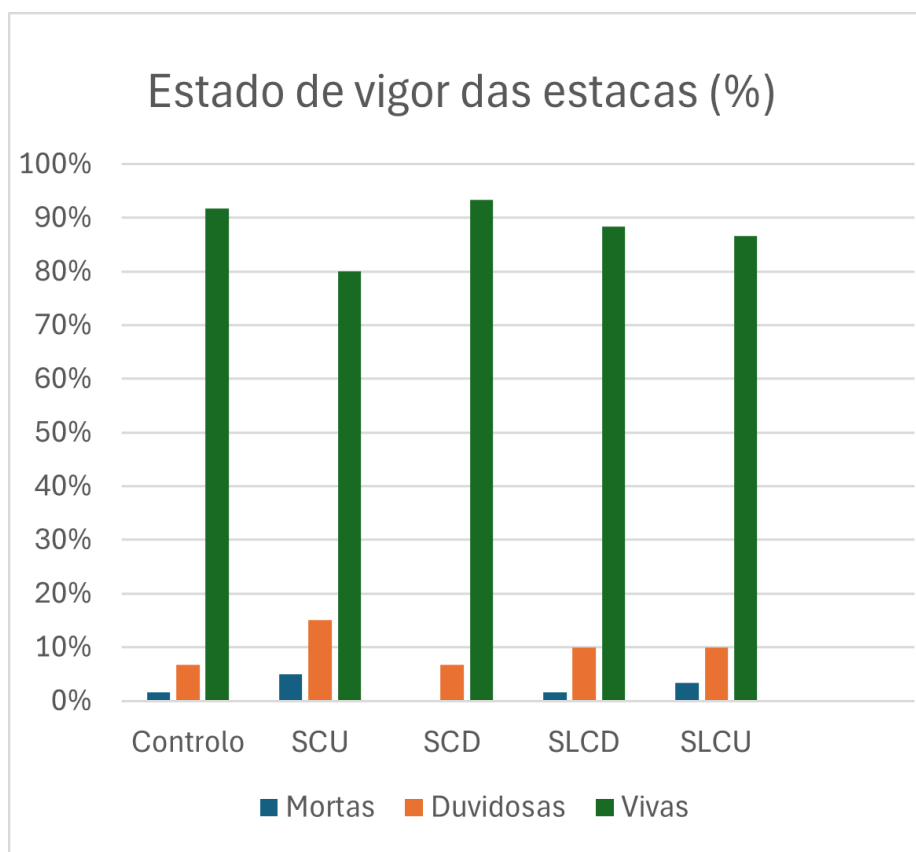


Figura 24: Estado de vigor das estacas de eucalipto com cerca de 5 semanas de plantação de acordo com 3 classes: Classe 0: planta morta, Classe 1: Estado intermédio (duvidosa) e Classe 2: plantas vivas ou mais desenvolvidas

No dia 13/6/2025, cerca de 9 semanas, após a plantação da estacaria de eucalipto foi feita uma avaliação de desenvolvimento das plantas, considerando 3 classes: Classe 0: planta morta, Classe 1: planta com rebento até 1cm e por fim a Classe 2: planta com rebentos superior a 1cm, como mostrado nas Figuras 22,23,24 e 25.



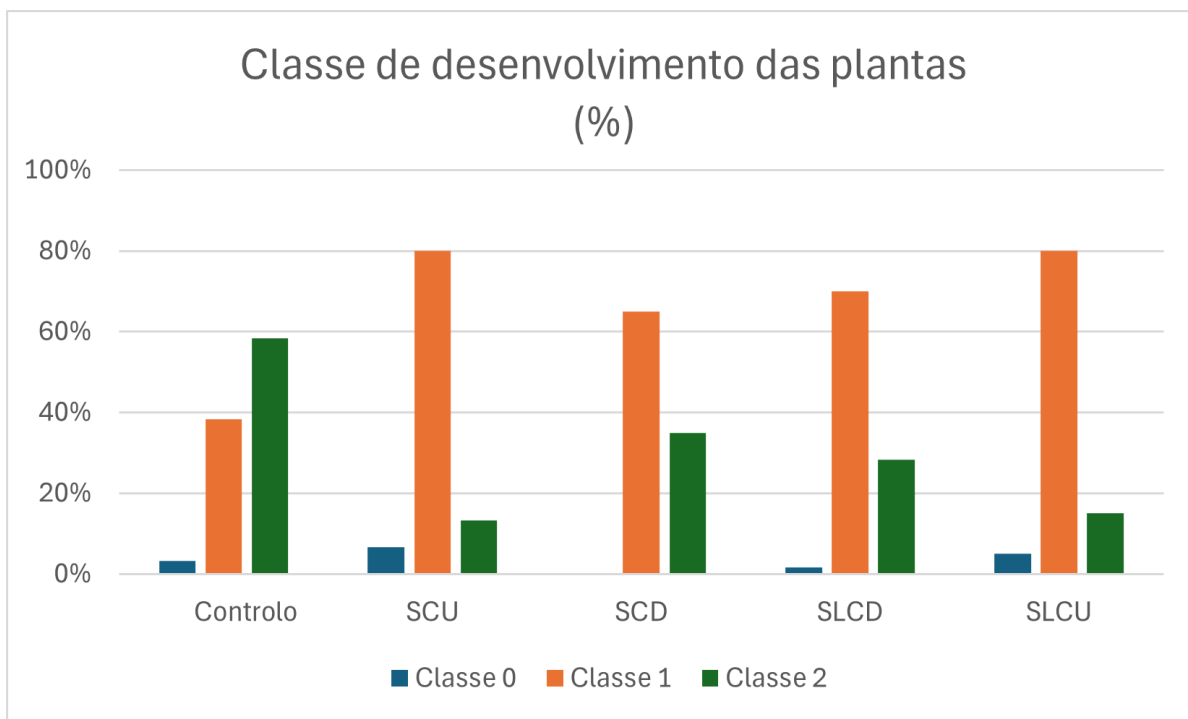
Figura 25: Classe 0: Planta morta
Fonte: Mariana Sereia



Figuras 26 e 27: Classe 1: Planta com rebento até 1cm
Fonte: Mariana Sereia



Figura 28: Classe 2 : Planta com rebentos superior a 1cm
Fonte: Mariana Sereia



Figuras 29: Desenvolvimento das estacas de eucalipto 9 semanas após instalação, de acordo com 3 classes de crescimento: Classe 0: planta morta, Classe 1: planta com rebento até 1 cm e Classe 2: planta com rebentos superior a 1 cm

No dia 7/7/2025, 13 semanas após a plantação da estacaria, com o intuito de estudar e ter conhecimento da evolução das plantas ao longo do tempo, foi novamente avaliado o desenvolvimento das plantas.

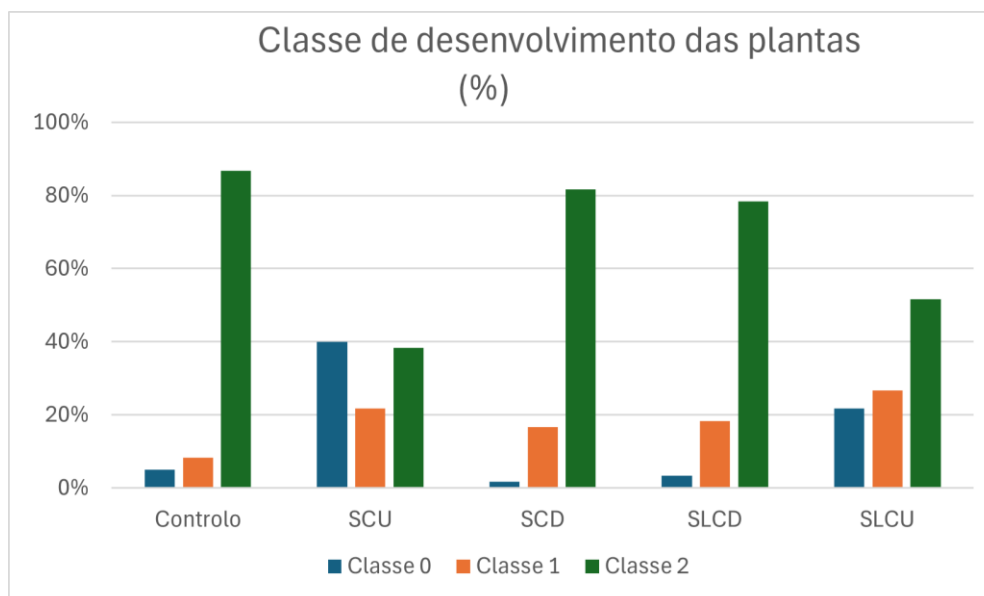


Figura 30: Classe de desenvolvimento das plantas de eucalipto em percentagem realizada 13 semanas após a plantação, de acordo com 3 classes de crescimento: Classe 0: planta morta, Classe 1: planta com rebento até 1 cm e Classe 2: planta com rebentos superior a 1 cm

No momento do levantamento dos *developers*, estes demonstraram-se colonizados sendo a taxa de colonização arbuscular da serradela 26 % e a do azevém 25%. Esta colonização prévia, comprovada por valores significativos de taxa de colonização nas raízes dos *developers*, assegura a presença de uma rede ativa de micélio extra-radicular (ERM) no solo como pretendido.

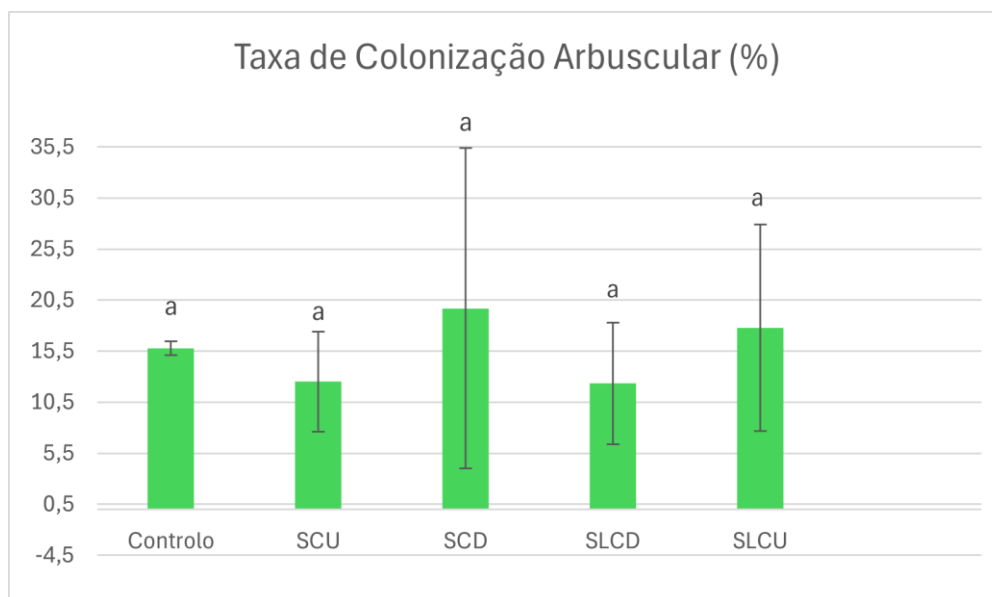


Figura 31 – Taxa de colonização arbuscular nas plantas de eucalipto com 3 meses em percentagem. C-Controlo; SCU-Serradela/Corte/Solo não perturbado; SCD-Serradela/Corte/Solo perturbado; SLCD-Serradela+Azevém/Corte/Solo perturbado; SLCU-Serradela+Azevém /Corte/Solo não perturbado. Letras diferentes nas colunas dos gráficos indicam diferenças estatisticamente significativas ($p \leq 0,05$).

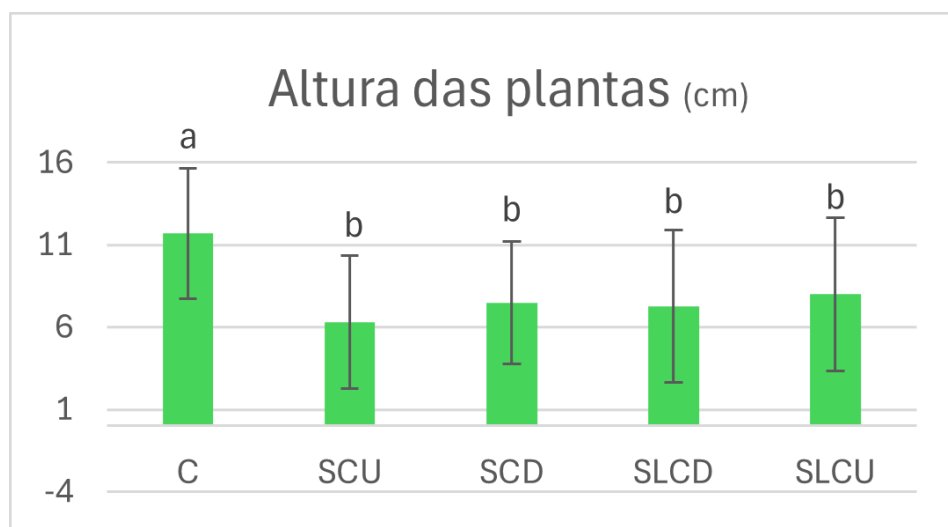


Figura 32 -Altura das plantas de eucalipto com 3 meses. C-Controlo; SCU-Serradela/Corte/Solo não perturbado; SCD-Serradela/Corte/Solo perturbado; SLCD-Serradela+Azevém/Corte/Solo perturbado; SLCU-Serradela+Azevém /Corte/Solo não perturbado. Letras diferentes nas colunas dos gráficos indicam diferenças estatisticamente significativas ($p \leq 0,05$).

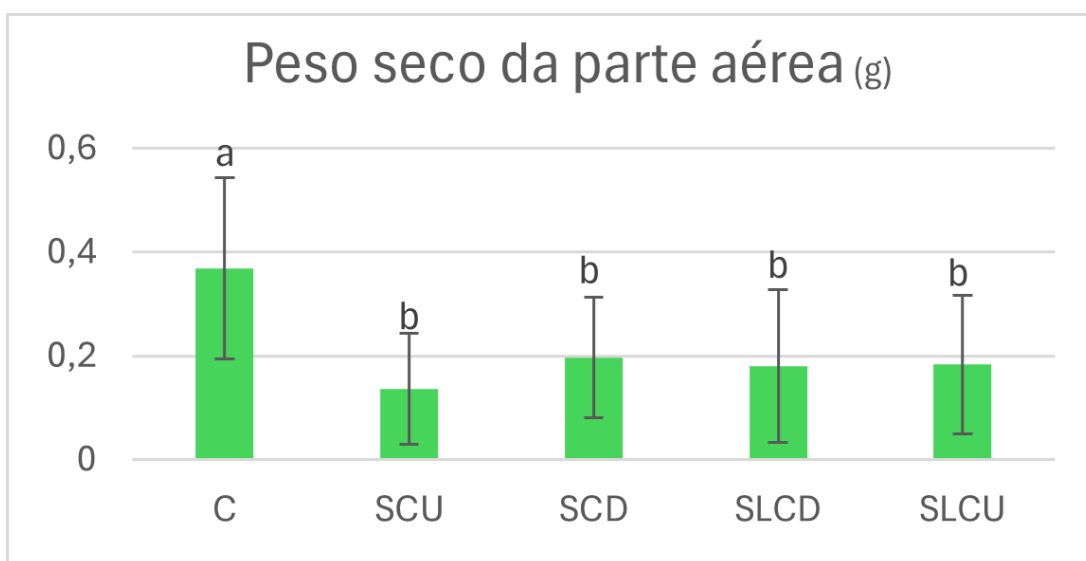


Figura 33 -Peso seco da parte aérea das plantas de eucalipto com 3 meses. C-Controlo; SCU-Serradela/Corte/Solo não perturbado; SCD-Serradela/Corte/Solo perturbado; SLCD-Serradela+Azevém/Corte/Solo perturbado; SLCU-Serradela+Azevém /Corte/Solo não perturbado. Letras diferentes nas colunas dos gráficos indicam diferenças estatisticamente significativas ($p \leq 0,05$).

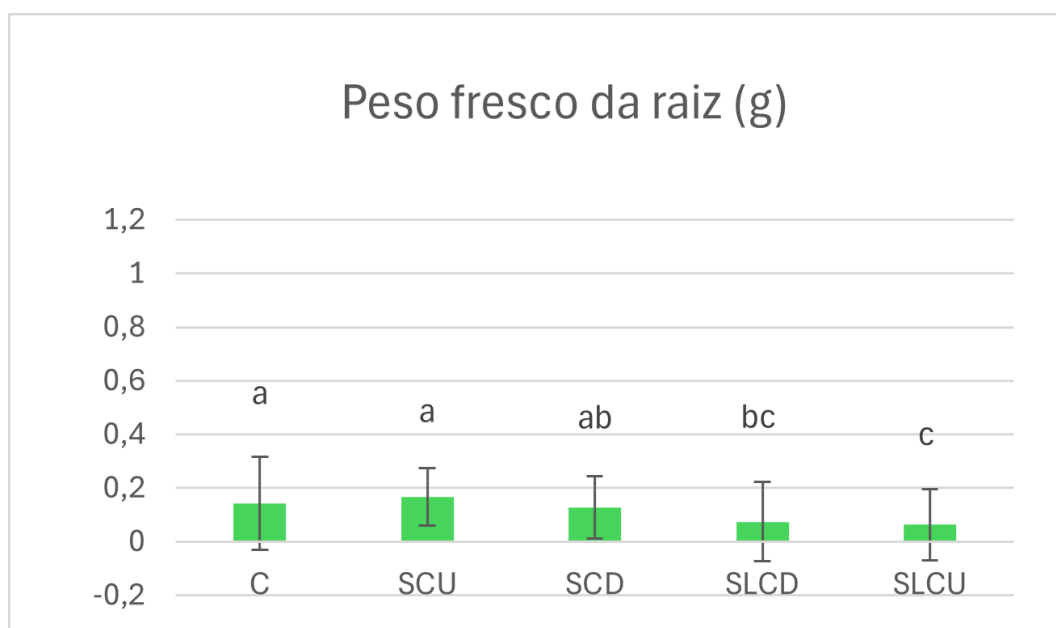


Figura 34 -Peso fresco das raízes das plantas de eucalipto com 3 meses. C-Controlo; SCU-Serradela/Corte/Solo não perturbado; SCD-Serradela/Corte/Solo perturbado; SLCD-Serradela+Azevém/Corte/Solo perturbado; SLCU-Serradela+Azevém /Corte/Solo não perturbado. Letras diferentes nas colunas dos gráficos indicam diferenças estatisticamente significativas ($p \leq 0,05$).

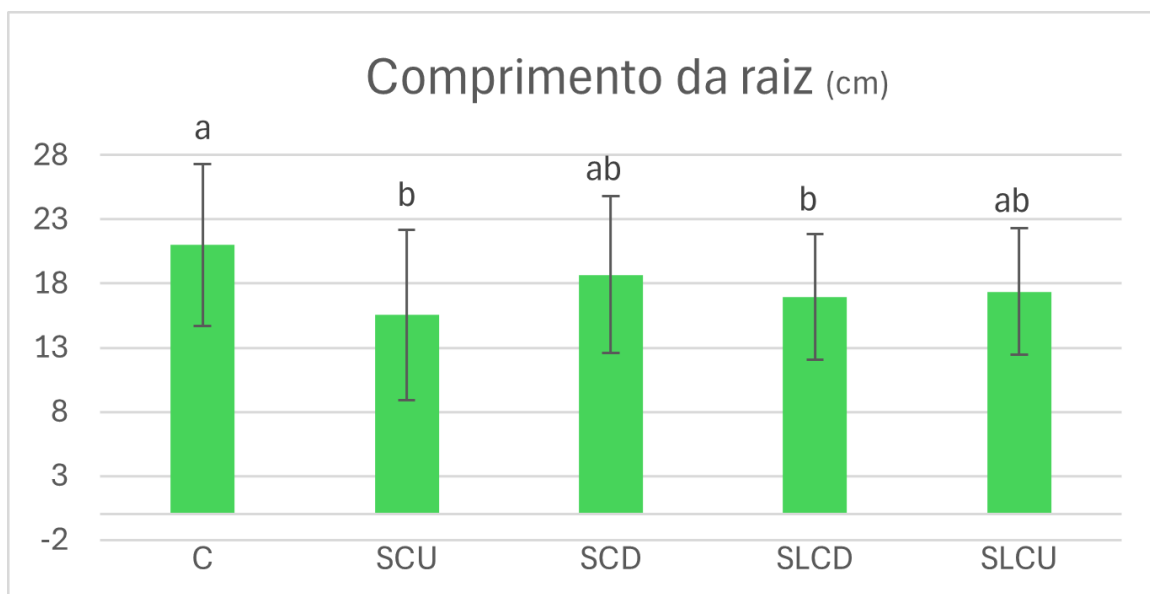


Figura 35 – Comprimento da raiz das plantas de eucalipto com 3 meses.

C-Controllo; SCU-Serradela/Corte/Solo não perturbado; SCD-Serradela/Corte/Solo perturbado; SLCD-Serradela+Azevém/Corte/Solo perturbado; SLCU-Serradela+Azevém /Corte/Solo não perturbado. Letras diferentes nas colunas dos gráficos indicam diferenças estatisticamente significativas ($p \leq 0,05$).

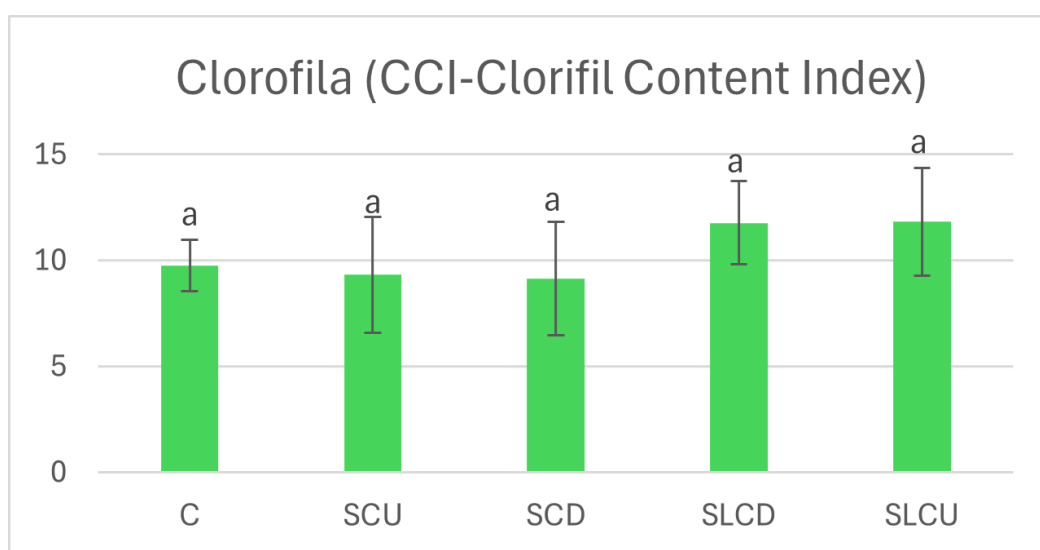


Figura 36 – Medição da clorofila nas plantas de eucalipto com 3 meses. C-Controllo; SCU-Serradela/Corte/Solo não perturbado; SCD-Serradela/Corte/Solo perturbado; SLCD-Serradela+Azevém/Corte/Solo perturbado; SLCU-Serradela+Azevém /Corte/Solo não perturbado. Letras diferentes nas colunas dos gráficos indicam diferenças estatisticamente significativas ($p \leq 0,05$).

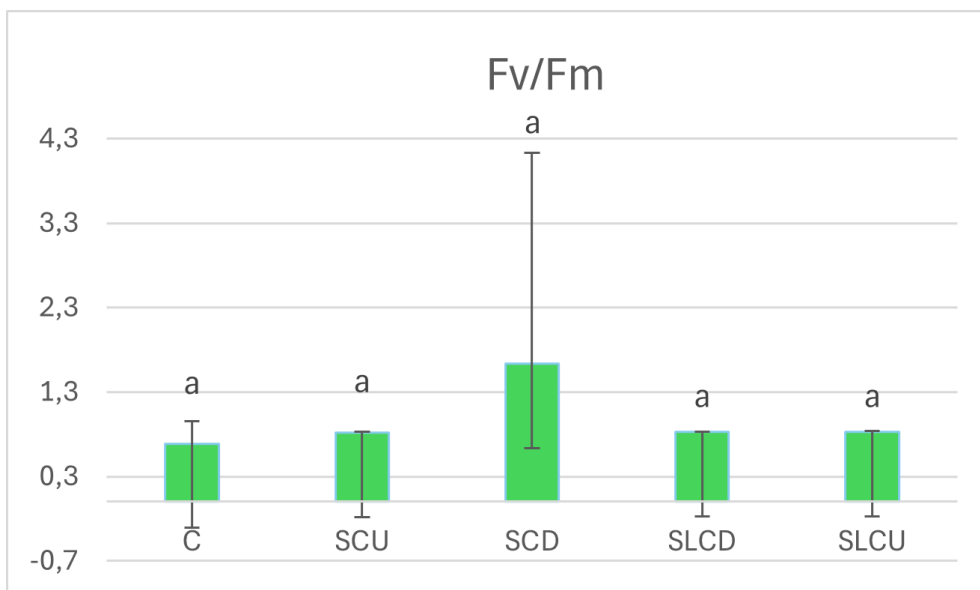


Figura 37 – Medição de FV/FM nas plantas de eucalipto com 3 meses.

C-Controllo; SCU-Serradela/Corte/Solo não perturbado; SCD-Serradela/Corte/Solo perturbado; SLCD-Serradela+Azevém/Corte/Solo perturbado; SLCU-Serradela+Azevém /Corte/Solo não perturbado. Letras diferentes nas colunas dos gráficos indicam diferenças estatisticamente significativas ($p \leq 0,05$).

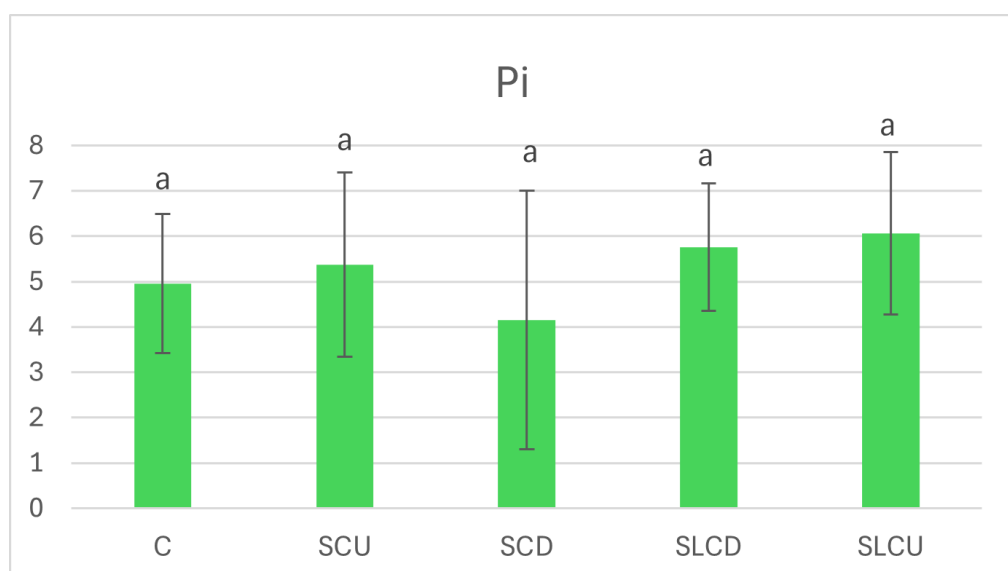


Figura 38 – Medição de Pi nas plantas de eucalipto com 3 meses. C-Controllo; SCU-Serradela/Corte/Solo não perturbado; SCD-Serradela/Corte/Solo perturbado; SLCD-Serradela+Azevém/Corte/Solo perturbado; SLCU-Serradela+Azevém /Corte/Solo não perturbado. Letras diferentes nas colunas dos gráficos indicam diferenças estatisticamente significativas ($p \leq 0,05$).

O gráfico (Figura 24) mostra que, cinco semanas após a plantação, o vigor das estacas de *Eucalyptus globulus* era globalmente elevado em todos os tratamentos, com uma clara maioria de plantas classificadas como vivas e mais desenvolvidas (Classe 2), sempre acima de 80%, chegando a ultrapassar 90% no Controlo, SCD e SLCD. As estacas consideradas duvidosas (Classe 1) representam uma fração muito pequena, sendo mais notórias no SCU. A percentagem de plantas mortas (Classe 0) foi residual em todos os regimes, mostrando que a sobrevivência foi excelente. Estes resultados evidenciam que tanto o controlo como os diversos tratamentos proporcionaram ótimas condições de arranque, sendo que a grande maioria das estacas revelou elevado vigor, sinal de boa adaptação e capacidade de crescimento logo nas primeiras semanas, independentemente do tratamento adotado.

Relativamente à classe de desenvolvimento das plantas, no gráfico referente ao dia 13/6 9 semanas e 3 dias após a plantação (Figura 29), observa-se que, nos diferentes tratamentos (SCD, SCU, SLCU, SLCD, controlo), a maioria das plantas está classificada em Classe 1. A presença de plantas na Classe 2 é reduzida na maioria dos tratamentos, com exceção do tratamento Controlo, onde se destaca um valor maior nesta classe, indicando um vigor inicial mais elevado neste regime. A Classe 0 aparece em proporção mínima em todos os tratamentos. Já no gráfico referente ao dia 7/7 13 semanas após a plantação (Figura 30), verifica-se uma mudança significativa na distribuição das classes de desenvolvimento, existindo um aumento notório da percentagem de plantas na Classe 2 em todos os tratamentos, especialmente evidente em SCD, SLCD e Controlo. Consequentemente, a Classe 1 reduz a sua expressão comparativa à medição anterior, refletindo a progressão das plantas para estádios de maior crescimento e a Classe 0 mantém-se residual em todos os tratamentos, o que confirma que poucas plantas permaneceram com crescimento limitado.

Na taxa de colonização arbuscular do eucalipto (Figura 31), o tratamento SCD exibe o valor mais elevado de colonização, mas não tem diferenças estaticamente significativas com os restantes tratamentos, como o SCU e o SLCD que apresentam valores ligeiramente inferiores ao SCD. Já os tratamentos controlo e SLCU apresentam valores de colonização próximos dos restantes tratamentos. Ou seja, apesar da variação numérica observada entre os tratamentos, estas diferenças não são suficientemente consistentes para serem consideradas significativas do ponto de vista estatístico.

Na altura das plantas (Figura 32), o tratamento controlo apresentou o maior valor de altura, destacando-se estatisticamente de todos os outros tratamentos.. Já os tratamentos com *developers*, SCU, SCD, SLCD e SLCU apresentaram todos valores semelhantes entre si, sendo significativamente inferiores ao controlo. No peso seco da parte aérea (Figura 33), novamente o controlo revelou o maior valor, sendo significativamente superior. Todos os outros tratamentos (SCU, SCD, SLCD e SLCU) apresentaram valores estatisticamente iguais entre si, com médias inferiores à do controlo. Esta diferença foi estatisticamente significativa, separando claramente o controlo dos demais tratamentos, enquanto os tratamentos com *developers* não diferiram entre si neste parâmetro. Para o peso fresco da raiz (Figura 34), o resultado foi mais heterogêneo verificando-se que os tratamentos controlo e SCU apresentaram os maiores valores e não houve diferença significativa entre eles, o SCD ficou num valor intermédio, não diferindo estatisticamente nem dos valores maiores, nem do SLCD que teve valor inferior, situando-se entre os desempenhos moderados e o SLCU apresentou o menor valor, sendo significativamente inferior aos tratamentos C e SCU. Desta forma, observa-se diferença estatística relevante entre os extremos (C/SCU e SLCU), existindo posições intermédias para SCD e SLCD. No parâmetro do comprimento da raiz (Figura 35), o tratamento controlo voltou a apresentar o maior valor, evidenciando-se entre os outros tratamentos. O SCD e SLCU apresentaram valores intermédios, não diferindo significativamente do controlo nem dos valores menores. SCU e SLCD tiveram os menores comprimentos de raiz e com médias significativamente inferiores às do controlo. Ou seja, houve clara separação entre o maior valor (C), valores intermédios (SCD, SLCU) e menores valores (SCU, SLCD). No gráfico do índice de clorofila (CCI) (Figura 36), entre os tratamentos (C, SCU, SCD, SLCD e SLCU), não existem diferenças estatisticamente significativas entre eles, já que todos os valores são equivalentes do ponto de vista estatístico. O mesmo se observa para os resultados da eficiência fotossintética (F_v/F_m) (Figura 37), onde se observa a ausência de diferenças significativas entre os tratamentos, mesmo que haja aparente variabilidade, especialmente em SCD. Por fim, no gráfico do índice Pi (Figura 38) todos os tratamentos voltam a não se registar diferenças estatísticas relevantes entre os cinco tratamentos analisados.

Discussão

Em todos os parâmetros medidos observou-se uma grande variabilidade de resultados o que deu grande desvios padrão. Talvez uma análise por classes pudesse minimizar este efeito. Um maior tempo de crescimento das plantas de eucalipto também permitiria certamente acentuar diferenças entre tratamentos, que agora se relevam apenas como tendência pelo que a continuação do ensaio por um período mais prolongado seria desejável.

O gráfico relativo ao estudo do vigor da plantação das estacas de eucalipto (Figura 24), demonstra que a sobrevivência e o vigor inicial das estacas de *Eucalyptus globulus* foram elevados em todos os tratamentos, independentemente do regime experimental. Estes resultados explicam-se pelo ambiente de viveiro favorável, pela qualidade das estacas e pela adequada gestão da rega e nutrientes, que minimizaram o stress e favoreceram o desenvolvimento das plantas.

A análise dos dois gráficos de classe de desenvolvimento do *Eucalyptus globulus* evidencia a evolução do crescimento das plantas ao longo do tempo para cada tratamento. Na primeira avaliação (13/6) (Figura 29), predominavam as plantas na Classe 1 (rebentos até 1 cm) em todos os tratamentos, especialmente em SCU e SLCU, enquanto as de Classe 2 (rebentos superiores a 1 cm) eram menos frequentes, com exceção no controlo, que também apresentava poucas em plantas em Classe 0 (plantas mortas). Na segunda avaliação (7/7) (Figura 30), observa-se uma clara transição em todos os regimes: aumentou de forma expressiva o número de plantas em Classe 2, principalmente nos tratamentos SCD, SLCD e controlo, enquanto a Classe 1 se reduziu substancialmente e a Classe 0 permaneceu residual. Isto significa que entre as duas datas houve o crescimento visível das plantas, associando-se a um progresso positivo no desenvolvimento em maioria dos tratamentos. Já o SCU manteve uma maior proporção de plantas na Classe 1, revelando uma resposta mais lenta em termos de alongamento dos rebentos.

A taxa de colonização dos *developers* serradela e azevém indicam que as raízes apresentam um nível elevado de colonização AMF. Um valor elevado de colonização demonstra que o sistema radicular destas plantas conseguiu estabelecer uma simbiose vigorosa com a comunidade nativa de AMF presente no solo.

Desta simbiose resulta:

- Maior capacidade de absorção de nutrientes, em especial fósforo.

- Potencial para enriquecimento do solo graças ao efeito positivo dos *developers* sobre a atividade microbiológica e sobre o ciclo de azoto.
- Melhoria na estrutura e fertilidade do solo, o que é benéfico para culturas subsequentes como o *Eucalyptus globulus*

O elevado nível de colonização nesta fase inicial confirma que o tratamento cumpriu o seu objetivo principal de impulsionar e manter populações funcionais de AMF, capazes de beneficiar não só os próprios *developers*, mas também de promover uma rede micorrízica eficiente para o eucalipto a instalar posteriormente.

A análise da taxa de colonização micorrízica em *Eucalyptus globulus* (Figura 31), reflete a interação entre o tipo de manejo do solo, a presença e diversidade das plantas *developers* e as características do solo original no estabelecimento da simbiose micorrízica. Embora os valores médios de colonização apareçam visualmente distintos, todos os tratamentos (Controlo, SCU, SCD, SLCD e SLCU) não apresentam diferenças estatisticamente significativas. O gráfico mostra que o SCD apresenta a maior taxa de colonização micorrízica do eucalipto, mas também evidencia o desvio padrão mais elevado, sugerindo grande variabilidade entre amostras. Este padrão pode ser interpretado no sentido da presença inicial da serradela ter promovido um enriquecimento temporário da comunidade de fungos micorrízicos no solo, aumentando as populações e diversidade funcional desses organismos. Quando a serradela foi retirada e o solo perturbado, ficaram disponíveis muitos propágulos e estruturas micorrízicas residuais, que facilitaram uma rápida recolonização das raízes de eucalipto. No entanto, a ausência da planta hospedeira após a perturbação e as diferenças individuais entre as plantas de eucalipto resultaram numa reestruturação heterogénea da comunidade de AMF, explicando assim a grande amplitude dos valores de colonização observados (refletida pelo desvio padrão acentuado). Portanto, este cenário demonstra que práticas como a introdução e remoção de leguminosas, aliadas à mobilização do solo, podem estimular a colonização micorrízica do eucalipto, mas de forma variável entre plantas. O tratamento com o segundo maior resultado de colonização micorrízica foi SLCU. Este resultado confirma a estratégia da forte influencia da utilização de *developers* na formação de ERM, que quando mantido intacto, favorece a colonização da planta seguinte. A presença de *developers* diversificados sendo que a utilização conjunta de serradela (leguminosa) e lolium (gramínea) favorece o desenvolvimento de uma comunidade de fungos micorrízicos mais diversificada já que cada espécie de *developer* estimula grupos

diferentes de AMF, enriquecendo a rede de micélio extra-radicular (ERM) no solo, o que amplia as oportunidades para colonização das raízes do eucalipto. Isto garante que, ao serem instaladas as plantas de eucalipto, estas encontrem um ambiente com maior diversidade de AMF e um rede de ERM intacta, prontas para colonizar rapidamente as jovens raízes de eucalipto. Também o controlo, sem plantas *developers* nem perturbação, apresenta uma taxa de colonização elevada, indicando que o solo contém uma comunidade nativa de fungos micorrízicos suficientemente ativa para colonizar o eucalipto mesmo sem suporte adicional de cobertura vegetal prévia. Este aspeto confirma o potencial natural do solo. De seguida estão presentes os tratamentos SCU e SLCD que apresentam os menores valores de colonização. No tratamento SCU que consistiu no uso exclusivo da serradela como *developer*, seguida de corte e sem perturbação de solo, o baixo valor de taxa de colonização pode explicar-se devido à baixa diversidade funcional de AMF pois essa limitação na diversidade de plantas *developer* traduz-se numa comunidade de AMF menos variada, o que pode comprometer a oferta de propágulos eficazes e bem adaptados para estabelecer simbiose com o eucalipto. No entanto, como a diversidade de espécies fúngicas é mais restrita, as raízes do eucalipto são colonizadas de forma eficiente, porém com menor potencial de exploração simultânea por diferentes tipos de AMF, o que pode limitar tanto a taxa de colonização como os benefícios funcionais da simbiose. Por fim, no tratamento SLCD a sua baixa taxa de colonização pode se justificar sobretudo pela perturbação do solo. Após o corte dos *developers*, a mobilização física do solo fragmenta e redistribui a rede de micélio extra-radicular (ERM) previamente formada. Embora isso possa espalhar propágulos fúngicos pelo volume do solo, também pode desestabilizar a comunidade fúngica, resultando em perda de continuidade das redes simbióticas e menor eficiência na colonização imediata das raízes recém-emergidas do eucalipto.

Em relação à altura das plantas (Figura 32), ficou evidente que o tratamento controlo liderou com os maiores valores médios, distinguindo-se estatisticamente dos tratamentos com plantas *developers*, que ficaram agrupados num patamar mais baixo. Esse resultado pode ser atribuído à ausência de competição inicial com *developers*, possibilitando ao eucalipto o aproveitamento total dos recursos do solo desde o início do desenvolvimento, o que acelera o crescimento em altura nas fases iniciais do ensaio. Nos tratamentos com *developers* (SCU, SCD, SLCD, SLCU) a necessidade de adaptação ao novo ambiente microbiano do solo eventualmente mais ativo, retarda o crescimento vertical, ainda que

possa trazer benefícios fisiológicos e de resiliência a médio prazo. O peso seco da parte aérea (Figura 33), seguiu o mesmo padrão da altura: o tratamento controlo alcançou o maior valor médio, destacando-se de forma estatisticamente significativa dos tratamentos com plantas *developer*. O crescimento da parte aérea sem competição, permite uma maior acumulação de reservas e estrutura foliar, características vantajosas para o estabelecimento inicial. Nos tratamentos com a necessidade de dividir nutrientes com as plantas preexistentes, aliada à adaptação simbiótica do sistema radicular, canaliza recursos muitas vezes para funções de defesa, simbiose e crescimento radicular, retardando a acumulação de peso seco na parte aérea. Apesar da suplementação com adubo de libertação lenta, esta pode não ter sido suficiente para colmatar a depleção de nutrientes ocorrida nos tratamentos em que houve crescimento prévio dos *developers*. Relativamente ao peso fresco da raiz das plantas (Figura 34), os tratamentos controlo e o SCU apresentaram os maiores valores de peso fresco da raiz, indicando que não existe diferença significativa entre eles e que ambos são superiores relativamente aos restantes tratamentos no parâmetro analisado. O maior peso fresco da raiz nestes tratamentos revela que, em ambientes menos competitivos, o eucalipto intensifica o crescimento radicular como compensação, maximizando a absorção de água e nutrientes de forma direta. O SCD apresenta um valor intermédio, significando que, estatisticamente, não se diferencia dos mais elevados (controlo e SCU), mas também não é igual aos valores mais baixos dos outros tratamentos. O tratamento SLCU apresentou o menor valor de peso fresco, o que poderá estar associado à micorrização mais intensa que evidenciou e que reduz a dependência do eucalipto de grandes massas radiculares, permitindo que a planta obtenha nutrientes de forma mais eficiente por via da rede micorrízica, com menor exigência de crescimento radicular próprio, e desta forma canalizar recursos para o crescimento da parte aérea da planta.



Figura 35: Tabuleiro com um dos tratamentos, evidenciando a grande variabilidade de crescimento das plantas dentro do mesmo tratamento

Nos resultados 1 (Figura 35) o

tratamento controlo destacou-se com os valores significativamente superiores aos restantes tratamentos. A ausência de competição de plantas *developers* permite ao eucalipto desenvolver raízes mais extensas, maximizando sua exploração do solo. A presença de uma rede de ERM já estabelecida, reduz a pressão seletiva para a expansão extensiva das raízes, tornando a planta mais eficiente sem necessitar de alcançar grandes extensões de solo. Para os indicadores fisiológicos, índice de clorofila (CCI) (Figura 36), eficiência fotossintética (Fv/Fm) (Figura 37) e índice de performance (Pi) (Figura 28) não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos. Todos os regimes apresentaram valores semelhantes, inseridos dentro da faixa considerada ótima para plantas saudáveis de eucalipto. Ainda assim, os tratamentos que conservaram maior diversidade funcional do solo, como o SLCU e, em tendências menos pronunciadas, o SLCD, apresentaram ligeiras elevações nos valores de CCI e Pi, indicando potencial benefício da variedade de AMF na eficiência metabólica das plantas. Também a eficiência fotossintética Fv/Fm manteve-se dentro dos valores típicos para plantas sem stresse, porém com alguma variabilidade individual, principalmente no tratamento SCD, reflexo da maior flutuação criada pela perturbação do solo e reorganização simbiótica pós-*developer*. O Pi, sensível à eficiência global do metabolismo fotossintético, reforça que ambientes simbióticos mais diversos favorecem, ainda que sem significância estatística, respostas fisiológicas mais robustas.

Conclusão

Ao longo das diferentes fases do ensaio, foi possível validar um conjunto de aspetos que refletem quer os benefícios esperados, quer resultados inesperados, sendo ambos cruciais para o avanço do conhecimento prático e científico na área da silvicultura sustentável.

Os resultados deste trabalho confirmam o papel fundamental dos AMF na fisiologia do *E. globulus* e mostra a estratégia de Brito *et al.* (2021) quando foi usada uma mistura de *developers* (Azevém e Serradela). Atendendo à elevada taxa de colonização micorrízica nas raízes das plantas de azevém e serradela, confirmou-se a sua utilidade como plantas *developer*. O tratamento SLCU resultou em plantas de eucalipto com maior taxa de colonização, comprovando a contribuição de *developers* na evolução e crescimento das plantas e demonstrando que esta contribuição aumenta no uso da conjugação de dois

developers neste caso serradela+azevém, quando aliado à não perturbação do solo. As análises microscópicas demonstraram que esta estratégia assegura uma comunidade ativa de AMF nas plantas de eucalipto produzidas em viveiro e desta forma aumentar a potencial sobrevivência das plantas após transplante, assim como a absorção de nutrientes essenciais, em particular fósforo, e aumentar a saúde e robustez da planta desde uma fase inicial de instalação no campo.

No entanto, um dos resultados não esperados foi o crescimento excecional das plantas de eucalipto no tratamento controlo, ou seja, em solo sem plantas *developer* nem mobilização. Apesar da ausência de práticas intencionais para promover a micorrização, as plantas do controlo apresentaram as maiores médias de altura, peso seco da parte aérea e comprimento de raiz. Este resultado pode ser parcialmente atribuído à competição inicial por nutrientes imposta pelas plantas *developer* nos outros tratamentos, mas também sublinha a capacidade do solo, mesmo sem intervenção, de manter uma biodiversidade de AMF suficientemente eficaz para garantir boa colonização do eucalipto e bons níveis de crescimento. Isto constitui um alerta para a importância de conhecer e valorizar o estado de base dos solos, já que nalguns contextos florestais a riqueza dos AMF nativos pode, por si só, ter um efeito relevante no arranque e evolução inicial das plantas.

Outro resultado digno de análise prende-se com a expressão dos tratamentos com solo perturbado, nomeadamente SCD e SLCD. Nestas condições, apesar da perturbação ter como objetivo criar oportunidades de colonização menos eficientes para os AMF (por via da fragmentação do solo), observou-se, por vezes, uma grande variabilidade nos desempenhos das diferentes réplicas, sobretudo em SCD, que apresentou valores de colonização muito altos mas também desvios-padrão acentuados. A explicação possível para este fenómeno reside em dois fatores: a presença temporária de grandes quantidades de propágulos viáveis de AMF, deixados pela serradela e pela sua combinação com o azevém, antes da perturbação e uma reestruturação heterogénea das comunidades fúngicas, que pode favorecer algumas plantas e penalizar outras durante a fase de estabilização. Apesar disso, ficou claro que a estratégia de promover um pico de biomassa micorrízica, seguido de uma perturbação controlada, pode ser eficaz para acelerar a colonização micorrízica do eucalipto, sobretudo em solos cuja comunidade nativa não apresenta uniformidade ou elevada densidade de AMF.

No SCU, a utilização exclusiva da serradela como planta *developer* favoreceu uma taxa de colonização micorrízica eficiente mas francamente abaixo dos máximos alcançados no estudo. A simbiose foi estável e homogénea, reflexo da preservação da rede de micélio formada pelas raízes da leguminosa. Contudo, a limitação a uma única espécie de *developer* restringiu a diversidade funcional dos fungos micorrízicos, o que se traduziu em ganhos moderados no apoio ao eucalipto. Já no SLCU, a combinação de serradela e lolium como *developers*, também sem perturbação do solo, resultou numa das mais elevadas taxas de colonização, com grande homogeneidade entre as plantas analisadas. A diversidade funcional ampliada permitiu a formação de uma comunidade de AMF variada e complementar, elevando o potencial de simbiose e promovendo colonização rápida e eficiente. Este regime mostrou ainda tendência para melhor desempenho fisiológico, resultado da sinergia entre a preservação da rede extra-radicular e a variedade dos AMF potenciados.

Relativamente aos parâmetros estudados, o maior crescimento em altura e peso seco da parte aérea observado no controlo confirma que, na ausência de competição ou interação simbiótica induzida, o eucalipto explora intensamente os recursos disponíveis e expressa todo o seu potencial genético. No entanto, essa vantagem inicial pode ser efémera e menos relevante para a resiliência futura da cultura, já que não beneficia da formação de uma estrutura simbiótica adaptativa. Nos tratamentos com *developers* (SCU, SCD, SLCD, SLCU), a necessidade de competirem nos primeiros estágios com plantas pré-existentes introduz uma limitação temporária ao crescimento vertical e à acumulação de biomassa aérea. No entanto, essa limitação inicial é compensada pelo estímulo à formação de redes micorrízicas robustas, que aumentam a eficiência na absorção de nutrientes, cenário especialmente evidente na redução do peso fresco e do comprimento das raízes em sistemas mais biodiversos, como no SLCU. Essas plantas tornam-se fisiologicamente mais eficientes, pois dependem menos do crescimento radicular próprio, beneficiando da exploração do solo pela rede de fungos micorrízicos.

Por fim, a manutenção de níveis estáveis e elevados de clorofila, Fv/Fm e Pi em todos os tratamentos reflete a saúde geral e o equilíbrio fisiológico das plantas, sem prejuízo do desempenho fotossintético. A ligeira tendência para melhores indicadores nesses parâmetros em sistemas biodiversos (notavelmente SLCU) corrobora que a diversidade funcional de AMF suporta um metabolismo foliar mais eficiente e resiliente das plantas de eucalipto bem micorrizadas.

Em suma, estes resultados evidenciam que, embora a ausência de competição ofereça ganhos incrementais imediatos ao crescimento, é a combinação entre diversidade funcional, manutenção da estrutura simbiótica do solo e adaptação inicial que melhor prepara o *Eucalyptus globulus* para desafios futuros, promovendo sistemas florestais mais sustentáveis e vigorosos.

A validação experimental de que a presença de um ERM intacto, resultante do crescimento prévio de *developers*, favorece uma colonização mais rápida e homogênea da cultura principal, já nas primeiras semanas após transplante, suporta a adoção operacional desta abordagem em viveiros e plantações. Demonstrou-se ainda que os solos não perturbados, manejados sem mobilização severa e enriquecidos com leguminosas e gramíneas de ciclo curto, conservam comunidades nativas de AMF com elevada biodiversidade, qualidade funcional e adaptabilidade ecológica, superando o desempenho obtido apenas com inóculos comerciais.

A nível de implicações práticas, recomenda-se que, sempre que possível, sejam evitadas mobilizações agressivas do solo após produção de *developers*, dando preferência ao corte e deposição superficial da biomassa, e que se aposte em *developers* regionais adaptados às comunidades de AMF autóctones. A integração contínua desta estrutura funcional do solo com práticas de fertilização racional e gestão ecológica da matéria orgânica trará benefícios duradouros em produtividade, resiliência e sustentabilidade, minimizando gastos desnecessários com fertilizantes e combatendo a degradação dos solos florestais.

Evidencia-se, ainda, a necessidade de adaptar a gestão dos sistemas de produção de eucalipto à especificidade dos solos e à variabilidade regional dos AMF. Futuros trabalhos deverão analisar em detalhe o efeito de diferentes clones de eucalipto, de combinações mais diversas de cobertura e de regimes de irrigação, de modo a refinar a aplicação das técnicas de micorrização precoce no terreno e a medir o impacto ao longo de todo o ciclo florestal.

De forma global, este estudo permitiu concluir que:

- Os fungos micorrízicos arbusculares são aliados-chave para o vigor, nutrição, resiliência e adaptação do *Eucalyptus globulus* desde a fase de viveiro.
- A micorrização precoce, assente em práticas de desenvolvimento de ERM através de plantas *developer*, contribui para o estabelecimento em viveiro de plantas com maior potencial para enfrentar choque de transplante.

- A diversidade natural de AMF presente em solos pouco perturbados supera em eficiência, adaptabilidade e benefício ecológico os inóculos comerciais, geralmente constituídos por apenas uma ou duas espécies de AMF.

Em resumo, a promoção ativa de comunidades micorrízicas funcionais, com apoio de práticas de *developers* bem implementadas, emerge como um pilar essencial para a competitividade, sanidade e sustentabilidade ecológica do setor do eucalipto em Portugal, respondendo de modo integrado às pressões de produtividade, proteção ambiental e eficiência no uso dos recursos naturais.

Em próximos estudos seria de considerar estudar a evolução após transplante de plantas de eucalipto produzidos desta forma assim como testar outro tipo de plantas Developer.

Referências Bibliográficas

Alho, L., Carvalho, M., Brito, I., Goss, M.J. - The effect of arbuscular mycorrhiza fungal propagules on the growth of subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.) under Mn toxicity in ex situ experiments. *Soil Use and Management*. 31, 337–344. <https://doi.org/10.1111/sum.12183>

Alves, A.M., Pereira, J.S., & Silva, J.M.N. (2007). A introdução e a expansão do eucalipto em Portugal. In Alves, A.M., Pereira, J.S., & Silva, J.M.N (Eds.), *O Eucalipto em Portugal: Impactes Ambientais e Investigação Científica* (pp.14-24). ISAPress.

Andrade, L.S. (2023). *Potencial de utilização de fósforo de fontes orgânicas em Eucalyptus grandis e E. globulus: Influência da micorriza arbuscular* [Dissertação de mestrado, Universidade Estadual de Campinas].

Brito, I., Carvalho, M., & Goss, M.J. (2013a). Soil and weed management for enhancing arbuscular mycorrhiza colonization of wheat. *Soil Use and Management*, Vol. 29, Issue 4, pp. 540-546.

Brito, I., Carvalho, M., Alho, L., Caseiro, M., & Goss, M.J. (2013b). Practical exploitation of mycorrhizal fungi in agricultural systems. *Aspects of Applied Biology* 121, *Rethinking Agricultural Systems in the UK*

Brito, I., Goss, M.J., Alho, L., Brígido, C., van Tuinen, D., Félix, M.R., & Carvalho, M. (2019). Agronomic management of AMF functional diversity to overcome biotic and abiotic stresses- The role of plant sequence and intact extraradical mycelium. *Fungal Ecology*, Vol. 40, pp. 72-81. <http://hdl.handle.net/10174/26020>



Brito,I.,Carvalho,M., & Goss,M.J.(2021). Managing the functional diversity of arbuscular mycorrhizal fungi for the sustainable intensification of crop production. *Plants, People, Planet*, Vol.3(Nº5),pp. 491- 505. <http://dx.doi.org/10.1002/ppp3.10212>

Cameron, D. D., Neal, A. L., van Wees, S. C. M., & Ton, J. (2013). Mycorrhiza- induced resistance: More than the sum of its parts? *Trends in Plant Sciences*, 18, pp.539– 545. <https://doi.org/10.1016/j.tplan ts.2013.06.004>

Ceola,G.(2015).*Biogeografia e diversidade de fungos micorrízocos arbusculares em cenários contrastantes de uso do solo e de regime hídrico*-Tese de Douturamento,Universidade do Estado de Santa Catarina & Universidade de Coimbra.

Coutinho, A. X. P. (1886). Curso de Silvicultura (1ªed). Tipografia da Academia Real das Ciências Lisboa.

Crane, W. J. B., & Raison, R. J. (1980). Removal of phosphorus in logs when harvesting Eucalyptus delegatensis and Pinus radiata forest on short and long rotations. *Australian Forestry*,(Nº43),pp.253-260.

Davidson, J. (1985). Setting aside the idea that Eucalyptus are always bad. Working paper Nº 10. *Assistance to the Forestry Sector of Bangladesh* (Project BGD/79/017). Roma: FAO.

Decreto-Lei n.º 175/88, de 17 de maio, *Diário da República n.º 114- Série I*.

Ministério da Agricultura,Pescas e Alimentação. Lisboa

Decreto-Lei nº169/2001 de 25 de maio, *Diário da República n.º 121/2001, Série I*.
Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas. Lisboa

Decreto-Lei nº 96/2013 de 19 de julho, *Diário da República n.º 138/2013-Série I*.
Ministério da Agricultura, do Mar, do Ambiente e do Ordenamento do Território. Lisboa

Fernandes,P., & Guiomar,N.(2018). A expansão do eucalipto alterou o regime de incêndios em Portugal?. *Cultivar: Cadernos de Análise e Prospetiva*,(nº14),pp.45-52.

Florence, R. G. (1986). Cultural problems of Eucalyptus as exotics. *Commonwealth Forest Revue*, Vol.65, (Nº2), pp.141-163.



Harrison, M. J., & Vanbuuren, M. L. (1995). A phosphate transporter from the mycorrhizal fungus *Glomus versiforme*. *Nature*, 378, pp.626–629. <https://doi.org/10.1038/378626a0>.

Harrison, M. J. (1999). Molecular and cellular aspects of the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Annual Review of Plant Physiology and Plant. Molecular Biology*, 50, pp. 361–389. <https://doi.org/10.1146/annur.ev.arplant.50.1.361>

Hopmans, P., Stewart, H. T. L., & Flinn, D. W. (1993). Impacts of harvesting on nutrients in a eucalypt ecosystem in Southeastern Australia. *For. Ecol. Manag.*, Vol. 59, (pp.29-51)

Huey, C.J., Gopinath, S.C.B., Uda, M.N.A., Zulhaimi, H.I., Jaafar, M.N., Kasim, F.H., & Yaakub, A.R.W. (2020). Mycorrhiza: a natural resource assists plant growth under varied soil conditions. *3 Biotech*. 10. 10.1007/s13205-020-02188-3.

Jansa, J., Mozafar, A., & Frossard, E. (2003). Long- distance transport of P and Zn through the hyphae of an arbuscular mycorrhizal fungus in symbiosis with maize. *Agronomie*, 23, 481– 488. <https://doi.org/10.1051/agro:2003013>.

John, A., Menge, R., Davis, M., Johnson, E. L. V & Zentmyer. (1978). Mycorrhizal Fungi Increase Growth and Reduce Transplant Injury in Avocado. *California Agriculture*, 32(4), pp 6-7.

Lei nº 77/2017 de 17 de agosto, *Diário da República n.º 158— série I*. Assembleia da República. Lisboa.

Lima, H., Chambel, A., Alves, J., & Francisco, P. (1998, março 23-27) Impacte da cultura de eucaliptos sobre os recursos hídricos subterrâneos da Serra de Ossa. In Silva, E. J., Pinheiro, A. N., Pais, C., West, C. A., Santos, M. A., Gamboa, M., Borges, O., Reis, P. C., & Estevão, A. (Org). *A Água como Recurso Estruturante do Desenvolvimento*. Atas do 4º Congresso da Água, Lisboa.

Lima, F. S., & Sousa, C. S. (2014). Crescimento e nutrição de mudas de clones de eucalipto inoculadas com fungos micorrízicos. *Pesquisa Agropecuária Tropical (PAT)*, Vol. 44, (nº2), pp. 110-118.

Madeira, M., Cortez, N., Azevedo, A., Magalhães, M. C., Ribeiro, C., & Fabião, A. (2007). As plantações de eucalipto e o solo. In Alves, A. M., Pereira, J. S., & Silva, J. M. N (Eds.), *O Eucaliptal em Portugal: Impactes Ambientais e Investigação Científica* (pp.). ISAPress



Marques,C., Borralho,N., Neto,N., Neto,C.P., Lé,J. (2021).As plantações de eucalipto e os recursos naturais em Portugal:Avanços recentes e desafios para o futuro.In Pestana,M(Ed.), As plantações de eucalipto e os recursos naturais em Portugal:avanços recentes e desafios. (pp.1-7) Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária.

Meinert,M.(1998). *Efeito da inoculação dos fungos micorrízico arbuscular, Glomus clarum (Nicol. & Schenck), e ectomicorrízico, Pisolithus tinctorius (Pers.) Coker & Couch, sobre a colonização radicular, crescimento e nutrição de Eucalyptus globulus Labill* [Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina].

MELLO, A. H. et al. (2006).Fungos arbusculares e ectomicorrízicos em áreas de eucalipto e de campo nativo em solo arenoso. *Ciência Florestal*, v. 16, (nº3), pp. 293-301,.

Philips,J..M., & Hayman,D.S.(1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*,Vol.55,issue 1,pp.158-161.

Pimentel, C. S. (1884). Eucalipto Globulus: Descrição, Cultura e Aproveitamento D’Esta Árvore(2ªed). Typografia Universal,Lisboa.

Poore, D., & Fries, C. (1985). The Ecological Effects of Eucalyptus. *Forestry Paper*, nº 59. Rome: FAO

Produtores Florestais.(2024) A floresta plantada nacional é um importante polo estratégico da economia do País.*Especial Eucalipto: Explore os segredos da árvore emblemática que molda paisagens, impulsiona a economia e preserva a natureza. Conheça o papel vital do eucalipto na floresta nacional e as inovações sustentáveis que permite*,Nº14,(pp.4-7)

https://produtoresflorestais.pt/wpcontent/uploads/2024/07/PF14_AF_br.pdf

Poulsen, K. H., Nagy, R., Gao, L.- L., Smith, S. E., Bucher, M., Smith, E. A., & Jakobsen, I. (2005). Physiological and molecular evidence for Pi uptake via the symbiotic pathway in a reduced mycorrhizal colonization mutant in tomato associated with a compatible fungus. *New Phytologist*, 168, 445– 454. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01523.x>.

Püschel, D., Bitterlich, M., Rydlová, J., & Jansa, J. (2020). Facilitation of plant water uptake by an arbuscular mycorrhizal fungus: A Gordian knot of roots and hyphae. *Mycorrhiza*, 30(2–3),pp. 299–313



- Radich, M. C. (1994). Uma exótica em Portugal. *Ler História*, (Nº 25), pp. 11-26
- Rillig, M. C., & Mummey, D. L. (2006). Mycorrhizas and soil structure. *New Phytologist*, 171, pp. 41– 53. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01750.x>.
- SAGGIN JÚNIOR, O. J.; SIQUEIRA, J. O. (1995). Avaliação da eficiência simbiótica de fungos endomicorrízicos para o cafeeiro. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 19, (n.º2), p. 221-228.
- The Navigator Company.(2024). *A biodiversidade ao longo do ciclo de produção do eucaliptal*. Biodiversidade. https://biodiversidade.com.pt/biohistorias/a-biodiversidade-ao-longo-do-ciclo-de-producao-do-eucaliptal/?fbclid=IwY2xjawLXR2tleHRuA2FlbQIxMAABHmIsEXV6qAWU8E1cZ15iNOZIMNfoAT5vBhNc-ovui4auCASIOsD0QNK1Dr_L_aem_BuVQWEsEz2MRyHXgPULPLg
- The Navigator Company.(2024). *Um novo mundo de bioprodutos*. My Planet. <https://myplanet.pt/um-novo-mundo-de-bioprodutos/>
- Toljander, J. F., Santos- Gonzalez, J. C., Tehler, A., & Finlay, R. D. (2008). Community analysis of arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria in the maize mycorrhizosphere in a long- term fertilization trial. *FEMS Microbiology Ecology*, 65, 323– 338. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2008.00512.x>.
- Torrecillas, E., Alguacil, M. M., & Roldán, A. (2012). Host preferences of arbuscular mycorrhizal fungi colonizing annual herbaceous plant species in semiarid Mediterranean prairies. *Applied and environmental microbiology*, 78(17), 6180-6186.

