

João António Gonçalves Vieira

Efeito do uso de polímero e micorrizas na tolerância ao stress hídrico à
plantação de eucalipto (simulação em viveiro)

Orientador interno: Professora Doutora Maria Filomena Figueiredo Nazaré Gomes

Orientador externo: Doutora Ana Carina Tavares Quintela dos Santos

Coimbra, 2022

João António Gonçalves Vieira

Efeito do uso de polímero e micorrizas na tolerância ao stress hídrico à
plantação de eucalipto (simulação em viveiro)

Dissertação apresentada à Escola Superior Agrária de Coimbra
para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do
grau de mestre em Recursos Florestais

Orientador interno: Professora Doutora Maria Filomena Figueiredo Nazaré Gomes

Orientador externo: Doutora Ana Carina Tavares Quintela dos Santos

Coimbra, 2022

Financiamento

Este trabalho foi realizado no âmbito dos projetos:

- Tolerância ao stress hídrico de *Eucalyptus globulus* - Instalação eficiente de povoamentos de eucalipto / **IEPE**, com o código de operação **PDR2020-101-001, Refª 031985**, cofinanciado pelo FEADER – Fundo Europeu Agrícola de Desenvolvimento Rural, através do Acordo de Parceria Portugal 2020, Programa PDR2020.
- Avaliação do efeito de aplicação de micorrizas - **Forest 4 Future / F4F, Ref.: Centro-08-5864-FSE-000031** cofinanciado pelo FEADER – Fundo Europeu Agrícola de Desenvolvimento Rural, através do Acordo de Parceria Portugal 2020;

O **Polímero** testado neste trabalho foi gentilmente cedido pela **GREEN-TECH NOVIATION**.

O trabalho foi desenvolvido na ESAC / IPC (CERNAS, Centro de Estudos em Recursos Naturais, Ambiente e Sociedade) em estreita colaboração com o RAIZ.



Agradecimentos

A realização e conclusão deste trabalho não teria sido possível sem a colaboração de múltiplas pessoas. Manifesto, assim, o meu agradecimento às pessoas que, diretamente ou indiretamente, contribuíram para a apresentação final desta tese.

À professora Doutora Filomena Gomes da ESAC, minha professora orientadora, pelo acompanhamento de extremo profissionalismo, pela sua ajuda e disponibilidade demonstrada ao longo do trabalho, pelas sugestões apresentadas bem como a disponibilização dos meios necessários à sua execução.

À Doutora Ana Quintela do RAIZ, minha orientadora externa, pela sua disponibilidade, presença e acompanhamento dos ensaios, pelas suas sugestões e dados fornecidos.

À professora Rosalinda Pato e ao Professor Manuel Nunes pelos dados cedidos para a análise e elaboração do relatório.

À Bárbara, Ana, Luciano e Francisco pela ajuda na realização dos ensaios, acompanhamento e apoio no registo de dados.

A todos os professores de curso e de mestrado, pelos conhecimentos e competências que me transmitiram ao longo deste percurso académico.

Não poderia deixar de agradecer à minha família, em especial, à minha mãe, Maria Elisa, e irmão, Paulo, por todo o apoio incondicional, pela força e pelo carinho na elaboração deste trabalho e durante o meu percurso académico. Sem eles nada teria sido possível.

Aos meus amigos que estiveram sempre ao meu lado e nunca me deixaram desistir, em especial, à Diana e à Catarina.

Às amigas universitárias que fizeram os meus cinco anos académicos dos melhores da minha vida.

E agradecer também a Coimbra, o grande palco de todo este projeto.

“Ao alto Ao alto Ao alto Charrua”

Resumo

O presente relatório visou estudar o efeito do uso de polímero (Polyter) e micorrizas (Ectoplant, ectomicorrizas) na tolerância ao stress hídrico à plantação de eucalipto. Atualmente, devido às alterações climáticas é necessário avaliar diferentes hipóteses para melhorar a sobrevivência das plantas após a plantação, em particular em solos de textura grosseira (áreas sujeitas a maior stress hídrico). Foram testados cinco tratamentos à plantação, nomeadamente, a1/controlo - superfosfato e Agroblen; a2 - micorrizas; a3 - superfosfato e polyter seco ao fundo da cova; a4 - superfosfato e polyter hidratado; e a5 - Polyter hidratado e micorrizas. Estes tratamentos foram testados em dois tipos de solo, usados como substrato em vasos (de 250 cm³), a referir, S1 de textura média (17,2% argila) e S2 de textura grosseira ou ligeira (2,0% de argila).

Os resultados mostraram que o tratamento a3 apresentou maior acréscimo em altura, elevada taxa de sobrevivência, melhores resultados na soma dos parâmetros fisiológicos (sobrevivência; gomos axilares; turgidez; desenvolvimento foliar), maior teor de clorofila e flavonoides e, em particular, em solos de textura grosseira. O estudo permitiu concluir que o uso do polímero seco colocado ao fundo da cova foi benéfico à plantação, em particular em solo arenoso, pois, com a retenção de água ativou o crescimento do sistema radicular, assegurando a sobrevivência da planta, reduzindo o efeito do stress hídrico e as deficiências nutricionais associadas.

Face aos resultados observados será conveniente testar em larga escala no campo a aplicação de Polyter seco ao fundo da cova e, ainda, em viveiro o efeito da: 1) aplicação reduzida a 30-50% do superfosfato nos tratamentos com micorrizas em particular em solos de textura grosseira e com baixo teor em matéria orgânica; 2) aplicação do caldo esporal de *Pisolithus tinctorius*, proveniente de carpóforos de povoamentos de eucalipto, preferencialmente de zonas secas e nas mesmas condições edáficas; e 3) aplicação de endomicorrizas que numa fase inicial da planta serão menos exigentes em hidratos de carbono cedidos pela planta e mais dependentes da associação simbiótica, podendo contribuir para um maior sucesso na instalação da planta.

Palavras-chaves: *Eucalyptus globulus*, ectomicorrizas, ectoplant, polyter, sobrevivência

Abstract

This report aimed to study the effect of the use of polymer (Polyter) and mycorrhizae (Ectoplant, ectomycorrhizae) on tolerance to water stress in eucalyptus plantations. Currently, due to climate change it is necessary to evaluate different hypotheses to improve the survival of plants after planting, particularly in coarse-textured soils (areas subject to greater water stress). Five treatments were tested at planting, namely, a1/control - superphosphate and Agroblen; a2 - mycorrhizae; a3 - superphosphate and polyether dried at the bottom of the pit; a4 - superphosphate and hydrated polyter; and a5 - hydrated polyter and mycorrhizae. These treatments were tested on two types of soil, used as substrate in pots (of 250 cm³), namely, S1 medium-textured (17.2% clay) and S2 coarse-textured or light (2.0% clay).

The results showed that treatment a3 presented the greatest increase in height, high survival rate, better results in the sum of physiological parameters (survival; axillary buds; turgidity; leaf development), higher chlorophyll and flavonoid content and, in particular, in coarse-textured soil. The study allowed for the conclusion that the use of dry polymer placed at the bottom of the pit was beneficial to the plantation, particularly in sandy soil, because, with the retention of water it activated the growth of the root system, ensuring the survival of the plant, reducing the effect of water stress, and associated nutritional deficiencies.

In view of the results observed it will be convenient to test on a large scale in the field the application of Polyter dried to the bottom of the pit and, also, in the nursery the effect of: 1) application reduced to 30-50% of superphosphate in treatments with mycorrhizae in particular in coarse textured soils and with low organic matter content; 2) application of spore broth of *Pisolithus tinctorius*, from carpophores of eucalyptus stands, preferably from dry areas and in the same edaphic conditions; and 3) application of endomycorrhizae, which in the initial phase of the plant will be less demanding in carbohydrates provided by the plant and more dependent on the symbiotic association, and may contribute to greater success in plant establishment.

Keywords: *Eucalyptus globulus*, ectomycorrhizae, ectoplant, polyter, survival

Índice

Financiamento	I
Agradecimentos.....	II
Resumo	III
Abstract	IV
Lista de figuras.....	VII
Lista de tabelas	IX
Lista de siglas e abreviaturas	X
1. Introdução	1
1.1 Eucalipto	1
1.2 Melhoramento genético	3
1.3 Polyter.....	6
1.4 Micorrizas.....	8
1.5 Objetivos	11
2. Material e métodos	12
2.1 Material Vegetal	12
2.2 Métodos.....	12
2.2.1 Tratamentos testados	15
2.3 Delineamento experimental	21
2.4 Avaliação de parâmetros de tolerância ao stress hídrico.....	22
2.5 Dados climáticos	28
2.6 Análise Estatística	29
3. Resultados e discussão	30
3.1 Acréscimo médio em altura	30
3.2 Sobrevivência	33
3.3 Total parâmetros fisiológicos.....	36
3.3.1 Interação entre substrato e a aplicação de mulch.....	36
3.3.2 Interação entre substrato e tratamento	38
3.4 Clorofila e Flavonoides.....	40
3.4.1 Interação entre substrato e a aplicação de mulch.....	40
3.4.2 Interação entre substrato e tratamento	42
3.5 Avaliação ao final do maior período de stress hídrico	44
3.6 Observação do sistema radicular.....	47

4. Considerações finais	52
5. Referências Bibliográficas.....	54
6. Anexos	57

Lista de figuras

Figura 1: Representação das folhas e frutos do <i>Eucalyptus globulus</i>	2
Figura 2: Representação do polyter seco (a) e do polyter após absorção da água (b)....	6
Figura 3: Associação simbiótica entre fungo e raízes das árvores	8
Figura 4: Ilustração do funcionamento das ectomicorrizas e endomicorrizas	9
Figura 5: Solo S1 (maior teor em argila) e solo S2 (menor teor em argila).....	13
Figura 6: Crivo com rede de 4x4 mm utilizado no processo de crivagem do solo na ESAC	14
Figura 7: Procedimentos utilizados para cada tratamento (a1 - a5).....	19
Figura 8: Representação dos tratamentos com mulch (50%) e tipo de solo (S1 e S2) ..	20
Figura 9: Distribuição das plantas no campo por bloco (1-3) e tratamento/solo.....	22
Figura 10: Método utilizado para avaliação dos dados paramétrica	23
Figura 11: Representação dos critérios selecionados para a avaliação dos parâmetros fisiológicos	24
Figura 12: Ilustração do funcionamento das óticas nas diferentes partes da folha e respetivas leituras de comprimento de onda correspondentes à clorofila e flavonoides	26
Figura 13: Metodologia utilizada em campo, com o aparelho DUALEX 4 Scientific para avaliação da clorofila e flavonoides	27
Figura 14: Representação dos ensaios no campo ao fim de 41 dias no exterior.....	27
Figura 15: Valores médios do acréscimo em altura (média \pm SE) observados ao fim de 12 dias em aclimação e 16 dias no exterior (DT1) em função do tipo de tratamento testado.....	30
Figura 16: Valores médios do acréscimo em altura (média \pm SE) observados ao fim de 12 dias em aclimação e 16 dias no exterior em função da interação entre o tipo de solo e o tratamento testado	32
Figura 17: Valores médios da sobrevivência (%) observados ao fim de 16, 27 e 41 dias no exterior (Dt1 -Dt3) em função da interação entre solo x tratamento e data x tratamento	35
Figura 18: Valores médios do total parâmetros fisiológicos observados ao fim de 16, 27 e 41 dias no exterior (Dt1 -Dt3) em função da interação entre substrato x mulch.....	37

Figura 19: Valores médios do total parâmetros observados ao fim de 16, 27 e 41 dias no exterior (Dt1 -Dt3) em função da interação entre substrato x tratamento.....	39
Figura 20:Valores médios da clorofila e flavonoides observados ao fim de 16, 27 e 41 dias no exterior (Dt1 -Dt3) em função da interação entre substrato x mulch.....	41
Figura 21: Valores médios da clorofila e flavonoides observados ao fim de 16, 27 e 41 dias no exterior (Dt1 -Dt3) em função da interação entre substrato x tratamento	43
Figura 22: Valores médios da sobrevivência, total parâmetros e clorofila observados ao fim 41 dias no exterior (Dt1 -Dt3) em função da interação entre substrato x tratamento	45
Figura 23: Análise componentes principais para o conjunto de variáveis estudadas ...	46
Figura 24: Desenvolvimento da planta e do sistema radicular após 41 dias no exterior, observado no tratamento a1.....	47
Figura 25: Desenvolvimento da planta e do sistema radicular após 41 dias no exterior, observada no tratamento a3.....	48
Figura 26: Desenvolvimento da planta e do sistema radicular após 41 dias no exterior, observado no tratamento a5.....	49
Figura 27: Desenvolvimento da planta e do sistema radicular após 41 dias no exterior, observada no tratamento a5.1.....	50

Lista de tabelas

Tabela 1: Funções do polímero e os seus benefícios	7
Tabela 2: Análise de solos S1 e S2 utilizados como substrato em vaso para instalação dos ensaios	15
Tabela 3: Número de plantas por tratamento (a1-a5), tipo de solo (S1 e S2) e bloco (1-3)	21
Tabela 4: Valores médios do acréscimo em altura (média \pm SE) para cada tipo de solo (S1 e S2) e tratamento (a1-a5)	31
Tabela 5 - Valores médios da sobrevivência (média \pm SE) observados em função de: a) número de dias no exterior; b) tipo de solo e c) tipo de tratamento testado.....	33

Lista de siglas e abreviaturas

ESAC – Escola Superior Agrária de Coimbra

MRF – Mestrado em Recursos Florestais

FEADER – Fundo Europeu Agrícola de Desenvolvimento Rural

IEPE - Instalação eficiente de povoamentos de eucalipto

F4F – Forest 4 Future

CERNAS – Centro de Estudos em Recursos Naturais, Ambiente e Sociedade

PDR – Programa de Desenvolvimento Rural

Leds - Light Emitting Diode

UV-A - Ultraviolet radiation

NIR - Near infra red

BLUP - Best Linear Unbiased Prediction

1. Introdução

1.1 Eucalipto

A introdução do *Eucalyptus globulus* (eucalipto-comum) em Portugal ocorreu há quase 200 anos, porém, o interesse económico na produção de madeira de eucalipto, principalmente como combustível, para o fabrico de postes e estacas, na construção civil e para travessas de caminho-de-ferro só começou a partir do final do século XIX e início do século XX (Manta et al., 2021).

Cada vez mais, o eucalipto tem um importante papel na atividade económica do país, não só pela sua ocupação no espaço florestal e pela sua elevada rendibilidade, mas também pelo facto de ser a matéria prima da indústria de pasta de papel, um dos principais setores industriais da economia do país (Monteiro Alves et al., 2007).

É originário do Sudeste da Austrália e Tasmânia e, neste momento, pode ser encontrada em Portugal continental (todas as províncias) e no arquipélago dos Açores (ilhas de São Miguel, Santa Maria, Terceira, Graciosa, Faial, Flores), e no arquipélago da Madeira (ilhas da Madeira e Porto Santo) (Bingre et al., 2007).

O *E. globulus* é uma espécie florestal de folha perene pertencente ao género *Eucalyptus* e distingue-se das outras espécies deste género presentes em Portugal, por apresentar flores e frutos solitários. É caracterizada por ter um rápido crescimento, folhas jovens de cor verde azulada e folhas adultas mais escuras em forma de foice (Figura 1) (Bingre et al., 2007).



Figura 1: Representação das folhas e frutos do *Eucalyptus globulus*

É uma espécie sensível às geadas e ao frio intenso, e, por esse motivo, dá-se geralmente melhor até aos 450 metros de altitude. Apesar disso, outras particularidades devem ser tidas em consideração, nomeadamente, a exposição aos ventos dominantes, a insolação ou a possibilidade de geadas ou neves persistentes. Tem preferência também por climas húmidos, com precipitação média anual superior a 700 mm e com uma distribuição pluviométrica uniforme. É comum em zonas graníticas e arenosas, mas cresce em diversos substratos, com exceção de solos calcários ou fortemente alcalinos onde não se encontra com tanta frequência. Apresenta maior crescimento em substratos mais profundos, sendo, por isso, a profundidade do solo uma característica a ter em conta. Apesar disso, devido ao vigor desta espécie, o eucalipto também cresce em solos pobres ou pouco profundos (UTAD jardim botânico, n.d.)

O eucalipto é explorado normalmente em talhadia de revolução curta (10 a 15 anos) e destina-se principalmente à produção de pasta para celulose. A exploração em regime de alto-fuste permite obter a matéria-prima de maior dimensão, com aptidão para utilizar em serração, porém é praticamente inexistente em Portugal (Correia & Oliveira, 2003).

As principais pragas e doenças do eucalipto (género *Eucalyptus*) no nosso país são causados por insetos e fungos, provenientes sobretudo da Austrália.

Relativamente às doenças, na maioria causadas por fungos, destacam-se, a Doença-das-manchas (*Teratosphaeria/Mycosphaerella spp.*) que provoca manchas necróticas nas folhas, principalmente nas plantas jovens o que pode levar à sua queda e o Bolor-cinzeno (*Botrytis cinerea*) que causa lesões nos caules e rebentos de eucaliptos, sobretudo em viveiro.

As pragas mais preocupantes em Portugal são: 1) o Gorgulho-do-eucalipto (*Gonipterus platensis*) onde as larvas e insetos adultos se alimentam das folhas, provocando desfolha e quebras de produtividade; 2) as Brocas-do-eucalipto (*Phoracantha semipunctata* e *P. recurva*) em que as larvas se alimentam do tronco, escavando galerias, ferindo os tecidos vasculares das árvores que podem levar à sua morte; e 3) o Percevejo-do-bronzeamento-do-eucalipto (*Thaumastocoris peregrinus*) em que o inseto, tanto em adulto como na sua fase precoce (ninf), pica a superfície das folhas, alimentando-se do conteúdo das células, fazendo com que as folhas fiquem com um aspeto bronzeado, causando a queda destas (Florestas.pt, 2020).

A diversidade e a especificidade das condições ecológicas do nosso país requerem uma gestão cuidadosa desde a preparação e mobilização do solo, adubação, controlo da vegetação espontânea, fitossanidade, exploração, gestão dos recursos hídricos, biodiversidade, armazenamento de carbono até ao planeamento da paisagem (Manta et al., 2021).

1.2 Melhoramento genético

Num contexto atual de alterações climáticas com incremento dos riscos (bióticos, abióticos e financeiros), manter a produtividade e sobrevivência das plantações de eucalipto revela ser um problema acrescido, que pode ser atenuado com base no melhoramento genético.

As plantas podem ser produzidas por meio de duas vias, sementeira (seminal) ou estacaria (clonagem). Na reprodução por via seminal são utilizadas as sementes de eucalipto, provenientes de pomares produtores de semente em polinização livre ou controlada, enquanto, na reprodução por estaca, é selecionado um indivíduo (clone), do qual serão recolhidas as estacas para o enraizamento (The Navigator Company, 2020).

Os clones são desenvolvidos com o objetivo de promover uma alteração na característica da planta, como por exemplo, o volume de madeira, as propriedades da madeira ou a resistência a pragas e doenças. Quando estes clones são desenvolvidos é fundamental ter em conta as características do local onde será realizada a instalação do novo povoamento, uma vez que, os clones podem não ser adequados para todas as condições que sucedem no país.(The Navigator Company, 2020).

As plantas que na certificação comprovaram ter um melhor desempenho nos ensaios em campo, conseguiram alcançar o grau máximo de classificação, neste caso, “Testada”.

O melhoramento inicia-se pela seleção das árvores “plus”, onde são selecionadas as árvores com melhor aptidão e características para um conjunto de fatores, nomeadamente, solo, clima e altitude. Após seleção de indivíduos, estes são sujeitos a testes de progénie, enxertias e testes clonais (RAIZ (Instituto de Investigação da Floresta e Papel), 2022).

Durante este processo, é necessário evitar o cruzamento entre árvores aparentadas, a fim de, evitar a consanguinidade e manter uma apropriada diversidade genética. Uma forma de impedir a consanguinidade é com recurso à polinização controlada. Isto permite o cruzamento da planta com o pólen selecionado, combinando as características genéticas desejáveis (Monteiro Alves et al., 2007).

Obtida a planta com as características pretendidas, é realizada a clonagem e os ensaios de campo para posterior análise do desempenho. Esta é realizada com recurso à análise BLUP (Best Linear Unbiased Prediction) para o volume, densidade e rendimento em pasta (RAIZ (Instituto de Investigação da Floresta e Papel), 2022).

No processo de clonagem as estacas são recolhidas do parque de pés-mães do viveiro para enraizarem. A aplicação de hormona de enraizamento nas estacas é um fator importante no seu crescimento e desenvolvimento, porém o seu uso não é universal. A estaca necessita de ser mantida em ambiente controlado (temperaturas e humidade elevadas), ou seja, numa estufa ou num local coberto com rede de sombra durante os primeiros 30 dias. Após este período, as plantas vão para um viveiro para instalação em condições normais, embora só possam ser utilizadas para plantação entre 90 e 120 dias. Este processo denominado de macroestacaria ou macropropagação, está

dependente da produção de estacas, uma vez que, a exigência de temperatura elevadas no enraizamento torna a clonagem de eucalipto uma atividade sazonal (Monteiro Alves et al., 2007).

O valor genético das plantas utilizadas, a proporção destas no total das plantações realizadas e o seu comportamento nas condições de campo tem influência no incentivo dos programas de melhoramento na cultura do eucalipto. As condições de campo, estão dependentes da melhoria das técnicas silvícolas, do empenho da gestão relacionada com a distribuição das plantas melhoradas, assim como, das técnicas de instalação e dos modos de condução e exploração dos povoamentos de eucalipto (Monteiro Alves et al., 2007).

O melhoramento genético fortaleceu a resiliência das plantações em diversas regiões do país com diferentes características edafoclimáticas, no entanto, os métodos e fertilizantes utilizados à plantação são fundamentais na sobrevivência e desenvolvimento da planta. As alterações climáticas têm vindo a afetar as plantações, uma vez que, os períodos de plantação são curtos e os fatores geada e seca têm aumentado a taxa de mortalidade.

Um dos problemas frequentes na silvicultura ocorre pelo facto das plantas recém-plantadas não sobreviverem ao primeiro ou segundo verão, porque o sistema radicular ainda é pequeno, o que as torna sensíveis a eventos de seca (Plantamas, n.d.).

Com base nos problemas identificados em campo, é necessário encontrar urgentemente soluções para enfrentar diversos desafios, nomeadamente, a escassez de água, a desertificação e degradação do solo, a crise ambiental e a proteção da biodiversidade.

1.3 Polyter

O polyter é um polímero orgânico retentor de água constituído por uma parede semipermeável, com capacidade de absorver até 500 vezes o seu volume inicial seco (Figura 2) (Sousa, n.d.). O polyter testado no âmbito deste trabalho tinha incorporado um adubo composto (10:10:10; NPK).

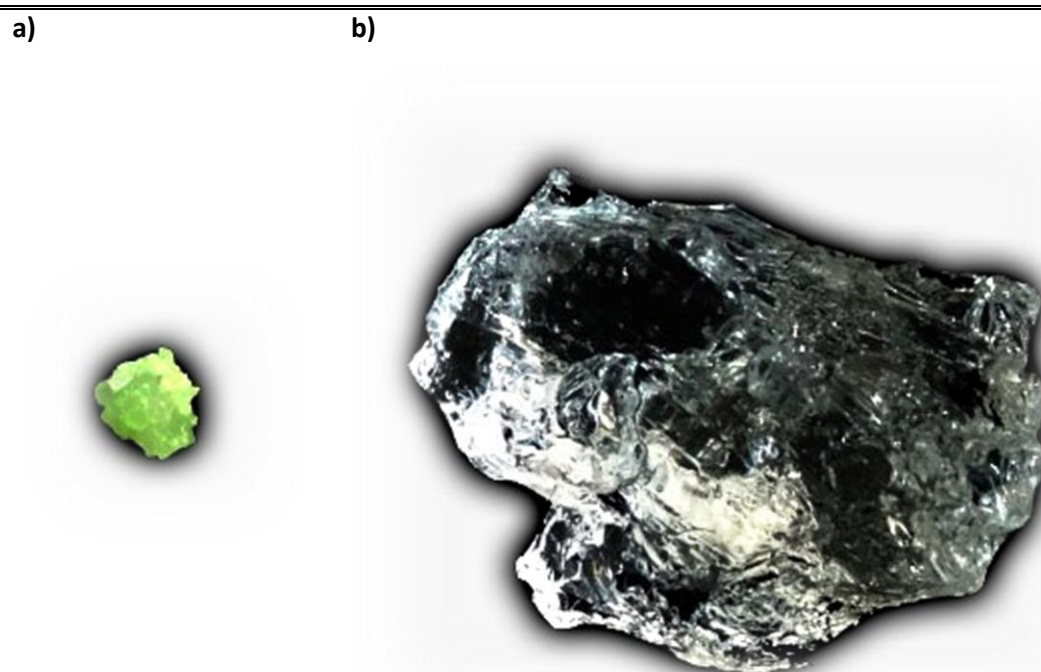


Figura 2: Representação do polyter seco (a) e do polyter após absorção da água (b)

Este fertilizante biodegradável aplicado na cova da plantação absorve uma grande quantidade de água, assim como nutrientes, permitindo à planta absorvê-los durante o período de seca. O polyter contém nutrientes, previamente inseridos no processo de produção, que estão disponíveis e necessários à planta desde o primeiro dia. Esta contínua disponibilidade de nutrientes pode melhorar o seu crescimento devido à diminuição da lixiviação de nutrientes (Plantamas, n.d.).

O polyter apresenta um pH neutro (pH=7). A taxa da absorção pela planta depende do pH da água e do solo. Assim, as variações no desenvolvimento da planta após aplicação do polímero está dependente da cultura, clima e do solo (Polyter 2, n.d.).

O polyter apresenta três principais funções, nomeadamente, ser um hidro retentor de água, um fertilizante para o solo e ainda ser natural e biodegradável (Tabela 1).

Tabela 1: Funções do polímero e os seus benefícios

				Funções do polímero		
				Hidro retentor	Fertilização	Natural e biodegradável
Benefícios				- Economiza no mínimo entre 50 e 80% do consumo de água;	- Multiplica 3 a 5 vezes mais o sistema radicular;	- Protege o ambiente e o lençol freático;
				- Utilização em todo o tipo de solos, culturas e climas;	- Reduz o consumo de adubos de 30 a 50%;	- Estabilização, descompactação e fixação dos solos e reestruturação do húmus;
					- Promove a germinação, recuperação e desenvolvimento da planta;	- Duração de vida efetiva de 3 a 5 anos;

Fonte: Polyter – Sécurité alimentaire et Souveraineté économique

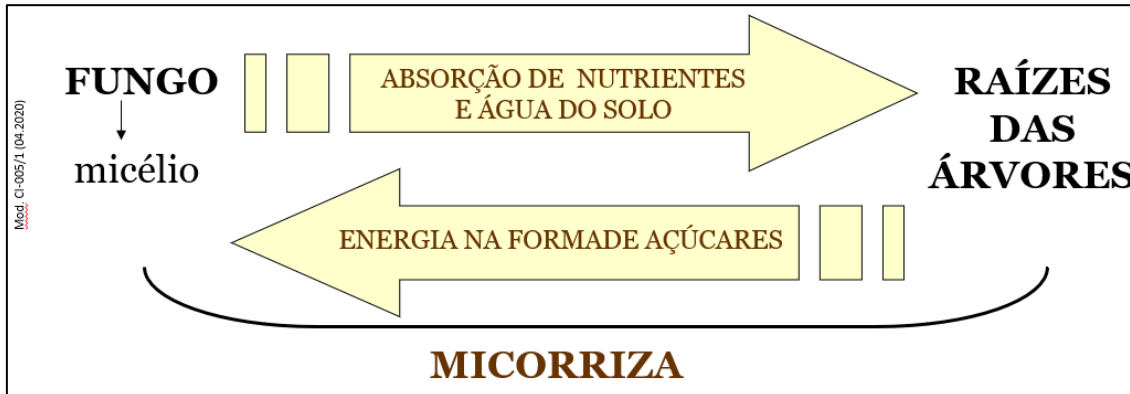
A característica única deste polímero é que permite o desenvolvimento das raízes nos nódulos do polímero, constituintes do gel hidratado. A libertação destes elementos vitais capturados e armazenados nos nódulos de polyter será feita pelo crescimento da raiz ou pressão osmótica, para benefício da planta, havendo pouca perda de nutrientes e água para o solo (Sousa, n.d.).

A aplicação nunca deve ser realizada à superfície do solo, ou seja, deve ser misturado o polyter, preferencialmente pré-hidratado com o substrato (à plantação ou à sementeira) ou na zona radicular (plantas já instaladas no campo), seguido da rápida saturação do polímero com água para ativar e promover uma associação benéfica (Polyter 2, n.d.).

1.4 Micorrizas

As micorrizas são associações mutualistas que se estabelecem entre fungos e raízes das plantas, ou outros órgãos subterrâneos (UC (Universidade de Coimbra), 2022a). O termo "micorriza" (do Grego mykes = fungo e rhiza = raiz) foi utilizado pela primeira vez em 1885 pelo biólogo alemão Albert Bernard Frank. A maior parte das plantas forma micorrizas, nomeadamente, briófitas, pteridófitas, gimnospérmicas e angiospérmicas (Smith & Read, 1997).

O fungo absorve da planta os hidratos de carbono que lhe permite aumentar o seu crescimento e, em contrapartida, o sistema radicular da planta, à custa do micélio desenvolvido pelo fungo micorrízico, aumenta o volume de solo explorado, garantindo maior aporte de água e macronutrientes - Azoto (N), fósforo(P), potássio (K), entre outros (Figura 3). Esta associação permite um maior equilíbrio entre o sistema radicular e parte aérea e, por conseguinte, uma maior resistência a stresses bióticos (pragas, doenças) e abióticos (stress hídrico, nutrientes, toxicidade de metais pesados) (Machado, 2021).



Fonte: Helena Machado, A Floresta e as Micorrizas

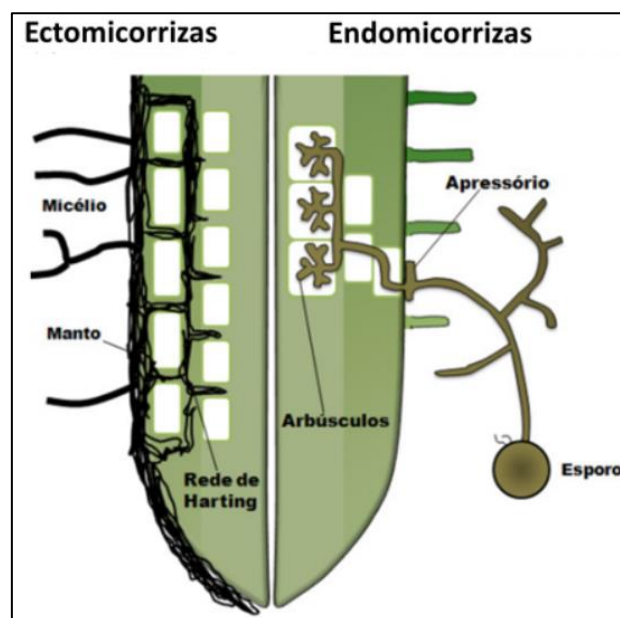
Figura 3: Associação simbiótica entre fungo e raízes das árvores

Existem vários tipos de associações micorrízicas que são classificadas segundo a sua estrutura, morfologia, modo de infeção, assim como o tipo de organismo mutualista que as estabelecem, no entanto, são reconhecidos dois grupos que se distinguem considerando o local onde as hifas dos fungos se desenvolvem, nomeadamente, endomicorrizas ou micorrizas arbusculares (AM) e ectomicorrizas (ECM). Além destes grupos dominantes há outro tipo de micorrizas como as Arbutóides, Ericóides, Monotropóides e Orquidóides (Goltapeh et al., 2008).

As endomicorrizas ou micorrizas vesiculares/arbusculares são as que surgem com mais frequência, sendo possível observá-las em mais de 90% de espécies de plantas superiores (Goltapeh et al., 2008). As endomicorrizas são constituídas pelo fungo zigomiceta (ordem Glomerales com cerca de 200 espécies), cujas hifas são responsáveis pela penetração das células da raiz, nomeadamente, as células corticais (Figura 4). Desta forma, criam-se os arbúsculos, estruturas altamente ramificadas que possibilitam as trocas entre a planta e fungo, e, ainda, vesículas. Estas são dilatações terminais que funcionam como um compartimento de reserva para o fungo (Lousã et al., 2007).

As micorrizas arbusculares (AM) são muito eficazes na absorção de nutrientes, em particular do P, graças ao seu micélio extrarradicular que possui várias enzimas-fosfatases que disponibilizam o P cedido posteriormente à planta (Machado, 2021).

As ectomicorrizas caracterizam-se pela presença do manto e da rede de Hartig (Figura 4). O fungo desenvolve-se à volta da raiz e forma um invólucro denominado de manto, as hifas mais internas do manto penetram a região exterior da raiz e envolvem as células epidérmicas e/ou corticais, formando a rede de Hartig (UC (Universidade de Coimbra), 2022).



Fonte: Sinapse; Disponível em: <https://emsinapse.wordpress.com/2021/04/02/micorrizas-fungos-que-ajudam-as-plantas-a-absorverem-mais-nutrientes/>

Figura 4: Ilustração do funcionamento das ectomicorrizas e endomicorrizas

As ectomicorrizas (ECM) são importantes nos ecossistemas florestais, caracterizados pela presença de matéria orgânica, com uma razão C/N elevada. Este fato está associado a baixas taxas de decomposição e mineralização e, conseqüentemente, baixa disponibilidade de nutrientes para a planta, em particular de N e P. Assim, o micélio extrarradicular muito desenvolvido, tem a capacidade de absorver P e N nas suas formas orgânicas, devido a um conjunto de enzimas, transportando os nutrientes e a água através dos rizomorfos (conjunto de hifas lineares semelhantes a raízes) (Machado, 2021).

A ausência da associação das ectomicorrizas nas raízes das plantas é uma das causas do insucesso dos programas de reflorestação. As ectomicorrizas aumentam a resistência da árvore às doenças radiculares, o que beneficia a taxa de sobrevivência das novas plantações, assim como melhora a interação substrato-fungo-planta e a sua estabilização do solo através do micélio (AFINET, 2018).

Os fungos micorrízicos têm-se mostrado fundamentais para o estado fitossanitário das árvores e de outras plantas, uma vez que, a inoculação auxilia a instalação e potencia a sobrevivência de rebentos e plantas jovens, mesmo quando estes são colocados em substratos pobres e onde não é praticável a manutenção após a instalação (Rincón et al., 2005).

Na instalação das plantas de eucalipto utilizou-se o ectoplant comprimido, um fertilizante biológico natural apto para utilizar em plantas florestais de viveiro ou campo (plantas estabelecidas ou durante o transplante) para uma rápida micorrização. O ectoplant é um formato de inóculo de micorrizas em forma de comprimido para aplicar na cova da plantação em contacto direto com as raízes.

Na constituição destes comprimidos micorrizicos é utilizada uma combinação de espécies fúngicas que estabelecem ectomicorrizas, nomeadamente, *Pisolithus tinctorius*, *Rhizopogon spp*, *Scleroderma verrucosum* e *Suillus spp* (Anexo I). Na sua composição são utilizados componentes naturais de procedência vegetal que ajudam na compactação do produto e um agente superabsorvente de água (Micologia florestal, 2022).

Desta forma, a utilização destes fungos micorrízicos têm potencial para: 1) aumentar as taxas de sobrevivência depois do transplante; 2) a instalação e o crescimento acontecem mais rápido, até em solos pobres; 3) a tolerância a ambientes extremos aumenta, nomeadamente, no que se refere à seca e à salinidade; 4) aumentam a eficiência na obtenção de água e nutrientes; e 5) reduzem os poluentes em solos contaminados (afforest, 2022).

A utilização da micorrização melhora a nutrição da planta, uma vez que, a superfície de absorção de elementos minerais aumenta, como o N, o K e o P (elemento pouco móvel no solo); torna possível uma maior eficiência na aquisição de água e nutrientes, o que provoca uma maior resistência à secura; e protege contra doenças da raiz, através da sua barreira física (manto) e do antagonismo químico (substâncias inibidoras e antibióticas).

O uso de micorrizas traz igualmente benefícios para o solo, pois a extensa rede de micélio auxilia na agregação das partículas do solo e da sua fração orgânica, o que provoca um aumento da porosidade do solo e um melhor arejamento e retenção de água (Machado, 2021).

1.5 Objetivos

Com as alterações climáticas, a sobrevivência à plantação de eucalipto revela ser um problema acrescido, uma vez que o intervalo para a plantação é cada vez mais curto, resultante do aumento dos períodos de seca.

Assim, o objetivo central deste trabalho, foi testar duas alternativas (polímero e micorrizas) para minimizar o efeito do stress hídrico, através da simulação de uma plantação de eucaliptos em vaso em dois tipos diferentes de textura de solo (grosseira vs média). Neste ensaio foram testados o efeito da aplicação de um polímero orgânico (Polyter) e de micorrizas (Ectoplant, Micofora) à plantação, em dois tipos de textura de solo (grosseira vs média). Após instalação do ensaio em vaso em viveiro, em condições controladas (rega) durante um curto período (12 dias), as plantas foram transferidas para o exterior sem rega, nem cobertura, para posterior avaliação à tolerância ao stress hídrico.

2. Material e métodos

2.1 Material Vegetal

As plantas de eucalipto, no presente estudo, foram submetidas a condições de stress hídrico. Desta forma, foi selecionado um clone com algumas características benéficas em condições de stress, cedidas gentilmente pelo Raiz (Instituto de investigação da Floresta e Papel), produzidos nos Viveiros Aliança S.A. The Navigator Company.

O clone selecionado para a instalação do ensaio foi o G1202, indicado para qualquer região do país sem forte presença de gorgulho, sendo as suas principais características a mudança rápida para folha adulta, boa sobrevivência em condições de secura, suscetível ao percevejo-do-bronzamento, mas com boa resposta ao ataque do mesmo (Viveiros Aliança, 2022).

As plantas disponibilizadas foram produzidas por estacaria e em torrão/contentor, com um volume de 170 cm³ e revestidas com TNT (tecido não tecido).

2.2 Métodos

Para se avaliar a tolerância ao stress hídrico foram utilizados dois tipos de solo provenientes de locais diferentes e com diferentes características físicas e químicas de modo a avaliar a resposta das plantas em diferentes solos sob o mesmo tipo de preparação à plantação. Para isto foram utilizados dois tipos de solos que a seguir se identificam como S1 e S2.

O solo S1, de textura média a grosseira, foi colhido em Eixo, concelho de Aveiro, e corresponde a um solo com maior teor em argila, enquanto o solo S2, de textura grosseira, foi colhido no concelho de Cantanhede, sendo um solo mais arenoso e com baixo teor em argila (Figura 5).



Figura 5: Solo S1 (maior teor em argila) e solo S2 (menor teor em argila)

O objetivo da colheita destes dois tipos de solo foi simular solos com maior e menor teor de argila e, conseqüentemente, diferente granulometria e capacidade de retenção de água.

Ambos os solos foram colhidos e cedidos gentilmente pela equipa do RAIZ, sendo que o solo S1 foi crivado com um crivo de 1,5 cm antes de ser transportado para as instalações da ESAC.

Nas instalações da ESAC, antes de se iniciar a instalação dos tratamentos, ambos os solos foram crivados com um crivo de 4 mm (Figura 6), de modo a retirar algumas pedras e resíduos vegetais para obter um solo homogéneo.



Figura 6: Crivo com rede de 4x4 mm utilizado no processo de crivagem do solo na ESAC

No Laboratório de Solos e Fertilidade da ESAC foi feita a análise da percentagem de terra fina e da determinação do azoto kjeldahl dos dois tipos de solo.

O solo S1 (relativo teor de argila) apresenta uma textura média com uma percentagem de terra fina ($\Phi < 2\text{mm}$) de 82,40%, enquanto, o solo S2 (baixo teor de argila) sendo um solo arenoso apresenta uma textura ligeira e uma percentagem de terra fina ($\Phi < 2\text{mm}$) de 100%. Relativamente ao azoto Kjeldahl (%) obteve-se as percentagens de 0,16% e 0,02% para o solo S1 e S2, respetivamente (ANEXO II). No laboratório do RAIZ procedeu-se à análise granulométrica (areia grossa, areia fina, limo, argila) e dos seguintes parâmetros: pH (H_2O), condutividade elétrica (CE), complexo de troca e capacidade de troca catiónica, matéria orgânica, P (Egner-Rhiem), micronutrientes (zinco, ferro, cobre e manganês) com vista à caracterização geral da fertilidade do solo (Tabela 2; Anexo III).

Tabela 2: Análise de solos S1 e S2 utilizados como substrato em vaso para instalação dos ensaios

Parâmetros Solo	Fracção Areia Grossa (%)	Fracção Areia Fina (%)	Fracção Limo (%)	Fracção Argila (%)	Textura	pH (H ₂ O)	Capacidade de troca catiónica efectiva (cmol+/kg (base seca ao ar))	Matéria orgânica (% base seca ao ar)	Fósforo extraível (mg/kg (base seca ao ar))
S1	27,8	42,2	12,9	17,2	Franco Arenoso	4,3	2,7	7,4	8
S2	84,6	13,4	0,0	2,0	Arenoso	4,9	0,6	0,6	< 5

A tabela 2 mostra que o solo S1 de textura franca arenosa, comparativamente a S2, tem uma quantidade superior de argila e de matéria orgânica responsáveis pela capacidade de retenção de água e nutrientes permitindo melhorar as condições de sobrevivência das plantas.

Após obter uma quantidade homogénea de cada tipo de solo, procedeu-se à instalação do ensaio no dia 19 de maio de 2022. Para o envasamento foram utilizados vasos retangulares, com um volume correspondente a 250 cm³.

2.2.1 Tratamentos testados

De forma a testar a tolerância ao stress hídrico, foram definidos e testados cinco tratamentos (a1 a a5) nos dois diferentes tipos de solos previamente descritos (S1 e S2).

Tratamento a1

O primeiro tratamento, definido como a1, corresponde ao tratamento controlo. Neste caso, foi testado o mesmo método operacional utilizado à plantação, que consiste na colocação de um adubo de libertação controlada ao fundo da cova e, ainda, uma fertilização adicional de P (75g de superfosfato 18%/planta). O adubo de libertação controlada utilizado foi o Agroblen 9:20:8 + 3MgO + B (8-9 meses) na razão de 30g/planta. O Agroblen é um fertilizante 100% encapsulado indicado para aplicar nas plantações ao fundo da cova no solo junto da zona radicular. O adubo de libertação controlada permite disponibilizar gradualmente um conjunto de nutrientes essenciais à planta durante um período de 8-9 meses, assegurando a dotação continua mesmo sob condições precárias de crescimento. Além disto, a utilização deste adubo favorece o

crescimento e desenvolvimento radicular, que conseqüentemente, leva a uma diminuição das falhas nas plantações e aumento de produção (Novagrill, 2022).

Para simular este tratamento procedeu-se à mistura do superfostato no solo e humidificou-se com água. O vaso foi preenchido com a mistura referida e, posteriormente, aberta uma cova onde foi aplicado o adubo de libertação controlada diretamente em contacto com a planta de eucalipto retirada do contentor. Este processo foi repetido para ambos os tipos de solo até obter o número de plantas previstas.

De referir que o eucalipto tem dois momentos de maior exigência nutricional (N, P, K e Boro (B)) durante o seu crescimento, nomeadamente, na plantação e no pico de absorção (fase de manutenção), normalmente entre os dois e os cinco anos (Produtores Florestais, 2021).

Este tratamento é designado doravante por controlo: P₂O₅ e Agroblen.

Tratamento a2

No tratamento a2 foram testadas as micorrizas. Para este ensaio foi utilizado um comprimido, funcionando como um fertilizante biológico natural com o formato de inóculo de micorrizas (ectomicorrizas) para utilizar na plantação de espécies florestais, tal como foi previamente referido. Este método foi utilizado para todas plantas do tratamento à exceção de 12 plantas, duas por bloco, tendo sido estas 12 mergulhadas num caldo esporal. Este caldo esporal foi composto pelo *Pisolithus tinctorius*, um fungo conhecido como bufa-de-lobo que produz uma grande quantidade de esporos que vão sendo libertados pela ação das chuvas e ventos. É uma espécie ectomicorrízica muito difundida que podemos encontrar em quase todos os habitats e muito utilizada em programas de inoculação artificial pela sua facilidade de multiplicação em condições laboratoriais e larga gama de plantas hospedeiras (Machado et al., 2011).

O *Pisolithus tinctorius* foi recolhido em dois povoamentos de eucalipto a 21 de abril de 2022 pela Doutora Ana Quintela do RAIZ. A estirpe 1 no Carregal Fundeiro, Abrantes, num povoamento de eucalipto adulto constituído por Regossolo derivado de

areias, calhau rolado e arenitos pouco consolidados e a estirpe 2 na Herdade da Caniceira, Tramagal, também num povoamento de eucalipto adulto num solo constituído por Plintossolo háplico associado com Arenossolo plíntico esquelético derivado de argilas, cascalheiras e calhau rolado. Em laboratório estes foram misturados com água, dando origem ao caldo esporal onde foram mergulhadas as plantas.

Ambos os solos foram previamente humedecidos com água antes de encher os vasos, seguido de uma abertura de cova onde foi colocada o comprimido, diretamente em contacto com as raízes da planta de contentor. A metodologia referida foi utilizada de igual forma, à exceção das duas últimas plantas por bloco, que foram mergulhadas no caldo esporal.

Este tratamento é doravante denominado por: Micorrizas.

Tratamento a3

O terceiro tratamento foi designado por: P₂O₅ e Polyter seco. Neste tratamento pretende-se testar o uso do polyter seco, o polímero cedido atenciosamente pela Green Tech Novation. conforme descrito anteriormente.

Previamente, no laboratório da ESAC, o polyter seco foi pesado e colocado em placas de petri com cerca de 2g, sendo esta a quantidade a utilizar por planta no processo de envasamento, ao fundo da cova.

Além da utilização do polyter seco, efetuou-se uma fertilização adicional de P (superfosfato 18%) na razão de 75g/planta. No solo foi adicionado o P e a água de modo a preparar uma mistura homogénea para colocar nos vasos, onde foi aberta uma cova e colocado as 2g de polyter seco seguido da planta de eucalipto.

Este tratamento é designado por: P₂O₅ e Polyter seco.

Tratamento a4

Para o tratamento a4, foi testada a utilização do polyter pré-hidratado, conforme a recomendação do mesmo. Antes do envasamento ambos os solos foram fertilizados com o superfosfato 18% e misturado com o polyter pré-hidratado na razão 1 g para 300 ml. Posteriormente, foi feita uma abertura no solo onde foi plantado o eucalipto.

Este tratamento é designado por: P₂O₅ e Polyter hidratado.

Tratamento a5

No quinto tratamento, identificado por a5, o objetivo foi testar conjuntamente o efeito do polyter hidratado e das micorrizas. O solo foi humedecido com o polyter pré-hidratado (1g/300ml) e, em seguida, preencheu-se os vasos com esta mistura. Imediatamente a seguir foi aberta uma cova onde foi colocado o comprimido das ectomicorrizas em contacto direto com as raízes da planta de contentor. Nos tratamentos com micorrizas nunca se procedeu à adição de superfosfato.

O tratamento a5 é denominado por: Polyter hidratado e micorrizas;



Tratamentos				
a1	a2	a3	a4	a5
Controlo: P ₂ O ₅ e Agroblen	Micorrizas sem P ₂ O ₅	P ₂ O ₅ e Polyter seco	P ₂ O ₅ e Polyter hidratado	Polyter hidratado e micorrizas
				
Solo fertilizado c/ superfosfato 18% e hidratado com água;	Solo hidratado com água;	Solo fertilizado c/ superfosfato 18% e hidratado com água;	Solo fertilizado c/ superfosfato 18% e polyter hidratado (mix no substrato);	Solo fertilizado c/ polyter hidratado (mix no substrato);
				
Fertilização com Agroblen (30g) em contacto direto com a planta;	Aplicação da pastilha micorriza em contacto direto com a planta de contentar;	Aplicação de polyter seco (2g/planta) em contacto direto com a planta;	Colocação da planta no vaso e cobrir o restante com a mix de substrato com polyter hidratado;	Aplicação da pastilha micorriza em contacto direto com a planta;
				
	Cerca de 12 plantas foram mergulhadas no caldo esporal (Trat. a2.1);			Cerca de 10 plantas foram mergulhadas no caldo esporal (Trat. a5.1);

Figura 7: Procedimentos utilizados para cada tratamento (a1 - a5)

Foi ainda testada a aplicação de mulch. Este consiste na aplicação de materiais à superfície do solo, preferencialmente orgânicos, que possibilitam a proteção das plantas face ao frio, calor ou até mesmo seca. A utilização desta cobertura permite conservar a humidade, reduzindo as perdas de água e isolando o solo, protegendo-o de bruscas alterações climáticas e, ainda, reduzindo a germinação de infestantes (Desenvolvimento Sustentável, 2020).

O material testado proveio do destroçamento de resíduos florestais, provenientes de floresta, de povoamentos de eucalipto, após o corte final sendo a biomassa constituída por resíduos de bicadas e ramos triturados.

O mulch foi aplicado sobre o solo em 50% das plantas, criando uma camada protetora, doravante identificado pela classificação 0 vs 1 (sem vs com cobertura de biomassa). Com base na figura 8, identificam-se os dois tipos de solo, textura grosseira, arenoso (S2) e textura média, com maior teor em argila (S1), assim como a aplicação do mulch nos vasos.



Figura 8: Representação dos tratamentos com mulch (50%) e tipo de solo (S1 e S2)

2.3 Delineamento experimental

Para a instalação do ensaio foram utilizados 3 blocos completos e casualizados. Para cada tratamento previa-se a utilização de 30 plantas, o que corresponderia a um total de 300 plantas (3 blocos x 2 tipos de textura de solo x 5 tratamentos x 10 plantas / tratamento).

No entanto, devido ao reduzido volume do contentor, tipo de tecido envolvente (perda elevada de humidade) e período que mediou entre o transporte das plantas, receção do solo e instalação, algumas plantas ficaram inutilizáveis. Na tabela 3, estão identificadas as plantas testadas por tratamento, bloco e tipo de solo.

Tabela 3: Número de plantas por tratamento (a1-a5), tipo de solo (S1 e S2) e bloco (1-3)

Solo Tratamento	Bloco 1		Bloco 2		Bloco 3		Total
	S1	S2	S1	S2	S1	S2	
a1	10	9	10	9	10	9	57
a2	10	9	9	9	9	9	55
a3	9	9	9	9	9	9	54
a4	5	5	5	6	5	6	32
a5	9	6	9	6	9	6	45
Total	81		81		81		243

Após a preparação do ensaio, as plantas foram colocadas em viveiro, na área de aclimação (rede de sombra 50%), durante um período de 12 dias (20 a 31 de maio de 22), submetidas à rega de aspersão em aclimação. Durante este período, pretendeu-se simular boas condições de crescimento, durante um curto período.

Após estes 12 dias as plantas foram transferidas para o exterior sem rega nem cobertura (1 de junho de 22) e colocadas de forma casual (Figura 9).

As observações de sobrevivência foram realizadas ao fim de 16, 27 e 41 dias no exterior, respetivamente a 16 de junho, 27 de junho e 11 de julho.



Figura 9: Distribuição das plantas no campo por bloco (1-3) e tratamento/solo

2.4 Avaliação de parâmetros de tolerância ao stress hídrico

Para avaliação da tolerância ao stress hídrico em função dos tratamentos testados (a1 -a5), tipo de solo (S1 e S2) e cobertura com mulch (0 vs 1), procedeu-se à avaliação além da sobrevivência, a um conjunto de parâmetros fisiológicos (que a seguir se descrevem), ao fim de 16, 27 e 41 dias no exterior (identificados como Dt1, Dt2 e Dt3, respetivamente).

A altura foi avaliada imediatamente após a instalação do ensaio e colocação das plantas casualmente na área de aclimação do viveiro e, posteriormente, avaliação a 16 de junho, após 16 dias no exterior sem rega (Figura 10), para determinação do acréscimo médio em altura. Após 16 dias em condições de stress hídrico as plantas não apresentaram acréscimo em altura, mas pelo contrário sinais evidentes de stress até à morte do gomo apical (ponto de referência para a medição).



Figura 10: Método utilizado para avaliação dos dados paramétrica









Para avaliação da resposta da planta em condições de stress hídrico foram avaliadas as seguintes variáveis não paramétricas, de acordo com uma classificação, em 3 datas distintas (Dt1 a Dt3). Para a avaliação dos parâmetros fisiológicos foram realizadas diferentes observações conforme figura 11, sendo o valor final igual ao somatório de cada um dos parâmetros observados, a seguir referidos.

- Sobrevivência: a sobrevivência foi a primeira variável a ser observada, e classificava-se como planta morta ou viva, 0 e 1 respetivamente. Quando a planta estava morta não se avaliava mais nenhuma variável.

- Presença de gomos axilares (0-sem ;1-com gomos axilares; Figura 11-a)

- Turgidez (0-Seco; 1- Ápice ereto; 2- Turgidez total e ereta; Figura 11 -b)

- Desenvolvimento foliar (0-Folhas secas e tombadas; 1-Folhas secas e ápice verde; 2- Todas as folhas verdes; Figura 11- c)

Avaliação dos parâmetros fisiológicos por notação (variável não paramétrica)			
Variáveis	0	1	2
Gomos axilares a)			/
	Sem gomos	Com gomos	
Turgidez b)			
	Seco	Ápice ereto	Turgidez total e ereta
Desenvolvimento foliar c)			
	Folhas secas e tombadas	Folhas secas e ápice verde	Todas as folhas verdes

Nota: Soma total dos parâmetros fisiológicos (0-6): Sobrevivência; Gomos axilares; Turgidez; Desenvolvimento foliar

Figura 11: Representação dos critérios selecionados para a avaliação dos parâmetros fisiológicos

Após a classificação das variáveis conforme figura 11 foi calculada a soma total dos parâmetros, com intervalo global de 0-6.

Na avaliação dos parâmetros clorofila e flavonoides foi utilizado o aparelho DUALEX 4 Scientific. Este é um medidor de grampos utilizado principalmente em estudos de stress hídrico (fisiologia, agronomia, ecologia, entre outros), com capacidade para determinar o índice de clorofila, flavonoides e antocianinas nas folhas, e ainda o NBI (índice de nitrogénio) (ForceA, 2022a).

A medição destes parâmetros é possível através de duas óticas, a superior funciona como uma fonte de luz que contém 5 diferentes LEDs (1 LED UV-A; 2 LEDs emissores de luz visível; 2 LEDs emissores NIR) e a inferior que contém um detetor ótico (filtrado por um fotodíodo PIN) (ForceA, 2022b).

Para realizar a medição, abre-se os grampos e coloca-se a folha pretendida entre as óticas, e de seguida, o aparelho automaticamente faz a medição, podendo emitir dois sons diferentes, consoante a medição esteja correta ou incorreta.

As plantas têm a capacidade de sintetizar os diversos compostos orgânicos através da fotossíntese. Este processo usa um pigmento verde que é denominada clorofila. O pigmento é a molécula que tem uma cor particular e consegue absorver a luz em diferentes comprimentos de onda, dependendo da cor (Berkeley - university of California, 2022).

A função da clorofila na planta é a absorver luz (luz solar) e transferir a energia para dois tipos de moléculas armazenadoras de energia. Através da fotossíntese, a planta utiliza a energia armazenada para converter o dióxido de carbono (CO_2) absorvido do ar em oxigénio (O_2), e água em glicose (hidrato de carbono). O uso da glicose e a energia (ATP) juntamente com os nutrientes minerais retirados do solo permite o desenvolvimento e o crescimento essenciais à sobrevivência da planta (Moreira, 2013).

O DUALEX mede o teor de clorofila através da análise da luz transmitida pela ótica através da folha, numa relação de transmissão em dois comprimentos de onda, um no vermelho (Figura 12 - 5) absorvido pela clorofila e um próximo do infravermelho (Figura 12 - 6) (ForceA, 2022a).

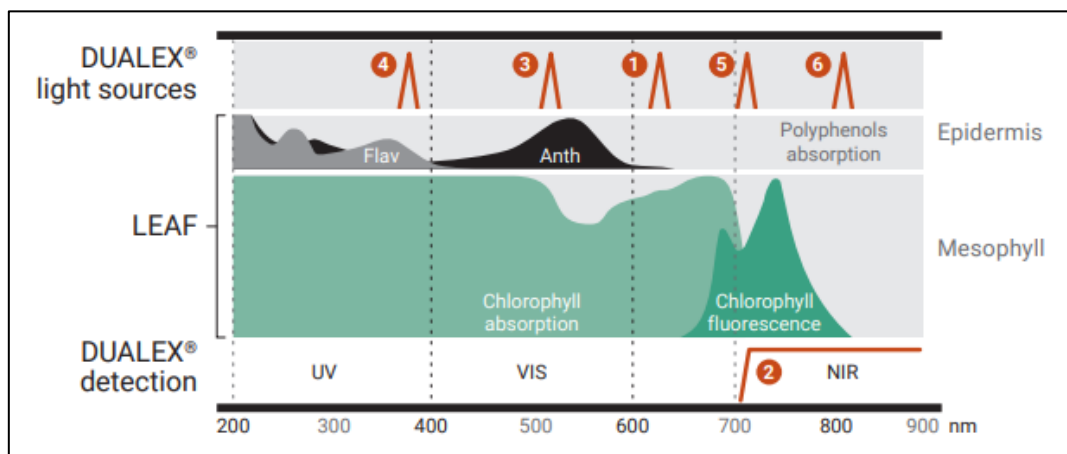


Figura 12: Ilustração do funcionamento das óticas nas diferentes partes da folha e respectivas leituras de comprimento de onda correspondentes à clorofila e flavonoides

Os flavonoides são metabolitos secundários estruturalmente diversos nas plantas, responsáveis desde regulação do desenvolvimento da planta, pigmentação e proteção UV, até um conjunto de defesas e interação entre plantas e microrganismos (Australian National University, 2018).

Os flavonoides são sintetizados em todas as partes da planta e desempenham um papel fundamental no fornecimento da cor, fragrância e sabor dos frutos, flores e sementes, o que os torna atrativo para os insetos, aves ou mamíferos que ajudam na transmissão do pólen e/ou sementes (Mierziak et al., 2014).

A medição do teor de flavonoides da epiderme das folhas acontece através da relação diferencial da fluorescência da clorofila, ou seja, a fluorescência da clorofila próxima do infravermelho é medida sob um primeiro feixe de luz não absorvida pelos polifenóis (Figura 12 - 1), que, é comparada com um segundo feixe de luz específico absorvida pelos polifenóis, nomeadamente, UV (Figura 12 - 4) para flavonoides (ForceA, 2022a). Os valores dos flavonoides no DUALEX 4, por definição, não apresentam unidades de medida, uma vez que, estes representam uma relação (Cerovic et al., 2012).

Para avaliação destes parâmetros foi feita a medição no terceiro par de folhas a contar da parte superior, onde as folhas apresentavam tamanho suficiente permitindo, assim, uma fácil leitura pelas óticas, utilizando sempre a mesma metodologia (Figura 13) ao fim de 16, 27 e 41 dias no exterior (Dt1 a Dt3).



Figura 13: Metodologia utilizada em campo, com o aparelho DUALEX 4 Scientific para avaliação da clorofila e flavonoides

Ao fim de 41 dias no exterior (a 11 de julho), era evidente o stress hídrico (Figura 14). Nesta data, após a avaliação dos diferentes parâmetros fisiológicos, procedeu-se à recolha de plantas sobreviventes por tratamento para posterior observação do sistema radicular.



Figura 14: Representação dos ensaios no campo ao fim de 41 dias no exterior

2.5 Dados climáticos

Os dados climáticos foram provenientes da estação meteorológica da ESAC, com o intuito de avaliar as diferentes variáveis climáticas entre 1 de junho e 11 de julho de 2022 (Anexo IV), correspondente ao período em que as plantas permaneceram no exterior, sem rega, nem cobertura. As plantas foram expostas a diferentes fatores abióticos, responsáveis pelo stress hídrico induzido e que alteram o comportamento da planta, nomeadamente, a temperatura ($^{\circ}\text{C}$), humidade relativa (%), radiação solar ($\text{MJ m}^{-2} \text{d}^{-1}$), velocidade do vento (km/h), precipitação (mm) e evapotranspiração (mm).

No decurso do ensaio, registaram-se temperaturas médias a variar entre 16,8 e 28 $^{\circ}\text{C}$, sendo a temperatura máxima registada de 39,8 $^{\circ}\text{C}$ e a mínima de 8,8 $^{\circ}\text{C}$. É importante referir a ocorrência de uma onda de calor com uma máxima a variar entre 30,2 $^{\circ}\text{C}$ a 38 $^{\circ}\text{C}$ durante um período de 7 dias (de 9 de junho a 15 de junho) e, um aumento significativo da temperatura no mês de julho (entre os dias 6 e 9 de julho), conforme se pode observar no anexo V.

A radiação solar foi irregular durante todo o ensaio, com variações entre 11,4 $\text{MJ m}^{-2} \text{d}^{-1}$ e 31,1 $\text{MJ m}^{-2} \text{d}^{-1}$, sendo os picos de radiação registados de 27 de junho a 2 de julho e 5 a 10 de julho (Anexo VI).

A precipitação é fundamental em todas as fases dos povoamentos de eucalipto, desde a preparação do terreno à sua exploração, no entanto, este fator climático tem maior influencia na fase de plantação (Tosta, 2020). Durante os 41 dias, a precipitação foi muito reduzida, tendo-se registado 0 mm em 30 dias e uma variação entre 0,6 e 7,6 mm nos restantes 11 dias, valores pouco expressivos (Anexo VII).

Relativamente à evapotranspiração, os valores oscilaram entre 2,4 mm e 7,1 mm, sendo que, o período de maior perda de água foi de 7 a 13 de junho, à exceção do dia 8 (registado 0,6 mm de precipitação) e de 5 a 9 de julho (Anexo VIII).

O vento é um dos fatores que influencia o crescimento das plantas, uma vez que, pode manipular o nível de transpiração da planta e a absorção de dióxido de carbono (CO_2) (Tosta, 2020). No que diz respeito à velocidade do vento máxima, registaram-se valores superiores a 15 km/h em quase todos os dias, sendo o valor máximo de 24,4 km/h (Anexo IX).

Ao longo do período de ensaio, a percentagem de humidade relativa média variou 47,8 e 87,9% (Anexo X), sendo o período mais crítico registado de 7 a 9 de julho, onde se registou a percentagem mais baixa da humidade relativa mínima de 13,6%.

2.6 Análise Estatística

Para análise estatística utilizou-se o programa STATISTICA (versão 12). Em primeiro lugar procedeu-se à análise da distribuição das variáveis. A altura foi a única variável com distribuição normal (variável paramétrica). Neste caso, procedeu-se à análise de variância (Anova) para avaliar o efeito da interação solo x tratamento no acréscimo em altura. Como foram observadas diferenças significativas no acréscimo em altura em função da interação, procedeu-se à realização de um teste de comparação múltipla de médias, teste de Tukey, para um nível de significância inferior a 5%, com o objetivo de identificar as condições em que foi observada a maior tolerância ao stress hídrico. Para a variável de sobrevivência expressa em percentagem procedeu-se à transformação do seu valor, em arc sen da raiz quadrada do valor percentual, de forma a reduzir a variabilidade e transformar numa variável com distribuição normal para a realização da análise de variância.

Para as variáveis observadas através de notação e variáveis fisiológicas, sem distribuição normal, foi efetuada uma análise não paramétrica. Neste caso as médias foram comparadas pelo teste Kruskal-Wallis, para testar a existência de diferenças significativas devido aos tratamentos testados e/ou sua interação.

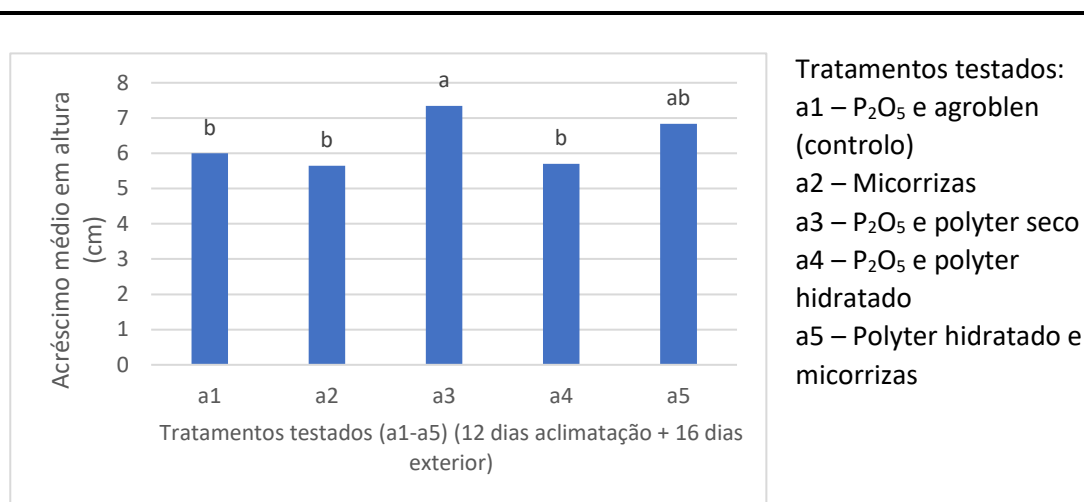
Foi efetuada uma análise fatorial (PCA- análise de componentes principais) com o objetivo de melhor identificar a relação entre as variáveis estudadas e avaliar a percentagem de variância total explicada pelos fatores. Através da análise fatorial pretende-se estimar de um modo global a relação entre todas as variáveis estudadas e identificar as condições que permitiram uma maior tolerância ao stress hídrico.

3. Resultados e discussão

3.1 Acréscimo médio em altura

No dia 20 de maio após a preparação do ensaio, foi medida a altura de todas as plantas (H0) de modo a avaliar o seu crescimento após 16 dias no exterior, sem rega nem cobertura, ou seja, já em condições de stress hídrico.

A figura 15 mostra o acréscimo em altura em função dos tratamentos testados (a1-a5).



Nota: Letras diferentes mostram a existência de diferenças significativas (Anexo XI - Teste de Tukey 5%)

Figura 15: Valores médios do acréscimo em altura (média \pm SE) observados ao fim de 12 dias em aclimação e 16 dias no exterior (DT1) em função do tipo de tratamento testado

Na avaliação do acréscimo em altura (cm) em cada tratamento ao fim de 12 dias em aclimação e 16 dias no exterior (Figura 15) nota-se que o tratamento a3 apresenta o melhor resultado sem diferenças significativas do tratamento a5. Não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos a1, a2, a4 e a5.

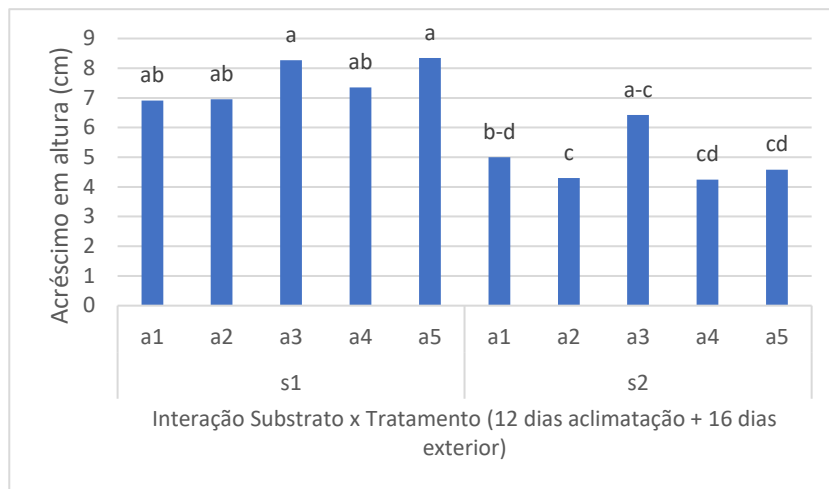
Os valores apresentados na tabela 4 representam os valores médios do acréscimo em altura em função do tipo de solo e tratamento.

Tabela 4: Valores médios do acréscimo em altura (média \pm SE) para cada tipo de solo (S1 e S2) e tratamento (a1-a5)

Substrato	Tratamento	Acréscimo em H (cm)				Tratamentos testados:
		N	Média	\pm	SE	
S 1 (> % argila)	a1	30	6,91	\pm	0,37	a1 – P ₂ O ₅ e agrobien (controlo)
	a2	28	6,95	\pm	0,54	a2 – Micorrizas
	a3	27	8,27	\pm	0,68	a3 – P ₂ O ₅ e polyter seco
	a4	15	7,35	\pm	0,57	a4 – P ₂ O ₅ e polyter hidratado
	a5	27	8,34	\pm	0,46	a5 – Polyter hidratado e micorrizas
Total S1		127	7,56	\pm	0,24	
S 2 (> % areia)	a1	27	5,00	\pm	0,36	Tipo de solo: S1 – Maior teor em argila, textura média S2 – Menor teor em argila, textura grosseira
	a2	27	4,30	\pm	0,43	
	a3	27	6,42	\pm	0,44	
	a4	17	4,24	\pm	0,51	
	a5	18	4,58	\pm	0,51	
Total S2		116	4,99	\pm	0,21	
Total Geral		243	6,33	\pm	0,12	

O solo de textura média (S1) apresenta valores médios de acréscimo em altura das plantas superiores ao solo de textura grosseira (S2). No solo S1 os valores médios mais elevados correspondem ao tratamento a5 (8,34 cm), a3 (8,27 cm) e a4 (7,35 cm), enquanto, no solo S2 há dominância no tratamento a3 (6,42 cm), seguindo-se do a1 (5,00 cm) e a5 (4,58 cm).

Na interação solo x tratamento (Figura 16), os valores são significativamente superiores em S1 à exceção do S2a3 (tratamento com polyter seco).



Tratamentos testados:
a1 – P₂O₅ e agrobien (controlo)
a2 – Micorrizas
a3 – P₂O₅ e polyter seco
a4 – P₂O₅ e polyter hidratado
a5 – Polyter hidratado e micorrizas

Tipo de solo:
S1 – Maior teor em argila, textura média
S2 – Menor teor em argila, textura grosseira

Nota: Letras diferentes mostram a existência de diferenças significativas (Anexo XI - Teste de Tukey 5%)

Figura 16: Valores médios do acréscimo em altura (média ± SE) observados ao fim de 12 dias em aclimação e 16 dias no exterior em função da interação entre o tipo de solo e o tratamento testado

No solo S1 não foram observadas diferenças significativas entre tratamentos, contudo, salientam-se os tratamentos a3 e a5 com os maiores valores médios de acréscimo em altura (cm). Para o solo S2 identificam-se poucas diferenças entre os tratamentos, com o acréscimo médio de altura entre os 4 e 5 cm, à exceção do tratamento a3 que atinge um valor médio superior a 6 cm.

3.2 Sobrevivência

Os valores da sobrevivência (%) variam de 99% a 51% ao fim de 16 a 41 dias no exterior (16 de junho a 11 de julho) (Tabela 5 – a), apresentando significativamente maior taxa de sobrevivência em S1 (maior teor em argila) comparativamente ao solo S2 (menor teor em argila) (Tabela 5– b).

A tabela 5 – c mostra os valores médios de sobrevivência em função dos tratamentos testados. Os melhores resultados foram observados com os tratamentos a3, a4 e a1 com 94%, 81% e 79%, respectivamente.

Tabela 5 - Valores médios da sobrevivência (média ± SE) observados em função de: a) número de dias no exterior; b) tipo de solo e c) tipo de tratamento testado.

a)

Dias Exterior	Sobrevivência (%)			
	N	Média	± SE	
Dt 1-16d	30	99,44	± 0,56	^a
Dt 2-27d	30	87,26	± 4,03	^b
Dt 3-41d	30	50,70	± 7,04	^c

c)

Tratamento	Sobrevivência (%)			
	N	Média	± SE	
a1	18	79,81	± 8,05	^{ab}
a2	18	68,33	± 9,44	^b
a3	18	94,44	± 2,88	^a
a4	18	80,56	± 8,22	^{ab}
a5	18	72,53	± 7,81	^b

b)

Tipo de solo	Sobrevivência (%)			
	N	Média	± SE	
s1	45	88,64	± 3,60	^a
s2	45	69,63	± 5,61	^b

Tratamentos testados:

a1 – P₂O₅ e agrobien (controle)

a2 – Micorrizas

a3 – P₂O₅ e polyter seco

a4 – P₂O₅ e polyter hidratado

a5 – Polyter hidratado e micorrizas

Tipo de solo:

S1 – Maior teor em argila, textura média

S2 – Menor teor em argila, textura grosseira

Nota: Os valores representam a média ± erro padrão; letras diferentes mostram a existência de diferenças significativas (Anexo XII - Teste de Tukey 5%)

Segundo a figura 17-a, para a interação data x tratamento para as 3 datas (Dt1, Dt2 e Dt3), o tratamento com maior taxa de sobrevivência é o a3 (P₂O₅ e polyter seco), seguindo-se do a1, a4 e a5 ao fim de 41 dias.

Ao analisar individualmente a interação solo x tratamento para a data 1 (16 dias exterior) (Figura 17-b), a taxa de sobrevivência foi de 100% para todos os tratamentos e tipos de solo à exceção do a5S2 com 94%. Para a data 2 (27 dias no exterior) (Figura 17-c), a taxa de sobrevivência foi de 87% e nota-se maior sobrevivência no tipo de solo S1, com uma média de 97%, enquanto no solo S2 a média é de 77%. Na data 3 (41 dias no exterior) (Figura 17-d) evidencia-se maior sobrevivência para o tipo de solo S1, cerca de 69%, comparativamente ao solo S2 com 33%. Contudo, no tratamento a3 o valor médio do S2 é superior ao S1, sendo esta a única exceção. Este facto evidencia que em solos de textura grosseira (S2) com maior risco stress hídrico, o tratamento a3 (P₂O₅ e polyter seco) contribui de forma relevante para a maior sobrevivência (superior a 80%).

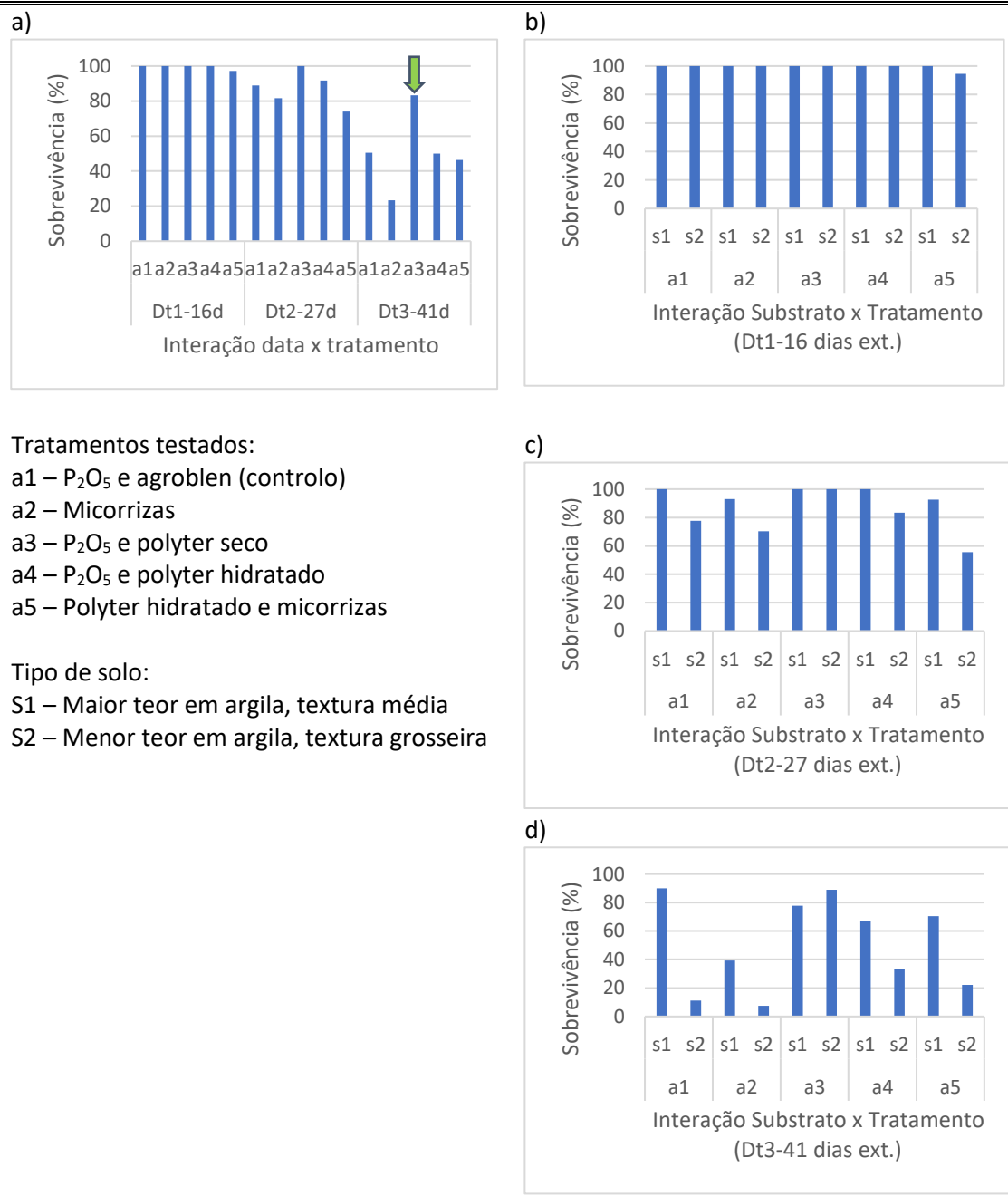


Figura 17: Valores médios da sobrevivência (%) observados ao fim de 16, 27 e 41 dias no exterior (Dt1 -Dt3) em função da interação entre solo x tratamento e data x tratamento

3.3 Total parâmetros fisiológicos

3.3.1 Interação entre substrato e a aplicação de mulch

A figura 18 representa o efeito da interação do Substrato x Mulch na observação do total de parâmetros fisiológicos (0-6). O valor mais alto (6) corresponde a plantas sobreviventes (1), com presença de gomos axilares (1), com turgidez total e planta ereta (2) e com todas as folhas verdes (2).

Ao fim de 16 dias no exterior (Figura 18-a) notou-se uma relação positiva na aplicação de mulch, ao fim de um período curto de tempo no exterior, sem rega nem cobertura. No entanto, são mais evidentes as diferenças entre substratos que entre a colocação de mulch, tendo sido observados resultados superiores no substrato S1 (com textura média).

Ao fim de 27 dias exterior (Figura 18-b) a colocação de mulch em S1 mostrou resultados significativamente superiores. Este facto poderá estar relacionado com as condições meteorológicas com a ocorrência de uma onda de calor com uma máxima a variar entre 30,2°C a 38°C durante um período de 7 dias, de 9 de junho a 15 de junho (Anexo IV). De salientar que não existem diferenças significativas entre o solo S1 sem mulch e o solo S2 com mulch.

Ao fim de 41 dias no exterior, 11 de julho, (Figura 18-c) os valores baixaram consideravelmente, porém o solo S1 com mulch apresenta resultados superiores sem diferenças significativas com o solo S1 sem mulch. O valor mais baixo foi observado em S2 sem a colocação de mulch.

Ao avaliar o efeito da interação substrato x mulch ao fim das 3 datas (16, 27 e 41 dias) verifica-se que os melhores resultados foram observados no solo S1 comparativamente a S2. Para o tipo de solo S2, a aplicação de mulch melhorou os resultados, com diferenças significativas ao fim de 16 dias no exterior, que ao longo do tempo tendem a reduzir-se.

Tipo de solo:
 S1 – Maior teor em argila,
 textura média
 S2 – Menor teor em argila,
 textura grosseira

Total parâmetros
 fisiológicos (0-6):
 – Sobrevivência (0-1);
 – Gomos axilares (0-1);
 – Turgidez (0-2);
 – Desenvolvimento foliar
 (0-2);

Nota: Letras diferentes
 mostram a existência de
 diferenças significativas
 (Anexo XIII - Teste de
 Kruskal-Wallis)

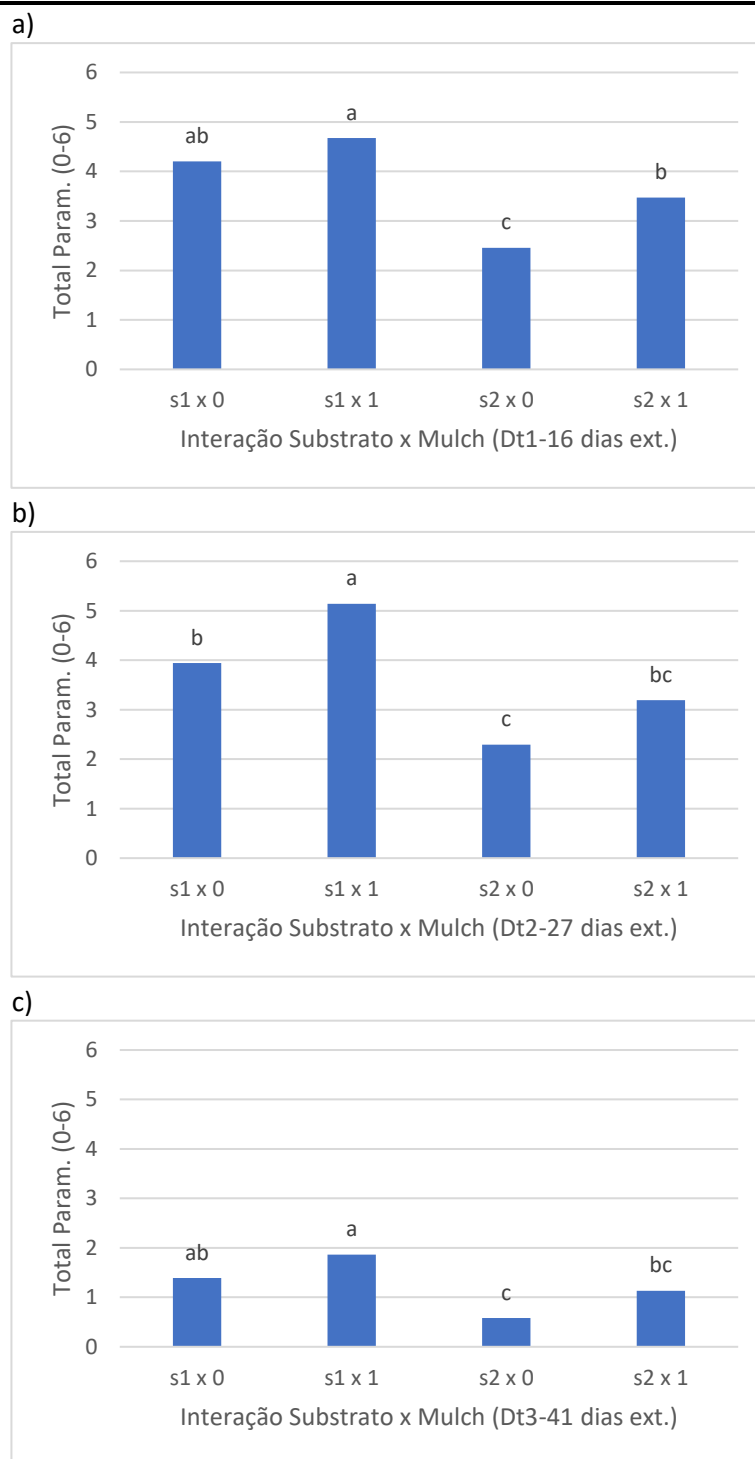


Figura 18: Valores médios do total parâmetros fisiológicos observados ao fim de 16, 27 e 41 dias no exterior (Dt1 - Dt3) em função da interação entre substrato x mulch

3.3.2 Interação entre substrato e tratamento

Ao avaliar o efeito da interação substrato x tratamento ao fim das 3 datas (16, 27 e 41 dias) verificou-se que os melhores resultados foram observados no solo S1 (maior teor em argila) comparativamente ao S2 (menor teor em argila). A aplicação de superfosfato 18% revelou ser importante pois foi evidente a diferença com os tratamentos sem o P_2O_5 , precisamente o a2 e a5, mas também o a2.1 e a5.1. Este facto deveu-se a serem tratamentos com micorrizas e à opção de não terem sido adicionados fertilizantes.

Ao analisar individualmente, ao fim de 16 dias no exterior (Figura 19-a), para o solo S1 os melhores resultados são o tratamento a1, a3 e a4, enquanto no solo S2 o melhor tratamento é o a1, a3 e a4, significativamente superior aos restantes tratamentos (à exceção do a5.1 – nº reduzido de plantas).

Após os 27 dias (Figura 19-b), os resultados para o solo S1 foram semelhantes aos valores obtidos aos 16 dias. Para o solo S2 (textura grosseira) começa a evidenciar-se a diferença de tratamentos com uma menor resposta do tratamento de controlo (a1).

Ao fim de 41 dias (Figura 19-c), foi evidente o stress hídrico observado nas plantas, uma vez que ocorreu uma diminuição brusca dos valores do total parâmetros, inferiores a 2,5 num total de 6. Uma possível explicação é o aumento da temperatura no mês de julho, onde se registou a máxima de 39,8 °C. Os resultados observados para o solo S1 foram mais elevados relativamente ao solo S2, à exceção do tratamento a3. Este tratamento mostrou ser significativamente superior aos restantes tratamentos no tipo de solo S2, à exceção do tratamento a5.1 (Polyter hidratado e caldo esporal de *P. tinctorius*). No entanto, neste caso, foram testados um número reduzido de plantas. Mas, estes resultados sugerem que a utilização de caldo esporal de *Pisolithus Tinctorius*, fungo ectomicorrízico pioneiro poderá ter um papel relevante para a sobrevivência das plantas.

Tratamentos testados:
a1 – P₂O₅ e agroblen (controle)
a2 – Micorrizas
a5.1 – caldo esporal de *P. tinctorius*
a3 – P₂O₅ e polyter seco
a4 – P₂O₅ e polyter hidratado
a5 – Polyter hidratado e micorrizas
a5.1 – Polyter hidratado com caldo esporal de *P. tinctorius*

Tipo de solo:
S1 – Maior teor em argila, textura média
S2 – Menor teor em argila, textura grosseira

Total parâmetros fisiológicos (0-6):
– Sobrevivência (0-1);
– Gomos axilares (0-1);
– Turgidez (0-2);
– Desenvolvimento foliar (0-2);

Nota: Letras diferentes mostram a existência de diferenças significativas (Anexo XIV -Teste de Kruskal-wallis)

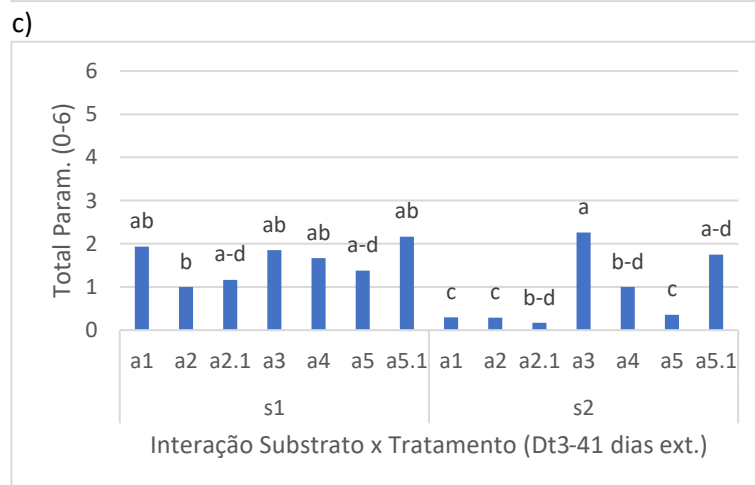
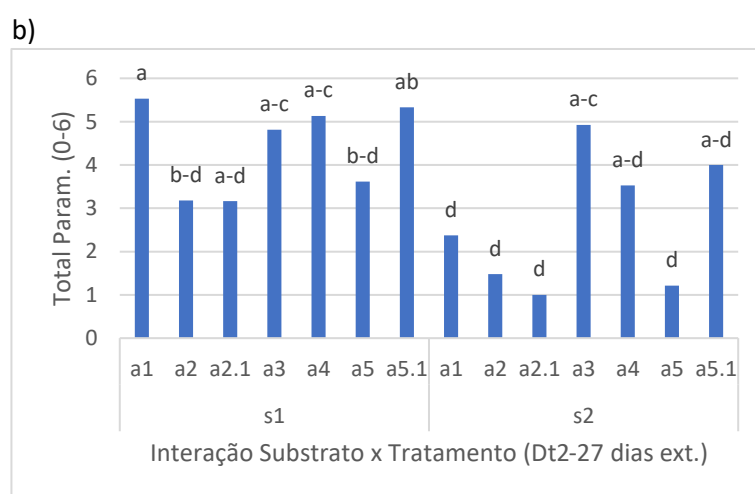
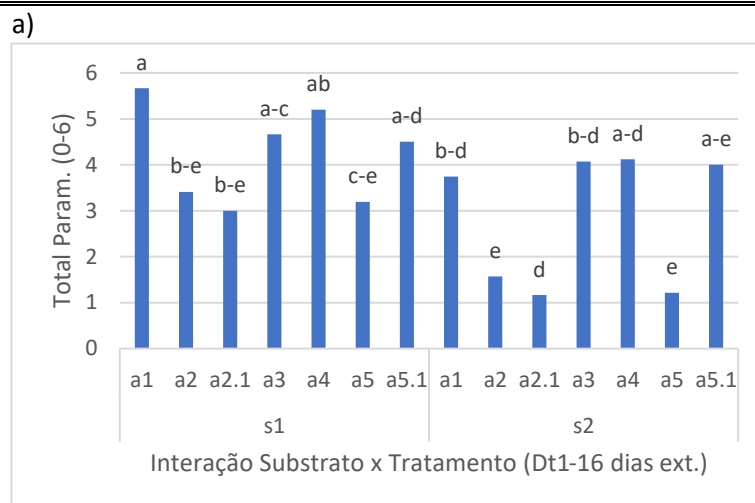


Figura 19: Valores médios do total parâmetros observados ao fim de 16, 27 e 41 dias no exterior (Dt1 -Dt3) em função da interação entre substrato x tratamento

3.4 Clorofila e Flavonoides

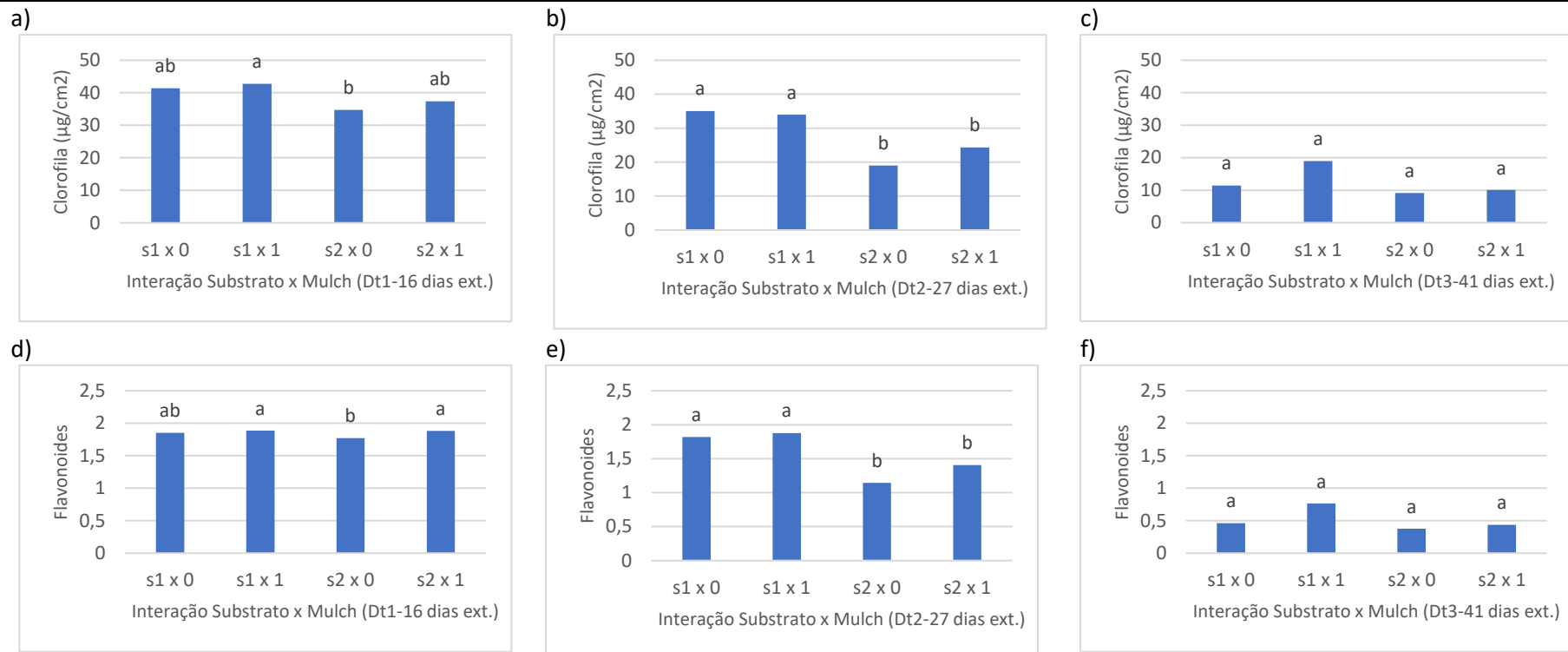
3.4.1 Interação entre substrato e a aplicação de mulch

Os dados relativos a teor em clorofila e flavonoides estão relacionados, sendo evidente a interação entre estas variáveis para as diferentes datas de observações ao fim de 16, 27 e 41 dias no exterior.

O efeito da interação entre substrato x mulch ao fim de 16 dias no exterior (Figura 20-a/d) evidenciou que os valores médios de clorofila e flavonoides foram superiores no substrato S1 (textura média) quando coberto com mulch (S1x1). No entanto, sem diferenças significativas do mesmo substrato sem mulch (S1x0). Ainda, há a referir que no período mais curto de tempo (16 dias), os resultados observados no substrato de textura média (S1) sem mulch (S1x0) não apresentaram diferenças significativas dos valores médios observados no substrato de textura grosseira com mulch (S2x1). Este aspeto tinha já sido observado previamente para a variável total de parâmetros fisiológicos.

Ao fim de 27 dias no exterior (Figura 20-b/e), observam-se diferenças significativas para o tipo de solo S1 (maior teor em argila) comparativamente a S2 (menor teor de argila), o que permite constatar que a presença de mulch não permitiu melhorar a resposta ao stress hídrico. Neste caso, o solo (S1) com maior teor em argila, com maior retenção de água, permitiu aumentar a tolerância ao stress hídrico das plantas.

Contudo, ao fim de 41 dias no exterior (Figura 20-c/f), os resultados já não mostraram diferenças significativas relativa aos valores de clorofila e flavonoides. Globalmente, num período curto de tempo (16 dias de stress hídrico) o mulch reduziu o stress hídrico num solo arenoso (S2), ao fim de 27 dias a tolerância ao stress hídrico está relacionada com a textura do solo, mas, ao fim de 41 dias já não foram observadas diferenças na resposta das plantas devido à interação do substrato e à colocação de mulch.



Tipo de solo:

S1 – Maior teor em argila, textura média

S2 – Menor teor em argila, textura grosseira

Nota: Letras diferentes mostram a existência de diferenças significativas (Anexo XV e XVI - Teste de Kruskal Wallis)

Figura 20: Valores médios da clorofila e flavonoides observados ao fim de 16, 27 e 41 dias no exterior (Dt1 -Dt3) em função da interação entre substrato x mulch

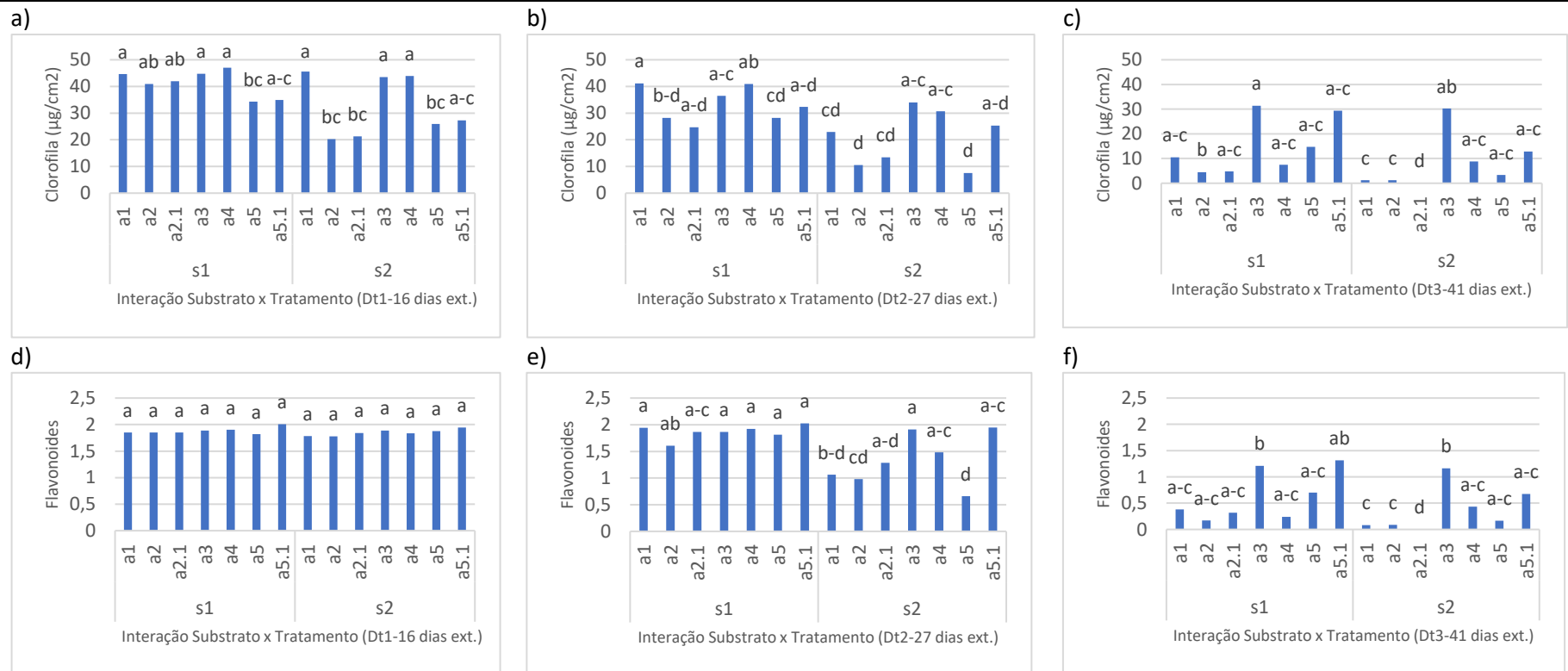
3.4.2 Interação entre substrato e tratamento

Na avaliação da interação entre substrato x tratamento no teor em clorofila ao fim de 16, 27 e 41 dias no exterior (Figura 21 a-c) verificam-se melhores resultados para o solo/substrato S1 comparativamente ao solo/substrato S2, com destaque ao fim de 16 dias com tendência a reduzir-se ao longo do tempo. De salientar que a aplicação de P_2O_5 demonstrou ser importante na aplicação no substrato, sendo notável a diferença para o tratamento a2, a2.1 e a5, a5.1. Ao fim de 41 dias no exterior os melhores resultados foram observados para o tratamento a3 (P_2O_5 e polyter seco) para ambos os tipos de solo (S1 e S2).

Para os valores médios dos flavonoides ao fim de 16 dias no exterior (Figura 21-d) não se verificaram diferenças significativas entre substrato x tratamento.

Ao fim de 27 dias (Figura 21-e) observam-se melhores resultados em S1 (maior teor em argila) do que em S2 (menor teor em argila), sem diferenças significativas do a3, a4 e a5.1 observados no tipo de solo S2 (textura grosseira).

Após os 41 dias (Figura 21-f), em S1 os melhores resultados foram os tratamentos a3 e a5.1, sem diferenças significativas do tratamento a3 observado no tipo de solo S2 de textura grosseira. Estes resultados estão de acordo com os previamente registados para a variável não paramétrica de total parâmetros fisiológicos.



Tratamentos testados:

a1 – P₂O₅ e agrobien (controlo)

a2 – Micorrizas

a2.1 –caldo esporal de *P. tinctorius*

a3 – P₂O₅ e polyter seco

a4 – P₂O₅ e polyter hidratado

a5 – Polyter hidratado e micorrizas

a5.1 – Polyter hidratado com caldo esporal de *P. tinctorius*

Tipo de solo:

S1 – Maior teor em argila, textura média

S2 – Menor teor em argila, textura grosseira

Nota: Letras diferentes mostram a existência de diferenças significativas (Anexo XVII e XVIII - Teste de Kruskal Wallis e teste de Tukey)

Figura 21: Valores médios da clorofila e flavonoides observados ao fim de 16, 27 e 41 dias no exterior (Dt1 -Dt3) em função da interação entre substrato x tratamento

3.5 Avaliação ao final do maior período de stress hídrico

Ao avaliar a sobrevivência, total parâmetros e clorofila ao fim de 41 dias no exterior (Dt3) (Figura 22) observa-se que os melhores resultados foram registados no tipo de solo S1 (maior teor em argila) comparativamente a S2 (menor teor em argila), sem diferenças significativas dos valores médios observados nos tratamentos a3 e a5.1 no tipo de solo de textura grosseira (S2).

Em S1 não foram observadas diferenças significativas entre tratamentos, à exceção do tratamento a2 que apresentou os valores médios mais baixos. Para o solo S2 (textura grosseira), foi evidente o melhor desempenho para todas as variáveis do tratamento a3 que apresentou valores médios semelhantes e sem diferenças significativas do tipo de solo S1 textura média (com maior teor de argila).

Os piores desempenhos observados para o solo S2, foram com o tratamento a1/controlo, com aplicação de superfosfato e adubo de libertação controlada, e o a2, com uso de ectomicorrizas, e sem adição de P.

Considerando os valores médios de clorofila observados ao fim de 41 dias, os melhores resultados foram observados com o tratamento a3, para ambos tipos de solos.

Tratamentos testados:

- a1 – P₂O₅ e agroblen (controle)
- a2 – Micorrizas
- a2.1 – caldo esporal de *P. tinctorius*
- a3 – P₂O₅ e polyter seco
- a4 – P₂O₅ e polyter hidratado
- a5 – Polyter hidratado e micorrizas
- a5.1 – Polyter hidratado com caldo esporal de *P. tinctorius*

Tipo de solo:

- S1 – Maior teor em argila, textura média
- S2 – Menor teor em argila, textura grosseira

Total parâmetros fisiológicos (0-6):

- Sobrevivência (0-1);
- Gomos axilares (0-1);
- Turgidez (0-2);
- Desenvolvimento foliar (0-2);

Nota: Letras diferentes mostram a existência de diferenças significativas (Anexo XIX, XIV e XVII - Teste de Kruskal Wallis)

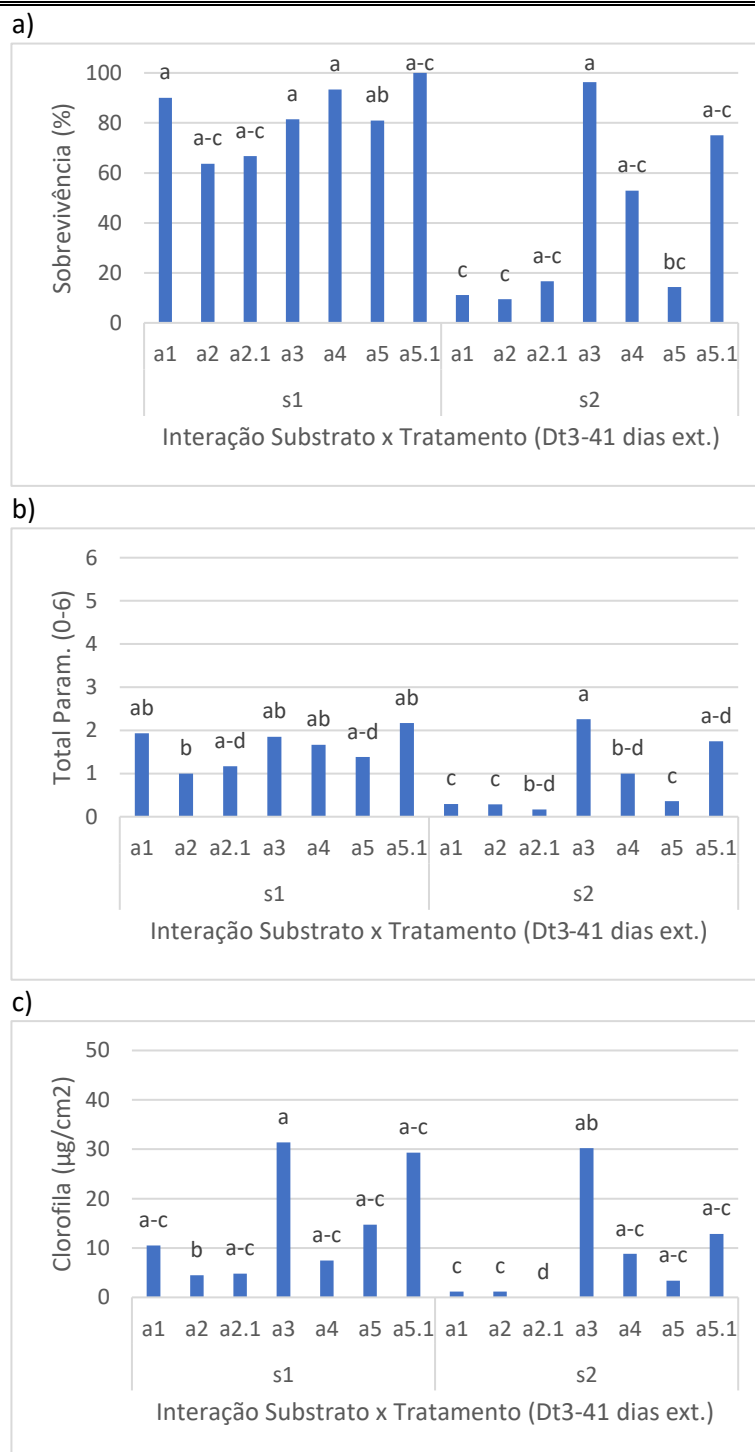
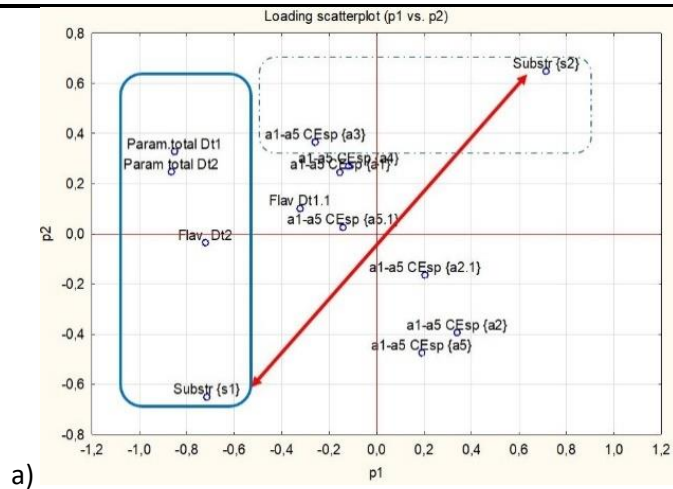


Figura 22: Valores médios da sobrevivência, total parâmetros e clorofila observados ao fim 41 dias no exterior (Dt1 - Dt3) em função da interação entre substrato x tratamento

A figura 23 mostra a análise de componentes principais (PCA) entre as variáveis analisadas.

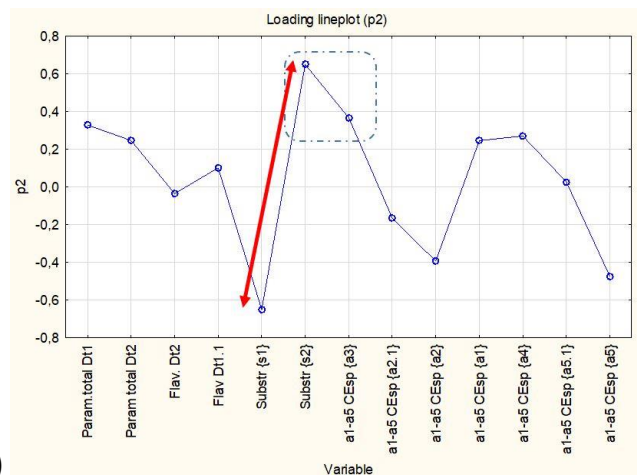
Tratamentos testados:
a1 – P₂O₅ e agroblen (controle)
a2 – Micorrizas
a2.1 –caldo esporal de *P. tinctorius*
a3 – P₂O₅ e polyter seco
a4 – P₂O₅ e polyter hidratado
a5 – Polyter hidratado e micorrizas
a5.1 – Polyter hidratado com caldo esporal de *P. tinctorius*



a)

Tipo de solo:
S1 – Maior teor em argila, textura média
S2 – Menor teor em argila, textura grosseira

Total parâmetros fisiológicos (0-6):
– Sobrevivência (0-1);
– Gomos axilares (0-1);
– Turgidez (0-2);
– Desenvolvimento foliar (0-2);



b)

Figura 23: Análise componentes principais para o conjunto de variáveis estudadas

A PCA mostra que ao fator 1 estão associados e diretamente relacionados os valores obtidos no substrato S1 (textura média) com os parâmetros fisiológicos observados ao fim de 16 e 27 dias no exterior, e, ainda com os resultados observados para os flavonoides na data DT2 (27dias no exterior). Por outro lado, o substrato S2 (textura grosseira) teve um comportamento completamente distinto do substrato S1, apresentando os melhores resultados no tratamento a3 (Polyter seco ao fundo da cova) conforme figura 23 -a e b.

3.6 Observação do sistema radicular

O ensaio terminou no dia 11 de julho ao fim de 41 dias no exterior, após ter sido observada uma elevada taxa de mortalidade das plantas. Foram recolhidas para laboratório algumas plantas sobreviventes. As plantas foram transportadas para o laboratório da ESAC para posterior observação do sistema radicular.

Nas instalações da agrária começou-se por imergir o vaso em água com o objetivo de retirar o substrato das raízes sem as danificar, uma vez que este se encontrava muito seco. Assim foi possível observar-se o desenvolvimento do sistema radicular.

Com base nos resultados e referido anteriormente, o tratamento aplicado com superfosfato 18% e adubo de libertação controlada (a1) apresentou bons resultados para o tipo de solo S1, com maior teor em argila. A planta da figura 24, correspondente a este tipo de solo, identificada como a nº 3 do bloco 1, apresentou um bom crescimento e desenvolvimento das raízes.



Figura 24: Desenvolvimento da planta e do sistema radicular após 41 dias no exterior, observado no tratamento a1

Em contrapartida, para o solo com baixo teor em argila (S2), arenoso, o tratamento teve dos resultados mais baixos, não se mostrando eficaz. À semelhança

deste tratamento e tipo de solo, o tratamento com micorrizas (a2) foi o tratamento mais fraco para ambos os tipos de solo, e para o qual não foi detetada à lupa nenhum indício de crescimento do fungo nas raízes. Uma eventual explicação para estes resultados poderá estar associada à baixa disponibilidade de água no solo, tendo sido as condições meteorológicas pouco favoráveis ao desenvolvimento dos fungos micorrízicos.

O tratamento com aplicação de superfosfato e polyter seco (a3), colocado em contacto direto com as raízes, apresentou os valores mais altos para ambos os tipos de solo em quase todos os parâmetros analisados anteriormente. Com base na figura 25, reconhece-se um bom exemplo, precisamente a planta nº5 do bloco 1, para o solo com maior teor em argila, que, ainda com perda das folhas na parte inferior, apresenta folhas verdes na zona superior da planta, com gomos axilares e um ápice praticamente ereto.

Na figura 25 é visível: 1) vigor da parte aérea da planta; 2) a absorção de água do polímero (efeito de esponja) aglomerado ao sistema radicular e c) o desenvolvimento das raízes ao longo e dentro do polímero. O polímero permitiu à planta uma maior disponibilidade de água e nutrientes ao longo do período do ensaio sob condições de stress.



Figura 25: Desenvolvimento da planta e do sistema radicular após 41 dias no exterior, observada no tratamento a3

Para o tratamento a4, superfosfato e polyter hidratado, os resultados foram satisfatórios, com melhor resposta para o tipo de solo S1. Relativamente ao tratamento a5, igualmente com polyter hidratado incorporado no solo, aplicou-se as micorrizas no fundo da cova, não tendo sido detetado à lupa nenhum crescimento de fungos (Figura 26). A planta abaixo identificada como a nº 12 do bloco 2, para o tipo de solo S2, apresentou folhas secas e murchas e ápice não ereto, ou seja, uma forte probabilidade de não sobreviver. Contudo, é notável que o polyter pré-hidratado, incorporado no solo, agregou algumas raízes da planta, ainda que em menor quantidade que no tratamento a3 (polyter seco ao fundo da cova), porém, o uso do polímero pode justificar a sobrevivência desta planta.



Figura 26: Desenvolvimento da planta e do sistema radicular após 41 dias no exterior, observado no tratamento a5

A figura 26 evidencia que o tecido envolvente das plantas não foi favorável ao desenvolvimento das raízes em particular num período curto com boas condições de crescimento (12 dias em viveiro).

O tratamento a5.1 (Polyter hidratado e caldo esporal de *P. tinctorius*) apresentou boa resposta relativamente ao comprimido com ectomicorrizas (Figura 27), este poderá ser melhorado se aplicado com P_2O_5 , contudo, as diferenças podem estar relacionadas com o nº baixo de plantas.



Figura 27: Desenvolvimento da planta e do sistema radicular após 41 dias no exterior, observada no tratamento a5.1

Os resultados observados neste tratamento a5.1 foram globalmente interessantes. No entanto, não são conclusivos devido ao número reduzido de plantas. Há a referir ainda, que estes resultados poderão ser melhorados se aplicado ao solo o superfosfato numa dose mais reduzida de forma a estimular o estabelecimento da associação simbiótica. De acordo com Brito, (2022) e Brígido & Menéndez, (2022), é conveniente a aplicação de nutrientes reduzidos a 30 a 50% de forma a estabelecer as associações simbióticas, em particular em solos com baixo teor em matéria orgânica.

De acordo com Teste et al. (2019) o *Eucalyptus globulus* é uma das espécies que pode ser duplamente micorrizada, isto é, poderá fazer tanto endo como ectomicorrizas, apresentando assim, um “seguro” para o futuro. De acordo com os mesmos autores estas espécies apresentam diversas vantagens como, a complementaridade a nível nutricional, menor exigência em carbono durante o desenvolvimento das plantas

jovens, potencial para lidar tanto com situações de secura como alagamento, maior capacidade/flexibilidade para explorar todo o solo, maior proteção contra agentes patogénicos e pragas, podendo ter um papel fundamental na recuperação do ecossistema face a alterações abióticas (alterações climáticas). Este facto poderá ser interessante e de possível utilização, recorrendo à aplicação de uma mix de esporos de endomicorrizas à plantação, menos exigentes em hidratos de carbono, cedidos pela planta e por outro lado, dependentes do estabelecimento da associação simbiótica, com vantagens mútuas (Teste et al., 2019).

4. Considerações finais

O objetivo foi analisar o efeito do uso de polímero (Polyter) e das micorrizas (Ectoplant, ectomicorrizas) na tolerância ao stress hídrico à plantação de eucalipto, em particular em solos de textura grosseira, zonas sujeitas a maiores condições de stress hídrico. Foram avaliadas diferentes hipóteses para melhorar a sobrevivência das plantas à plantação obtendo as seguintes conclusões:

1) o solo S1 (textura média) proporcionou melhores condições de crescimento e desenvolvimento do sistema radicular das plantas, assim como, uma menor mortalidade relativamente ao solo S2 (baixo teor em argila), um solo mais arenoso.

2) O mulch mostrou ser eficaz em ambos os tipos de solo ao fim 16 e 27 dias. A referir que os resultados observados no substrato de textura média sem mulch (S1x0) não apresentaram diferenças significativas para o substrato de textura grosseira com mulch (S2x1). Contudo, ao fim de 41 dias o efeito de mulch reduz-se, não se observando diferenças significativas em nenhuns dos tipos de solo para os parâmetros clorofila e flavonoides, mantendo a mesma resposta, anteriormente observada, para o total parâmetros fisiológicos.

3) O tratamento controlo (a1), com o uso de superfosfato e adubo de libertação controlada, método operacional, foi eficaz para o tipo de solo S1, considerando a sobrevivência. No entanto, analisando o total parâmetros fisiológicos não apresenta diferenças significativas dos outros tratamentos e tem valores médios inferiores relativamente ao teor em clorofila. A referir ainda que apresentou um dos piores resultados no substrato S2 (arenoso).

4) O tratamento a3 (aplicação de polyter seco ao fundo da cova) apresentou maior acréscimo em altura, elevada taxa de sobrevivência, melhores resultados na soma dos parâmetros fisiológicos (sobrevivência; gomos axilares; turgidez; desenvolvimento foliar), maior teor de clorofila e flavonoides, bom desenvolvimento do sistema radicular e, em particular, em solos de textura grosseira. Estes resultados indicam que este tratamento foi favorável à retenção de água, ativou o crescimento do sistema radicular,

assegurando a sobrevivência da planta, reduzindo o efeito do stress hídrico e as deficiências nutricionais associadas.

5) Os resultados com micorrizas sugerem que a aplicação em doses reduzidas de adubo fosfatado à plantação poderiam ter melhorado a resposta das plantas ao stress hídrico, em particular em solos de textura grosseira.

6) A análise à lupa do sistema radicular mostrou que o TNT (tecido não tecido) envolvente da planta não foi favorável ao desenvolvimento do sistema radicular, nem apresentou vestígio de decomposição/degradação do próprio material. Este facto sugere que só períodos favoráveis ao crescimento da raiz, que sejam mais longos, poderão contribuir para a degradação desse material e conseqüentemente crescimento do sistema radicular.

7) O tratamento a5.1 (Polyter hidratado e caldo esporal de *P. tinctorius*) mostrou bons resultados de sobrevivência e total parâmetros fisiológicos, em particular no solo de textura grosseira. Estes resultados poderiam ser majorados se tivesse sido adicionado superfosfato numa dose reduzida.

8) Face aos resultados observados será conveniente testar:

8.1 A aplicação do polyter seco ao fundo da cova em condições de campo; e

8.2 Em condições controladas de viveiro o efeito da: a) aplicação reduzida a 30-50% do superfosfato nos tratamentos com micorrizas em particular em solos de textura grosseira e com baixo teor em matéria orgânica; b) aplicação do caldo esporal de *Pisolithus tinctorius*, proveniente de carpóforos de povoamentos de eucalipto, preferencialmente de zonas secas e nas mesmas condições edáficas; e c) aplicação de endomicorrizas que numa fase inicial da planta serão menos exigentes em hidratos de carbono cedidos pela planta e mais dependentes da associação simbiótica, podendo contribuir para um maior sucesso na instalação.

5. Referências Bibliográficas

- afforest. (2022). *Micorrizas Florestais*. <https://afforest.pt/micorrizas-florestais/> (accessed Nov. 11, 2022)
- AFINET. (2018). *Árvores e micorrizas – uma simbiose que melhora a produção agroflorestal em climas temperados*. https://euraf.isa.utl.pt/pt-pt/afinet/technical-articles/arvores_e_micorrizas (accessed Nov. 6, 2022)
- Australian National University. (2018). *Flavonoid Functions in Plants and Their Interactions with Other Organisms*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6027123/> (accessed Oct. 22, 2022)
- Berkeley - university of California. (2022). *Photosynthetic Pigments*. <https://ucmp.berkeley.edu/glossary/gloss3/pigments.html> (accessed Oct. 22, 2022)
- Bingre, P., Aguiar, C., Espírito-Santo, D., Arsénio, P., & Monteiro-Henriques, .T. (2007). *Guia de Campo – As árvores e os arbustos de Portugal continental, 462 pp. In vol. IX, Sande Silva, J. [Coord. Ed.]: Coleção Árvores e Florestas de Portugal. Jornal Público/ FLAD/LPN. Lisboa.*
- Brígido, C., & Menéndez, E. (2022). *A utilização de bactérias do solo na promoção do crescimento do milho. In Cultura de Milho, Dia de Campo, Programa da Iniciativa Inovmilho, PDR2020, Estação Experimental António Teixeira, 13 de setembro Coruche.*
- Brito, I. (2022). *A agricultura de conservação e a microbiologia do solo. In Cultura de Milho, Dia de Campo, Programa da Iniciativa Inovmilho, PDR2020, Estação Experimental António Teixeira, 13 de setembro Coruche.*
- Cerovic, Z. G., Masdoumier, G., Ghazlen, N. Ben, & Latouche, G. (2012). A new optical leaf-clip meter for simultaneous non-destructive assessment of leaf chlorophyll and epidermal flavonoids. *Physiologia Plantarum*, 146, 251–260. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2012.01639.x>
- Correia, A., & Oliveira, Â. (2003). *Principais espécies florestais com interesse para Portugal - zonas de influência atlântica.*
- Desenvolvimento Sustentável. (2020). *Mulch: A cobertura sustentável do solo*. <https://www.desenvolvimento-sustentavel.pt/sustentabilidade/mulch-a-cobertura-sustentavel-do-solo> (accessed Aug. 20, 2022)
- Florestas.pt. (2020). *Quais as principais pragas e doenças do eucalipto?* <https://florestas.pt/saiba-mais/quais-as-principais-pragas-e-doencas-do-eucalipto/> (accessed Nov. 8, 2022)
- ForceA. (2022a). *DUALEX® Optical leafclip meter - Measuring the chlorophyll and polyphenols contents in plants.*
- ForceA. (2022b). *DUALEX Scientific - User`s Manual.*

- Goltapeh, E. M., Danesh, Y. R., Prasad, R., & Varma, A. (2008). *Mycorrhizal fungi: what we know and what should we know? In: Varma, A. (Ed.), Mycorrhiza Genetics and Molecular Biology, Eco-function, Biotechnology, Eco-physiology, Structure and Systematics. 3rd ed. Springer, Berlin, pp. 3-27.*
- Lousã, M., Ana, M., Santo, D., Sousa, E., & Costa, J. (2007). *Módulo de Botânica- Manual de Teóricas e Práticas.*
- Machado, H. (2021). *A floresta e as micorrizas. Seminário organizado no âmbito do projeto F4F, ESAC, 17 de junho.*
- Machado, H., Martins, A., Silva, C. S., & Bastidas, M. J. (2011). *Manual para a gestão dos recursos micológicos silvestres do baixo alentejo. 71.*
- Manta, A. C., Dias, A. C., Quintela, A., Carvalho, A. S., Aires, A., Neto, C. P., Valente, C., Gonçalves, C., Teixeira, C., Máguas, C., Marques, C., Ferreira, D., Bragança, H., Keizer, J., Coutinho, J., Ezequiel, J., Lé, J., Bandeira, J. M., Carvalho, J. L., ... David, T. S. (2021). *As Plantações de Eucalipto e os recursos Naturais em Portugal: Avanços recentes e desafios. In M. Pestana (Ed.), Silva Lusitana (INIAV, Vol. 7).*
- Micologia florestal. (2022). *Ectoplant Comprimidos.*
<https://micofora.com/product/ectoplan-comprimidos/> (accessed Sep. 15, 2022)
- Mierziak, J., Kostyn, K., & Kulma, A. (2014). *Flavonoids as Important Molecules of Plant Interactions with the Environment.* <https://doi.org/10.3390/molecules191016240> (accessed Oct. 22, 2022)
- Monteiro Alves, A., Santos Pereira, J., & M. Neves Silva, J. (2007). *O Eucaliptal em Portugal: Impactos Ambientais e Investigação Científica. In O Eucaliptal em Portugal: Impactos Ambientais e Investigação Científica.*
- Moreira, C. (2013). *Fotossíntese. Revista de Ciência Elementar, 1, 1–5.*
- Novagril. (2022). *Agroblen.*
- Plantamas. (n.d.). *Application of Polyter in forestation : performance test of Polyter on four tree species under simulated drought and its effect on root growth and mycorrhizae.*
- Polyter 2. (n.d.). *Polyter - Horticulture et paysagisme.*
- Produtores Florestais. (2021). *Adubação promove o crescimento das plantas.*
<https://produtoresflorestais.pt/adubacao-promove-o-melhor-crescimento-das-plantas/> (accessed Oct. 25, 2022)
- RAIZ (Instituto de Investigação da Floresta e Papel). (2022). *Melhoramento Genético.*
- Rincón, A., Parladé, J., & Pera, J. (2005). *Effects of ectomycorrhizal inoculation and the type of substrate on mycorrhization, growth and nutrition of containerized Pinus pinea L. seedlings produced in a commercial nursery. Ann. For. Sci. 62, 817-822.*
- Smith, S. E., & Read, D. J. (1997). *Mycorrhizal Symbiosis, 2nd ed. Academic Press, Harcourt Brace and Comp. Pub., San Diego.*

- Sousa, A. (n.d.). *GTN - Vous présente la technologie polyter*.
- Teste, F. P., Jones, M. D., & Dickie, I. A. (2019). *Dual-mycorrhizal plants: their ecology and relevance*. *New Phytologist*. <https://doi.org/10.1111/nph.16190>
- The Navigator Company. (2020). Plantar bem para ganhar mais. *Produtores Florestais*.
- Tosta, W. (2020). *Efeitos Edafoclimáticos na Produtividade de Eucalyptus globulus Labill . em Portugal Continental Efeitos Edafoclimáticos na Produtividade de Eucalyptus globulus Labill . em Portugal Continental*. 15.
- UC (Universidade de Coimbra). (2022). *Tipos de Micorrizas*. https://www.uc.pt/grasses/Divers_fungica/tipos_de_micorrizas (accessed Nov. 5, 2022)
- UTAD jardim botânico. (n.d.). *Eucalyptus globulus*. Retrieved November 6, 2022, from https://jb.utad.pt/especie/Eucalyptus_globulus (accessed Sep. 13, 2022)
- Viveiros Aliança. (2022). *Clones de Eucalipto*. <http://viveirosalianca.com/clones-de-eucalipto/> (accessed Sep. 2, 2022)

6. Anexos

Anexo I – Ficha técnica do ectoplant utilizado à plantação

DESCRIPCIÓN ECTOPLANT

ECTOPLANT es un producto biológico natural compuesto por propágulos de hongos formadores de ectomicorizas mezclados homogéneamente con substratos organominerales. Contiene además compuestos naturales de procedencia vegetal que ayudan a la compactación del formulado y un agente superabsorbente de agua.

Características generales y modo de acción

ECTOPLANT es una formulación expresamente estudiada para una práctica y rápida micorrización en plantas forestales de vivero o campo (en plantas ya establecidas o durante el transplante). La ausencia de la asociación ectomicorrícica en las raíces de las plantas es muchas veces la causa del fracaso de los programas de reforestación. Entre los beneficios que proporciona a las plantas están: mejor absorción de agua y minerales del suelo, incremento de la supervivencia, aumento de la resistencia y/o tolerancia a determinados patógenos del suelo así como al estrés hídrico y salino. Otros beneficios son un incremento del sistema radical de las plantas y una disminución de la aportación de fertilizantes y agua.

La aplicación de desinfectantes del suelo, tratamientos fungicidas, así como de abonos con alto contenido de fósforo, pueden afectar o inhibir el desarrollo de los hongos de la micorriza.

Producto apto para utilizar en todas las especies de la familia Pinaceae (pinos y abetos en general), Fagaceae (encinas, robles, castaños y hayas), Betulaceae (abedul, avellano, aliso) y Salicaceae (sauces y álamos).

Formatos de suministro

- ECTOPLANT comprimidos puede suministrarse en bolsas de 500 unidades envasadas al vacío



FICHA TÉCNICA ECTOPLANT

Comprimidos

Géneros Fúngicos contenidos: *Rhizopogon sp*, *Pisolithus tinctorius*, *Scleroderma verrucosum*, *Suillus spp.*

Cantidad de microorganismos viables: > 2x10⁶ esporas/unidad

Composición cualitativa-cuantitativa: el producto se presenta en forma de esporas, soportadas por sustratos inorgánicos inertes, materia orgánica y agentes para la compresión

Análisis físico-químico del producto

Comprimidos

Volumen de producto por unidad: 7cc

Peso unidad: 5g

Olor: tierra

Materia seca: 96%

pH en agua (1:5): 6.5-7

N(total): 0.4 %MS (Materia Seca)

P₂O₅: 0.5 % MS

K₂O intercambiable: 0.5 % MS

Materia orgánica: 12 % MS

Vencimiento o caducidad del producto

6 meses (si la bolsa no pierde el vacío y se cumplen las siguientes medidas de seguridad: no exponer directamente a los rayos del sol; mantener en un lugar fresco y seco).

Instrucciones de uso

Para trasplante

Colocar ECTOPLANT debajo de la planta en contacto directo con las raíces.

Para plantas ya establecidas

Enterrar ECTOPLANT en el suelo, de manera que permanezca en contacto directo con las raíces

Dosis

1 pastilla por planta



FICHA TÉCNICA ECTOPLANT

Riego

Género y especies de hongos: *Rhizopogon sp*, *Pisolithus tinctorius*, *Scleroderma verrucosum*, *Suillus spp*.

Cantidad de microorganismos viables: $>2 \times 10^6$ esporas por cc

Composición: el producto se presenta en forma de polvo, conteniendo esporas, soportadas en sustratos inorgánicos inertes o bien en concentrado esporal líquido.

Análisis físico-químico del producto:
Polvo mojable (granulomería 0-1 mm) o líquido filtrado concentrado

Caducidad del producto

- **Polvo:** 18 mese si se cumplen las siguientes medidas de seguridad: no exponer directamente a los rayos del sol; mantener en un lugar fresco y seco.
- **Líquido concentrado:** 4 semanas en nevera a 4°C

Modo de empleo

Está formulado para todo tipo de especies forestales en campo o vivero. Mezclar bien el producto con el agua que utilizaríamos habitualmente para regar la planta y aplicar. Una vez aplicado, hacer un riego suave para que acabe de penetrar el producto. Se recomienda realizar dos aplicaciones espaciadas 10 días entre cada una.



Anexo II – Boletim de análises de solo realizado no laboratório de solos e fertilidade da ESAC, relativamente ao solo S1 e S2



**laboratório de
solos e fertilidade**

Serviço: Escola Superior Agrária de Coimbra
 Morada: **Bencanta**
 Localidade: **COIMBRA** Código Postal: **3045-601**
 Nome do Interessado: Projecto GO 57 - IEPE (Investigador Responsável: Eng.ª Filomena Gomes; Mestrado: João Vieira)
 Propriedade: Área (ha):
 Cultura: eucaliptos Prof. (cm):

Boletim de Análises de Solo - Ar livre

Data de Entrada: 17-06-2022 Data de Saída: 12-08-2022

Parâmetros	Referência	Nº Laboratório		
		S1	S2	Orgânico
Textura de campo				
Terra fina ($\Phi < 2\text{mm}$)	%	82,40		100,00
Mat. orgânica	%			
pH (H_2O)				
pH (KCl)				
Condutividade Eléct.	mS cm^{-1}			
Necessidade em «ca»	t/ha CaCO_3			
Fósforo extraível	$\text{mg P}_2\text{O}_5 \text{kg}^{-1}$			
Potássio extraível	$\text{mg K}_2\text{O kg}^{-1}$			
Magnésio extraível	mg Mg kg^{-1}			
Boro	mg B kg^{-1}			
Calcário Activo	%			
Cloretos	$\text{me Cl}^- 100\text{g}^{-1}$			
Potássio	$\text{me K}^+ 100\text{g}^{-1}$			
Sódio	$\text{me Na}^+ 100\text{g}^{-1}$			
Cálcio	$\text{me Ca}^{2+} 100\text{g}^{-1}$			
Magnésio	$\text{me Mg}^{2+} 100\text{g}^{-1}$			
Ca/Mg				
Mg/K				
Cobre extraível	mg Cu kg^{-1}			
Zinco extraível	mg Zn kg^{-1}			
Ferro extraível	mg Fe kg^{-1}			
Manganés extraível	mg Mn kg^{-1}			
Azoto nítrico	$\text{mg N-NO}_3^- \text{kg}^{-1}$			
Azoto amoniacal	$\text{mg N-NH}_4^+ \text{kg}^{-1}$			
Azoto Kjeldahl	%	0,16	0,02	0,50
Cobre total	mg Cu kg^{-1}			
Zinco total	mg Zn kg^{-1}			
Crómio total	mg Cr kg^{-1}			
Chumbo total	mg Pb kg^{-1}			
Cádmio total	mg Cd kg^{-1}			
Níquel total	mg Ni kg^{-1}			
Mercúrio total	mg Hg kg^{-1}			

Observações: * Valores indicativos para correção do pH até 6,5. O valor máximo recomendado em cada ano é de 4,5- 5 t/ha de calcário.

O Responsável

Rosinda Leonor S. Pato

Bencanta, 3045-601 Coimbra – Telef. 239 802 940 – Fax. 239 802 979
 e-mail presidencia@esac.pt – Contribuinte n.º 600 027 350

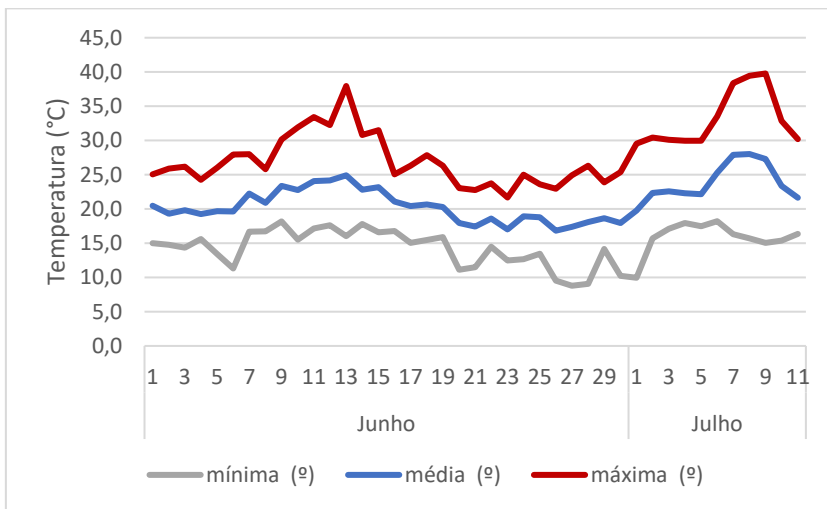
Anexo III – Análises de solo realizadas no laboratório de solos e fertilidade do RAIZ, relativamente ao solo S1 e S2

Parâmetros	Classe Acidez	Condutividade Eléctrica (25°C) (dS/m)	Cálcio de troca (cmol+/kg (base seca ao ar)	Classe Cálcio de troca	Magnésio de troca (cmol+/kg (base seca ao ar)	Classe Magnésio de troca	Potássio de troca (cmol+/kg (base seca ao ar)	Classe potássio de troca	Sódio de troca (cmol+/kg (base seca ao ar)	Soma bases de troca (cmol+/kg (base seca ao ar)	Acidez de troca (cmol+/kg (base seca ao ar)	Capacidade de troca catiónica efectiva (cmol+/kg (base seca ao ar)	Classe CTC efectiva	Grau de saturação de bases efectiva (%)	
S2	Ácido	0,012	0,13	Muito baixa	< 0,08	Baixo	< 0,03	Muito Baixo	< 0,04	0,28	0,28	0,56	Baixo	50,0	
S1	Ácido	0,072	0,41	Médio	0,14	Médio	0,10	Baixo	0,04	0,69	2,05	2,74	Alto	25,2	
Parâmetros	Classe GSB efectiva	Grau de saturação em alumínio (%)	Classe grau de saturação em alumínio	Matéria orgânica (% (base seca ao ar)	Classe matéria orgânica	Fósforo extraível (mg/kg (base seca ao ar)	Classe fósforo extraível	Zinco, Zn (mg/kg (base seca ao ar)	Classe Zinco	Cobre, Cu (mg/kg (base seca ao ar)	Classe Cobre	Manganês, Mn (mg/kg (base seca ao ar)	Classe Manganês	Ferro, Fe (mg/kg (base seca ao ar)	Classe Ferro
S1	Alto	50,0	Não limitante	0,56	Muito Baixa	< 5	Muito baixo	2,4	Média	< 0,25	Muito baixa	< 0,50	Muito baixa	32	Média
S2	Médio	74,8	Não limitante	7,4	Muito Alta	8	Baixo	1,2	Baixa	0,31	Baixa	1,1	Muito baixa	2,8e+02	Alta

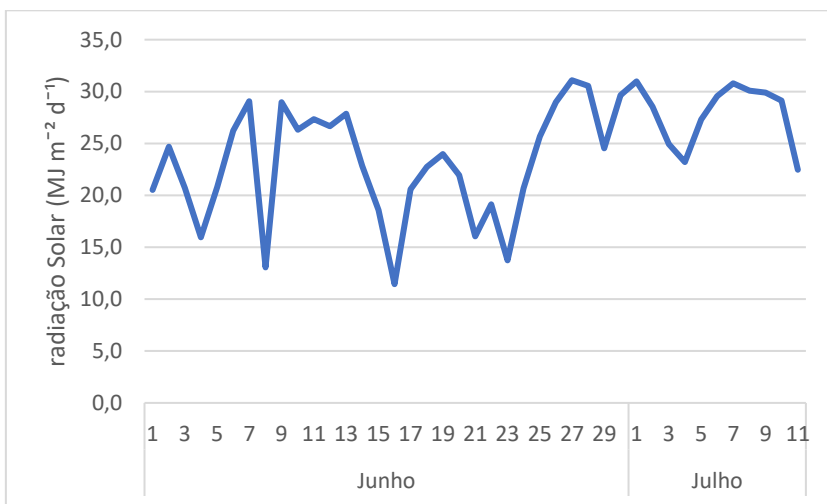
Anexo IV – Dados meteorológicos de 1 de junho a 11 de julho de 2022 registados pela estação meteorológica da ESAC

Mês	DIA	Temperatura			Humidade Relativa			Radiação solar global (MJ m ⁻² d ⁻¹)	Vento		Precipitação (mm)	ETo (mm)
		média	máxima	mínima	média	máxima	mínima		Velocidade media (km/h)	Velocidade máxima (km/h)		
		(°)	(°)	(°)	(%)	(%)	(%)					
Junho	1	20,5	25,0	15,0	79,2	98,9	48,7	20,5	3,5	19,7	5,2	3,9
	2	19,3	25,9	14,8	81,4	99,5	48,5	24,7	3,7	18,3	1,8	4,5
	3	19,8	26,2	14,4	76,8	98,2	47,9	20,7	4,4	22,2	0,0	4,1
	4	19,3	24,2	15,6	84,3	97,4	66,5	16,0	2,3	14,5	2,2	3,0
	5	19,7	26,0	13,4	76,9	98,7	51,2	20,8	2,6	18,1	0,0	3,9
	6	19,6	28,0	11,3	79,8	100,0	53,7	26,2	2,9	17,8	0,0	4,7
	7	22,2	28,0	16,7	72,0	94,7	46,7	29,1	3,6	18,0	0,0	5,4
	8	20,9	25,8	16,7	87,1	100,0	62,7	13,1	2,7	14,6	0,6	2,8
	9	23,4	30,2	18,2	77,7	96,9	56,9	29,0	3,5	20,5	0,0	5,5
	10	22,7	31,9	15,5	79,1	100,0	52,0	26,3	2,8	17,0	0,0	5,1
	11	24,1	33,4	17,2	74,7	97,4	49,3	27,3	2,9	14,6	0,0	5,5
	12	24,2	32,3	17,6	75,0	97,1	50,2	26,7	3,4	14,2	0,0	5,4
	13	24,9	38,0	16,0	71,1	100,0	28,2	27,9	2,5	18,3	0,0	5,9
	14	22,8	30,8	17,8	82,0	100,0	56,1	22,8	2,9	15,4	0,0	4,5
	15	23,2	31,5	16,6	80,8	99,7	61,3	18,6	3,1	20,3	1,2	3,9
	16	21,1	25,1	16,8	85,3	97,7	71,8	11,4	1,9	19,4	0,6	2,4
	17	20,4	26,3	15,0	82,7	100,0	59,7	20,6	2,7	16,1	0,0	3,8
	18	20,7	27,9	15,5	79,6	100,0	49,0	22,8	2,9	18,0	0,0	4,3
	19	20,3	26,3	15,9	76,3	98,6	52,3	24,0	4,3	20,5	0,0	4,5
	20	18,0	23,0	11,1	74,4	98,5	51,1	22,0	3,7	18,9	0,0	3,9
	21	17,4	22,8	11,5	82,2	99,9	59,4	16,1	3,0	19,7	4,4	3,0
	22	18,6	23,8	14,5	86,3	99,5	60,8	19,1	3,7	17,9	7,6	3,5
	23	17,0	21,7	12,5	87,9	100,0	63,6	13,7	2,2	12,4	1,4	2,6
	24	18,9	25,0	12,7	79,7	100,0	52,1	20,7	3,3	15,6	0,0	3,8
	25	18,8	23,6	13,4	75,7	99,9	47,1	25,7	3,3	22,4	4,8	4,4
	26	16,8	22,9	9,6	70,4	100,0	42,3	29,0	3,7	22,2	0,0	4,7
	27	17,4	24,9	8,8	72,7	100,0	44,0	31,1	3,4	21,4	0,0	5,0
	28	18,1	26,3	9,1	73,5	100,0	45,4	30,6	3,0	18,4	0,0	5,1
	29	18,7	23,9	14,2	75,0	98,1	46,5	24,5	4,0	24,4	0,0	4,4
	30	17,9	25,4	10,2	70,7	99,6	44,0	29,6	3,5	22,0	0,0	4,9
Julho	1	19,8	29,5	9,9	71,1	100,0	40,3	31,0	2,9	18,8	0,0	5,4
	2	22,3	30,4	15,7	72,9	95,4	50,5	28,5	3,5	19,7	0,0	5,4
	3	22,6	30,1	17,1	80,0	98,0	55,2	24,9	4,0	18,1	3,6	4,9
	4	22,3	30,0	17,9	79,5	95,6	54,3	23,2	3,3	17,2	0,0	4,6
	5	22,2	30,0	17,5	81,8	98,8	57,1	27,3	3,8	16,9	0,0	5,1
	6	25,3	33,5	18,2	68,0	99,0	40,4	29,6	3,5	17,3	0,0	6,0
	7	27,9	38,4	16,3	51,6	94,1	22,4	30,8	4,8	21,9	0,0	7,1
	8	28,0	39,5	15,7	47,8	92,1	13,6	30,1	2,9	16,4	0,0	6,4
	9	27,3	39,8	15,1	57,5	99,3	22,8	29,9	2,5	16,8	0,0	6,3
	10	23,4	32,9	15,4	73,2	99,9	43,7	29,1	3,2	15,2	0,0	5,7
	11	21,7	30,2	16,4	74,7	93,2	47,7	22,5	3,0	16,0	0,0	4,5

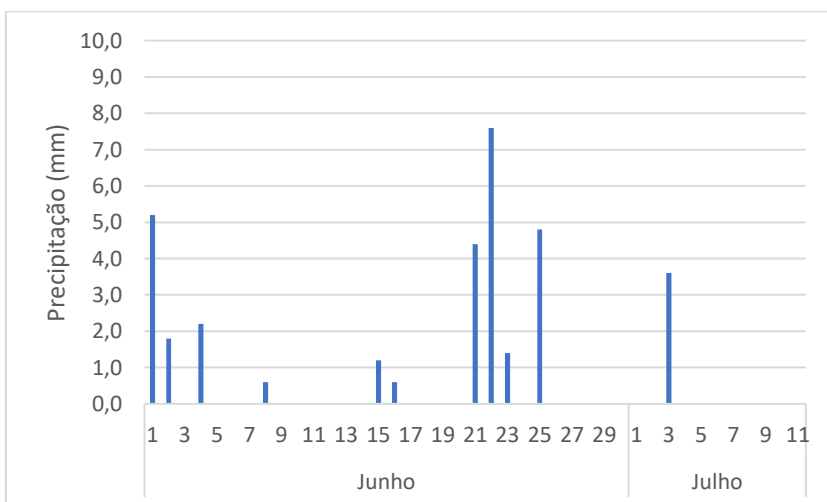
Anexo V – Gráfico da variação da temperatura entre 1 de junho e 11 de julho de 2022



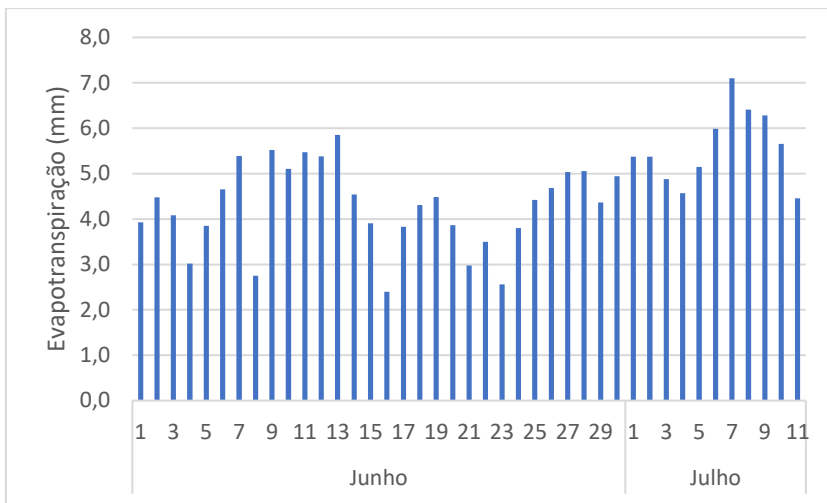
Anexo VI – Gráfico da variação da radiação solar entre 1 de junho e 11 de julho de 2022



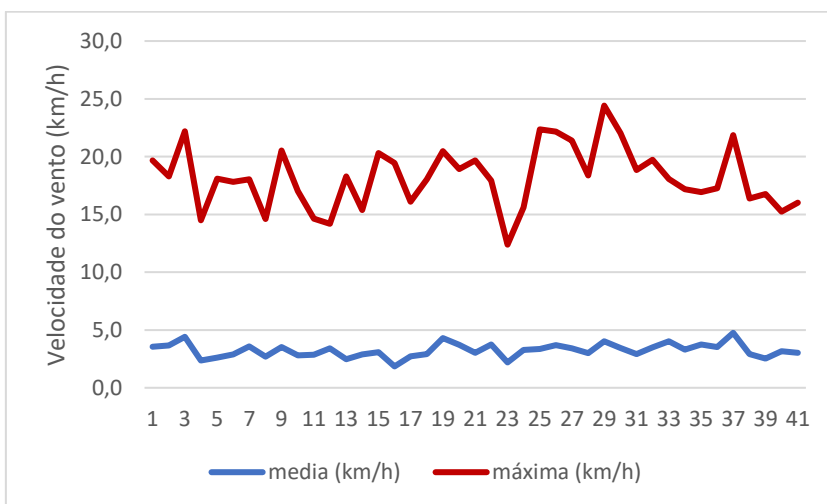
Anexo VII – Gráfico da variação da precipitação entre 1 de junho e 11 de julho de 2022



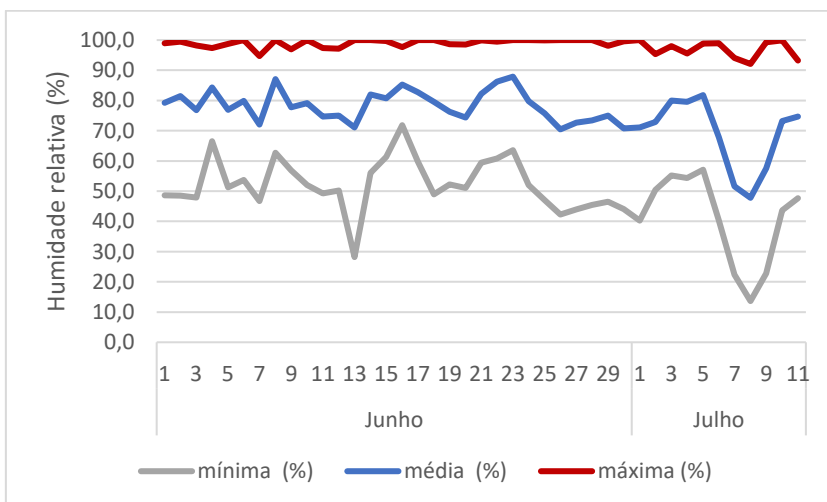
Anexo VIII – Gráfico da variação da evapotranspiração entre 1 de junho e 11 de julho de 2022



Anexo IX – Gráfico da variação da velocidade do vento entre 1 de junho e 11 de julho de 2022



Anexo X – Gráfico da variação da humidade relativa entre 1 de junho e 11 de julho de 2022



Anexo XI – Teste de Tukey para avaliar o efeito dos tratamentos e da interação substrato/solo X tratamento no acréscimo médio em altura

Tukey HSD test; variable Acrescimo em altura (JV_170622.sta)				
Homogenous Groups, alpha = ,05000				
Error: Between MS = 5,9582, df = 233,00				
Cell No.	Tratamento	Acrescimo em altura Mean	1	2
2	a2	5,649091	****	
4	a4	5,696875	****	
3	a1	6,001754	****	
5	a5	6,835556	****	****
1	a3	7,344444		****

Tukey HSD test; variable Acrescimo em altura (JV_170622.sta)							
Homogenous Groups, alpha = ,05000							
Error: Between MS = 5,9582, df = 233,00							
Cell No.	Solo	Tratamento	Acrescimo em altura Mean	1	2	3	4
9	s2	a4	4,241176			****	****
7	s2	a2	4,296296			****	
10	s2	a5	4,577778			****	****
8	s2	a1	4,996296		****	****	****
6	s2	a3	6,422222	****	****		****
3	s1	a1	6,906667	****	****		
2	s1	a2	6,953571	****	****		
4	s1	a4	7,346667	****	****		
1	s1	a3	8,266667	****			
5	s1	a5	8,340741	****			

Anexo XII – Análise variância (ANOVA) para testar o efeito da data, substrato, tratamento e respectivas interações na variável sobrevivência transformada em arcsen da raiz quadrada do valor percentual de sobrevivência, seguida pelos respectivos testes de Tukey

Univariate Tests of Significance for Arc SenSobrev (JV_Sobrevivencia.sta)					
Sigma-restricted parameterization					
Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	445219,4	1	445219,4	1315,278	0,000000
data	31901,1	2	15950,5	47,121	0,000000
Substrato	5465,2	1	5465,2	16,146	0,000166
Tratamento	5516,3	4	1379,1	4,074	0,005484
data*Substrato	2970,3	2	1485,2	4,387	0,016658
data*Tratamento	4113,4	8	514,2	1,519	0,169803
Substrato*Tratamento	2572,0	4	643,0	1,900	0,122228
data*Substrato*Tratamento	1979,4	8	247,4	0,731	0,663704
Error	20309,9	60	338,5		

Tukey HSD test; variable Arc SenSobrev (JV_Sobrevivencia.sta)					
Homogenous Groups, alpha = ,05000					
Error: Between MS = 338,50, df = 60,000					
Cell No.	data	Arc SenSobrev Mean	1	2	3
3	Dt 3-41d	44,62905	****		
2	Dt 2-27d	77,17634		****	
1	Dt 1-16d	89,19684			****

Tukey HSD test; variable Arc SenSobrev (JV_Sobrevivencia.sta)					
Homogenous Groups, alpha = ,05000					
Error: Between MS = 338,50, df = 60,000					
Cell No.	Substrato	Arc SenSobrev Mean	1	2	
2	s2	62,54147	****		
1	s1	78,12669		****	

Tukey HSD test; variable Arc SenSobrev (JV_Sobrevivencia.sta)					
Homogenous Groups, alpha = ,05000					
Error: Between MS = 338,50, df = 60,000					
Cell No.	Tratamento	Arc SenSobrev Mean	1	2	
2	a2	60,47024	****		
5	a5	64,68887	****		
1	a1	70,54087	****	****	
4	a4	72,50000	****	****	
3	a3	83,47041		****	

Anexo XIII – Análise estatística (Teste de Kruskal-Wallis) da Interação substrato x mulch do total dos parâmetros para dt1, dt2 e dt3 (16, 27 e 41 dias)

		Multiple Comparisons p values (2-tailed); Total Parâmetros (0-6) Dt1 (JV_all_red0509.sta)			
		Independent (grouping) variable: Interação S X Mulch			
		Kruskal-Wallis test: H (3, N= 243) =49,25645 p =,0000			
Depend.:		s1 x 0	s2 x 1	s2 x 0	s1 x 1
Total Parâmetros (0-6) Dt1		R:138,47	R:111,13	R:69,677	R:158,46
s1 x 0			0,136826	0,000001	0,662836
s2 x 1		0,136826		0,010567	0,000990
s2 x 0		0,000001	0,010567		0,000000
s1 x 1		0,662836	0,000990	0,000000	

		Multiple Comparisons p values (2-tailed); Total Parâmetros (0-6) Dt2 (JV_all.sta)			
		Independent (grouping) variable: Interação S X Mulch			
		Kruskal-Wallis test: H (3, N= 243) =59,55505 p =,0000			
Depend.:		s1 x 0	s2 x 1	s2 x 0	s1 x 1
Total Parâmetros (0-6) Dt2		R:129,04	R:105,39	R:74,354	R:172,53
s1 x 0			0,293928	0,000209	0,003079
s2 x 1		0,293928		0,115066	0,000001
s2 x 0		0,000209	0,115066		0,000000
s1 x 1		0,003079	0,000001	0,000000	

		Multiple Comparisons p values (2-tailed); Total parâmetros (0-6) Dt3 (JV_all.sta)			
		Independent (grouping) variable: Interação S X Mulch			
		Kruskal-Wallis test: H (3, N= 243) =37,16101 p =,0000			
Depend.:		s1 x 0	s2 x 1	s2 x 0	s1 x 1
Total parâmetros (0-6) Dt3		R:129,37	R:112,09	R:82,219	R:157,78
s1 x 0			0,901311	0,002151	0,139783
s2 x 1		0,901311		0,145153	0,001659
s2 x 0		0,002151	0,145153		0,000000
s1 x 1		0,139783	0,001659	0,000000	

Anexo XIV – Análise estatística (Teste de Kruskal-Wallis) da Interação Substrato x tratamento do total dos parâmetros para dt1, dt2 e dt3 (16, 27 e 41 dias)

Multiple Comparisons p values (2-tailed), Total Parâmetros (0-6) Dt1 (JV_all_red0509 sta)														
Independent (grouping) variable: Interação S x Trat a1-a5_Cesp														
Kruskal-Wallis test: H (13, N= 243) =134,7680 p =0,000														
Depend. Total Parâmetros (0-6) Dt1	s1 x a3 R:155,20	s2 x a2.1 R:26,083	s2 x a2 R:39,786	s1 x a1 R:203,90	s2 x a1 R:118,65	s1 x a4 R:182,50	s1 x a5.1 R:147,17	s1 x a5 R:93,690	s2 x a4 R:131,50	s2 x a5.1 R:131,00	s2 x a5 R:28,250	s2 x a3 R:131,50	s1 x a2 R:104,73	s1 x a2.1 R:90,917
s1 x a3		0,004279	0,000002	0,820277	1,000000	1,000000	1,000000	0,239556	1,000000	1,000000	0,000004	1,000000	1,000000	1,000000
s2 x a2.1	0,004279		1,000000	0,000001	0,320898	0,000372	0,259257	1,000000	0,144465	1,000000	1,000000	0,081102	1,000000	1,000000
s2 x a2	0,000002	1,000000		0,000000	0,010490	0,000000	0,087961	1,000000	0,005784	1,000000	1,000000	0,000666	0,223784	1,000000
s1 x a1	0,820277	0,000001	0,000000		0,000440	1,000000	1,000000	0,000003	0,062940	1,000000	0,000000	0,009400	0,000045	0,029620
s2 x a1	1,000000	0,320898	0,010490	0,000440		0,435957	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,008579	1,000000	1,000000	1,000000
s1 x a4	1,000000	0,000372	0,000000	1,000000	0,435957		1,000000	0,016928	1,000000	1,000000	0,000000	1,000000	0,086653	0,636231
s1 x a5.1	1,000000	0,259257	0,087961	1,000000	1,000000	1,000000		1,000000	1,000000	1,000000	0,047885	1,000000	1,000000	1,000000
s1 x a5	0,239556	1,000000	1,000000	0,000003	1,000000	0,016928	1,000000		1,000000	1,000000	0,634358	1,000000	1,000000	1,000000
s2 x a4	1,000000	0,144465	0,005784	0,062940	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000		1,000000	0,004279	1,000000	1,000000	1,000000
s2 x a5.1	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000		1,000000	0,903539	1,000000	1,000000
s2 x a5	0,000004	1,000000	1,000000	0,000000	0,008579	0,000000	0,047885	0,634358	0,004279	0,903539		0,000746	0,132934	1,000000
s2 x a3	1,000000	0,081102	0,000666	0,009400	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,000746		1,000000	1,000000
s1 x a2	1,000000	1,000000	0,223784	0,000045	1,000000	0,086653	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,132934	1,000000		1,000000
s1 x a2.1	1,000000	1,000000	1,000000	0,029620	1,000000	0,636231	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	

Multiple Comparisons p values (2-tailed), Parâmetros total (0-6) Dt2 (JV_Eg_20 e 27 junho22 sta)														
Independent (grouping) variable: Interação S x Trata.														
Kruskal-Wallis test: H (13, N= 242) =126,3964 p =0,000														
Depend. Parâmetros total (0-6) Dt2	s1 x a3 R:159,00	s2 x a2.1 R:31,000	s2 x a2 R:45,952	s1 x a1 R:185,73	s2 x a1 R:81,074	s1 x a4 R:172,90	s1 x a5.1 R:175,42	s1 x a5 R:116,31	s2 x a4 R:113,65	s2 x a5.1 R:134,00	s2 x a5 R:37,843	s2 x a3 R:163,12	s1 x a2 R:102,91	s1 x a2.1 R:101,58
s1 x a3		0,004636	0,000003	1,000000	0,003925	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,000013	1,000000	0,479993	1,000000
s2 x a2.1	0,004636		1,000000	0,000070	1,000000	0,002468	0,032090	0,771137	1,000000	1,000000	1,000000	0,002809	1,000000	1,000000
s2 x a2	0,000003	1,000000		0,000000	1,000000	0,000007	0,005883	0,102558	0,276348	1,000000	1,000000	0,000001	0,696585	1,000000
s1 x a1	1,000000	0,000070	0,000000		0,000002	1,000000	1,000000	0,044690	0,063117	1,000000	1,000000	0,002272	0,654246	
s2 x a1	0,003925	1,000000	1,000000	0,000002		0,004218	0,257223	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,001817	1,000000	1,000000
s1 x a4	1,000000	0,002468	0,000007	1,000000	0,004218		1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,000018	1,000000	0,257285	1,000000
s1 x a5.1	1,000000	0,032090	0,005883	1,000000	0,257223	1,000000		1,000000	1,000000	1,000000	0,005003	1,000000	1,000000	1,000000
s1 x a5	1,000000	0,771137	0,102558	0,044690	1,000000	1,000000	1,000000		1,000000	1,000000	0,102483	1,000000	1,000000	1,000000
s2 x a4	1,000000	1,000000	0,276348	0,063117	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000		1,000000	0,239048	1,000000	1,000000	1,000000
s2 x a5.1	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000		1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
s2 x a5	0,000013	1,000000	1,000000	0,000000	1,000000	0,000018	0,005003	0,102483	0,239048	1,000000		0,000006	0,581528	1,000000
s2 x a3	1,000000	0,002809	0,000001	1,000000	0,001817	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,000006		0,271948	1,000000
s1 x a2	0,479993	1,000000	0,696585	0,002272	1,000000	0,257285	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,581528	0,271948		1,000000
s1 x a2.1	1,000000	1,000000	1,000000	0,654246	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	

Multiple Comparisons p values (2-tailed), Total parâmetros (0-6) Dt3 (JV_all_red0509 sta)														
Independent (grouping) variable: Interação S x Trat a1-a5_Cesp														
Kruskal-Wallis test: H (13, N= 243) =104,2484 p =0,000														
Depend. Total parâmetros (0-6) Dt3	s1 x a3 R:155,09	s2 x a2.1 R:56,833	s2 x a2 R:61,929	s1 x a1 R:160,67	s2 x a1 R:63,093	s1 x a4 R:147,30	s1 x a5.1 R:177,75	s1 x a5 R:130,19	s2 x a4 R:104,12	s2 x a5.1 R:140,13	s2 x a5 R:68,464	s2 x a3 R:182,76	s1 x a2 R:107,09	s1 x a2.1 R:117,33
s1 x a3		0,177787	0,000476	1,000000	0,000138	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,016612	1,000000	1,000000	1,000000
s2 x a2.1	0,177787		1,000000	0,087034	1,000000	0,701930	0,262758	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,006561	1,000000	1,000000
s2 x a2	0,000476	1,000000		0,000972	1,000000	0,029793	0,033816	0,150225	1,000000	1,000000	1,000000	0,000000	0,602411	1,000000
s1 x a1	1,000000	0,087034	0,000072		0,000015	1,000000	1,000000	1,000000	0,732370	1,000000	0,004609	1,000000	0,602411	1,000000
s2 x a1	0,000138	1,000000	1,000000	0,000015		0,018128	0,027431	0,094216	1,000000	1,000000	1,000000	0,000000	1,000000	1,000000
s1 x a4	1,000000	0,701930	0,029793	1,000000	0,018128		1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,231511	1,000000	1,000000	1,000000
s1 x a5.1	1,000000	0,262758	0,033816	1,000000	0,027431	1,000000		1,000000	1,000000	1,000000	0,131156	1,000000	1,000000	1,000000
s1 x a5	1,000000	1,000000	0,150225	1,000000	0,094216	1,000000	1,000000		1,000000	1,000000	0,994195	0,924535	1,000000	1,000000
s2 x a4	1,000000	1,000000	1,000000	0,732370	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000		1,000000	1,000000	0,027493	1,000000	1,000000
s2 x a5.1	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000		1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
s2 x a5	0,016612	1,000000	1,000000	0,004609	1,000000	0,231511	0,131156	0,994195	0,924535	1,000000		0,000072	1,000000	1,000000
s2 x a3	1,000000	0,006561	0,000000	1,000000	0,000000	1,000000	1,000000	0,924535	0,027493	1,000000	0,000072		0,016219	1,000000
s1 x a2	1,000000	1,000000	1,000000	0,602411	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,016219		1,000000
s1 x a2.1	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	

Anexo XV – Análise estatística (Teste de Kruskal-Wallis) da Interação Substrato x Mulch da clorofila para dt1, dt2 e dt3 (16, 27 e 41 dias)

		Multiple Comparisons p values (2-tailed); Chl Dt1.1 (JV_all_red0509.sta) Independent (grouping) variable: Interação S X Mulch Kruskal-Wallis test: H (3, N= 241) =13,00723 p =,0046			
Depend.:		s1 x 0	s2 x 1	s2 x 0	s1 x 1
Chl Dt1.1		R:130,57	R:109,61	R:98,406	R:141,28
s1 x 0			0,485383	0,084694	1,000000
s2 x 1		0,485383		1,000000	0,069730
s2 x 0		0,084694	1,000000		0,009749
s1 x 1		1,000000	0,069730	0,009749	

		Multiple Comparisons p values (2-tailed); Chl Dt2 (JV_all.sta) Independent (grouping) variable: Interação S X Mulch Kruskal-Wallis test: H (3, N= 243) =35,49154 p =,0000			
Depend.:		s1 x 0	s2 x 1	s2 x 0	s1 x 1
Chl Dt2		R:150,80	R:104,44	R:82,396	R:141,10
s1 x 0			0,000682	0,000001	1,000000
s2 x 1		0,000682		0,577124	0,021133
s2 x 0		0,000001	0,577124		0,000112
s1 x 1		1,000000	0,021133	0,000112	

		Multiple Comparisons p values (2-tailed); Chl Dt3 (JV_all.sta) Independent (grouping) variable: Interação S X Mulch Kruskal-Wallis test: H (3, N= 242) =7,758441 p =,0513			
Depend.:		s1 x 0	s2 x 1	s2 x 0	s1 x 1
Chl Dt3		R:119,03	R:115,10	R:113,40	R:138,53
s1 x 0			1,000000	1,000000	0,706719
s2 x 1		1,000000		1,000000	0,372115
s2 x 0		1,000000	1,000000		0,394290
s1 x 1		0,706719	0,372115	0,394290	

Anexo XVI – Análise estatística (Teste de Kruskal-Wallis) da Interação Substrato x Mulch dos Flavonoides para dt1, dt2 e dt3 (16, 27 e 41 dias)

Multiple Comparisons p values (2-tailed); Flav Dt1.1 (JV_all_red0509.sta)				
Independent (grouping) variable: Interação S X Mulch				
Kruskal-Wallis test: H (3, N= 241) =13,75643 p =,0033				
Depend.: Flav Dt1.1	s1 x 0 R:119,12	s2 x 1 R:132,09	s2 x 0 R:90,260	s1 x 1 R:136,05
s1 x 0		1,000000	0,165675	1,000000
s2 x 1	1,000000		0,009367	1,000000
s2 x 0	0,165675	0,009367		0,004573
s1 x 1	1,000000	1,000000	0,004573	

Multiple Comparisons p values (2-tailed); Flav Dt2 (JV_all.sta)				
Independent (grouping) variable: Interação S X Mulch				
Kruskal-Wallis test: H (3, N= 243) =43,27992 p =,0000				
Depend.: Flav Dt2	s1 x 0 R:147,72	s2 x 1 R:102,04	s2 x 0 R:78,313	s1 x 1 R:150,96
s1 x 0		0,000859	0,000001	1,000000
s2 x 1	0,000859		0,439877	0,000594
s2 x 0	0,000001	0,439877		0,000001
s1 x 1	1,000000	0,000594	0,000001	

Multiple Comparisons p values (2-tailed); Flav Dt3 (JV_all_red0509.sta)				
Independent (grouping) variable: Interação S X Mulch				
Kruskal-Wallis test: H (3, N= 242) =7,517546 p =,0571				
Depend.: Flav Dt3	s1 x 0 R:117,68	s2 x 1 R:117,52	s2 x 0 R:112,29	s1 x 1 R:138,26
s1 x 0		1,000000	1,000000	0,593544
s2 x 1	1,000000		1,000000	0,591691
s2 x 0	1,000000	1,000000		0,343811
s1 x 1	0,593544	0,591691	0,343811	

Anexo XVII – Análise estatística (Teste de Kruskal-Wallis) da Interação Substrato x tratamento da clorofila para dt1, dt2 e dt3 (16, 27 e 41 dias)

Multiple Comparisons p values (2-tailed): Chl Dt1.1 (JV_all_red0509.sta)														
Independent (grouping) variable: Interação S x Trat.a1-a5_Cesp														
Kruskal-Wallis test: H (13, N= 241) =132.9680 p =0,000														
Depend.:	s1 x a3	s2 x a2.1	s2 x a2	s1 x a1	s2 x a1	s1 x a4	s1 x a5.1	s1 x a5	s2 x a4	s2 x a5.1	s2 x a5	s2 x a3	s1 x a2	s1 x a2.1
Chl Dt1.1	R:161,26	R:24,833	R:18,850	R:154,43	R:158,56	R:180,07	R:81,333	R:71,762	R:154,06	R:45,750	R:34,692	R:144,37	R:123,36	R:134,33
s1 x a3		0,001321	0,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,000931	1,000000	0,180561	0,000007	1,000000	1,000000	1,000000
s2 x a2.1			1,000000	0,002936	0,001946	0,000367	1,000000	1,000000	0,008626	1,000000	1,000000	0,013217	0,195653	0,593163
s2 x a2				0,000000	0,000000	0,000000	1,000000	1,000000	0,000000	1,000000	1,000000	0,000000	0,000111	0,033909
s1 x a1					1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,002798	1,000000	0,309657	0,000021	1,000000	1,000000
s2 x a1						1,000000	1,000000	0,001709	1,000000	0,229872	0,000013	1,000000	1,000000	1,000000
s1 x a4							0,306570	0,000393	1,000000	0,000393	1,000000	0,056203	0,000003	1,000000
s1 x a5.1								1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
s1 x a5									0,026989	0,026989	1,000000	0,031317	1,000000	1,000000
s2 x a4										0,471336	0,000306	1,000000	1,000000	1,000000
s2 x a5.1											1,000000	0,753523	1,000000	1,000000
s2 x a5												0,000287	0,025212	0,344050
s2 x a3													1,000000	1,000000
s1 x a2														1,000000
s1 x a2.1														

Multiple Comparisons p values (2-tailed): Chl Dt2 (JV_all_red0509.sta)														
Independent (grouping) variable: Interação S x Trat.a1-a5_Cesp														
Kruskal-Wallis test: H (13, N= 243) =109,4061 p =,0000														
Depend.:	s1 x a3	s2 x a2.1	s2 x a2	s1 x a1	s2 x a1	s1 x a4	s1 x a5.1	s1 x a5	s2 x a4	s2 x a5.1	s2 x a5	s2 x a3	s1 x a2	s1 x a2.1
Chl Dt2	R:150,30	R:49,167	R:47,857	R:193,20	R:110,11	R:194,27	R:117,67	R:97,476	R:139,59	R:93,000	R:36,000	R:130,93	R:115,68	R:87,167
s1 x a3		0,130522	0,000050	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,892250	1,000000	1,000000	0,000072	1,000000	1,000000	1,000000
s2 x a2.1			1,000000	0,000419	1,000000	0,001752	1,000000	1,000000	0,614221	1,000000	1,000000	0,906680	1,000000	1,000000
s2 x a2				0,000000	0,212514	0,000000	1,000000	1,000000	0,005766	1,000000	1,000000	0,004434	0,142213	1,000000
s1 x a1					0,000419	0,000000	0,000760	1,000000	0,000155	1,000000	0,673964	0,000000	0,076326	0,007767
s2 x a1						0,018293	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,124485	1,000000	1,000000	1,000000
s1 x a4							0,004221	1,000000	1,000000	0,952227	0,000000	0,467635	0,076575	0,146438
s1 x a5.1								1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
s1 x a5									1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
s2 x a4										1,000000	1,000000	0,004041	1,000000	1,000000
s2 x a5.1											1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
s2 x a5												0,003752	0,083185	1,000000
s2 x a3													1,000000	1,000000
s1 x a2														1,000000
s1 x a2.1														

Multiple Comparisons p values (2-tailed): Chl Dt3 (JV_all_red0509.sta)														
Independent (grouping) variable: Interação S x Trat.a1-a5_Cesp														
Kruskal-Wallis test: H (13, N= 242) =67,37135 p =,0000														
Depend.:	s1 x a3	s2 x a2.1	s2 x a2	s1 x a1	s2 x a1	s1 x a4	s1 x a5.1	s1 x a5	s2 x a4	s2 x a5.1	s2 x a5	s2 x a3	s1 x a2	s1 x a2.1
Chl Dt3	R:170,19	R:89,000	R:93,238	R:115,97	R:92,519	R:108,20	R:166,33	R:129,29	R:113,76	R:123,33	R:98,000	R:166,26	R:100,50	R:104,50
s1 x a3		0,926658	0,014396	0,318875	0,004161	0,542968	1,000000	1,000000	0,840619	1,000000	0,158538	1,000000	0,048091	1,000000
s2 x a2.1			1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
s2 x a2				0,000000	0,000000	0,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,030664	1,000000	1,000000
s1 x a1					1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,615514	1,000000
s2 x a1						1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,009888	1,000000
s1 x a4							1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,910982	1,000000
s1 x a5.1								1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
s1 x a5									1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
s2 x a4										1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
s2 x a5.1											1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
s2 x a5												0,279310	1,000000	1,000000
s2 x a3													0,097649	1,000000
s1 x a2														1,000000
s1 x a2.1														

Anexo XVIII – Análise de variância (ANOVA) para testar o efeito da interação entre substrato, X tratamento no teor em flavonoides para dt1, dt2 e dt3 (16, 27 e 41 dias), seguidas pelos respectivos testes de Tukey

Univariate Tests of Significance for Flav Dt1.1 (JV_all_red0509.s)					
Sigma-restricted parameterization					
Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	550,2970	1	550,2970	17918,67	0,000000
Interação S x Trat.a1-a5_Cesp	0,5537	13	0,0426	1,39	0,166695
Error	6,9714	227	0,0307		

Univariate Tests of Significance for Flav Dt2 (JV_all_red0509.sta)					
Sigma-restricted parameterization					
Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	405,9875	1	405,9875	1103,242	0,000000
Interação S x Trat.a1-a5_Cesp	41,5112	13	3,1932	8,677	0,000000
Error	84,2708	229	0,3680		

Tukey HSD test; variable Flav Dt2 (JV_all_red0509.sta)						
Homogenous Groups, alpha = ,05000 (Non-Exhaustive Search)						
Error: Between MS = ,36799, df = 229,00						
Cell No.	Interação S x Trat.a1-a5_Cesp	Flav Dt2 Mean	1	2	3	4
11	s2 x a5	0,657964	****			
3	s2 x a2	0,981571	****	****		
5	s2 x a1	1,062722	****	****	****	
2	s2 x a2.1	1,288250	****	****	****	****
9	s2 x a4	1,479824		****	****	****
13	s1 x a2	1,607182			****	****
8	s1 x a5	1,814095				****
1	s1 x a3	1,864407				****
14	s1 x a2.1	1,866083		****	****	****
12	s2 x a3	1,909444				****
6	s1 x a4	1,923667				****
4	s1 x a1	1,942133				****
10	s2 x a5.1	1,945125		****	****	****
7	s1 x a5.1	2,022667				****

Univariate Tests of Significance for Flav Dt3 (JV_all_red0509.sta)					
Sigma-restricted parameterization					
Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	36,7332	1	36,73317	65,66365	0,000000
Interação S x Trat.a1-a5_Cesp	45,7846	13	3,52190	6,29569	0,000000
Error	127,5464	228	0,55941		

Tukey HSD test; variable Flav Dt3 (JV_all_red0509.sta)					
Homogenous Groups, alpha = ,05000 (Non-Exhaustive Search)					
Error: Between MS = ,55941, df = 228,00					
Cell No.	Interação S x Trat.a1-a5_Cesp	Flav Dt3 Mean	1	2	3
2	s2 x a2.1	0,000000	****		****
5	s2 x a1	0,083630	****		
3	s2 x a2	0,089833	****		
11	s2 x a5	0,164571	****		****
13	s1 x a2	0,172295	****		****
6	s1 x a4	0,241800	****		****
14	s1 x a2.1	0,317417	****	****	****
4	s1 x a1	0,380333	****		****
9	s2 x a4	0,435559	****	****	****
10	s2 x a5.1	0,676167	****	****	****
8	s1 x a5	0,699929	****	****	****
12	s2 x a3	1,162630		****	
1	s1 x a3	1,211815		****	
7	s1 x a5.1	1,315167		****	****

Anexo XIX – Análise estatística (Teste de Kruskal-Wallis) da Interação Substrato x tratamento da sobrevivência para dt3 (41 dias)

Multiple Comparisons p values (2-tailed), Sobrev. DT3 (0 vs.1) (JV_all_red0509 sta)														
Independent (grouping) variable: Interação S x Trat a1-a5_Cesp														
Kruskal-Wallis test: H (13, N= 243) =114.0946 p =.0000														
Depend:	s1 x a3	s2 x a2.1	s2 x a2	s1 x a1	s2 x a1	s1 x a4	s1 x a5.1	s1 x a5	s2 x a4	s2 x a5.1	s2 x a5	s2 x a3	s1 x a2	s1 x a2.1
Sobrev. DT3 (0 vs.1)	R:146.00	R:67.250	R:58.571	R:156.35	R:60.500	R:160.40	R:168.50	R:145.36	R:111.32	R:138.13	R:64.357	R:164.00	R:124.32	R:128.00
s1 x a3	1,000000	0,001741	1,000000	0,000715	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,038295	1,000000	1,000000	1,000000
s2 x a2.1	0,001741	1,000000	1,000000	0,417848	1,000000	0,553352	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,208517	1,000000	1,000000
s2 x a2	0,001741	1,000000	1,000000	0,000092	1,000000	0,001662	0,066356	0,005747	1,000000	1,000000	1,000000	0,000023	0,197505	1,000000
s1 x a1	1,000000	0,417848	0,000092	1,000000	0,000025	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,004794	1,000000	1,000000	1,000000
s2 x a1	0,000715	1,000000	1,000000	0,000025	1,000000	0,000927	0,060383	0,003038	1,000000	1,000000	1,000000	0,000006	0,143050	1,000000
s1 x a4	1,000000	0,553352	0,001662	1,000000	0,000927	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,021493	1,000000	1,000000	1,000000
s1 x a5.1	1,000000	1,000000	0,066356	1,000000	0,060383	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,217936	1,000000	1,000000	1,000000
s1 x a5	1,000000	1,000000	0,005747	1,000000	0,003038	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,076300	1,000000	1,000000	1,000000
s2 x a4	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
s2 x a5.1	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
s2 x a5	0,038295	1,000000	1,000000	0,004794	1,000000	0,021493	0,217936	0,076300	1,000000	1,000000	1,000000	0,001525	1,000000	1,000000
s2 x a3	1,000000	0,208517	0,000023	1,000000	0,000006	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
s1 x a2	1,000000	1,000000	0,197505	1,000000	0,143050	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
s1 x a2.1	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000