



Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia

Mestrado em Engenharia Agronómica

Dissertação

Avaliação do efeito da copa das árvores e da aplicação de calcário dolomítico na actividade microbiana do solo e na produção de pastagem no ecossistema Montado

Daniel Augusto Grilo Bailote

Orientador(es) | Isabel Brito

João Manuel Serrano

Évora 2023



Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia

Mestrado em Engenharia Agronómica

Dissertação

Avaliação do efeito da copa das árvores e da aplicação de calcário dolomítico na actividade microbiana do solo e na produção de pastagem no ecossistema Montado

Daniel Augusto Grilo Bailote

Orientador(es) | Isabel Brito

João Manuel Serrano

Évora 2023



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

Presidente | Vasco Fitas da Cruz (Universidade de Évora)

Vogais | Isabel Brito (Universidade de Évora) (Orientador)
José Rafael Silva (Universidade de Évora) (Arguente)

Agradecimentos

Em primeiro lugar, agradeço à Professora Doutora Isabel Maria Oliveira Brito, que aceitou ser orientadora deste trabalho. Agradeço a oportunidade que me proporcionou de trabalhar junto de si, disponibilidade, conselhos, conhecimento transmitido e permanente ajuda prestada na construção do meu percurso académico. Ao Professor Doutor João Manuel Pereira Ramalho Serrano o agradecimento pela aceitação de orientação deste trabalho, pela proposta do tema, profissionalismo e disponibilidade permanente em me ajudar sempre com o esclarecimento de qualquer dúvida.

Um especial agradecimento à Professora Doutora Ana Elisa Rato, à Professora Doutora Anabela Ferreira Belo e às suas equipas por todo apoio, disponibilidade e enorme contributo para o desenvolvimento desta dissertação.

Quero agradecer a toda Universidade de Évora, em especial a todos os meus professores do curso de Agronomia e do Mestrado em Engenharia Agronómica pelo conhecimento transmitido e ajuda durante o meu percurso académico. Fui recebido da melhor forma nesta grande instituição, onde tive alguns dos melhores anos da minha vida.

Um agradecimento aos colegas e técnicos do Laboratório de Microbiologia dos Solos, Laboratório de Nutrição e Metabolismo, Laboratório de Tecnologia e Pós Colheita da Universidade de Évora em especial à Eng.^a Filipa Santos, colega Joana Ribeiro, Sr.^a Margarida Romão e à Sr.^a Gertrudes Mariano. Agradeço também ao Eng.^o Rodrigo Rodrigues, Sr. Custódio Alves e ao meu colega Jorge Narigueta o apoio e disponibilidade na recolha de amostras.

Quero agradecer a todos os meus amigos, e colegas que de uma forma ou de outra contribuíram para o culminar da minha formação académica. Um sincero obrigado aos meus amigos de curso Daniel Gregório, Danny Carvalheiro, Diogo Inácio, Francisco Aires, Gonçalo Dias, Tomás Monteiro, Thomas Pickard, Sara Mendes, Susana Mangorrinha e José Ramalho.

Por fim quero agradecer a toda a minha família, em especial aos meus pais e irmão por tudo aquilo que proporcionaram para que eu conseguisse atingir todos os meus objetivos. Apesar de todos os gestos e palavras serem poucos para lhes agradecer, é a eles que dedico esta dissertação já que sem eles nada disto teria sido possível.

Resumo

Este estudo teve por objetivo avaliar o efeito da copa das árvores e da aplicação de calcário dolomítico sobre a atividade microbiana e sobre a produtividade e qualidade da pastagem, num ecossistema constituído por solo de pH ácido, pastagem biodiversa de sequeiro sob Montado de azinho, pastoreada por ovinos. As amostras de solo e de raízes foram recolhidas num campo experimental (4ha) da Herdade da Mitra em fevereiro e junho de 2022 para avaliação da atividade microbiana (carbono microbiano e respiração basal do solo) e enzimática (desidrogenase, arilsulfatase, β -glucosidase e fosfatase), taxa de colonização micorrízica e obtenção dos espectros das amostras de solo. Em abril de 2022 foi monitorizada a composição florística e avaliada a produtividade (matéria verde e seca) e a qualidade da pastagem (proteína bruta e fibra). Os resultados demonstram um efeito positivo e significativo da copa da árvore em fevereiro em todas as enzimas, atividade microbiana e maior fertilidade do solo (matéria orgânica do solo, azoto total, carbono, fósforo e potássio). A aplicação de calcário foi significativa e positiva para o pH e para a respiração basal do solo. Em junho o efeito da copa apenas foi significativo na atividade enzimática da fosfatase enquanto a aplicação de calcário dolomítico apenas apresentou diferenças significativas para a respiração basal do solo e para a enzima arilsulfatase. A espectroscopia de infravermelho próximo (NIRS- *Near Infrared Spectroscopy*) aplicada às amostras de solo separou as amostras fora da copa da árvore independentemente da correção. Em abril debaixo da copa das árvores e nas zonas corrigidas com calcário dolomítico a produtividade (em termos de matéria verde) e qualidade (expressa em proteína bruta) da pastagem apresentaram valores médios mais elevados. A proteína bruta, expressa em kg/ha, apresentou também valores médios mais elevados nas áreas corrigidas. Debaixo da copa das árvores observou-se um maior número de espécies de gramíneas e espécies nitrófilas em relação à área fora da copa das árvores, predominando aí as leguminosas. Estes resultados permitiram perceber o efeito da matéria orgânica associada à copa das árvores e a correção da acidez do solo como fatores-chave para o desenvolvimento microbiano, diversidade florística e produtividade e qualidade das pastagens no ecossistema Montado, fornecendo informações importantes no que diz respeito à gestão holística deste ecossistema.

Palavras-chave: Micorrizas; carbono microbiano; desidrogenase; NIRS; biomassa.

Evaluation of the effect of tree canopy and dolomitic limestone application on soil microbial activity and pasture production in the *Montado* ecosystem

Abstract

This study aimed to evaluate the effect of canopy trees and dolomitic limestone application on microbial activity, productivity and quality of pasture on acid pH soil in an ecosystem consisting of dryland biodiverse pasture under Holm oak *Montado* grazed by sheep. Soil and root samples were collected in an experimental field (4ha) of Herdade da Mitra in February and June 2022 for evaluation of microbial (microbial carbon and soil basal respiration) and enzymatic (dehydrogenase, arylsulfatase, β -glucosidase and phosphatase) activity, mycorrhizal colonization rate and obtaining the spectra of the soil samples. In April 2022 the floristic composition was monitored, and productivity (green and dry matter) and pasture quality (crude protein and fibre) were evaluated. The results show a positive and significant effect of the canopy in February on all enzymes, microbial activity and higher soil fertility (soil organic matter, total nitrogen, carbon, phosphorus, potassium and manganese). Lime application was significant and positive in the amended areas for pH and basal soil respiration. In June the effect of canopy was only significant on the enzymatic activity of phosphatase while the application of dolomitic limestone only showed significant differences for basal soil respiration and for the enzyme arylsulfatase. Near Infrared Spectroscopy (NIRS) applied to the soil samples allowed separating only the samples outside the canopy regardless of the correction. In April inside the canopy and in areas corrected with dolomitic limestone the productivity (in terms of green matter) and quality (expressed in crude protein) showed higher average values. Crude protein expressed in kg/ha also showed higher average values in the corrected areas. Inside the canopy a greater number of grass species and nitrophilous species were observed in relation to the area outside the canopy with leguminous species predominating. These results allowed us to understand the effect of organic matter associated with the canopy and the correction of soil acidity as key factors for microbial development, floristic diversity and productivity and quality of pastures in the *Montado* ecosystem, providing important information regarding the holistic management of this ecosystem.

Key-Words: Mycorrhizae; microbial carbon; dehydrogenase; NIRS; biomass.

Índice Geral

Resumo	iv
Abstract	v
Índice Geral	vi
Índice de Tabelas	viii
Índice de Figuras	ix
Abreviaturas, Siglas e Acrónimos	xi
1.Introdução	1
1.1. Objetivos.....	3
2. Revisão Bibliográfica	4
2.1. Caraterização do Ecossistema Montado	5
2.2. Pastagens Biodiversas de Sequeiro	5
2.2.1. Importância das pastagens.....	7
2.2.2. Condicionantes climáticas e edáficas na produção de pastagens	8
2.2.3. Influência das árvores na produtividade e qualidade da pastagem	10
2.2.4. Melhoramento das Pastagens de Sequeiro pela Correção do Solo.....	11
2.3. Importância dos Microrganismos do Solo no Ecossistema Montado.....	12
2.3.1. Atividade microbiana do solo	15
2.3.2 Micorrizas.....	22
2.4. Espectroscopia do Infravermelho Próximo do Solo	27
3. Materiais e Métodos	31
3.1. Caraterização do Campo Experimental	32
3.2. Caraterização Climática	33
3.3. Recolha de Amostras de Solo	35
3.4. Inventariação Florística e Determinação da Produtividade e Qualidade da Pastagem	36
3.5. Processamento Laboratorial das Amostras de Solo	36
3.5.1. Atividade microbiana	36
3.5.2. Taxa de colonização arbuscular	38
3.5.3. Aquisição de Espectros	38
3.6. Processamento Laboratorial das Amostras de Pastagem	39
3.7. Tratamento Estatístico dos Dados.....	39
4. Resultados	41

4.1. Monitorização do Solo.....	42
4.2. Avaliação da Produtividade e da Qualidade da Pastagem.....	43
4.3. Avaliação da Atividade Microbiana Geral do Solo.....	44
4.4. Atividade Enzimática do Solo.....	45
4.5. Taxa de Colonização Micorrízica.....	46
4.6. Avaliação da Composição Florística da Pastagem.....	47
4.7. Análise dos Espectros NIR do Solo.....	54
5. Discussão.....	56
5.1. Avaliação do Efeito da Copa das Árvores e da Aplicação de Calcário Dolomítico no Solo.....	57
5.2. Avaliação do Efeito da Copa das Árvores e da Aplicação de Calcário Dolomítico na Pastagem.....	65
6. Conclusão.....	73
6. Referências Bibliográficas.....	78
8. Apêndices.....	107

Índice de Tabelas

Tabela 4.1. Efeito da copa das árvores e da aplicação de calcário dolomítico nos parâmetros do solo da parcela na data 1	43
Tabela 4.2. Efeito da copa das árvores e da aplicação de calcário dolomítico nos parâmetros da produtividade e qualidade da pastagem na data 2.....	44
Tabela 4.3. Efeito da copa e da aplicação de calcário dolomítico na atividade microbiana geral do solo	45
Tabela 4.4. Efeito da copa e da aplicação de calcário dolomítico na atividade enzimática do solo	46
Tabela 4.5. Efeito da copa e da aplicação de calcário dolomítico na taxa de colonização micorrízica	47
Tabela 4.6. Resultados da PERMANOVA com base na composição de famílias e considerando como fatores a localização e adição de calcário.....	48
Tabela 4.7. Resultados da PERMANOVA com base na composição específica e considerando como fatores a localização e a aplicação de calcário dolomítico	50

Índice de Figuras

Figura 2.1. Curvas de crescimento anual de uma pastagem nas condições de sequeiro Mediterrâneo em quatro situações pluviométricas diversas	9
Figura 2.2 Variação da composição florística da vegetação herbácea fora (dominada pelo <i>Rumex bucephalophorus</i>) e debaixo (dominada por gramíneas) da influência da copa da árvore	11
Figura 3.1. Fotografia aérea do campo experimental em que estão identificados as duas parcelas e os respetivos pontos de amostragem.....	33
Figura 3.2. Evolução da temperatura média mensal registada no ano agrícola 2021/2022 e dados da normal climatológica (1981-2010).....	34
Figura 3.3. Evolução da precipitação mensal acumulada registada no ano agrícola 2021/2022 e dados da normal climatológica (1981-2010).	35
Figura 4.1. Diagrama de ordenação do MDS para os inventários florísticos, com base na composição de famílias e utilizando o Coeficiente de semelhança de Bray-Curtis. Os inventários foram codificados em função da localização (debaixo de copa/fora de copa) e da aplicação de calcário dolomítico (com/sem).	48
Figura 4.2. Proporção de famílias do campo experimental em função da localização e da aplicação de calcário dolomítico	49
Figura 4.3. Diagrama de ordenação do MDS para os inventários florísticos, com base na composição de espécies e utilizando o Coeficiente de semelhança de Bray-Curtis. Os inventários foram codificados em função da localização (debaixo de copa/fora de copa) e da aplicação de calcário dolomítico (com/sem).	50
Figura 4.4. Distribuição das espécies pelos tratamentos identificadas em solos ácidos na Flora Vascular de Andalucía Ocidental (Valdés-Castrillón et al., 1987)	51
Figura 4.5. Espécies com maior representatividade nas áreas com e sem aplicação de calcário dolomítico.....	52
Figura 4.6. <i>Boxplot</i> da riqueza e diversidade da comunidade florística em função dos fatores localização (debaixo de copa/fora de copa) e aplicação de calcário dolomítico (com/sem)	53
Figura 4.7. <i>Boxplot</i> de diferentes parâmetros/métricas da comunidade florística em função dos fatores localização (debaixo de copa/fora de copa) e aplicação de calcário dolomítico (com/sem).....	54

Figura 4.8. Análise de componentes principais utilizando as amostras de solo da data 1 e da data 2	55
Figura 5.1. Índice de qualidade da pastagem.....	69
Figura 5.2. Efeito da copa e da aplicação de calcário dolomítico na PB (kg/ha) da pastagem	70

Abreviaturas, Siglas e Acrónimos

AOAC - *Association of Official Analytical Chemists – International*

C - Carbono

Ca - Cálcio

CaMg (CO₃)₂ - Calcário Dolomítico

C_{mic} - Carbono Microbiano

CO₂ - Dióxido de Carbono

COR - Corrigido

C_{org} - Carbono Orgânico

CTC - Capacidade de Troca Catiónica

DCA - Debaixo da Copa da Árvore

ERM - *Extraradical mycelium*

FCA - Fora da Copa da Árvore

Fe - Ferro

FMA - Fungos Micorrízicos Arbusculares

H - Hidrogénio

HCl - Ácido Clorídrico

HP - Humidade da Pastagem

IPMA - Instituto Português do Mar e da Atmosfera

IQP - Índice de Qualidade da Pastagem

KOH - Hidróxido de Potássio

MA - Micorrizas Arbusculares

MDS - *Multidimensional scaling*

Mg - Magnésio

Mn - Manganês

MO - Matéria Orgânica

MS - Matéria Seca

MV - Matéria Verde

N - Azoto

NaOH - Hidróxido de Sódio

NCOR - Não corrigido

NDF - *Neutral Detergent Fiber*

NIRS - *Near-infrared Spectroscopy*

N_{mic} - Azoto Microbiano

NO⁻³ - Nitrato

O - Oxigénio

P - Fósforo

PB - Proteína Bruta

PCA - *Principal Component Analysis*

PERMANOVA - *Permutational Multivariate Analysis of Variance*

RBS - Respiração Basal do Solo

S - Enxofre

SAU - Superfície Agrícola Utilizada

SIMPER - *Similarity Percentages*

SO₄ - Sulfato

SVD - *Singular Value Decomposition*

TPF - Trifenilformazan

TTC - Cloreto de Trifeniltetrazólio

UE28 - União Europeia 28

1.Introdução

O século XXI apresenta grandes desafios para a agricultura, que implicam aumentar a produtividade e ao mesmo tempo alcançar a maior sustentabilidade dos sistemas produtivos. É, portanto, necessário criar sistemas que combinem níveis baixos de fatores de produção com maior produção de alimentos e mínimos impactos ambientais. As projeções apontam para um aumento de 30% na população mundial entre 2015 e 2050 (7,3 para 9,5 bilhões de habitantes), sendo que o aumento correspondente na necessidade de alimentos requer um aumento na produção agrícola de 70% (Lal, 2015). Por outro lado, o solo é um recurso não renovável com a sua vulnerabilidade à degradação dependente de interações complexas entre processos, fatores e causas que ocorrem numa variedade de escalas espaciais e temporais (Lal, 2015). É neste contexto que importa avaliar a possibilidade de intensificar a produção pecuária extensiva através de um aumento de produtividade das pastagens no ecossistema Mediterrânico Montado e, simultaneamente, contribuir para a preservação do solo. Além disso, as pastagens estão entre os tipos de vegetação mais difundidos em todo o mundo, cobrindo 14% a 26% da superfície terrestre, desempenhando um papel importante no ciclo do carbono (C) e na mitigação das alterações climáticas (Noumonvi *et al.*, 2019). No Alentejo, o ecossistema Montado é explorado através da produção animal em regime extensivo, cobrindo na Península Ibérica uma área compreendida entre 3,5 e 4 milhões de hectares, representado cerca de 33% da área de floresta em Portugal (Serrano *et al.*, 2018a). Em geral as pastagens biodiversas de sequeiro no ecossistema Montado desenvolvem-se em solos com baixos teores de matéria orgânica (MO), acidez bastante acentuada e reduzida capacidade de troca catiónica (CTC). Além de solos de baixa fertilidade, o clima Mediterrânico é caracterizado por grande irregularidade e sazonalidade, com verões quentes e secos e com alta concentração de eventos pluviométricos num inverno relativamente curto, o que afeta e condiciona o ciclo vegetativo das pastagens. O efeito das árvores é também relevante para o crescimento das pastagens e resulta da deposição da biomassa no solo e da consequente atividade biológica do solo. Uma das decisões mais importantes na gestão do Montado, motivado pela existência de solos geralmente pobres e ácidos, está relacionada com a fertilização e correção do solo. A estratégia básica para conservação do solo, reversão da degradação deste ecossistema, melhoria da produtividade das pastagens e, conseqüentemente da produção animal começa com a correção da acidez do solo. Carvalho *et al.* (2015b) chamam a atenção para o interesse da aplicação de calcário dolomítico para corrigir a acidez do solo, pois melhora simultaneamente a relação Magnésio (Mg)/Manganês (Mn) na solução do solo. Outra

prioridade prende-se com a correção de outras possíveis deficiências, por meio da aplicação de fertilizantes.

A atividade microbiana do solo está direta e indiretamente implicada em vários aspetos da sua qualidade e conseqüentemente nas condições que proporciona para crescimento vegetal, pelo que a percepção da atividade microbiana do solo num dado local constitui um importante aferidor dos impactos a que o solo foi sujeito.

1.1. Objetivos

O objetivo desta dissertação consistiu em avaliar o efeito da copa da árvore e da aplicação de calcário dolomítico na produtividade, qualidade e composição florística de uma pastagem biodiversa em regime de sequeiro e na atividade microbiana do solo.

2. Revisão Bibliográfica

2.1. Caracterização do Ecossistema Montado

O Montado (Dehesa em Espanha) é um ecossistema multifuncional da região Mediterrânica onde se conjugam as atividades agrícola, florestal e pecuária (Potes, 2010; Pinto-Correia *et al.*, 2013). Contudo, com o decréscimo de importância das culturas sob coberto tende a ser considerado como um sistema silvo-pastoril (Pinto-Correia *et al.*, 2013).

O estrato arbóreo é geralmente constituído por povoamentos puros ou mistos de espécies quercíneas (Pinto-Correia *et al.*, 2013) em que domina o sobreiro (*Quercus suber* L.), com aptidão para a produção de cortiça, nas zonas de maior influência atlântica. Nas zonas com menores precipitações e verões mais acentuados em duração e temperaturas altas domina a azinheira (*Quercus ilex ssp. rotundifolia* Lam.), cujo principal produto é a bolota, um importante recurso alimentar para o gado (Potes, 2010).

O estrato herbáceo ocupando o nível mais próximo do solo apresenta uma grande variabilidade de espécies das famílias das leguminosas e das gramíneas com vocação pastoril (Fonseca, 2004). A pastagem sob Montado, na maioria das vezes permanente e de sequeiro, representa a base da alimentação na pecuária extensiva (Potes, 2010; Serrano *et al.*, 2019).

O Montado desenvolve-se em geral em solos essencialmente ácidos, pobres em nutrientes, com baixo teor em MO, delgados, pedregosos e por vezes com declives acentuados (Serrano *et al.*, 2019). Durante a segunda metade do século XX com o aumento da monocultura de cereais e a intensificação da mecanização foram eliminadas milhões de árvores em solos com potencial produtivo, ficando destinadas ao Montado zonas de solos mais pobres (Marcos *et al.*, 2007; Potes, 2010). Assim, este sistema ficou associado a solos menos férteis, permitindo a obtenção de recursos de uma forma continuada onde outras culturas não ofereciam qualquer rendimento (Fonseca, 2004).

2.2. Pastagens Biodiversas de Sequeiro

As pastagens são culturas aproveitadas no próprio local em que crescem pelos animais em pastoreio (Moreira, 2002), sendo geralmente constituídas por plantas de estrutura baixa, porte prostrado a sub-prostrado de forma a oferecer resistência ao pastoreio e ao pisoteio dos animais (Barros & Freixial, 2012).

Segundo Barros & Freixial (2012) as pastagens consoante a sua origem podem ser naturais ou espontâneas (presença de espécies que vegetam sem terem sido introduzidas pelo homem) e instaladas ou semeadas (sementeira de espécies melhoradas e bem-adaptadas do ponto de vista edafoclimático). As pastagens naturais melhoradas pela correção e fertilização adequadas do solo, pela introdução de espécies através de técnicas como a sementeira direta

e adotando um manejo correto designam-se pastagens naturais melhoradas. Estas permitem a recuperação de muitos solos marginais e de baixa fertilidade pela melhoria das características físicas (manutenção ou melhoria da estrutura), químicas (elevação do teor de MO) e biológicas do solo (criação e manutenção de condições favoráveis para a vida dos organismos) (Freixial & Carvalho, 2013).

As pastagens podem ser permanentes, quando têm uma longa duração, enquanto apresentam uma boa produtividade, qualidade e um bom estado de conservação, ou temporárias, quando estão inseridas em rotações com outras culturas agrícolas (Moreira, 2002).

Conforme o regime hídrico, as pastagens que beneficiam apenas da água proveniente da precipitação para a sua produção são designadas pastagens de sequeiro. Nas pastagens de regadio, o fornecimento de água através de sistemas de rega permite prolongar a oferta alimentar ao longo ano (Barros & Freixial, 2012).

Nos anos 70 do século passado, o Eng.º David Crespo introduziu a nível nacional uma inovação designada por pastagens permanentes semeadas biodiversas que consiste em misturas com um grande número de sementes e variedades, ricas em leguminosas (Esteves, 2013). As pastagens naturais com menos espécies, apresentam desvantagens relativamente às pastagens biodiversas e ricas em leguminosas, que em associação com bactérias efetivas do rizóbio, podem fixar entre 75 a 200 kg/ha de azoto (N) atmosférico em condições de sequeiro (Barros & Freixial, 2012). A utilização de leguminosas permite desta maneira reduzir os custos e o impacto ambiental de adubações azotadas e, para além disso, as leguminosas melhoram a qualidade da pastagem devido aos seus níveis mais elevados de proteína e à maior capacidade de ingestão que proporcionam aos animais (Freixial, 2018).

A diversidade de espécies, que dispõem de sistemas radiculares com diferentes formas, profundidades, densidades e modos de utilização, permite uma melhor e mais eficiente exploração do volume de solo (água e nutrientes), contribuindo para o aumento da produção da pastagem. A biodiversidade contribui para atenuar as diferenças de produção do ano e entre anos, que se verificam nas pastagens de sequeiro nas condições Mediterrânicas (Barros & Freixial, 2012). Para além da maior adaptabilidade edafoclimática (alarga a sua persistência), a biodiversidade permite uma maior complementaridade de espécies, exemplo típico das leguminosas (fixam N) e das gramíneas (consomem N, mantendo o equilíbrio) (Esteves, 2013). A sustentabilidade das pastagens semeadas biodiversas é, no entanto, ameaçada por fatores como a seca (Jongen *et al.*, 2013), o sobrepastoreio (Sales-Baptista *et al.*, 2016) ou a limitação de fósforo (P) (Efe Serrano, 2006).

2.2.1. Importância das pastagens

As pastagens são importantes não só como fonte de alimento para os animais em pastoreio extensivo, mas também são fundamentais na ocupação e ordenamento do território, permitindo aproveitar e valorizar áreas sem aptidão agrícola, que de outra forma permaneceriam abandonadas (Barros & Freixial, 2012; Martins, 2020). Esta forma de utilização da terra pode ter um papel decisivo na recuperação da fertilidade do solo, ao manter um coberto vegetal permanente o que permite reduzir a perda de água e proteger o solo da erosão e ainda pelo aumento do seu teor em MO (Marcos *et al.*, 2007; Barros & Freixial, 2012; Carvalho, 2018). Também segundo Barros & Freixial (2012), as pastagens desempenham um importante papel no estabelecimento de rotações de culturas, e no sequestro de C atenuando o efeito das alterações climáticas. Para além disso, desempenham um papel na manutenção da harmonia da paisagem e no desenvolvimento rural através da produção de alimentos, criam atividades e comércio local que fixa a população combatendo a desertificação. O pastoreio permite ainda a reciclagem de nutrientes e o controlo de matos, reduzindo o risco de incêndio (Esteves, 2013).

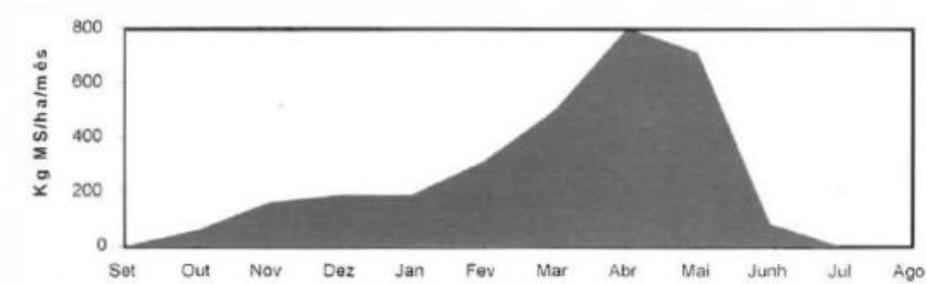
De acordo com recenseamento agrícola de 2019 (INE, 2019) a superfície agrícola utilizada (SAU) em Portugal aumentou 8,1% face a 2009, passando a ocupar 3,9 milhões de hectares. Mais de metade desta área são pastagens permanentes (51,7%) reflexo de um aumento de 265,9 mil hectares face a 2009. A partir da informação do mesmo recenseamento agrícola é ainda possível verificar que a SAU da UE28 é maioritariamente ocupada por terras aráveis (59,4%).

Neste contexto, a intensificação da produção extensiva através de um aumento da produtividade das pastagens no ecossistema Mediterrânico Montado (Serrano *et al.*, 2020a) é fundamental como resposta às projeções demográficas, as quais indicam um aumento de 30% (Martins *et al.*, 2016) na população mundial entre 2015 e 2050 (de 7,3 para 9,5 milhões de habitantes), o que corresponde ao aumento da procura alimentar (aumento do consumo de carne e de outros produtos de origem animal) e exige maior produtividade agrícola (Lal, 2015). O Alentejo era, à data do referido recenseamento a região do país com maior área de pastagens permanentes (64,1% do total nacional), em que as superfícies sob coberto de matas e florestas (705 801 hectares), essencialmente Montados de sobro e azinho representavam 52,6%.

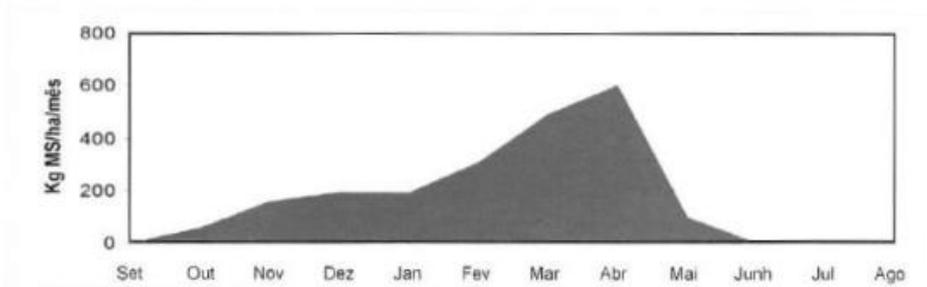
2.2.2. Condicionantes climáticas e edáficas na produção de pastagens

O Montado, inserido na zona de clima Mediterrânico (clima temperado) é caracterizado por verões quentes (temperatura média ronda os 24°C), longos (pelo menos três meses) e secos (apenas alguns milímetros de precipitação). A precipitação apresenta uma forte variabilidade intra e interanual, concentrando-se, essencialmente, na primavera ou no inverno (Fonseca, 2004; Potes, 2010). Na zona mais atlântica as precipitações anuais são superiores a 600 mm e as temperaturas inverniais mais suaves, enquanto na zona mais continental a precipitação anual é inferior a 400 mm e as temperaturas muito baixas no inverno, tendo em comum estas zonas os verões rigorosos secos e quentes (temperatura máxima por vezes com valores acima dos 40°C) (Díaz-Ambrona, 1998).

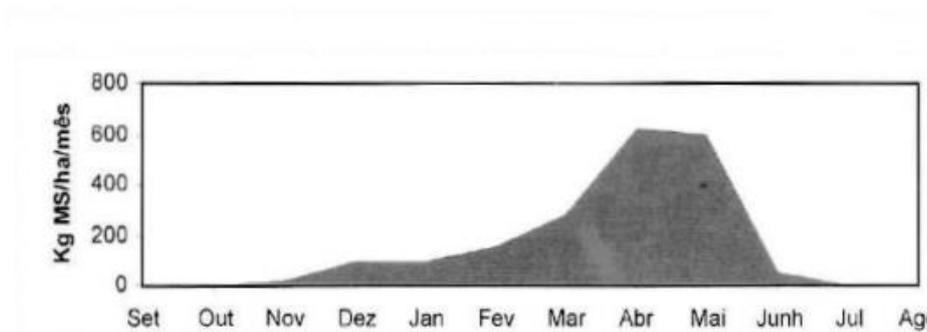
Os valores da precipitação afetam de forma significativa a produção das pastagens, como pode observar-se na figura 2.1. Esta mostra as curvas de crescimento anual de uma pastagem nas condições de sequeiro Mediterrâneo em quatro situações pluviométricas diversas. No período de Outono, se a precipitação ocorre cedo e em quantidades significativas (cenários a e b), a humidade no solo, a temperatura e a radiação permitem atingir um primeiro pico de produção, embora menor que o pico registado no período da primavera. Estes dois picos de produção são separados pelo inverno, altura em que as temperaturas baixas e os dias curtos, limitam o crescimento da pastagem. A partir dos meses de fevereiro/março as plantas estão totalmente enraizadas e em pleno desenvolvimento vegetativo e reprodutivo (conjugação dos fatores humidade, temperatura e radiação). Atinge-se assim o pico de produção máximo na formação de biomassa bruta, o que é afetado no final do ciclo das plantas pela falta de humidade no solo (falta de precipitação). Este pico de produção é mais (cenário c) ou menos (cenário d) acentuado em função da quantidade e distribuição da precipitação primaveril. No final da primavera/início do verão as espécies anuais terminam a maturação, formam a semente e entram em fase de senescência não havendo mais produção de pastagem até à germinação no outono seguinte (Efe Serrano, 2006; Barros & Freixial, 2012).



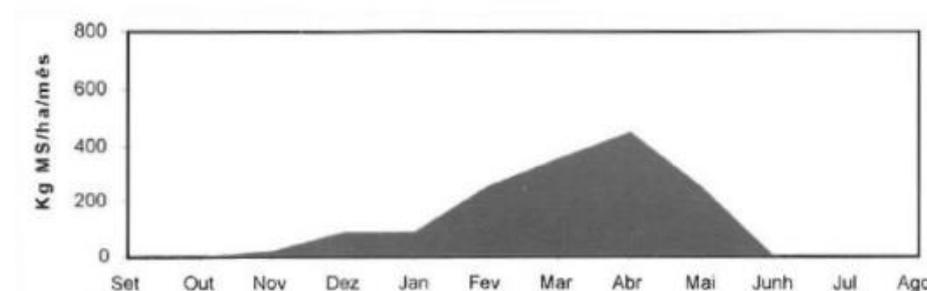
a) ano de Outono e Primavera húmidos (3000 kg MS / ha / ano)



b) ano de Outono húmido e Primavera seca (2100 kg MS / ha / ano)



c) ano de Outono seco e Primavera húmida (1900 kg MS / ha / ano)



d) ano de Outono e Primavera secos (1500 kg MS / ha / ano)

Figura 2.1. Curvas de crescimento anual de uma pastagem nas condições de sequeiro Mediterrâneo em quatro situações pluviométricas diversas (Fonte: adaptado de Efe Serrano, 2006)

A concentração da precipitação no período de outono/inverno aumenta o risco de erosão e de lavagem de nutrientes, o que contribui para a acidificação dos solos. Esta situação é agravada, segundo Carvalho (2018), pelo facto de 3/4 dos solos portugueses serem constituídos por rochas ígneas ou metamórficas (ácidas), ricas em silício e pobres em cálcio

(Ca), em que as mais representativas são os xistos e os granitos. O Montado predominante na região do Alentejo, desenvolve-se geralmente em Cambissolos, cujo a gênese deriva de rocha granítica. Em resultado da sua origem, estes solos têm características que os tornam pouco férteis, devido ao baixo teor de MO (inferior a 1%), acidez muito elevada e baixa CTC (Carvalho *et al.*, 2015b). Associado à acidez e decorrente do material originário destes solos é frequente a toxicidade de Mn. O problema de acidificação é agravado em solo de pastagens sob Montado, não só pela acumulação de detritos, mas também pela extração de nutrientes e lixiviação (NO_3^-) (Guevara-Escobar *et al.*, 2007).

2.2.3. Influência das árvores na produtividade e qualidade da pastagem

O efeito das árvores na pastagem resulta da interação das propriedades do solo e da extensão com que estas conseguem alterar o microclima (Benavides *et al.*, 2009). As copas das árvores ao interceptarem a radiação criam na vegetação microclimas menos frios durante o inverno e mais frescos e húmidos durante o verão (Pinto-Correia *et al.*, 2013).

O sistema radicular das árvores consegue absorver a grandes profundidades os nutrientes disponibilizados nas camadas mais superficiais do solo decorrentes da mineralização da folhada. A queda da folhada representa uma incorporação de MO debaixo da projeção da copa, o que aumenta a CTC e a capacidade de retenção de água (Pinto-Correia *et al.*, 2013), tornando também o pH destes locais ligeiramente menos ácidos atendendo ao poder tampão da MO (Carvalho, 2001). Contudo, a produção de hidratos de carbono e a produção de matéria seca (MS) da pastagem debaixo da copa da árvore (DCA) é reduzida pela menor disponibilidade de luz (intercetada pela copa) e por consequência pela menor taxa de fotossíntese (Benavides *et al.*, 2009). A sombra tem um efeito negativo na produtividade da pastagem DCA (Benavides *et al.*, 2009; Hussain *et al.*, 2009), quando comparada com as áreas fora da copa das árvores (FCA) onde é mais elevada a taxa de fotossíntese e onde não se verifica competição com as raízes das árvores por água e nutrientes (Serrano *et al.*, 2018a).

As árvores afetam também a qualidade da pastagem, cujo valor nutritivo diminui ao longo da primavera (redução da proteína bruta (PB) e aumento da fibra (NDF)). Benavides *et al.* (2009) consideram que a sombra, temperatura mais baixa e a humidade do solo atrasam o ciclo vegetativo DCA, mantendo as plantas fisiologicamente mais jovens, refletindo-se num período mais longo de altos níveis metabólicos, o que faz diferir a qualidade da pastagem. Serrano *et al.* (2018a) referem que os valores mais altos em proteína DCA não se devem apenas ao aumento de fertilidade do solo decorrente da queda de folhas

e ramos, mas também pela permanência preferencial dos animais nestas zonas de bem-estar e abrigo, o que leva ao aumento dos teores de MO e de alguns nutrientes pela concentração de dejetos. Na área DCA os valores de NDF podem ser mais elevados pela falta de luminosidade, o que desencadeia um alongamento das plantas, não havendo um aumento proporcional da área foliar, o que resulta num aumento do teor de fibra por unidade de massa produzida (lenhina, hemicelulose e celulose) (Paciullo *et al.*, 2011).

No que diz respeito à composição florística o estudo de Serrano *et al.* (2018a) demonstrou haver uma maior predominância de plantas das famílias das compostas e das leguminosas FCA e maior predominância de gramíneas DCA. Benavides *et al.* (2009) justificam que a composição florística DCA se degrada ao longo do tempo, ocorrendo um declínio das leguminosas e um aumento das gramíneas (apresentam maior tolerância à sombra), e um aumento da proporção de material vegetal seco. Atendendo ao maior teor de MO e ao seu poder tampão, a toxicidade será menos limitante para o crescimento das plantas (Goss *et al.*, 1992) DCA. Observa-se assim uma alteração abrupta da composição florística (figura 2.2), encontrando-se plantas mais suscetíveis ao Mn, particularmente gramíneas DCA, enquanto fora desta zona predominam plantas como o *Rumex bucephalophorus* e o *Chamaemelum fuscatum* (Carvalho, 2018).



Figura 2.2 Variação da composição florística da vegetação herbácea fora (dominada pelo *Rumex bucephalophorus*) e debaixo (dominada por gramíneas) da influência da copa da árvore (Fonte: Carvalho, 2018)

2.2.4. Melhoramento das Pastagens de Sequeiro pela Correção do Solo

O grupo de referência de solos mais representativo em Portugal são os Cambissolos (derivados de rochas graníticas), propícios à formação de solos ácidos e com uma baixa relação entre o Mg/Mn (Carvalho *et al.*, 2015b). Estes níveis excessivos de Mn podem causar

toxicidade nas plantas em solos ácidos ($\text{pH} \leq 5$) e em solos com problemas de drenagem. As condições de anaerobiose associadas ao encharcamento, resultam na redução de óxidos de manganês moderadamente solúveis a Mn^{2+} , forma mais facilmente absorvível pelas plantas (Brito *et al.*, 2014). Simultaneamente ocorre a lavagem de Mg, provocando uma diminuição da razão Mg/Mn (Goss & Carvalho, 1992).

O Mn é um micronutriente que em excesso provoca danos no sistema fotossintético da planta (afeta a atividade dos cloroplastos), provoca alterações na atividade enzimática, o que conseqüentemente influencia a absorção, a translocação e a utilização de alguns elementos minerais (Ca, Mg, Fe e P), causando stress oxidativo (Millaleo *et al.*, 2010).

A correção do solo através da aplicação de calcário dolomítico ($\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$) pode ser uma solução já que este calcário tem na sua constituição Mg, o que aumenta a razão $\text{Mg}^{2+}/\text{Mn}^{2+}$, reduzindo a toxicidade para as plantas (Carvalho *et al.*, 2015b). Este demonstrou ser um processo lento e gradual que melhora a relação Mg/Mn do solo e tem um impacto positivo na produtividade e qualidade das pastagens (Serrano *et al.*, 2020a). Após a correção da acidez, a estratégia básica da conservação do solo passa por corrigir as carências e a baixa disponibilidade de alguns nutrientes, através da fertilização e instalação de pastagens permanentes (Efe Serrano, 2006). A adubação em P em solos que mantenham a acidez mesmo após a correção com calcário dolomítico, pode ser muito importante já que as leguminosas introduzidas beneficiam bastante desta aplicação, o que se reflete num aumento de produção da biomassa total da pastagem (Serrano *et al.*, 2012).

2.3. Importância dos Microrganismos do Solo no Ecossistema Montado

Os organismos do solo são um componente importante, mas pouco estudado, dos ecossistemas terrestres, apesar de representarem uma grande fração da biodiversidade terrestre. Cerca de 40% da população dos organismos nos ecossistemas terrestres estão associados durante o seu ciclo de vida diretamente aos solos (Decaëns *et al.*, 2006).

O solo contém um grande número de microrganismos (bactérias, arqueias, algas, fungos e protozoários), contribuindo para uma série de processos que afetam o crescimento e desenvolvimento das plantas, assim como para os principais ciclos geoquímicos sendo que a biomassa microbiana se concentra na zona mais superficial do solo (0-20 cm) (Perez *et al.*, 2004). Os microrganismos formam associações simbióticas ou não com as raízes das plantas, auxiliam no controlo biológico de patogénicos, influenciam a solubilização de minerais e contribuem para a estrutura e agregação do solo (Leite & Araújo, 2007).

A rizosfera corresponde ao volume de solo ao redor da raiz influenciado pela planta (ambiente rico em nutrientes), em que a exsudação de moléculas de baixo peso molecular oriunda da raiz resulta na seleção e na atração da biomassa microbiana (Bais *et al.*, 2006). É neste ambiente único e dinâmico que ocorre a maior atividade e biodiversidade dos microrganismos do solo, encontrando-se microrganismos que promovem o crescimento das plantas, decompositores da MO, fungos e bactérias antagonistas de patogênicos, endófitos, fixadores simbióticos ou não de N (Castro & Fareleira, 2017). Os microrganismos do solo por participarem em processos-chave que mantêm a estrutura e a fertilidade do solo (produção de enzimas que atuam na decomposição, mineralização e imobilização da MO) têm um papel fundamental na manutenção dos solos. Os microrganismos são benéficos para as plantas por aumentarem a disponibilidade de nutrientes, produzirem moléculas que estimulam o crescimento das plantas, fortalecerem a sua resposta imunitária ou sintetizarem moléculas com ação antimicrobiana que atuam no controle de agentes patogênicos (Rusique *et al.*, 2021). A mobilização do solo (dependendo da profundidade e frequência), tal como a utilização de pesticidas e inseticidas pode levar a uma diminuição drástica da biodiversidade, e diminuir a atividade biológica do solo. Recorrendo a organismos do solo, pode reduzir-se o inóculo de uma espécie patogênica, retardar ou inibir a infecção sem diminuir a biodiversidade (Castro & Fareleira, 2017).

As bactérias são importantes no contexto agrícola, porque contribuem para o ciclo do C por fixação (fotoautotróficas e quimioautotróficas) e decomposição. Existem bactérias fixadoras de N, que transformam o N molecular atmosférico em amônia (fixação biológica do N), encontrando-se em associação simbiótica com plantas (por exemplo, *Rhizobium* ou *Frankia*) ou não (por exemplo, *Azotobacter* ou *Clostridium*) (Schuller, 2004). Através da simbiose entre leguminosas e bacterianas (rizóbios) nos nódulos radiculares, introduz-se no solo N atmosférico de uma forma ambientalmente não poluente e gratuita. A fixação biológica de N produzida pela simbiose entre leguminosa e rizóbio pode ter um efeito profundo no ecossistema Montado, aumentando consequentemente o teor de N do sistema e a sua disponibilidade para gramíneas e outras plantas, aumentando a produção global de biomassa e o teor de MO no solo (Teixeira, 2022). Com base neste conhecimento, a recuperação de solos de baixa fertilidade do ecossistema Mediterrânico Montado poderá ser feita através da instalação de pastagens semeadas biodiversas ricas em leguminosas, utilizando rizóbios autóctones ou inoculados como biofertilizantes ajudando a reduzir a utilização de fertilizantes químicos azotados. Os resultados obtidos por Silva *et al.* (2022) mostraram que pastagens sem qualquer intervenção têm populações nativas de rizóbios

muito baixas em comparação a pastagens semeadas biodiversas à base de leguminosas (estas registaram uma população nativa de rizóbios acima de 10^4 bactérias/g de solo). Estes valores revelam uma população de rizóbios que estará a contribuir para a fertilidade dos solos do Montado. As leguminosas associadas ao rizóbio ao fixarem N atmosférico, tornam o sistema autossuficiente em N. Este alto suprimento de N aumenta a força competitiva das gramíneas ao incrementar rápidos crescimentos fortalecendo a sua capacidade de competir com outras espécies por água e luz (Silvertown *et al.*, 2006; Song *et al.*, 2011; Hacker *et al.*, 2015). Existem vários géneros de bactérias fixadoras de N não simbióticas ou de “vida livre” (*Azospirillum*) que estabelecem associações com gramíneas, aspeto relevante nas zonas de Montado, em que as pastagens biodiversas, para além de leguminosas contém também gramíneas e outras espécies, contribuindo desta maneira para suprimir as necessidades das plantas em N nestas áreas de Montado (Castro & Fareleira, 2017). Castanheira *et al.* (2014) demonstraram, ao isolar várias bactérias autóctones associadas ao azevém anual em solos com pastagem natural em zonas de Montado, que algumas delas induziram aumentos significativos nas raízes de plantas cultivadas laboratorialmente em meio sem N. Pela produção de ácidos orgânicos, com acidificação do meio envolvente e libertação de ortofosfato das reservas de P do solo, as bactérias do solo mobilizam o P indisponível, tornando-o acessível às plantas, reduzindo as necessidades de fertilização fosfatada. Também em solos de Montado foram isoladas várias bactérias solubilizadoras de fosfato associadas ao azevém anual, em especial do género *Pseudomonas* que, testadas num ensaio em vasos, usando um solo deficiente em P, se demonstrou que as plantas de azevém inoculadas com bactérias solubilizadoras de fosfato apresentaram um aumento considerável da biomassa radicular, comparativamente às plantas não inoculadas. As fitohormonas produzidas pelas bactérias do solo interferem diretamente com o crescimento e desenvolvimento das plantas. O exemplo mais comum é a auxina, que promove a formação de raízes secundárias, aumenta o tamanho e a densidade dos pelos radiculares e que, conseqüentemente, aumenta a capacidade exploratória das raízes e a captação nutrientes. Algumas bactérias da rizosfera são ainda importantes na estratégia de luta contra determinados agentes fitopatogénicos, como é por exemplo o caso de *Phytophthora cinnamomi* ou de *Diplodia corticola* (sin. *Botryosphaeria*), os principais agentes patogénicos responsáveis por doenças dos sobreiros e azinheiras. Desta maneira poderão vir a utilizar-se bactérias do solo com atividade antagonista como agentes de biocontrolo (Castro & Fareleira, 2017).

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMA), colonizam as raízes das plantas através de uma relação simbiótica mutualista. O micélio extra-radicular destes fungos que se estende para além das raízes permite a absorção de nutrientes e água que são fornecidos à planta em troca do resultado da sua atividade fotossintética (hidratos de carbono e lípidos). Esta rede de micélio extra-radicular associada à raiz permite que a planta explore um maior volume de solo e aceda a nutrientes e água que de outra forma não estariam ao seu alcance. São particularmente importantes na absorção de nutrientes pouco móveis no solo, como o P (Smith *et al.*, 2011). Leguminosas semeadas em pastagens biodiversas são obrigatoriamente dependentes do fornecimento de P através da simbiose micorrízica (Janos, 2007). Para além disso os fungos endomicorrízicos arbusculares conferem à planta hospedeira proteção contra stresses bióticos e abióticos (Goss *et al.*, 2017). Assim como as bactérias, os fungos são importantes ao reter nutrientes (Bot & Benites, 2005).

Para além de diferentes exigências em termos nutritivos, as leguminosas e as gramíneas (McCaskill *et al.*, 2019) também têm diferentes estratégias de captação de nutrientes (Reinhart *et al.*, 2012), sendo que as gramíneas contam com um sistema radicular fino, grande e altamente ramificado para captar nutrientes, enquanto muitas leguminosas, atendendo à sua morfologia radicular apresentam uma maior dependência nutricional de micorrizas (Hempel *et al.*, 2013). No estudo de Unger *et al.* (2021), na presença das micorrizas arbusculares (MA), a gramínea proeminente (*Lolium*) mostrou ser mais competitiva que a leguminosa proeminente (*Trifolium*), e em que a fertilização fosfatada conferiu uma vantagem competitiva do *Lolium* sobre o *Trifolium*, tendo um efeito marcante na biomassa produzida.

2.3.1. Atividade microbiana do solo

A qualidade do solo pode ser definida como a capacidade contínua de um dado solo funcionar dentro dos limites ecológicos e de uso da terra, sustentar a produtividade, manter ou melhorar a qualidade ambiental (ar e água) e contribuir para a saúde das plantas, animais e humana (Araújo *et al.*, 2012). A qualidade do solo pode ser medida através do uso de indicadores físicos, químicos e biológicos e em que a sua combinação deve permitir interpretar corretamente a qualidade do solo. Os indicadores físicos estão relacionados com a “qualidade inerente”, que é influenciada pela idade do solo e por climas passados, enquanto a maioria dos indicadores químicos e todos os indicadores biológicos podem estar associados à “qualidade dinâmica”, que é altamente sensível ao uso da terra e ao solo. Os indicadores biológicos da qualidade do solo são necessários para relacionar as propriedades abióticas do

solo com o seu funcionamento. A biomassa microbiana do solo (abundância, diversidade e atividade) desempenha papéis fundamentais, como o de principais decompositores da MO e também no ciclo dos nutrientes. Os microrganismos do solo podem ser estudados como indicadores de qualidade através da sua biomassa, atividades e estrutura da comunidade. A atividade biológica encontra-se nas camadas mais superficiais do solo já que ocorre nestas camadas uma maior acumulação de MO (deposição de material vegetal da parte aérea) e para além disso ocorre o efeito das raízes. Nestas camadas a componente biológica (principalmente microrganismos) ocupa apenas menos de 0,5% do volume total de solo e representa menos que 10% da MO (Araújo & Monteiro, 2007). Esta componente biológica é composta principalmente por microrganismos que decompõem a MO e libertam nutrientes que ficam disponíveis para as plantas. Os microrganismos do solo possuem a capacidade de fornecer respostas rápidas a mudanças na qualidade do solo, característica que não é observada nos indicadores químicos e físicos (Araújo & Monteiro, 2007). Em certos casos as alterações na população e na atividade microbiana podem antecipar mudanças nas propriedades químicas e físicas, o que se reflete numa melhoria ou degradação do solo. A análise química de um solo é útil para estimar o seu potencial produtivo, contudo fornece apenas informação da capacidade do solo em manter a produtividade vegetal e os atributos físicos ou a perda de MO podem levar anos a ocorrer de forma significativa. O facto dos indicadores biológicos interferirem nos processos do ecossistema, torna-os mais sensíveis para avaliar as mudanças na qualidade do solo. Os atributos microbianos do solo (diversidade, atividade enzimática, taxa de respiração e biomassa microbiana) são, por isso mesmo, indicadores sensíveis que podem ser utilizados na monitorização de alterações ambientais decorrentes do uso agrícola (Silva *et al.*, 2021), servindo para orientar o planeamento e avaliar práticas agrícolas utilizadas. Como algumas das propriedades do solo são resultado da atividade biológica e as interações entre diversas comunidades de microrganismos do solo colaboram para o funcionamento do solo, torna-se importante para além da quantificação da biomassa microbiana o uso de parâmetros que estimam a atividade microbiana, tais como a respiração basal do solo (RBS) e a atividade enzimática (Santana *et al.*, 2017; Souto *et al.*, 2009).

Os regimes térmico e hidrológico são fatores chave nas propriedades bioquímicas e microbianas do solo (Giacometti *et al.*, 2013). A água no solo afeta o estado fisiológico dos microrganismos e das plantas (Walker *et al.*, 2003). De acordo com Silva *et al.* (2008), a respiração depende mais fortemente da humidade do que da temperatura. O acréscimo de água num solo seco tem efeitos positivos sobre a atividade microbiana, aumentando a

produção de dióxido de carbono (CO₂). Solos húmidos apresentam comunidades microbianas mais diversificadas do ponto de vista funcional, no entanto a humidade excessiva pode conduzir a uma menor biomassa de microrganismos (Silva *et al.*, 2008). Um elevado teor de humidade diminui as taxas de decomposição de MO, devido à baixa oferta de oxigénio (O₂) (elevado teor de água bloqueia os poros do solo limitando a difusão do CO₂ e O₂), em contrapartida, uma baixa humidade do solo diminui a atividade microbiana ao reduzir a difusão de substratos, a mobilidade microbiana e o potencial intracelular da água e limita também as raízes das plantas (Stres *et al.*, 2008).

A temperatura do solo correlaciona-se positivamente com a atividade microbiana, apesar dos microrganismos manterem a atividade a temperatura próximas de 0°C (Sommerfeld *et al.*, 1993). O aumento de temperatura estimula a atividade das raízes e dos organismos heterotróficos (Pendall *et al.*, 2004), influencia a absorção de nutrientes pelos sistemas biológicos (Pregitzer, 2005) e também a disponibilidade de nutrientes pois controla a taxa de decomposição da MO do solo, e conseqüentemente, a respiração do solo. Esta relação não é tão consistente no clima tipo Mediterrânico (árido ou semi-árido), dependendo da distribuição e disponibilidade da água no solo ao longo do tempo (Conant *et al.*, 2004).

2.3.1.1. Atividade das enzimas no solo

As enzimas do solo (catalisadores metabólicos que permitem a ocorrência de inúmeras reações bioquímicas) resultam dos exsudados das raízes das plantas, células microbianas, da decomposição da biomassa vegetal e animal (Yang *et al.*, 2008). Atuam nos ciclos de nutrientes essenciais para o desenvolvimento das plantas (por exemplo C, P, N e enxofre (S)), convertendo os nutrientes em formas assimiláveis para os microrganismos e para as plantas. As enzimas do solo são indicadoras da sua qualidade devido à forte correlação com a MO e propriedades físicas (Tabatabai, 1994). A atividade enzimática responde rapidamente a alterações e é sobretudo um método de análise simples e menos dispendioso quando comparado com outros indicadores biológicos da qualidade do solo (Jordan *et al.*, 1995). As atividades enzimáticas do solo são “sensores” de degradação do solo, já que integram informação sobre o estado microbiano, e também das condições físico-químicas, permitindo estudar os tratamentos do solo sobre a fertilidade pela sua boa correlação com a disponibilidade de nutrientes (Aon & Colaneri, 2001; Baum *et al.*, 2003; Chen *et al.*, 2003).

A β-glucosidade é uma enzima sintetizada principalmente pelos organismos do solo, capaz de hidrolisar hidratos de carbono de alto peso molecular (por exemplo celulose),

obtendo-se como produto final açúcares simples (glucose) que servirão como fonte de C e energia para uma maior gama de microrganismos. Tem, portanto, uma participação essencial no ciclo do C, especialmente na decomposição de estruturas celulósicas de plantas. A atividade de β -glucosidade possui uma correlação significativa com a MO do solo, desempenhando um papel importante na degradação desta (Alvarenga *et al.*, 2008).

As fosfatases são enzimas extracelulares libertadas pelas raízes das plantas e microrganismos que catalisam a hidrólise de fosfomonoésteres libertando P inorgânico, a partir do P orgânico, ajudando na nutrição das plantas e microrganismos, e tendo um papel importante no ciclo do P. Podem ser classificadas de acordo com o seu pH ótimo em fosfatases ácidas (pH ótimo à volta de 6,5), que é produzida tanto por microrganismos (em especial fungos) e por plantas ou fosfatases alcalinas (pH à volta de 11) cuja atividade se deve apenas aos microrganismos (Rejsek *et al.*, 2012; Cardoso & Andreote, 2016). Segundo Gil-Sotres *et al.* (2005) quanto maior for o teor de MO presente no solo, maior é a atividade desta enzima. A atividade da fosfatase é afetada pelo pH, temperatura, teor em MO e pelo tipo de solo.

A arilsulfatase é uma enzima de origem microbiana ou vegetal que participa no ciclo de S, sendo responsável pela hidrólise de ligações do tipo éster de sulfatados, libertando para o solo S, nutriente necessário ao metabolismo e desenvolvimento das plantas. A atividade de arilsulfatase decresce com a profundidade do solo e com a diminuição do teor de MO, por constituir a principal reserva de ésteres de sulfato (SO_4) (substrato de enzima) (Nogueira & Melo, 2003).

A desidrogenase é uma oxirredutase envolvida na transferência de eletrões na cadeia respiratória dos microrganismos aeróbios, sendo por isso considerada uma potencial medida da atividade microbiana em geral (Pepper & Gerba, 2004). Avalia a atividade oxidativa dos solos e a atividade metabólica (Friedel *et al.*, 1994). As desidrogenases encontram-se maioritariamente no interior das células, pelo que um aumento da sua atividade é atribuído ao aumento da biomassa da comunidade microbiana (Benitez *et al.*, 2000; García *et al.*, 2002).

No Mediterrâneo, em áreas da Península Ibérica, a atividade enzimática do solo decresce proporcionalmente com a diminuição da cobertura vegetal (García *et al.*, 2002). Uma diminuição da atividade enzimática nos ecossistemas Mediterrânicos em condições de seca pode ser crítica devido à diminuição do fornecimento de nutrientes e, conseqüentemente, pode ter um efeito direto sobre a capacidade de produção fotossintética e um efeito indireto no uso eficiente da água (Sardans & Peñuelas, 2004). Esta diminuição

da atividade enzimática no solo afeta também a decomposição da MO, fator chave no possível processo de degradação nas comunidades vegetais.

Sardans e Peñuelas (2004) mostraram que nas condições Mediterrânicas, a atividade enzimática tende a reduzir-se pela diminuição do teor de humidade do solo, apesar do aumento do teor de MO. A diminuição da atividade da β -glucosidase em períodos de seca pode ter efeitos negativos sobre a capacidade de outras enzimas, uma vez que é uma enzima que decompõe a celulose lábil e outros polímeros de carboidratos. Ainda no estudo de Sardans & Peñuelas (2004) a redução da atividade enzimática demonstrou que a disponibilidade de P diminui com as condições de seca.

A atividade das enzimas é sensível aos efeitos sazonais da zona Mediterrânica. O estudo de Sardans & Peñuelas (2004) demonstrou haver uma maior atividade microbiana (fosfatase, urease e β -glucosidase) na Primavera (temperatura ótima, disponibilidade de água e maior quantidade de folhada) com o crescimento mais ativo das plantas e da atividade microbiana e logo depois da época de Outono (García *et al.*, 2002). No entanto, os resultados obtidos por Costa *et al.* (2013) no ecossistema Mediterrânico Montado mostraram maior atividade microbiana (fosfatase ácida, β -glucosidase) nas estações chuvosas (Inverno e Outono). A correlação positiva das enzimas medidas com a humidade do solo sugere que este fator pode ser o principal responsável na variação sazonal da atividade microbiana. As condições Mediterrânicas no Verão, tais como baixa disponibilidade de água no solo e as altas temperaturas estão associadas a uma baixa atividade biológica no solo (Sardans & Peñuelas, 2004). No entanto, no estudo de Rodrigues *et al.* (2015) as atividades da β -glucosidase e da urease foram mais elevadas no verão, algo que os autores justificaram por ter ocorrido evento pluviométrico poucos dias antes da data de amostragem (verão). A humidificação do solo seco pode levar a súbitos picos de respiração, por vezes superiores aos registados em solos constantemente húmidos, sendo que quanto maior for a duração e intensidade da seca, maior será o pico de respiração verificado (Unger *et al.*, 2012). Ainda neste estudo, o facto de haver menor quantidade de P disponível para as plantas em áreas sem árvores levou a uma maior atividade da fosfatase nestas áreas do que em zonas DCA (García *et al.*, 1994), ao contrário da β -glucosidase que foi positivamente influenciada pelo efeito da copa da árvore, refletindo a sua dependência na disponibilidade de substrato (Mariscal-Sancho *et al.*, 2010).

2.3.1.2. Respiração basal do solo

A RBS é definida como a soma total de todas as funções metabólicas nas quais o CO₂ é produzido. A RBS inclui a respiração autotrófica (respiração radicular relacionada com a produção primária da fotossíntese) e heterotrófica (decomposição da MO por microrganismos) (Curiel Yuste *et al.*, 2004; Fang *et al.*, 2005). Os principais responsáveis pela libertação de CO₂ no solo são as bactérias enquanto e os fungos heterotróficos são responsáveis pela decomposição da MO. A RBS descreve o nível de atividade microbiana, permitindo fazer inferências sobre o teor e a decomposição da MO refletindo ao mesmo tempo a capacidade de sustentação de vida no solo (Moura *et al.*, 2015). A RBS é influenciada pela humidade, temperatura (aumenta com a subida de temperatura), disponibilidade de nutrientes, textura, estrutura, relação C/N e presença de resíduos orgânicos (Moura *et al.*, 2015).

A respiração do solo tende a diminuir de forma linear com a redução do conteúdo de água no solo. Solos com teores baixos de humidade reduzem o contacto entre o substrato, enzimas e microrganismos, como também reduzem a disponibilidade do substrato devido à camada superficial do solo estar mais seca, restringindo desta forma a respiração basal do solo. Por outro lado, teores muito elevados de humidade também diminuem a resposta da respiração basal do solo, pelas potenciais limitações na disponibilidade de O₂. Lin & Doran (1984) apontam que atividade microbiana é ótima quando a capacidade de campo do solo é da ordem dos 60%. A adição de resíduos vegetais aumenta significativamente a taxa RBS (Prévost-Bouré *et al.*, 2010). Uma experiência para avaliar diferentes práticas agrícolas em áreas Mediterrânicas semiáridas demonstrou que a adição de restos de culturais como palha de aveia, contribuiu para altos níveis de RBS, explicado pelo aumento dos teores de MO e de nutrientes do solo, que estimularam a atividade microbiana (García-Orenes *et al.*, 2010).

2.3.1.3. Carbono microbiano

A MO do solo é uma das principais fontes de energia e de nutrientes, para os microrganismos melhorando as condições físicas, químicas e o biológicas solo. A sua quantidade depende da incorporação de resíduos orgânicos e da taxa de decomposição das frações orgânicas. A monitorização da qualidade do solo pode ser feita através da sua MO, mais precisamente do seu conteúdo em C. As formas mais lábeis de C são essenciais para a melhoria da qualidade e para a sustentabilidade dos sistemas de produção por participarem em processos de formação e estabilização dos agregados.

A biomassa microbiana (fração viva da MO do solo composta por bactérias, fungos, actinomicetos, protozoários e algas) está envolvida na decomposição natural e, portanto, no ciclo dos nutrientes (Perez *et al.*, 2004). A biomassa microbiana do solo é influenciada pelas variações sazonais de humidade e temperatura, práticas agrícolas e pelos resíduos vegetais. Esta biomassa representa uma pequena fração da MO total do solo, sendo que o C da biomassa microbiana constitui apenas 1-3% do C total do solo e o N da biomassa microbiana do solo representa 5% do total de N no solo. Apesar disso, a biomassa microbiana é mais sensível que os teores de C orgânico e do N total para detetar alterações na MO resultantes de práticas agrícolas (Gama-Rodrigues, 1999). Geralmente a biomassa microbiana apresenta uma forte correlação com a MO do solo. Por conseguinte, a disponibilidade de nutrientes e a produtividade dos agroecossistemas dependem principalmente da dimensão e da atividade da biomassa microbiana do solo.

A determinação do carbono microbiano (C_{mic}) é importante para avaliar a dimensão do reservatório mais ativo e dinâmico da MO, o qual é constituído basicamente por fungos, bactérias e actinomicetos. O C_{mic} pode ser utilizado como um indicador precoce de alterações na MO e na qualidade do solo. Os maiores valores de C_{mic} são geralmente obtidos em pastagens em consequência da maior densidade de raízes, maior disponibilidade de substratos para as comunidades microbianas do solo e, além disso, em geral não há revolvimento do solo o que favorece os fungos, que constituem em termos proporcionais a maior parte da biomassa microbiana do solo (Bandick & Dick, 1999). A razão $C_{mic}/$ carbono orgânico (C_{org}) indica a qualidade da MO. O C_{org} é relatado como um dos reguladores mais significativos do tamanho da biomassa microbiana do solo, tanto o C_{mic} como o azoto microbiano (N_{mic}) são significativamente correlacionados com o C_{org} e com N total respetivamente (Evangelou *et al.*, 2020).

Os elevados valores de C_{mic} e N_{mic} em solos de pastagem em ecossistemas agrícolas Mediterrânicos comparativamente aos outros usos do solo podem ser atribuídos à alta produtividade, à densidade de raízes na camada superficial, à regeneração anual da comunidade vegetal e aos produtos da rizosfera da cobertura vegetal estimulada pelo pastoreio (Frank *et al.*, 1995; Liu *et al.*, 2018). Numa base sazonal, os resultados de Marañón-Jiménez *et al.* (2022) indicam que o efeito das condições de verão seco e quente no Mediterrâneo podem ser mais importantes para a variação temporal da biomassa microbiana do solo do que outros fatores. O padrão geral de declínio de C_{mic} e N_{mic} no verão seguido por um aumento com o início das chuvas é notavelmente semelhante em todos os usos de terra. O aumento destes indicadores no outono reflete a aceleração da imobilização

de C e N pela biomassa microbiana do solo e indica uma acumulação de C lábil do solo em condições favoráveis para o crescimento microbiano. Os solos florestais demonstram menor declínio no verão para C_{mic} e N_{mic} em comparação com outros usos dos solos não irrigados, pois são mais sombreados e frescos no verão, com maior capacidade de atenuar as variações climáticas. Além disso, o enraizamento profundo e o acesso às reservas de humidade do subsolo nas florestas Mediterrânicas favorecem o movimento passivo da água para camadas mais superficiais, mantendo a atividade microbiana do solo durante a seca (Evangelou *et al.*, 2020).

2.3.2 Micorrizas

As micorrizas são simbioses mutualistas estabelecidas entre certos fungos existentes no solo e a raiz das plantas. Existem vários tipos de micorrizas de acordo com a sua estrutura, morfologia, modo de infeção e tipo de organismo mutualista que as estabelecem, sendo as mais estudadas as ectomicorrizas (fungos que se desenvolvem nos espaços inter-celulares das células radiculares) e as endomicorrizas (fungos cujas hifas penetram as células da raiz) (Harley & Harley, 1987; Schachtman *et al.*, 1998). O grupo das endomicorrizas pode ser dividido em seis sub-tipos: arbuscular, arbutóide, ericóide, ecto-endomicorrizas, monotropóide e orquidóide. No entanto as endomicorrizas do tipo arbuscular são as de maior expressão no reino vegetal, estando presente em cerca de 80% das espécies vegetais (Smith & Read, 2008), pois apresentam um baixo grau de especificidade em relação ao hospedeiro, ganham especial importância pela sua presença na maioria dos sistemas agrícolas mundiais. As ectomicorrizas estão presentes em cerca de 3% das plantas herbáceas com semente e em certos grupos de árvores e arbustos de maior porte, encontradas essencialmente no hemisfério norte em bosques de zonas temperadas (horizontes formados por húmus e teor de MO elevado) e ainda em bosques tropicais e subtropicais (N é um fator limitante). As ectomicorrizas permitem tornar as árvores mais resistentes a condições de frio e seca, fator importante no estabelecimento e desenvolvimento de famílias de árvores. Em áreas de Montado de sobro no Sul de Portugal verificou-se que a diversidade de fungos ectomicorrizicos está inversamente relacionado com o teor de P extratável, que é também o nutriente que melhor explica a variabilidade da abundância. Ocorrendo, assim, um decréscimo da abundância de fungos ectomicorrizicos para níveis elevados de P. Foram registadas 132 espécies nestas áreas de estudo, das quais 107 são espécies ectomicorrízicas. *Laccaria*, *Russula* e *Cortinarius* foram os géneros mais abundantes, sendo *Laccaria laccata* a espécie mais frequente. Enquanto *Russula amoenolens*

parece estar associada a locais com solos mais ácidos, *Russula subfoetens* encontra-se possivelmente associada a condições de solo pobres em MO, em P e N total (Barrento, 2012). Contudo a comunidade fúngica ectomicorrizica é influenciada pela época de amostragem. Da primavera ao verão (diminuição significativa na riqueza de fungos) ocorre uma mudança na composição da comunidade fúngica ectomicorrizica, observando-se menores valores de riqueza e abundância durante o outono (Azul, 2002). As mudanças temporais das espécies de fungos ectomicorrizicos podem ser explicadas pela longevidade das raízes, competição por recursos e a resistência à variação ambiental (Courty *et al.*, 2008). A atual prática de usos do solo para controlo do substrato arbustivo afeta os fungos ectomicorrizicos, apresentando maiores valores em áreas de povoamentos com arbustos controlados por práticas de corte sem mobilização do solo e/ou pastoreio permanente (Azul *et al.*, 2010). Preservar manchas de vegetação nativas nos Montados durante as práticas de corte pode ser uma estratégia importante para manter a comunidade fúngica ectomicorrizica (Dickie *et al.* 2004).

2.3.2.1. Micorrizas arbusculares

As simbioses que os FMA estabelecem com as plantas hospedeiras são biotróficas obrigatórias. Desta maneira, os fungos apenas completam o seu ciclo de vida enquanto a planta ou as suas raízes forem metabolicamente ativas (Moreira & Siqueira, 2006). A única maneira de reprodução do fungo é assexuada através de esporos que crescem facilmente e podem sobreviver no solo sem que haja contacto com uma raiz.

Os FMA constituem um filo próprio, os Glomeromycota, estando descritas apenas cerca de 200 espécies de fungos que formam associações endomicorrizicas, em que os géneros *Acaulospora*, *Gigaspora*, *Glomus* e *Scutellospora* incluem a maioria das espécies.

A infeção pode iniciar-se pelas estruturas típicas e próprias destes tipos de fungos presentes no solo denominado propágulos, podendo ser esporos, fragmentos de raízes colonizadas (hifas intercelulares) ou hifas, que crescem de raízes colonizadas (micélio extraradicular). A germinação do esporo apenas ocorre quando o fungo é estimulado por exudados específicos da planta hospedeira (simbionte obrigatório), sendo que se suspeita que os flavonoides sejam um dos compostos com maior influência (Becard *et al.*, 1995). Reunindo as condições físico-químicas da rizoosfera, os propágulos germinam formando hifas de infeção que aumentam a possibilidade de criar contacto com a planta de modo a estabelecer a associação. Os fragmentos de raízes e estruturas como o micélio extraradical (ERM), apresentam maior eficiência na colonização quando comparado pela colonização

por via dos esporos, agravando-se quando os esporos estão em baixas quantidades (Siverding, 1991). O ERM consiste na rede de hifas extremamente finas (cerca de 6 µm de diâmetro) e longas que se espalham no solo explorando volumes de solos inatingíveis por estrutura radiculares sendo capazes de absorver nutrientes como as raízes, mas de maneira mais eficiente. Segundo Siqueira & Franco (1988), a quantidade de ERM pode atingir até 1,5 m de hifa por cm de raiz colonizada (ou 55mg/g de solo rizo esférico). As hifas entram em contacto com as raízes das plantas aderindo à epiderme ou pelos radiculares, formando estruturas denominadas apressório que tem uma função de suporte sem haver troca de nutrientes. Por ação mecânica e enzimática, as hifas invadem o córtex intercelular, que depois convertem em intracelulares pela penetração das células da epiderme na zona de diferenciação e alongamento, formando-se uma unidade de infeção (Souza *et al.*, 2006). É pelas enzimas que as MA libertam que a planta reconhece que está a ser invadida por um simbiote e permite a colonização, caso contrário a planta formaria componentes (compostos como calose, fenóis e proteínas) da parede celular primária e secundária como ocorre em situações de infeção patogénica. Entre o fungo e a planta estabelece-se uma simbiose mutualista, de carácter obrigatório para o fungo em que ambos saem beneficiados. O fungo produz hifas extra e intra-radiculares capazes de absorver elementos minerais do solo e transferi-los para o ambiente celular. É neste ambiente celular que se encontra a principal estrutura de troca bidirecional, os arbúsculos que consistem em formações resultantes da interação das hifas emitidas pelos FMA com a membrana plasmática de algumas células do córtex tendo origem na penetração de células corticais pela hifa, causando invaginações na plasmalema. Ao penetrar a parede celular as hifas tornam-se ramificações profundas que ocorrem intra-celularmente, correspondendo a uma superfície de troca entre os dois simbioses e permitindo a troca de metabólitos, sinais, nutrientes e compostos orgânicos (Berbara *et al.*, 2006), podendo ocupar 90% do volume da célula, através da redução do espaço vacuolar (Bago *et al.*, 2000). Passados aproximadamente 4 a 5 dias esta estrutura entra em fase de senescência e sofre degradação, voltando a célula a ter o aspeto e atividade normal antes de ser colonizada (Gianinazzi-Pearson *et al.*, 1996). Alguns géneros de AMF podem ainda formar inter ou intracelularmente estruturas globosas (tamanho de 30 a 100 µm) designadas de vesículas, sendo ricas em lípidos, sugerindo tratar-se de um órgão de reserva. O aumento de volume de uma hifa geralmente terminal origina as vesículas, ocorrendo principalmente nas espécies de fungos do género *Glomus* (Bonfante-Fasolo, 1984), sendo que todos os fungos micorrízicos formam arbúsculos, mas nem todos não formam vesículas (Walker, 1995).

2.3.2.2 Benefícios da micorrização para a planta hospedeira e fatores que a condicionam

São vários os benefícios que decorrem da micorrização, sendo o mais importante a função nutricional das MA. Nesta, estes fungos podem receber 10% dos fotoassimilados produzidos pelas plantas hospedeiras e estas, por sua vez, beneficiam de uma melhoria na eficiência de absorção de certos elementos especialmente no que se refere a elementos pouco móveis na solução do solo como o P e outros elementos como S e Mg que muitas vezes estão poucos disponíveis em condições normais. A falta destes elementos que participam nos processos metabólicos da planta pode-se traduzir na perda de população, atrasos no desenvolvimento normal ou até mesmo morte da planta (Carvalho, 2015a).

Segundo Read (1991) os FMA evoluíram de modo a especializarem-se na captação de P algo que explica o facto de o micélio extra radicular permitir à planta alcançar P em zonas longínquas da raiz, tornando as plantas micorrizadas menos dependentes em adubações fosfatadas (Freitas *et al.*, 2006). No entanto resultados obtidos por Brito *et al.* (2012), demonstraram que apesar do elevado teor do solo em P, no sistema de sementeira direta a taxa de colonização micorrízica do trigo assim como o número de esporos foram substancialmente maiores que os valores observados no sistema de mobilização tradicional. No estudo de Brito *et al.* (2012) demonstrou-se um aumento gradual da colonização micorrízica do trigo até à Primavera e a partir daí ocorreu um decréscimo acompanhado pelo padrão de desenvolvimento radicular da cultura. Verificou-se que o ERM e FMA sobrevivem nos verões quentes e secos da região Mediterrânica, demonstrando capacidade de iniciar novas colonizações de MA no início do ano agrícola, desde que não seja fragmentado pela perturbação do solo (Brito *et al.*, 2011). O crescimento prévio das infestantes após as primeiras chuvas outonais constitui um facilitador para o rápido estabelecimento da colonização MA do trigo uma vez que o ERM que lhes está associado, desde que mantido intacto, funciona como uma fonte preferencial de inóculo, estabelecendo-se uma fonte de colonização mais precoce do trigo (Brito *et al.*, 2013). Foi demonstrado, que nas condições de clima temperado, em áreas de pastagem, que a colonização micorrízica arbuscular é máxima no final do inverno, o que pode estar relacionado com o período de absorção ativa de nutrientes por parte das plantas hospedeiras, e foi mínima no final do verão quando a taxa de crescimento das plantas diminui devido à frequência de períodos secos e períodos de altas temperaturas (García & Mendoza, 2008).

Para além disso esta relação simbiótica promove benefícios no crescimento e desenvolvimento das plantas conferindo resistência perante ataques patogénicos. Cada vez mais tem sido estudado o potencial das FMA como agentes de biocontrolo de doenças e pragas (Brito *et al.*, 2019). Pela capacidade que têm de aumentar o volume de solo explorado por via do ERM, esta simbiose contribui também para minimizar o impacto de situações de stress hídrico aumentando a eficiência fotossintética das plantas nessas circunstâncias (Augé, 2001). A micorrização proporciona ainda à planta hospedeira tolerância a temperaturas adversas, à salinidade e a pH elevado ou baixo (Yano & Takaki, 2005; Sannazzaro *et al.*, 2006). No entanto, vários estudos atestam que o aumento da seca pode ter um efeito negativo sobre os FMA, dependendo das espécies (Davies *et al.*, 2002), do crescimento de hifas dentro ou fora das raízes (Staddon *et al.*, 2003) ou da espécie da planta hospedeira (Ruiz-Lozano *et al.*, 1995).

A presença das MA no ecossistema proporciona ainda resistência a níveis tóxicos de certos minerais como o Mn (Cardoso *et al.*, 2003), responsável pela perda de solo produtivo no território agrícola de Portugal, dado que a maioria dos solos nacionais são ácidos e com problemas de excesso de Mn, que prejudica o desenvolvimento vegetal. Supostamente os elementos tóxicos são sequestrados pelos FMA nas hifas, nos grânulos de polifosfato, reduzindo a sua transferência para a planta hospedeira. Demonstrou-se que houve uma redução da toxicidade do Mn quando a planta hospedeira se encontrava micorrizada logo desde uma fase precoce do seu desenvolvimento (Brito *et al.*, 2014).

O ERM, estando diretamente ligado à formação de microagregados melhora significativamente a estrutura do solo, contribuindo para a estabilidade dos agregados e a permeabilidade dos solos, resultado da ocorrência da imensa quantidade de hifas produzidas (Jastrow *et al.*, 1998). Subhan *et al.* (1998) demonstraram haver uma redução na minimização do choque de transplante em plantas micorrizadas.

A diversidade de espécies de fungos micorrízicos em solo perturbado é significativamente menor que em solo não perturbado, desta maneira ocorre uma seleção dos FMA presentes, levando à eliminação de uns em benefício de outros (Brito *et al.*, 2012). A mobilização do solo destrói ainda a rede de ERM existente e a sua conexão com as raízes das plantas hospedeiras, reduzindo a infeção micorrízica, traduzindo-se numa menor capacidade de absorção de nutrientes, para além de destruir os canais criados pelas raízes das plantas precedentes e o seu contacto com as raízes das plantas novas (Evans & Miller, 1988). Em solo mobilizado a colonização micorrizica depende da germinação de esporos, contudo esta é uma colonização micorrizica menos eficiente para o estabelecimento de novas

micorrizas tratando-se de um processo mais lento quando comparado com uma rede de micélio pré-estabelecida (Brito, 2008). Diminuições na disponibilidade de nutrientes do solo devido às conversões de uso da terra pode aumentar a taxa de colonização micorrízica à medida que as plantas se tornam mais dependentes dos seus simbiontes fúngicos para aquisição de nutrientes (Smith & Read, 2008). Está bem estabelecido que uma diminuição nos níveis de nutrientes do solo, especialmente de P e N, pode resultar num aumento na taxa de colonização micorrízica, enquanto o excesso de nutrientes pode resultar em menor colonização (Mosse & Phillips, 1971), desta forma o aumento da mineralização da MO devido ao aumento de temperatura pode influenciar o crescimento de FMA (Rillig *et al.*, 2002)

A diversidade da comunidade FMA e a taxa de colonização micorrízica arbuscular da vegetação natural depende da disponibilidade de esporos e da dependência micorrízica de plantas, bem como da estrutura e do uso do solo. A abundância das comunidades FMA pode ainda ser influenciada por fatores como textura do solo, temperatura, pH, disponibilidade nutrientes, C_{org} e humidade do solo (Deepika & Kothamasi *et al.*, 2015). No estudo de Mahmoudi *et al.* (2020), realizado num ecossistema Mediterrânico árido, verificou-se a ocorrência de altos valores de C_{mic} no solo rizo esférico de plantas micorrizadas, implicando que as micorrizas contribuem para melhorar a disponibilidade de substratos de C para a comunidade microbiana da rizo esfera (Böhme *et al.*, 2005; Oberholzer *et al.*, 2007). A atividade enzimática das duas enzimas hidrolíticas (fosfatase e β -glucosidase) e da desidrogenase (indicador da atividade microbiana) também no estudo de Mahmoudi *et al.* (2020) foi mais alta no solo rizo esférico de plantas micorrizadas, diminuindo sob alta intensidade de pastoreio. Através deste estudo conclui-se que o aumento da intensidade do pastoreio diminui a disponibilidade de C das plantas, e conseqüentemente também diminui a disponibilidade de C disponível para micorrização (Barto & Rillig (2010); Mendoza *et al.*, 2011) evidenciado pela diminuição significativa na taxa de colonização micorrízica.

2.4. Espectroscopia do Infravermelho Próximo do Solo

No espectro eletromagnético, a região do infravermelho próximo (NIR) localiza-se acima da região do visível nos comprimentos de onda, situados entre os 700 e 2500 nm (Serrano *et al.*, 2020b). Frederick Herschel descobriu este tipo de radiação, no ano de 1880. Enquanto estudava a decomposição da luz por ação de um prisma observou que a região do espectro acima da extremidade da cor vermelha apresentava uma temperatura mais elevada

que as restantes. Verificou ainda que esta região correspondia a uma zona do espectro que não era detetável (visível) pelo olho humano, tendo passado a ser designada por região do infravermelho (Magalhães, 2014; Dias, 2015).

A espectroscopia do infravermelho próximo (espectroscopia NIR) foi aplicada a produtos alimentares no início da década de 1970 para análise rápida do teor de humidade dos grãos de cereais (Chang *et al.*, 2001). Atualmente, os espectrómetros mais utilizados são do tipo FT-NIR, sendo a técnica conhecida como espectroscopia do infravermelho próximo com transformada de Fourier (espectroscopia FT-NIR). A transformada de Fourier permite a representação da intensidade do espectro em função dos números de onda, possibilitando a obtenção de espectros mais rapidamente que nos equipamentos diversos anteriores.

A espectroscopia FT-NIR é uma ferramenta indispensável na avaliação da qualidade de diversos produtos alimentares, pela possibilidade de um modo rápido e não destrutivo. Esta técnica pode ainda ser utilizada na área da farmacologia, na indústria química e na ciência animal (Serrano *et al.*, 2021). No estudo de Serrano *et al.* (2021) foi possível, recorrendo à espectroscopia NIR, prever com razoável precisão alguns parâmetros de qualidade (PB e NDF) da pastagem biodiversa de sequeiro.

A espectroscopia NIR aplicada a materiais sólidos não transparentes é executada com base na refletância difusa da amostra quando esta é iluminada por uma fonte de luz. De seguida, o detetor do espectrómetro regista o espectro de refletância da amostra, sendo posteriormente os valores convertidos em absorvância (Bell *et al.*, 2018; Dias, 2015). A radiação infravermelha provoca vibrações nas moléculas constituintes da matéria, sendo a frequência de vibração específica de determinadas ligações químicas. A absorção energética da energia radiante aplicada à amostra dá-se pela diferença entre dois níveis energéticos dos movimentos vibratórios das moléculas dando origem a um espectro de absorção (Serrano *et al.*, 2021a). As bandas de absorção do espectro NIR relacionam-se com alterações do momento dipolar de cada molécula, pelo que as moléculas homonucleares não são estimuladas, contudo as heteronucleares são facilmente detetadas pelas suas ligações compostas (C-H, N-H, O-H e S-H), desta maneira os diferentes compostos químicos que integram as amostras apresentam diferentes propriedades de absorção da radiação permitindo avaliar as características químicas, físicas e sensoriais de cada amostra (Dias 2015; Lugassi *et al.*, 2015). Os espectrómetros FT-NIR podem realizar leituras em transmitância no caso das amostras serem translúcidas ou em refletância difusa em amostras sólidas e opacas, como na maioria dos produtos alimentares.

Na camada superior do solo a variação espacial das principais propriedades do solo, como a MO, o pH e os teores de N, P e potássio (K), geralmente ocorre a uma distância inferior a 50 m (Mouazen *et al.*, 2007; Brodský *et al.*, 2013). Em tais condições, é muito caro e moroso realizar amostragem de solo e análises laboratoriais padrão com uma densidade que apreenda adequadamente a variabilidade espacial do solo na escala de campo (Doetterl *et al.*, 2013; Schirrmann *et al.*, 2013). Nas últimas décadas, a espectroscopia FT-NIR de refletância do visível e infravermelho próximo foi proposta como uma alternativa viável às análises laboratoriais convencionais para avaliar e monitorizar a qualidade do solo. Trata-se de uma técnica rápida, não destrutiva e económica para prever uma variedade de propriedades do solo quando um grande número de amostras e análises são necessárias. Além disso, não é necessário o recurso a produtos químicos e várias propriedades do solo podem ser estimadas simultaneamente a partir de uma única varredura espectral. A espectroscopia NIR foi usada para prever propriedades físicas e químicas do solo com precisão aceitável tais como a MO, C_{org}, N, P, K, pH, CTC, humidade e textura do solo (Xu *et al.*, 2018). O C do solo está entre as propriedades químicas mais estudadas pelo facto dos picos de C poderem ser encontrados por toda a extensão dos espectros pelas vibrações das ligações químicas específicas dos grupos C-H, C-O e C-N das bandas de absorção (Reeves & Smith, 2009). A assinatura espectral do solo na região do infravermelho próximo demonstrou ser ainda capaz de discriminar diferentes tipos de solo que apresentam atividade biológica diferente nomeadamente de atividade enzimática, apesar de não discriminar as práticas agrícolas de uso do solo (Comino *et al.*, 2018). No entanto, os espectros de infravermelho próximo do solo são amplamente inespecíficos, fracos e amplos devido à absorção sobreposta de constituintes do solo e suas frequentemente baixas concentrações no solo (Rossel & Behrens, 2010).

Atendendo ao tipo de espectros que são característicos da espectroscopia FT-NIR, onde surgem bandas de sobreposições e de combinações, é necessário recorrer a técnicas de análise multivariada para a interpretação dos espectros. A análise dos espectros permitirá obter padrões de absorção complexos e correlacionar esses padrões com as propriedades de solo medidas para calibração (Stenberg *et al.*, 2010; Araújo *et al.*, 2014). Desta forma obtém-se um modelo de previsão que mais tarde poderá ser aplicado ao solo para obter de forma rápida informação acerca da propriedade em estudo. Os estudos de espectroscopia de solo a nível regional geralmente incluem extensas campanhas de amostragem com análises subsequentes de medições espectrais e valores de referência determinados nessas amostras para alcançar modelos de previsão (calibrações estáveis e representativas). A pesquisa atual concentra-se

por isso cada vez mais em estratégias para desenvolver modelos preditivos para novas regiões de interesse com o mínimo ou mesmo sem amostragem de calibração adicional, recorrendo a bibliotecas espectrais do solo (Seidel *et al.*, 2019). O estabelecimento de uma biblioteca espectral de solo em grande escala (escala regional a global) pode ser uma abordagem ideal para melhorar a eficiência desta técnica (Rossel *et al.*, 2016), contudo essa abordagem enfrenta alguns desafios (Liu *et al.*, 2019). Entre eles, a utilização de técnicas de inteligência artificial que correlacionam os dados espectrais com as várias propriedades do solo (Morais *et al.*, 2021). A grande escala (regional a global), a relação entre os espectros do solo e as suas propriedades é geralmente não linear e espacialmente dependente, o que limita a utilidade dos modelos espectroscópicos numa grande extensão. Os modelos espectroscópicos de solo construídos em estudos locais geralmente apresentam bom desempenho, possivelmente porque os solos amostrados em escala local possuem características espectrais semelhantes (Liu *et al.*, 2019).

3. Materiais e Métodos

3.1. Caracterização do Campo Experimental

O campo experimental com aproximadamente 4 ha situa-se na Herdade da Mitra (38°53.1' N; 8°01.10' W), propriedade da Universidade de Évora. É uma área ocupada por Montado de azinho (densidade média de 9 a 10 árvores/ha) e por uma pastagem biodiversa de sequeiro pastoreada por ovelhas. O relevo da parcela é ligeiramente ondulado, com uma amplitude de cotas a variar entre os 220 e os 228 m.

O solo predominante deste campo é classificado como Cambissolo, o maior grupo de referência em Portugal (WRB, 2006), derivado do granito e caracterizado por baixa fertilidade, cultivado em sistemas mistos de produção agroflorestal. Estes solos são geralmente caracterizados por textura grosseira (principalmente franco-arenosa), baixa CTC, teor de MO inferior a 1%, fraca capacidade de retenção de água e acidez ($\text{pH} \leq 5,5$ em água).

O campo experimental original (2ha) foi previamente caracterizado por amostras de solo coletadas em outubro de 2015, e pelo levantamento da composição florística da pastagem realizado em maio de 2016. Em novembro de 2017, a área experimental original foi alargada para 4 ha, por ter sido identificada a toxicidade de Mn, pretendendo-se testar o efeito da aplicação de calcário dolomítico e a sua interação com as árvores. A amostragem do solo realizada em outubro de 2015 identificou um pH baixo ($\text{pH}_{\text{médioH}_2\text{O}} = 5,4 \pm 3,0$) e baixo rácio Mg/Mn (aproximadamente 1,3). As intervenções no solo consistiram em: (i) duas aplicações (novembro de 2017 e junho de 2019) de 2000 kg/ha de calcário dolomítico (42% de óxido de cálcio (CaO) e 10% de óxido de magnésio (MgO)) apenas em metade da área do campo experimental; (ii) e em dezembro de 2018 à aplicação de 100 kg/ha de fosfato de amónio (18-46-0) em toda a área do campo experimental.

A figura 3.1 mostra a localização dos 24 pontos de amostragem georreferenciados no campo experimental delimitado pela vedação exterior (a vermelho na figura) e o parque de maneiro central (a azul na figura). Na parcela 1 (corrigida (COR)), foram selecionadas 6 árvores e identificados 12 pontos de amostragem, metade dos pontos de amostragem foram instalados DCA e a outra metade FCA. Na parcela 2 (não corrigida (NCOR)) também foram selecionadas 6 árvores e identificados 12 pontos de amostragem, metade DCA e a outra metade FCA. Em cada um desses 24 pontos de amostragem, foi instalado uma caixa de exclusão de pastoreio em madeira (dimensões 0,5 m x 0,5m x 0,5m) e malha de rede de arame.



Figura 3.1. Fotografia aérea do campo experimental em que estão identificados as duas parcelas e os respectivos pontos de amostragem (Fonte: Martins, 2020)

3.2. Caracterização Climática

A Herdade da Mitra, apresenta um clima do tipo Csa (Mediterrânico ou subtropical seco) (Andrade & Basch, 2017). É um clima temperado caracterizado pela maior parte da precipitação concentrada no inverno e verões muito secos e quentes.

Foram utilizados os dados da Estação Meteorológica da Mitra, para comparar o ano agrícola de 2021/2022 com o histórico climático da região no período de 1981-2010, recorrendo ainda aos boletins sazonais elaborados pela IPMA do Inverno 2021/2022 (IPMA, 2022a) e Primavera de 2022 (IPMA, 2022b) (figura 3.2 e 3.3). Usaram-se os dados de setembro de 2021 a agosto de 2022 uma vez que o ciclo de pastagens de sequeiro normal termina no mês de junho, devido à falta de humidade no solo e recomeça com as primeiras chuvas de setembro. A quantidade total de precipitação de setembro de 2021 a agosto de 2022 foi de aproximadamente de 416 mm distribuídos ao longo dos vários meses, afetando o crescimento das pastagens. A precipitação acumulada entre setembro de 2021 a junho de 2022 foi inferior à média de precipitação acumulada no período homólogo entre 1981 e 2010 (567,7 mm). Como mostra a figura 5 entre setembro e outubro, houve uma precipitação acumulada de 116 mm que garantiu a humidade necessária para a germinação e o crescimento inicial da pastagem. A precipitação em janeiro e fevereiro, foi muito baixa (respetivamente 5 mm e 24 mm, valores francamente inferiores à média de 30 anos para a região), o que segundo o Boletim Sazonal de inverno de 2021/2022 elaborado pelo IPMA, levou ao agravamento significativo da situação de seca meteorológica em todo território no

fim do inverno. No fim de fevereiro o distrito de Évora encontrava-se em seca extrema. O inverno em Portugal continental foi classificado pelo IPMA como muito quente e muito seco: foi o 4º inverno mais quente desde 1931 (depois de 1990, 2016 e 2020) e o 5º inverno mais seco desde 1931 (mais seco em 2012 com, 63,8mm de precipitação acumulada). Em março ocorreu uma precipitação elevada, em especial na região sul (110mm registados na estação meteorológica da Herdade da Mitra). No mês de abril e maio os valores de precipitação foram inferiores aos valores médios do período de 1981-2010. Temperaturas muito elevadas em maio, com ondas de calor na região do Alentejo colocaram 97,1% do território nacional em seca severa, incluindo o distrito de Évora. Em resumo com impacto no desenvolvimento da pastagem as temperaturas mais baixas ocorreram no inverno, quando havia uma maior disponibilidade de água no solo, enquanto nos meses da primavera a disponibilidade de água no solo era relativamente limitada devido à baixa precipitação ocorrida neste período.

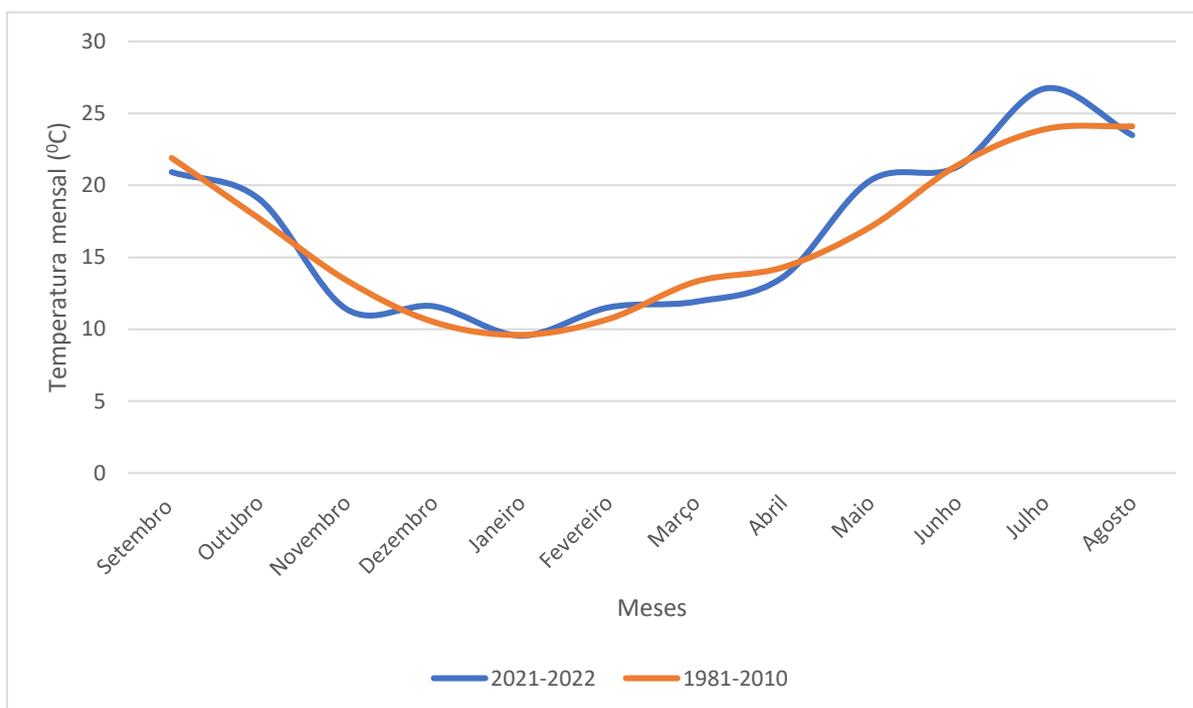


Figura 3.2. Evolução da temperatura média mensal registada no ano agrícola 2021/2022 e dados da normal climatológica (1981-2010)

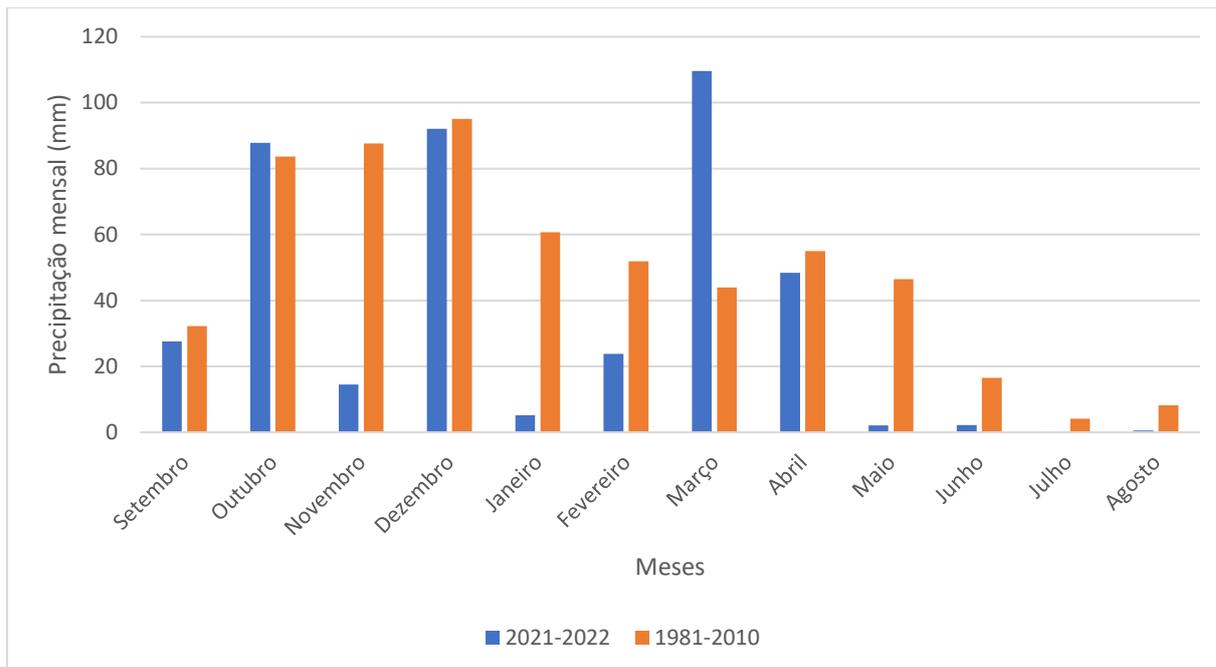


Figura 3.3. Evolução da precipitação mensal acumulada registada no ano agrícola 2021/2022 e dados da normal climatológica (1981-2010)

3.3. Recolha de Amostras de Solo

No dia 26 de fevereiro de 2022 nos pontos indicados na figura 3 procedeu-se à recolha de amostras de solo e de raízes na camada superficial (0-0,20 m de profundidade), através de uma sonda meia-cana e um maço. Cada amostra final resultou de uma amostra composta de 6 colheitas com sonda. As amostras recolhidas foram colocadas em sacos de plástico, devidamente identificados com o respetivo código do ponto de amostragem, e encaminhadas para o Laboratório de Microbiologia do Solo da Universidade da Évora. No dia da colheita as amostras foram crivadas (crivo de 2mm) para assegurar a sua homogeneidade, as raízes foram separadas, lavadas e cortadas para posterior coloração para visualização da colonização micorrízica. Determinou-se a humidade e a capacidade de retenção água do solo, parâmetros necessários para o protocolo da determinação do C_{mic} e da RBS. Estas determinações tal como a atividade da desidrogenase dependem de células que estão vivas e por isso devem ser realizadas no mais curto intervalo de tempo (máximo de 3 dias após a recolha das amostras). Cada amostra de solo foi dividida em duas partes, uma delas foi preservada na ultra congeladora (a -80°C) para posterior determinação da atividade enzimática, enquanto a outra foi colocada no frigorífico (a 4°C) até à realização da determinação do C_{mic} , RBS e atividade da desidrogenase. Preservaram-se ainda no frigorífico as amostras de solo que serviram para a obtenção dos espectros do solo no

equipamento NIR do Laboratório de Tecnologia e Pós-Colheita e as amostras que foram submetidas a análise química no Laboratório de Química Agrícola da Universidade de Évora.

A recolha de amostras de solo e de raízes realizou-se novamente no dia 7 de junho de 2022, sendo o procedimento idêntico ao descrito atrás, com a exceção, de que não se realizou a determinação do C_{mic} por tratar-se de um processo muito complexo e exigente. Nesta segunda data efetuou-se também a obtenção dos espectros (NIR) das amostras de solo.

3.4. Inventariação Florística e Determinação da Produtividade e Qualidade da Pastagem

No dia 10 de abril realizou-se a inventariação florística da pastagem, usando o método de Braun-Blanquet modificado (Mueller-Dombois & Ellenberg, 1974). No seu decurso foi estimada a composição específica da vegetação, e ainda a cobertura total (%), a cobertura verde (%), a folhada (%) e o solo nú (%) em quadrados de 0,5 x 0,5 m protegidos por caixas de exclusão e em número igual debaixo e fora de copa (12). Determinou-se adicionalmente a altura média da pastagem (cm). Com estes dados, foi possível calcular posteriormente a riqueza e diversidade de espécies e de famílias presentes.

A recolha de amostras de pastagem para a determinação da produtividade (matéria verde (MV) e MS) e qualidade (PB e NDF) foi realizada no dia 29 de abril de 2022 nos 24 pontos de amostragem. Em cada ponto foi colocado um aro metálico (0,1 m² de área), procedendo-se ao corte da pastagem com uma tesoura elétrica portátil até cerca de 1-2 cm acima do nível do solo. As amostras foram colocadas em sacos de plástico devidamente identificados com o código do respetivo ponto de amostragem, e transportadas para o Laboratório de Nutrição e Metabolismo da Universidade de Évora para serem submetidas a várias análises.

3.5. Processamento Laboratorial das Amostras de Solo

3.5.1. Atividade microbiana

A RBS foi medida de acordo com Silva *et al.* (2007a), colocando-se 50g de cada amostra de solo crivado dentro de um frasco fechado e incubado durante 7 dias a 25-28°C num local sem luz (preferencialmente câmara de microclima). No mesmo recipiente colocou-se um outro, mais pequeno, contendo 10 ml de NaOH. O CO₂ libertado é adsorvido pelo NaOH de acordo com a reação $2NaOH + CO_2 \rightarrow Na_2CO_3 + H_2O$. No final do período de incubação o carbonato de sódio (Na₂CO₃) formado é precipitado através de uma solução

de cloreto de bário (BaCl_2), de acordo com a reação $\text{BaCl}_2 + \text{Na}_2\text{CO}_3 \rightarrow \text{BaCO}_3 + 2\text{NaCl}$ e o excesso de hidróxido é contra titulado com uma solução de ácido clorídrico (HCl), de acordo com a reação $\text{NaOH} + \text{HCl} \rightarrow \text{NaCl} + \text{H}_2\text{O}$. Os resultados são expressos em miligramas de CO_2 por quilograma de solo por hora e calculados através da seguinte equação (1):

$$\text{RBS} = \frac{(\text{Vb}-\text{Vs}) \times \text{M} \times 6.1000}{\text{ps} \times \text{t}} \quad (1)$$

onde,

Vb- volume de HCl consumido no branco (ml);

Vs- volume de HCl consumido na amostra teste (ml);

M- molaridade de HCl ; 6 fator equivalente (1 ml de HCl 0,5 N é equivalente a 6 mg de C-CO_2 na solução de NaOH);

ps- peso do solo seco;

t-tempo de incubação.

A determinação do C_{mic} seguiu o protocolo de fumigação-extração sugerido por Silva *et al.* (2007b). Para cada amostra colocou-se 20 g de solo em 4 frascos (2 fumigados e 2 não fumigados), colocando-se as amostras fumigadas num exsiccador juntamente com 4 frascos de vidro com 25 ml de clorofórmio. As amostras não fumigadas também ficaram num lugar escuro durante 24 h em frascos tapados. Após 24 horas para todas as amostras (fumigadas e não fumigadas) foi adicionado 80 ml da solução extratora (sulfato de potássio- K_2SO_4 a 0,5M). Para a determinação do C_{mic} adicionou-se 1 ml da solução Mn III pirofosfato (indicador de cor) e efetuou-se a leitura no espectrofotómetro ($\lambda = 495 \text{ nm}$). Os valores de C_{mic} são dados pelo C de solo fumigado menos o dos solos não fumigados, tudo dividido pela proporção C_{mic} libertado (kc). Foi utilizado um valor de 0,45 para kc, tal como recomendado por Joergensen (1996). Os resultados são expressos em miligramas de C por quilograma de solo calculados pela seguinte equação (2):

$$\text{C}_{\text{mic}} = \frac{(\text{Cf}-\text{Cnf})}{\text{kc}} \quad (2)$$

onde,

Cf- mg de C por quilograma de solo fumigado;

Cnf- mg de C por quilograma de solo não fumigado;

kc- proporção de C microbiano envolvido (0,45).

A atividade da desidrogenase foi medida pela redução 2,3,5- trifeniltetrazólio (TTC) em trifenilformazan (TPF), de acordo com Casida *et al.* (1964). O solo foi incubado

com um aceitador artificial de elétrons, o TTC incolor e solúvel em água, que é reduzido pela ação das desidrogenases em TPF de cor vermelha, que é insolúvel em água. Após 24h de incubação, o TPF foi extraído do solo com metanol e determinado por espectrofotometria ($\lambda = 485 \text{ nm}$). A atividade de arilsulfatase, β -glucosidase e fosfatase foi medida de acordo com a ISO 20130:2018 em microplacas de 96 poços. Após o tempo de incubação indicado para cada enzima, os seus respectivos substratos (ρ -nitrofenil-sulfato de potássio, ρ -nitrofenil- β -D-glucopiranosídeo e ρ -nitrofenil-fosfato) foram hidrolisados em ρ -nitrofenol amarelo e determinados por espectrofotometria ($\lambda = 405 \text{ nm}$).

3.5.2. Taxa de colonização arbuscular

A quantificação da taxa de colonização arbuscular foi feita através da observação microscópica, porém foi necessário um processo de tratamento das raízes para evidenciar as estruturas fúngicas. As amostras de raízes foram introduzidas em cassetes de histologia, e mergulhadas numa solução de hidróxido de potássio a 10% (w/v); de seguida foram colocadas na autoclave a 120°C, durante 13 minutos, para eliminar os conteúdos citoplasmáticos. Após este tempo as cassetes foram retiradas e lavadas com água para a eliminação do excesso de KOH. A coloração foi realizada com a solução azul tripano 0,1% em lactoglicerol na proporção (1:1:1; glicerol, ácido láctico a 80% e água), durante 10 minutos, a uma temperatura de 70°C. As raízes coradas foram colocadas numa outra solução de glicerol a 50% (v/v) e observadas ao microscópio, com uma ampliação de 200x após 48 horas. A determinação da taxa de colonização por arbúsculos micorrízicos foi feita utilizando o método de interseção, sendo a contagem convertida em percentagem (McGonigle *et al.*, 1990).

3.5.3. Aquisição de Espetros

A aquisição dos espectros de refletância difusa das amostras de solo foi efetuada com um espectrómetro FT-NIR (MPA OPUS BRUKER, Alemanha), com detetor RT-Pbs (Sulfureto de chumbo) com recurso a uma esfera integradora com uma célula rotativa de 9 cm de diâmetro, e à temperatura ambiente. Os espectros obtidos apresentam uma resolução espectral de 8cm^{-1} com um intervalo espectral entre os comprimentos de onde de 12500-3600 cm^{-1} (780-2780 nm). Os valores de refletância difusa foram convertidos em absorvância através da equação: “ $A = \log (1/R)$ ”.

3.6. Processamento Laboratorial das Amostras de Pastagem

No laboratório as amostras foram pesadas para se obter a MV (kg/ha), sendo depois desidratadas numa estufa a 65°C durante 72 horas para a obtenção de um peso constante. Após a secagem, as amostras foram pesadas para se calcular a MS, (kg/ha). As amostras desidratadas foram trituradas com a utilização de um moinho Perten, seguindo-se a determinação laboratorial, pelos métodos de referência (AOAC International, 2005) para a determinação da PB e da NDF, ambos expressos em percentagem da MS. Foram ainda calculados através das equações (3) e (4), respetivamente a PB expressa em Kg/ha, e um índice de qualidade da pastagem (Serrano *et al.*, 2020a):

$$PB(\text{kg/ha}) = \frac{PB(\%) \times MS (\text{kg/ha})}{100} \quad (3)$$

onde,

PB-proteína bruta (kg/ha e %, respetivamente);

MS-matéria seca (kg/ha).

$$IQP = \frac{PB \times HP}{NDF} \quad (4)$$

onde,

IQP-índice de qualidade de pastagem (%);

PB-proteína bruta (%);

HP-humidade da pastagem (%);

NDF- (*neutral detergent fiber*) fibra (%).

3.7. Tratamento Estatístico dos Dados

Para avaliar os efeitos dos fatores copa das árvores e aplicação de calcário dolomítico na produtividade e qualidade da pastagem e na atividade microbiana do solo, recorreu-se a um delineamento fatorial com uma estratificação em 2 blocos, com 6 repetições. O tempo decorrido entre as duas recolhas de solo foi considerado um fator de variação, pelo que as medições da atividade microbiana nas duas datas de colheita foram comparadas entre si. A data 1 corresponde aos parâmetros avaliados no período de inverno e a data 2 aos parâmetros avaliados no período da primavera. Para a comparação das médias recorreu-se a uma análise de variância e para determinar as diferenças significativas aplicou-se o teste de Tukey com uma probabilidade de 95% ($p < 0,05$). Para o tratamento estatístico foi utilizado o software Statistica versão 7.0 (StatSoft, Inc.).

O programa utilizado para aquisição dos espectros foi o Opus v. 7.5 software (Bruker Optik GmbH, Alemanha). Os espectros foram exportados para o software Unscrambler (versão 10.5.1, Camo, ASA, Oslo, Noruega), e efetuou-se uma análise de componentes principais para verificar a estrutura dos dados. Para a construção da análise de componentes principais (PCA) usou-se o algoritmo SVD (decomposição em valores singulares) com recurso à validação cruzada.

A análise da comunidade florística foi efetuada com base na composição florística, assim como em vários parâmetros medidos, como a altura média (cm), ou estimados, como é o caso da cobertura total (%) (% de cobertura verde + folhada), cobertura verde (%) (% de solo coberto pela projeção no solo das plantas), folhada (%) (% de solo coberto por manta morta), solo nú (%) (% de solo à vista).

Para a análise da composição de espécies e famílias foi seguida uma abordagem multivariada, enquanto para os diferentes parâmetros/métricas foi seguida uma abordagem univariada. O Escalamento Multidimensional Não-métrico (MDS- *Multidimensional scaling*) foi utilizado para identificar alterações na composição de espécies e de famílias nos inventários realizados, com base no coeficiente de semelhança de Bray-Curtis. No diagrama de ordenação, os inventários foram codificados tendo em conta a localização (debaixo de copa/fora de copa) e da adição de calcário (com/sem), no sentido de interpretar as possíveis alterações em função destes fatores. A “Anova Multivariada Permutacional” (PERMANOVA) foi utilizada, sob 999 permutações (teste de Monte Carlo), para testar diferenças significativas na composição de espécies e famílias entre grupos de inventários, considerando como fatores a localização e a adição de calcário, bem como a possível interação dos mesmos. A “Porcentagem de Semelhança” (SIMPER- *Similarity Percentages*) foi utilizada para identificar as espécies e famílias que mais contribuíram para cada grupo de inventários, assim como as que mais os diferenciaram, tendo por base os fatores que demonstraram ter influência significativa, após a análise PERMANOVA. A Anova Fatorial foi utilizada para testar diferenças significativas em cada um dos parâmetros/métricas da comunidade florística, considerando como fatores a copa e a adição de calcário, bem como a possível interação dos mesmos. Os dados foram transformados previamente às análises estatísticas: $\text{Log}(x+1)$ para dados lineares e $\text{Asen}(\sqrt{x})$ para dados percentuais. O nível de significância foi estabelecido a 0,05. As análises estatísticas foram realizadas com o software Primer 6+ e Statistica 12.

4. Resultados

4.1. Monitorização do Solo

Na tabela 4.1 é apresentado o resultado dos parâmetros do solo da parcela experimental em fevereiro de 2022. A aplicação de calcário dolomítico teve um efeito significativo no aumento do pH (6,06% na área COR e 5,53% na área NCOR), mas não no teor de MO ou disponibilidade de macronutrientes. A tabela 4.1 mostra também o efeito positivo da copa das árvores no aumento do teor de MO e dos nutrientes analisados (N, P, K, C, Mg e Mn) em relação às áreas FCA, sendo que esta diferença não foi influenciada de forma significativa pela correção do solo para os macronutrientes principais e C. No caso do Mg, após a aplicação de calcário dolomítico, as diferenças entre FCA e DCA deixaram de ser significativas. Relativamente ao Mn observou-se um efeito exatamente contrário, influenciando desta forma o rácio Mg/Mn de 1,08 para 1,94. Na área DCA a aplicação de calcário dolomítico teve um sentido diferente neste rácio, tendo passado de 1,1 para 0,8.

Tabela 4.1. Efeito da copa das árvores e da aplicação de calcário dolomítico nos parâmetros do solo da parcela na data 1

		FCA	DCA	Média
MO (%)	COR	1,99 b	3,2 a	2,6 A
	NCOR	1,57 b	3,16 a	2,37 A
	Média	1,78 B	3,18 A	
pH (%)	COR	6,23 a	5,88 b	6,06 A
	NCOR	5,32 c	5,73 b	5,53 B
	Média	5,78 A	5,81 A	
Nt (%)	COR	0,10 b	0,17 a	0,14 A
	NCOR	0,09 b	0,16 a	0,13 A
	Média	0,10 B	0,17 A	
P₂O₅ (mgKg ⁻¹)	COR	57,33 b	107,67 a	82,5 A
	NCOR	48,5 b	96 a	72,25 A
	Média	52,92 B	101,83 A	
K₂O (mgKg ⁻¹)	COR	108,67 b	285 a	196,83 A
	NCOR	101,67 b	219 a	160,33 A
	Média	105,17 B	252 A	
C (%)	COR	1,16 b	1,86 a	1,51 A
	NCOR	0,91 b	1,84 a	1,37 A
	Média	1,03 B	1,85 A	
Mg (mgKg ⁻¹)	COR	100 a	88,17 a	94,08 A
	NCOR	32,5 b	75 a	53,75 B
	Média	66,25 A	81,58 A	
Mn (mgKg ⁻¹)	COR	51,57 b	110,17 a	80,87 A
	NCOR	30,03 b	66,92 ab	48,48 B
	Média	40,8 B	88,54 A	

Valores que partilham letras diferentes, indicam diferenças significativas (teste de Tukey) entre tratamentos ($p < 0,05$). DCA- Debaixo da Copa da Árvore; FCA- Fora da Copa da Árvore; COR – Corrigido; NCOR- Não corrigido; MO- Matéria Orgânica.

4.2. Avaliação da Produtividade e da Qualidade da Pastagem

A tabela 4.2, apresenta os valores médios dos parâmetros utilizados para monitorizar a produtividade e qualidade da pastagem das amostras recolhidas nos 24 pontos de amostragem. Em termos de produtividade (MV e MS) e qualidade (PB e NDF) não foram encontradas diferenças significativas, tanto pelo efeito da copa das árvores como pelo efeito da aplicação de calcário dolomítico. Apesar disso, parece haver uma tendência em linha com outros estudos (Benavides *et al.*, 2009; Hussain *et al.*, 2009; Serrano *et al.*, 2018a) que nas áreas de FCA se tendem a registar valores de produtividade superiores em termos de MV

(área NCOR) e MS (tanto nas áreas COR como NCOR), contrariamente à qualidade da pastagem que regista valores de PB e NDF mais elevados DCA (tanto nas áreas COR como NCOR). A diferença significativa da HP nas áreas DCA (78,92%) em relação às áreas FCA (75,01%) resulta da diferença entre o valor de MV e MS, traduzido em percentagem.

Tabela 4.2. Efeito da copa das árvores e da aplicação de calcário dolomítico nos parâmetros da produtividade e qualidade da pastagem na data 2

		FCA	DCA	Média
MV (kg/ha)	COR	12.438,33a	13.771,67a	13.105 A
	NCOR	11.460a	10.653,33a	11.056,67 A
	Média	11.949,17 A	12.212,5 A	
MS (kg/ha)	COR	2.858,33a	2.751,67a	2.805 A
	NCOR	2.756,67a	2.355a	2.555,83 A
	Média	2.807,5 A	2.553,33 A	
HP (%)	COR	76,60a	80,16a	78,38 A
	NCOR	73,42a	77,67a	75,55 A
	Média	75,01 B	78,92 A	
PB (% da MS)	COR	12,48a	14,52a	13,50 A
	NCOR	11,89a	13,40a	12,65 A
	Média	12,19 A	13,96 A	
NDF (% da MS)	COR	51,61a	57,01a	54,31 A
	NCOR	53,48a	59,48a	56,48 A
	Média	52,54 A	58,25 A	

Valores que partilham letras diferentes, indicam diferenças significativas (teste de Tukey) entre tratamentos ($\rho < 0,05$). DCA- Debaixo da Copa da Árvore; FCA- Fora da Copa da Árvore; COR – Corrigido; NCOR- Não corrigido; MV-Matéria Verde; MS- Matéria Seca; HP-Humidade da Pastagem; PB-Proteína Bruta; NDF-Fibra.

4.3. Avaliação da Atividade Microbiana Geral do Solo

Na data 1, correspondente ao período de inverno, o efeito da copa da árvore foi significativo para os parâmetros que avaliaram a atividade microbiana do solo, verificando-se (tabela 4.3), que o C_{mic} e a RBS apresentaram maior atividade microbiana na área DCA. O efeito da copa da árvore não foi significativo na data 2 na atividade microbiana, apesar de se continuarem a verificar valores mais elevados de atividade microbiana DCA. Ocorreu um aumento altamente significativo da RBS na data 2 ($\rho < 0,001$) em relação à data 1, para qualquer dos tratamentos impostos. O efeito da aplicação de calcário dolomítico teve um efeito significativo na RBS, revelando na data 1 maior atividade microbiana do solo na área COR com a aplicação com calcário dolomítico, enquanto na data 2 a RBS foi significativamente mais elevada na área NCOR. Contudo observaram-se interações

significativas relativamente ao efeito da copa das árvores e da aplicação de calcário dolomítico nas duas datas de amostragem e nem sempre no mesmo sentido. Enquanto na data 1 a correção do solo teve um efeito benéfico na RBS apenas FCA, na data 2 parece ter um efeito negativo sobretudo DCA.

Tabela 4.3. Efeito da copa e da aplicação de calcário dolomítico na atividade microbiana geral do solo

			FCA	DCA	Média
C_{mic} (mg C Kg ⁻¹ solo)	Data 1	COR	60,26 ab	82,56 a	71,41 A
		NCOR	51,17 b	66,23 ab	58,70 A
		Média	55,71 B	74,39 A	
RBS (mg CO ₂ Kg ⁻¹ solo h ⁻¹)	Data 1	COR	1,04 a	1,23 a	1,13 A
		NCOR	0,78 b	1,18 a	0,98 B
		Média	0,91 B	1,2 A	
	Data 2	COR	1,64 b	1,66 b	1,65 B
		NCOR	2,26 ab	2,90 a	2,58 A
		Média	1,95 A	2,28 A	

Valores que partilham letras diferentes, indicam diferenças significativas (teste de Tukey) entre tratamentos ($p < 0,05$). DCA- Debaixo da Copa da Árvore; FCA- Fora da Copa da Árvore; COR – Corrigido; NCOR- Não corrigido; C_{mic}- Carbono Microbiano; RBS-Respiração Basal do Solo.

4.4. Atividade Enzimática do Solo

O efeito da copa das árvores, tal como ocorreu com os indicadores de atividade microbiana em geral foi, na data 1, significativo sobre a atividade das enzimas avaliadas (tabela 4.4), observando-se maior atividade enzimática DCA. Na data 2 o efeito da copa das árvores continuou a ter um efeito positivo na atividade das enzimas estudadas, embora de forma significativa apenas na atividade da fosfatase que apresentou DCA um valor quase duas vezes superior ao verificado FCA. Apenas a atividade enzimática da β -glucosidase na data 2 teve um aumento altamente significativo ($p < 0,001$) em relação à data 1. A correção do solo não resultou em diferenças significativas relativamente à atividade enzimática em qualquer das datas. Destaca-se como exceção a Arilsulfatase, cuja atividade na data 2 respondeu favoravelmente e de forma significativa a este tratamento tanto FCA como DCA.

Relativamente a interações entre tratamentos, observou-se que na data 1, tanto a atividade enzimática da desidrogenase como da arilsulfatase só deixaram de ter diferenças de atividade entre FCA e DCA após a aplicação do calcário dolomítico.

Tabela 4.4. Efeito da copa e da aplicação de calcário dolomítico na atividade enzimática do solo

			FCA	DCA	Média
Desidrogenase ($\mu\text{gTPF g}^{-1}$ solo seco hora ⁻¹)	Data 1	COR	1,39 ab	1,45 a	1,42 A
		NCOR	0,85 b	1,44 a	1,15 A
		Média	1,12 B	1,44 A	
	Data 2	COR	1,37 a	1,22 a	1,29 A
		NCOR	1,02 a	1,30 a	1,16 A
		Média	1,20 A	1,26 A	
Arilsulfatase ($\mu\text{gPNF g}^{-1}$ solo seco h ⁻¹)	Data 1	COR	26,58 ab	37,87 a	32,22 A
		NCOR	21,09 b	37,58 a	29,34 A
		Média	23,84 B	37,73 A	
	Data 2	COR	161,28 a	201,45 a	181,37 A
		NCOR	38,83 b	36,07 b	29,34 B
		Média	91,19 A	119,52 A	
β-Glucosidase ($\mu\text{gPNF g}^{-1}$ solo seco h ⁻¹)	Data 1	COR	214,58 a	274,79 a	244,69 A
		NCOR	160,21 a	246,72 a	203,47 A
		Média	187,40 B	260,76 A	
	Data 2	COR	217,48 a	267,98 a	242,73 A
		NCOR	210,92 a	310,74 a	260,83 A
		Média	214,20 A	289,36 A	
Fosfatase ($\mu\text{gPNF g}^{-1}$ solo seco h ⁻¹)	Data 1	COR	573,54 b	1092,11 a	832,83 A
		NCOR	551,63 b	939,81 a	745,72 A
		Média	562,59 B	1015,96 A	
	Data 2	COR	522,06 b	857,03 a	689,55 A
		NCOR	527,97 b	1131,32 a	829,64 A
		Média	525,01 B	994,18 A	

Valores que partilham letras diferentes, indicam diferenças significativas (teste de Tukey) entre tratamentos ($p < 0,05$). DCA- Debaixo da Copa da Árvore; FCA- Fora da Copa da Árvore; COR – Corrigido; NCOR- Não corrigido.

4.5. Taxa de Colonização Micorrízica

O efeito da copa da árvore na taxa de colonização micorrízica foi significativo em ambas as datas (tabela 4.5), apresentado valores mais elevados FCA, enquanto o efeito da aplicação com calcário foi significativo apenas na data 1 observando-se valores mais elevados de taxa de colonização micorrízica na área NCOR. Salienta-se o significativo decréscimo da taxa de colonização micorrízica DCA após a aplicação de calcário dolomítico.

A taxa de colonização micorrízica foi máxima no final do inverno (data 1), diminuindo de forma altamente significativa ($\rho < 0,001$) em relação à data 2, que corresponde ao período do final de primavera.

Tabela 4.5. Efeito da copa e da aplicação de calcário dolomítico na taxa de colonização micorrízica

			FCA	DCA	Média
Taxa Colonização Micorrízica (%)	Data 1	COR	36,99 ab	3,90 c	20,45 B
		NCOR	42,35 a	21,43 b	31,89 A
		Média	39,67 A	12,67 B	
	Data 2	COR	5,95 a	1,38 b	3,67 A
		NCOR	5,67 a	2,35 b	4,01 A
		Média	5,81 A	1,86 B	

Valores que partilham letras diferentes, indicam diferenças significativas (teste de Tukey) entre tratamentos ($\rho < 0,05$). DCA- Debaxo da Copa da Árvore; FCA- Fora da Copa da Árvore; COR – Corrigido; NCOR- Não corrigido.

4.6. Avaliação da Composição Florística da Pastagem

Na avaliação da composição florística foram identificadas 59 espécies botânicas, correspondentes a 18 famílias (Apêndice I). Deve-se notar que três dessas famílias (Asteraceae, Fabaceae e Poaceae), incluíram 34 espécies, ou seja, 57,63% do número total de espécies. O escalamento multidimensional não-métrico (MDS) com base na composição de famílias permitiu uma boa segregação dos inventários ao longo do eixo 1, associado ao fator copa e evidenciando alterações no conjunto de espécies que ocorrem DCA e FCA (figura 4.1). A PERMANOVA confirmou diferenças significativas na composição de famílias em função da copa, mas não da aplicação de calcário dolomítico, nem da interação destes fatores (tabela 4.6). A percentagem de semelhança (SIMPER) permitiu identificar as famílias com maior ocorrência e cobertura nos inventários DCA e FCA, assim como perceber quais as famílias que mais diferenciam estes grupos (apêndices II e III). De acordo com a análise SIMPER (apêndice II) a família que mais contribuiu para a identificação dos grupos dos inventários DCA foi a família Poaceae (gramíneas) contribuindo com 39,71% na área NCOR e 46,59% na área COR. Já nas áreas FCA verificou-se que a família Fabaceae (leguminosas) foi umas das famílias que mais contribui para a identificação dos inventários quando tomados em conjunto, no entanto quando os inventários são trabalhados apenas nas zonas NCOR foi a família Geraniaceae que desempenhou esse papel, enquanto nas zonas COR foi a família Brassicaceae.

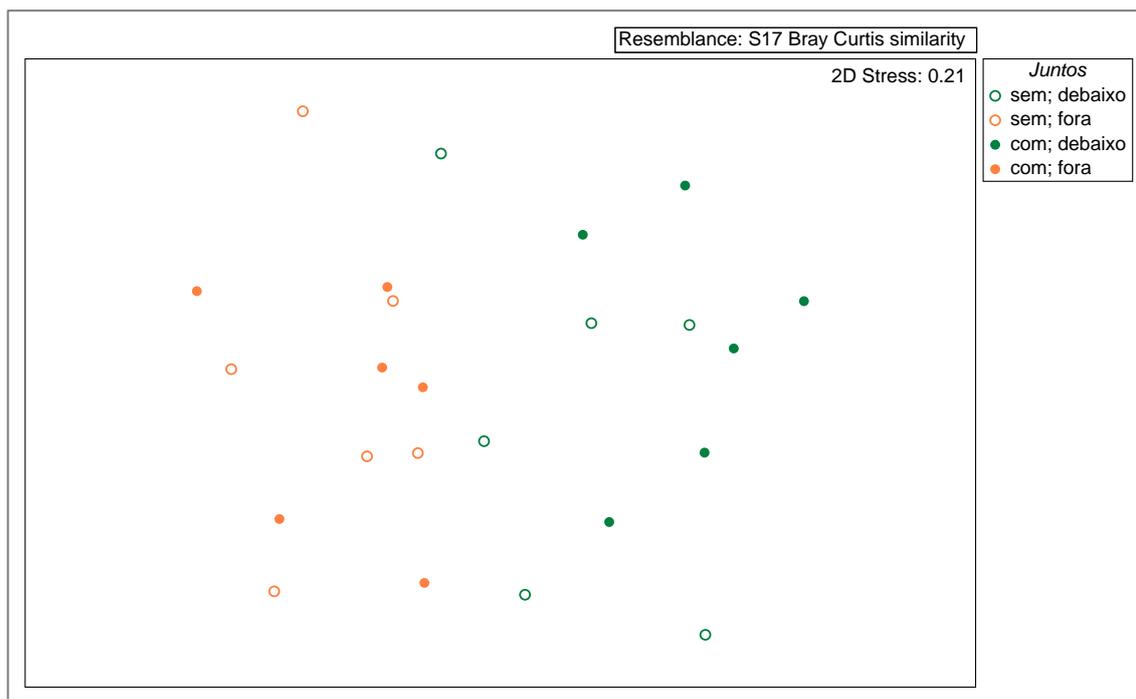


Figura 4.1. Diagrama de ordenação do MDS para os inventários florísticos, com base na composição de famílias e utilizando o Coeficiente de semelhança de Bray-Curtis. Os inventários foram codificados em função da localização (debaixo de copa/fora de copa) e da aplicação de calcário dolomítico (com/sem)

Tabela 4.6. Resultados da PERMANOVA com base na composição de famílias e considerando como fatores a localização e adição de calcário

Fatores	df	SS	MS	Pseudo-F	P(perm)
Calcário	1	2.071,2	2.071,2	2,054	0,051
Copa	1	7.581,2	7.581,2	7,519	0,001
Calcário x Copa	1	499,78	499,78	0,496	0,846

A figura 4.2 mostra que DCA a família mais representada na cobertura verde é sempre a das gramíneas sendo que a proporção aumenta com a correção do solo com calcário dolomítico. Na zona FCA a família mais representada na cobertura verde do solo varia de acordo com o tratamento de calcário dolomítico, sendo que na ausência prevalece a família Geraniaceae e quando o solo é corrigido prevalece a família Brassicaceae. A análise SIMPER (apêndice III) comprova estes resultados ao demonstrar que as famílias que mais distinguem os grupos de inventários em função do efeito da copa da árvore são as famílias das leguminosas e das gramíneas. As famílias Brassicaceae, Caryophyllaceae, Juncaceae, Polygonaceae e Urticaceae têm um carácter não micotrófico, que nas áreas FCA estas famílias ocupavam aproximadamente 27% de cobertura verde (tanto na área COR como

NCOR) enquanto nas áreas DCA este valor é de cerca de 12% (área COR) e 19% (área NCOR) de cobertura verde.

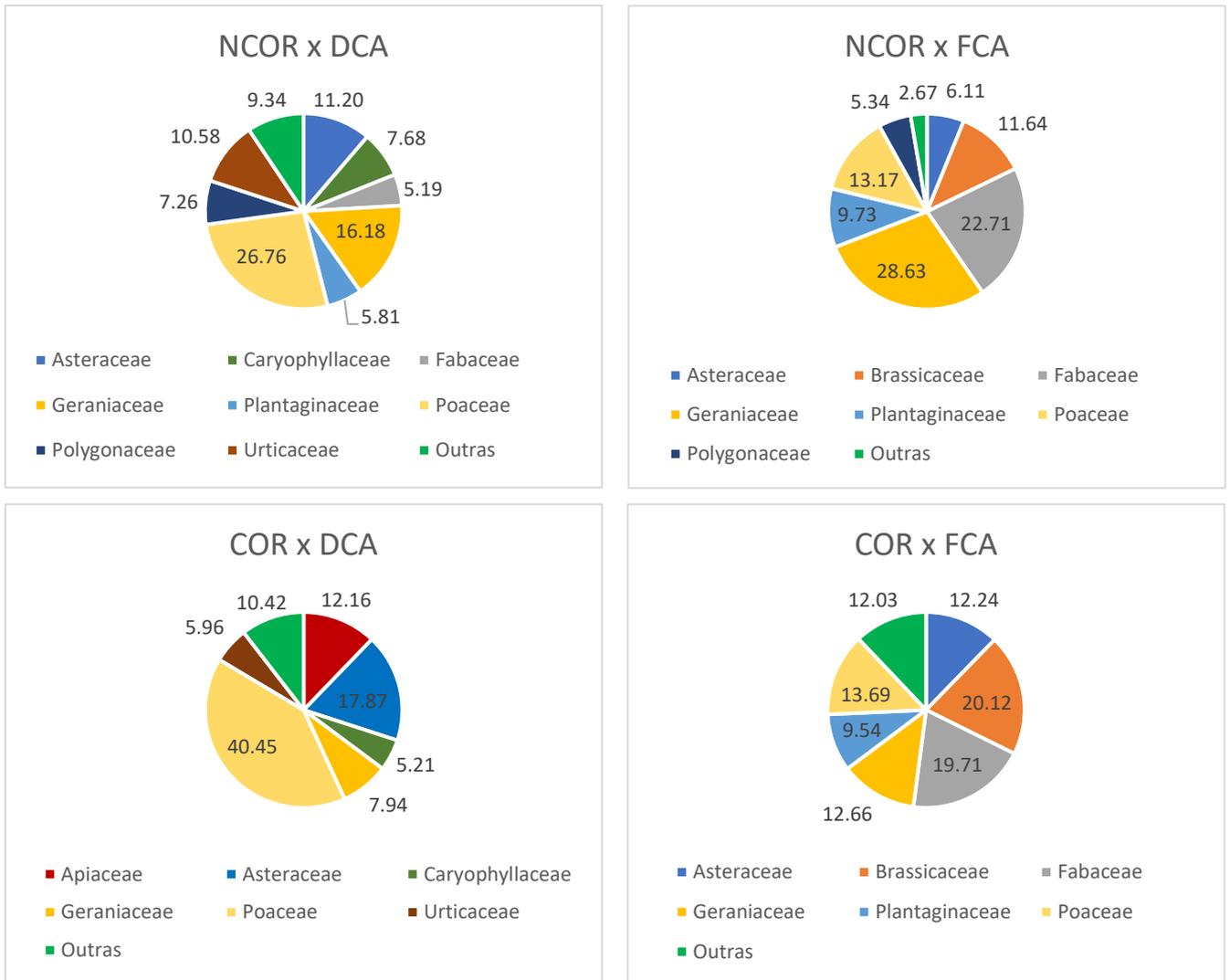


Figura 4.2. Proporção de famílias do campo experimental em função da localização e da aplicação de calcário dolomítico

O MDS com base na composição específica permitiu uma boa segregação dos inventários ao longo do eixo 1, associado ao fator copa e evidenciando alterações no conjunto de espécies que ocorrem DCA e FCA. Não se verificou uma discriminação dos inventários em função da aplicação de calcário dolomítico (figura 4.3). A PERMANOVA confirmou diferenças significativas na composição específica em função da copa, mas não da aplicação de calcário dolomítico, nem da interação destes fatores (tabela 4.7). Através da análise SIMPER ficou demonstrado que *Urtica urens* é uma das espécies que mais contribuem para a identificação do grupo de inventários nas áreas de DCA, com ou sem

correção (apêndice IV). As espécies *Diplotaxis catholica*, *Vulpia geniculata* e *Erodium moschatum* foram as que mais distinguiram os inventários em função dos fatores analisados com o SIMPER (apêndice V).

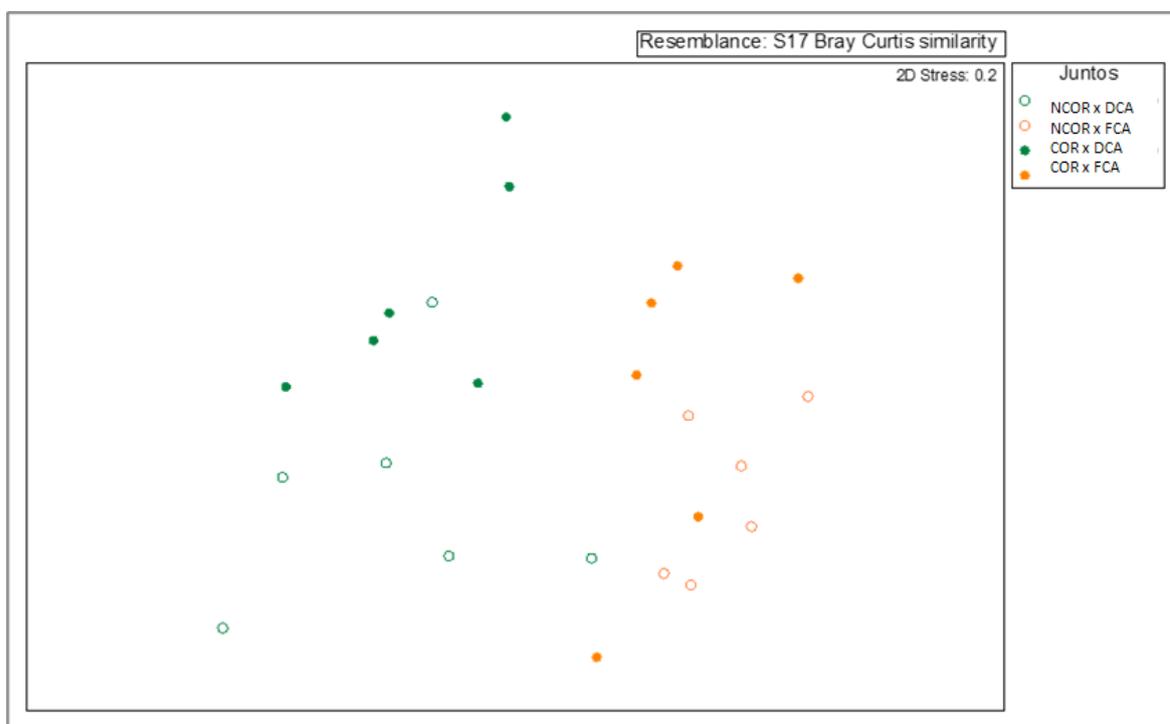


Figura 4.3. Diagrama de ordenação do MDS para os inventários florísticos, com base na composição de espécies e utilizando o Coeficiente de semelhança de Bray-Curtis. Os inventários foram codificados em função da localização (debaixo de copa/fora de copa) e da aplicação de calcário dolomítico (com/sem)

Tabela 4.7. Resultados da PERMANOVA com base na composição específica e considerando como fatores a localização e a aplicação de calcário dolomítico

Fatores	df	SS	MS	Pseudo-F	P(perm)
Calcário	1	3.887,6	3.887,6	1,561	0,072
Copa	1	12.950	12.950	5,199	0,001
Calcário x Copa	1	1.988,8	1.988,8	0,798	0,657

Nas áreas FCA ocorreu uma maior predominância de espécies associadas a solos ácidos, de acordo com informação recolhida na Flora Vascular de Andalucía Occidental (Valdés-Castrillón *et al.*, 1987). Estas espécies são responsáveis por 21,37% da cobertura verde na área NCOR e 30,08% na área COR (figura 4.4). Espécies nitrófilas, ainda com base na mesma publicação, só foram observadas DCA. Debaixo das copas sem adição de calcário estas espécies ocupavam em termos de cobertura verde 22,20%, enquanto DCA nas áreas COR estas espécies somavam 35,73%. As espécies nitrófilas *Torilis arvensis*, *Arum italicum*, *Carduus tenuiflorus*, *Poa annua*, *Rumex crispus* e *Urtica urens* foram identificadas

sob copas, em áreas COR e NCOR. Com base na figura 4.5, a espécie com maior representatividade na área NCOR tanto DCA como FCA é o *Erodium moschatum*, enquanto na área sem aplicação de calcário dolomítico FCA, a espécie *Diplotaxis catholica* e DCA a espécie *Vulpia geniculata* são as mais abundantes, respetivamente.

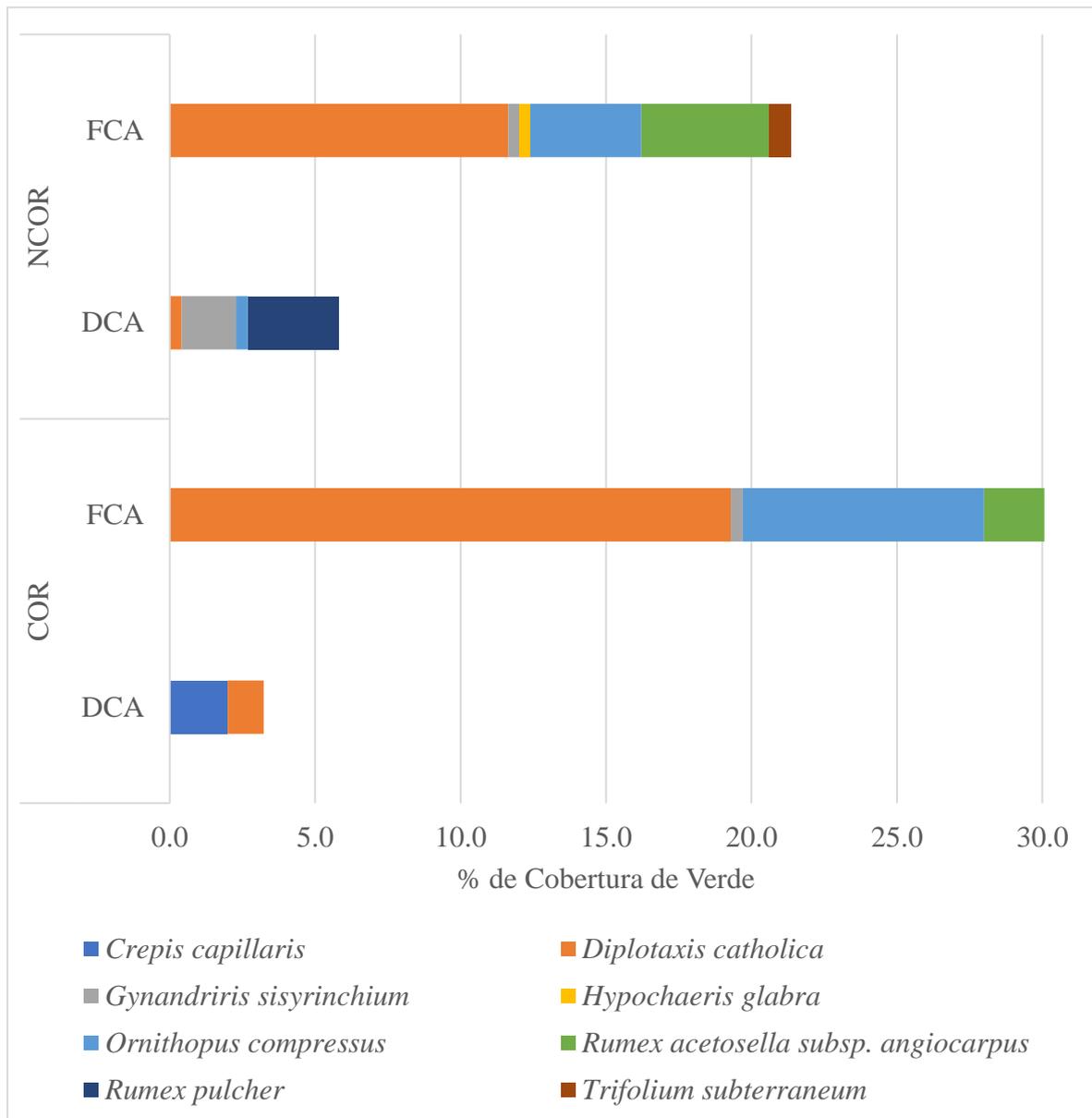


Figura 4.4. Distribuição das espécies pelos tratamentos identificadas em solos ácidos na Flora Vasculare de Andalúcia Ocidental (Valdés-Castrillón *et al.*, 1987)

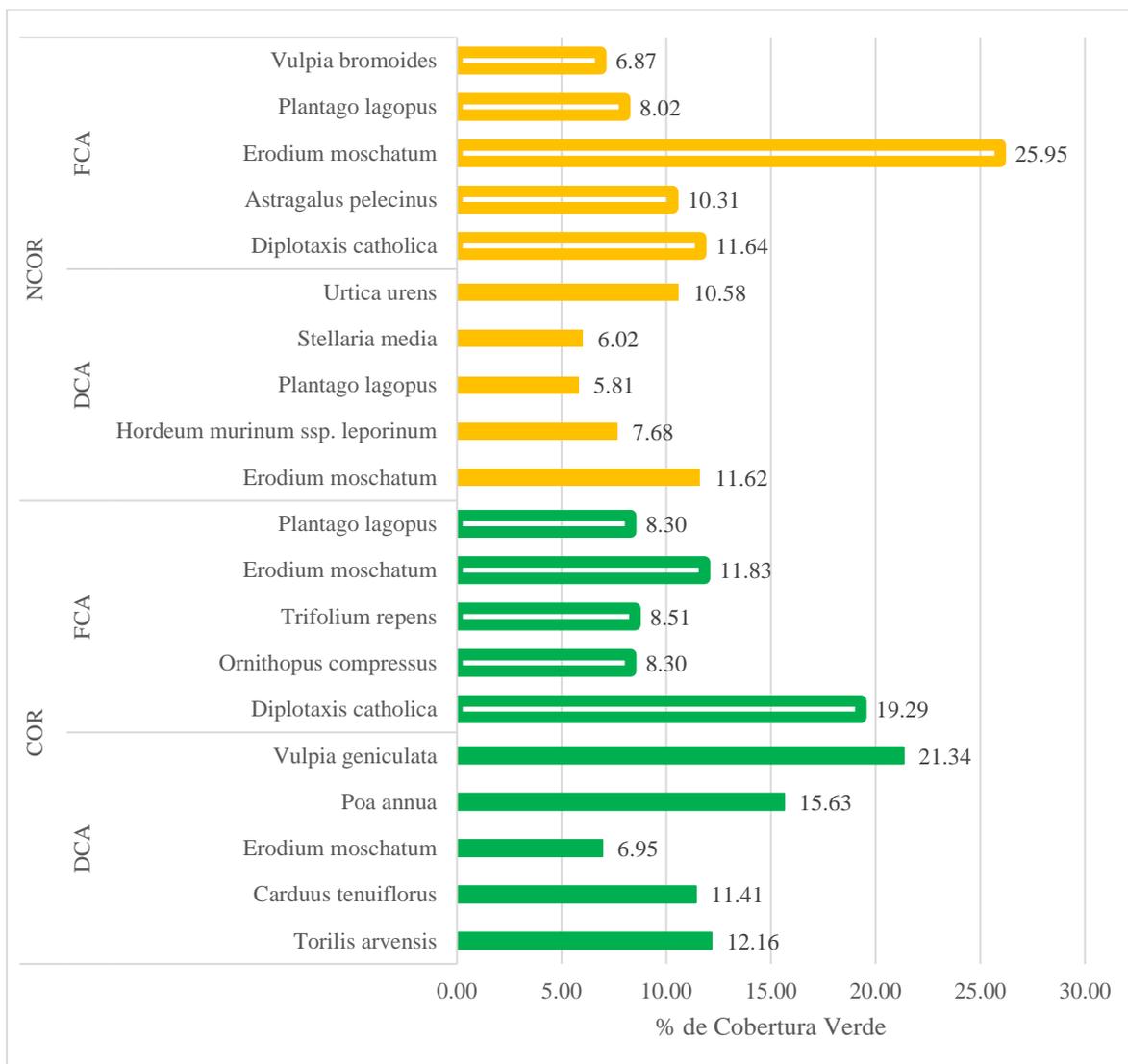


Figura 4.5. Espécies com maior representatividade nas áreas com e sem aplicação de calcário dolomítico

A maior parte dos parâmetros/métricas demonstrou ser influenciada pelos fatores e/ou pela interação dos mesmos, com exceção da riqueza de espécies e famílias (apêndice VI). A aplicação de calcário dolomítico reduziu de forma significativa a diversidade de espécies e famílias DCA, e apesar de não ser significativo também se verificou DCA um valor médio menor de riqueza de espécies e famílias (figura 4.6). A folhada aumentou significativamente pelo efeito da copa, e em resultado da sua interação com a aplicação de calcário dolomítico nas áreas DCA (apêndice VI), como é visível pela figura 4.7. O solo nudo e a cobertura total apresentaram maior percentagem em função do efeito da copa e da aplicação de calcário dolomítico, enquanto a cobertura total e a altura média da pastagem apenas foram influenciadas pelo efeito da copa (apêndice VI).

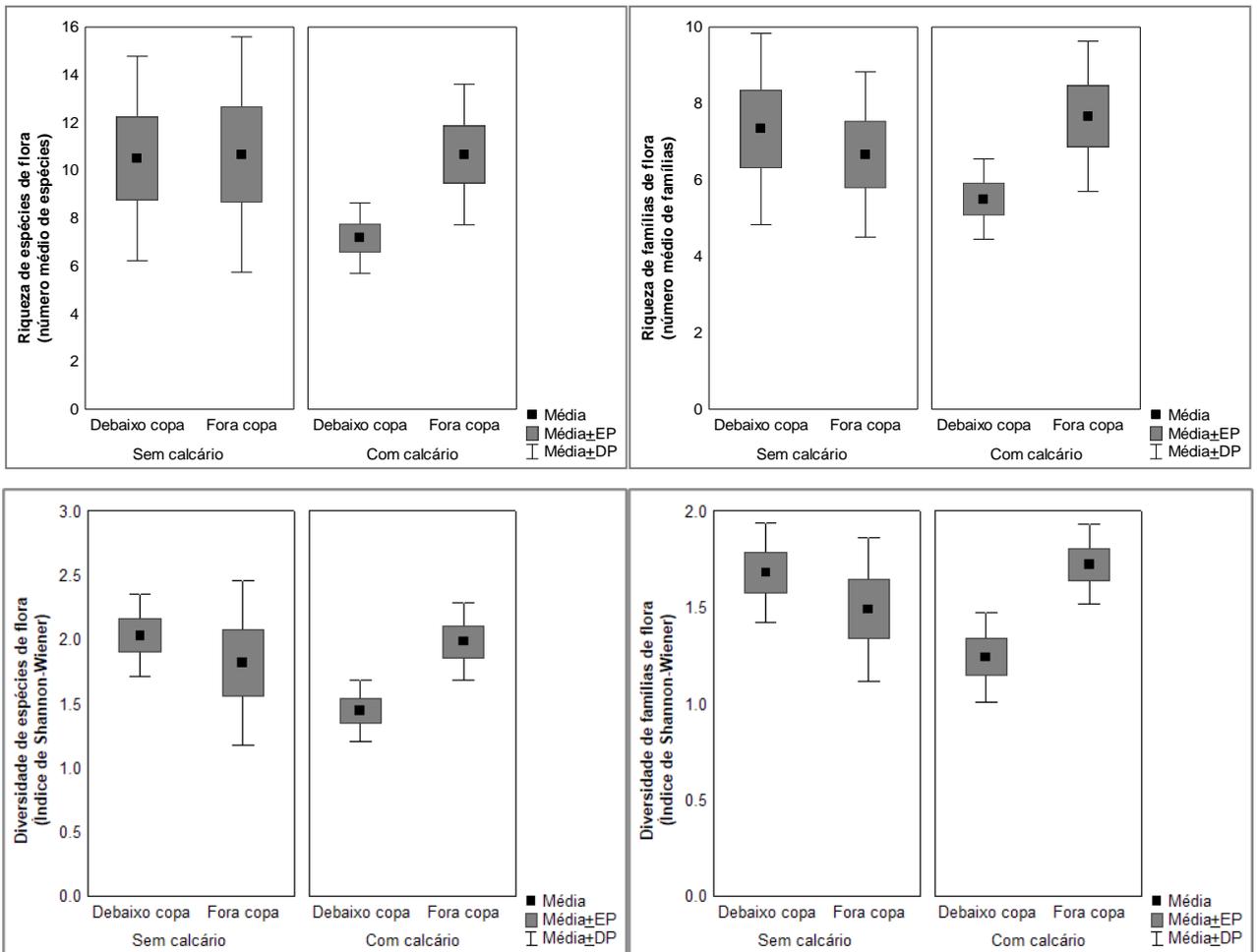


Figura 4.6. *Boxplot* da riqueza e diversidade da comunidade florística em função dos fatores localização (debaixo de copa/fora de copa) e aplicação de calcário dolomítico (com/sem)

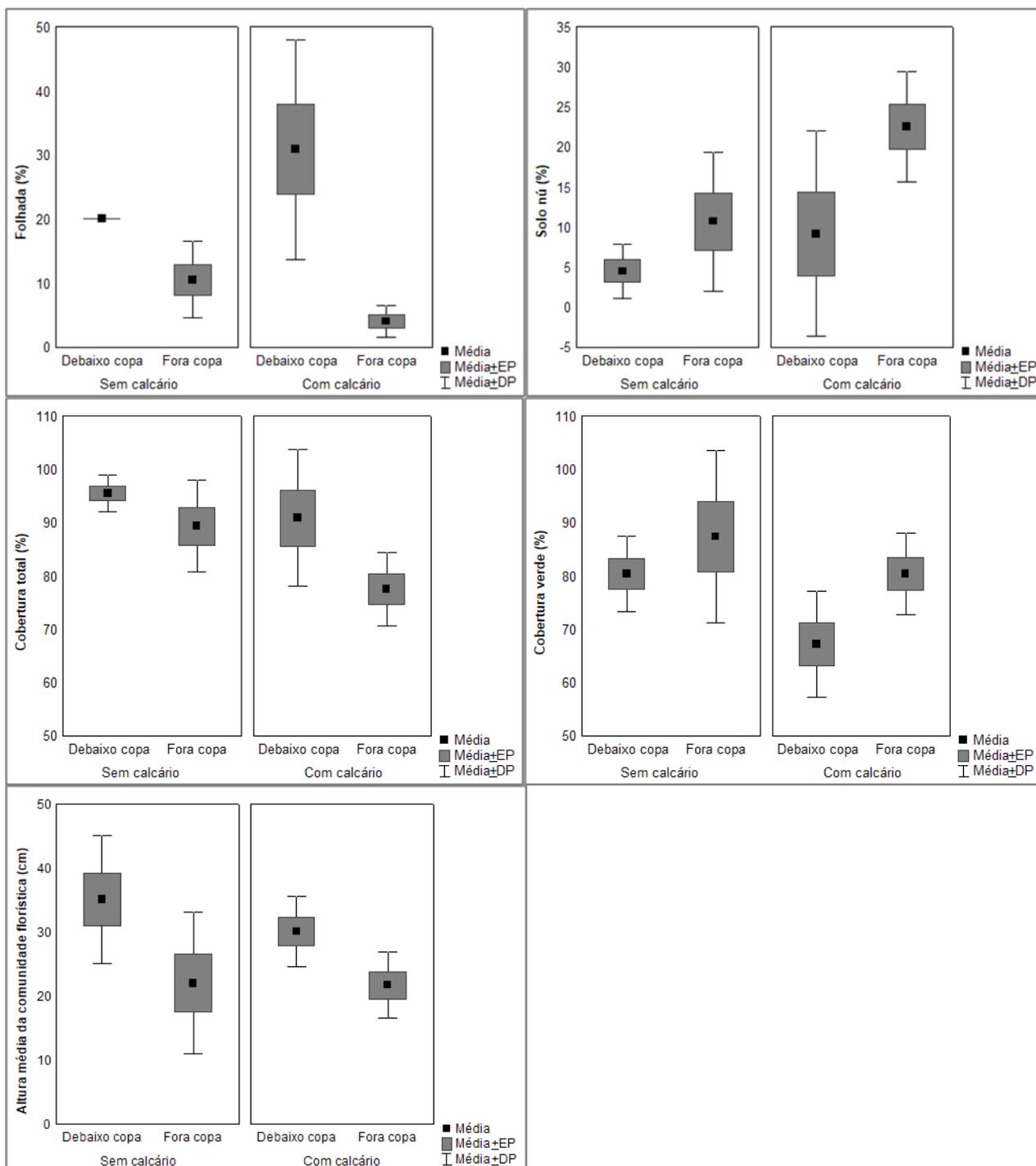


Figura 4.7. *Boxplot* de diferentes parâmetros/métricas da comunidade florística em função dos fatores localização (debaixo de copa/fora de copa) e aplicação de calcário dolomítico (com/sem)

4.7. Análise dos Espetros NIR do Solo

A análise de componentes principais (PCA) realizado utilizando as amostras de solo da data 1 e da data 2 mostrou que as componentes principais 1 e 2 explicam 100% da variância total, sendo que a componente principal 1 explica 99% da variância total. Na figura 4.8 podemos observar que os espectros das amostras de solo com e sem calcário FCA foram

separadas dentro da mesma data e também foram separadas entre a data 1 e a data 2. A análise PCA da área com calcário dolomítico DCA não mostrou discriminação da área sem calcário dolomítico DCA, ou seja, foi possível separar as datas apenas para as amostras FCA independentemente da correção, e o efeito da copa sobrepõe-se ao efeito das datas.

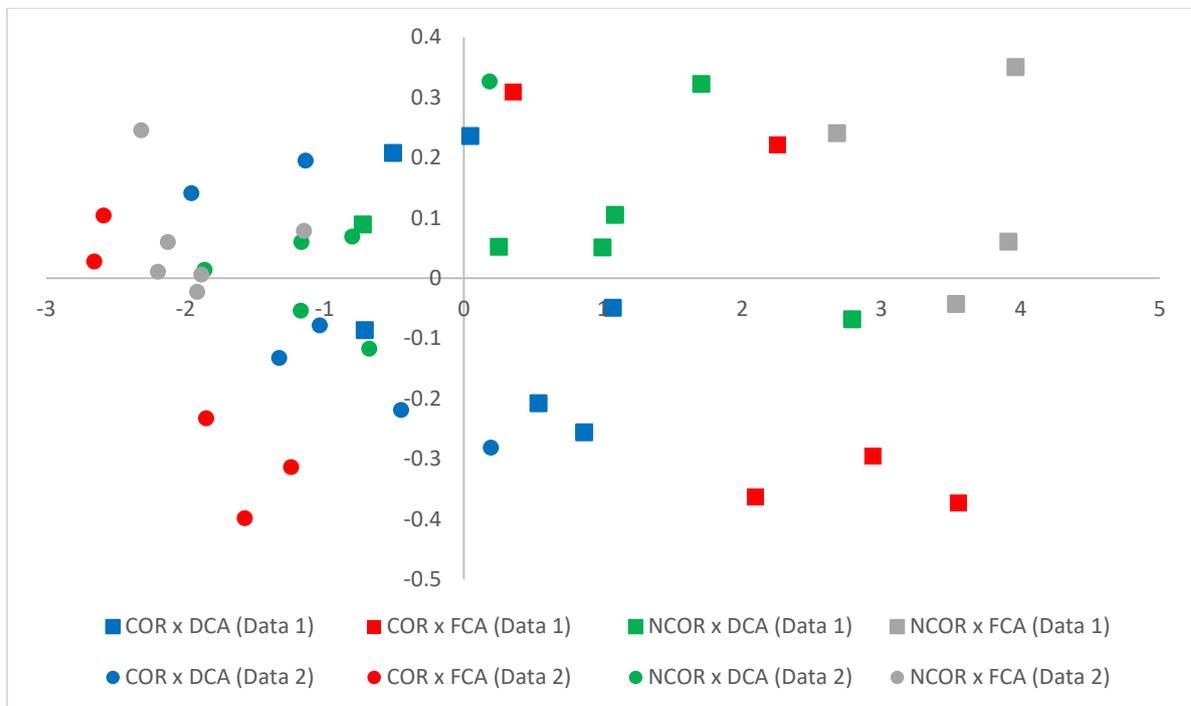


Figura 4.8. Análise de componentes principais utilizando as amostras de solo da data 1 e da data 2

5. Discussão

5.1. Avaliação do Efeito da Copa das Árvores e da Aplicação de Calcário Dolomítico no Solo

Os solos Mediterrânicos estão a sofrer cada vez mais os efeitos negativos das alterações climáticas devido à seca e aos fenómenos meteorológicos extremos, que são exacerbados pela agricultura intensiva e pelo sobrepastoreio, induzindo a sua erosão, compactação, salinização e a perda de propriedade funcionais. A degradação do solo pode rapidamente levar à desertificação, com profundas alterações nas propriedades físico-químicas, redução da MO e perda de biodiversidade. É espectável que tais mudanças causem também uma mudança dramática na diversidade e biomassa microbianas, em que a depleção da MO é geralmente associada a uma menor atividade biológica e diversidade (Catania *et al.*, 2022). A redução do C_{org} do solo, associada a menor atividade biológica é particularmente preocupante porque, além de ser a principal fonte de nutrientes para o crescimento das plantas, exerce inúmeros efeitos positivos nas propriedades físico-químicas do solo, bem como nos serviços ecossistêmicos reguladores do solo, incluindo a redução das emissões de CO_2 (Catania *et al.*, 2022).

As árvores afetam significativamente a fertilidade do solo, principalmente pela reciclagem da folhada e de nutrientes que são transportados através dos sistemas radiculares (inacessíveis à vegetação herbácea) (Moreno *et al.*, 2016). Para além disso, o amplo sistema radicular das árvores no solo pode trazer nutrientes das áreas entre as árvores (Hartemik *et al.*, 1996). Como resultado, os nutrientes apresentam valores mais altos sob carvalhos do que em áreas adjacentes abertas. O teor de nutrientes no solo, geralmente diminui rapidamente com a distância ao tronco e a influência das árvores desaparece apenas a alguns metros para além da área de projeção da copa (Moreno *et al.*, 2013). As árvores permitem também reduzir as perdas de solo e nutrientes por erosão e lixiviação (Lehmann *et al.*, 1999). Parte da acumulação de nutrientes DCA pode ainda justificar-se pela presença dos animais, que tendem a concentrar-se nessas áreas (Serrano *et al.*, 2018b). Desta maneira as árvores dispersas levam a uma grande variação espacial das condições do solo, criando áreas de melhor qualidade e melhorando as propriedades físicas (aumento da CTC e a capacidade de retenção de água) e a atividade biológica do solo, podendo incrementar a produtividade (Serrano *et al.*, 2018b) e acelerar o papel das pastagens na recuperação da fertilidade dos solos.

Pode observar-se na tabela 4.1 que na área DCA o teor de MO do solo é 1,8 vezes superior ao observado FCA, como descrito por Young (1997). Moreno *et al.* (2007) obteve um teor de MO debaixo da copa de azinheira cerca de duas vezes superior ao verificado fora da sua projeção. A MO funciona como substrato de crescimento para o microbioma do solo e a sua atividade mineralizadora permite a libertação de nutrientes para as plantas, incluindo N, P e S. Os valores mais elevados da MO na área DCA resultante da adição de resíduos vegetais proveniente da queda folhada aumentou significativamente a atividade dos indicadores de atividade microbiana geral do solo (RBS e C_{mic} , tabela 4.3) tal como observado por Bird *et al.*, 2002 e Prévost-Bouré *et al.*, 2010 e da atividade de todas as enzimas analisadas neste estudo mas apenas na data 1 (tabela 4.4), com exceção da atividade enzimática da fosfatase que também teve um aumento significativo mesmo na data 2. O aumento da atividade enzimática DCA relativamente à área FCA, está de acordo com outros estudos onde áreas com maiores teores de MO (como acontece DCA) apresentam um aumento da atividade das enzimas do solo (Zaman *et al.*, 1999; Dodor & Tabatabai, 2003). Na zona FCA os menores teores de MO podem explicar a diminuição da atividade enzimática, que afeta a disponibilidade de nutrientes no solo, e consequentemente reduz a absorção de nutrientes pelas plantas. Para além disso na área FCA a redução do teor de humidade nos solos nas condições Mediterrânicas da Península Ibérica leva a uma redução da atividade microbiana e consequentemente das atividades enzimáticas (Sardans & Peñuelas, 2004). Não só a presença de MO é importante, mas sobretudo a sua qualidade, uma vez que a MO afeta a disponibilidade de energia para o crescimento microbiano e produção de enzimas (Fontaine *et al.*, 2003). É evidente que a atividade enzimática do solo está fortemente ligada ao seu teor de MO, já que um nível mais elevado de MO pode suportar maior biomassa microbiana, levando a maior produção de enzimas (Yuan & Yue, 2012).

A RBS é considerada um indicador da atividade dos microrganismos presentes no solo, assumindo que a maior quantidade de CO₂ libertada é expressão de uma maior taxa de respiração e atividade microbiana e uma decomposição mais acelerada dos resíduos orgânicos, resultando numa maior disponibilidade de nutrientes para as plantas (Marques, 2000). A maior atividade microbiana geral na área DCA observada pelos valores da RBS, vai ainda ao encontro da maior atividade enzimática da desidrogenase nesta área que também é considerado um indicador da atividade microbiana geral, dado que esta enzima apenas se encontra ativa em células microbianas vivas dos microrganismos presentes no solo (Furtak & Gajda, 2017). A maior disponibilidade de nutrientes leva a um aumento proporcional na atividade da desidrogenase e biomassa microbiana (Kanchikerimath & Singh, 2001), o que

poderá explicar a maior atividade desta enzima DCA. A maior atividade microbiana geral DCA na data 1 é ainda apoiada, pelos valores significativamente mais elevados de C_{mic} , que representa uma pequena fração da MO total do solo, sendo que o C da biomassa microbiana constitui apenas 1-3% do C total do solo, apesar disso, a biomassa microbiana é mais sensível que o teor de C_{org} para detetar alterações na MO resultantes de práticas agrícolas (Gama-Rodrigues, 1999). Valores mais elevados de C_{mic} do solo indicam uma renovação de C e maior abundância de C metabolizável, de acordo com Kieft (1994). Ainda de acordo com Roscoe *et al.* (2006) valores elevados de C_{mic} do solo indicam que os nutrientes ficam imobilizados temporariamente, o que resulta em menores perdas. Os valores de C_{mic} mais elevados no período de inverno no ecossistema Mediterrânico Montado no demonstram a importância da presença de árvores para aumentar a dimensão da comunidade microbiana.

As enzimas do solo analisadas atuam nos ciclos de elementos essenciais para o desenvolvimento das plantas (C, P e S), convertendo os nutrientes em formas assimiláveis para os microrganismos e para as plantas. As reações da β -Glucosidase produzem glucose como produto final, uma importante fonte de energia para o crescimento e atividade de muitos microrganismos do solo (Merino *et al.*, 2016). Pode observar-se na tabela 4.4 que a maior atividade enzimática da β -Glucosidase ocorrida nas áreas de DCA pode ter contribuído para o restante desenvolvimento microbiano pela disponibilização de açúcares simples e a maior atividade das restantes enzimas também observada nesta área na data 1. A enzima fosfatase, cuja atividade é significativamente maior DCA em ambas as datas, está envolvida na transformação de compostos orgânicos e inorgânicos de P no solo, libertando ortofosfato da MO (Sardans & Peñuelas, 2004), podendo explicar a maior quantidade P disponível DCA (tabela 4.1) A arilsulfatase atua na hidrólise de ésteres de sulfatos do solo, libertando, S de forma disponível para as plantas, sendo fortemente afetada pela quantidade de MO, que é rica em ésteres de sulfato, substrato desta enzima (Nogueira & Mello, 2003). A sua atividade foi também superior DCA na data 1.

A seca pode afetar a biomassa, atividade e a composição das comunidades microbianas do solo, sendo os fungos comumente mais resistentes à seca do que as bactérias (Bastida *et al.*, 2019). Na data 2 (final da primavera), verificou-se uma diminuição da disponibilidade de água que interferiu na atividade microbiana geral e enzimática, na decomposição da folhada e na mineralização da MO, com a consequente menor libertação de nutrientes em formas assimiláveis para as plantas, podendo explicar porque não se verificaram em geral diferenças significativas entre áreas DCA e FCA. A diversidade florística interfere também com a atividade microbiana, dado que as rizosferas são pontos

críticos para os micróbios do solo, cuja atividade está diretamente ligada aos exsudatos de raízes e identidade das plantas que os produzem. Dentro da rizosfera, a seleção microbiana específica a nível da comunidade vegetal, pode ser atribuída à composição do exsudado da raiz da planta (concentrações variáveis de diferentes compostos) ou à mudança nos padrões de exsudação (fases de crescimento ou hora do dia) (Dhungana *et al.*, 2023). As raízes das plantas libertam exsudatos que alimentam as atividades microbianas e podem estruturar as comunidades microbianas da rizosfera. Sardans & Peñuelas (2004) demonstraram haver uma maior atividade enzimática na Primavera tendendo à temperatura, disponibilidade de água e maior quantidade de folhada (Ogaya & Peñuelas, 2004), ocorrendo ao mesmo tempo o crescimento mais ativo das plantas e da atividade microbiana (García *et al.*, 2002). Atendendo ao período de seca ocorrido na data 2, o aumento da atividade enzimática da β -Glucosidase e da RBS e também a atividade da fosfatase sobretudo DCA, nesta data em relação à data 1 pode parecer surpreendente. No entanto, muito provavelmente estes valores resultam sobretudo de atividade fúngica e não bacteriana considerando a sua maior capacidade de sobreviver com baixas atividades de água (Bastida *et al.*, 2019).

Neste estudo as árvores apresentaram um efeito positivo na maioria dos parâmetros químicos do solo analisados (tabela 4.1). A presença de árvores em ecossistemas como o Montado, possibilita a diminuição de aplicações de fertilizantes sem redução da produção agrícola, pela melhoria dos ciclos de nutrientes (Sinclair *et al.*, 2000). O significativo aumento do teor de N_t na área DCA em relação à FCA, está certamente relacionado com o maior teor de MO e atividade microbiana que também ocorre nestas áreas, dado que uma fonte de N no solo é a mineralização da MO, processo no qual os microrganismos do solo decompõem a MO do solo. O P é um nutriente determinante para a produção de pastagens, em especial pela sua importância no crescimento de leguminosas. Podemos observar pela tabela 4.1 a importância do efeito da copa das árvores para este nutriente, em que se obteve uma diferença significativa de um valor médio de P na área DCA de $101,83 \text{ mgKg}^{-1}$ comparativamente a um valor médio de FCA de $52,92 \text{ mgKg}^{-1}$, também certamente associado à atividade da fosfatase nestas zonas. O maior teor em K nas áreas DCA pode ser justificado pela correlação significativa entre o K e a concentração de P e MO do solo (Serrano & Shahidian, 2014). Verificou-se no estudo de Serrano & Shahidian (2014), que os efeitos combinados de uma paisagem ondulada, com árvores dispersas e animais que pastam seletivamente as espécies vegetais e fazem uma deposição heterogênea de dejetos e urina, proporcionam uma notável variabilidade espacial da concentração de K. O C total do solo apresentado é a soma do C_{org} e inorgânico. O C_{org} do solo constitui uma parte do ciclo do C,

incorporando o C atmosférico e atuando como um sumidouro de C. As pastagens contêm a maior parcela (39%) do *stock* terrestre de C no solo (Doblas-Rodrigo *et al.*, 2022). O potencial de sequestro de C em sistemas que combinam pastagens com árvores é maior porque as raízes secundárias das árvores e a queda da folhada, que lentamente acumulam grandes quantidades de C no solo, mesmo no subsolo, ajudam a aumentar o C_{org} do solo (Serrano *et al.*, 2018b). Assim, as áreas DCA poderão representar, pelos maiores teores em C, áreas promissoras com o objetivo de aumentar o C_{org} no solo, contribuindo para o sequestro de C na atmosfera. O potencial de sequestro de C do solo de ecossistemas agrosilvopastoris foi amplamente confirmado devido à alta quantidade de C_{org} armazenado na biomassa acima do solo (Seddaiu *et al.*, 2013). Este aumento de fertilidade solos terá certamente origem na maior taxa de decomposição da MO (produção e decomposição da folhada), tendo como base que os valores mais elevados de RBS verificados DCA se devem aos principais responsáveis pela libertação de CO_2 no solo que são as bactérias e os fungos heterotróficos, que realizam a decomposição da MO (Moura *et al.*, 2015). Desta maneira DCA existe uma maior biomassa microbiana com maior atividade benéfica para a saúde do solo, ao decompor a matéria orgânica e reciclar nutrientes em áreas de pastagens biodiversas de sequeiro, como atestam os resultados obtidos para as atividades de todas as enzimas estudadas.

Ao contrário do efeito positivo da copa da árvore no aumento de fertilidade e da atividade biológica do solo verificado anteriormente, a tabela 4.5 demonstra que DCA, sob condições em que luz limitante da fotossíntese, os custos simbióticos podem rapidamente tornar-se uma grande parte do balanço de C da planta, com consequências pronunciadas para a alocação de C da planta. As plantas podem desta maneira reduzir o fornecimento de assimilados aos simbioses como fungos micorrízicos ou rizóbios (Konvalinková & Jansa, 2016), como se verifica, pela redução significativa da taxa de colonização micorrízica nesta zona. Tal como no estudo de Carranca *et al.* (2015) parece que a presença de árvores no ecossistema Mediterrânico Montado para além de reduzir a dimensão da população de rizóbios, também diminui significativamente as taxas de colonização micorrízicas das plantas na área DCA. A maioria das leguminosas investe na formação de nódulos para acolher o rizóbio e, simultaneamente fornece carbono aos parceiros micorrízicos que desenvolvem no solo uma extensa rede de hifas que permite aumentar o volume de absorção de nutrientes pela planta. A significativa diminuição da taxa de colonização micorrízica na data 2 ($p < 0.001$) está relacionado com o período de absorção ativa de nutrientes por parte das plantas, que tende também a diminuir quando a sua taxa de crescimento se reduz devido à

seca e altas temperaturas. Resultados semelhantes foram observados por García & Mendoza (2008). A elevada taxa de colonização micorrízica nas áreas FCA, aumenta o potencial da produtividade da pastagem em solos ácidos com toxicidade de Mn, dado que esta relação simbiótica tem mostrado capacidade para reduzir a toxicidade de metais e, simultaneamente, aumentar a produtividade das plantas hospedeiras (Brito *et al.*, 2014; Faria *et al.*, 2021). Este potencial é ainda mais acentuado no caso das pastagens biodiversas de sequeiro, dado tratar-se de um solo não perturbado, mantendo os benefícios de toda a diversidade de espécies de fungos micorrízicos através de ERM intacta, totalmente estabelecida como fonte de inóculo preferencial para a colonização micorrízica (Brito *et al.*, 2012). A formação de FMA apresenta ainda efeitos benéficos no crescimento das plantas especialmente relevante em relação às mudanças climáticas em curso, uma vez que os FMA demonstraram aliviar o stress hídrico de forma significativa (Jongen *et al.*, 2022), o que poderá ter um papel especialmente importante nas zonas FCA. Além disso, essas hifas não aumentam apenas a absorção de água, mas também de nutrientes minerais especialmente no que se refere a elementos pouco móveis na solução do solo como o P, elemento de maior interesse para estimular o desenvolvimento de leguminosas. Os FMA contribuem para a estrutura do solo através de ações físicas da rede de micélio formada e pela produção de uma proteína (glomalina) secretada pelos FMA (Pagano & Dhar, 2016). Em áreas de pastagens degradadas como consequência do sobrepastoreio, erosão e compactação associadas ao pisoteio animal (Serrano *et al.*, 2023a), a colonização de FMA pode ser afetada, uma remoção moderada da biomassa acima do solo pode estimular a exsudação das raízes o que pode ser benéfico para os FMA, por outro lado, a desfolha intensa pode afetar a disponibilidade de carbono da planta, reduzindo o C transferido para o simbionte, o que pode comprometer a alocação de recursos do fungo para produção de esporos ou colonização de raízes (Dudinszky *et al.*, 2019).

Apesar da maior atividade microbiana DCA e aumento da disponibilidade de nutrientes, não ocorreu um aumento significativo de produtividade da pastagem (tabela 4.2), o que pode ser atribuído ao sombreamento, competição por nutrientes ou água, ou uma combinação destes fatores. O efeito de sombreamento das árvores parece ter muito mais influência do que outros fatores, segundo Chander *et al.* (1998). Apesar do significativamente maior teor de MO do solo DCA, (tabela 4.1), em que a queda de folhada parece ter sido o principal contribuinte, e maior atividade microbiana, não ocorreu um aumento significativo da produtividade da pastagem nesta zona, certamente outros fatores como o sombreamento das árvores contribuem para esta situação. Um adensamento de

árvores do ecossistema Mediterrânico Montado, contribuirá para um aumento da fertilidade dos solos, contudo, por si só, pode não se refletir no aumento da produtividade das pastagens.

O aumento de pH observado após a aplicação de calcário dolomítico (tabela 4.1) refletiu-se no aumento da disponibilidade de Mn e Mg, apesar de haver uma maior disponibilidade dos outros nutrientes, esta não de forma significativa, tal como observado por Malavolta, 2006. A aplicação superficial (não incorporada ao solo por mobilização) de corretivos não resulta num aumento imediato e significativo do pH do solo, mas sim num aumento gradual ao longo do tempo. Os valores semelhantes de pH DCA e FCA após a aplicação de calcário dolomítico pode ser explicado pelos maiores teores de MO e ao seu poder tampão. O P é expresso com uma forte dependência do pH do solo, observando-se no estudo de Serrano *et al.* (2011) que as áreas com maior quantidade de P disponível coincidem com as áreas de maior pH, sendo que o mesmo confirma-se neste estudo pelos maiores valores médios de P nas áreas COR (tabela 4.1).

O pH do solo controla a solubilidade da MO através do estímulo ou inibição da atividade microbiana. As condições de pH do solo mais favoráveis para a atividade microbiana variam entre 5,5 e 8,8. O aumento de pH observado após a aplicação de calcário dolomítico contribuiu apenas na data 1 para o aumento da RBS que geralmente aumenta com o pH do solo para um nível ótimo, isso também se correlaciona com os teores de C e N da biomassa microbiana, que geralmente são mais altos acima de pH 7 (Neina, 2019). Na data 2, os valores da RBS evoluíram no sentido oposto sendo mais elevados na área NCOR, podendo estar relacionados com a existência de uma maior percentagem de cobertura verde de leguminosas nestas áreas. Estas fornecem materiais de fácil decomposição aos microrganismos do solo e, aumentando a atividade biológica na rizosfera (Koné *et al.*, 2008). A rizosfera, associada aos nódulos radiculares, liberta moléculas, o que pode aumentar a respiração (Volpin & Phillips, 1998). Nestas áreas a taxa de colonização micorrízica também apresentou valores mais elevados, sendo que foi demonstrado por Conceição *et al.* (2022) que a taxa de colonização micorrízica em solo não perturbado em plantas de trigo está altamente relacionada com a RBS. A subida de pH para uma faixa de 5,5-6,5 é ideal para o crescimento das plantas e aumento da atividade microbiana pela maior disponibilidade de exsudatos radiculares como fonte de C disponível para a sobrevivência e multiplicação dos microrganismos (Msimbira & Smith, 2020). No entanto no presente estudo, apesar de ter ocorrido um aumento significativo de pH do solo nas áreas COR não se refletiu num aumento significativo da atividade das enzimas extracelulares do solo, com exceção da arilsulfatase

na data 2, claramente beneficiada pela correção do pH do solo. A ausência do efeito na atividade das enzimas extracelulares que participam no ciclo de nutrientes do solo pela alteração do pH pode justificar também porque não se observou um aumento significativo de nutrientes nas áreas COR, o facto de não se incorporar o calcário dolomítico no solo por mobilização torna este processo lento e gradual, o que parece afetar também o benefício desta correção do solo na atividade enzimática. Este efeito nas enzimas extracelulares é ainda apoiado pelo estudo de Puissant *et al.* (2019) que demonstrou que manter em pH 5 ou pH 7 por mais de 100 anos teve um forte impacto no pH ótimo de todas as enzimas desse estudo, em que o pH ótimo das enzimas extracelulares do solo se adaptou ao pH do solo de origem. Por último, mesmo não se verificando um aumento significativo da atividade enzimática após a aplicação de calcário dolomítico, observou-se que só após a correção do solo, desapareceram as diferenças da interação entre tratamentos na data 1 entre FCA e DCA tanto da atividade enzimática da desidrogenase como da arilsulfatase.

A área NCOR com calcário dolomítico apresentou menor disponibilidade de nutrientes no solo, o que segundo Smith & Read (2008), pode aumentar a taxa de colonização micorrízica de raízes de FMA, tal como observado na tabela 4.5, uma vez que as plantas se tornam mais dependentes dos seus simbiontes fúngicos para a aquisição de nutrientes. Uma diminuição nos níveis de nutrientes (especialmente P e N) pode resultar num aumento da taxa de colonização micorrízica, enquanto o excesso de nutrientes pode resultar em menor colonização (Mosse & Phillips, 1971). Apesar dos níveis excessivos de Mn prejudicarem o desenvolvimento vegetal (Brito *et al.*, 2014), este elemento tóxico é sequestrado pelos FMA nas hifas e, nos grânulos de polifosfato, o que reduz a sua transferência para a planta hospedeira. O aumento da intensidade de pastoreio diminui a disponibilidade de C das plantas, e conseqüentemente também diminui o C disponível para a micorrização (Barto & Rillig *et al.*, 2010; Mendoza *et al.*, 2011).

A análise PCA dos espectros NIR (figura 4.8) não mostrou discriminação entre a área com e sem calcário dolomítico DCA, o que está de acordo com os resultados obtidos nas amostras de referência deste estudo, relativas à atividade microbiana (tabela 4.3) e enzimática (tabela 4.4) nas mesmas condições.

A análise PCA do espectro NIR das amostras de solo separa as datas apenas para as amostras FCA independentemente da correção, sendo que o efeito da copa se sobrepõe ao efeito das datas (figura 4.8). De facto, a separação mais evidente deste análise recai sobre o efeito da copa e tal como no estudo de Comino *et al.* (2018) que mostra que assinatura espectral do solo demonstrou ser capaz de distinguir diferentes tipos de solo que apresentam

atividade biológica diferente, justamente o efeito da copa aquele que mais se fez sentir na atividade microbiana do solo no presente estudo. No estudo de Zornoza *et al.* (2008) as propriedades do solo que foram fortemente relacionadas com as propriedades de refletância foram o C_{org} , N total e a humidade do solo, o que faz sentido atendendo a que a espectroscopia de refletância NIR fornece informações sobre proporções relativas de ligações como C-H, N-H, S-H e O-H, presentes nos compostos orgânicos (O-H também incluído na molécula de água). Outros estudos demonstraram a premissa de usar a espectroscopia de refletância NIR para prever propriedades bioquímicas. Estas propriedades são baseadas em compostos orgânicos e, como consequência, possuem grupos funcionais capazes de absorver a radiação na região NIR e provocar mudanças diretas nas características de refletância das amostras, daí que se tem demonstrado os melhores resultados com os parâmetros C_{mic} , RBS, atividade da fosfatase, atividade da β -glucosidase (Zornoza *et al.*, 2008) com a espectroscopia de refletância NIR. Esta técnica não tem sido tão amplamente utilizada para bioquímica quanto para as propriedades químicas do solo. A espectroscopia NIR é um método rápido e não destrutivo, requer apenas pré-tratamento mínimo (crivagem e secagem do solo). A espectroscopia NIR utilizada em associação com ferramentas quimiométricas sofisticadas permite a construção de modelos precisos e confiáveis para diversas propriedades físicas, químicas e bioquímicas do solo, incluindo variáveis relacionadas à composição microbiana do solo (Zornoza *et al.*, 2008). A espectroscopia NIR pode assim ser usada como ferramenta analítica rápida para avaliação da qualidade do solo e práticas agrícolas. A espectroscopia NIR pode ser especialmente útil para a identificação rápida de solos que sofrem degradação severa da atividade biológica. No entanto, são necessários estudos adicionais para desenvolver modelos mais confiáveis, incluindo o uso de um maior número de amostras de diferentes tipos de solo e zonas com uma ampla gama de características do solo.

5.2. Avaliação do Efeito da Copa das Árvores e da Aplicação de Calcário Dolomítico na Pastagem

A gestão do ecossistema Montado é muito complexa, pois integra vários subsistemas interligados que se influenciam mutuamente. A diversidade de espécies nas pastagens aumenta a complexidade deste ecossistema. O Montado assume um papel fundamental enquanto reservatório de biodiversidade, especialmente face aos desafios decorrentes das alterações e flutuações climáticas (Serrano *et al.*, 2021b). As pastagens podem ter um papel decisivo na recuperação da fertilidade dos solos (aumento da MO e melhoria da estrutura), no entanto os benefícios estão dependentes do nível produtivo da

pastagem que, condiciona o grau de proteção do solo, o retorno de resíduos orgânicos ao solo e a carga animal que suportam (Carvalho, 2018). As funções do solo, estão ainda dependentes do clima, uma vez que o solo funciona como moderador entre as necessidades das plantas e a variabilidade climática. A degradação das pastagens está frequentemente associada à sua deficiente gestão e às elevadas taxas de lotação animal, uma vez que a gestão do pastoreio é essencial para manter os ecossistemas funcionais e contribuir para a biodiversidade de espécies (Carreira *et al.*, 2022). Medidas rigorosas da biomassa, composição florística e valor nutritivo são fundamentais para avaliar a saúde ecológica das pastagens e proporcionar importantes indicadores do seu estado. Esta necessidade é especialmente justificada nas áreas Mediterrânicas, que enfrentam globalmente um desafio em termos de políticas de gestão e tomada de decisão, que abordam processos dinâmicos e padrões de biodiversidade que garantem a conservação dos ecossistemas a longo prazo. A gestão eficiente das pastagens é um dos principais fatores que condiciona a viabilidade económica da indústria de carne de ruminantes, garantindo a alocação precisa e bem planeada de pastagens a um pastoreio adequado (Serrano *et al.*, 2021b).

As modificações na composição florística DCA observadas no diagrama de ordenação do MDS para os inventários florísticos, com base na composição de famílias (figura 4.1) e específica (figura 4.3) estão certamente associadas a mudanças no microclima, às propriedades do solo e ao pastoreio animal. Gómez-Rey *et al.* (2012), relataram que o solo DCA apresenta maior densidade e menor porosidade devido à maior compactação causada pelos animais. Este efeito da copa das árvores modificar significativamente as propriedades físicas do solo DCA no ecossistema Montado, é apoiado pela diferença significativa do valor da HP (tabela 4.2), dado que a copa das árvores contribui para uma menor evapotranspiração das pastagens. Nas áreas DCA ocorre um aumento da capacidade de retenção de água do solo, da macro porosidade e das taxas de infiltração, em comparação com áreas abertas, explicado principalmente pelo aumento da MO e a diminuição da densidade aparente dos solos perto das árvores (Moreno *et al.*, 2016). O efeito da árvore é, a consequência acumulada de várias décadas (Serrano *et al.*, 2021a). Tal como observado neste estudo, o menor número de espécies botânicas geralmente observado DCA, pode estar associado à reduzida capacidade de algumas espécies para sustentar o pastoreio animal, especialmente com solos húmidos, no outono e inverno, ou ainda ao efeito da sombra das árvores. Além disso, efeitos deletérios de substâncias (agentes alelopáticos), exsudados de folhas ou raízes podem retardar o crescimento de plantas próximas às árvores (Serrano *et al.*, 2021a).

O aumento das gramíneas, DCA nas áreas corrigidas com calcário dolomítico (figura 4.2) pode ser justificado pelo aumento da disponibilidade de nutrientes nesta área (tabela 4.1). O aumento da produtividade e a intensidade da competição por luz favorece algumas gramíneas altas (Roem & Berendse, 2000), reduzindo a riqueza de espécies nas comunidades de pastagens. Um aspecto que pode indicar baixa qualidade das pastagens DCA é a predominância de espécies da família das gramíneas, geralmente de baixo valor nutricional para a alimentação animal, ocupando 7,68 % na zona NCOR (*Hordeum murinum* subsp. *leporinum*) e 36,97% na zona COR (*Vulpia geniculata* e *Poa annua*), em termos de cobertura verde. As espécies vegetais que compõem a pastagem podem afetar a eficiência alimentar dos animais, bem como o sistema de pastoreio. Além disso, as famílias de plantas que compõem a pastagem determinam a sua qualidade alimentar: destacam-se as leguminosas que geralmente têm melhor valor nutricional do que as gramíneas pelo que, quanto mais leguminosas houver na pastagem, maior será a sua qualidade (Carreira *et al.*, 2022).

A maior percentagem de leguminosas FCA (figura 4.2), está de acordo com o estudo de Serrano *et al.* (2018), que demonstraram maior predominância de plantas leguminosas FCA e maior predominância de gramíneas DCA. Estes autores atestam que a composição florística DCA se degrada ao longo do tempo, com um declínio das leguminosas, e um aumento da proporção de material vegetal seco, reforçando a maior tolerância das gramíneas à sombra (Benavides *et al.*, 2009). A intensidade da luz afeta a simbiose das leguminosas, pois a luz aumenta a sua capacidade fotossintética, melhorando o estado nutricional da planta. Os rizóbios nos nódulos simbióticos precisam de um fornecimento contínuo de hidratos de carbono para produzir a energia necessária ao seu metabolismo e fixar o N atmosférico. A diminuição da radiação fotossintética reduz o crescimento e o rendimento das plantas (Carranca *et al.*, 2015). É reconhecido que o elevado número de espécies de leguminosas é um indicador de grande qualidade das pastagens: segundo Avdiu *et al.* (2018) o principal indicador da degradação da qualidade das pastagens é a reduzida presença do grupo funcional das leguminosas. Por outro lado, um indicador da baixa qualidade das pastagens é a predominância de espécies da família das gramíneas, geralmente de baixo valor nutricional para a alimentação animal. Em média as gramíneas ocuparam 67,21% da área DCA e aproximadamente 24,05 % da área FCA (figura 4.2). A família das gramíneas indicadora da baixa qualidade das pastagens e com baixo valor nutricional para a alimentação animal, beneficia assim do efeito da copa, pela menor incidência de luz solar DCA que tende a retardar a evolução do ciclo vegetativo das plantas,

apresentando, em relação às plantas que se desenvolvem FCA, menor maturidade (mantendo-se mais jovens) e maiores valores de teor de PB (tabela 4.2).

Fora da copa nas zonas COR, de entre as espécies mais representativas (figura 4.4) verificou-se a presença de serradela amarela (*O.compressus*), uma das mais importantes leguminosas anuais para pastagens nas zonas Mediterrânicas, possuindo as suas sementes um elevado grau de dureza (60 a 95%), o que lhe confere um elevado grau de persistência (Barros & Freixial, 2012). Esta espécie possui uma raiz profunda, o que contrasta com outras leguminosas anuais como o trevo subterrâneo, e lhe permite extrair água e nutrientes a grandes profundidades, continuando a crescer, florir e formar semente em condições de secura, em primaveras quentes quando as raízes de outras espécies já secaram. Segundo Barros & Freixial (2012), a serradela contribui para a melhoria das características físicas (estruturais), químicas (N e MO) e biológicas (aumento da atividade dos microrganismos) do solo. Ainda na zona com aplicação calcário dolomítico FCA, verificou-se a existência de trevo branco (*Trifolium repens*), espécie importante das pastagens na maioria das áreas temperadas do mundo. O valor do trevo branco em pastagens biodiversas, deve-se à sua contribuição para melhorar a qualidade da alimentação e valor nutritivo, distribuição sazonal complementar de matéria seca e fornecimento de N atmosférico (Caradus *et al.*, 2023). Além disso, o *Trifolium repens* é bastante tolerante ao pisoteio animal (Carreira *et al.*, 2022). A presença destas espécies pode levar a benefícios económicos e maior rentabilidade dos ecossistemas Mediterrânicos. O número elevado de espécies de leguminosas é um indicador de alta qualidade da pastagem, observando-se em termos de espécies mais representativas apenas a espécie *Astragalus pelecinus* (10,31% de cobertura verde) FCA na área NCOR, enquanto FCA na área COR o *Trifolium repens* e *Ornithopus compressus* ocupam 16,81 % de cobertura verde. Na zona COR não se verificou a existência do trevo subterrâneo (*Trifolium subterraneum*), leguminosa anual de porte prostrado, com desenvolvimento de outono-primavera, interessante para a instalação de pastagens de sequeiro nas zonas Mediterrânicas, donde é originário (Barros & Freixial, 2012).

Não se verificou uma discriminação dos inventários em função da aplicação de calcário dolomítico com base na composição das famílias (figura 4.1) ou específica (figura 4.3). Observando, os resultados da PERMANOVA com base na composição de famílias (tabela 4.6) e específica (tabela 4.7) não se confirmaram diferenças significativas ($p < 0,05$), em função da aplicação de calcário dolomítico, apesar de os valores de P estarem próximos de serem significativos. Este cenário não é completamente inesperado, uma vez que a correção do solo neste campo experimental é uma intervenção relativamente recente, e sabe-

se que a correção a acidez do solo com a aplicação de calcário dolomítico superficialmente sem incorporação do corretivo no solo é um processo lento e gradual (Serrano *et al.*, 2020a). Contudo, o aumento da relação Mg/Mn, pode ter favorecido a emergência de algumas espécies vegetais, nomeadamente leguminosas visto que o rizóbio é sensível ao excesso de Mn, reduzindo a taxa de fixação do N atmosférico (Carvalho *et al.*, 2015b). O *Trifolium repens* é considerado muito sensível à acidez e toxicidade do Mn, enquanto o *Trifolium subterraneum* é considerado relativamente tolerante (Serrano *et al.*, 2021a). A redução da toxicidade do Mn é apoiada pelo facto de que apenas se verificou a presença de *Rumex bucephalophorus* (apêndice I) na zona NCOR, pois esta é uma planta muito tolerante à toxicidade de manganês (Carvalho, 2018).

Apesar das modificações na composição florística DCA e após a correção do solo, não ocorreram diferenças significativas na melhoria da qualidade da pastagem (PB e NDF) (tabela 4.2). Contudo, é possível observar valores mais elevados de índice de qualidade da pastagem (IQP) (figura 5.1) e em termos de PB (kg/ha) (figura 5.2) nas áreas corrigidas com calcário dolomítico, que segundo Crusciol *et al.* (2019) e Halim *et al.* (2018) a melhoria deste rendimento é proporcionada pela aplicação superficial de calcário que resulta de um efeito positivo na condição nutricional do solo, e que se reflete na nutrição das plantas e no teor de clorofila.

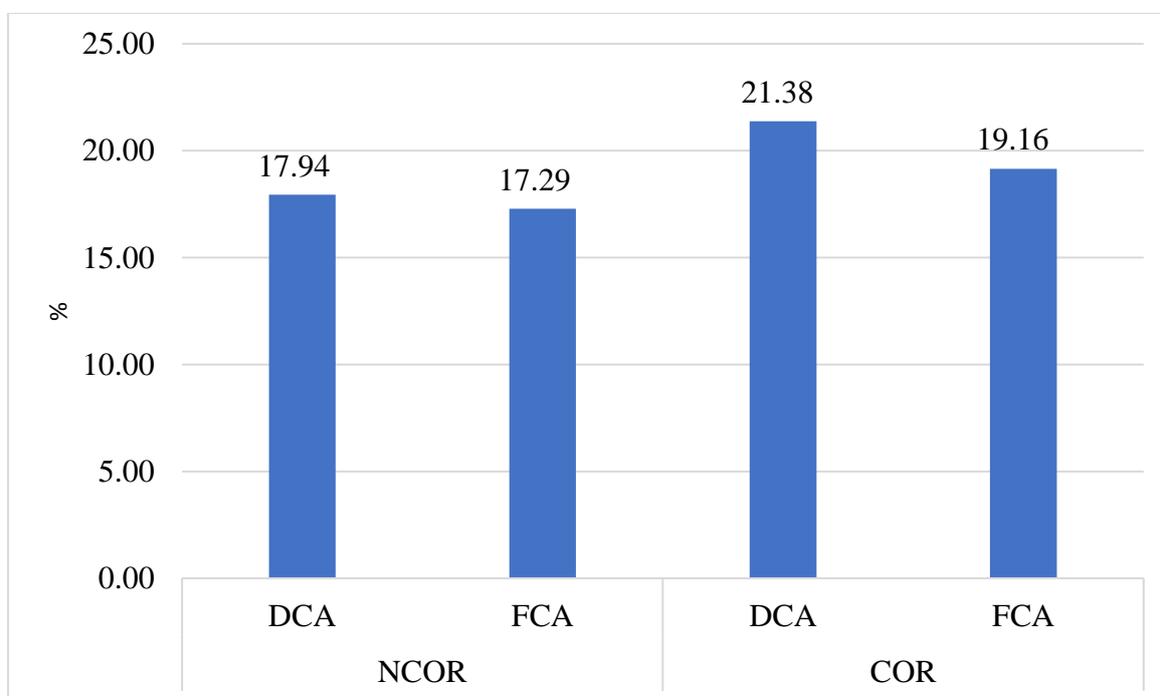


Figura 5.1. Índice de qualidade da pastagem

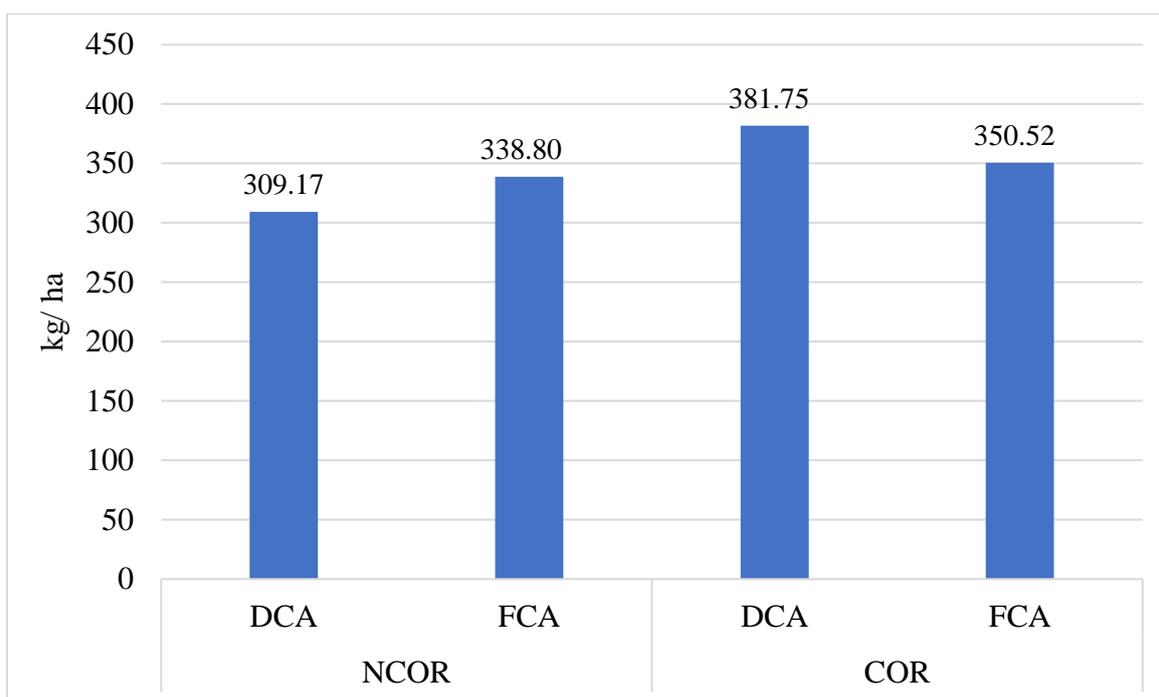


Figura 5.2. Efeito da copa e da aplicação de calcário dolomítico na PB (kg/ha) da pastagem

Verifica-se uma redução do número de espécies com a aplicação de calcário dolomítico (apêndice VI), contudo ocorreu um aumento de percentagem de cobertura de determinadas espécies, em especial a *Diploaxis catholica* que é considerada uma planta infestante das pastagens Mediterrânicas, sendo apenas consumida pelos animais nas primeiras fases fenológicas, sempre antes da maturação e, sobretudo, se a taxa de lotação animal instantânea for elevada (Carreira *et al.*, 2022). A diversidade da comunidade vegetal é propícia para manter a resiliência regional, a complexidade, a estabilidade e serviços dos ecossistemas. Na área DCA verificou-se um aumento significativo da percentagem de cobertura total, explicada pela maior percentagem de folhada, reduzindo-se desta maneira a percentagem solo nu (apêndice VI). Este aspeto da menor cobertura verde é particularmente importante porque tem um efeito direto e negativo na produtividade das pastagens. Estudos mostraram que a acumulação moderada da folhada contribui para melhorar a riqueza de espécies da comunidade vegetal, enquanto o excesso de folhada tem um efeito negativo na riqueza de espécies vegetais. Um aumento significativo da queda de folhada DCA nas zonas COR, pode explicar a redução significativa da diversidade de espécies e famílias DCA (apêndice VI). A queda da folhada altera o crescimento das plantas afetando a germinação das sementes, além disso a composição de espécies também é regulada por mudanças no *seedling recruitment* (Zhang *et al.*, 2019). Em consonância, FCA obtiveram-se valores mais elevados de percentagem de cobertura verde. No entanto, a adição de calcário parece

acentuar as diferenças entre os inventários dentro e fora de copa. A tendência observada sem adição de calcário foi mantida para a maioria dos parâmetros/métricas (figura 4.7), mas verificou-se uma inversão no caso da diversidade (figura 4.6). O aumento de recursos do solo leva a um aumento da produtividade, mas à medida que as plantas crescem, o sombreamento reduz a disponibilidade de luz. A competição por luz pode fazer com que a diversidade diminua à medida que a disponibilidade de recursos do solo aumenta, levando a um aumento da mortalidade de algumas espécies por exclusão competitiva, e redução da diversidade. Ou seja, a competição por recursos do solo, quando estes são escassos, nomeadamente nutrientes e água, pode transferir-se para a superfície quando esses recursos deixam de ser escassos ou inacessíveis, fazendo com que a competição se faça pela luz, o recurso que se tornou escasso em virtude do aumento da biomassa, e mais escasso DCA do que FCA. Nesta hipótese, a competição de rebentos causa mais mortalidade e exclusão competitiva do que a competição de raízes, talvez porque as espécies mais altas podem aproveitar a luz (Rajaniemi, 2008): os valores significativamente mais elevados de altura média da comunidade florística DCA apoiam esta hipótese. Finalmente, o aumento da competição pela luz pode causar o desbaste no nível da comunidade em que indivíduos pequenos e sombreados de todas as espécies morrem, a densidade cai e as espécies desaparecem das parcelas (Rajaniemi, 2008). Desta maneira, os menores valores de produtividade DCA estão de acordo com os estudos que referem que a sombra tem um efeito negativo na produtividade da pastagem (Benavides *et al.*, 2009; Hussain *et al.*, 2009). A maior produtividade FCA deve-se à maior taxa de fotossíntese, para além de que, nestas áreas as raízes da pastagem não têm competição das raízes das árvores por água e nutrientes (Serrano *et al.*, 2018a). A produção de hidratos de carbono e a produção de MS da pastagem é reduzida pela quantidade de luz que é interceptada pela copa da árvore que, por consequência, diminui a fotossíntese (Benavides *et al.*, 2009). Os valores de produtividade da pastagem (MV e MS) e qualidade (PB e NDF), poderão ter sido influenciados pelas caixas de exclusão de pastoreio em madeira (dimensões 0,5 m x 0,5m x 0,5m) e malha de rede de arame, que pela reduzida dimensão parecem ter condicionado o crescimento vegetativo da pastagem apenas à dimensão das caixas de exclusão de pastoreio, tanto nas áreas DCA como FCA.

A produtividade das pastagens de sequeiro é condicionada pela distribuição da precipitação ao longo ciclo vegetativo (Efe Serrano, 2006). Os resultados obtidos representam a produtividade num ano com reduzida precipitação, tanto no inverno como na primavera. Num ano seco, a maior fertilidade DCA não se reflete em maior crescimento

vegetativo devido à falta de humidade. Segundo Efe Serrano (2006), a distribuição das chuvas entre março e junho é um dos fatores que determinam a produção anual de pastagens, principalmente pela sua influência na extensão do ciclo vegetativo. A competição por água costuma ser o principal fator limitante para o crescimento das pastagens, principalmente em regiões sujeitas a secas de verão com altas temperaturas e radiação incidente. As condições mais quentes e secas previstas na região Mediterrânica podem ter impacto na produtividade e qualidade da pastagem (Hidalgo-Galvez *et al.*, 2022). Secas severas geralmente reduzem a produtividade e a qualidade da pastagem porque o déficit hídrico restringe o crescimento e desenvolvimento de novos órgãos, acelera a senescência foliar, altera o teor de fibras e açúcares e realoca diferentes nutrientes e carboidratos das folhas para as raízes, diminuindo assim a digestibilidade da biomassa (Hidalgo-Galvez *et al.*, 2022). No estudo de Hidalgo-Galvez *et al.* (2022) a digestibilidade diminuiu sob temperaturas elevadas, com potenciais consequências negativas para a alimentação animal (menor ingestão nutricional) e para os agricultores (menor qualidade do leite, carne, etc.). As árvores dispersas neste ecossistema podem potencialmente mitigar o impacto das mudanças climáticas na comunidade de plantas herbáceas apesar da redução de produtividade DCA.

6. Conclusão

A produção pecuária extensiva em condições de clima Mediterrânico e solos ácidos requer suplementação alimentar animal durante um período considerável do ano, com custos elevados. Estratégias que possam melhorar a produtividade e qualidade das pastagens nesses períodos críticos e reduzir a dependência da suplementação contribuem para o aumento da margem de lucro dos produtores e para a sustentabilidade ambiental desses ecossistemas.

Neste estudo, a produtividade da pastagem, em termos de MV, e a qualidade da pastagem (expressa em termos de PB) apresentaram valores mais elevados, ainda que não significativos, DCA. A sombra atrasa o ciclo vegetativo da pastagem DCA, mantendo as plantas fisiologicamente mais jovens e beneficiando a família das gramíneas, que estão associadas a indicador da baixa qualidade das pastagens (geralmente de baixo valor nutricional para a alimentação animal). A disponibilidade de PB da pastagem (expressa em kg/ha) revelou-se um indicador prático das contribuições da copa das árvores e da correção da acidez do solo para a gestão holística do ecossistema Montado. Os resultados deste estudo mostram o efeito positivo da aplicação de calcário dolomítico e da copa das árvores na produtividade e na qualidade da pastagem. As árvores espaçadas terão um papel importante na mitigação de efeitos climáticos extremos, nomeadamente na qualidade da pastagem.

A deposição da folhada DCA, a maior disponibilidade de nutrientes e teores mais elevados de MO do solo influenciaram positivamente a atividade microbiana expressa em todos os parâmetros analisados, confirmando a importância da medição desta atividade como indicador sensível a alterações nos teores da MO solo. A maior taxa de colonização micorrízica observada nas plantas que crescem FCA encontra relação com a menor disponibilidade de nutrientes no solo e a dependência das plantas dos seus simbiontes fúngicos para aquisição de nutrientes. Por outro lado, a luz limitada DCA pode levar a que as plantas reduzam o fornecimento de assimilados aos simbiontes como fungos micorrízicos ou rizóbios. Esta atividade microbiana converte os nutrientes em formas assimiláveis e atua ao mesmo tempo na decomposição da MO libertando nutrientes para o crescimento das plantas, verificando-se, por isso, nestas áreas maior fertilidade do solo. O P é um nutriente importante para o estabelecimento e manutenção das pastagens ricas em leguminosas. O teor em P no solo foi significativamente superior DCA, em comparação com as áreas fora do efeito da copa. O aumento da respiração basal do solo na primavera mostra a importância das árvores na manutenção da atividade microbiana do solo em períodos de seca.

Este estudo aborda a composição florística da pastagem como bioindicador do efeito da correção do solo e da copa das árvores. Os resultados mostram que a aplicação de calcário dolomítico não teve influência na composição florística da pastagem, todavia parece

acentuar as diferenças entre as áreas DCA e FCA. Inclusivamente nas áreas não corrigidas a diversidade de espécies botânicas é superior DCA, enquanto nas áreas corrigidas a diversidade é superior FCA. As plantas nitrófilas, que poderão indicar um sobrepastoreio (impedindo a regeneração natural das árvores), tolerantes à sombra estão preferencialmente localizadas DCA, refletindo também o efeito do microclima criado pela copa, das propriedades do solo e da permanência preferencial dos animais nestas zonas de bem-estar e abrigo, o que leva ao aumento dos teores de MO e de alguns nutrientes pela concentração de dejetos. A riqueza de espécies diminui com o aumento da produtividade, pelo menos em pastagens antropogénicas, pelo que monitorizar o equilíbrio entre a produtividade e biodiversidade, representa uma abordagem holística e pode ser uma ferramenta para apoiar o processo de tomada de decisão dos agricultores numa perspetiva económica e ambiental. Apesar da aplicação de calcário dolomítico ter reduzido a diversidade de espécies e famílias DCA as entradas de carbono da rizosfera na comunidade microbiana, resultaram em aumento da atividade microbiana e armazenamento de carbono, sendo importante no futuro o estudo do microbioma para perceber a influência do efeito da copa e da aplicação de calcário dolomítico nas alterações da composição florística do ecossistema Mediterrânico Montado.

Os espectros das amostras do solo obtidos por espectroscopia FT-NIR permitiram discriminar o efeito da copa e da aplicação de calcário dolomítico, que refletiram diferentes atividades microbianas. Esta técnica pode ser vista como uma alternativa viável às análises laboratoriais convencionais para avaliar e monitorizar a qualidade do solo, nomeadamente a sua atividade microbiana. No entanto é necessário desenvolver modelos mais confiáveis, incluindo um maior número de amostras de diferentes tipos de solo.

A maior produtividade e qualidade das pastagens de sequeiro resultante do efeito positivo e simultâneo da aplicação de calcário dolomítico e da copa das árvores dispersas reflete-se numa maior acumulação de MO potenciando o armazenamento de água e o sequestro de C. O potencial de sequestro de C em sistemas que combinam pastagens com árvores aumenta devido às raízes secundárias das árvores, que lentamente acumulam grandes quantidades de C no solo. Por outro lado, esta maior produtividade das pastagens possibilita intensificar a produção pecuária extensiva no ecossistema Mediterrânico Montado através de um aumento sustentável do encabeçamento e da redução do uso de alimentos concentrados.

Os resultados obtidos sugerem que a adoção de uma combinação de árvores e pastagens no ecossistema Mediterrânico Montado pode levar a um aumento da sustentabilidade a longo prazo da fertilidade dos solos, melhorando os níveis de MO,

nutrientes disponíveis e atividade microbiana do solo contribuindo para a biodiversidade, e consequentemente para a resiliência deste ecossistema. O ideal será manter um mosaico de árvores dispersas, porque apesar deste aumento de fertilidade dos solos não se verifica um aumento significativo de produtividade das pastagens DCA, o que estará certamente relacionado com o efeito do sombreamento. Na instalação de pastagens biodiversas será importante a seleção de espécies tolerantes à sombra e manutenção de um espaçamento adequado entre as árvores, reduzindo o efeito do sombreamento na produtividade das pastagens. Este espaçamento é ainda crucial para manter uma pastagem biodiversa rica em leguminosas, pois a redução da intensidade de luz DCA contribui para um aumento da proporção de material vegetal seco e a maior tolerância das gramíneas à sombra leva à predominância destas DCA, reduzindo a qualidade da pastagem. Manter o espaçamento entre árvores permitirá manter uma pastagem de melhor qualidade rica em leguminosas, que contribuirá para fixação do N atmosférico refletindo-se em benefícios económicos. Por último este espaçamento entre árvores é significativo para manter elevadas taxas de colonização micorrízica FCA, beneficiando as leguminosas e o rizóbio por aumentar a disponibilidade de P, crucial para o crescimento das leguminosas e contribuindo para resistir a futuros stresses hídricos em consequência das alterações climáticas.

A correção da acidez do solo com a aplicação de calcário dolomítico não se refletiu num aumento significativo da fertilidade dos solos. No entanto, tendo em conta que os microrganismos possuem a capacidade de resposta rápida a mudanças na qualidade das condições de vida no solo, e verificando-se um aumento significativo da RBS na data 1 e da arilsulfatase na data 2 nas zonas COR, podem esperar-se melhorias futuras das condições físicas e químicas dos solos Mediterrânicos. Desta maneira, poderão revelar o efeito positivo da aplicação de calcário dolomítico, num processo lento e gradual de melhoria dos solos. Relativamente à toxicidade do Mn, ocorreu uma menor presença de *Chamaemelum fuscatum*, espécie indicadora do excesso Mn, na área COR e apenas se verificou a presença de *Rumex bucephalophorus*, planta muito tolerante à toxicidade de Mn na zona NCOR. Na zona FCA com aplicação de calcário dolomítico, verificou-se uma maior presença de leguminosas entre as espécies mais representativas, sendo estas espécies o *Trifolium repens* e *Ornithopus compressus*, com elevado interesse para a alimentação animal.

A estratégia para o aumento da atividade microbiana no ecossistema Mediterrânico Montado a longo prazo passa certamente pelo aumento da MO do solo, tal como se verificou DCA. A biomassa microbiana do solo pode aumentar com a diversidade de plantas devido a uma maior quantidade de recursos de C e de nutrientes disponíveis para os microrganismos,

devido ao aumento de resíduos vegetais acima do solo e à mortalidade de raízes finas abaixo do solo em comunidades de plantas ricas em espécies. Além disso, misturar espécies de pastagens funcionalmente diferentes leva a diversos exsudatos radiculares, que aumentam a diversidade microbiana e sua biomassa. Para melhorar o entendimento do ecossistema Montado deve-se ter em conta como o pastoreio influencia a comunidade microbiana e a sua atividade através da deposição de dejetos, acumulação de resíduos e alteração da composição florística. A curto prazo podem ser estudadas estratégias para o aumento da atividade microbiana do solo como a aplicação de resíduos, biochar e biofertilizantes, tendo sempre em conta o impacto destas práticas no microbioma nativo. No futuro, a prática comum de aplicação de fertilizantes fosfatados nestes solos ácidos da região Mediterrânica para melhorar a produtividade e a qualidade das pastagens deve ser complementada com a aplicação prévia e repetida de calcário dolomítico. Tanto quanto se conhece, este estudo é o primeiro a abordar o tema da atividade microbiana do solo no ecossistema Mediterrânico Montado, demonstrando que a avaliação da qualidade das pastagens, a análise da atividade microbiana do solo e o estudo da composição florística são ferramentas importantes para monitorizar o impacto da adoção de práticas de melhoramento das pastagens.

6. Referências Bibliográficas

- Acosta-Martinez, V., & Tabatabai, M. A. (2000). Enzyme activities in a limed agricultural soil. *Biology and fertility of soils*, 31, 85-91.
<https://doi.org/10.1007/s003740050628>
- Alvarenga, P., Palma, P., Gonçalves, A. P., Baião, N., Fernandes, R. M., De Varennes, A., & Cunha-Queda, A. C. (2008). Assessment of chemical, biochemical and ecotoxicological aspects in a mine soil amended with sludge of either urban or industrial origin. *Chemosphere*, 72(11), 1774–1781.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.04.042>
- Andrade, J., & Basch, G. (2017). Clima e estado do tempo. Fatores e elementos do clima. Classificação do clima. In Guimarães, R. C., Shahidian, S. & Rodrigues, C. M. (Eds.), *Hidrologia Agrícola* (2.^a ed., pp. 215-234). ECT e ICAAM.
- AOAC International (2005). *Official Methods of Analysis of AOAC International*. 18th edition. AOAC International, Arlington, VA, USA.
- Aon, M. A., Cabello, M. N., Sarena, D. E., Colaneri, A. C., Franco, M. G., Burgos, J. L., & Cortassa, S. (2001). I. Spatio-temporal patterns of soil microbial and enzymatic activities in an agricultural soil. *Applied Soil Ecology*, 18(3), 239-254.
[https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(01\)00153-6](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(01)00153-6)
- Araújo, A. S. F., & Monteiro, R. T. R. (2007). Indicadores biológicos de qualidade do solo. *Bioscience Journal*, 23(3), 66-75.
<https://seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/6684>.
- Araújo, E. A., Ker, J. C., Neves, J. C. L., & Lani, J. L. (2012). Qualidade do solo: conceitos, indicadores e avaliação. *Applied Research & Agrotechnology*, 5(1), 187–206.
<https://doi.org/10.5777/paet.v5i1.1658>
- Araújo, S. R., Wetterlind, J., Demattê, J. A. M., & Stenberg, B. (2014). Improving the prediction performance of a large tropical vis-NIR spectroscopic soil library from Brazil by clustering into smaller subsets or use of data mining calibration techniques. *European Journal of Soil Science*, 65(5), 718–729.
<https://doi.org/10.1111/ejss.12165>
- Augé, R. M. (2001). Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza*, 11(1), 3-42.
<https://doi.org/10.1007/s005720100097>
- Avdiu, B., Aliu, S., Fetahu, S., Zeka, D., & Rusinovci, I. (2018). The floristic composition of the natural pastures in massive of Novobërda. *Poljoprivreda i Sumarstvo*, 64(4), 235–241.

- Azul, A. M. D. J. R. (2002). *Diversidade de fungos ectomicorrízicos em ecossistemas de Montado* [Tese de doutoramento]. Universidade de Coimbra.
- Azul, A. M., Sousa, J. P., Agerer, R., Martín, M. P., & Freitas, H. (2010). Land use practices and ectomycorrhizal fungal communities from oak woodlands dominated by *Quercus suber* L. considering drought scenarios. *Mycorrhiza*, 20(2), 73–88.
<https://doi.org/10.1007/s00572-009-0261-2>
- Bago, B., Pfeffer, P. E., & Shachar-Hill, Y. (2000). Carbon metabolism and transport in arbuscular mycorrhizas. *Plant physiology*, 124(3), 949-958.
- Bais, H. P., Weir, T. L., Perry, L. G., Gilroy, S., & Vivanco, J. M. (2006). The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annual review of plant biology*, 57(1), 233-266.
- Bandick, A. K., & Dick, R. P. (1999). Field management effects on soil enzyme activities. *Soil biology and biochemistry*, 31(11), 1471-1479.
[https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(99\)00051-6](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(99)00051-6)
- Barrento, M. J. H. (2012). *Influence of soil parameters on ectomycorrhizal diversity in montado ecosystems* [Tese de doutoramento]. Universidade Técnica de Lisboa.
- Barros, J., Freixial, R. (2012). *Pastagens*. Universidade de Évora, Departamento de Fitotecnia. Évora.
- Barto, E. K., & Rillig, M. C. (2010). Does herbivory really suppress mycorrhiza? A meta-analysis. *Journal of Ecology*, 98(4), 745-753.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2010.01658.x>
- Bastida, F., López-Mondéjar, R., Baldrian, P., Andrés-Abellán, M., Jehmlich, N., Torres, I. F., & López-Serrano, F. R. (2019). When drought meets forest management: Effects on the soil microbial community of a Holm oak forest ecosystem. *Science of the total environment*, 662, 276-286.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.01.233>
- Baum, C., Leinweber, P., & Schlichting, A. (2003). Effects of chemical conditions in rewetted peats on temporal variation in microbial biomass and acid phosphatase activity within the growing season. *Applied Soil Ecology*, 22(2), 167-174.
[https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(02\)00129-4](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(02)00129-4)
- Bayala, J., Sanou, J., Teklehaimanot, Z., Kalinganire, A., & Ouédraogo, S. J. (2014). Parklands for buffering climate risk and sustaining agricultural production in the Sahel of West Africa. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, 6, 28-34.
<https://doi.org/10.1016/j.cosust.2013.10.004>

- Becard, G., Taylor, L. P., Douds, D. D., Pfeffer, P. E., & Doner, L. W. (1995). Flavonoids are not necessary plant signal compounds in arbuscular mycorrhizal symbioses. *MPMI-Molecular Plant Microbe Interactions*, 8(2), 252-258.
- Bell, M. J., Mereu, L., & Davis, J. (2018). The use of mobile near-infrared spectroscopy for real-time pasture management. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 2, 76.
<https://doi.org/10.3389/fsufs.2018.00076>
- Benavides, R., Douglas, G. B., & Osoro, K. (2009). Silvopastoralism in New Zealand: review of effects of evergreen and deciduous trees on pasture dynamics. *Agroforest Syst*, 76, 327–350.
<https://doi.org/10.1007/s10457-008-9186-6>
- Benitez, E., Melgar, R., Sainz, H., Gomez, M., & Nogales, R. (2000). Enzyme activities in the rhizosphere of pepper (*Capsicum annuum*, L.) grown with olive cake mulches. *Soil Biology and Biochemistry*, 32(13), 1829-1835.
[https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(00\)00156-5](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(00)00156-5)
- Barbara, R. L., Souza, F. A., & Fonseca, H. M. A. C. (2006). III-Fungos micorrízicos arbusculares: muito além da nutrição. *Nutrição mineral de plantas*, 74-85.
- Bird, S. B., Herrick, J. E., Wander, M. M., & Wright, S. F. (2002). Spatial heterogeneity of aggregate stability and soil carbon in semi-arid rangeland. *Environmental Pollution*, 116(3), 445-455.
[https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(01\)00222-6](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(01)00222-6)
- Böhme, L., Langer, U., & Böhme, F. (2005). Microbial biomass, enzyme activities and microbial community structure in two European long-term field experiments. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 109(1-2), 141-152.
<https://doi.org/10.1016/j.agee.2005.01.017>
- Bonfante-Fasolo, P., 1984. Anatomy and morphology of VA mycorrhizae, in: Powell, C.L., Bagyaraj, D.J. (Eds.), *VA Mycorrhizae*. (1.^a ed., pp. 5-33). CRC press.
- Bot, A., & Benites, J. (2005). *The Importance of Soil Organic Matter - Key to drought-resistant soil and sustained food production*. Food and Agriculture Organization for the United Nations.
<http://www.fao.org/3/a0100e/a0100e00.htm#Contents>
- Brito, I. (2008). Potential Value of Arbuscular Mycorrhiza in the Agricultural Systems of Alentejo Region - Portugal. [Tese de doutoramento]. Universidade de Évora.
- Brito, I., Carvalho, M., & Goss, M. J. (2013). Soil and weed management for enhancing arbuscular mycorrhiza colonization of wheat. *Soil use and Management*, 29(4), 540-

546.

<https://doi.org/10.1111/sum.12069>

- Brito, I., Carvalho, M., Alho, L., & Goss, M. J. (2014). Managing arbuscular mycorrhizal fungi for bioprotection: Mn toxicity. *Soil Biology and Biochemistry*, 68, 78–84. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.09.018>
- Brito, I., De Carvalho, M., & Goss, M. J. (2011). Summer survival of arbuscular mycorrhiza extraradical mycelium and the potential for its management through tillage options in Mediterranean cropping systems. *Soil Use and Management*, 27(3), 350-356. <https://doi.org/10.1111/j.1475-2743.2011.00350.x>
- Brito, I., Goss, M. J., & De Carvalho, M. (2012). Effect of tillage and crop on arbuscular mycorrhiza colonization of winter wheat and triticale under Mediterranean conditions. *Soil use and management*, 28(2), 202-208. <https://doi.org/10.1111/j.1475-2743.2012.00404.x>
- Brito, I., Goss, M. J., Alho, L., Brígido, C., van Tuinen, D., Félix, M. R., & Carvalho, M. (2019). Agronomic management of AMF functional diversity to overcome biotic and abiotic stresses-The role of plant sequence and intact extraradical mycelium. *Fungal Ecology*, 40, 72-81. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2018.06.001>
- Brodský, L., Vašát, R., Klement, A., Zádorová, T., & Jakšík, O. (2013). Uncertainty propagation in VNIR reflectance spectroscopy soil organic carbon mapping. *Geoderma*, 199, 54-63. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2012.11.006>
- Caradus, J., Roldan, M., Voisey, C., & Woodfield, D. (2023). White Clover (*Trifolium repens* L.) Benefits in Grazed Pastures and Potential Improvements. In Hasanuzzaman, M. (Ed.), *Production and Utilization of Legumes - Progress and Prospects* (Ch. 1). IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.109625>
- Cardoso, E. J. B. N., & Andreote, F. D. (2016). *Microbiologia do solo* (2.^a ed). Piracicaba/SP: ESALQ.
- Cardoso, E. J. B. N., Navarro, R. B., & Nogueira, M. A. (2003). Absorção e translocação de manganês por plantas de soja micorrizadas, sob doses crescentes deste nutriente. *Revista brasileira de ciência do solo*, 27, 415-423.
- Carranca, C., Castro, I. V., Figueiredo, N., Redondo, R., Rodrigues, A. R. F., Saraiva, I., & Madeira, M. A. V. (2015). Influence of tree canopy on N₂ fixation by pasture

- legumes and soil rhizobial abundance in Mediterranean oak woodlands. *Science of the Total Environment*, 506, 86-94.
- Carreira, E., Serrano, J., Gomes, C. J. P., Shahidian, S., Paniagua, L. L., Pilirito, A., & Pereira, A. F. (2022). Effect of Sheep Grazing, Stocking Rates and Dolomitic Limestone Application on the Floristic Composition of a Permanent Dryland Pasture, in the *Montado* Agroforestry System of Southern Portugal. *Animals*, 12(19), 2506. <https://doi.org/10.3390/ani12192506>
- Carvalho, D. J. V. M. D. (2015a). *Diversidade funcional de fungos micorrízicos nativos na proteção do trigo contra a toxicidade de Mn* [Dissertação de mestrado]. Universidade de Évora.
- Carvalho, M. (2001). Importância da sombra natural em pastagens cultivadas. *Embrapa Gado de Leite*, 24.
- Carvalho, M. (2018) O papel da pastagem na recuperação do solo no montado. *Pastagens e Forragens*, 35/38, 1-21. <http://hdl.handle.net/10174/23845>
- Carvalho, M., Goss, M., & Teixeira, D. (2015b). Manganese toxicity in Portuguese Cambisols derived from granite: causes, limitations of soil analyses and possible solutions. *Revista de Ciências Agrárias*, 38, 518-527. <http://hdl.handle.net/10174/18708>
- Casida Jr, L. E., Klein, D. A., & Santoro, T. (1964). Soil dehydrogenase activity. *Soil science*, 98(6), 371-376.
- Castanheira, N., Dourado, A. C., Alves, P. I., Cortes-Pallero, A. M., Delgado-Rodriguez, A. I., Prazeres, A., & Fareleira, P. (2014). Annual ryegrass-associated bacteria with potential for plant growth promotion. *Microbiological Research*, 169(9-10), 768-779. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.12.010>
- Castro, I. V., & Fareleira, P. (2017). Papel dos microrganismos do solo na recuperação de solos degradados. Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária-INIAV, IP. *Vida rural*, 40-42.
- Catania, V., Bueno, R. S., Alduina, R., Grilli, E., La Mantia, T., Castaldi, S., & Quatrini, P. (2022). Soil microbial biomass and bacterial diversity in Southern European regions vulnerable to desertification. *Ecological Indicators*, 145, 109725. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2022.109725>

- Chander, K., Goyal, S., Nandal, D. P., & Kapoor, K. K. (1998). Soil organic matter, microbial biomass and enzyme activities in a tropical agroforestry system. *Biology and fertility of soils*, 27, 168-172.
<https://doi.org/10.1007/s003740050416>
- Chang, C. W., Laird, D. A., Mausbach, M. J., & Hurburgh, C. R. (2001). Near-infrared reflectance spectroscopy–principal components regression analyses of soil properties. *Soil Science Society of America Journal*, 65(2), 480-490.
<https://doi.org/10.2136/sssaj2001.652480x>
- Chen, S. K., Edwards, C. A., & Subler, S. (2003). The influence of two agricultural biostimulants on nitrogen transformations, microbial activity, and plant growth in soil microcosms. *Soil Biology and Biochemistry*, 35(1), 9-19.
[https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(02\)00209-2](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(02)00209-2)
- Comino, F., Aranda, V., García-Ruiz, R., Ayora-Cañada, M. J., & Domínguez-Vidal, A. (2018). Infrared spectroscopy as a tool for the assessment of soil biological quality in agricultural soils under contrasting management practices. *Ecological Indicators*, 87, 117-126.
<https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2017.12.046>
- Conant, R. T., Dalla-Betta, P., Klopatek, C. C., & Klopatek, J. M. (2004). Controls on soil respiration in semiarid soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 36(6), 945-951.
<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2004.02.013>
- Conceição, T. A., Andrade, G., & Brito, I. (2022). Influence of Intact Mycelium of Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Soil Microbiome Functional Profile in Wheat under Mn Stress. *Plants*, 11(19), 2598.
<https://doi.org/10.3390/plants11192598>
- Costa, D., Freitas, H., & Sousa, J. P. (2013). Influence of seasons and land-use practices on soil microbial activity and metabolic diversity in the “*Montado* ecosystem”. *European journal of soil biology*, 59, 22-30.
<https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2013.08.003>
- Courty, P. E., Franc, A., Pierrat, J. C., & Garbaye, J. (2008). Alterações temporais na comunidade ectomicorrízica em dois horizontes de solo de uma floresta temperada de carvalhos. *Applied and Environmental Microbiology*, 74 (18), 5792-5801.
- Crusciol, C. A., Marques, R. R., Carneis Filho, A. C., Soratto, R. P., Costa, C. H., Ferrari Neto, J., & Franzluebbers, A. J. (2019). Lime and gypsum combination improves crop and forage yields and estimated meat production and revenue in a variable

- charge tropical soil. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 115(3), 347-372.
<https://doi.org/10.1007/s10705-019-10017-0>
- Curiel Yuste, J., Janssens, I. A., Carrara, A., & Ceulemans, R. (2004). Annual Q10 of soil respiration reflects plant phenological patterns as well as temperature sensitivity. *Global Change Biology*, 10(2), 161-169.
<https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2003.00727.x>
- Dacal, M., Delgado-Baquerizo, M., Barquero, J., Berhe, A. A., Gallardo, A., Maestre, F. T., & García-Palacios, P. (2022). Temperature increases soil respiration across ecosystem types and soil development, but soil properties determine the magnitude of this effect. *Ecosystems*, 25(1), 184-198.
<https://doi.org/10.1007/s10021-021-00648-2>
- Davidson, E. A., Janssens, I. A., & Luo, Y. (2006). On the variability of respiration in terrestrial ecosystems: moving beyond Q10. *Global change biology*, 12(2), 154-164.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2005.01065.x>
- Davies Jr, F. T., Olalde-Portugal, V., Aguilera-Gomez, L., Alvarado, M. J., Ferrera-Cerrato, R. C., & Boutton, T. W. (2002). Alleviation of drought stress of Chile ancho pepper (*Capsicum annum* L. cv. San Luis) with arbuscular mycorrhiza indigenous to Mexico. *Scientia Horticulturae*, 92(3-4), 347-359.
[https://doi.org/10.1016/S0304-4238\(01\)00293-X](https://doi.org/10.1016/S0304-4238(01)00293-X)
- Decaëns, T., Jiménez, J. J., Gioia, C., Measey, G. J., & Lavelle, P. (2006). The values of soil animals for conservation biology. *European Journal of Soil Biology*, 42, S23-S38.
<https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2006.07.001>
- Deepika, S., & Kothamasi, D. (2015). Soil moisture—a regulator of arbuscular mycorrhizal fungal community assembly and symbiotic phosphorus uptake. *Mycorrhiza*, 25(1), 67-75.
<https://doi.org/10.1007/s00572-014-0596-1>
- Dhungana, I., Kantar, M. B., & Nguyen, N. H. (2023). Root exudate composition from different plant species influences the growth of rhizosphere bacteria. *Rhizosphere*, 25, 100645.
<https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2022.100645>
- Dias, C. R. M. (2015). *Caracterização de forragens da ilha Terceira através de espectroscopia NIR* [Tese de doutoramento]. Universidade dos Açores.

- Díaz-Ambrona, C. G. H. (1998). *Ecología y Fisiología de la dehesa. La Dehesa- Aprovechamiento sostenible de los recursos naturales- Jornadas de Agronomía (1.ª, pp. 86)*. Editorial Agrícola Española.
- Dickie, I. A., Guza, R. C., Krazewski, S. E., & Reich, P. B. (2004). Shared ectomycorrhizal fungi between a herbaceous perennial (*Helianthemum bicknellii*) and oak (*Quercus*) seedlings. *New Phytologist*, *164*(2), 375-382.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.01177.x>
- Doblas-Rodrigo, Á., Gallejones, P., Artetxe, A., Rosa, E., del Hierro, Ó., & Merino, P. (2022). Grassland contribution to soil organic carbon stock under climate change scenarios in Basque Country (Spain). *Regional Environmental Change*, *22*(1), 34.
- Dodor, D. E., & Tabatabai, M. A. (2003). Effect of cropping systems on phosphatases in soils. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, *166*(1), 7-13.
<https://doi.org/10.1002/jpln.200390016>
- Doetterl, S., Stevens, A., Van Oost, K., & Van Wesemael, B. (2013). Soil organic carbon assessment at high vertical resolution using closed-tube sampling and Vis-NIR spectroscopy. *Soil Science Society of America Journal*, *77*(4), 1430-1435.
<https://doi.org/10.2136/sssaj2012.0410n>
- Dudinszky, N., Cabello, M. N., Grimoldi, A. A., Schalamuk, S., & Golluscio, R. A. (2019). Role of grazing intensity on shaping arbuscular mycorrhizal fungi communities in Patagonian semiarid steppes. *Rangeland Ecology & Management*, *72*(4), 692-699.
<https://doi.org/10.1016/j.rama.2019.02.007>
- Efe Serrano, J. (2006). *Pastagens do Alentejo: bases técnicas sobre caracterização, pastoreio e melhoramento* (pp.165-178). Universidade de Évora-ICAAM.
- Esteves, L. R. P. (2013). *A Importância das Pastagens na Conservação de Solos—o Caso de Mértola* [Tese de doutoramento]. Faculdade de Ciências Sociais e Humanas, Universidade Nova de Lisboa.
<http://hdl.handle.net/10362/10704>
- Evangelou, E., Tsadilas, C., & Giourga, C. (2020). Seasonal Variation of Soil Microbial Biomass Carbon and Nitrogen as Affected by Land Use in a Mediterranean Agro Ecosystem. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, *52*(3), 222-234.
<https://doi.org/10.1080/00103624.2020.1854298>
- Evans, D. G., & Miller, M. H. (1988). Vesicular–arbuscular mycorrhizas and the soil-disturbance-induced reduction of nutrient absorption in maize: I. Causal relations. *New Phytologist*, *110*(1), 67-74.

- Fang, C., Smith, P., Moncrieff, J. B., & Smith, J. U. (2005). Similar response of labile and resistant soil organic matter pools to changes in temperature. *Nature*, 433(7021), 57-59.
<https://doi.org/10.1038/nature03138>
- Faria, J. M., Teixeira, D. M., Pinto, A. P., Brito, I., Barrulas, P., & Carvalho, M. (2021). The protective biochemical properties of arbuscular mycorrhiza extraradical mycelium in acidic soils are maintained throughout the mediterranean summer conditions. *Agronomy*, 11(4), 748.
<https://doi.org/10.3390/agronomy11040748>
- Fonseca, A., (2004). *O Montado no Alentejo (Século XV a XVIII)*. Edições Colibri.
- Fontaine, S., Mariotti, A., & Abbadie, L. (2003). The priming effect of organic matter: a question of microbial competition? *Soil Biology and Biochemistry*, 35(6), 837-843.
[https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(03\)00123-8](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(03)00123-8)
- Frank, A. B., Tanaka, D. L., Hofmann, L., & Follett, R. F. (1995). Soil carbon and nitrogen of Northern Great Plains grasslands as influenced by long-term grazing. *Rangeland Ecology & Management/Journal of Range Management Archives*, 48(5), 470-474.
- Freitas, M. S. M., Martins, M. A., & de Carvalho, A. J. C. (2006). Crescimento e composição mineral da menta em resposta à inoculação com fungos micorrízicos arbusculares e adubação fosfatada. *Horticultura Brasileira*, 24, 11-16.
- Freixial, R. (2018). As Pastagens de Sequeiro são a Base Para a Produção Pecuária Sustentável. *Pastagens e Forragens*, 35/38, 61-80.
<http://hdl.handle.net/10174/27377>
- Freixial, R., & Carvalho, M. (2013, abril). A agricultura de conservação e a sementeira directa em pastagens. *Vida rural*, 32-34.
- Friedel, J. K., Mölter, K., & Fischer, W. R. (1994). Comparison and improvement of methods for determining soil dehydrogenase activity by using triphenyltetrazolium chloride and idonitrotetrazolium chloride. *Biology and fertility of soils*, 18, 291-296.
<https://doi.org/10.1007/BF00570631>
- Furtak, K., & Gajda, A. M. (2017). Activity of dehydrogenases as an indicator of soil environment quality. *Polish Journal of Soil Science*, 50(1), 33.
<http://dx.doi.org/10.17951/pjss.2017.50.1.33>

- Gama-Rodrigues, E. D., & Gama-Rodrigues, A. D. (1999). Biomassa microbiana e ciclagem de nutrientes. *Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais*. Porto Alegre: Gênese, 227-243.
- Garcia, C., Hernandez, T., & Costa, F. (1994). Microbial activity in soils under Mediterranean environmental conditions. *Soil Biology and Biochemistry*, 26(9), 1185-1191.
[https://doi.org/10.1016/0038-0717\(94\)90142-2](https://doi.org/10.1016/0038-0717(94)90142-2)
- Garcia, C., Hernandez, T., Roldan, A., & Martin, A. (2002). Effect of plant cover decline on chemical and microbiological parameters under Mediterranean climate. *Soil Biology and Biochemistry*, 34(5), 635-642.
[https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(01\)00225-5](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(01)00225-5)
- García, I. V., & Mendoza, R. E. (2008). Relationships among soil properties, plant nutrition and arbuscular mycorrhizal fungi–plant symbioses in a temperate grassland along hydrologic, saline and sodic gradients. *FEMS Microbiology Ecology*, 63(3), 359-371.
<https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2008.00441.x>
- García-Orenes, F., Guerrero, C., Roldán, A., Mataix-Solera, J., Cerdà, A., Campoy, M., & Caravaca, F. (2010). Soil microbial biomass and activity under different agricultural management systems in a semiarid Mediterranean agroecosystem. *Soil and Tillage Research*, 109(2), 110-115.
- Giacometti, C., Demyan, M. S., Cavani, L., Marzadori, C., Ciavatta, C., & Kandeler, E. (2013). Chemical and microbiological soil quality indicators and their potential to differentiate fertilization regimes in temperate agroecosystems. *Applied Soil Ecology*, 64, 32-48.
<https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2012.10.002>
- Gianinnazzi-Pearson, V., Dumas-Gaudot, E.; Gollotte, A.; Tahiri-Aloui, A.; Gianinnazzi, S., (1996). Cellular and molecular defence-related root responses to invasion by arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 133(1), 45-57.
- Gil-Sotres, F., Trasar-Cepeda, C., Leirós, M. C., & Seoane, S. (2005). Different approaches to evaluating soil quality using biochemical properties. *Soil biology and biochemistry*, 37(5), 877-887.
<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2004.10.003>
- Gómez-Rey, M. X., Garcês, A., & Madeira, M. (2012). Soil organic-C accumulation and N availability under improved pastures established in Mediterranean oak

- woodlands. *Soil Use and Management*, 28(4), 497-507.
<https://doi.org/10.1111/j.1475-2743.2012.00428.x>
- Goss, M. J., & Carvalho, M. J. G. P. R. (1992). Manganese toxicity: the significance of magnesium for the sensitivity of wheat plants. *Plant and Soil*, 139(1), 91-98.
- Goss, M. J., Carvalho, M. J. G. P. R., Cosimini, V., & Fearnhead, M. L. (1992). An approach to the identification of potentially toxic concentrations of manganese in soils. *Soil use and management*, 8(1), 40-43.
- Goss, M. J., Carvalho, M., & Brito, I. (2017). *Functional diversity of mycorrhiza and sustainable agriculture: Management to overcome biotic and abiotic stresses* (1.^aed). Academic Press/Elsevier.
<http://hdl.handle.net/10174/21473>
- Guevara-Escobar, A., Kemp, P. D., Mackay, A. D., & Hodgson, J. (2007). Pasture production and composition under poplar in a hill environment in New Zealand. *Agroforestry Systems*, 69(3), 199-213.
<https://doi.org/10.1007/s10457-007-9038-9>
- Hacker, N., Ebeling, A., Gessler, A., Gleixner, G., González Macé, O., de Kroon, H., & Oelmann, Y. (2015). Plant diversity shapes microbe-rhizosphere effects on P mobilisation from organic matter in soil. *Ecology Letters*, 18(12), 1356-1365.
- Halim, N. S. A., Abdullah, R., Karsani, S. A., Osman, N., Panhwar, Q. A., & Ishak, C. F. (2018). Influence of soil amendments on the growth and yield of rice in acidic soil. *Agronomy*, 8(9), 165.
<https://doi.org/10.3390/agronomy8090165>
- Harley, J. L., & Harley, E. L. (1987). A check-list of mycorrhiza in the British flora. *The New Phytologist*, 105(2), 1-102.
<http://www.jstor.org/stable/2432916>
- Hartemink, A. E., Janssen, B. H., Buresh, R. J., & Jama, B. (1996). Soil nitrate and water dynamics in Sesbania fallows, weed fallows, and maize. *Soil Science Society of America Journal*, 60(2), 568-574.
<https://doi.org/10.2136/sssaj1996.03615995006000020033x>
- Hempel, S., Götzenberger, L., Kühn, I., Michalski, S. G., Rillig, M. C., Zobel, M., & Moora, M. (2013). Mycorrhizas in the Central European flora: relationships with plant life history traits and ecology. *Ecology*, 94(6), 1389-1399.
- Hidalgo-Galvez, M. D., Barkaoui, K., Volaire, F., Matías, L., Cambrollé, J., Fernández-Rebollo, P., & Pérez-Ramos, I. M. (2022). Can trees buffer the impact of climate

- change on pasture production and digestibility of Mediterranean dehesas? *Science of The Total Environment*, 835, 155535.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.155535>
- Hussain, Z., Kemp, P. D., Horne, D. J., & Jaya, I. K. D. (2009). Pasture production under densely planted young willow and poplar in a silvopastoral system. *Agroforestry systems*, 76, 351-362.
<https://doi.org/10.1007/s10457-008-9195-5>
- INE, I. P. (Instituto Nacional de Estatística), (2022, julho 16). *Recenseamento Agrícola – 2019*.
https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_publicacoes&PUBLICACOESpub_boui=437178558&PUBLICACOESmodo=2
- International Organization for Standardization. (2018). *Soil quality - measurement of enzyme activity patterns in soil samples using colorimetric substrates in micro-well plates (ISO 20130:2018) * (1.ª ed)*. ISO.
- IPMA, I. P. Instituto Português do Mar e da Atmosfera. (2022a, agosto 15). *Boletim Climatológico, Inverno 2022*.
<https://www.ipma.pt/pt/publicacoes/boletins.jsp?cmbDep=cli&cmbTema=pcl&idDep=cli&idTema=pcl&curAno=-1>
- IPMA, I. P. Instituto Português do Mar e da Atmosfera. (2022b, agosto 15). *Boletim Climatológico, Primavera 2022*.
<https://www.ipma.pt/pt/publicacoes/boletins.jsp?cmbDep=cli&cmbTema=pcl&idDep=cli&idTema=pcl&curAno=-1>
- Janos, D. P. (2007). Plant responsiveness to mycorrhizas differs from dependence upon mycorrhizas. *Mycorrhiza*, 17(2), 75-91.
<https://doi.org/10.1007/s00572-006-0094-1>
- Jastrow, J. D., Miller, R. M., & Lussenhop, J. (1998). Contributions of interacting biological mechanisms to soil aggregate stabilization in restored prairie. *Soil Biology and Biochemistry*, 30(7), 905-916.
- Joergensen, R. G. (1996). The fumigation-extraction method to estimate soil microbial biomass: Calibration of the kEC value. *Soil Biology and Biochemistry*, 28(1), 25–31.
[https://doi.org/10.1016/0038-0717\(95\)00102-6](https://doi.org/10.1016/0038-0717(95)00102-6)
- Jongen, M., Albadran, B., Beyschlag, W., & Unger, S. (2022). Can arbuscular mycorrhizal fungi mitigate drought stress in annual pasture legumes? *Plant and Soil*, 472(1-2),

295-310.

<https://doi.org/10.1007/s11104-021-05233-z>

- Jongen, M., Unger, S., Fangueiro, D., Cerasoli, S., Silva, J. M., & Pereira, J. S. (2013). Resilience of *montado* understorey to experimental precipitation variability fails under severe natural drought. *Agriculture, ecosystems & environment*, *178*, 18-30.
- Jordan, D., Kremer, R. J., Bergfield, W. A., Kim, K. Y., & Cacnio, V. N. (1995). Evaluation of microbial methods as potential indicators of soil quality in historical agricultural fields. *Biology and Fertility of Soils*, *19*(4), 297-302.
<https://doi.org/10.1007/BF00336098>
- Kai, M., Takazumi, K., Adachi, H., Wasaki, J., Shinano, T., & Osaki, M. (2002). Cloning and characterization of four phosphate transporter cDNAs in tobacco. *Plant Science*, *163*(4), 837-846.
[https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(02\)00233-9](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(02)00233-9)
- Kanchikerimath, M., & Singh, D. (2001). Soil organic matter and biological properties after 26 years of maize–wheat–cowpea cropping as affected by manure and fertilization in a Cambisol in semiarid region of India. *Agriculture, ecosystems & environment*, *86*(2), 155-162.
[https://doi.org/10.1016/S0167-8809\(00\)00280-2](https://doi.org/10.1016/S0167-8809(00)00280-2)
- Kieft, T. L. (1994). Grazing and plant-canopy effects on semiarid soil microbial biomass and respiration. *Biology and Fertility of Soils*, *18*(2), 155-162.
<https://doi.org/10.1007/BF00336463>
- Koné, A. W., Tondoh, J. E., Bernhard-Reversat, F., Loranger-Merciris, G., Brunet, D., & Tano, Y. (2008). Changes in soil biological quality under legume-and maize-based farming systems in a humid savanna zone of côte d'ivoire. *Biotechnology, Agronomy and Society and Environment*, *12*(2), 147–155.
- Konvalinková, T., & Jansa, J. (2016). Lights off for arbuscular mycorrhiza: on its symbiotic functioning under light deprivation. *Frontiers in Plant Science*, *7*, 782.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00782>
- Lal, R. (2015). Restoring soil quality to mitigate soil degradation. *Sustainability*, *7*(5), 5875-5895.
<https://doi.org/10.3390/su7055875>
- Lehmann, J., Weigl, D., Droppelmann, K., Huwe, B., & Zech, W. (1998). Nutrient cycling in an agroforestry system with runoff irrigation in Northern Kenya. *Agroforestry*

- systems*, 43(1), 49-70.
<https://doi.org/10.1023/A:1026447119829>
- Leite, L. F. C., & Araújo, A. S. F. (2007). *Ecologia microbiana do solo*. Embrapa Meio-Norte.
- Linn, D. M., & Doran, J. W. (1984). Effect of water-filled pore space on carbon dioxide and nitrous oxide production in tilled and nontilled soils. *Soil Science Society of America Journal*, 48(6), 1267-1272.
<https://doi.org/10.2136/sssaj1984.03615995004800060013x>
- Liu, D., Huang, Y., An, S., Sun, H., Bhople, P., & Chen, Z. (2018). Soil physicochemical and microbial characteristics of contrasting land-use types along soil depth gradients. *Catena*, 162, 345-353.
<https://doi.org/10.1016/j.catena.2017.10.028>
- Liu, M., Gan, B., Li, Q., Xiao, W., & Song, X. (2022). Effects of nitrogen and phosphorus addition on soil extracellular enzyme activity and stoichiometry in Chinese fir (*Cunninghamia lanceolata*) forests. *Frontiers in Plant Science*, 13.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2022.834184>
- Liu, S., Shen, H., Chen, S., Zhao, X., Biswas, A., Jia, X., & Fang, J. (2019). Estimating forest soil organic carbon content using vis-NIR spectroscopy: Implications for large-scale soil carbon spectroscopic assessment. *Geoderma*, 348, 37-44.
<https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2019.04.003>
- Liu, W., Xu, W., Hong, J., & Wan, S. (2010). Interannual variability of soil microbial biomass and respiration in responses to topography, annual burning and N addition in a semiarid temperate steppe. *Geoderma*, 158(3-4), 259-267.
<https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2010.05.004>
- Lopes, A. A. D. C. (2012). *Interpretação de indicadores microbiológicos em função da matéria orgânica do solo e dos rendimentos de soja e milho* [Dissertação de mestrado]. Universidade de Brasília.
<https://repositorio.unb.br/handle/10482/11204>
- Lugassi, R., Chudnovsky, A., Zaady, E., Dvash, L., & Goldshleger, N. (2014). Spectral slope as an indicator of pasture quality. *Remote Sensing*, 7(1), 256-274.
<https://doi.org/10.3390/rs70100256>
- Magalhães, D. F. (2014). *Aplicações da espectroscopia de infravermelho próximo na monitorização de processos farmacêuticos* [Tese de doutoramento]. Universidade de Lisboa.

- Mahmoudi, N., Dias, T., Mahdhi, M., Cruz, C., Mars, M., & Caeiro, M. F. (2020). Does arbuscular mycorrhiza determine soil microbial functionality in nutrient-limited Mediterranean arid ecosystems? *Diversity*, *12*(6), 234.
<https://doi.org/10.3390/d12060234>
- Makoi, J. H., & Ndakidemi, P. A. (2008). Selected soil enzymes: examples of their potential roles in the ecosystem. *African Journal of Biotechnology*, *7*(3).
- Makoi, J. H., Chimphango, S. B., & Dakora, F. D. (2010). Elevated levels of acid and alkaline phosphatase activity in roots and rhizosphere of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) genotypes grown in mixed culture and at different densities with sorghum (*Sorghum bicolor* L.). *Crop and Pasture Science*, *61*(4), 279-286.
<https://doi.org/10.1071/CP09212>
- Malavolta, E. (2006). *Manual de nutrição mineral de plantas* (1.^a ed.). Agronômica Ceres.
- Marañón-Jiménez, S., Asensio, D., Sardans, J., Zuccarini, P., Ogaya, R., Mattana, S., & Peñuelas, J. (2022). Seasonal drought in Mediterranean soils mainly changes microbial C and N contents whereas chronic drought mainly impairs the capacity of microbes to retain P. *Soil Biology and Biochemistry*, *165*, 108515.
<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2021.108515>
- Marcos, G. M., Obrador, J. J., García, E., Cubera, E., Montero, M. J., Pulido, F., & Dupraz, C. (2007). Driving competitive and facilitative interactions in oak dehesas through management practices. *Agroforestry systems*, *70*, 25-40.
<https://doi.org/10.1007/s10457-007-9036-y>
- Mariscal-Sancho, I., Santano, J., Mendiola, M. Á., Peregrina, F., & Espejo, R. (2010). Carbon dioxide emission rates and β -glucosidase activity in Mediterranean Ultisols under different soil management. *Soil science*, *175*(9), 453-460.
- Marques, T., Vasconcellos, C. A., Filho, I. P., França, G. E., & Cruz, J. C. (2000). Evolvimento de dióxido de carbono e mineralização de nitrogênio em Latossolo Vermelho-Escuro com diferentes manejos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, *35*, 581-589.
<https://doi.org/10.1590/S0100-204X2000000300014>
- Martins, A. P., Cecagno, D., Borin, J. B. M., Arnuti, F., Lochmann, S. H., Anghinoni, I., & Carvalho, P. C. F. (2016). Long-, medium- and short-term dynamics of soil acidity in an integrated crop–livestock system under different grazing intensities. *Nutrient cycling in agroecosystems*, *104*(1), 67-77.
<https://doi.org/10.1007/s10705-015-9759-5>

- Martins, M. F. P. (2020). *Avaliação do efeito da correção da acidez do solo na produtividade e qualidade de uma pastagem sob montado* [Dissertação de mestrado]. Universidade de Évora.
<http://hdl.handle.net/10174/27758>
- Maseko, S. T., & Dakora, F. D. (2013). Rhizosphere acid and alkaline phosphatase activity as a marker of P nutrition in nodulated *Cyclopia* and *Aspalathus* species in the Cape fynbos of South Africa. *South African journal of botany*, 89, 289-295.
<https://doi.org/10.1016/j.sajb.2013.06.023>
- McCaskill, M. R., Mitchell, M. L., Zollinger, R., Armstrong, R. D., & Partington, D. (2019). Dry matter and nutritive value responses of native, naturalised and sown pasture species to soil Olsen P. *Crop and Pasture Science*, 70(12), 1097-1109.
- McGonigle, T. P., Miller, M. H., Evans, D. G., Fairchild, G. L., & Swan, J. A. (1990). A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular—arbuscular mycorrhizal fungi. *New phytologist*, 115(3), 495-501.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1990.tb00476.x>
- Mendoza, R., Cabello, M., Anchorena, J., García, I., & Marbán, L. (2011). Soil parameters and host plants associated with arbuscular mycorrhizae in the grazed Magellanic steppe of Tierra del Fuego. *Agriculture, ecosystems & environment*, 140(3-4), 411-418.
<https://doi.org/10.1016/j.agee.2011.01.004>
- Merino, C., Godoy, R., & Matus, F. (2016). Soil enzymes and biological activity at different levels of organic matter stability. *Journal of soil science and plant nutrition*, 16(1), 14-30.
<http://dx.doi.org/10.4067/S0718-95162016005000002>
- Mielnick, P. C., & Dugas, W. A. (2000). Soil CO₂ flux in a tallgrass prairie. *Soil biology and biochemistry*, 32(2), 221-228.
[https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(99\)00150-9](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(99)00150-9)
- Millaleo, R., Reyes-Díaz, M., Ivanov, A. G., Mora, M. L., & Alberdi, M. (2010). Manganese as essential and toxic element for plants: transport, accumulation and resistance mechanisms. *Journal of soil science and plant nutrition*, 10(4), 470-481.
<https://doi.org/10.4067/s0718-95162010000200008>
- Morais, T. G., Tufik, C., Rato, A. E., Rodrigues, N. R., Gama, I., Jongen, M., & Teixeira, R. F. (2021). Estimating soil organic carbon of sown biodiverse permanent pastures in Portugal using near infrared spectral data and artificial neural

- networks. *Geoderma*, 404, 115387.
<https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2021.115387>
- Moreira, F. D. S., & Siqueira, J. O. (2006). *Microbiologia e bioquímica do solo* (2.^a ed.). UFLA.
- Moreira, N. (2002). *Agronomia das forragens e pastagens* (1st ed.). Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro.
- Moreno, G., Bartolome, J.W., Gea-Izquierdo, G., & Cañellas, I. (2013) Overstory–understorey relationships. In Campos, P., Huntsinger, L., Oviedo, J.L., Starrs, P.F., Diaz, M., Standiford, R.B., & Montero, G. (Eds.), *Mediterranean oak Woodland Working Landscapes* (pp.145-179). Springer.
https://doi.org/10.1007/978-94-007-6707-2_6
- Moreno, G., Cáceres, Y., Burgess, P., & de Jalon, S. G. (2016). System report: Iberian Dehesas, Spain. *AGFORWARD Project Report*, 7-11.
- Moreno, G., Obrador, J. J., & García, A. (2007). Impact of evergreen oaks on soil fertility and crop production in intercropped dehesas. *Agriculture, ecosystems & environment*, 119(3-4), 270-280.
<https://doi.org/10.1016/j.agee.2006.07.013>
- Moreno, G., Obrador, J. J., García, E., Cubera, E., Montero, M. J., Pulido, F., & Dupraz, C. (2007). Driving competitive and facilitative interactions in oak dehesas through management practices. *Agroforestry systems*, 70(1), 25-40.
<https://doi.org/10.1007/s10457-007-9036-y>
- Mosse, B., & Phillips, J. M. (1971). The influence of phosphate and other nutrients on the development of vesicular-arbuscular mycorrhiza in culture. *Microbiology*, 69(2), 157-166.
- Mouazen, A. M., Maleki, M. R., De Baerdemaeker, J., & Ramon, H. (2007). On-line measurement of some selected soil properties using a VIS–NIR sensor. *Soil and Tillage Research*, 93(1), 13-27.
<https://doi.org/10.1016/j.still.2006.03.009>
- Moura, J. A., Gonzaga, M. I. S., Anjos, J. L., Rodrigues, A. C. P., Leão, T. D. S., & Santos, L. C. O. (2015). Respiração basal e relação de estratificação em solo cultivado com citros e tratado com resíduos orgânicos no estado de Sergipe. *Semina: Ciências Agrárias*, 36(2), 731-746.
- Msimbira, L. A., & Smith, D. L. (2020). The roles of plant growth promoting microbes in enhancing plant tolerance to acidity and alkalinity stresses. *Frontiers in Sustainable*

- Food Systems*, 4, 106.
<https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.00106>
- Mueller-Dombois, D., & Ellenberg, H. (1974). *Aims and methods of vegetation ecology* (1^a ed.). John Wiley & Sons.
- Mycorrhizal Applications. (2020, agosto 30). *Mycorrhizal Status of Plant Families and Genera*. <https://mycorrhizae.com/mycorrhizal-status-of-plant-families-and-genera/>
- Neina, D. (2019). The role of soil pH in plant nutrition and soil remediation. *Applied and environmental soil science*, 2019, 1-9.
<https://doi.org/10.1155/2019/5794869>
- Nogueira, M. A., & Melo, W. J. (2003). Enxofre disponível para a soja e atividade de arilsulfatase em solo tratado com gesso agrícola. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 27, 655-663.
<https://doi.org/10.1590/S0100-06832003000400010>
- Noumonvi, K. D., Ferlan, M., Eler, K., Alberti, G., Peressotti, A., & Cerasoli, S. (2019). Estimation of carbon fluxes from eddy covariance data and satellite-derived vegetation indices in a karst grassland (Podgorski Kras, Slovenia). *Remote sensing*, 11(6), 649.
<https://doi.org/10.3390/rs11060649>
- Oberholzer, F. A. L. Gunst and P. Mader. (2007). Soil Organic Matter and Biological Soil Quality Indicators After 21 Years of Organic and Conventional Farming. *Agriculture, Ecosystem and Environ*, 118, 273-284.
- Ogaya, R., & Peñuelas, J. (2004). Phenological patterns of *Quercus ilex*, *Phillyrea latifolia*, and *Arbutus unedo* growing under a field experimental drought. *Ecoscience*, 11(3), 263-270.
<https://doi.org/10.1080/11956860.2004.11682831>
- Paciullo, D. S. C., Gomide, C. A. M., Castro, C. R. T. D., Fernandes, P. B., Müller, M. D., Pires, M. D. F. Á., & Xavier, D. F. (2011). Características produtivas e nutricionais do pasto em sistema agrossilvipastoril, conforme a distância das árvores. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 46, 1176-1183.
<https://doi.org/10.1590/S0100-204X2011001000009>
- Pagano, M. C., & Dhar, P. P. (2016). Arbuscular mycorrhizal fungi under monoculture farming: A review. In Nath, T.K., & O'Reilly, P. (Eds.), *Monoculture Farming: Global*, (pp. 161-170). Nova Science Publishers.

- Pendall, E., Bridgham, S., Hanson, P. J., Hungate, B., Kicklighter, D. W., Johnson, D. W., & Wan, S. (2004). Below-ground process responses to elevated CO₂ and temperature: a discussion of observations, measurement methods, and models. *New Phytologist*, *162*(2), 311-322.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.01053.x>
- Pepper, I. L., Gerba, C. P., & Brendecke, J. W. (1995). *Environmental microbiology: a laboratory manual*. Academic Press.
- Perez, K. S. S., Ramos, M. L. G., & McManus, C. (2004). Carbono da biomassa microbiana em solo cultivado com soja sob diferentes sistemas de manejo nos Cerrados. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, *39*, 567-573.
<https://doi.org/10.1590/S0100-204X2004000600008>
- Pinto-Correia, T., Ribeiro, N., & Potes, J. (Coords.). (2013). *Livro Verde dos Montados*. ICAAM.
<http://hdl.handle.net/10174/10116>
- Potes, J. M. V. B. (2010). *O Montado no Portugal Mediterrânico* (1.^a ed.). Edições Colibri.
<http://hdl.handle.net/10400.15/896>
- Pregitzer, K. S., & King, J. S. (2005). Effects of soil temperature on nutrient uptake. In *Nutrient acquisition by plants* (pp. 277-310). Springer.
- Prévost-Bouré, N. C., Soudani, K., Damesin, C., Berveiller, D., Lata, J. C., & Dufrêne, E. (2010). Increase in aboveground fresh litter quantity over-stimulates soil respiration in a temperate deciduous forest. *Applied Soil Ecology*, *46*(1), 26-34.
<https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2010.06.004>
- Puissant, J., Jones, B., Goodall, T., Mang, D., Blaud, A., Gweon, H. S., & Griffiths, R. (2019). The pH optimum of soil exoenzymes adapt to long term changes in soil pH. *Soil Biology and Biochemistry*, *138*, 107601. .
<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2019.107601>
- Pullanagari, R. R., Yule, I. J., Tuohy, M. P., Hedley, M. J., Dynes, R. A., & King, W. M. (2013). Proximal sensing of the seasonal variability of pasture nutritive value using multispectral radiometry. *Grass and Forage Science*, *68*(1), 110-119.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.2012.00877.x>
- Rajaniemi, T. K. (2002). Why does fertilization reduce plant species diversity? Testing three competition-based hypotheses. *Journal of Ecology*, *90*(2), 316-324.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2745.2001.00662.x>
- Read, D. J. (1991). Mycorrhizas in ecosystems. *Experientia*, *47*(4), 376-391.

- Reeves III, J. B., & Smith, D. B. (2009). The potential of mid-and near-infrared diffuse reflectance spectroscopy for determining major-and trace-element concentrations in soils from a geochemical survey of North America. *Applied Geochemistry*, 24(8), 1472-1481.
<https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2009.04.017>
- Reinhart, K. O., Wilson, G. W., & Rinella, M. J. (2012). Predicting plant responses to mycorrhizae: integrating evolutionary history and plant traits. *Ecology Letters*, 15(7), 689-695.
- Rejsek, K., Vranova, V., Pavelka, M., & Formanek, P. (2012). Acid phosphomonoesterase (EC 3.1. 3.2) location in soil. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 175(2), 196-211.
<https://doi.org/10.1002/jpln.201000139>
- Rillig, M. C., Wright, S. F., Shaw, M. R., & Field, C. B. (2002). Artificial climate warming positively affects arbuscular mycorrhizae but decreases soil aggregate water stability in an annual grassland. *Oikos*, 97(1), 52-58.
<https://doi.org/10.1034/j.1600-0706.2002.970105.x>
- Rodrigues, A. R., Silva, E., Santos, G., Coutinho, J., & Madeira, M. (2015). Do improved pastures affect enzymatic activity and C and N dynamics in soils of the montado system? *Revista de Ciências Agrárias*, 38(4), 536-546.
<https://doi.org/10.19084/RCA15138>
- Rodríguez, A., Durán, J., Yuste, J. C., Valladares, F., & Rey, A. (2023). The effect of tree decline over soil water content largely controls soil respiration dynamics in a Mediterranean woodland. *Agricultural and Forest Meteorology*, 333, 109398.
<https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2023.109398>
- Roem, W. J., & Berendse, F. (2000). Soil acidity and nutrient supply ratio as possible factors determining changes in plant species diversity in grassland and heathland communities. *Biological conservation*, 92(2), 151-161.
[https://doi.org/10.1016/S0006-3207\(99\)00049-X](https://doi.org/10.1016/S0006-3207(99)00049-X)
- Roscoe, R., Boddey, R. M., & Salton, J. C. (2006). Sistemas de manejo e matéria orgânica do solo. In Roscoe, R., Mercante, F. M., & Salton, J. C. (Eds.). *Dinâmica da matéria orgânica do solo em sistemas conservacionistas: modelagem matemática e métodos auxiliares* (pp. 17-42) Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste.

- Rossel, R. V., & Behrens, T. (2010). Using data mining to model and interpret soil diffuse reflectance spectra. *Geoderma*, *158*(1-2), 46-54.
<https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2009.12.025>
- Rossel, R. V., Behrens, T., Ben-Dor, E., Brown, D. J., Demattê, J. A. M., Shepherd, K. D., & Ji, W. (2016). A global spectral library to characterize the world's soil. *Earth-Science Reviews*, *155*, 198-230.
<https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2016.01.012>
- Ruiz-Lozano, J. M., Azcón, R., & Gomez, M. (1995). Effects of arbuscular-mycorrhizal *Glomus* species on drought tolerance: physiological and nutritional plant responses. *Applied and environmental microbiology*, *61*(2), 456-460.
<https://doi.org/10.1128/aem.61.2.456-460.1995>
- Rusique, L., Camacho, M. J., Inácio, M. L., Nóbrega, Filomena., Fareleira, P., Soares, R., Pereira, P., Castro, I. V., & Nunes, A. P. (2021). Bioindicadores para avaliar o efeito das práticas culturais na melhoria e fertilidade do solo. Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária-INIAV, IP. *Vida rural*, 52-58.
- Sales-Baptista, E., d'Abreu, M. C., & Ferraz-de-Oliveira, M. I. (2016). Overgrazing in the *Montado*? The need for monitoring grazing pressure at paddock scale. *Agroforestry systems*, *90*(1), 57-68.
- Sannazzaro, A. I., Ruiz, O. A., Alberto, E. O., & Menéndez, A. B. (2006). Alleviation of salt stress in *Lotus glaber* by *Glomus intraradices*. *Plant and soil*, *285*(1), 279-287.
- Santana, A. S., da Silva Chaves, J., Santana, A. S., Rodríguez, C. A., & de Moraes, E. R. (2017). Biomassa microbiana em diferentes sistemas de manejo do solo no sul do estado de Roraima. *Revista Brasileira de Ciências da Amazônia/Brazilian Journal of Science of the Amazon*, *6*(1), 43-50.
- Sardans, J., & Peñuelas, J. (2004). Drought decreases soil enzyme activity in a Mediterranean *Quercus ilex* L. forest. *Soil Biology and Biochemistry*, *37*(3), 455-461.
<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2004.08.004>
- Schachtman, D. P., Reid, R. J., & Ayling, S. M. (1998). Phosphorus uptake by plants: from soil to cell. *Plant physiology*, *116*(2), 447-453.
<https://doi.org/10.1104/pp.116.2.447>
- Schirrmann, M., Gebbers, R., & Kramer, E. (2013). Performance of automated near-infrared reflectance spectrometry for continuous in situ mapping of soil fertility at field

- scale. *Vadose Zone Journal*, 12(4), 1-14.
<https://doi.org/10.2136/vzj2012.0199>
- Schuller, D. E. (2004). Interações microrganismo-planta: bactérias do género *Rhizobium* e a fixação de azoto. In Casal, M. (Coord.), *Microbiologia e genética molecular microbiana: manual de laboratório*. Universidade do Minho.
<https://hdl.handle.net/1822/2235>
- Seddaiu, G., Porcu, G., Ledda, L., Roggero, P. P., Agnelli, A., & Corti, G. (2013). Soil organic matter content and composition as influenced by soil management in a semi-arid Mediterranean agro-silvo-pastoral system. *Agriculture, ecosystems & environment*, 167, 1-11.
<https://doi.org/10.1016/j.agee.2013.01.002>
- Seidel, M., Hutengs, C., Ludwig, B., Thiele-Bruhn, S., & Vohland, M. (2019). Strategies for the efficient estimation of soil organic carbon at the field scale with vis-NIR spectroscopy: Spectral libraries and spiking vs. local calibrations. *Geoderma*, 354, 113856.
<https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2019.07.014>
- Serrano, J. M., Peça, J. O., Marques da Silva, J. R., Shahidian, S., & Carvalho, M. (2011). Phosphorus dynamics in permanent pastures: differential fertilizing and the animal effect. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 90, 63-74.
<https://doi.org/10.1007/s10705-010-9412-2>
- Serrano, J. M., Peça, J. O., Shahidian, S., & da Silva, J. M. (2012). Efeito da topografia na estabilidade temporal dos parâmetros do solo numa pastagem permanente mediterrânica. *Revista de Ciências Agrárias*, 35(1), 59-68.
<https://doi.org/10.19084/rca.16067>
- Serrano, J., Carreira, E., Carvalho, M., Shahidian, S., & Marques da Silva, J. (2019). Tecnologias para monitorização da interação entre solo–pastagem–árvores–animais no ecossistema montado. *X Congresso Ibérico de AgroIngenieria, Huesca, Espanha, 3-6 de setembro*, (pp. 1061-1070).
- Serrano, J., Da Silva, J. M., & Shahidian, S. (2014). Spatial and temporal patterns of potassium on grazed permanent pastures—management challenges. *Agriculture, ecosystems & environment*, 188, 29-39.
- Serrano, J., Marques, J., Shahidian, S., Carreira, E., Marques da Silva, J., Paixão, L., & Sales-Baptista, E. (2023a). Sensing and Mapping the Effects of Cow Trampling on the Soil

- Compaction of the Montado Mediterranean Ecosystem. *Sensors*, 23(2), 888.
<https://doi.org/10.3390/s23020888>
- Serrano, J., Mendes, S., Shahidian, S., & Marques da Silva, J. (2023b). Pasture Quality Monitoring Based on Proximal and Remote Optical Sensors: A Case Study in the Montado Mediterranean Ecosystem. *AgriEngineering*, 5(1), 25.
- Serrano, J., Shahidian, S., Carapau, Â., & Rato, A. E. (2021a). Near-Infrared Spectroscopy (NIRS) and Optical Sensors for Estimating Protein and Fiber in Dryland Mediterranean Pastures. *AgriEngineering*, 3(1), 73-91.
<https://doi.org/10.3390/agriengineering3010005>
- Serrano, J., Shahidian, S., da Silva, J. M., Machado, E., & de Carvalho, M. (2018a). Avaliação do efeito das árvores sobre a produtividade e sobre a qualidade da pastagem no ecossistema montado: estudo de caso. *Revista de Ciências Agrárias*, 41(1), 72-81.
<https://doi.org/10.19084/RCA17200>
- Serrano, J., Shahidian, S., Machado, E., Paniagua, L. L., Carreira, E., Moral, F., & de Carvalho, M. (2021b). Floristic composition: Dynamic biodiversity indicator of tree canopy effect on dryland and improved Mediterranean pastures. *Agriculture*, 11(11), 1128.
<https://doi.org/10.3390/agriculture11111128>
- Serrano, J., Shahidian, S., Marques da Silva, J., Moral, F., Carvajal-Ramirez, F., Carreira, E., & Carvalho, M. D. (2020a). Evaluation of the effect of dolomitic lime application on pastures—Case study in the Montado Mediterranean ecosystem. *Sustainability*, 12(9), 3758.
<https://doi.org/10.3390/su12093758>
- Serrano, J., Shahidian, S., Marques da Silva, J., Paixão, L., Carreira, E., Carmona-Cabezas, R., & Rato, A. E. (2020b). Evaluation of near infrared spectroscopy (NIRS) and remote sensing (RS) for estimating pasture quality in Mediterranean Montado ecosystem. *Applied Sciences*, 10(13), 4463.
<https://doi.org/10.3390/app10134463>
- Serrano, J., Shahidian, S., Marques da Silva, J., Sales-Baptista, E., Ferraz de Oliveira, I., Lopes de Castro, J., & Carvalho, M. D. (2018b). Tree influence on soil and pasture: Contribution of proximal sensing to pasture productivity and quality estimation in montado ecosystems. *International Journal of Remote Sensing*, 39(14), 4801-4829.

- Sherman, C., Sternberg, M., & Steinberger, Y. (2012). Effects of climate change on soil respiration and carbon processing in Mediterranean and semi-arid regions: an experimental approach. *European Journal of Soil Biology*, 52, 48-58.
<https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2012.06.001>
- Sida, T. S., Baudron, F., Kim, H., & Giller, K. E. (2018). Climate-smart agroforestry: Faidherbia albida trees buffer wheat against climatic extremes in the Central Rift Valley of Ethiopia. *Agricultural and forest meteorology*, 248, 339-347.
<https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2017.10.013>
- Sieverding, E. (1991). Vesicular-Arbuscular Mycorrhiza Management in Tropical Agro-Ecosystem. *Deutsche Gesellschaft Technische Zusammenarbeit (GTZ)*, 339-365.
- Silva, C. C., Guido, M. L., Ceballos, J. M., Marsch, R., & Dendooven, L. (2008). Production of carbon dioxide and nitrous oxide in alkaline saline soil of Texcoco at different water contents amended with urea: A laboratory study. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(7), 1813-1822.
<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.03.004>
- Silva, C. F. D., Pereira, M. G., Rodrigues, L. A. D. S., Teodoro, S. A., Fontes, M. A., Gaia-Gomes, J. H., & Silva, E. M. R. D. (2021). Soil attributes as indicators of the stabilization process of erosion in gullies at different formation stages in the southeast region of Brazil. *Revista Ambiente & Água*, 16.
- Silva, E. E., de Azevedo, P. H. S., & De-Polli, H. (2007a). *Determinação da respiração basal (RBS) e quociente metabólico do solo (qCO₂)*. Seropédica: Embrapa Agrobiologia.
- Silva, E. E., De Azevedo, P. H. S., & De-Polli, H. (2007b). *Determinação do carbono da biomassa microbiana do solo (BMS-C)*. Seropédica: Embrapa Agrobiologia.
- Silva, M. C., Machado, H., Castro, I. V. (2022). Biofertilização e Biocontrole em Montado-medidas de adaptação às alterações climáticas. Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária-INIAV, IP. *Vida rural*, 62-67.
- Silvertown, J., Poulton, P., Johnston, E., Edwards, G., Heard, M., & Biss, P. M. (2006). The Park Grass Experiment 1856–2006: its contribution to ecology. *Journal of Ecology*, 94(4), 801-814.
- Sinclair, F., Eason, B., & Hooker, J. (2000). Understanding and management of interactions. *Agroforestry in the UK. Bulletin*, 122.
- Siqueira, J. O., & Franco, A. A. (1988). *Biotechnologia do solo: fundamentos e perspectivas*. Brasília: MEC. ABEAS/ESAL/FAEPE.

- Skopp, J., Jawson, M. D., & Doran, J. W. (1990). Steady-state aerobic microbial activity as a function of soil water content. *Soil Science Society of America Journal*, *54*(6), 1619-1625.
<https://doi.org/10.2136/sssaj1990.03615995005400060018x>
- Smith, S. E., & Read, D. J. (2008). *Mycorrhizal Symbiosis* (3.^a ed.). Academic Press.
- Smith, S. E., Jakobsen, I., Grønlund, M., & Smith, F. A. (2011). Roles of arbuscular mycorrhizas in plant phosphorus nutrition: interactions between pathways of phosphorus uptake in arbuscular mycorrhizal roots have important implications for understanding and manipulating plant phosphorus acquisition. *Plant physiology*, *156*(3), 1050-1057.
<https://doi.org/10.1104/pp.111.174581>
- Sommerfeld, R. A., Mosier, A. R., & Musselman, R. C. (1993). CO₂, CH₄ and N₂O flux through a Wyoming snowpack and implications for global budgets. *Nature*, *361*(6408), 140-142.
<https://doi.org/10.1038/361140a0>
- Song, L., Bao, X., Liu, X., Zhang, Y., Christie, P., Fangmeier, A., & Zhang, F. (2011). Nitrogen enrichment enhances the dominance of grasses over forbs in a temperate steppe ecosystem. *Biogeosciences*, *8*(8), 2341-2350.
- Souto, P. C., Bakke, I. A., Souto, J. S., & de Oliveira, V. M. (2009). Cinética da respiração edáfica em dois ambientes distintos no semi-árido da Paraíba, BRASIL. *Revista Caatinga*, *22*(3), 52-58.
- Souza, V. C. D., Silva, R. A. D., Cardoso, G. D., & Barreto, A. F. (2006). Estudos sobre fungos micorrízicos. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, *10*, 612-618.
<https://doi.org/10.1590/S1415-43662006000300011>
- Staddon, P. L., Thompson, K. E. N., Jakobsen, I., Grime, J. P., Askew, A. P., & Fitter, A. H. (2003). Mycorrhizal fungal abundance is affected by long-term climatic manipulations in the field. *Global Change Biology*, *9*(2), 186-194.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2486.2003.00593.x>
- Stenberg, B., Rossel, R. A. V., Mouazen, A. M., & Wetterlind, J. (2010). Visible and near infrared spectroscopy in soil science. *Advances in agronomy*, *107*, 163-215.
[https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(10\)07005-7](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(10)07005-7)
- Stres, B., Danevčič, T., Pal, L., Fuka, M. M., Resman, L., Leskovec, S., & Mandic-Mulec, I. (2008). Influence of temperature and soil water content on bacterial, archaeal and

- denitrifying microbial communities in drained fen grassland soil microcosms. *FEMS microbiology ecology*, 66(1), 110-122.
<https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2008.00555.x>
- Subhan, S., Sharmila, P., & Pardha Saradhi, P. (1998). *Glomus fasciculatum* alleviates transplantation shock of micropropagated *Sesbania sesban*. *Plant cell reports*, 17(4), 268-272.
- Sui, X., Guan, K., Chen, Y., Xue, R., & Li, A. (2022). A legume host benefits more from arbuscular mycorrhizal fungi than a grass host in the presence of a root hemiparasitic plant. *Microorganisms*, 10(2), 440.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms10020440>
- Tabatabai, M. A. (1994). Soil enzymes. *Methods of soil analysis: Part 2 Microbiological and biochemical properties*, 5, 775-833.
<https://doi.org/10.2136/sssabookser5.2.c37>
- Teixeira, F. (2022). Legumes Cropping and Nitrogen Fixation under Mediterranean Climate. In Ribeiro-Barros, A. I., Tevera, D., Goulao, L. F., Tivana, L. D., & Iyer-Raniga, U. (eds.), *Food Systems Resilience 179*, 1-17. IntechOpen.
<https://doi.org/10.5772/intechopen.104473>
- Unger, S., Habermann, F. M., Schenke, K., & Jongen, M. (2021). Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Nutrition Determine the Outcome of Competition Between *Lolium multiflorum* and *Trifolium subterraneum*. *Frontiers in plant science*, 12, 778861.
- Unger, S., Máguas, C., Pereira, J. S., David, T. S., & Werner, C. (2012). Interpreting post-drought rewetting effects on soil and ecosystem carbon dynamics in a Mediterranean oak savannah. *Agricultural and Forest Meteorology*, 154, 9-18.
<https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2011.10.007>
- Valdés-Castrillón, B., Talavera-Lozano, S., & Fernández-Galiano, F. E. (1987). *Flora vascular de Andalucía Occidental*, 3 volúmenes. Ketres Editora SA.
- Volpin, H., & Phillips, D. A. (1998). Respiratory Elicitors from *Rhizobium meliloti* Affect Intact Alfalfa Roots. *Plant Physiology*, 116(2), 777-783.
<https://doi.org/10.1104/pp.116.2.777>
- Walker C (1995) AM or VAM: what's in a Word? In: Varma A, Hock B (eds) *Mycorrhiza*., (pp. 25–26). Springer.
- Walker, T. S., Bais, H. P., Grotewold, E., & Vivanco, J. M. (2003). Root exudation and rhizosphere biology. *Plant physiology*, 132(1), 44-51.
<https://doi.org/10.1104/pp.102.019661>

- WRB, World reference base for soil resources. (2006). *World Soil Resources Reports* (2^a ed., pp.128). FAO.
- Xu, J., Chen, J., Brosofske, K., Li, Q., Weintraub, M., Henderson, R., & Shao, C. (2011). Influence of timber harvesting alternatives on forest soil respiration and its biophysical regulatory factors over a 5-year period in the Missouri Ozarks. *Ecosystems*, *14*(8), 1310-1327. 1327 (2011).
<https://doi.org/10.1007/s10021-011-9482-2>
- Xu, S., Zhao, Y., Wang, M., & Shi, X. (2018). Comparison of multivariate methods for estimating selected soil properties from intact soil cores of paddy fields by Vis–NIR spectroscopy. *Geoderma*, *310*, 29-43.
<https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2017.09.013>
- Yang, L., Li, T., Li, F., Lemcoff, J. H., & Cohen, S. (2008). Fertilization regulates soil enzymatic activity and fertility dynamics in a cucumber field. *Scientia Horticulturae*, *116*(1), 21-26.
<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2007.11.001>
- Yano, K., & Takaki, M. (2005). Mycorrhizal alleviation of acid soil stress in the sweet potato (*Ipomoea batatas*). *Soil Biology and Biochemistry*, *37*(8), 1569-1572.
- Young, A. (1997). *Agroforestry for soil management* (2.^a ed.). CAB international.
- Yuan, B. & Yue, D. (2012). Soil microbial and enzymatic activities across a chronosequence of Chinese pine plantation development on the Loess Plateau of China. *Pedosphere*, *22*(1), 1-12.
[https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(11\)60186-0](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(11)60186-0)
- Zaman, M., Di, H. J., & Cameron, K. C. (1999). A field study of gross rates of N mineralization and nitrification and their relationships to microbial biomass and enzyme activities in soils treated with dairy effluent and ammonium fertilizer. *Soil Use and Management*, *15*(3), 188-194.
<https://doi.org/10.1111/j.1475-2743.1999.tb00087.x>
- Zhang, A., Wang, D., & Wan, S. (2019). Litter addition decreases plant diversity by suppressing seeding in a semiarid grassland, Northern China. *Ecology and Evolution*, *9*(17), 9907-9915 .
<https://doi.org/10.1002/ece3.5532>
- Zhou, J., Wilson, G. W., Cobb, A. B., Zhang, Y., Liu, L., Zhang, X., & Sun, F. (2022). Mycorrhizal and rhizobial interactions influence model grassland plant community

structure and productivity. *Mycorrhiza*, 1-18.

<https://doi.org/10.1007/s00572-021-01061-2>

Zornoza, R., Guerrero, C., Mataix-Solera, J., Scow, K. M., Arcenegui, V., & Mataix-Beneyto, J. (2008). Near infrared spectroscopy for determination of various physical, chemical and biochemical properties in Mediterranean soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(7), 1923-1930.

<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.04.003>

Zuccarini, P., Asensio, D., Ogaya, R., Sardans, J., & Peñuelas, J. (2020). Effects of seasonal and decadal warming on soil enzymatic activity in a P-deficient Mediterranean shrubland. *Global Change Biology*, 26(6), 3698-3714.

<https://doi.org/10.1111/gcb.15077>

8. Apêndices

Apêndice I-Inventário florístico do campo experimental e proporção das espécies botânicas

Família	Espécie botânica	NCOR x DCA	NCOR x FCA	COR x DCA	COR x FCA
Amaryllidaceae	<i>Allium</i> sp.	0.00	0.00	0.00	0.62
Apiaceae	<i>Torilis arvensis</i>	3.32	0.00	12.16	0.00
Araceae	<i>Arum italicum</i>	1.04	0.00	4.96	0.00
Asteraceae	<i>Calendula arvensis</i>	0.83	0.00	2.48	0.00
Asteraceae	<i>Carduus tenuiflorus</i>	2.70	0.00	11.41	0.00
Asteraceae	<i>Chamaemelum fuscatum</i>	0.41	0.57	0.00	0.00
Asteraceae	<i>Chamaemelum mixtum</i>	0.00	0.76	0.00	2.07
Asteraceae	<i>Crepis vesicaria</i>	0.00	0.00	0.00	3.32
Asteraceae	<i>Crepis capillaris</i>	0.00	0.00	1.99	0.00
Asteraceae	<i>Hedypnois cretica</i>	1.24	2.67	0.00	1.04
Asteraceae	<i>Hypochaeris glabra</i>	0.00	0.38	0.00	0.00
Asteraceae	<i>Hypochaeris radicata</i>	0.00	0.00	0.00	3.11
Asteraceae	<i>Leontodon taraxacoides</i>	0.00	0.00	0.00	0.83
Asteraceae	<i>Senecio vulgaris</i>	4.77	0.76	0.99	1.87
Asteraceae	<i>Sonchus oleraceus</i>	1.24	0.00	0.99	0.00
Asteraceae	<i>Tolpis barbata</i>	0.00	0.95	0.00	0.00
Boraginaceae	<i>Echium plantagineum</i>	0.21	0.00	0.00	2.07
Brassicaceae	<i>Diplotaxis catholica</i>	0.41	11.64	1.24	19.29
Brassicaceae	<i>Raphanus raphanistrum</i>	0.00	0.00	0.00	0.83
Brassicaceae	<i>Sisymbrium officinale</i>	1.66	0.00	0.00	0.00
Caryophyllaceae	<i>Cerastium tomentosum</i>	0.83	1.34	0.00	1.66
Caryophyllaceae	<i>Silene gallica</i>	0.00	0.57	1.49	1.87
Caryophyllaceae	<i>Spergula arvensis</i>	0.83	0.19	0.00	1.04
Caryophyllaceae	<i>Stellaria media</i>	6.02	0.00	3.72	0.00
Fabaceae	<i>Astragalus pelecinus</i>	0.83	10.31	0.00	2.07
Fabaceae	<i>Lathyrus angulatus</i>	0.00	0.00	0.00	0.41
Fabaceae	<i>Medicago arabica</i>	0.83	0.00	0.74	0.00
Fabaceae	<i>Medicago nigra</i>	3.11	0.00	2.48	0.00
Fabaceae	<i>Ornithopus compressus</i>	0.41	3.82	0.00	8.30
Fabaceae	<i>Trifolium michelianum</i>	0.00	2.67	0.00	0.00
Fabaceae	<i>Trifolium repens</i>	0.00	0.00	0.00	8.51
Fabaceae	<i>Trifolium resupinatum</i>	0.00	5.15	0.00	0.41
Fabaceae	<i>Trifolium subterraneum</i>	0.00	0.76	0.00	0.00
Geraniaceae	<i>Erodium moschatum</i>	11.62	25.95	6.95	11.83
Geraniaceae	<i>Geranium molle</i>	4.56	2.67	0.99	0.83
Iridaceae	<i>Gynandriris sisyrinchium</i>	1.87	0.38	0.00	0.41
Juncaceae	<i>Juncus bufonius</i>	0.00	0.19	0.00	0.00
Plantaginaceae	<i>Plantago coronopus</i>	0.00	1.72	0.00	0.00
Plantaginaceae	<i>Plantago lagopus</i>	5.81	8.02	0.00	8.30
Plantaginaceae	<i>Plantago lanceolata</i>	0.00	0.00	0.00	1.24

Poaceae	<i>Agrostis pourretii</i>	0.83	0.00	0.00	0.00
Poaceae	<i>Bromus hordeaceus</i>	0.00	3.05	0.00	2.70
Poaceae	<i>Bromus rigidus</i>	2.07	0.57	0.99	0.83
Poaceae	<i>Hordeum murinum</i> ssp. leporinum	7.68	0.38	15.63	3.53
Poaceae	<i>Lamarckia aurea</i>	1.24	0.00	0.00	0.00
Poaceae	<i>Lolium rigidum</i>	0.00	1.15	0.00	0.00
Poaceae	<i>Poa annua</i>	0.41	0.00	1.24	0.00
Poaceae	Poaceae A	5.19	0.00	0.00	0.00
Poaceae	Poaceae B	1.04	0.00	0.00	0.00
Poaceae	<i>Vulpia bromoides</i>	4.15	6.87	1.24	1.66
Poaceae	<i>Vulpia geniculata</i>	4.15	1.15	21.34	4.98
Polygonaceae	<i>Rumex acetosella</i> subsp. <i>angiocarpus</i>	0.00	4.39	0.00	2.07
Polygonaceae	<i>Rumex bucephalophorus</i>	0.00	0.95	0.00	0.00
Polygonaceae	<i>Rumex crispus</i>	4.15	0.00	0.00	0.00
Polygonaceae	<i>Rumex pulcher</i>	3.11	0.00	0.00	0.00
Primulaceae	<i>Anagallis arvensis</i>	0.83	0.00	0.99	0.41
Rosaceae	<i>Aphanes arvensis</i>	0.00	0.00	0.00	1.04
Rubiaceae	<i>Sherardia arvensis</i>	0.00	0.00	0.00	0.83
Urticaceae	<i>Urtica urens</i>	10.58	0.00	5.96	0.00

Apêndice II- Resumo dos resultados da análise SIMPER para identificação das famílias que mais contribuem para os grupos de inventários, em função dos fatores

Fatores	Famílias	Contribuição individual (%)	Contribuição cumulativa (%)
NCOR; DCA Semelhança Média (%): 43.99	Poaceae	39.71	39.71
	Geraniaceae	21.49	61.2
	Asteraceae	10.81	72.01
	Urticaceae	8.07	80.08
	Caryophyllaceae	7.2	87.28
	Plantaginaceae	5.2	92.48
NCOR; FCA Semelhança Média (%): 46.54	Geraniaceae	40.1	40.1
	Fabaceae	20.45	60.55
	Poaceae	14.39	74.94
	Brassicaceae	9.36	84.3
	Plantaginaceae	5.14	89.44
	Polygonaceae	4.83	94.27
COR; DCA Semelhança Média (%): 46.59	Poaceae	59.83	59.83
	Asteraceae	15.7	75.53

	Geraniaceae	11.96	87.49
	Urticaceae	5.67	93.16
COR; FCA	Brassicaceae	25.29	25.29
Semelhança Média (%): 48.98	Fabaceae	20.12	45.42
	Geraniaceae	16.07	61.49
	Asteraceae	14.6	76.09
	Poaceae	13.56	89.65
	Plantaginaceae	4.91	94.56

Apêndice III- Resumo dos resultados da análise SIMPER para identificação das famílias que mais distinguem os grupos de inventários, em função dos fatores

Fatores	Famílias	Contribuição individual (%)	Contribuição cumulativa (%)
NCOR; DCA & NCOR; FCA Dissemelhança Média (%) = 59.67	Fabaceae	18.6	18.6
	Geraniaceae	14.56	33.17
	Poaceae	13.65	46.82
	Plantaginaceae	9.05	55.87
	Brassicaceae	8.74	64.6
	Urticaceae	8.55	73.15
	Asteraceae	8.32	81.48
	Polygonaceae	7.33	88.81
	Caryophyllaceae	5.19	94
NCOR; DCA & COR; DCA Dissemelhança Média (%) = 56.48	Poaceae	19.34	19.34
	Asteraceae	13.44	32.78
	Geraniaceae	11.69	44.47
	Apiaceae	10.76	55.22
	Urticaceae	9.93	65.15
	Polygonaceae	6.82	71.97
	Fabaceae	6.16	78.13
	Caryophyllaceae	6.05	84.18
	Plantaginaceae	5.59	89.77
	Araceae	4.44	94.21
NCOR; FCA & COR; DCA Dissemelhança Média (%) = 71.72	Poaceae	17.96	17.96
	Geraniaceae	17.45	35.41
	Fabaceae	16.82	52.23
	Asteraceae	9.66	61.89
	Brassicaceae	8.43	70.32
	Plantaginaceae	8.25	78.56
	Apiaceae	6.99	85.55

	Polygonaceae	4.1	89.65
	Urticaceae	3.54	93.19
NCOR; DCA & COR; FCA	Brassicaceae	15.38	15.38
Dissemelhança Média (%) = 61.02	Fabaceae	14.41	29.79
	Poaceae	14.13	43.92
	Geraniaceae	9.13	53.05
	Urticaceae	8.67	61.73
	Plantaginaceae	8.44	70.17
	Asteraceae	8.37	78.54
	Polygonaceae	6.39	84.92
	Caryophyllaceae	5.41	90.33
NCOR; FCA & COR; FCA	Fabaceae	19.94	19.94
Dissemelhança Média (%) = 51.29	Geraniaceae	17.98	37.91
	Brassicaceae	14.87	52.78
	Plantaginaceae	12.86	65.64
	Poaceae	11.36	77
	Asteraceae	8.89	85.89
	Polygonaceae	4.77	90.67
COR; DCA & COR; FCA	Poaceae	20.26	20.26
Dissemelhança Média (%) = 67.19	Brassicaceae	15.82	36.08
	Fabaceae	14.09	50.17
	Asteraceae	10.26	60.44
	Plantaginaceae	8.08	68.52
	Apiaceae	7.74	76.26
	Geraniaceae	6.32	82.58
	Urticaceae	3.93	86.5
	Caryophyllaceae	3.73	90.23

Apêndice IV- Resumo dos resultados da análise SIMPER para identificação das espécies que mais contribuem para os grupos de inventários

Fatores	Espécies botânicas	Contribuição individual (%)	Contribuição cumulativa (%)
NCOR; DCA	<i>Erodium moschatum</i>	18.07	18.07
Semelhança Média (%): 24.95	<i>Urtica urens</i>	14.92	32.99
	<i>Plantago lagopus</i>	11.86	44.85
	<i>Senecio vulgaris</i>	10.74	55.59
	<i>Hordeum murinum ssp. leporinum</i>	9.72	65.31
	<i>Stellaria media</i>	9.68	74.99
	<i>Geranium molle</i>	7.46	82.45
	<i>Carduus tenuiflorus</i>	4.92	87.37

	<i>Torilis arvensis</i>	4.74	92.11
NCOR; FCA	<i>Erodium moschatum</i>	40.49	40.49
Semelhança Média (%): 33.83	<i>Diplotaxis catholica</i>	20.55	61.04
	<i>Vulpia bromoides</i>	7.06	68.09
	<i>Rumex acetosella</i>	4.55	72.64
	<i>subsp. angiocarpus</i>		
	<i>Trifolium michelianum</i>	3.62	76.26
	<i>Geranium molle</i>	3.57	79.84
	<i>Trifolium resupinatum</i>	3.48	83.31
	<i>Hedypnois cretica</i>	2.87	86.18
	<i>Ornithopus compressus</i>	2.82	89.01
	<i>Plantago lagopus</i>	2.44	91.44
COR; DCA	<i>Erodium moschatum</i>	30.32	30.32
Semelhança Média (%): 30.84	<i>Vulpia geniculata</i>	22.7	53.02
	<i>Urtica urens</i>	17.12	70.14
	<i>Hordeum murinum ssp. leporinum</i>	14.97	85.1
	<i>Stellaria media</i>	5.93	91.03
COR; FCA	<i>Diplotaxis catholica</i>	30.1	30.1
Semelhança Média (%): 31.74	<i>Erodium moschatum</i>	28.06	58.17
	<i>Senecio vulgaris</i>	5.42	63.59
	<i>Vulpia geniculata</i>	4.72	68.31
	<i>Bromus hordeaceus</i>	4.54	72.86
	<i>Hordeum murinum ssp. leporinum</i>	4.29	77.15
	<i>Plantago lagopus</i>	3.45	80.6
	<i>Cerastium tomentosum</i>	3.32	83.92
	<i>Rumex acetosella</i>	2.61	86.54
	<i>subsp. angiocarpus</i>		
	<i>Ornithopus compressus</i>	2.51	89.05
	<i>Crepis vesicaria</i>	2.15	91.2

Apêndice V- Resumo dos resultados da análise SIMPER para identificação das espécies que mais distinguem os grupos de inventários

Fatores	Espécies botânicas	Contribuição individual (%)	Contribuição cumulativa (%)
NCOR; DCA & NCOR; FCA Dissemelhança Média (%) = 81.56	<i>Erodium moschatum</i>	6.58	6.58
	<i>Diplotaxis catholica</i>	6.25	12.82
	<i>Urtica urens</i>	5.39	18.22
	<i>Plantago lagopus</i>	4.87	23.09
	<i>Vulpia bromoides</i>	4.45	27.54
	<i>Astragalus pelecinus</i>	4.38	31.92

	<i>Hordeum murinum</i>	4.08	36
	<i>ssp. leporinum</i>		
	<i>Stellaria media</i>	3.9	39.91
	<i>Senecio vulgaris</i>	3.26	43.17
	<i>Geranium molle</i>	3.17	46.34
	<i>Rumex acetosella</i>		
	<i>subsp. angiocarpus</i>	3.04	49.38
	<i>Trifolium resupinatum</i>	2.89	52.26
NCOR; DCA & COR; DCA	<i>Vulpia geniculata</i>	8.97	8.97
Dissemelhança Média (%) =	<i>Hordeum murinum</i>		
73.88	<i>ssp. leporinum</i>	7.03	16
	<i>Urtica urens</i>	5.88	21.88
	<i>Torilis arvensis</i>	5.62	27.5
	<i>Carduus tenuiflorus</i>	5.49	32.99
	<i>Erodium moschatum</i>	5.47	38.47
	<i>Plantago lagopus</i>	4.96	43.42
	<i>Stellaria media</i>	4.63	48.06
	<i>Geranium molle</i>	4.01	52.06
NCOR; FCA & COR; DCA	<i>Vulpia geniculata</i>	7.79	7.79
Dissemelhança Média (%) =	<i>Erodium moschatum</i>	7.29	15.08
84.71	<i>Diplotaxis catholica</i>	6.9	21.98
	<i>Hordeum murinum</i>		
	<i>ssp. leporinum</i>	6.09	28.08
	<i>Astragalus pelecinus</i>	4.65	32.73
	<i>Urtica urens</i>	4.42	37.14
	<i>Vulpia bromoides</i>	4.33	41.47
	<i>Carduus tenuiflorus</i>	3.95	45.42
	<i>Plantago lagopus</i>	3.81	49.23
	<i>Torilis arvensis</i>	3.73	52.96
NCOR; DCA & COR; FCA	<i>Diplotaxis catholica</i>	8.2	8.2
Dissemelhança Média (%) =	<i>Urtica urens</i>	5.36	13.56
81.21	<i>Plantago lagopus</i>	4.85	18.42
	<i>Erodium moschatum</i>	4.35	22.77
	<i>Hordeum murinum</i>		
	<i>ssp. leporinum</i>	4.08	26.84
	<i>Stellaria media</i>	3.88	30.72
	<i>Vulpia geniculata</i>	3.7	34.42
	<i>Ornithopus</i>		
	<i>compressus</i>	3.56	37.98
	<i>Trifolium repens</i>	3.25	41.24
	<i>Geranium molle</i>	3.15	44.39
	<i>Senecio vulgaris</i>	2.89	47.28
	<i>Torilis arvensis</i>	2.56	49.84
	<i>Bromus hordeaceus</i>	2.37	52.21

NCOR; FCA & COR; FCA Dissemelhança Média (%) = 67.57	<i>Diplotaxis catholica</i>	6.2	6.2
	<i>Plantago lagopus</i>	6.11	12.32
	<i>Erodium moschatum</i>	6.09	18.4
	<i>Astragalus pelecinus</i>	5.75	24.15
	<i>Ornithopus compressus</i>	5.2	29.36
	<i>Vulpia bromoides</i>	4.88	34.24
	<i>Trifolium repens</i>	3.94	38.18
	<i>Rumex acetosella subsp. angiocarpus</i>	3.81	41.99
	<i>Vulpia geniculata</i>	3.8	45.78
	<i>Bromus hordeaceus</i>	3.72	49.5
	<i>Trifolium resupinatum</i>	3.53	53.02
COR; DCA & COR; FCA Dissemelhança Média (%) = 80.05	<i>Diplotaxis catholica</i>	9.32	9.32
	<i>Vulpia geniculata</i>	7.54	16.86
	<i>Hordeum murinum ssp. leporinum</i>	6	22.86
	<i>Urtica urens</i>	4.62	27.47
	<i>Plantago lagopus</i>	4.35	31.83
	<i>Carduus tenuiflorus</i>	4.12	35.95
	<i>Ornithopus compressus</i>	3.97	39.92
	<i>Torilis arvensis</i>	3.9	43.82
	<i>Trifolium repens</i>	3.78	47.61
	<i>Erodium moschatum</i>	2.98	50.59

Apêndice VI- Resumo dos resultados da ANOVA de 2 fatores para cada parâmetro em análise (Valores não significativos ($p>0.05$))

Dependent variable	Source	Sum of Squares	Degrees of freedom	Mean Square	F	p-value
Riqueza espécies (n°)	Intercept	2281.5	1	2281.5	170.9	0.000
	Calcário	16.667	1	16.667	1.248	0.277
	Copa	20.167	1	20.167	1.511	0.233
	Calcário*Copa	16.667	1	16.667	1.248	0.277
	Error	267	20	13.35		
Riqueza famílias (n°)	Intercept	1107.042	1	1107.042	278.5	0.000
	Calcário	1.042	1	1.042	0.262	0.614
	Copa	3.375	1	3.375	0.849	0.368
	Calcário*Copa	12.042	1	12.042	3.029	0.097
	Error	79.5	20	3.975		
Diversidade espécies	Intercept	79.258	1	79.2579	477.2	0.000
	Calcário	0.267	1	0.26715	1.609	0.219

	Copa	0.156	1	0.15554	0.937	0.345
	Calcário*Copa	0.852	1	0.85198	5.13	0.035
	Error	3.322	20	0.16609		
Diversidade famílias	Intercept	56.301	1	56.3007	734.7	0.000
	Calcário	0.065	1	0.06503	0.849	0.368
	Copa	0.127	1	0.12692	1.656	0.213
	Calcário*Copa	0.680	1	0.68044	8.879	0.007
	Error	1.533	20	0.07663		
Folhada	Intercept	6402.667	1	6402.667	76.3	0.000
	Calcário	28.167	1	28.167	0.336	0.569
	Copa	1980.167	1	1980.167	23.6	0.000
	Calcário*Copa	450.667	1	450.667	5.37	0.031
	Error	1678.333	20	83.917		
% Solo Nú	Intercept	3290.042	1	3290.042	44.13	0.000
	Calcário	408.375	1	408.375	5.477	0.030
	Copa	570.375	1	570.375	7.65	0.012
	Calcário*Copa	77.042	1	77.042	1.033	0.322
	Error	1491.167	20	74.558		
% de Cob Total	Intercept	187090	1	187090	2509	0.000
	Calcário	408.4	1	408.4	5.477	0.030
	Copa	570.4	1	570.4	7.65	0.012
	Calcário*Copa	77	1	77	1.033	0.322
	Error	1491.2	20	74.6		
Altura média (cm)	Intercept	17712.67	1	17712.67	254.2	0.000
	Calcário	42.67	1	42.67	0.612	0.443
	Copa	682.67	1	682.67	9.799	0.005
	Calcário*Copa	32.67	1	32.67	0.469	0.501
	Error	1393.33	20	69.67		