



# **Valor fertilizante de leguminosas herbáceas nos ecossistemas agrícolas**

**Rosalino Ivandro Francisco Viegas**

*Dissertação apresentada à Escola Superior Agrária de Bragança para obtenção do  
Grau de Mestre em Agricultura Tropical*

**Orientado por**

**Professor Doutor Manuel Ângelo Rosa Rodrigues**

**Coorientado por**

**Professora Doutora Margarida Maria Pereira Arrobas Rodrigues**

**Bragança**

**2017**



*Dedico este trabalho a família Viegas*

*Ana Manuel Viegas*

*A minha noiva Rosária Kwassula,*

*A minha filha Laiane Viegas*

*A todos que me apoiaram nesta jornada...*



## **Agradecimentos**

Este espaço é dedicado a todos que de uma forma direta e indireta deram a sua contribuição para que esta dissertação fosse realizada. A todos deixo o meu agradecimento.

Ao Sr. Professor Doutor Manuel Ângelo Rosa Rodrigues, orientador deste trabalho, pelo apoio incondicional, dedicação e ajuda dispensada desde a escolha do tema até à conclusão deste trabalho.

A Sra. Professora Doutora Margarida Maria Pereira Arrobas Rodrigues, coorientadora deste trabalho e responsável pelo laboratório de solos da Escola Superior Agrária de Bragança, onde decorreu-se parte do trabalho.

Às técnicas do laboratório de solos da Escola Superior Agrária de Bragança, que foram imprescindíveis e possibilitaram a realização das análises laboratoriais.

Ao Instituto Superior Politécnico do Cuanza-Sul, que através do seu programa e parceria com o IPB deu-me a oportunidade para continuar os estudos.

À turma do primeiro curso de mestrado em Agricultura Tropical em Bragança que, de uma forma direta e indireta me acompanharam e apoiaram durante a fase curricular e não só.

À minha família agradeço a compreensão e apoio dado, em especial à minha noiva Rosária Kwassula pelo incansável apoio.

A todos deixo o meu obrigado.



## Resumo

A produção de fertilizantes azotados é responsável por quase um terço da energia consumida na agricultura moderna. Parte significativa dessa energia poderia ser reduzida pelo incremento da fixação biológica, processo que envolve microrganismos com capacidade de utilizar o azoto atmosférico e de o transferir de formas variadas para as plantas. Este tipo de microrganismos pode proporcionar maior quantidade de azoto disponível nos ecossistemas terrestres, tendo grande impacto a nível agronómico, económico e ecológico. Algumas plantas como as leguminosas, podem estabelecer relações simbióticas com microrganismos fixadores e beneficiarem de forma particular da ação dos microrganismos. Por essa razão as leguminosas são componentes valiosos em misturas forrageiras com gramíneas e na rotação de culturas para diminuir a dependência dos fertilizantes azotados.

Este trabalho teve por objetivo comparar o desempenho de várias culturas leguminosas e a sua capacidade em aceder ao azoto. Incluiu leguminosas pratenses que foram usadas como sideração para a cultura do milho (*Zea mays*) e diversas leguminosas de grão cultivadas em sequeiro e em regadio. As leguminosas pratenses foram cultivadas em campo, tendo a biomassa e o solo onde foram cultivadas sido posteriormente usados em ensaio em vasos para avaliar o efeito da sideração na cultura do milho. Em sequeiro cultivou-se grão-de-bico (*Cicer arietinum*) e feijão-frade (*Vigna unguiculata*). Em regadio cultivou-se feijão-frade e feijão-comum (*Phaseolus vulgaris*) (cvs. Maravilha de Piemonte e Manteiga proveniente de Angola). Outra das espécies usadas em regadio foi a soja (*Glycine max*), tendo sido cultivada em campo sujeita a inoculação com rizóbios específicos e sem inoculação, e em vasos tendo sido sujeita a inoculação e não inoculação combinadas com aplicação e sem aplicação de azoto, ainda em vasos, foi cultivado o feijão trepador (cv. Helda) com e sem aplicação de azoto. Os ensaios decorreram em Bragança na Quinta de Sta Apolónia de setembro de 2015 a outubro de 2016.

No ensaio com leguminosas pratenses a maior quantidade de matéria seca foi registrada em trevo-encarnado (*Trifolium incarnatum*) em comparação com trevo-subterrâneo (*Trifolium subterraneum*). As duas espécies registaram valores idênticos de azoto recuperado na parte aérea da planta e significativamente superiores à vegetação espontânea usada como testemunha. A produção de biomassa de milho foi mais elevada

nos vasos com sideração das leguminosas que na modalidade com vegetação espontânea.

Nas leguminosas de grão cultivadas em campo sequeiro, o grão-de-bico apresentou maior produção de grão e matéria seca ( $1505 \text{ kg ha}^{-1}$  e  $2700 \text{ kg ha}^{-1}$  respectivamente) que o feijão-frade ( $955 \text{ kg ha}^{-1}$  e  $1788 \text{ kg ha}^{-1}$ ) e de azoto recuperado na parte aérea da planta ( $50 \text{ kg ha}^{-1}$  e  $43 \text{ kg ha}^{-1}$ , respectivamente). Em regadio os melhores resultados de matéria seca no grão ( $3533 \text{ kg ha}^{-1}$ ) e na palha ( $5413 \text{ kg ha}^{-1}$ ) e azoto recuperado na parte aérea no grão ( $137 \text{ kg ha}^{-1}$ ) e na palha ( $110 \text{ kg ha}^{-1}$ ) foram obtidos na cultura de feijão-frade, ainda que sem diferenças significativas para o feijão-comum (cv. Manteiga), que obteve de matéria seca no grão  $3164 \text{ kg ha}^{-1}$  e na palha  $5466 \text{ kg ha}^{-1}$ . Na parte aérea, o feijão-comum recuperou  $113 \text{ kg N ha}^{-1}$  no grão e  $91 \text{ kg N ha}^{-1}$  na palha.

Na soja cultivada em vasos, a combinação inóculo mais azoto foi determinante para se obterem valores elevados de matéria seca ( $63 \text{ g vaso}^{-1}$ ) e azoto recuperado ( $1.41 \text{ g vaso}^{-1}$ ). O mesmo aconteceu com o feijão trepador em que o tratamento com fertilizante azotado apresentou melhores resultados ( $63 \text{ g vaso}^{-1}$  de matéria seca e  $2 \text{ g vaso}^{-1}$  de azoto recuperado). Pelos resultados alcançados neste trabalho, conclui-se que as leguminosas estudadas têm elevado potencial de produção de grão e recuperação de azoto na parte aérea.

**Palavras-chaves:** fixação biológica de azoto; leguminosas de grão; leguminosas pratenses; adubação verde.

## Abstract

The production of nitrogen fertilizers accounts for almost a third of the energy consumed in modern agriculture. A significant part of this energy could be saved by the increase in biological nitrogen fixation, a process involving microorganisms capable of using atmospheric dinitrogen and transferring it to cultivated plants. These microorganisms can enhance the nitrogen availability in terrestrial ecosystems, causing great agronomic, economic and ecological impacts. Some plants, such as legumes, can establish symbiotic relationships with nitrogen-fixing microorganisms and taking some advantages in the competition with non-legume plants. For this reason, legumes are valuable components in forage mixtures or as pulses in crop rotations to reduce dependence on nitrogen fertilizers.

The objective of this work was to compare the performance of several legume species in their ability to access atmospheric dinitrogen. It included pasture legume species that were used as green manures for maize (*Zea mays*) cultivation and several grain legumes cultivated in rainfed and irrigated conditions. The pasture legumes were cultivated in field plots and the biomass and the soil where they were grown were later used in pot experiments to evaluate the green manuring effect on maize. Chickpea (*Cicer arietinum*) and cowpea (*Vigna unguiculata*) were rainfed grown. Common bean (*Phaseolus vulgaris*, cvs. Maravilha de Piemonte and Manteiga from Angola) were grown in irrigated conditions. Soybean (*Glycine max*) was also cultivated with irrigation and subjected to inoculation with specific rhizobia and without inoculation. Inoculated and non-inoculated plants were arranged in a factorial design with two rates of nitrogen (N applied and not applied). This experiment was carried out in pots. Also in pots, an experiment with common bean (cv. Helda, a climbing cultivar) was carried out which included two treatments (with and without the application of nitrogen). The trials were held in Bragança (NE Portugal), from September 2015 to October 2016.

In the experiment of pasture legumes for green manure, crimson clover (*Trifolium incarnatum*) produced more dry biomass than subterranean clover (*Trifolium subterraneum*). Nitrogen recovery was similar between the two species, but significantly higher than that recovery in the plots of natural vegetation (the control). Maize dry matter yield grown in the green manured plots was significantly higher in the pots of pasture legumes in comparison to control.

Chickpea produced higher values of grain, dry matter and nitrogen recovery (1505 kg ha<sup>-1</sup>, 2700 kg ha<sup>-1</sup>, and 50 kg ha<sup>-1</sup>, respectively) than cowpea (955 kg ha<sup>-1</sup>, 1788 kg ha<sup>-1</sup> and 43 kg ha<sup>-1</sup>, respectively) in the rainfed experiment. In irrigated plots, cowpea gave higher values of grain (3533 kg ha<sup>-1</sup>), straw (5413 kg ha<sup>-1</sup>) and nitrogen recovery in the grain (137 kg ha<sup>-1</sup>) and in the straw (110 kg ha<sup>-1</sup>) in spite of the differences to common bean (cv. Manteiga from Angola) had not statistical significance (3164 kg ha<sup>-1</sup>, 5466 kg ha<sup>-1</sup>, 113 kg ha<sup>-1</sup>, 91 kg ha<sup>-1</sup>, respectively).

In potted soybean, the combination of inoculation plus nitrogen addition was determinant to obtain high values of dry matter (63 g pot<sup>-1</sup>) and nitrogen recovery (1.41 g pot<sup>-1</sup>) in comparison to the treatment without inoculation and nitrogen (42 g pot<sup>-1</sup> and 0.45 g pot<sup>-1</sup>, respectively). In climbing bean the application of nitrogen also increased fry matter yield and nitrogen recovery (63 g pot<sup>-1</sup> and 2 g pot<sup>-1</sup>) in comparison to non-treated pots (47 g pot<sup>-1</sup> and 0.91 g pot<sup>-1</sup>).

From the results of this work we, can conclude that all the studied legumes have high capability to fix nitrogen from the atmosphere and to bring it to the cropping system.

**Keywords:** Biological nitrogen fixation; pasture legumes; pulse crops; green manures.

## Índice

Agradecimentos .....	iii
Resumo .....	v
Abstract.....	vii
Índice de figuras .....	xiii
Índice de tabelas .....	xv
I Introdução.....	1
1 Fixação biológica do azoto .....	1
1.1 Sistemas fixadores .....	2
1.1.1 Organismos livres.....	2
1.1.2 Associações não simbióticas .....	3
1.1.3 Sistemas simbióticos associados às leguminosas.....	4
1.3 Bioquímica da fixação .....	5
1.3 Infeção e nodulação .....	6
2 A importância das leguminosas na rotação .....	7
3 O uso de leguminosas como adubo verde .....	9
4 Notas sobre algumas leguminosas de grão .....	12
4.1 Feijão-comum .....	12
4.1.1 Origem e história.....	12
4.1.2 Classificação taxonómica.....	13
4.1.3 Morfologia.....	13
4.1.4 Importância da cultura de feijão.....	13
4.1.5 Produção mundial.....	14
4.1.6 Exigências ambientais .....	14
4.2 Feijão-frade .....	15
4.2.1 Origem e história.....	15
4.2.2 Classificação taxonómica.....	15
4.2.3 Morfologia.....	16
4.2.4 Importância da cultura.....	16
4.2.5 Produção mundial.....	17
4.2.6 Exigências ambientais .....	17
4.3 Soja .....	17
4.3.1 Origem e história.....	17

4.3.2	Classificação taxonómica.....	18
4.3.3	Morfologia.....	19
4.3.4	Importância da cultura.....	19
4.3.5	Produção mundial.....	20
4.3.6	Exigências ambientais .....	20
4.4	Grão-de-bico .....	22
4.4.1	Origem e história.....	22
4.4.2	Classificação taxonómica.....	22
4.4.3	Morfologia.....	22
4.4.4	Importância da cultura.....	23
4.4.5	Produção mundial.....	24
4.4.6	Exigências ambientais .....	24
5	Leguminosas pratenses .....	25
5.1	Trevo-encarnado .....	25
5.1.1	Origem e história.....	25
5.1.2	Classificação taxonómica.....	26
5.1.3	Morfologia.....	26
5.1.4	Exigências ambientais .....	26
5.2	Trevo-subterrâneo .....	27
5.2.1	Origem e história.....	27
5.2.2	Classificação taxonómica.....	27
5.2.3	Morfologia.....	27
5.2.4	Exigências ambientais .....	28
II	Material e métodos.....	29
1	Localização dos ensaios.....	29
1.1	Clima.....	29
1.2	Solo .....	30
2	Delineamento experimental.....	30
2.1	Leguminosas pratenses para sideração .....	31
2.2	Leguminosas de grão .....	31
2.2.1	Campo de sequeiro .....	31
2.2.2	Campo irrigado.....	32
2.2.3	Cultivo em vasos .....	33

2.2.4 Análises laboratoriais .....	34
2.2.5 Tratamento estatístico .....	34
III Resultados.....	35
3.1 Leguminosas pratenses .....	35
3.2 Leguminosas de grão .....	37
3.2.1 Campo de sequeiro.....	37
3.2.2 Campo irrigado.....	39
3.3 Cultivos em vasos .....	47
3.3.1 Soja.....	47
3.3.2 Feijão trepador.....	50
IV Discussão dos resultados .....	53
4.1 Leguminosas pratenses .....	53
4.2 Leguminosas de grão .....	55
4.3 cultivos em vasos .....	57
V Conclusão .....	59
VI Referências Bibliográficas .....	61



## Índice de figuras

Figura 1. Precipitação média acumulada e temperatura média do ar mensais, para o período em que decorreram os ensaios, registadas na estação meteorológica da Qta de Sta Apolónia em Bragança. ....	29
Figura 2. Matéria seca, concentração de azoto e azoto exportado na biomassa aérea em trevo-encarnado (T enc), trevo-subterrâneo (T sub) e vegetação espontânea (Test). As barras de erro indicam o intervalo de confiança para as médias ( $\alpha=0,05$ ). ....	36
Figura 3. Matéria seca, concentração de azoto e azoto recuperado na biomassa aérea do milho cultivado em vasos em que foram incorporados trevo-encarnado (T enc), trevo-subterrâneo (T sub) ou vegetação espontânea (Test). As barras de erro indicam o intervalo de confiança para as médias ( $\alpha=0,05$ ). ....	37
Figura 4. Matéria seca, concentração de azoto e azoto exportado na palha e vagem/grão ao longo da estação de crescimento, em grão-de-bico cultivado em sequeiro. As barras de erro indicam o intervalo de confiança para as médias ( $\alpha=0,05$ ). ....	38
Figura 5. Matéria seca, concentração de azoto e azoto exportado na palha e no grão ao longo da estação de crescimento, em feijão-frade cultivado em sequeiro. As barras de erro indicam o intervalo de confiança para as médias ( $\alpha=0,05$ ). ....	39
Figura 6. Matéria seca, concentração de azoto e azoto exportado na palha e no grão ao longo da estação de crescimento, em feijão-comum (cv. Manteiga) cultivado em regadio. As barras de erro indicam o intervalo de confiança para as médias ( $\alpha=0,05$ ). ..	40
Figura 7. Matéria seca, concentração de azoto e azoto exportado na palha e no grão ao longo da estação de crescimento, em feijão-comum (cv. Maravilha de piemonte) cultivado em regadio. As barras de erro indicam o intervalo de confiança para as médias ( $\alpha=0,05$ ). ....	41
Figura 8. Matéria seca, concentração de azoto e azoto exportado na palha e no grão ao longo da estação de crescimento, em feijão-frade cultivado em regadio. As barras de erro indicam o intervalo de confiança para as médias ( $\alpha=0,05$ ). ....	42
Figura 9. Matéria seca na palha e no grão ao longo da estação de crescimento em soja inoculada (esquerda) e não inoculada (direita). As barras de erro indicam o intervalo de confiança para as médias ( $\alpha=0,05$ ). ....	43

Figura 10. Concentração de azoto na palha e no grão ao longo da estação de crescimento em soja inoculada (esquerda) e não inoculada (direita). As barras de erro indicam o intervalo de confiança para as médias ( $\alpha=0,05$ ). .....	44
Figura 11. Azoto recuperado na palha e no grão ao longo da estação de crescimento em soja inoculada (esquerda) e não inoculada (direita). As barras de erro indicam o intervalo de confiança para as médias ( $\alpha=0,05$ ). .....	44
Figura 12. Matéria seca, concentração de azoto e azoto recuperado na totalidade da biomassa aérea em vegetação espontânea que se desenvolveu em regadio. As barras de erro indicam o intervalo de confiança para as médias ( $\alpha=0,05$ ). .....	45
Figura 13. Matéria seca na palha e no grão em soja cultivada em vasos a) com inóculo e com azoto, b) sem inóculo e com azoto, c) com inóculo e sem azoto, e d) sem inóculo e sem azoto. As barras de erro indicam o intervalo de confiança para as médias ( $\alpha=0,05$ ). .....	48
Figura 14. Concentração de azoto na palha e no grão em soja cultivada em vasos a) com inóculo e com azoto, b) sem inóculo e com azoto, c) com inóculo e sem azoto, e d) sem inóculo e sem azoto. As barras de erro indicam o intervalo de confiança para as médias ( $\alpha=0,05$ ). .....	49
Figura 15. Azoto recuperado na palha e no grão em soja cultivada em vasos a) com inóculo e com azoto, b) sem inóculo e com azoto, c) com inóculo e sem azoto, e d) sem inóculo e sem azoto. As barras de erro indicam o intervalo de confiança para as médias ( $\alpha=0,05$ ). .....	50
Figura 16. Matéria seca na palha e no grão em feijão de trepar cultivado em vasos a) com adição de azoto e b) sem adição de azoto. As barras de erro indicam o intervalo de confiança para as médias ( $\alpha=0,05$ ). .....	51
Figura 17. Concentração de azoto na palha e no grão em feijão de trepar cultivado em vasos a) com adição de azoto e b) sem adição de azoto. As barras de erro indicam o intervalo de confiança para as médias ( $\alpha=0,05$ ). .....	51
Figura 18. Azoto recuperado na palha e no grão em feijão de trepar cultivado em vasos a) com adição de azoto e b) sem adição de azoto. As barras de erro indicam o intervalo de confiança para as médias ( $\alpha=0,05$ ). .....	52

## **Índice de tabelas**

Tabela 1. Características do solo determinadas a partir de uma amostra colhida no momento da instalação da experiência em 2015. ....	30
Tabela 2. Esquema de cortes de biomassa no ensaio de sequeiro. ....	32
Tabela 3. Esquema de corte de biomassa no ensaio irrigado. ....	33
Tabela 4. Produção média de grão, biomassa total da parte aérea e azoto recuperado no grão e na biomassa total.....	46



## **I Introdução**

### **1 Fixação biológica do azoto**

O azoto é um dos elementos mais importantes à vida. Sendo um dos elementos mais abundantes no universo (aproximadamente 78% do ar atmosférico é composto de azoto) é um dos elementos mais escassos no solo e dos mais dispendiosos quando utilizado em nutrição vegetal, animal ou humana.

Segundo Havlin et al. (2014) o azoto é obtido pela planta através de duas fontes principais: (a) o solo, cuja origem podem ser fertilizantes comerciais, adubos verdes, e mineralização da matéria orgânica; e (b) a atmosfera, recebido via fixação biológica de  $N_2$  e deposições atmosféricas húmidas e secas. O mesmo autor refere que o azoto é essencial para o crescimento normal das plantas, fazendo parte de processos biológicos e sendo um componente básico dos constituintes celulares como proteínas e ácidos nucleicos.

De acordo com Espindola et al. (2005) a produção de fertilizantes azotados é responsável por mais ou menos um terço da energia consumida na agricultura moderna, e envolve grandes custos para os agricultores. Esse consumo de energia poderia ser reduzido significativamente pelo incremento da fixação biológica de azoto.

A fixação biológica de azoto é um processo que consiste na redução de azoto atmosférico através da enzima nitrogenase, que se encontra em alguns microrganismos de vida livre ou que são capazes de se associar a certas plantas (Espindola et al., 1997). A associação entre leguminosas e bactérias dos géneros *Rhizobium* e *Bradyrhizobium* forma uma das principais fontes biológicas de azoto para os solos agrícola. As referidas bactérias formam nódulos nas raízes das leguminosas, onde se processa a fixação de azoto atmosférico.

Espindola et al. (2005) refere que o azoto fixado é transferido para as leguminosas na forma de aminoácidos, enquanto carboidratos produzidos por essas plantas são fornecidos às bactérias e servem como fonte de energia.

A quantidade de azoto fixado por leguminosas varia em função das espécies e das condições de clima e solo. Em alguns casos as quantidades fixadas podem ser superiores a 100 kg de N/há (Espindola et al., 1997).

Para Embrapa (2016) a fixação biológica do azoto oferece benefícios económicos, sociais e ambientais como: i) redução de emissão de gases causadores do

efeito estufa; ii) menor uso de combustíveis fósseis usados no fabrico de fertilizantes nitrogenados; iii) menor perda de nutrientes e menor contaminação de rios e lençóis freáticos; iv) diminuição de problemas como lixiviação, escoamento e erosão; v) melhoria das condições do solo com o aumento da massa verde assegurando a manutenção da biodiversidade; e vi) diminuição dos custos de produção pela diminuição do uso de fertilizantes nitrogenados.

A fixação biológica contribui para a produtividade de uma forma direta, onde o azoto fixado é colhido no grão ou outros alimentos para consumo humano ou animal, ou indiretamente, contribuindo para a manutenção ou melhoria da fertilidade do solo do sistema agrícola, adicionando azoto ao solo. Segundo Hungria et al. (2001), estima-se que a fixação biológica de azoto contribui com cerca de 65 % da fixação anual de azoto, sendo o principal mecanismo responsável pela manutenção da vida na terra.

Para Fernández-Pascual et al. (2002) a fixação biológica de azoto representa uma alternativa à fertilização nitrogenada para os agricultores, já que pode minimizar os efeitos negativos desta, produzidos a nível ambiental.

## **1.1 Sistemas fixadores**

De acordo com Mayz-Figueroa (2004) entre os microrganismos envolvidos na fixação biológica de azoto encontram-se bactérias, algas verde-azuis (cianobactérias) e actinomicetes. Podem fixar azoto vivendo livres, formando associações ou vivendo em simbiose com plantas hospedeiras. Todos estes microrganismos têm uma característica comum, a capacidade de utilizar  $N_2$ , mas diferem na fisiologia, estrutura metabólica e características genéticas.

### **1.1.1 Organismos livres**

Entre as bactérias de vida livre podem encontrar-se anaeróbias obrigatórias ou facultativas (*Clostridium pasteurianum*, *Klebsiella* spp., *Desulfovibrio* spp.), aeróbias obrigatórias (*Azotobacter* spp., *Beijerinckia* spp.) e fotossintéticas (bactérias purpuras sulfuradas) (Mayz-Figueroa, 2004). Ainda de acordo com este autor, as bactérias aeróbicas dependem fortemente das condições de humidade, oxigénio e matéria orgânica, enquanto as anaeróbicas predominam em solos alagados onde existe humidade e matéria orgânica, mas o fornecimento de oxigénio é restringido. A fixação

biológica nos solos tropicais, com condições ambientais favoráveis (humidade, temperatura e matéria orgânica), é geralmente alta. O mesmo autor refere que o número de bactérias fixadoras de azoto é maior na zona adjacente à raiz (rizosfera), devido a libertação de compostos orgânicos que servem de substrato alimentar.

As bactérias aeróbicas usam dois mecanismos de proteção da nitrogenase: i) a proteção respiratória, onde se produz uma elevada taxa respiratória a troco de um alto consumo de carbono e energia, mantendo-se a concentração intracelular de oxigénio baixa; e ii) a proteção conformacional, na qual a nitrogenase troca o seu estado a uma forma reversível inativa (Fernández-Pascual et al., 2002).

As cianobactérias têm uma ampla distribuição e ocupam uma grande variedade de habitats, que incluem solo e água, tanto de regiões tropicais e temperadas como de climas extremos (Mayz-Figueroa, 2004). Apresentam uma grande diversidade morfológica, desde unicelulares até multicelulares filamentosas e com ou sem a parceria de heterocistos. Nas cianobactérias o azoto reduzido na forma de amoníaco é incorporado em esqueletos carbonados (2-oxoglutarato) através do ciclo da glutamina sintetase-glutamato síntese para a biossíntese de glutamato e compostos nitrogenados derivados (Mayz-Figueroa, 2004).

Segundo Mayz-Figueroa (2004), os actinomicetas são bactérias filamentosas Gram-positivas, comuns no solo, especialmente em solos de elevado pH e pouca humidade.

## **1.1.2 Associações não simbióticas**

### **1.1.2.1 Bactéria-filosfera**

Várias bactérias fixadoras de azoto podem colonizar a filosfera, termo usado por alguns investigadores para referir a superfície adaxial e abaxial da folha, e por outros a folha completa, incluindo o ambiente interno (Mayz-Figueroa, 2004). Foi observado que as bactérias mais abundantes nas folhas são as pigmentadas (*Methylobacterium mesophilicum*, *Pseudomonas syringae*), às quais foi atribuída uma melhor adaptação aos raios solares (Mayz-Figueroa, 2004). O mesmo refere que espécies dos géneros *Beijerinckia* e *Azotobacter* também se encontram em cultivos, e tem sido relatado o seu efeito benéfico no crescimento das plantas.

### **1.1.2.2 Bactéria-Rizosfera**

De acordo com Mayz-Figueroa (2004) o termo rizosfera foi usado por Hiltner em 1904 quando observou pela primeira vez a acumulação de microrganismos na zona radicular da planta. Os exsudatos radiculares, formados por substâncias diversas criam ao redor das raízes “rizosfera” um ambiente nutricional enriquecido que favorece o crescimento bacteriano. De acordo com o mesmo autor, a composição e a quantidade de exsudatos variam com a espécie presente e condições abióticas, como água e temperatura.

A relação que se estabelece entre bactérias e plantas pode ser favorável, prejudicial ou neutra. Dentro das relações favoráveis encontra-se a associação com bactérias fixadoras de azoto, como espécies dos gêneros *Azospirillum*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Pseudomonas* e *Burkholderia* (Mayz-Figueroa, 2004).

### **1.1.3 Sistemas simbióticos associados às leguminosas**

Segundo Orive e Temprano (1983) os primeiros trabalhos que demonstraram a simbiose *Rhizobium*-leguminosas e sua capacidade para fixar azoto atmosférico foram realizados por Hellriegel e Wilfarth em 1888. Este tipo de associação é a que proporciona maior quantidade de azoto aos ecossistemas terrestres, tendo um grande impacto a nível agronómico e ecológico (Fernández-Pascual et al., 2002).

A associação entre rizóbios e leguminosas é o tipo de associação mais estudada devido a sua peculiaridade na capacidade de formação de nódulos radiculares e devido a importância agrícola das espécies dessa família (Júnior e Reis, 2008).

Nesta relação, a redução do azoto acontece em estruturas morfológicamente definidas denominadas nódulos, que se formam pela associação dos microrganismos dos gêneros *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium*, *Azorhizobium* e *Mesorhizobium* em raízes de leguminosas (Fernández-Pascual et al., 2002).

Segundo Fernández-Pascual et al. (2002) a associação entre o microsimbionte, a espécie de *Rhizobium*, e a leguminosa é específica e só se estabelece quando no solo existe a estirpe de rizóbio adequado à planta. Esta relação simbiótica é controlada geneticamente tanto pela planta como pela bactéria e ocorre através de uma sequência de estados de desenvolvimento que culminam no estabelecimento de uma simbiose efetiva o nódulo fixador de azoto (Mayz-Figueroa, 2004).

De acordo com Mayz-Figueroa (2004) para que se estabeleça a relação simbiótica devem ocorrer as seguintes etapas: i) multiplicação das bactérias na rizosfera; ii) colonização da rizosfera; iii) entrada das bactérias na raiz; iv) enrolamento dos pelos radiculares (ocorre nas raízes quando a infecção acontece via pelos radiculares, em alguns casos a infecção ocorre através das raízes laterais ou raiz principal); v) formação dos fios ou de zonas intercelulares de infecção; vi) crescimento do fio de infecção até às células corticais ou invasão direta das mesmas; e vii) diferenciação celular e desenvolvimento do nódulo. Segundo o mesmo autor, o tipo e estrutura nodular é dependente da planta hospedeira.

### **1.3 Bioquímica da fixação**

Fernández-Pascual et al. (2002) referem que existem grandes diferenças na morfologia e fisiologia de todos organismos fixadores de azoto, mas o processo que se leva a cabo nestes organismos executado pelo complexo enzimático Nitrogenase é similar para todos. Segundo Pope et al. (1985); Lowery et al. (1986) e Ludden (2001) o complexo enzimático nitrogenase é responsável pela redução da molécula de  $N_2$  a  $NH_3$ . Também reduz o acetileno a etileno (Ludden, 2001).

Segundo Lowery et al. (1986) e Ludden (2001) a enzima é composta por duas proteínas: i) a dinitrogenase redutase (Fe-proteína) contem ferro e enxofre, e ii) a dinitrogenase (FeMo-proteína) que contem 24 átomos de ferro e 2 átomos de molibdeno. Segundo Lowery et al. (1986) a reação em que se dá a nitrogenase consome no mínimo 16 moléculas de ATP por cada  $N_2$  reduzido. Para Ludden (2001) estima-se que 20 a 30 moléculas de ATP são hidrolisadas para cada  $N_2$  reduzido.

Soto-Urzúa e Baca (2001) afirmam que a atividade da nitrogenase é gravemente interrompida pelo  $O_2$  e concentrações elevadas pode causar danos irreversíveis a enzima. O mesmo autor relata que para colmatar essas dificuldades os microrganismos fixadores de azoto criaram um conjunto de estratégias como: i) saída de  $O_2$  e desenvolvimento em ambientes anaeróbicos, ii) criação de barreiras físicas de proteção, iii) eliminação do  $O_2$  pelo metabolismo e reduzir a sua concentração para níveis aceitáveis perto do complexo enzimático, iv) alteração da nitrogenase, de modo a resistir a inativação, e v) síntese contínua da nitrogenase alterando o equilíbrio entre a inativação e a síntese.

### 1.3 Infecção e nodulação

A relação e interação entre as diferentes comunidades de organismos do solo contribuem para a manutenção da vida no solo, e para diversos outros processos que estão intimamente ligados a cadeia trófica.

Os componentes mais numerosos da fração biológica do solo são os microrganismos representados por integrantes da microfauna (protozoários) e da microflora (fungos, bactérias, algas e vírus). Estes organismos participam ativamente da decomposição de resíduos orgânicos, dos ciclos de reciclagem de azoto, fósforo, enxofre e da decomposição dos poluentes (Embrapa, 1994).

O maior sucesso em termos de práticas agrícolas modificadas resultantes da investigação científica sobre fixação biológica de azoto tem sido, sem dúvida, o desenvolvimento de rizóbios inoculantes. O uso de inóculos permitiu a introdução bem sucedida de leguminosas em novos sistemas de produção, onde os rizóbios compatíveis estavam ausentes dos solos. Segundo Hungria et al. (2001) a inoculação é sempre necessária para garantir bons rendimentos no cultivo da soja.

A formação de um simples nódulo é resultante de um processo complexo, envolvendo diversas fases. Inicialmente as sementes em germinação e as raízes exsudam um tipo de moléculas que atraem quimicamente os rizóbios, outras que estimulam o crescimento das bactérias na rizosfera da planta hospedeira e outras que desencadeiam a expressão de diversos genes, tanto da bactéria como da planta hospedeira. A seguir, as bactérias penetram na raiz da planta e provocam o crescimento de células específicas da planta hospedeira, formando nódulos onde ficarão alojados (Hungria et al., 2001).

A fixação biológica de azoto envolve uma sucessão de processos que começam com a adaptação da bactéria à planta e culminam na fixação do  $N_2$  atmosférico. A nodulação ocorre aproximadamente 2 horas após o contato da bactéria com as raízes. Os nódulos primários desenvolvem-se em regiões de alongamento e nas zonas de formação de pequenos pelos radiculares, considerada a região preferencial para a infecção da bactéria fixadora (Fagan et al., 2007).

Fagan et al. (2007) relatam que o processo de infecção pelo rizóbio envolve diferentes agentes sinalizadores entre a planta e a bactéria. A bactéria noduladora migra em direção às raízes em função de uma resposta quimiostática. Segundo o mesmo autor

essa resposta é decorrente da atração exercida pelos isoflavonóides e betaínas secretadas pelas raízes. Esses atrativos para as bactérias ativam enzimas, as quais induzem a transcrição de genes de nodulação Nod. Estes genes codificam moléculas sinalizadoras de oligossacarídeos de lipoquitina. A planta hospedeira apresenta receptores que parecem ser lecitinas especiais produzidas nos pelos radiculares. Durante o contato, as células dos pelos radiculares libertam fatores de nodulação (Nod) causando o seu enrolamento. Com a evolução da infecção é formado um canal dentro do pelo radicular, enquanto que no periciclo é iniciado o rearranjo do citoesqueleto microtubular. Posteriormente acontece a ativação das células na zona interna do córtex, as quais se dividem formando um primórdio. De seguida, ocorre nos pelos radiculares a infecção, localizada a uma distância da área radicular ativada. A ativação celular estende-se progressivamente para o meio e a parte mais externa do córtex de acordo com dois gradientes de diferenciação celular, resultando na formação de um primórdio nodular.

Fagan et al. (2007) explicam o processo de forma cronológica através de estágios de crescimento e desenvolvimento nodular: estágio 0, corresponde à raiz não infetada; estágio I, início da infecção; estágio II, as células corticais externas começam a dividir-se; estágio III, a divisão é evidente no córtex interno e algumas células do córtex externo; estágio IV, as células são mais isodiamétricas e apresentam algumas divisões oblíquas externamente e internamente no córtex, formando um meristema nodular; estágio V, o meristema é aumentado; e estágio VI, verifica-se o nódulo.

Durante o crescimento do nódulo as bactérias internalizadas são libertadas para produzir infecções no citoplasma. Elas começam a dividir-se e a membrana que as envolve aumenta em superfície para acomodar esse crescimento pela fusão com vesículas menores (Fagan et al., 2007).

## **2 A importância das leguminosas nas rotações**

A maioria das leguminosas estabelece uma simbiose com bactérias que crescem em nódulos que se formam nas raízes. Por essa razão, as leguminosas são componentes valiosos em misturas forrageiras com gramíneas e na rotação de culturas, para diminuir a dependência de fertilizantes nitrogenados (Barnes et al., 2003).

Barnes et al. (2003) avaliaram 24 experiências e verificaram que a introdução de uma leguminosa na pastagem de capim proporcionou um aumento do ganho médio

diário de novilhos e bezerros de corte, em comparação com adubação de azoto nas mesmas pastagens. Segundo Espindola et al. (2005) a fixação biológica de azoto pelas leguminosas contribui de maneira significativa para o fornecimento desse nutriente para outras culturas, podendo levar a autossuficiência dos agroecossistemas em relação a esse elemento.

Para Arruda e Costa (2003) as leguminosas são plantas maleáveis, que podem ser consociadas ou não, adaptáveis aos mais variados usos, de acordo com as necessidades do agricultor. Podem ser usadas na recuperação de pastagens degradadas, no aumento da produção de forragem. Por outro lado, promovem a reciclagem e a incorporação de quantidades significativas de nutrientes no solo, sobre tudo azoto, podendo reduzir a aplicação de adubos nitrogenados. Estes autores referem resultados satisfatórios, quando se utilizaram leguminosas em consórcio e na rotação em solos pobres e altamente suscetíveis a erosão, com um aumento significativo de matéria seca produzida.

Arruda e Costa (2003) referem estudos em que se testaram várias plantas leguminosas com objetivo de controlar as ervas daninhas. Observou-se que algumas plantas controlaram as ervas daninhas, pois cobriram toda a superfície do solo. Perin et al. (2004) concluem que a produção de biomassa de uma leguminosa pode ser significativamente maior que a da vegetação espontânea e do milheto. Quando consociada, contribui com grande percentagem para a biomassa produzida elevando a produtividade comparativamente ao cultivo isolado.

De acordo com Buckles e Barreto (1996) as leguminosas apresentam características atrativas para serem usadas em diferentes sistemas agroflorestais, inclusive nos sistemas silvipastoris em que se combinam árvores nas pastagens, especialmente no que se refere à fixação biológica de azoto e à deposição de matéria orgânica no solo com alto conteúdo de azoto, o que poderá ajudar a manter a produção e a diversidade biológica do sistema.

A utilização de plantas leguminosas na consociação possibilita a pronta disponibilidade de azoto para a cultura principal no momento do corte da leguminosa. Neste caso, a cultura principal obtém N<sub>2</sub> fixado pela leguminosa, pela excreção direta de compostos nitrogenados e pela decomposição dos nódulos e raízes, ou pela decomposição da parte aérea da leguminosa que irá decompor-se e libertar os nutrientes durante o desenvolvimento da cultura principal (Castro et al., 2004).

De acordo com Espindola et al. (1997) o uso de leguminosas herbáceas em sistemas de rotação, para além de aumentar a capacidade de troca catiónica do solo e reduzir as perdas de nutrientes por lixiviação, também permite o aporte de azoto ao solo disponibilizando assim este nutriente para outras culturas, devido a simbiose dessas espécies com bactérias fixadoras de azoto.

Para Galantini et al. (2002) a incorporação de azoto através de leguminosas está tão sujeita a perdas como em aplicação de fertilizante mineral. Mas existe um ganho de azoto residual, como consequência da maior fixação de azoto atmosférico e uma conservação mais eficiente.

Espindola et al. (2005) referem que o consórcio com uma leguminosa sobre a produção do quiabo, mostrou diferenças significativas no número de frutos colhidos, com maiores valores observados em plantas de quiabo consociadas com leguminosas em relação à monocultura.

### **3 O uso de leguminosas como adubo verde**

A família Fabaceae, é composta pelas subfamílias Mimosoideae, Caesalpinioideae e Papilionoideae. Tem cerca de 670 géneros e 18.000 espécies, com distribuição cosmopolita. São plantas de hábito muito variado, desde grandes árvores, arbustos, ervas anuais ou perenes até muitas trepadeiras e que vivem nos mais variados ambientes em diferentes latitudes e altitudes (Santos e Carvalho, 2005). As plantas dessa família são diferenciadas de outras por terem simbiose com alguns microrganismos do solo (bactérias do género *Rhizobium*, *Bradyrhizobium* e *Azorhizobium*), que convertem o azoto atmosférico em substâncias azotadas que a planta pode absorver, o que permite a essas espécies o sucesso da sua adaptação aos diferentes ecossistemas por não dependerem totalmente do solo para o fornecimento de azoto (Arruda e Costa, 2003).

As leguminosas são uma família de plantas muito importante, porque muitas espécies são utilizadas pelo homem de maneira diversificada, tanto na alimentação humana como na animal, pela utilização não apenas das sementes, mas também dos frutos, folhas, raízes e flores de certas espécies (Santos e Carvalho, 2005).

De acordo com Castro et al. (2004) existem várias formas de utilização de leguminosas como fonte de azoto para o solo. No entanto, a forma de utilização mais

comum é sob a forma de pré-cultivo, em que o adubo verde procede a cultura principal, que se beneficia posteriormente com a mineralização do azoto.

A adubação verde é uma prática milenar conhecida por gregos, romanos e chineses desde antes da era cristã para melhorarem o desempenho da agricultura. Há mais de três mil anos, os gregos já beneficiavam dos efeitos proporcionados ao solo pelo cultivo de lentilhas, espécies de fava e outras plantas da família das leguminosas. Na China, por volta de 1200 a. C., muitas plantas dessa família já eram usadas como fertilizantes (Sagrilo et al., 2009). De acordo com o mesmo autor existem muitos relatos que dão conta do uso de adubação verde por povos da Macedónia e Thessalia por volta de 400 a. C.

A adubação verde é uma prática agrícola que consiste na plantação de espécies vegetais em rotação ou em consórcio com culturas de interesse económico. Essas espécies apresentam ciclo anual ou perene, cobrindo o terreno por determinado período de tempo durante todo o ano. Depois de cortadas, podem ser incorporadas ou mantidas em cobertura sobre a superfície do terreno proporcionando melhoria das características físicas químicas e biológicas do solo (Espindola et al., 2005).

Segundo Perin et al. (2004) entre as espécies empregadas na adubação verde, as da família das leguminosas destacam-se por formarem associações simbióticas com bactérias fixadoras de  $N_2$ , resultando no aporte de quantidades significativas deste nutriente ao sistema solo planta contribuindo para a fertilização de culturas subsequentes. Ainda de acordo com estes autores, uma das características importantes das leguminosas é a sua baixa relação C/N, quando comparada com as plantas de outras famílias. Este aspeto, aliado a grande presença de compostos solúveis, favorece a sua rápida decomposição e mineralização por microrganismos do solo bem como a reciclagem de nutrientes.

De acordo com Alcântara et al. (2000) o uso da adubação verde é uma forma viável de amenizar os impactos da agricultura trazendo sustentabilidade aos solos agrícolas. Ainda para o mesmo autor as leguminosas são geralmente as plantas mais usadas na adubação verde, devido ao aumento do teor de azoto no solo por fixação biológica e ainda por contribuir para a reciclagem de nutrientes no solo.

Para Oliveira et al. (1998) o uso de leguminosas como adubos verdes em fruteiras, tem sido indicado como forma de preservação do ambiente. Algumas

pesquisas indicam que determinadas leguminosas podem acumular 100 a 200 kg/ha de azoto. Segundo o mesmo autor a função de uma leguminosa incorporada como adubo verde é, basicamente, a de prover o solo com matéria orgânica rica em azoto, ativar a biologia do solo, reciclar nutrientes, dar melhor acondicionamento físico ao solo para melhor desenvolvimento das plantas e aumentar a capacidade produtiva do solo.

Espindola et al. (2005) referem que o efeito da adubação verde de inverno com leguminosa na cultura do milho permitiu uma produção de grão de milho similar à obtida com adição de 80 kg de N/ha na forma de ureia. O mesmo autor afirma que a manutenção dos resíduos de leguminosas sobre a superfície do solo elevou a produção de mandioca e de quiabo, quando comparadas com as produções obtidas com a incorporação dos resíduos.

O uso de leguminosas na adubação verde tem um papel relevante para o produtor, visto que vários estudos revelam que é uma das alternativas para controlar fitonematoides que vêm causando sérios problemas na produtividade de hortícolas em várias partes do mundo (Morais et al., 2006).

Castro et al. (2004) referem que a quantidade de azoto introduzido pela fixação biológica com origem na adubação verde foi suficiente para compensar o azoto exportado pela colheita do fruto em beringela.

Segundo Sagrilo et al. (2009) há vários efeitos benéficos causados pelas plantas de cobertura nas propriedades químicas, físicas e biológicas do solo, como: acumulação de matéria orgânica; maior disponibilidade de macro e micro nutrientes; contribuição para o aumento da capacidade de troca catiónica; diminuição dos efeitos tóxicos do alumínio; minimização da quantidade de nutrientes lixiviados; melhoria na estrutura do solo pelo efeito da matéria orgânica; aumento da capacidade de retenção de água; e diminuição da densidade do solo pelo efeito da matéria orgânica. Segundo Espindola et al. (2005) a adubação verde, contribui com grandes quantidades de biomassa ao solo o que permite um aumento do teor de matéria orgânica ao longo dos anos, o que contribui para a diminuição da densidade do solo.

A adubação verde melhora o aproveitamento dos fertilizantes minerais, proporcionando aumentos na produção porque o adubo verde mobiliza os nutrientes das camadas mais profundas tornando-os disponíveis para as culturas subsequentes (Arf et al., 1999).

Espindola et al. (1997) relataram que a partir da decomposição dos resíduos vegetais pode ocorrer uma diminuição na acidez do solo, uma vez que durante a decomposição dos resíduos, são produzidos ácidos orgânicos com capacidade de complexar iões  $Al^{3+}$  presentes na solução do solo, reduzindo assim o alumínio tóxico do solo.

De acordo com Sagrilo et al. (2009) além de outros efeitos promovidos pela adubação verde, pode ainda destacar-se a atuação sobre a diminuição do impacto direto das gotas da chuva que degradam as partículas do solo. Espindola et al. (2005) referem estudos em que numa avaliação realizada em latossolo vermelho-escuro na região do cerrado (Brasil), se comprovou o efeito benéfico da adubação verde na estabilidade e na resistência dos agregados. Segundo os autores as causas para os resultados apresentados, incluem o aumento da atividade microbiana, associado ao fornecimento de material orgânico e a proteção do solo contra o impacto das chuvas.

A adubação verde causa impactos positivos sobre diversos componentes da fauna do solo, alterando a densidade das populações e a diversidade de espécies (Espindola et al., 2005). O material orgânico fornecido pelos adubos verdes favorece a atividade dos organismos do solo, uma vez que os seus resíduos servem como fonte de energia e nutrientes (Sagrilo et al., 2009).

Espindola et al. (1997) referem que, de entre os organismos do solo favorecidos pela adubação verde, merecem destaque os fungos micorrízicos arbusculares. Para os autores, esses fungos associam-se às raízes da maioria das espécies cultivadas, trazendo vantagens como o aumento da absorção de água e nutrientes, a agregação de partículas de solo e resistência a determinados patógenos.

## **4 Notas sobre algumas leguminosas de grão**

### **4.1 Feijão-comum**

#### **4.1.1 Origem e história**

O feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma planta leguminosa nativa do novo mundo, com origem no México, América Central e norte da América do Sul (Adsule et al., 1998). De acordo com Ripado (1992) essa cultura, foi introduzida na Europa pelos espanhóis no século XVI. Segundo o mesmo autor, a obtenção de linhas puras foi facilitada pela autogamia da planta, seguido de trabalhos de seleção e

melhoramento controlado, que possibilitaram a criação de variedades em número já considerável.

Segundo Illasca e Vesperinas (1992) o feijão foi domesticado no Peru e América Central no ano de 7680 a.C.. No México a cultura terá sido domesticada por volta do ano 7000 a.C., havendo também evidências de domesticação no norte da Argentina e Brasil na mesma altura. De acordo com Gardé e Gardé (1998) apesar de não haver registros da planta do feijão sob forma espontânea, varias pesquisas demostram a existência dessa espécie nos alimentos encontrados nos túmulos peruvianos.

#### **4.1.2 Classificação taxonómica**

O feijão-comum pertence ao género *Phaseolus* e à espécie *Phaseolus vulgaris* Míguez (2000). De acordo com o mesmo autor, pertence a classe Dicotyledoneae, subclasse Rosidae, superordem Fabanae, ordem Fabales; família Fabaceae e subfamília Papilionoideae.

#### **4.1.3 Morfologia**

Atualmente cultivam-se dois tipos de feijoeiro o tipo arbustivo e o trepador. São plantas anuais com folhas trifoliadas. Nos tipos arbustivos a inflorescência desenvolve-se quase simultaneamente, enquanto que nas plantas trepadoras as flores aparecem umas depois das outras por um largo período de tempo (Adsule et al., 1998).

#### **4.1.4 Importância da cultura de feijão**

O feijão é um alimento de grande valor para consumo humano, sendo considerado dos mais equilibrados de todas as hortícolas. O grão seco tem valor nutritivo sensivelmente superior ao da vagem crua merecendo realce o elevado provimento de azoto (Ripado, 1992).

Para Almeida (2006) o feijão é uma cultura melhoradora, de crescimento rápido. Constitui um bom precedente cultural para as solanáceas, apiáceas, aliáceas e cucurbitáceas. A consociação com outras culturas permite um maior aproveitamento da radiação incidente, melhora a fertilidade do solo e os produtos colhidos são complementares do ponto de vista nutritivo.

Segundo Ripado (1992) desde o início da sua introdução na Europa que o feijão tem sido cultivado para fins alimentares quer aproveitando a vagem quer a semente. Mais tarde foi cultivado como cultura arvense destinado à alimentação dos animais domésticos e para enriquecer o solo.

#### **4.1.5 Produção mundial**

De acordo com as estatísticas da FAO (FAOSTAT, 2016) a produção de feijão-comum em 2014 situou-se em torno de 25,1 milhões de toneladas, tendo aumentado relativamente ao período de 2009 a 2013. Grande parte da produção mundial encontra-se na Ásia, que representa 42,5% da produção mundial, seguida pela América 30,3 %, África 24,5 %, Europa 2,5% e Oceânia 0,2 %.

De entre os maiores produtores mundiais por país estão a Índia, com 3,870,000 t, Myanmar 3,718,660 t, Brasil 3,093,592 t, México 1,284,295 t, USA 1,219,755 t. Em Portugal a produção no ano de 2014 foi de 2,350 toneladas e em Angola 401,500 toneladas.

#### **4.1.6 Exigências ambientais**

O feijoeiro é uma planta de climas quentes, subtropicais. Nas regiões temperadas, esta planta anual semi-rústica, recente-se das baixas temperaturas, razão porque seca e morre logo que surgem os primeiros frios (Ripado, 1992).

O feijão tolera elevadas temperaturas melhor que a ervilha. É uma planta que requer tipicamente temperaturas abaixo de 35 °C. Para um ótimo desenvolvimento da planta a temperatura ideal situa-se entre os 15 – 35 °C (Adsule et al., 1998).

O feijão é uma espécie muito sensível ao frio, bastando um ou dois graus abaixo de zero para a sua destruição. No entanto, e apesar disso, pode cultivar-se em várias zonas climáticas (Illasca e Vesperinas, 1992).

É uma planta que se desenvolve bem em terrenos leves e soltos ou de consistência média. De acordo com Illasca e Vesperinas (1992) não apresenta bom desenvolvimento em solos argilosos.

Adsule et al. (2004) referem que o feijoeiro é uma cultura que cresce e dá bom rendimento em solos argilosos ou areno-argilosos. Pode, contudo, cultivar-se facilmente

em muitos tipos de solos, tanto nos que são mais ligeiros como nos mais pesados. O pH do solo não deve ser inferior a 5,5, devendo situar-se entre 6,0 a 6,8. Os solos calcários proporcionam vagens de má qualidade. O solo deve estar bem provido de matéria orgânica. O feijoeiro é muito sensível à salinidade do solo, que facilmente pode originar a morte da planta ou, pelo menos, originar uma produção escassa e de má qualidade (Illasca e vesperinas, 1992).

## **4.2 Feijão-frade**

### **4.2.1 Origem e história**

Segundo Gardé e Gardé (1998) o feijão-frade (*Vigna unguiculata*) é cultivado desde tempos pré-históricos. Teve a sua origem na África central de onde irradiou, através do Egito, para a Ásia e para toda a região mediterrânica. Foi descrita pelos primeiros escritores romanos como sendo uma planta muito importante. Provavelmente foi introduzida na Península Ibérica pelos muçulmanos (Gardé e Gardé, 1998; Filho et al., 2011). Segundo Melo (2009) é uma cultura que apresenta uma ampla distribuição mundial, cultivada em África, América do Sul, América Central, Ásia, Oceânia, sudoeste da Europa e nos Estados Unidos.

De acordo com Gardé e Gardé (1998) o número de variedades dessa planta é bastante elevado, sendo a maior parte utilizada como forragem. Ainda de acordo com Gardé e Gardé (1998) as variedades mais conhecidas são: *arroz*, de grão pequeno, quase esférico e hilo esverdeado; *comum*, de grão médio, branco, hilo orlado de castanho ou preto, rústico e de boa produção; *gigante de marialva*, de sementes grandes, acentuadamente reniformes, com tegumento enrugado e hilo orlado de negro.

### **4.2.2 Classificação taxonómica**

O feijão-frade inicialmente foi classificado nos géneros *Phaseolus* e *Dolichos* até ser classificado no género *Vigna*, o qual foi estabelecido por Savi em 1894 (Filho et al., 2011). Também a nível de espécie houve muitas classificações, até à classificação atual. Assim, atualmente classifica-se o feijão-frade na classe Dicotyledoneae, ordem Fabales, família Fabaceae, subfamília Faboideae, tribo Phaseoleae, subtribo Phaseolineae, género *Vigna*, subgénero *Vigna*, secção Catyang, espécie *Vigna unguiculata* (L) Walp. e subespécie *unguiculata* (Filho et al., 2011).

### **4.2.3 Morfologia**

O feijão-frade distingue-se do feijoeiro comum em especial pelas folhas que são glabras, verde-escuras e de longos pecíolos e pelas flores de quilha não espiraladas e vagens de secção circular com sementes que apresentam como regra um hilo escuro (Gardé e Gardé, 1998).

O feijão-frade é uma planta herbácea anual com raiz aprumada, folhas trifoliadas alternadas, e folíolos ovais. Tem uma diversidade considerável em relação a hábitos de crescimento, floração e cor das sementes. As flores típicas variam desde cores brancas, creme, amarela e roxa. As sementes podem ser lisas ou enrugadas, de coloração branca, creme ou amarelas, vermelhas, castanhas ou pretas e são caracterizadas por um hilo (olho do feijão) bem definido, rodeado por uma orla escura (Dumet et al., 2008).

### **4.2.4 Importância da cultura**

O feijão-frade constitui uma fonte de proteína importante em diversas regiões do mundo, principalmente em África, na Índia e na América tropical (Guissem et al., 2010). É cultivado em todo mundo principalmente como legume de grãos secos mas também como vegetal (consumindo-se folhas e grãos verdes), cultura de cobertura e forragem. Tem vários nomes locais, incluindo feijão-frade (Portugal), feijão-macassa (Brasil), feijão-nhamba (Moçambique) e feijão-macundi (Angola). É também conhecido como feijão-de-corda, feijão-boca-preta, feijão-de-olho-preto, feijão-ervilha-de-vaca, feijão-de-boi ou feijão-da-china (Dumet et al., 2008).

Os grãos de feijão-frade têm alto valor alimentar, devido ao seu elevado teor de proteína. É considerada uma das principais fontes de proteína vegetal e ferro, constituindo importante componente da dieta alimentar das populações no meio rural e urbano principalmente em países africanos, especialmente aqueles de menor poder aquisitivo (Sampaio e Brasil, 2009). O mesmo autor afirma, que do ponto de vista socioeconómico, o feijão-frade tem grande importância para as populações produtoras locais, por se caracterizar como fixadora de mão-de-obra, tendo grande impacto na criação de emprego e renda.

#### **4.2.5 Produção mundial**

O feijão-frade apresenta várias formas de utilização, sendo aproveitado principalmente como grão seco na alimentação humana. De acordo com dados da FAO (FAOSTAT, 2016) a produção de feijão-frade em 2014 situou-se em torno de 6,8 milhões de toneladas. Aproximadamente 95 % dessa produção é proveniente da África ocidental e central. Os maiores produtores mundiais são a Nigéria com (3,384,220 t), Níger (1,610,073 t), Burkina faso (575,655 t), Tanzânia (190,008 t) e Camarões (169,790 t).

#### **4.2.6 Exigências ambientais**

O feijão-frade é uma planta de países tropicais e resiste pouco ao frio. Mesmo em climas temperados, como o mediterrânico, só passados os frios mais fortes do inverno é que se pode cultivar. Assim, a época normal da sua sementeira em Portugal é em princípios de junho, ou quando muito em meados de maio. No algarve consegue germinar e ter boas condições de bom desenvolvimento a partir de meados de abril (Gardé e Gardé, 1998).

Segundo Dumet et al. (2008) a planta de feijão-frade está adaptada a regiões de climas quentes e secos. Cresce melhor em zonas de baixa altitude com uma precipitação que varia entre 1000 – 1200 mm e temperaturas entre 22-30 °C durante um período de 6 meses. No que respeita ao solo adapta-se a grande diversidade de condições edáficas. Só os solos excessivamente secos ou húmidos e frios são contra indicados (Gardé e Gardé, 1998).

### **4.3 Soja**

#### **4.3.1 Origem e história**

A soja é considerada originária do nordeste da China. A forma cultivada (*Glycine max* L) deriva do progenitor *Glycine ussuriensis*, espécie cultivada que cresce espontaneamente na Coreia, Japão, Taiwan, norte da China e nas zonas circundantes da antiga URSS (Bellido, 1988). O mesmo autor afirma que o género *Glycine* tem muitos subgéneros, constituídos de plantas perenes observadas na Austrália, África e no sul da Ásia. A citação mais antiga do cultivo de soja está contida no Pen Ts`ao Kang Mu do imperador Shen Nung, que foi publicado, segundo alguns autores, no ano 2838 a.C.

Contudo, parece que já era conhecida e cultivada em épocas anteriores, como aparece em inscrições em bronze e pinturas arcaicas chinesas (Miladinovic et al., 2011).

Segundo Bellido (1988) a soja teria sido domesticada no nordeste da China, em torno do século XI a.C. e a partir do século II a.C. foi introduzida na Coreia e Japão, onde teria chegado também diretamente da China central, sobretudo durante o período de Nara (séculos VI e VIII). Para Bellido (1988) e Miladinovic et al. (2011) é considerada uma planta essencial para a civilização chinesa, sendo a mais importante leguminosa cultivada e, junto com arroz, trigo, cevada e milho é um dos cinco “Wu Ku” grãos sagrados.

Nos Estados Unidos, a soja é citada pela primeira vez em 1804. Desde então começou a ser ensaiada em vários estados e vários autores começaram a referir-se à difusão do cultivo. O cultivo começa a estender-se desde 1930, inicialmente como planta forrageira para silagem, feno ou pastagem direta, especialmente por porcos e gado ovino, sendo também usada como adubo verde. Em 1938 começam a desenvolver-se as primeiras infraestruturas para o comércio e transformação de soja nos Estados Unidos (Bellido, 1988). De acordo com o mesmo autor, nos Estados Unidos a utilização da planta como forragem diminuiu depois da guerra, até desaparecer em favor da utilização industrial do produto. Começou a utilizar-se a planta como fonte de óleo e proteína. Entre 1945-1980, a superfície aumentou seis vezes e a produção global multiplicou por dez, devido à disponibilidade de melhores variedades, melhor adaptadas às diversas zonas de cultivo e técnicas culturais.

Segundo Bellido (1988) e Miladinovic et al. (2011) na Europa o interesse pela soja começou no início do século XX. Nesta altura realizaram-se as primeiras importações na Inglaterra, como alimento para diabéticos e depois na Alemanha e na Holanda.

#### **4.3.2 Classificação taxonómica**

A soja é uma planta pertencente ao reino Plantae, subreino Tracheophyta, superdivisão Spermatophyta, divisão Magnoliophyta, classe Magnoliopsida, subclasse Rosidae, ordem Fabales, família Fabaceae, subfamília Papilionoideae, género *Glycine willd.*, e espécie *Glycine max* (L.) Merr (Santana, 2012).

### **4.3.3 Morfologia**

A soja é uma planta anual de consistência herbácea. As folhas são compostas, à exceção das primeiras que se formam que são simples (Garcia, 1999). É uma planta de porte ereto com ou sem ramificações, de altura variável entre 50 e 180 cm, um sistema radicular pivotante e superfície foliar abundante (Bellido, 1988). O caule tende a aumentar em altura com o aumento da temperatura, densidade de população e da fertilidade do solo. Pelo contrário, tende a diminuir em condições de stresse hídrico e nutritivo. Normalmente os caules são mais curtos nas variedades de crescimento determinado. As folhas da soja são de quatro tipos: duas cotiledonais, duas simples (unifoliadas), trifoliadas e profilos (Bellido, 1988). As flores são papilionáceas, típicas de leguminosas, e o fruto é uma vagem que contém entre uma a quatro sementes. A semente é geralmente esférica, do tamanho de uma ervilha e apresenta uma coloração amarela (Garcia, 1999).

### **4.3.4 Importância da cultura**

Segundo Miladinovic et al. (2011) a soja é uma cultura de grande importância, primeiramente devido à composição química do grão, que possui 40% de proteína e cerca de 20 % de óleo. Acresce a presença de 60% de diferentes nutrientes que podem ser usados para vários fins. O mesmo autor relata que a cultura da soja tem vindo a ganhar cada vez mais importância no comércio internacional, sendo fonte indispensável de proteína para a população humana, que se encontra em constante crescimento, e também para alimentação animal. Para Hungria et al. (2013) a soja é uma leguminosa de grande interesse, particularmente pelo teor elevado de proteína no grão.

Os trabalhos de melhoramento feitos nos Estados Unidos da América sobre esta planta transformaram-na na proteagínosa mais apreciada de todas as que atualmente se cultivam. Da soja pode obter-se óleo e bagaço ou torta, apresentando este um alto teor de proteína. Para além da torta ter uma grande digestibilidade, a sua proteína apresenta elevado conteúdo de aminoácidos essenciais (Garcia, 1999).

No início de 1900 a soja era uma planta pouco conhecida cultivada em poucos países, mas no final do século XX tornou-se uma cultura de liderança à escala mundial. Em meados do século XX, a soja foi cultivada internacionalmente em cerca de 15 milhões de hectares, mas ainda não se havia tornado uma cultura importante em muitos

países. Foi apenas na década de 1950 que ocorreu um forte aumento na área plantada (Miladinovic et al., 2011). Atualmente a área cultivada é de aproximadamente 118,135 milhões de hectares (Embrapa, 2016).

#### **4.3.5 Produção mundial**

A soja é uma das culturas mais valiosas do mundo, não só como uma semente oleaginosa, para alimentação do gado e da aquicultura, mas também como uma importante fonte de proteína para a dieta do ser humano e como matéria-prima de biocombustíveis (Masuda e Goldsmith, 2009).

Segundo estatísticas da FAO, estima-se que foram produzidas em todo mundo aproximadamente 293,2 toneladas em 2014. Do total mundial, 87,7 % é produzida nas Américas, 9% na Ásia, 2,6 % na Europa e 0,8 % no continente africano. Os maiores produtores mundiais de soja são Estados Unidos da América (99,701,505 t), Brasil (84,242,498 t), Argentina (51,351,957 t), China (12,075,250 t) e Índia (11,238,000 t). Em Angola a produção no ano de 2014 foi de 5,840 toneladas (FAO, 2016).

#### **4.3.6 Exigências ambientais**

A soja é cultivada principalmente em regadio. É também cultivada em sequeiro em zonas onde o regime pluviométrico equivale à água utilizada no cultivo em regadio. Nas primeiras fases do seu estado vegetativo é sensível a geadas. Por isso não é aconselhável semear em zonas de demasiada altitude (Bellido, 1988).

O pH ótimo do solo para o cultivo da soja está compreendido entre 6,5 e 7,0 mas a partir de pH 6 já é possível obter bons rendimentos (Bellido, 1988; Garcia, 1999). A planta de soja vê dificultado o seu desenvolvimento com temperaturas abaixo de 10 °C e cessa aos 4 °C. Contudo, pode resistir a geadas de -2 °C a -4 °C. Temperaturas superiores a 38 °C também reduzem o seu crescimento (Garcia, 1999).

Segundo Garcia (1999) na sementeira da soja, é conveniente que a temperatura do solo esteja entre 15 e 18 °C, para uma rápida germinação. Desta maneira diminui o ataque de fungos à semente e as plantas competem melhor contra as ervas daninhas. O mesmo autor afirma que a floração da soja depende do período crítico da duração do dia. Quando a temperatura se mantém abaixo dos 25 °C a floração pode atrasar-se por alguns dias, mesmo que se tenha alcançado o período crítico referido.

A maturação requer temperaturas que não sejam nem demasiado elevadas nem demasiado baixas para que as sementes se formem normalmente (Garcia, 1999).

A soja parece não ter exigências particulares em relação às características granulométricas do solo. Pode ser cultivada satisfatoriamente em solos argilosos ou em solos arenosos (Bellido, 1988). De acordo com Garcia (1999) podem conseguir-se boas produções em terrenos de regadio onde os outros cultivos não se dão bem por falta de fertilidade. Segundo o mesmo autor, a soja prefere obter azoto por simbiose com as bactérias fixadoras em comparação com aplicação de adubo mineral. O consumo energético da planta por simbiose e a redução do azoto fixado é inferior ao necessário para a absorção de azoto na forma de nitratos do solo e sua posterior redução.

O azoto procedente da simbiose é utilizado pela planta à medida que esta necessita, enquanto que o azoto mineral aplicado na forma de fertilizantes é absorvido rapidamente pela planta (Garcia, 1999).

O fósforo favorece a nodulação e a atividade das bactérias fixadoras, especialmente quando existe cálcio no solo, mas em quantidades não excessivas (calcário ativo menor de 15%) (Garcia, 1999).

A absorção do fósforo é máxima no período entre a floração e a maturação da soja (70-80% do total). Embora a planta necessite de pouco fósforo, este influencia significativamente a formação do sistema radicular na fase inicial do desenvolvimento da cultura (Garcia, 1999).

Não existem para o potássio períodos críticos no cultivo da soja, embora a absorção seja máxima na fase de rápido crescimento vegetativo, decrescendo depois de se iniciar o processo de formação das sementes e terminando 15 a 20 dias antes da maturação (Garcia, 1999).

É muito importante que se regue a soja até ao final do ciclo. Se for cortada a rega com propósito de antecipar a maturação, provavelmente ocorre diminuição da produção. A época de floração é crítica, altura em que não deve faltar humidade no solo, uma vez que esta fase corresponde à máxima demanda da planta (Garcia, 1999).

## **4.4 Grão-de-bico**

### **4.4.1 Origem e história**

O grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) é uma leguminosa oriunda da região do Cáucaso e do norte da Pérsia (Irão), situando-se os centros de dispersão mais importantes no sudoeste asiático, Mediterrâneo e Etiópia. Foi a primeira leguminosa a ser cultivada pelo homem entre o ano 6000 e 7000 a.C. (Barroso et al., 2007). Para Viera et al. (2001) existem dois centros de diversidade genética: sudoeste da Ásia; e Mediterrâneo, tendo a Etiópia como um centro de diversificação secundário. Segundo o mesmo autor, tradicionalmente o grão-de-bico é cultivado no hemisfério norte, principalmente entre as latitudes 20 °N e 40 °N. No hemisfério sul cultiva-se em pequena escala, em alguns países da América do sul e de África e, em áreas mais expressivas, na Austrália.

### **4.4.2 Classificação taxonômica**

O grão-de-bico cultivado é uma planta leguminosa, diploide ( $2n=16$ ), autógama em que a polinização é completada antes da abertura das flores (Artiaga, 2012). Pertence a família Fabaceae, subfamília Papilionoideae e tribo Cicereae alef. O género *Cicer* tem 43 espécies sendo 9 anuais incluindo o grão-de-bico, 33 perenes e 1 não especificada (Artiaga, 2012).

### **4.4.3 Morfologia**

Atualmente, existem dois subtipos diferenciados: *Kabuli*, com flores brancas e sementes de cor creme e com um calibre variável entre médio a grande; e *Desi*, com flores violetas e sementes de cor escuras, mais ou menos angulosas e de menor calibre que o tipo anterior. As plantas caracterizam-se por possuir pigmentação antocianínica nos caules, pecíolos e pedicelos (Barroso et al., 2007).

A planta é de consistência herbácea, anual, porte ereto ou prostrado, podendo atingir a altura de 1,3 m. As folhas pubescentes geralmente são ímpares pinuladas e trifoliadas. O número de pares de folíolos por folha pode variar de três a mais de 13. Os folíolos geralmente têm 10-15 mm de comprimento e 4-12 mm de largura, apresentando bordos dentados ou bastante incisivos. As estípulas têm geralmente 3-5 mm de comprimento e 2-4 mm de largura (Viera et al., 2001).

Toda a superfície externa da planta, com exceção da corola, é coberta com pelos. Flores solitárias nascem em racimos axilares, embora haja cultivares com duas ou três flores por racimo. Os pedúnculos têm de 6 a 30 mm de comprimento e os pedicelos de 6 a 13 mm. As flores são pequenas, normalmente com corola branca, rósea ou violácea (Viera et al., 2001). É planta de autopolinização, mas com uma pequena quantidade de fecundação cruzada que quando ocorre se deve as abelhas. A floração pode ocorrer entre 30 e 100 dias após a plantação (Viera et al., 2001). Uma vagem de tamanho médio tem de 15 a 20 mm de comprimento e pode conter de uma a quatro sementes. O formato da vagem pode ser romboide oblongo ou ovado. O sistema radicular com poucas raízes laterais pode atingir mais de 120 cm de profundidade embora a maior parte se concentra nos 0,6 m superficiais do solo (Viera et al., 2001).

#### **4.4.4 Importância da cultura**

O grão-de-bico é uma planta proteagínosa que desempenha um importante papel na alimentação humana como suplemento das necessidades em proteína, constituindo uma excelente fonte deste nutriente na dieta de muitos povos. As sementes contêm cerca de 20% de proteína, 5% de gordura e 55% de carboidratos (Ferreira et al., 2006; Barroso et al., 2007).

O grão-de-bico também tem um papel importante como cultura de rotação, devido não só à sua capacidade em fixar azoto atmosférico, mas também como uma cultura que pode interromper o ciclo de doenças em sistemas culturais (Silva et al., 2011). Segundo Artiaga (2012) o grão-de-bico é uma das leguminosas cultivadas mais importantes no mundo. É uma planta que dispensa fertilizantes azotados baixando o custo de produção e garantindo renda ao produtor. Para este autor a cultura adapta-se bem em sistemas de rotação com cereais, ajudando a evitar a proliferação de doenças, pragas e plantas espontâneas.

Portugal é um país deficitário em grão-de-bico, embora seja cultivado praticamente um pouco por todo o País, exceto nas regiões húmidas do norte e centro litoral e nas terras mais altas das beiras (Barroso et al., 2007).

#### **4.4.5 Produção mundial**

Segundo estatísticas da FAO, estima-se que são produzidos em todo mundo aproximadamente 14,2 milhões de toneladas anuais de grão-de-bico. Das quais, 83,7 % na Ásia, 5,9% na Oceânia, 5,3 % no continente africano, 3,9 nas Américas e 1,2 % na Europa (FAO, 2016).

Os maiores produtores mundiais de grão-de-bico são Índia (9,356,250 t), Austrália (815,250 t), Paquistão (750,611 t), Myanmar (491,150 t) e Turquia (478,000 t) (FAO, 2015). Em Portugal a produção foi de 530 toneladas em 2014.

#### **4.4.6 Exigências ambientais**

Embora considerada uma leguminosa de clima frio, grande parte do grão-de-bico é cultivado em condições de temperaturas relativamente altas, pelo menos durante parte do seu ciclo de vida (Viera et al., 2001). Temperaturas entre 15 e 30 °C proporcionam ótimo crescimento e desenvolvimento das plantas. Temperaturas superiores a 30 °C são prejudiciais, principalmente durante a floração e durante a formação da vagem (Viera et al., 2001). De acordo com o mesmo autor, as altas temperaturas (acima de 30 °C) apressam a senescência, encurtando o ciclo de vida da cultura e reduzindo a produtividade.

É uma planta que prefere locais bem ensolarados, de clima seco, com solo bem drenado e com o pH de 5,5-8,5. Em solos arenosos é notável uma maturação mais uniforme da cultura. Solos muito argilosos devem ser evitados (Viera et al., 2001). Segundo o mesmo autor, o grão-de-bico é uma planta bem adaptada às regiões áridas, capaz de obter água de camadas profundas do solo. No entanto, em regiões onde as chuvas são escassas no inverno, o uso da irrigação é imprescindível.

Para Vicens e Mancera (1982) o grão-de-bico é uma planta que tolera muito bem a escassez de água. Um excesso de água durante o seu período vegetativo pode chegar a prejudicar, porque a raiz da planta é muito sensível à asfixia. Ainda para Vicens e Mancera (1982) o grão-de-bico tolera solos de variadas estruturas. Porém, para um bom desenvolvimento, necessita de solos ricos em potássio, bem dotados de fósforo e pobres em cálcio na forma de sulfato (gesso).

## **5 Leguminosas pratenses**

O uso de leguminosas forrageiras como culturas intercalares é uma prática ancestral, que permite reduzir consideravelmente a aplicação de fertilizantes azotados (Perdigão et al., 2011). O uso destas plantas é visto como uma técnica alternativa para incrementar ganhos na produção vegetal e animal, na produção de carne e leite.

Segundo Moller et al. (2008) e Perdigão et al. (2011) o uso de leguminosas forrageiras como culturas intercalares em agricultura biológica é uma ferramenta fundamental na gestão do azoto. Ainda pela sua capacidade de fixação biológica e retenção de azoto as leguminosas são consideradas a principal fonte de azoto. Entre as espécies de leguminosas forrageiras, merecem destaque o trevo-encarnado (*Trifolium incarnatum* L.) e o trevo-subterrâneo (*T. subterraneum*) por serem plantas que proporcionam fixação de azoto e melhoria na qualidade de pastagem, além de apresentarem uma boa produção de matéria seca.

### **5.1 Trevo-encarnado**

#### **5.1.1 Origem e história**

Segundo Diaz e Sempere (1987) O trevo-encarnado (*T. incarnatum* L.) é uma planta anual originária do sul da Europa. É utilizada desde a sua descoberta como feno e em adubação verde em diversos países europeus, tais como Itália, Espanha, França, Inglaterra e Alemanha desde meados do século XVIII. Essa planta, pela sua capacidade de adaptação a diferentes tipos de solo e clima, é também utilizada como pastagem em outras regiões do mundo (Tomazi, 2015). O trevo-encarnado terá sido introduzido nos Estados Unidos por italianos no ano de 1819 (FAO, 2017).

Para Diaz e Sempere (1987) em meados do século XVIII a cultura estava amplamente difundida em várias partes do mundo. De acordo com o USDA (2013) foi no final do século XVIII que essa planta ganhou um conhecimento notável a nível mundial. O trevo-encarnado é uma planta que cresce em áreas de inverno húmido como no sudeste e sudoeste litoral dos Estados Unidos, sendo também usada como forragem de alta qualidade para o feno ou silagem em regiões de elevada precipitação no sul da Austrália (FAO, 2017).

### **5.1.2 Classificação taxonômica**

O trevo-encarnado é uma planta leguminosa dicotiledonia, pertencente ao reino Plantae, clado angiospérmicas, clado Eudicotiledóneas, ordem Fabales, família Fabaceae género *Trifolium*, espécie *T. incarnatum* (Wikipédia, 2016).

### **5.1.3 Morfologia**

Segundo Tomazi (2015) o trevo-encarnado é uma planta de crescimento cespitoso e hastes eretas que podem chegar a uma altura média de 60 cm. De acordo com Fernandes (2001) é uma planta que tem um crescimento prostrado nas primeiras fases de desenvolvimento e mais tarde com caules florais eretos. Segundo o mesmo autor o trevo-encarnado tem uma raiz principal com muitas raízes laterais ramificadas.

É uma planta com folhas compostas, com três folíolos de forma ovalada de 1 a 3 cm de comprimento e com aproximadamente a mesma largura (NSW, 2007). Segundo Fernandes (2001) possuem pilosidade em ambas as faces, nervuras centrais bem visíveis e raramente possuem manchas. As flores tem forma cilíndrica, normalmente medem 40 mm de comprimento e apresentam uma coloração vermelho brilhante, embora uma flor amarela ou branca possa aparecer ocasionalmente (NSW, 2007). De acordo com o mesmo autor as sementes apresentam forma oval a esférica com 2,5 mm de comprimento e têm coloração creme a castanho claro.

### **5.1.4 Exigências ambientais**

O trevo-encarnado é uma espécie adaptada a vários tipos de solos, mas tem um melhor desempenho em solos argilosos, férteis e bem drenados com o pH próximos de 6,0-7,0 (Tomazi, 2015). Segundo FAO (2017) é uma espécie adaptada a uma gama variada de condições de solo e clima em comparação com outras leguminosas forrageiras anuais. Ainda de acordo com FAO (2017) o trevo-encarnado tem capacidade de se desenvolver em temperaturas bastante baixas, por tal motivo é cultivada em países e regiões de inverno rigoroso como Ucrânia, França, Itália, sul da Argentina e Chile.

## **5.2 Trevo-subterrâneo**

### **5.2.1 Origem e história**

Para Goulão et al. (1999) a região mediterrânica é o centro de origem do trevo-subterrâneo, região de uma grande variabilidade genética. De acordo com Goncalves (2015) o seu nome é derivado ao facto de ter a capacidade de enterrar os glómérulos, que são revestidos exteriormente por flores estéreis, nas camadas superficiais do solo, o que lhe permite proteger as sementes da secura estival.

Segundo Aguiar et al. (2013) a domesticação do trevo-subterrâneo é muito recente, a primeira cultivar comercial foi colocada no mercado em 1907 na Austrália. De acordo com o mesmo autor, a zona de distribuição natural do trevo-subterrâneo começa pelo noroeste de África, oeste da Europa até aos sistemas dunares mais quentes da Holanda e do sul da Grã-Bretanha e da Irlanda, prolongado-se por todo o sul da Europa de clima mediterrânico e submediterrânico, por várias ilhas do mar Mediterrâneo, em torno dos mares Negro e Cáspio, e pela Turquia, Síria, Israel, Jordânia, Iraque, Irão e Etiópia. Ainda segundo Aguiar et al. (2013) a planta foi introduzida involuntariamente nas ilhas da Madeira e Porto Santo (Arquipélago da Madeira), nas ilhas do Pico, Graciosa, S. Miguel e St<sup>a</sup> Maria (Arquipélago dos Açores) e no arquipélago Canário. É cultivada também em algumas regiões extratropicais de verões secos, como no sul da Austrália, Nova Zelândia, centro e sul do Chile, sul da África do Sul e no ocidente dos Estados Unidos da América.

### **5.2.2 Classificação taxonómica**

O trevo-subterrâneo é uma planta, pertencente ao reino Plantae, clado angiospérmicas, clado eudicotiledóneas, ordem Fabales, família Fabaceae, género *Trifolium* e espécie *T. subterraneum* (Wikipédia, 2016).

### **5.2.3 Morfologia**

O trevo-subterrâneo é uma planta anual, prostrada, com um sistema radicular pouco profundo. É uma planta de caule prostrado com numerosos caules auxiliares, normalmente mais de 10, os folíolos das folhas são obcordados e peludos (sobretudo na pagina inferior), com nervuras nítidas, em geral com uma marca d'água de cor clara

impressa em forma de meia lua (Aguiar et al., 2013). Os pecíolos, as estípulas e os caules podem ser glabros ou peludos, dependendo da cultivar (Gonçalves, 2015).

As flores surgem organizadas em pequenos capítulos com 2-6 flores férteis na extremidade de um longo pedúnculo inserido na axila de uma folha. O cálice é verde, maculado ou não de vermelho. As flores possuem corolas brancas, por vezes rosadas e são 2 vezes mais longas do que o cálice. O fruto é um aquénio e as sementes são invulgarmente grandes e pesadas (Aguiar et al., 2013).

#### **5.2.4 Exigências ambientais**

O trevo-subterrâneo é uma planta que se adapta bem aos climas de invernos suaves e húmidos, mas resiste mal a temperaturas inferiores a 4 °C. A falta de humidade, principalmente na primavera é um fator limitante. Também é uma planta exigente em fotoperíodo, florescendo nos dias longos do final da primavera. É uma planta que tem preferência por solos ligeiros, de reação neutra a moderadamente ácidos, bem drenados. Algumas variedades podem desenvolver-se em solos ligeiramente alcalinos (Box, 2005).

## II Material e métodos

### 1 Localização dos ensaios

Os ensaios iniciaram-se no mês de setembro de 2015 e, foram conduzidos no campo experimental do IPB, na cidade de Bragança, capital do Distrito de Bragança, na sub-região de Alto Trás-os-Montes, na região norte de Portugal com as coordenadas 41° 48' N 06° 45' O.

#### 1.1 Clima

A cidade de Bragança tem um clima temperado mediterrânico ainda que com influências atlânticas. O verão é quente e seco, com precipitação escassa e dias longos o inverno é longo, frio e húmido, com precipitações elevadas, luminosidade reduzida e dias curtos. De acordo com Koppen e Geiger a classificação do clima é Csb (Branco, 2014). Em Bragança, a temperatura média anual é de 12,7 °C e a pluviosidade média anual de 772,8 mm. Os dados da variação da temperatura média do ar e da precipitação de Bragança correspondentes ao período em que decorreram os ensaios (2015-2016) são apresentados na figura 1.

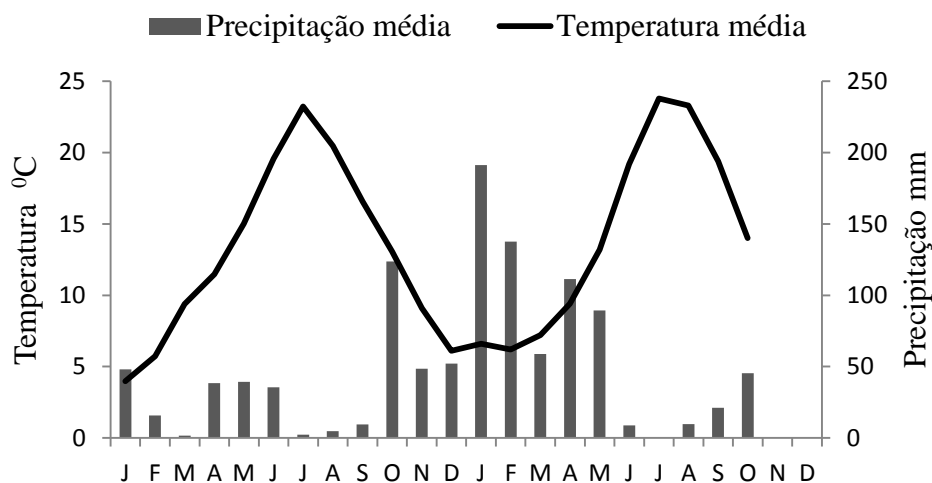


Figura 1. Precipitação média acumulada e temperatura média do ar mensais, para o período em que decorreram os ensaios, registadas na estação meteorológica da Qta de Sta Apolónia em Bragança.

## 1.2 Solo

O solo assenta sobre rocha básica muito alterada não identificável, sob cascalheira de origem diversa (Rodrigues, 2000). De acordo com a classificação FAO (FAO/UNESCO, 1974) inclui-se nos *Cambissolos Êutricos*. Na classificação portuguesa corresponde aos *Solos Litólicos Não Húmicos Pouco Insaturados, Normais* (Cardoso, 1974).

Tabela 1. Características do solo determinadas a partir de uma amostra colhida no momento da instalação da experiência em 2015.

Características físicas		Características químicas	
Argila %	23.9	pH (H <sub>2</sub> O)	6.3
Limo %	21.8	pH (kcl)	5.3
Areia %	54.4	C oxidável (g kg <sup>-1</sup> )	9.9
Textura	Franca	C orgânico total (g kg <sup>-1</sup> )	28.3
		P extraível (mg P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> kg <sup>-1</sup> )	30.0
		K extraível (mg K <sub>2</sub> O kg <sup>-1</sup> )	61.9
		B extraível (mg kg <sup>-1</sup> )	0.9
		K de troca (cmol kg <sup>-1</sup> )	0.26
		Na de troca (cmol kg <sup>-1</sup> )	0.38
		Ca de troca (cmol kg <sup>-1</sup> )	10.69
		Mg de troca (cmol kg <sup>-1</sup> )	3.62
		Acidez de troca (cmol kg <sup>-1</sup> )	0.13

## 2 Delineamento experimental

Os trabalhos desenvolvidos no âmbito desta tese podem dividir-se em dois grupos: i) cultivo de leguminosas pratenses de ciclo outono/inverno para sideração; e ii) cultivo de leguminosas de grão. Este segundo grupo pode, por sua vez, dividir-se em três subgrupos: i) cultivo de leguminosa de grão em sequeiro; ii) cultivo de leguminosas de grão em regadio; e iii) cultivo de leguminosas de grão em vasos. Os três subgrupos do segundo grupo de culturas foram cultivados no período primavera/verão.

## **2.1 Leguminosas pratenses para sideração**

O ensaio foi instalado em setembro de 2015. Foram usadas leguminosas anuais de outono/inverno com potencial para fixar azoto atmosférico e produção de biomassa para sideração, designadamente trevo-encarnado (*Trifolium incarnatum*, cv. Contea) e trevo-subterrâneo (*Trifolium subterraneum*, cv. Losa). A sementeira foi feita no dia 25 de setembro. Durante o desenvolvimento vegetativo foram feitos dois cortes aleatórios em cada uma das três repetições. Foi usado um quadrado de 0.25m<sup>2</sup> de área. O primeiro corte foi efetuado no dia 2 de maio. A biomassa aérea foi seca em estufa a 70 °C, moída e analisada para a composição elementar e avaliar a capacidade de fixar azoto e recuperar outros nutrientes do solo. No segundo corte efetuado após a floração, uma subamostra foi conduzida ao laboratório e recebeu o tratamento referido anteriormente. Amostras de solo misturadas com a biomassa aérea correspondente a este corte foram colocadas em vasos de 3 l, para avaliação do efeito da sideração na fertilidade do solo.

Assim, o ensaio de outono/inverno foi prolongado para o verão, com a sementeira do milho nos vasos efetuada no dia 1 de junho, servindo o milho como indicador de disponibilidade de azoto e outros nutrientes no solo. A colheita do milho foi feita no dia 21 de julho de 2016. As plantas de milho foram secas em estufa, pesadas, moídas e analisadas para a composição elementar.

## **2.2 Leguminosas de grão**

O ensaio de leguminosas de grão foi instalado em maio de 2016 no campo experimental do IPB. Os três subgrupos referidos anteriormente tinham as seguintes culturas: i) campo de sequeiro, grão-de-bico e feijão-frade; ii) campo irrigado, cultura de soja em duas modalidades (com inóculo e sem inóculo), feijão-frade e duas variedades de feijão-comum (Maravilha de Piemonte, e Manteiga proveniente de Angola); e iii) cultivo em vasos, soja (inoculada e não inoculada) e feijão-de-trepar de Angola (cv. Helda).

### **2.2.1 Campo de sequeiro**

A sementeira de feijão-frade e de grão-de-bico foi feita no dia 4 de maio. Cada espécie ocupou uma área de 21,6 m<sup>2</sup>, sendo o espaçamento na linha de 20 cm entre plantas e 50 cm na entrelinha, o que resulta numa população produtiva de 10 plantas por

m<sup>2</sup>. De cada espécie foram constituídas três repetições. Durante a estação de crescimento foram feitos quatro cortes aleatórios em cada espécie e em cada uma das três repetições em função do desenvolvimento fenológico das plantas. O esquema de cortes apresenta-se no quadro 2. Cada corte foi feito em uma linha aleatória, em 1m linear, recolhendo-se a biomassa para pesagem em seco e posteriormente avaliar a percentagem de azoto e outros nutrientes extraídos do solo pela planta, durante a fase de desenvolvimento da cultura. Como tratos culturais efetuou-se capina, desbaste e tratamento fitossanitário com aplicação de Dafenil (demitoato) e Emidacloprid (6-chloro-3-pyridylmethyl)-N-nitroimidazolidin-2-ylideneamine). Ambas as culturas foram colhidas dia 25 de agosto de 2016.

Tabela 2. Esquema de cortes de biomassa no ensaio de sequeiro.

Cultura	Número do corte	Data do corte
Feijão-frade	1	06 de julho de 2016
	2	18 de julho de 2016
	3	01 de agosto de 2016
	4	25 de agosto de 2016
Grão-de-bico	1	06 de julho de 2016
	2	18 de julho de 2016
	3	25 de agosto de 2016

### 2.2.2 Campo irrigado

A sementeira foi feita no dia 25 de maio de 2016. Este ensaio ocupou uma área de 16 m<sup>2</sup> por cada cultura. Foram feitos 5 cortes aleatórios em cada uma das culturas e nas três repetições em função do desenvolvimento fenológico das plantas, como mostra o quadro 3. Cada corte foi feito em 1m linear recolhendo-se a biomassa para pesagem em seco e posteriormente se avaliar a quantidade de azoto e outros nutrientes extraídos do solo pela planta. Como tratos culturais efetuou-se capina, desbaste e tratamento fitossanitário com aplicação de Dafenil (demitoato) e Emidacloprid (6-chloro-3-pyridylmethyl)-N-nitroimidazolidin-2-ylideneamine).

Tabela 3. Esquema de corte de biomassa no ensaio irrigado.

Cultura	Número do corte	Data do corte
Soja com inóculo	1	12 de julho de 2016
	2	25 de julho de 2016
	3	04 de agosto de 2016
	4	25 de agosto de 2016
	5	27 de setembro de 2016
Soja sem inóculo	1	12 de julho de 2016
	2	25 de julho de 2016
	3	04 de agosto de 2016
	4	25 de agosto de 2016
	5	27 de setembro de 2016
Feijão-frade	1	12 de julho de 2016
	2	25 de julho de 2016
	3	04 de agosto de 2016
	4	25 de agosto de 2016
	5	12 de setembro de 2016
Feijão-comum (cv. Maravilha de Piemonte)	1	12 de julho de 2016
	2	25 de julho de 2016
	3	04 de agosto de 2016
	4	25 de agosto de 2016
	5	12 de setembro de 2016
Feijão-comum (cv. Manteiga)	1	12 de julho de 2016
	2	25 de julho de 2016
	3	04 de agosto de 2016
	4	25 de agosto de 2016
	5	27 de setembro de 2016

### 2.2.3 Cultivo em vasos

A sementeira foi feita no dia 1 de junho de 2016. Em cada espécie usaram-se 20 vasos dos quais 10 fertilizados com azoto ( $1 \text{ g N vaso}^{-1}$  na forma de nitrato de amónio) e 10 não fertilizados com azoto (cada vaso representa uma repetição). Todos os vasos foram fertilizados com fósforo, potássio e micronutrientes. Foram feitos dois cortes em cada uma das espécies e repetições no meio e no final do ciclo vegetativo da planta, recolhendo-se a planta para pesagem em seco e posteriormente avaliar a quantidade de azoto e outros nutrientes extraídos do solo pela planta. Como tratos culturais foram

feitos desbastes, tratamento fitossanitário com aplicação de Dafenil (demitoato) e Emidacloprid (6-chloro-3-pyridylmethyl)-N-nitroimidazolidin-2-ylideneamine).

As amostras colhidas no campo foram colocadas em sacos plásticos devidamente identificados e levadas ao laboratório, onde foram postas a secar numa estufa de ventilação forçada regulada a 70 °C. Posteriormente foram pesadas e moídas num moinho da marca Foss, com um crivo de 1 mm de malha. Na fase vegetativa mais avançada das plantas, depois do processo de secagem, as sementes foram separadas das plantas e pesadas isoladamente.

#### **2.2.4 Análises laboratoriais**

As determinações analíticas nas diferentes amostras de matéria seca centraram-se na determinação de azoto pelo método Kjeldhall, num autonalizador 8100 da marca Foss. A amostra sofre uma prévia digestão ácida e no processo há a conversão de compostos azotados (compostos orgânicos, proteínas, aminas) em amónia. A amónia é libertada pela adição de uma base forte (o hidróxido de sódio) e é arrastada numa corrente de vapor para um vaso de titulação onde é quantificada (Jones, 2001).

#### **2.2.5 Tratamento estatístico**

Os dados foram submetidos a análise de variância para comparar resultados dos diferentes tratamentos. Sempre que surgiram diferenças significativas as médias foram separadas pelo teste Tukey HSD ( $\alpha= 0,05$ ). Foi também calculado o intervalo de confiança para as médias ( $\alpha= 0,05$ ) para representação gráfica.

### **III Resultados**

No presente capítulo apresentam-se os resultados obtidos nos ensaios descritos em materiais e métodos, nomeadamente no ensaio das leguminosas pratenses de ciclo outono/inverno para sideração, em que milho cultivado em vasos serviu como indicador de disponibilidade de azoto e outros nutrientes no solo e também os resultados obtidos nos ensaios com leguminosas de grão em campo de sequeiro, campo irrigado e cultivo em vasos.

#### **3.1 Leguminosas pratenses**

Neste ensaio basicamente compararam-se a produção de matéria seca, a concentração de azoto nos tecidos e o azoto recuperado em trevo-encarnado, trevo-subterrâneo e vegetação espontânea, que serviu de testemunha. O ensaio foi instalado no Outono, com a sementeira das espécies referidas. Solo colhido na profundidade 0-20 cm em cada um dos talhões foi misturado com a biomassa correspondente a uma dada área de amostragem, isto é, foi misturada a biomassa e o solo colhidos na mesma área numa profundidade de 0-20 cm. A mistura solo/planta foi colocada em vasos em cinco repetições onde foi cultivado milho. Foi posteriormente avaliada a produção de matéria seca de milho, a concentração de azoto nos tecidos e o azoto exportado na biomassa aérea de milho.

Os resultados apresentados na figura 2 mostram que a maior quantidade de matéria seca foi registada no trevo-encarnado ( $269 \text{ g m}^{-2}$ ), embora os valores obtidos não tenham sido significativamente mais elevados que os valores obtidos no trevo-subterrâneo ( $250 \text{ g m}^{-2}$ ). A produção de matéria seca no trevo-encarnado foi significativamente mais elevada que a registada na testemunha.

As maiores concentrações de azoto nos tecidos foram registadas em trevo-subterrâneo, seguindo-se as do trevo-encarnado. A concentração de azoto nos tecidos foi substancialmente mais baixa na vegetação espontânea relativamente às leguminosas semeadas.

Quanto ao azoto recuperado na biomassa aérea foram registados valores equivalentes nas duas leguminosas, em virtude de uma produzir mais biomassa (trevo-encarnado) e a outra ter maior concentração de azoto nos tecidos (trevo-subterrâneo). A

quantidade de azoto presente na biomassa aérea da vegetação espontânea foi menos de metade da registada nas leguminosas.

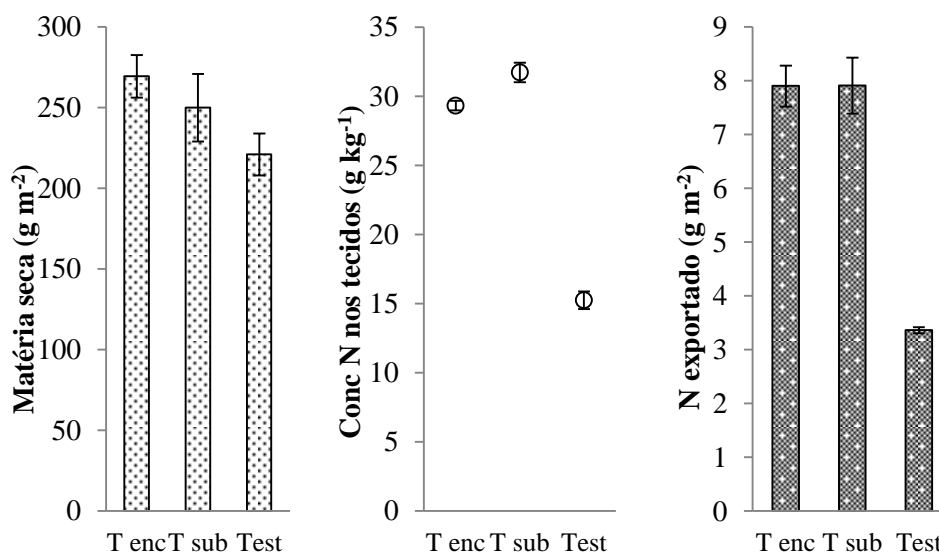


Figura 2. Matéria seca, concentração de azoto e azoto exportado na biomassa aérea em trevo-encarnado (T enc), trevo-subterrâneo (T sub) e vegetação espontânea (Test). As barras de erro indicam o intervalo de confiança para as médias ( $\alpha=0,05$ ).

No milho semeado nos vasos, após incorporação das leguminosas pratenses de ciclo outono/inverno, foi possível observar um desempenho equivalente na produção de biomassa entre os vasos em que foram incorporadas as leguminosas pratenses (Figura 3). A produção de matéria seca de milho nos vasos em que foi incorporada vegetação espontânea foi bastante inferior aos resultados obtidos com a incorporação das leguminosas.

Na concentração de azoto nos tecidos observaram-se valores ligeiramente mais elevados nos vasos em que foi incorporado trevo-encarnado relativamente às outras duas modalidades, trevo-subterrâneo e vegetação espontânea.

Quanto ao azoto recuperado na biomassa aérea do milho, os valores mais elevados foram observados nos vasos com trevo-encarnado, ainda que sem diferenças significativas para os vasos com trevo-subterrâneo. Pelo contrário, a quantidade de azoto recuperado na biomassa aérea do milho foi significativamente mais baixa nos vasos com vegetação espontânea em comparação com os vasos em que foram incorporadas as leguminosas pratenses.

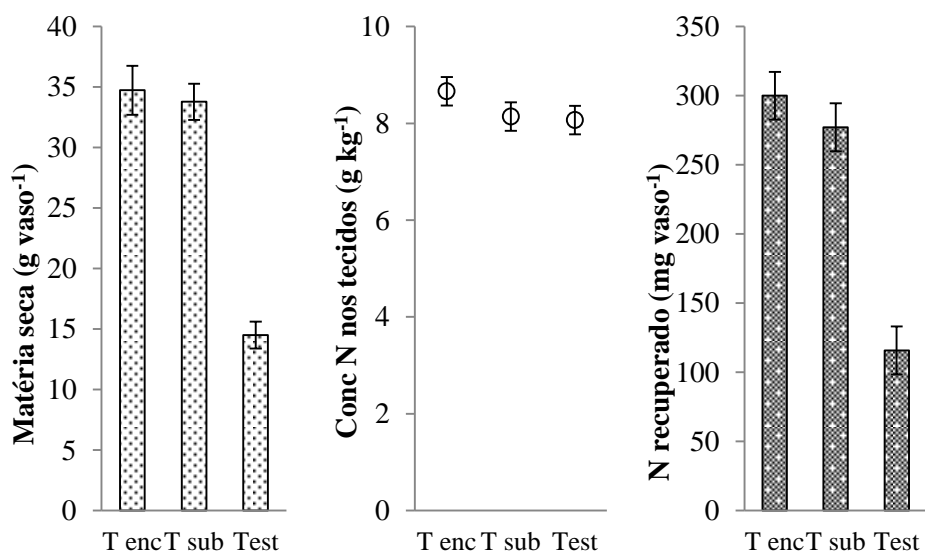


Figura 3. Matéria seca, concentração de azoto e azoto recuperado na biomassa aérea do milho cultivado em vasos em que foram incorporados trevo-encarnado (T enc), trevo-subterrâneo (T sub) ou vegetação espontânea (Test). As barras de erro indicam o intervalo de confiança para as médias ( $\alpha=0,05$ ).

### 3.2 Leguminosas de grão

Neste ponto serão apresentados os resultados das experiências feitas em campo, em sequeiro e em regadio. Procedeu-se à avaliação da produção de matéria seca, concentração de azoto nos tecidos e azoto exportado na biomassa aérea em vários cortes efetuados ao longo da estação de crescimento. Nas fases avançadas do ciclo fez-se a avaliação dos indicadores referidos separadamente na palha e no grão.

#### 3.2.1 Campo de sequeiro

Em sequeiro foi cultivado grão-de-bico e feijão-frade. Na cultura de grão-de-bico foram feitos três cortes. Pode observar-se na figura 4 que a quantidade total de matéria seca aumentou à medida que se aproximou o ultimo corte à custa da matéria seca acumulada nas sementes. A quantidade de azoto na palha não sofreu grande alteração desde o fim da fase vegetativa até à última colheita. Na colheita atingiu-se uma produção média de grão de 1505 kg ha<sup>-1</sup> e uma produção total de matéria seca de aproximadamente 2700 kg ha<sup>-1</sup>.

A concentração de azoto na palha decresceu acentuadamente ao longo da estação de crescimento. As partes associadas à reprodução da planta, vagens e sementes, apresentam concentrações de azoto muito elevadas em comparação com os tecidos vegetativos da planta.

Ao contrário da matéria seca, a quantidade de azoto na palha decresceu substancialmente ao longo da estação de crescimento (Figura 4). No final da estação de crescimento grande parte do azoto total da planta encontrava-se no grão. Esta diferença entre massa de matéria seca e de azoto nas diferentes partes da planta deveu-se à elevada concentração de azoto no grão.

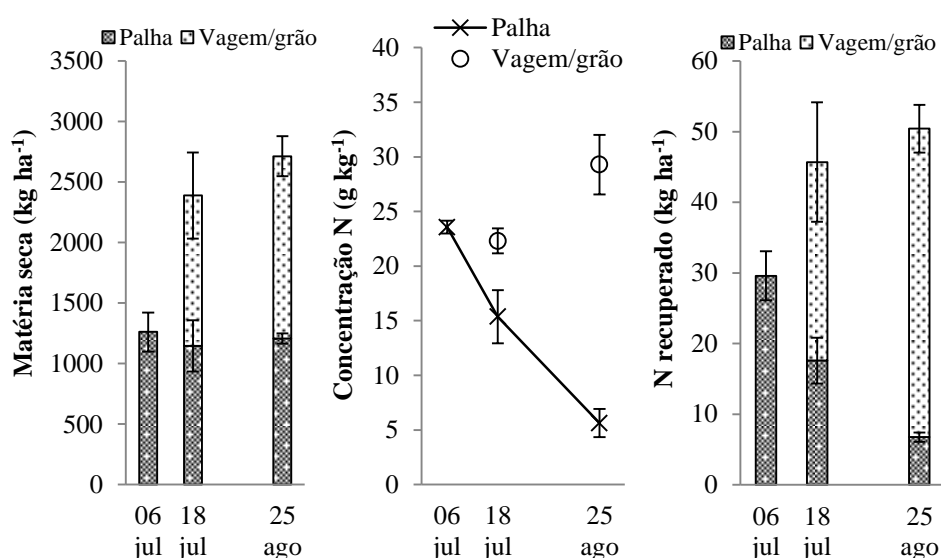


Figura 4. Matéria seca, concentração de azoto e azoto exportado na palha e vagem/grão ao longo da estação de crescimento, em grão-de-bico cultivado em sequeiro. As barras de erro indicam o intervalo de confiança para as médias ( $\alpha=0,05$ ).

Na cultura de feijão-frade cultivado em sequeiro foram feitos quatro cortes durante a estação de crescimento. Apenas no último corte se fez a separação entre palha e grão. A produção de grão atingiu  $955 \text{ kg ha}^{-1}$  enquanto a produção de matéria seca na totalidade da planta se aproximou de  $2000 \text{ kg ha}^{-1}$  (Figura 5).

A concentração de azoto na planta decresceu significativamente durante a estação de crescimento. A aparente redução de quebra entre o segundo e terceiro cortes deveu-se à presença de vagens em início de formação que terão contribuído para manter a concentração de azoto na amostra de tecido vegetal com menor descida. Na última

data, a concentração de azoto na palha foi inferior a  $15 \text{ g kg}^{-1}$ , enquanto no grão se registaram valores bem mais altos, próximos de  $35 \text{ g kg}^{-1}$ .

A quantidade total de azoto na planta aumentou até ao terceiro corte, tendo-se posteriormente registado uma diminuição. No último corte que representa a colheita da cultura, grande parte do azoto encontra-se no grão sendo residual a quantidade de azoto que ainda se encontra na palha. Do terceiro para o quarto corte a quantidade de azoto na planta reduziu-se de  $59$  para  $43 \text{ kg ha}^{-1}$ .

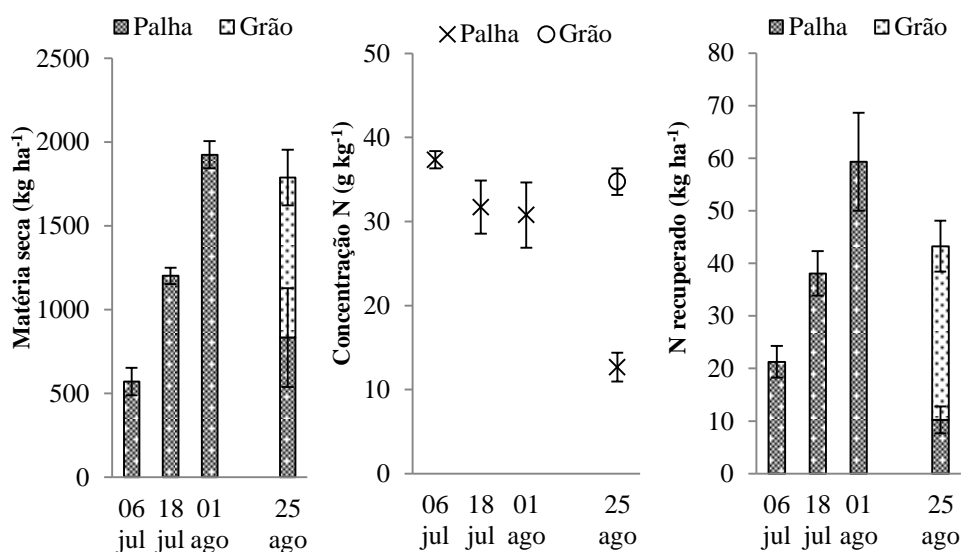


Figura 5. Matéria seca, concentração de azoto e azoto exportado na palha e no grão ao longo da estação de crescimento, em feijão-frade cultivado em sequeiro. As barras de erro indicam o intervalo de confiança para as médias ( $\alpha=0,05$ ).

### 3.2.2 Campo irrigado

No campo irrigado fizeram-se cinco cortes em cada cultura. No caso do feijão-comum, cv. Manteiga, proveniente de Angola a produção total de matéria seca aumentou desde o primeiro corte até ao último (figura 6). Na última data de amostragem, foi registada produção de matéria seca de aproximadamente  $9000 \text{ kg ha}^{-1}$ , embora com uma representação maior na palha comparado com o grão. Contudo, a produção de grão aproximou-se de  $3200 \text{ kg ha}^{-1}$ .

A concentração de azoto na parte vegetativa (palha) da planta decresceu ao longo da estação de crescimento. Nas duas datas de amostragem finais foi também analisado o grão para a concentração de azoto, sendo os valores ligeiramente mais elevados que na palha.

O azoto contido na parte aérea da planta aumentou desde o primeiro corte até ao último. Contudo, entre o quarto e o quinto corte a quantidade de azoto exportado aumentou devido à acumulação deste nutriente no grão, uma vez que o azoto exportado na palha não sofreu alteração significativa. A fração de azoto no grão é, contudo, mais significativa que a quantidade total de matéria seca que se tinha observado, uma vez que o grão é um órgão especializado na acumulação de azoto na forma de proteína.

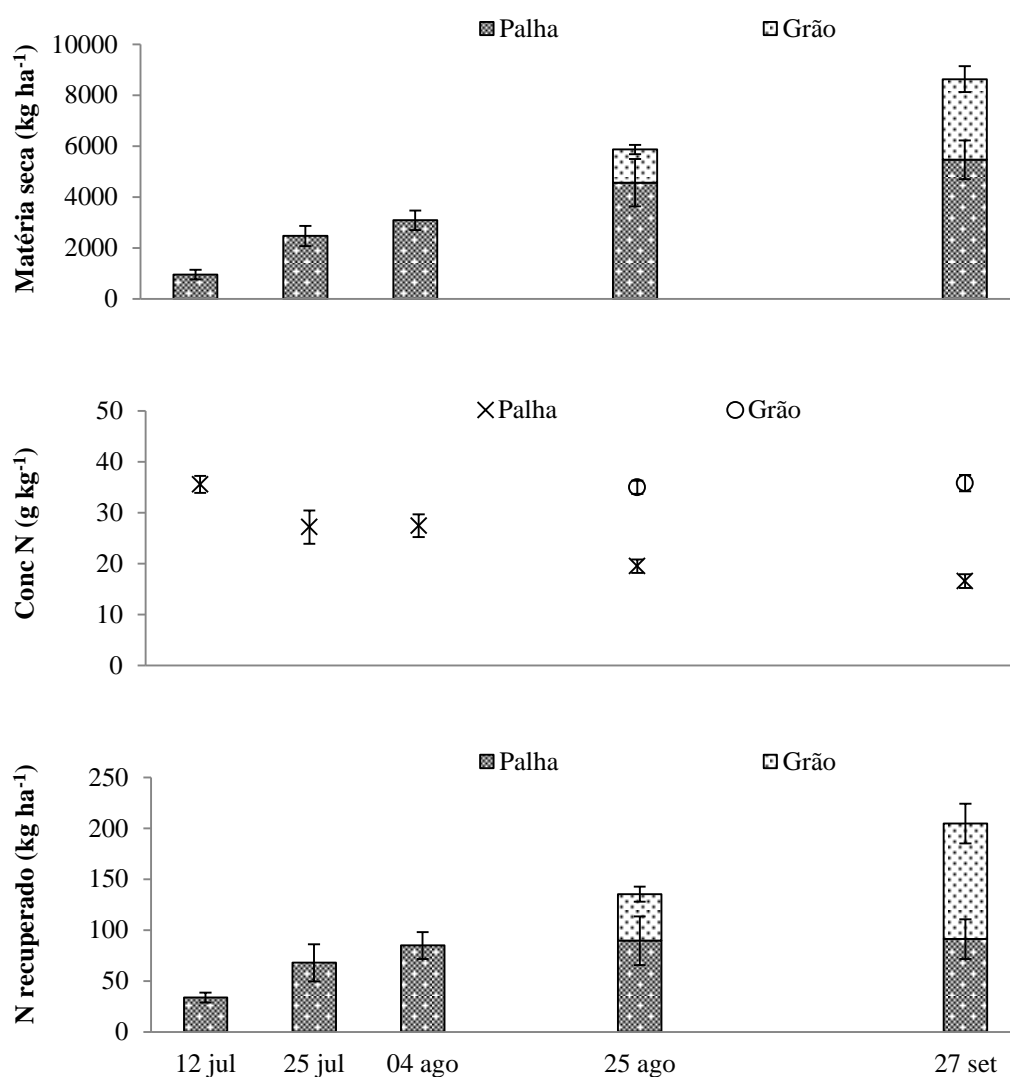


Figura 6. Matéria seca, concentração de azoto e azoto exportado na palha e no grão ao longo da estação de crescimento, em feijão-comum (cv. Manteiga) cultivado em regadio. As barras de erro indicam o intervalo de confiança para as médias ( $\alpha=0,05$ ).

A cultivar Maravilha de Piemonte apresentou produção total e de grão inferior aos registados pela cultivar Manteiga. Os valores foram respetivamente, 6567 e 2733 kg

ha<sup>-1</sup> (figura 7). Tal como registado na cv. Manteiga, a quantidade de matéria seca na palha foi superior à registrada no grão na última data de amostragem.

O padrão registado na concentração de azoto na palha e no grão foi semelhante ao verificado para a cv. Manteiga. Na palha ocorreu um decréscimo na concentração de azoto ao longo da estação de crescimento, enquanto no grão a concentração de azoto se manteve elevada, próxima de 40 g kg<sup>-1</sup>.

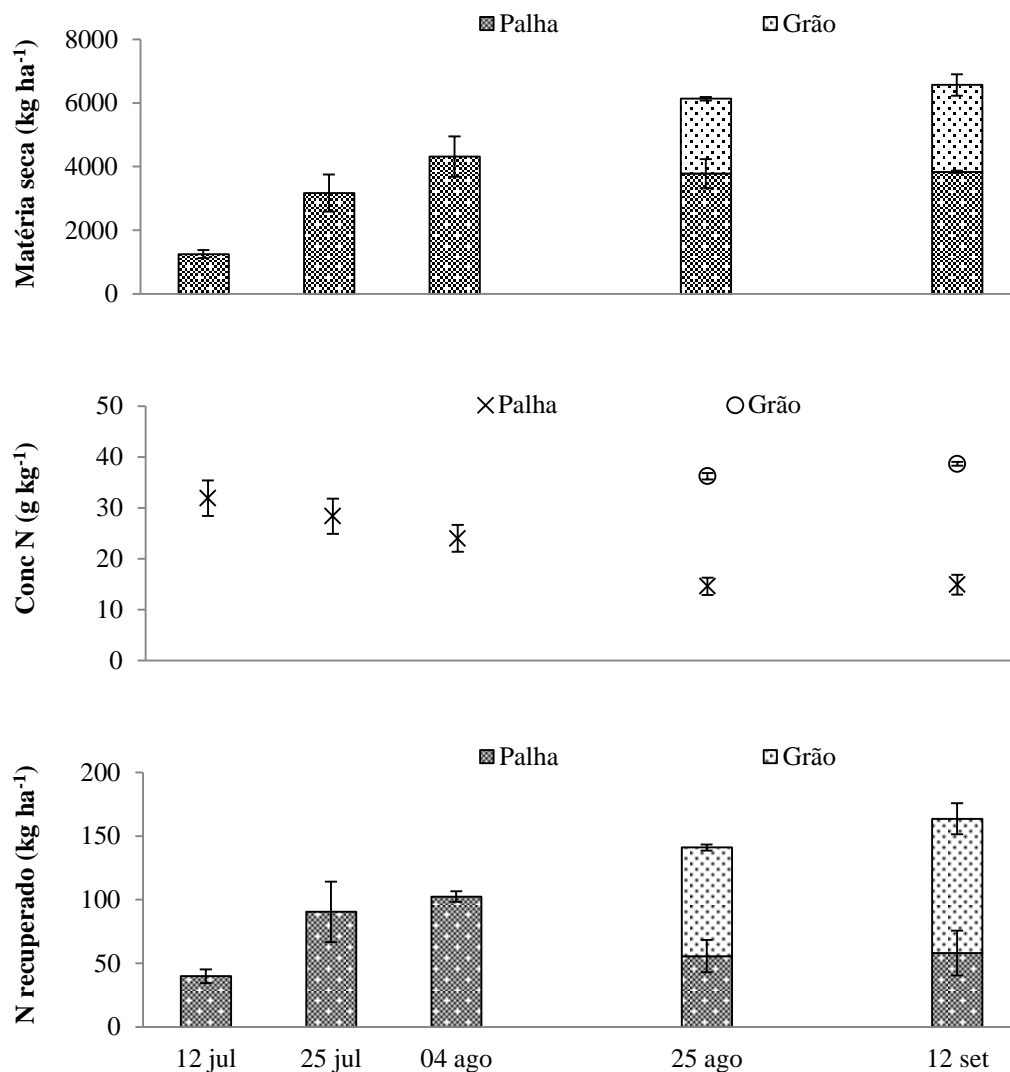


Figura 7. Matéria seca, concentração de azoto e azoto exportado na palha e no grão ao longo da estação de crescimento, em feijão-comum (cv. Maravilha de Piemonte) cultivado em regadio. As barras de erro indicam o intervalo de confiança para as médias ( $\alpha=0,05$ ).

O azoto recuperado na parte aérea aumentou até à última data de amostragem, se bem que começou a decrescer na palha a partir da terceira data de amostragem. Nos dois

últimos cortes o azoto na parte aérea aumentou devido à acumulação de azoto no grão. A quantidade total de azoto na parte aérea e no grão atingiu os valores de 164 e 106 kg ha<sup>-1</sup>, respetivamente.

Na cultura de feijão-frade de regadio registou-se uma produção de matéria seca total de aproximadamente 9200 kg ha<sup>-1</sup> (figura 8), valor elevado em comparação com o que foi registado em sequeiro (2000 kg ha<sup>-1</sup>) e mesmo nos talhões regados de feijão-comum. Nota-se também que a palha apresenta maior quantidade de matéria seca em comparação com o grão.

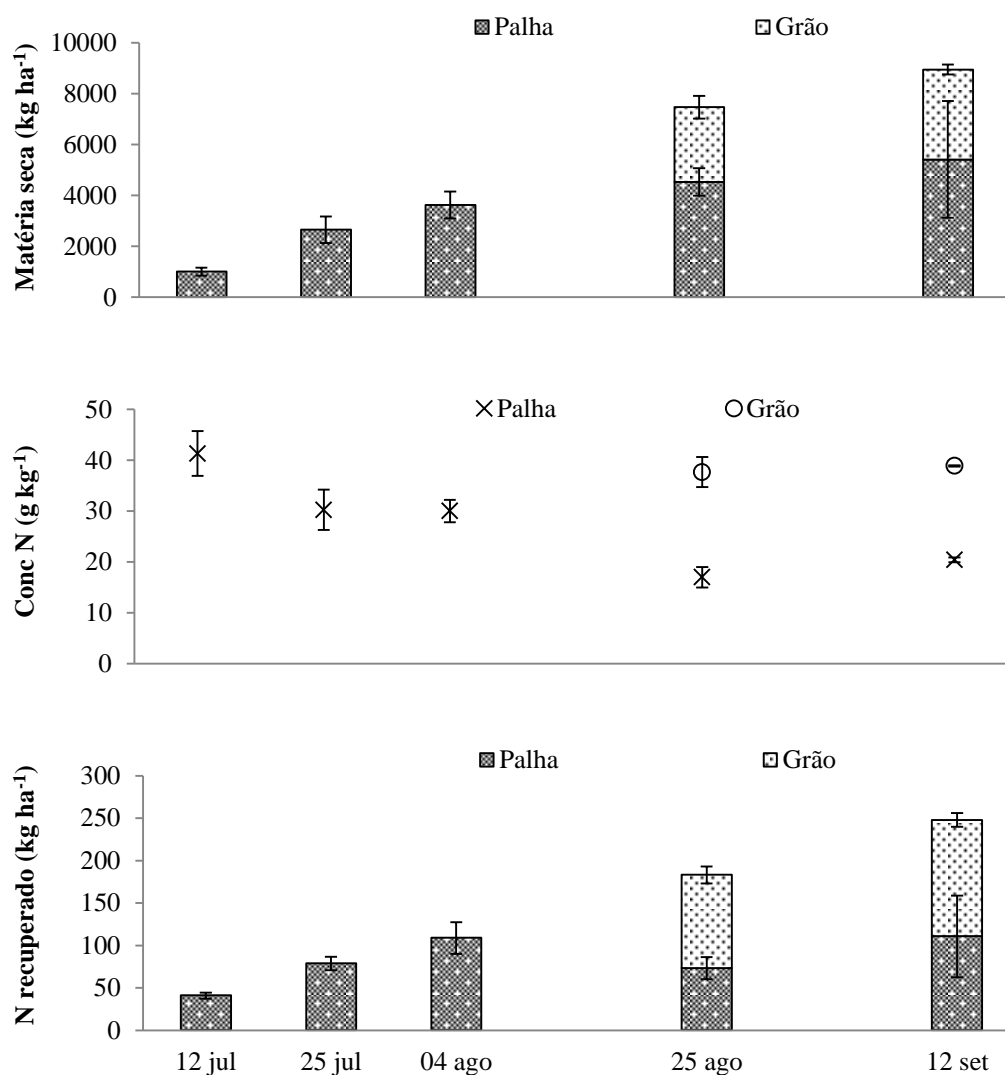


Figura 8. Matéria seca, concentração de azoto e azoto exportado na palha e no grão ao longo da estação de crescimento, em feijão-frade cultivado em regadio. As barras de erro indicam o intervalo de confiança para as médias ( $\alpha=0,05$ ).

A concentração de azoto na palha seguiu a tendência de decréscimo ao longo da estação de crescimento registada para as outras culturas. No grão a concentração de azoto manteve-se elevada, tal como nas outras culturas, e bastante superior que a concentração de azoto na palha. No grão, nas duas últimas amostragens, o teor de azoto aproximou-se de  $40 \text{ g kg}^{-1}$ .

A cultura recuperou na parte aérea mais de  $230 \text{ kg ha}^{-1}$ , valor bastante superior ao obtido no campo de sequeiro. No último corte, a quantidade de azoto no grão foi superior ao registado na palha, ao contrário do que se tinha registado com o teor de matéria seca total.

Na cultura da soja cultivada em campo irrigado ensaiaram-se duas situações: aplicação e sem aplicação de inóculo. A inoculação originou um aumento significativo de produção total de matéria seca (figura 9). No quarto corte, aquele em que a acumulação de matéria seca atingiu o valor mais elevado, foram registados  $8000$  e  $6000 \text{ kg ha}^{-1}$ , respetivamente nos talhões inoculados e não inoculados. No último corte, a quantidade de matéria seca total decresceu nos talhões inoculados e não inoculados. Ainda no último corte, que corresponde à produção final obtida, a produção média de grão foi superior nos talhões inoculados ( $1500 \text{ kg ha}^{-1}$ ) em comparação com os talhões não inoculados ( $1000 \text{ kg ha}^{-1}$ ).

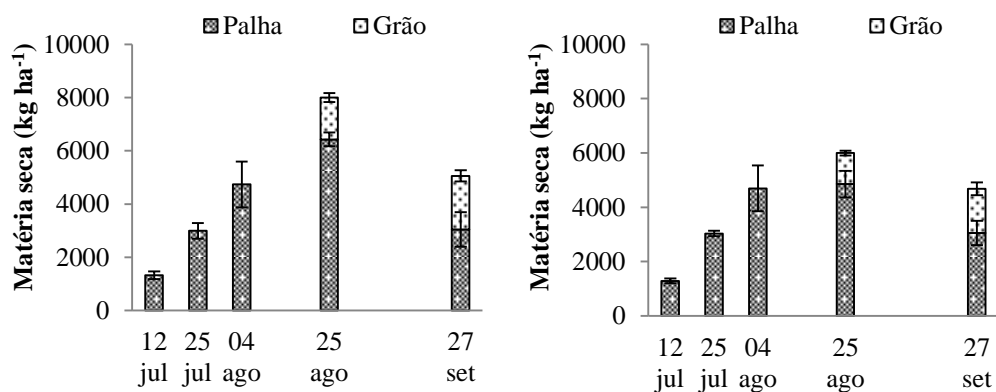


Figura 9. Matéria seca na palha e no grão ao longo da estação de crescimento em soja inoculada (esquerda) e não inoculada (direita). As barras de erro indicam o intervalo de confiança para as médias ( $\alpha=0,05$ ).

A concentração de azoto nos tecidos parece não diferir de forma significativa entre as plantas dos talhões sujeitas e não sujeitas a inoculação. Em ambas as situações há um decréscimo evidente da concentração de azoto na palha, acontecendo o oposto no

grão, cuja concentração aumenta da quarta para a quinta data de amostragem (figura 10). Assim, nota-se para ambos os tratamentos que a partir da fase reprodutiva da cultura parte significativa do azoto começa a concentrar-se no grão.

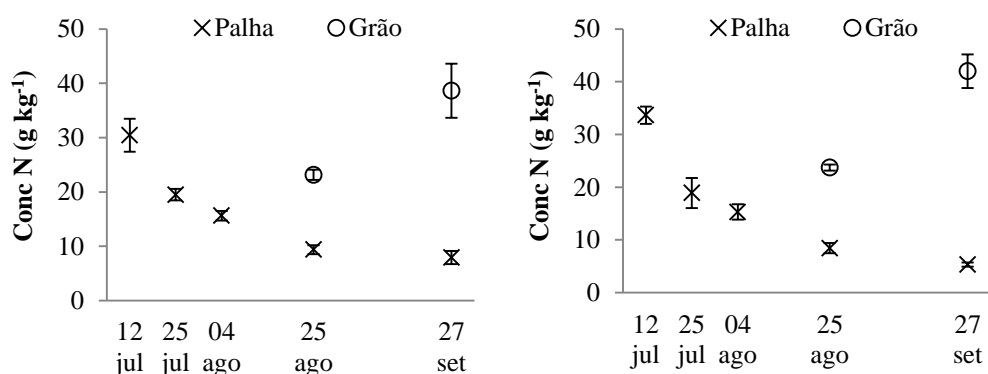


Figura 10. Concentração de azoto na palha e no grão ao longo da estação de crescimento em soja inoculada (esquerda) e não inoculada (direita). As barras de erro indicam o intervalo de confiança para as médias ( $\alpha=0,05$ ).

O azoto total recuperado na parte aérea da planta aumentou também até à última amostragem em ambas as modalidades em estudo: soja inoculada e não inoculada (figura 11). No tratamento em que se aplicou inóculo foi atingido um valor próximo de  $100 \text{ kg ha}^{-1}$ , enquanto no tratamento onde não se aplicou inóculo esse valor atingiu aproximadamente  $80 \text{ kg ha}^{-1}$ . Em ambos os tratamentos o azoto acumulado no grão foi bastante superior ao que se encontrava na palha. A quantidade média de azoto no grão atingiu os valores de  $80$  e  $70 \text{ kg ha}^{-1}$ , respetivamente nos talhões inoculados e não inoculados.

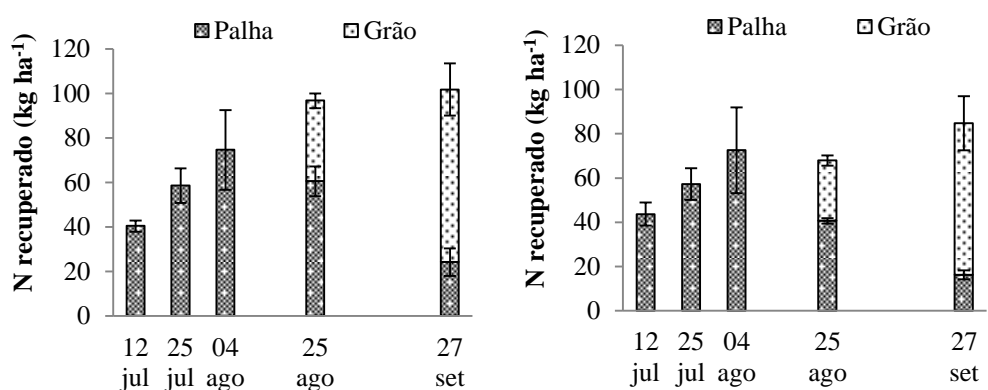


Figura 11. Azoto recuperado na palha e no grão ao longo da estação de crescimento em soja inoculada (esquerda) e não inoculada (direita). As barras de erro indicam o intervalo de confiança para as médias ( $\alpha=0,05$ ).

Tal como se fez com as culturas regadas avaliou-se também a produção de biomassa, a concentração de azoto e o azoto total recuperado na parte aérea da vegetação espontânea que emergiu e se desenvolveu em talhões próximos dos talhões semeados e aí mantidos para esse efeito. Os resultados foram apresentados na figura 12. A produção de matéria seca aumentou até ao quarto corte em 25 de agosto, em que se obtiveram valores próximos de 5000 kg ha<sup>-1</sup>.

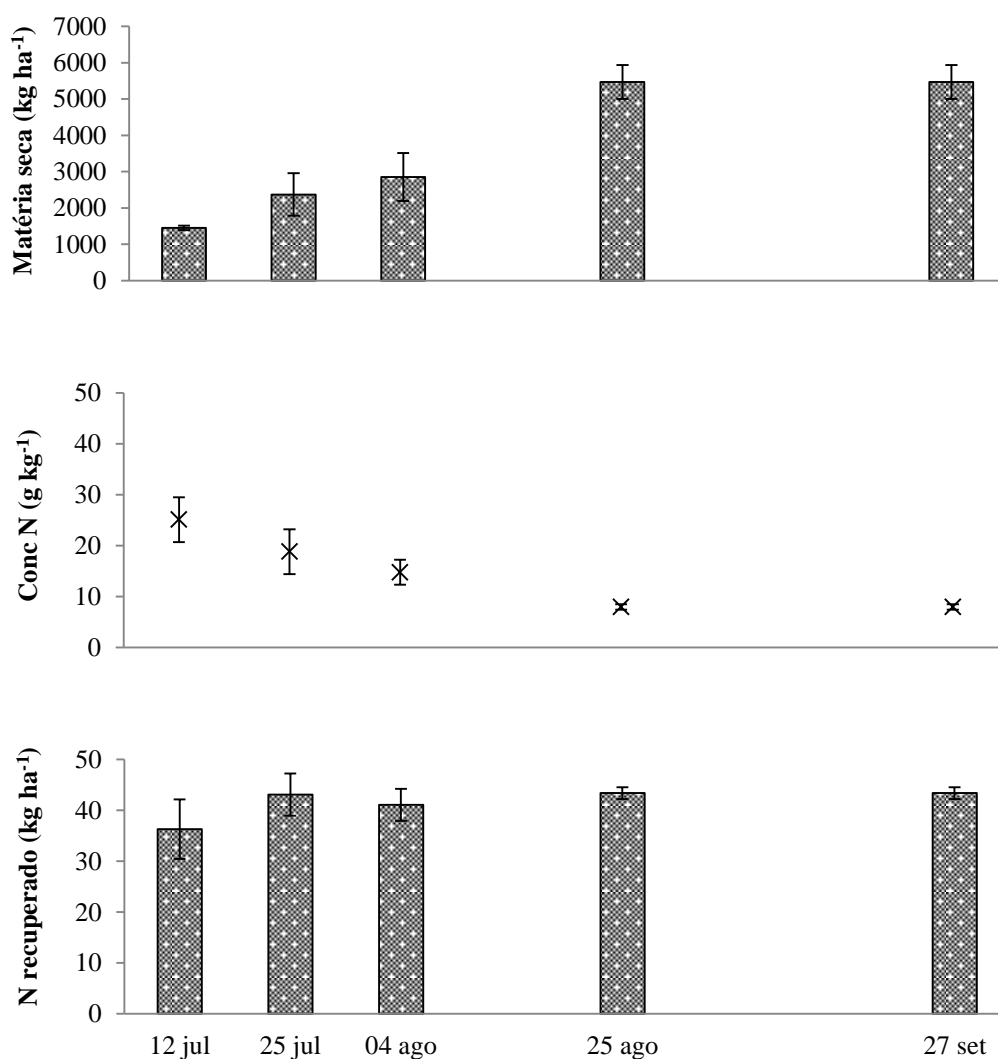


Figura 12. Matéria seca, concentração de azoto e azoto recuperado na totalidade da biomassa aérea em vegetação espontânea que se desenvolveu em regadio. As barras de erro indicam o intervalo de confiança para as médias ( $\alpha=0,05$ ).

Na vegetação espontânea a concentração de azoto foi apenas determinada na totalidade da biomassa, não se tendo separado o grão. A generalidade das plantas que compõem a vegetação espontânea é deiscente, libertando a semente imediatamente antes da maturação fisiológica, sendo esta difícil de recuperar. Assim, a concentração de

azoto na planta decresceu desde a primeira à última colheita, tal como aconteceu na palha das leguminosas. Provavelmente parte do azoto ter-se-á perdido nas sementes que foram caindo à medida que ocorria a sua maturação fisiológica. Outra diferença importante para as leguminosas é a concentração de azoto no primeiro corte, que neste caso não ultrapassou 30 g kg<sup>-1</sup>.

O azoto recuperado na biomassa aérea da vegetação espontânea praticamente não aumentou desde o primeiro corte (12 de julho). O aumento de biomassa foi acompanhado de redução da concentração de azoto nos tecidos. A quantidade de azoto encontrado na biomassa aérea não ultrapassou 45 kg ha<sup>-1</sup>, valores baixos comparados com as concentrações obtidas nas leguminosas cultivadas em regadio.

Uma síntese dos resultados das leguminosas de grão cultivadas em sequeiro e em regadio relativamente à produção de grão, produção total de biomassa e azoto contido no grão e na totalidade da biomassa aérea é apresentado na tabela 4.

Em campo de sequeiro, o grão-de-bico apresentou resultados favoráveis de produção de grão, produção da biomassa total, azoto recuperado no grão e azoto total recuperado na parte aérea da planta comparando com os resultados obtidos em feijão-frade. No ensaio em campo regado, avaliando os mesmos parâmetros, os melhores resultados encontram-se no feijão-frade seguido do feijão-comum (cv. Manteiga proveniente de Angola) sem diferenças significativas entre os mesmos.

Tabela 4. Produção média de grão, biomassa total da parte aérea e azoto recuperado no grão e na biomassa total.

<b>Culturas</b>	Prod. Grão (kg ha <sup>-1</sup> )	Prod. Total (kg ha <sup>-1</sup> )	N Grão (kg ha <sup>-1</sup> )	N Total (kg ha <sup>-1</sup> )
<b>Sequeiro</b>				
Grão-de-bico	1506	2713	44	51
Feijão-frade	955	1788	33	43
<b>Regadio</b>				
Feijão-comum (cv. Manteiga)	3164	8631	113	204
Feijão-comum (cv. Maravilha de Piemonte)	2733	6568	106	164
Feijão-frade	3533	8945	137	248
Soja inoculada	2012	5061	78	102
Soja não inoculada	1627	4684	68	84
Vegetação natural	-----	5467	-----	43

Na planta de soja, fazendo uma comparação da modalidade inoculada e não inoculada, é notável a diferença nos valores obtidos de produção de grão, produção da biomassa total, azoto recuperado no grão e azoto total recuperado na parte aérea da planta em favor da modalidade inoculada. Observa-se ainda que a vegetação natural (testemunha) apresentou resultados significativamente baixos de azoto total recuperado na parte aérea da planta comparando com as leguminosas cultivadas.

### **3.3 Cultivos em vasos**

A experiência em vasos teve início em 1 de junho de 2016. Foram preparados 60 vasos, dos quais 40 foram usados para a cultura da soja e 20 para o feijão trepador. A experiência da soja incluiu uma modalidade inoculada (20 vasos) e uma modalidade não inoculada (20 vasos). Os vasos de soja inoculada, não inoculada e feijão de trepar foram divididos em dois grupos de 10 em que um grupo recebeu um suplemento de adubação azotada e o outro grupo não recebeu esse suplemento de azoto.

#### **3.3.1 Soja**

No ensaio da soja em vasos foram constituídos 4 tratamentos com 10 vasos cada: soja com inóculo e azoto, soja sem inóculo com azoto, soja com inóculo sem azoto e soja sem inóculo e sem azoto.

A quantidade total de matéria seca registada no ensaio com soja foi significativamente mais elevada no tratamento com inóculo e com azoto (figura 13). Foi seguida da modalidade sem inóculo com azoto. Os valores registados foram respetivamente 63 e 44 g vaso<sup>-1</sup>. Com resultados bastantes mais baixos, encontraram-se as modalidades com inóculo e sem azoto (13 g vaso<sup>-1</sup>) e sem inóculo e sem azoto (6 g vaso<sup>-1</sup>). Entre estas últimas, a inoculação promoveu um ligeiro aumento de produção de matéria seca em comparação com a modalidade não inoculada.

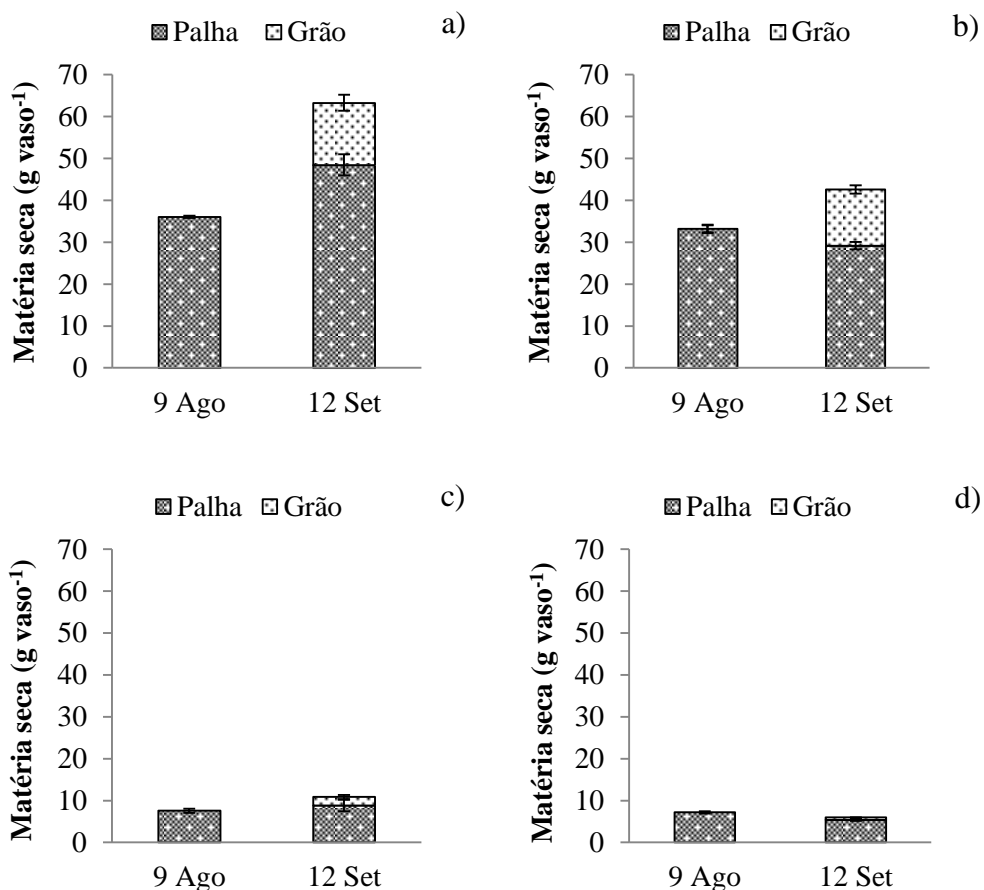


Figura 13. Matéria seca na palha e no grão em soja cultivada em vasos a) com inóculo e com azoto, b) sem inóculo e com azoto, c) com inóculo e sem azoto, e d) sem inóculo e sem azoto. As barras de erro indicam o intervalo de confiança para as médias ( $\alpha=0,05$ ).

A concentração de azoto nos tecidos não mostrou diferenças tão evidentes entre os tratamentos do ensaio em vasos da soja como tinha revelado a produção de matéria seca (figura 14). As concentrações de azoto no grão foram particularmente elevadas nos tratamentos que revelaram baixa produção de biomassa, designadamente os tratamentos sem adição de azoto mineral.

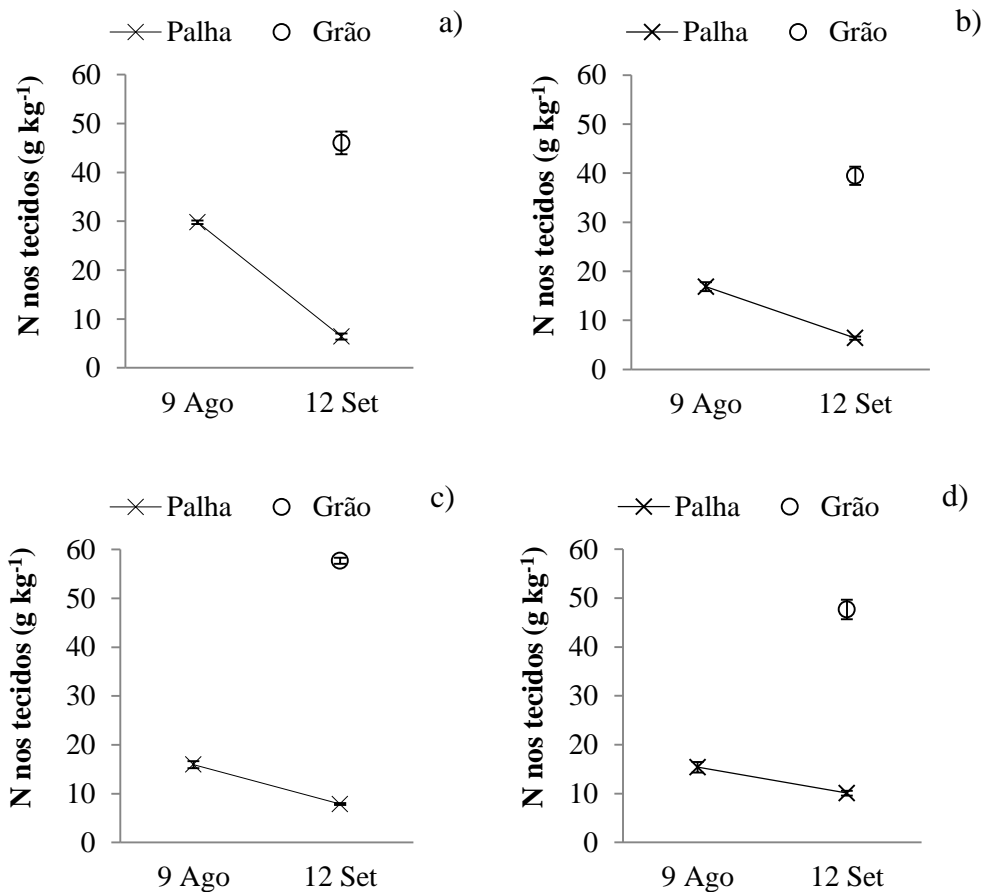


Figura 14. Concentração de azoto na palha e no grão em soja cultivada em vasos a) com inóculo e com azoto, b) sem inóculo e com azoto, c) com inóculo e sem azoto, e d) sem inóculo e sem azoto. As barras de erro indicam o intervalo de confiança para as médias ( $\alpha=0,05$ ).

O azoto recuperado na biomassa aérea apresentou diferenças marcadas entre os tratamentos (figura 15), tal como se tinha verificado na produção de matéria seca, uma vez que a concentração de azoto nos tecidos não tinha diferido muito. Assim, a quantidade total de azoto recuperado foi mais elevada no tratamento com inóculo e com azoto ( $1.4 \text{ g vaso}^{-1}$ ), seguido do tratamento sem inóculo e com azoto ( $0.45 \text{ g vaso}^{-1}$ ). No segundo corte, a quantidade de azoto contido no grão foi equivalente à quantidade de azoto contido na palha.

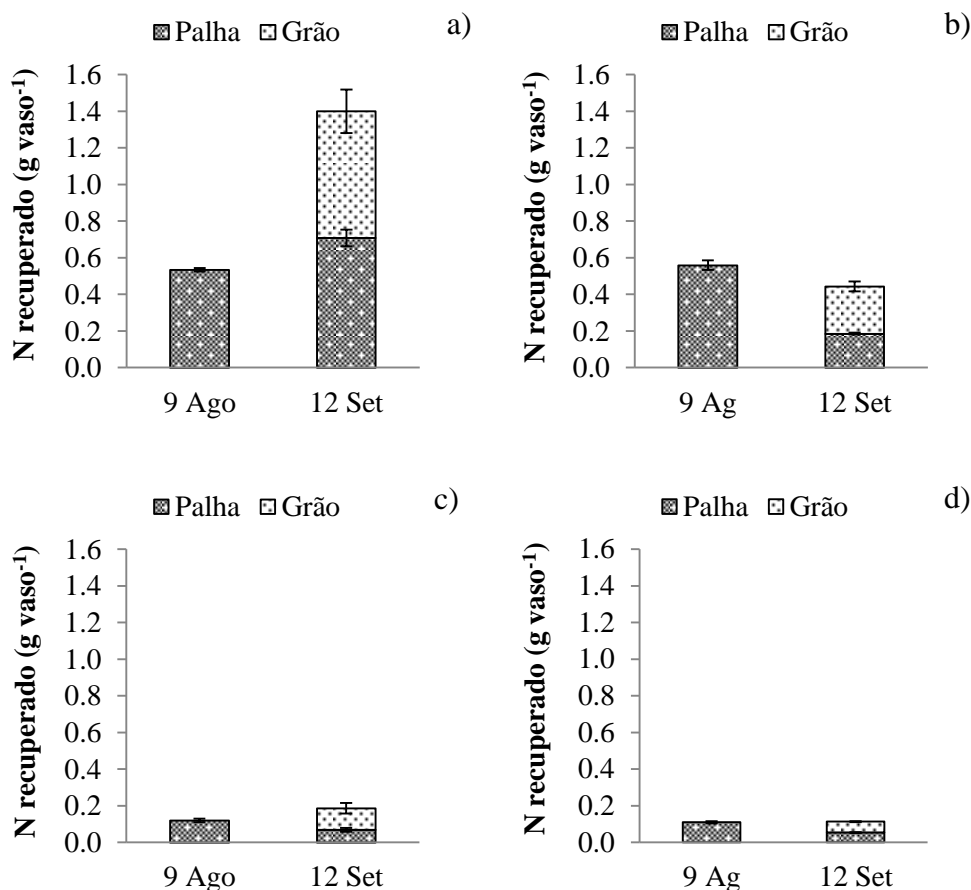


Figura 15. Azoto recuperado na palha e no grão em soja cultivada em vasos a) com inóculo e com azoto, b) sem inóculo e com azoto, c) com inóculo e sem azoto, e d) sem inóculo e sem azoto. As barras de erro indicam o intervalo de confiança para as médias ( $\alpha=0,05$ ).

### 3.3.2 Feijão trepador

No feijão trepador a experiência contou com 20 vasos, 10 para cada tratamento, com e sem azoto mineral. Registrou-se a produção de matéria seca, a concentração de azoto nos tecidos e o azoto recuperado pela planta na palha e no grão.

O suplemento com fertilizante azotado aumentou a produção total de matéria seca (figura 16). Os valores registados no segundo corte atingiram respetivamente 62 e 51 g vaso<sup>-1</sup> nos vasos fertilizados e não fertilizados. No feijão de trepar, a maior parte da biomassa aérea encontrava-se na palha e apenas uma fração reduzida no grão.

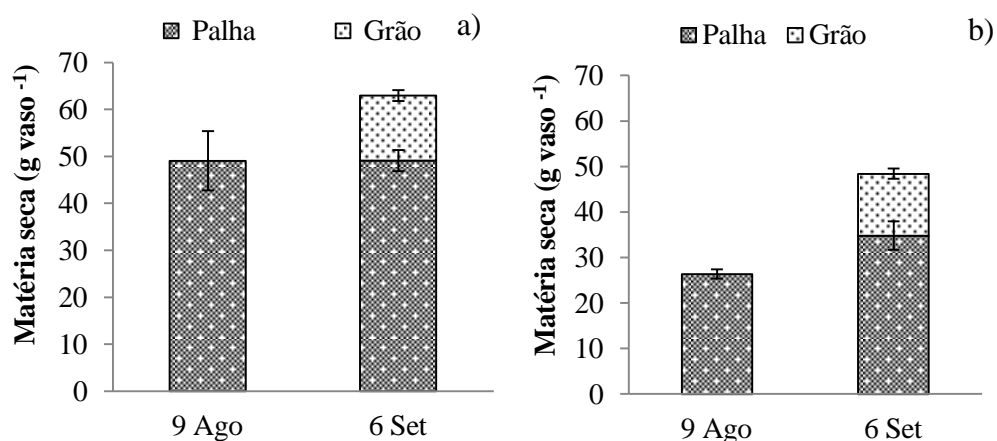


Figura 16. Matéria seca na palha e no grão em feijão de trepar cultivado em vasos a) com adição de azoto e b) sem adição de azoto. As barras de erro indicam o intervalo de confiança para as médias ( $\alpha=0,05$ ).

Tal como se tinha verificado com a cultura da soja cultivada em vasos, a concentração de azoto nos tecidos não diferiu de forma significativa entre os tratamentos com adição e sem adição de azoto suplementar (Figura 17). Os valores na palha situaram-se acima de 20 g kg<sup>-1</sup> no primeiro corte e no grão acima de 35 g kg<sup>-1</sup> no segundo corte.

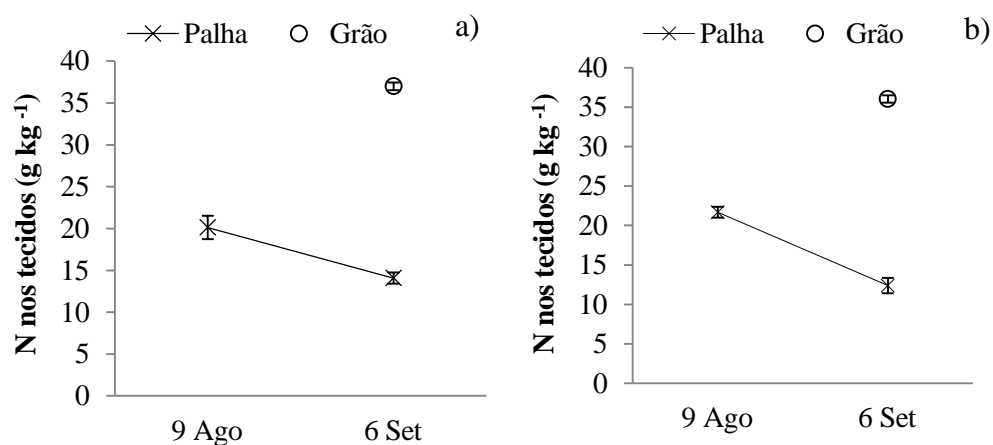


Figura 17. Concentração de azoto na palha e no grão em feijão de trepar cultivado em vasos a) com adição de azoto e b) sem adição de azoto. As barras de erro indicam o intervalo de confiança para as médias ( $\alpha=0,05$ ).

A quantidade de azoto recuperado na totalidade da parte aérea (palha mais grão) foi significativamente mais elevada no tratamento com adição de azoto (figura 18). A quantidade total média de azoto recuperado foi de 2 g vaso<sup>-1</sup> e 1 g vaso<sup>-1</sup>,

respetivamente nos vasos com e sem adição de azoto. Contudo, se avaliarmos apenas a quantidade de azoto contido no grão, as diferenças são reduzidas, isto é, o azoto que a planta absorveu a mais na modalidade fertilizada encontrava-se maioritariamente na palha na colheita final.

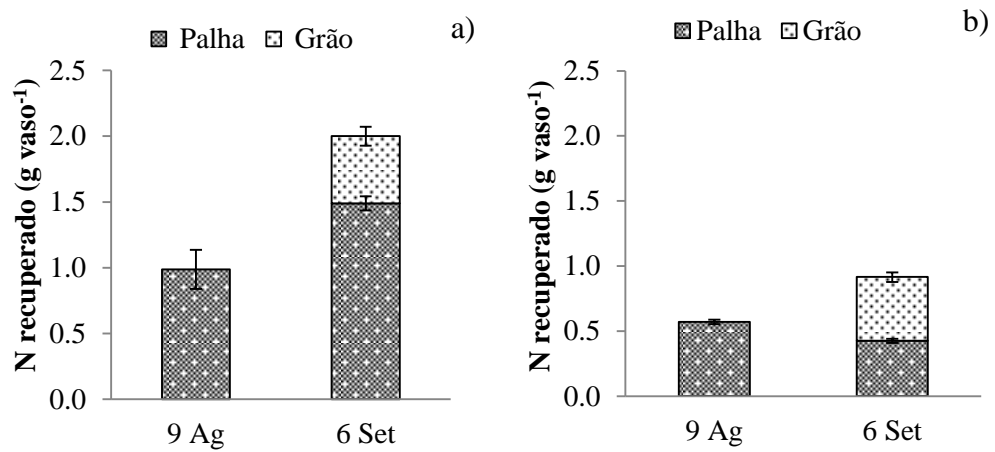


Figura 18. Azoto recuperado na palha e no grão em feijão de trepar cultivado em vasos a) com adição de azoto e b) sem adição de azoto. As barras de erro indicam o intervalo de confiança para as médias ( $\alpha=0,05$ ).

## **IV Discussão dos resultados**

Neste capítulo são discutidos os resultados apresentados no capítulo anterior. Inicia-se a discussão pelas leguminosas pratenses de ciclo outono/inverno usadas para sideração, seguindo-se as leguminosas de grão cultivadas em sequeiro e em campo irrigado e posteriormente o cultivo de leguminosas em vasos.

### **4.1 Leguminosas pratenses**

No ensaio de leguminosas pratenses, a maior quantidade de matéria seca foi registada no trevo-encarnado seguido do trevo-subterrâneo, resultados significativamente mais elevados que os obtidos com vegetação espontânea (testemunha). Resultados semelhantes foram relatados por Fontaneli e Junior (1991), quando estudaram a avaliação de consociações de aveia e azevém-anual com leguminosas de estação fria, onde se obtiveram melhores contribuições de matéria seca nos tratamentos em que se consociaram gramíneas + leguminosas (aveia + azevém + trevo-subterrâneo, aveia + azevém + trevo-vermelho, aveia + azevém + trevo branco) comparando com o tratamento em que se consociaram somente gramíneas (aveia + azevém). Este resultado pode ter-se devido à densidade de sementeira e características morfológicas das plantas. Segundo Barnes et al. (2003) as leguminosas são plantas com elevada capacidade de produzir biomassa devido a formarem associações simbióticas com bactérias fixadoras de azoto, denominadas genericamente como rizóbios, que lhes conferem a capacidade de serem autossuficiente durante o seu desenvolvimento. Perin et al. (2004) mediram a produção de fitomassa, acumulação de nutrientes e fixação biológica de azoto por adubos verdes em cultivo isolado e consociado, e verificaram que a produção de biomassa das leguminosas foi significativamente maior que a da vegetação espontânea e de milho (*Pennisentum glaucum* L).

A concentração de azoto nos tecidos foi maior nos trevos subterrâneo e encarnado relativamente à testemunha, resultado que pode ser causado pela maior disponibilidade de azoto motivada pela relação com bactérias fixadoras de azoto que durante todo ciclo abasteceram a planta com azoto e permitiram um desenvolvimento vegetal favorável. A concentração de azoto nos tecidos mantém-se elevada durante mais tempo, o que não acontece na vegetação espontânea devido à limitação de azoto no solo, o que fez com que à medida as plantas espontâneas se foram desenvolvendo a concentração de azoto foi baixando por efeito de diluição do elemento nos tecidos.

Na quantidade de azoto recuperado pela planta, os valores mais elevados foram obtidos nos trevos encarnado e subtterrâneo, resultado que se deverá ao fato de serem plantas da família das leguminosas que, como se disse, produzem elevada massa vegetal e apresentam elevada concentração de azoto nos tecidos devido à fixação biológica. Alcantara et al. (2000) referenciam que as leguminosas mostram valores superiores de azoto recuperado na massa vegetal em comparação com vegetação espontânea exatamente por causa da sua capacidade de fixar azoto atmosférico e também pelo seu sistema radicular ser mais eficiente no aproveitamento dos nutrientes.

Nos ensaios de avaliação do efeito fertilizante da sideração das leguminosas pratenses na cultura do milho em vasos, em que se incorporaram as leguminosas de outono/inverno e a vegetação natural, a incorporação de trevo-encarnado e trevo-subterrâneo originaram valores mais elevados de produção de matéria seca de milho em comparação com a vegetação espontânea. Arruda e Costa (2003) referem trabalhos onde se obtiveram resultados semelhantes quando se usaram espécies leguminosas em consociação com gramíneas chegando aquelas quase a dobrar a produção de matéria seca por hectare em comparação com as gramíneas. Estudos conduzidos por Valentin (2001) mostraram que ocorreu um aumento de 52% na produtividade de forragem em comparação com as pastagens puras de gramíneas, quando se consociou capim massai (*Panicum maximum*) com amendoim forrageiro (*Arachis pintoi*).

Esses resultados podem ser devidos às características das leguminosas que, através da simbiose com bactérias específicas, fixam azoto atmosférico e atingem uma elevada massa vegetal, que, quando incorporadas, abastecem o solo com matéria orgânica rica em azoto, melhorando o desenvolvimento das plantas e aumentando a capacidade produtiva do solo o que não acontece com a vegetação natural. Espindola et al. (1997) argumentam que o uso de leguminosas herbáceas nos sistemas de rotação, para além de aumentar a capacidade de troca catiónica do solo e reduzir as perdas de nutrientes por lixiviação também permite o aporte de azoto ao solo disponibilizando o nutriente para outras culturas.

A concentração de azoto nos tecidos do milho foi ligeiramente superior nos vasos onde se incorporou trevo-encarnado, sem diferença significativa comparando com trevo-subterrâneo e vegetação espontânea. O resultado pode dever-se a um efeito de diluição porque à medida que foi aumentando a massa vegetal de milho, a concentração de azoto na planta manteve-se similar entre os tratamentos.

Os resultados do azoto recuperado na biomassa aérea do milho cultivado nos vasos mostraram valores mais elevados nos tratamentos em que se incorporou trevo-encarnado e trevo-subterrâneo. Possivelmente ocorreu uma maior disponibilidade de azoto para a planta. Os resíduos das leguminosas contêm mais azoto que após a mineralização fica disponível para a cultura do milho. Espindola et al. (2005) referem que as leguminosas quando incorporadas no solo ou consociadas com outras culturas contribuem significativamente para o fornecimento de azoto para a cultura seguinte ou culturas consociadas com as leguminosas. Castro et al. (2004) referem que o uso de plantas leguminosas na consociação possibilita a pronta disponibilidade de azoto para a cultura principal pela decomposição da parte aérea da leguminosa que irá liberar os nutrientes durante o desenvolvimento da cultura principal.

#### **4.2 Leguminosas de grão**

Neste ponto discutem-se os resultados obtidos nos ensaios de campo em sequeiro e em regadio.

Em campo de sequeiro a produção de grão e de matéria seca total foi maior na cultura de grão-de-bico comparando com feijão-frade, talvez devido ao facto de o grão-de-bico ser uma das culturas proteaginosas que melhor resiste a seca e ter capacidade de produzir mais biomassa nestas condições. Segundo Viera et al. (2001) o grão-de-bico é uma planta capaz de extrair humidade das camadas mais profundas do solo. Resultados semelhantes de produção de grão e biomassa da parte aérea da planta foram relatados por Silva et al. (2011), quando estudaram a eficiência de utilização de água pelo grão-de-bico em condições mediterrânicas. No último corte a quantidade matéria seca no grão superou a palha, tendo o mesmo acontecido com feijão-frade. Na última fase de desenvolvimento da planta em que se começa a formar grão ocorre a senescência de uma parte dos órgãos vegetativos da planta, passando grande parte dos nutrientes para o grão. Segundo Artiaga (2012) o fenómeno é mais intenso a seguir à senescência das primeiras folhas que começa logo após o desenvolvimento das vagens e o enchimento da semente.

No último corte, a planta de grão-de-bico recuperou no total 51 kg ha<sup>-1</sup> de azoto contra 43 kg ha<sup>-1</sup> da cultura de feijão-frade, dos quais o grão apresentou 44 kg ha<sup>-1</sup> da totalidade do azoto recuperado na planta. Tal como matéria seca total, o grão apresentou maior quantidade de azoto do que a palha. Este resultado pode ter ocorrido porque as

plantas anuais no final do seu ciclo vegetativo concentram os seus nutrientes no grão. As leguminosas concentram muito azoto no grão uma vez que a proteína é a principal forma de reserva nestas plantas.

Em regadio os melhores resultados de produção total de matéria seca ocorreram nas culturas de feijão-frade e feijão-comum (cv. Manteiga proveniente de Angola) com 8945 e 8631 kg ha<sup>-1</sup> respectivamente, seguindo a mesma sequência na produção de grão. À semelhança do que aconteceu na produção de matéria seca os valores da quantidade de azoto recuperado na planta foram superiores em feijão-frade e feijão-comum (cv. Manteiga). Da totalidade de azoto recuperado na biomassa aérea da planta o grão representou mais de 55% para as culturas acima mencionadas. Estes resultados podem ter sido motivados pela eficiência da fixação biológica de azoto e condições ambientais que foram favoráveis aos dois cultivos, o que permitiu melhor desempenho com relação às outras culturas. Valores próximos de matéria seca na parte aérea, no grão e de azoto recuperado na planta foram obtidos por Sampaio e Brasil (2006) quando estudaram as exigências nutricionais de feijão-frade.

De uma forma geral as leguminosas, com exceção da soja inoculada e não inoculada, apresentaram resultados significativamente superiores de matéria seca e de azoto total recuperado na planta em relação à vegetação natural, resultado que pode ser causado pela capacidade que as plantas dessa família têm em fixar azoto atmosférico através da relação simbiótica com microrganismos do solo tornando-as autossuficiente na obtenção de nutrientes para o seu desenvolvimento. Alcântara et al. (2000) obtiveram resultados semelhantes quando compararam a produção de matéria seca e fornecimento de nutrientes ao solo entre leguminosas e pastagens em que avaliaram a adubação verde na recuperação da fertilidade de um solo degradado. Os mesmos autores argumentam que as leguminosas apresentam teores elevados de azoto na biomassa comparados com a vegetação natural, devido a sua capacidade de fixar azoto atmosférico e ainda ter um sistema radicular mais eficiente no aproveitamento dos nutrientes no solo. Eiras e Coelho (2010) argumentam que as leguminosas são muito usadas não só pela relação com as bactérias fixadoras de azoto, mas também pela rusticidade, elevada produção de matéria seca e o seu sistema radicular profundo e ramificado capaz de extrair nutrientes das camadas mais profundas do solo. Segundo Espindola (1997) a quantidade de azoto fixado por leguminosa varia em função das espécies utilizadas e das condições edafoclimáticas da região.

Comparando os resultados obtidos nos tratamentos com soja (com inóculo e sem inóculo), com exceção da concentração de azoto nos tecidos onde se verificaram valores semelhantes, a quantidade de matéria seca de azoto recuperado na palha e no grão foram maiores no tratamento em que se usou inóculo. Este resultado mostra que a aplicação de inóculo na cultura da soja é determinante para se obterem valores elevados de matéria seca e azoto recuperado na planta e que os rizóbios inoculados foram mais eficientes visto que apresentou melhor adaptação às condições climáticas e melhor afinidade com a planta o que pode não ter acontecido com os microrganismos nativos. Para Embrapa (2016) a inoculação na cultura da soja tem grande importância porque é capaz de substituir o uso de fertilizantes nitrogenados e reduzir os impactos negativos no ambiente causado pelos fertilizantes de síntese industrial.

Silva et al. (2008) também observaram benefícios da utilização de inóculos na cultura da soja quando estudaram o efeito da inoculação com rizóbios de crescimento rápido e lento em solo ácido submetido a calagem. Os autores registaram melhores resultados na quantidade de biomassa seca e azoto recuperado na planta quando se aplicou inóculo comparado com a não inoculação. Resultados semelhantes foram relatados por Neto et al. (2008) quando experimentaram várias formas de aplicação de inóculo e seus efeitos sobre a nodulação da soja em que os tratamentos em que se aplicou inóculo foram superiores à testemunha, tratamento em que não se aplicou inóculo.

#### **4.3 cultivos em vasos**

No ensaio em vasos com a cultura da soja, com exceção da concentração de azoto nos tecidos, o melhor resultado foi obtido no tratamento que se combinou inóculo com aplicação de azoto seguido do tratamento sem inóculo com azoto. Este resultado mostra que uma combinação de inóculo e uma dose adequada de azoto pode proporcionar rendimentos elevados para a cultura da soja. Este resultado contradiz, contudo, Araujo et al. (2001) que demonstraram que a adubação azotada prejudicou o processo de fixação biológica de azoto, visto que o abastecimento de azoto mineral desfavoreceu a simbiose entre a bactéria e a planta e resultou em menor altura das plantas nos tratamentos inoculados com *Rhizobium* sp. e adubados com 20 kg/ha de azoto. No mesmo estudo a melhor resposta em peso seco da parte aérea da planta obteve-se também no tratamento onde se aplicou inóculo sem adubação azotada. Outros

autores como Bêde et al. (1985) e Almeida et al. (1973) apresentaram resultados semelhantes. Talvez os vasos tenham limitado excessivamente a capacidade de expansão do sistema radicular e tenham tornado a planta mais dependentes de azoto externo.

Na experiência com o feijão trepador, com exceção da concentração de azoto nos tecido que apresentaram valores quase idênticos entre os tratamentos aplicados, os resultados obtidos para a quantidade de matéria seca e azoto recuperado no grão e na palha foram mais elevados no tratamento em que se aplicou azoto. Pelegrin et al. (2009) numa experiência em que testou a resposta da cultura do feijoeiro à adubação nitrogenada e à inoculação com rizóbio, mostrou resultados favoráveis quanto à produção de matéria seca da parte aérea nos tratamentos em que aplicou azoto sem rizóbio em relação a outros tratamentos aplicados. Contudo o mesmo não aconteceu com o azoto recuperado nos tecidos visto que não houve diferenças significativas entre tratamentos. Estes resultados mostram que ainda é necessária mais investigação que permita elucidar melhor o efeito do azoto mineral no inóculo de sementes de leguminosas.

## V Conclusões

As leguminosas pratenses superaram a vegetação espontânea, tendo o trevo-encarnado registado maior quantidade de matéria seca e o trevo-subterrâneo maior concentração de azoto nos tecidos. As duas leguminosas semeadas apresentaram valores idênticos de azoto acumulado na biomassa aérea e superiores à testemunha.

Como indicador de disponibilidade de azoto, o milho semeado em vasos onde se incorporou trevo-encarnado apresentou melhor desempenho em quantidade média de matéria seca, concentração de azoto nos tecidos e em quantidade de azoto acumulado na parte aérea. Contudo, os resultados não foram significativamente superiores aos do trevo-subterrâneo, mas foram superiores aos da modalidade testemunha.

Em campo de sequeiro, os valores mais elevados de produção de matéria seca, concentração de azoto e azoto recuperado na parte aérea da planta (palha e grão) foram obtidos no grão-de-bico.

No campo irrigado, o feijão-frade atingiu valores elevados de biomassa total, produção de grão e azoto total recuperado na planta, mas sem diferenças significativas em relação ao feijão-comum (cv. Manteiga).

A inoculação proporcionou um aumento significativo de produção total de matéria seca e grão na cultura da soja. O mesmo aconteceu ao azoto total recuperado na parte aérea da planta.

Para as leguminosas estudadas em campo irrigado houve um comportamento similar, já que parte considerável do azoto da planta se concentrou no grão no final do ciclo da cultura. Todas as leguminosas superaram a testemunha (vegetação espontânea) em quantidade total de azoto nos tecidos.

No ensaio da soja em vasos, a combinação inóculo mais azoto foi determinante para se obterem valores significativamente mais elevados de matéria seca e quantidade total de azoto recuperado na planta. No feijão trepador, à semelhança da soja, a adição de fertilizante azotado aumentou a produção total de matéria seca e azoto recuperado na parte aérea da planta (palha mais grão).



## VI Referências bibliográficas

- Adsule, R. N., Deshpande, S. S., & Sathe, S. K. (1998). La judía, In: Salunkhe, D. K., & Kadam, S. S. (Eds.), Handbook of Vegetable Science and Technology. Production, Composition, Storage, and Processing. Editorial Acribia, Zaragoza, pp. 467-481.
- Aguiar, C., Rodrigues, F. M., Simões, N., Barradas, A., Carita, T., Alarcão, C., & Crespo, D. (2013). Trevo-subterrâneo. Agrotec, Revista Técnico - Científica Agrícola, (8), 58-59.
- Alcântara, F. D., Neto, A. E. F., Paula, M. D., Mesquita, H. D., & Muniz, J. A. (2000). Adubação verde na recuperação da fertilidade de um Latossolo Vermelho-Escuro degradado. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 35 (2), 277-288.
- Almeida, D. (2006). Manual de Culturas Hortícolas. Volume II, Editorial Presença, Lisboa.
- Almeida, D. L., Pessanha, G. G., & Figueiredo, P. A. (1973). Efeito da calagem e da adubação fosfatada e nitrogenada na nodulação e produção do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*). Pesquisa Agropecuária Brasileira, 8 (7), 127-130.
- Araújo, A. S., Burity, H. A., & Lyra, M. D. (2001). Influência de diferentes níveis de nitrogênio e fósforo em leucena inoculada com *Rhizobium* e fungo micorrízico arbuscular. Revista Ecosistema, 26 (1), 35-37.
- Arf, O., Silva, L. D., Buzetti, S., Alves, M. C., Sá, M. D., Rodrigues, R. A. F., & Hernandez, F. B. T. (1999). Efeito da rotação de culturas, adubação verde e nitrogenada sobre o rendimento do feijão. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 34 (11), 2029-2036.
- Arruda, M. R., & Costa, J. R. (2003). Importância e alguns aspectos no uso de leguminosas na Amazônia. Embrapa Amazônia Ocidental, documento 30.
- Artiaga, O. P. (2012). Avaliação de genótipos de grão-de-bico no cerrado do Planalto Central Brasileiro. Tese de Mestrado, Universidade de Brasília, Brasil.
- Barnes, R. F., Nelson, C. J., Collins, M., & Moore, K. J. (2003). Forages an introduction to grassland agriculture, 6th edition, volume I, Blackwell Publishing Professional, Iowa, USA.

- Barroso, M. D., Magalhães, M. J., Carnide, V., Vegas, C. A., & Cachón, M. R. (2007). Caracterização e avaliação de diferentes espécies de leguminosas grão na região de Trás-os-Montes. DRAPN, Uma agricultura com Norte, Portugal.
- Bêde, S. N. P., Frota, J. N. E., Vasconcelos, I., & Alves, J. F. (1985). Identificação de fatores nutricionais limitantes da fixação simbiótica do nitrogênio atmosférico em leucena. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 9 (1), 5-7.
- Bellido, L. L. (1988). *La soja*. Ediciones Mundi- Prensa, Madrid, Espanha.
- Box, J. M. (2005). *Prontuário de Agricultura*. Mundi-Prensa Libros, Madrid, Espanha.
- Branco, L. M. S. (2014). *A educação ambiental ao serviço da gestão cinegética: o caso da zona de caça municipal de Peredo dos Castelhanos e de Urros*. Tese de Mestrado, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real.
- Buckles, D., & Barreto, H. J. (1996). Intensificación de sistemas de agricultura tropical mediante leguminosas de cobertura: un marco conceptual. *CIMMYT*, México.
- Cardoso, J.C. (1974). *A classificação dos solos de Portugal*. Secretaria de Estado da Agricultura. Direcção Geral dos Serviços Agrícolas, Lisboa.
- Castro, C. M., Alves, B. J., Almeida, D. L., & Ribeiro, R. D. (2004). Adubação verde como fonte de nitrogênio para a cultura da beringela em sistema orgânico. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 39 (8), 779-785.
- Díaz, M. I. I., & Sempere, C. G. I. (1987). Producción y valor nutritivo del trébol encarnado (*Trifolium incarnatum* L.) en Galicia. *Pastos*, 17 (1-2), 97-103.
- Dumet D., Adeleke R., & Faloye B. (2008). *Directrizes de regeneração: feijão-frade ou feijão caupi*. International Institute of Tropical Agriculture, Ibadan, Oyo State, Nigeria.
- Eiras , P. P., & Coelho, F. C. (2010). *Adubação verde na cultura do milho*. Programa Rio Rural, Manual Técnico, 28, Secretaria de Estado de Agricultura, Pecuária, Pesca e Abastecimento Superintendência de Desenvolvimento Sustentável, Brasil.
- Embrapa. (1994). *Microrganismos de importância agrícola*. Embrapa – CNPAF, documento, 44.

- Embrapa. (2016). Fixação biológica de nitrogênio. Versão eletrônica em <https://www.embrapa.br/web/fbn/saiba-mais-sobre-fbn> (Acedido em março de 2016).
- Espindola, J. A., Guerra, J. G., De-Polli, H., Almeida, D. L., & Abboud, A. C. (2005). Adubação verde com leguminosas. Embrapa Informação Tecnológica. Coleção Saber, 5.
- Espíndola, J. A., Guerra, J. G., & Almeida, D. L. (1997). Adubação verde: estratégia para uma agricultura sustentável. Embrapa – Agrobiologia, documento 42.
- Fagan, E. B., Medeiros, S. L., Manfron, P. A., Casaroli, D., Simon, J., Neto, D. D., Lier, Q. J., Santos, O. S., & Muller, L. (2007). Fisiologia da fixação biológica do nitrogênio em soja. Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia, 14 (1), 89-106.
- FAO. (2017). *Trifolium incarnatum* L. Disponível em: <http://www.fao.org/ag/AGP/AGPC/doc/GBASE/DATA/PF000502.HTM> (Acedido em janeiro de 2017).
- FAO/UNESCO. (1974). Soil map of the world. Vol. 1. Paris.
- Faostat. (2016). <http://faostat3.fao.org/home/E> (Acedido em agosto de 2016).
- Fernandes, A. (2001). Trevo-encarnado. Braga, Portugal. Disponível em: < [www.drapn.min-agricultura.pt/](http://www.drapn.min-agricultura.pt/). (Acedido em janeiro 2017).
- Fernández-Pascual, M., María, d., & Felipe, M. R. (2002). Fijación biológica de nitrógeno: factores limitantes. CCMA - CSIC, 195-202.
- Ferreira, A. C. P., Brazaca, S. G. C., & Arthur, V. (2006). Alterações químicas e nutricionais do grão-de-bico. Ciência e Tecnologia Alimentar, 26 (1), 80-88.
- Filho, F. R., Ribeiro, Q. V., Rocha, M. D., Silva, K. D., Nogueira, M. D., & Rodrigues, E. V. (2011). Produção, melhoramento genético e potencialidades do feijão-caupi no Brasil. IV reunião de biofortificação, Teresina, Piauí, Brasil.
- Fontaneli, R. S., & Júnior, N. F. (1991). Avaliação de consociações de aveia e azevém-anual com leguminosas de estação fria. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 26 (5), 623-630.

- Galantini, J. A., Rosell, R. A., Brunetti, G., & Senesi, N. (2002). Dinámica y calidad de las fracciones orgánicas de un Haplustol durante la rotación trigo-leguminosas. *Ciencia del Suelo*, 20 (1), 17-26.
- Garcia, A. G. (1999). *Cultivos Herbáceos Extensivos*, 6.<sup>a</sup> edición. Ediciones Mundi – Prensa, Madrid.
- Gardé, N., & Gardé, A. (1998). *Culturas Hortícolas*. Clássica Editora, Lisboa.
- Gonçalves, F. M. D. V. T. (2015). *Estudo comparativo de leguminosas pratenses anuais*. Tese de Mestrado, ISA/UL.
- Goulão, L., Farinha, N., Sousa, M. M., & Martins, J. M. (1999). Caracterização morfológica de linhas de *trifolium subterraneum* L. com base em análise multivariada. *Pastagens e Forragens*, 20, 63-74.
- Guissem, J. M., Farias, A. D. S., Figueiredo, R. T. D., Chaves, A. M. D. S., Figueiredo, B. T. D., Pereira, C. F., Araújo, J. R. G., & Martins, M. R. (2010). Teste de frio e envelhecimento acelerado na avaliação de vigor de sementes de feijão-frade. *Revista de Ciências Agrárias*, 33 (2), 182-191.
- Havlin, J. L., Tisdale, S. L., Nelson, W. L., & Beaton, J. D. (2014). *Soil fertility and fertilizers: An introduction to nutrient management*. Pearson, Boston.
- Hungria, M., Campo, R. J., & Mendes, I. D. C. (2001). Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja. Embrapa Soja. Circular Técnica, 35.
- Hungria, M., Mendes, I. C., & Mercante, F. M. (2013). A fixação biológica do nitrogênio como tecnologia de baixa emissão de carbono para as culturas do feijoeiro e da soja. Embrapa Soja, documento 337.
- Illescas, E. S., & Vesperinas, E. S. (1992). *Tratado de Horticultura Herbácea*. Editorial AEDOS, Barcelona, Espanha.
- Jones, J. B. Jr. (2001). *Laboratory Guide for Conducting Soil Tests and Plant Analysis*. CRC Press.
- Júnior, P. I., & Reis, V. M. (2008). Algumas limitações à fixação biológica de nitrogênio em leguminosas. Embrapa – Agrobiologia, documento 252.

- Lowery, R. G., Saari, L. L., & Ludden, P. W. (1986). Reversible regulation of the nitrogenase iron protein from *Rhodospirillum rubrum* by ADP-ribosylation in vitro. *Journal of Bacteriology*, 166 (2), 513-518.
- Ludden, P. W. (2001). Nitrogenase complex. University of Wisconsin, USA.
- Masuda, T., & Goldsmith, P. D. (2009). World soybean production: area harvested, yield, and long-term projections. *International Food and Agribusiness Management Review*, 12 (4), 143-162.
- Mayz-Figueroa, J. (2004). Fijación biológica de nitrógeno. *Revista Científica UDO Agrícola*, 4 (1), 1-20.
- Melo, S. R. (2009). Desempenho da fixação biológica de nitrogênio em cultivares de feijão - caupi em Roraima. Tese de Mestrado, Universidade Federal de Roraima, Brasil.
- Míguez, A. P. (2000). Caracterización morfoagronómica y bioquímica de germoplasma de judía común (*Phaseolus vulgaris* L.) de España. Tesis de Doctorado, Universidad de Santiago de Compostela, Espanha.
- Miladinovic, J., Hrustic, M., & Vidic, M. (2011). Soyabean. Becej: Institute of Field and Vegetables Crops, Novi Sad, Serbia.
- Möller, K., Stinner, W., & Leithold, G. (2008). Growth, composition, biological N<sub>2</sub> fixation and nutrient uptake of a leguminous cover crop mixture and the effect of their removal on field nitrogen balances and nitrate leaching risk. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 82 (3), 233-249.
- Morais, S. R., Campos, V. P., Pozza, E. A., Fontanetti, A., Carvalho, G. J., & Maximiniano, C. (2006). Influência de leguminosas no controle de fitonematóides no cultivo orgânico de alface americana e de repolho. *Fitopatologia Brasileira*, 31 (2), 188-191.
- Neto, S. A. V., Pires, F. R., de Menezes, C. C. E., Menezes, J. F. S., da Silva, A. G., Silva, G. P., & Assis, R. L. (2008). Formas de aplicação de inoculante e seus efeitos sobre a nodulação da soja. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 32 (2), 861-870.

- NSW (New South Wales, Australia). (2007). Crimson clover. Disponível em: < <http://www.dpi.nsw.gov.au/agriculture/pastures-and-rangelands/species-varieties/pf/factsheets/crimson-clover> > (Acedido em janeiro de 2017).
- Oliveira, F. N., Lima, A. A., & Costa, J. B. (1998). Adubação verde: alternativa para os solos arenosos do nordeste. Embrapa Comunicado Técnico 25, pp. 1-3.
- Orive, R., & Temprano, F. (1983). Simbiosis *Rhizobium*-leguminosa, In: Cubero, J. I., & Moreno, M. T. (Eds.), Leguminosas de Grano. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, pp. 69-88.
- Pelegrin, R., Mercante, F. M., Otsubo, I. M. N., & Otsubo, A. A. (2009). Resposta da cultura do feijoeiro à adubação nitrogenada e à inoculação com rizóbio. Revista Brasileira de Ciência do solo, 33 (1), 219-226.
- Perdigão, A., Trindade, H., Coutinho, J., & Moreira, N. (2011). Efeito das leguminosas forrageiras na produção biológica do milho. Atas Portuguesas de Horticultura, nº 17, pp. 41-47.
- Perin, A., Santos, R. H., Urquiaga, S., Guerra, J. G., & Cecon, P. R. (2004). Produção de fitomassa, acúmulo de nutrientes e fixação biológica de nitrogénio por adubos verdes em cultivo isolado e consorciado. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 39 (1), 35-40.
- Pope, M. R., Murrell, S. A., & Ludden, P. W. (1985). Covalent modification of the iron protein of nitrogenase from *Rhodospirillum rubrum* by adenosine diphosphoribosylation of a specific arginine residue. Proceedings of the National Academy of Sciences, 82 (10), 3173-3177.
- Ripado, M. F. (1992). O Feijão, Variedades, Cultura, Produção. Publicações Europa – América, Mem Martins, Portugal.
- Rodrigues, M. A. (2000). Gestão do azoto na cultura da batata: estabelecimento de indicadores do estado nutritivo das plantas e da disponibilidade de azoto no solo. Tese de doutoramento, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real.
- Sagrilo, E., Leite, L. F., Galvão, S. R., & Lima, E. F. (2009). Manejo agroecológico do solo: os benefícios da adubação verde. Embrapa Meio-Norte, documento 193.

- Sampaio, L. S., & Brasil, E. C. (2009). Exigência nutricional do feijão-caupi. Atas do Congresso Nacional de Feijão-caupi, Vol. 2, 573-587.
- Santana, R. H. (2012). Isolamento e caracterização de promotores órgão-específicos de plantas de soja (*Glycine max*). Tese de Mestrado, Universidade de Brasília, Brasil.
- Santos, J. D., & Carvalho, J. O. (2005). Estudo das populações de favas em uma floresta de terra firme explorada sob impacto reduzido. Embrapa-CNPq, Amazonia, Brasil.
- Silva, A. F., de Freitas, A. D. S., & Stamford, N. P. (2008). Efeito da inoculação da soja (cv. Tropical) com rizóbios de crescimento rápido e lento em solo ácido submetido à calagem. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 24, 1327-1333.
- Silva, L. L., Duarte, I., Simões, N., Lourenço, E., & Chaves, M. M. (2011). Eficiência de utilização da água pelo grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) regado em condições Mediterrânicas. Atas do VI congresso Ibérico de Agro-engenharia, Universidade de Évora, Portugal, pp. 1-10.
- Soto-Urzúa, L., & Baca, B. E. (2001). Mecanismos de protección de la nitrogenasa a la inactivación por oxígeno. *Revista latinoamericana de microbiologia-Mexico*, 43 (1), 37-50.
- Tomazi, C. (2015). Produção e qualidade de forragem de trevo encarnado (*Trifolium incarnatum* L.) sob manejos de desfolha. Tese de Graduação, Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil.
- USDA Natural Resources Conservation Service. (2013). Crimson clover (*Trifolium incarnatum* L.). Plant guide. USDA, USA.
- Valentim, J. F. (2001). Produtividade de forragem de gramíneas e leguminosas em pastagens puras e consociadas no Acre. Embrapa Acre. Boletim de Pesquisa, 33.
- Vicens, F. G., & Mancera, J. A. (1982). El cultivo del garbanzo. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentacion, Espanha.
- Vieira, R. F., Vieira C., & Vieira, R. F. (2001). Leguminosas graníferas. Editora UFV, Viçosa, Brasil.

Wikipédia. (2016). *Trifolium subterraneum*. Disponível em: [https://pt.wikipedia.org/w/index.php?title=Trifolium\\_subterraneum&oldid=44680986](https://pt.wikipedia.org/w/index.php?title=Trifolium_subterraneum&oldid=44680986) (Acedido em dezembro de 2016).

Wikipedia. (2017). *Trifolium incarnatum*. Disponível em: [https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Trifolium\\_incarnatum&oldid=747599986](https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Trifolium_incarnatum&oldid=747599986) (Acedido em janeiro de 2017).