



Valor agronómico de fertilizantes enriquecidos com microrganismos fixadores de azoto

Laurindo Chambula Ladeira

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

Orientado por

Professora Doutora Margarida Maria Pereira Arrobas Rodrigues

Coorientado por

Professor Doutor Manuel Ângelo Rosa Rodrigues

Bragança

2017

À memória dos meus pais

João António Ladeira e Maria de Fátima Chambula

À memória dos meus amigos de infância

Celestino Muliata, Teófilo Reis Inácio e Dionísio Teodoro (que Deus os tenha)

À minha companheira Jurelma Cápia

Aos meus irmãos Chambula e Ladeira, minhas cunhadas especiais e toda a família.

Dedico este trabalho

Agradecimentos

À Deus Todo-poderoso pelo dom da vida.

Aos meus orientadores, Professor Manuel Ângelo Rosa Rodrigues e Professora Margarida Arrobas Pereira Rodrigues, por terem sido para além de mestres grandes amigos e percussores no sucesso deste trabalho.

À minha família do laboratório de solos da Escola Superior Agrária de Bragança, dona Ana Pinto, Rita Diniz, Isabel Ferreira e Sandra Afonso por terem sido minhas professoras durante o trabalho laboratorial e amigas todo o tempo.

Aos meus professores do curso de Mestrado em Agricultura Tropical, em especial ao meu amigo Professor Doutor Carlos Aguiar por me terem permitido ter um novo olhar sobre o mundo das ciências agrárias e sobre a agricultura no geral. À minha orientadora de Seminário, professora Maria José Miranda Arabolaza.

À direção do Instituto Superior Politécnico do Kwanza-Sul pela oportunidade dada e confiança depositada.

Ao Instituto Politécnico de Bragança, em especial ao seu presidente Professor João Sobrinho Teixeira, ao diretor da Escola Superior Agrária Professor Albino Bento, à Natália dos Santos do Gabinete de Relações Internacionais, à Doutora Carla Costa dos Serviços Académicos e à Doutora Clarice Pais responsável das Bibliotecas do IPB.

À todos os meus colegas do curso, pelo apoio e companheirismo ao longo de toda a caminhada.

Aos amigos muito mais que especiais que fiz em Bragança, à Associação de Estudantes Africanos em Bragança, ao Núcleo de Estudantes Angolanos em Bragança, aos amigos do Sharing Ideas.

À todos que direta ou indiretamente deram o seu contributo para que esta caminhada fosse feita de forma vitoriosa. Deixo os meus muito profundos agradecimentos.

Índice

Agradecimentos	iii
Índice de figuras	xi
Índice de quadros.....	xiii
Resumo	xv
Abstract.....	xvii
Introdução.....	1
I. Revisão bibliográfica.....	3
1.1. Alface.....	3
1.1.1. Origem e história.....	3
1.1.2. Enquadramento taxonómico e aspetos botânicos.....	3
1.1.3. Utilização e composição.....	5
1.1.4. Estatísticas sobre a produção.....	6
1.1.5. Clima e solo.....	7
1.1.6. Técnicas de cultivo.....	8
1.1.6.1. Lugar na rotação	8
1.1.6.2. Preparação do terreno	8
1.1.6.3. Instalação da cultura	9
1.1.6.4. Fertilização	10
1.1.7. Inimigos da cultura.....	10
1.2. Couves de folhas.....	11
1.2.1. Origem e história.....	11
1.2.2. Enquadramento taxonómico e aspetos botânicos.....	12
1.2.3. Utilizações e composição	13
1.2.4. Estatísticas sobre a produção.....	13
1.2.5. Clima e solo.....	14
1.2.6. Técnicas de cultivo.....	15
1.2.6.1. Lugar na rotação	15

1.2.6.2. Preparação do terreno	15
1.2.6.3. Instalação da cultura	16
1.2.6.4. Fertilização e rega.....	16
1.2.6.5. Colheita.....	16
1.2.7. Inimigos da cultura.....	17
1.3. Fertilização das culturas.....	17
1.3.1. Conceito de fertilizante	18
1.3.2. Classificação dos fertilizantes	18
1.3.2.1. Adubos.....	19
1.3.2.2. Corretivos	21
1.3.3. Importância dos fertilizantes	23
1.3.4. Utilização dos fertilizantes	25
1.4. Fertilização orgânica.....	27
1.4.1. Conceito de fertilizante orgânico	27
1.4.2. Características dos fertilizantes orgânicos	27
1.4.3. Alguns fertilizantes orgânicos.....	28
1.4.3.1. Estrumes e chorumes	28
1.4.3.2. Adubação verde	29
1.4.3.4. Compostos	30
1.4.3.5. Vermicompostos.....	31
1.4.3.6. Bio sólidos	31
1.4.4. Importância da fertilização orgânica	33
1.4.5. Inconvenientes da fertilização orgânica	34
1.5. Biofertilizantes.....	34
1.5.1. Rizóbios.....	36
1.5.2. <i>Azotobacter</i> e <i>Azospirillum</i>	36
1.5.3. Bactérias solubilizadoras de fósforo	36

1.5.4. Fungos micorrízicos arbusculares	37
1.5.5. Rizobactérias promotoras do crescimento.....	37
1.5.6. Mecanismo de ação dos biofertilizantes.....	38
1.5.7. Formas de inoculação dos biofertilizantes	39
1.5.7.1. Inoculação de sementes	39
1.5.7.2. Inoculação do solo	40
1.5.8. Efeitos dos biofertilizantes	40
1.6. Fixação biológica de azoto	41
1.6.1. Microrganismos de vida livre (fixação não simbiótica).....	41
1.6.2. Endofíticos facultativos (associação simbiótica)	42
1.6.3. Endofíticos obrigatórios (fixação simbiótica)	43
1.6.3. Bioquímica da fixação.....	44
1.6.4. Importância da fixação biológica	46
II. Material e métodos.....	49
2.1. Caracterização edafoclimática	49
2.2. Instalação dos ensaios	50
2.3. Delineamento experimental	50
2.4. Preparação do campo	52
2.5. Preparação dos vasos	52
2.6. Preparação das plantas e plantação	53
2.7. Manutenção do ensaio	54
2.7.1. Rega.....	54
2.7.2. Combate a infestantes.....	54
2.7.3. Aplicação de adubos.....	54
2.8. Determinações de campo	55
2.8.1. Membranas de troca	55
2.9. Determinações laboratoriais.....	56

2.9.1. Análise de solos.....	56
2.9.2. Análise de tecidos vegetais	57
2.10. Eficiência de uso do azoto	58
2.11. Análise estatística de dados	58
III. Resultados.....	59
3.1. Ensaio de campo	59
3.1.1. Produção.....	59
3.1.2. Concentração de nutrientes nos tecidos vegetais	61
3.1.3. Nutrientes exportados.....	66
3.2. Ensaio em vasos.....	72
3.2.1. Produção.....	72
3.2.2. Concentração de nutrientes nos tecidos vegetais	74
3.2.3. Nutrientes exportados.....	79
3.3. Indicadores de disponibilidade de azoto no solo durante e após os ensaios.....	84
3.3.1 Disponibilidade de nitratos no solo.....	84
3.3.2. Efeito residual dos fertilizantes	84
3.4. Eficiência de uso do azoto	87
IV. Discussão dos resultados	89
4.1. Ensaio de campo	89
4.1.1. Produção de matéria seca	89
4.1.2. Concentração de azoto nos tecidos.....	91
4.1.3. Concentração nos tecidos de outros nutrientes	93
4.1.4. Azoto exportado	94
4.1.5. Exportação de outros nutrientes	95
4.2. Ensaio em vasos.....	96
4.2.1. Produção de matéria seca	96
4.2.2. Concentração de azoto nos tecidos.....	97

4.2.3. Concentração nos tecidos de outros nutrientes.	98
4.2.4. Azoto exportado	99
4.2.5. Exportação de outros nutrientes	99
4.3. Indicadores de disponibilidade de azoto no solo durante e após os ensaios.....	100
4.3.1. Concentração de nitratos no solo	100
4.3.2. Cultivo de cevada em vasos	100
4.4. Eficiência de uso do azoto	101
V. Conclusões.....	103
Referências	105

Índice de figuras

Figura 1. Valores da precipitação acumulada e temperatura média do ar mensal da normal climatológica 1971-2000.....	49
Figura 2. Matéria seca produzida no ensaio de campo de forma acumulada na sequência de culturas de Alface, Alface, Nabiça (2014) e Alface, Alface, Nabiça (2015).....	60
Figura 3. Matéria seca produzida no ensaio de campo de 2015 na cultura da Couve....	61
Figura 4. Concentração de azoto nos tecidos na sequência de culturas Alface1, Alface2 e Nabiça cultivadas em 2015 no ensaio de campo.	62
Figura 5. Concentração de azoto nos tecidos na cultura da Couve no ensaio de campo de 2015.	62
Figura 6. Concentração de fósforo nos tecidos na sequência de culturas Alface1, Alface2 e Nabiça cultivadas em 2015 no ensaio de campo.....	63
Figura 7. Concentração de fósforo nos tecidos na cultura da Couve no ensaio de campo de 2015.	64
Figura 8. Concentração de potássio nos tecidos na sequência de culturas Alface1, Alface2 e Nabiça cultivadas em 2015 no ensaio de campo.....	65
Figura 9. Concentração de potássio nos tecidos na cultura da Couve no ensaio de campo de 2015.	65
Figura 10. Azoto total exportado no ensaio de campo na sequência de culturas de Alface, Alface, Nabiça (2014) e Alface, Alface, Nabiça (2015).....	67
Figura 11. Azoto exportado no ensaio de campo de 2015 na cultura da Couve.	67
Figura 12. Fósforo total exportado no ensaio de campo na sequência de culturas de Alface, Alface, Nabiça (2014) e Alface, Alface, Nabiça (2015).....	69
Figura 13. Fósforo exportado no ensaio de campo de 2015 na cultura da Couve.....	69
Figura 14. Potássio total exportado no ensaio de campo na sequência de culturas de Alface, Alface, Nabiça (2014) e Alface, Alface, Nabiça (2015).....	71
Figura 15. Potássio exportado no ensaio de campo de 2015 na cultura da Couve.....	71
Figura 16. Matéria seca produzida no ensaio em vasos na sequência de culturas de Alface, Alface, Nabiça (2014) e Alface, Alface, Nabiça (2015).....	73
Figura 17. Matéria seca produzida no ensaio em vasos de 2015 na cultura da Couve...	73
Figura 18. Concentração de azoto nos tecidos na sequência de culturas Alface1, Alface2 e Nabiça cultivadas em 2015 no ensaio em vasos.	75

Figura 19. Concentração de azoto nos tecidos na cultura da Couve no ensaio em vasos de 2015.	75
Figura 20. Concentração de fósforo nos tecidos na sequência de culturas Alface1, Alface2 e Nabiça cultivadas em 2015 no ensaio em vasos.	76
Figura 21. Concentração de fósforo nos tecidos na cultura da Couve no ensaio em vasos de 2015.	77
Figura 22. Concentração de potássio nos tecidos na sequência de culturas Alface1, Alface2 e Nabiça cultivadas em 2015 no ensaio em vasos.	78
Figura 23. Concentração de potássio nos tecidos na cultura da Couve no ensaio em vasos de 2015.	78
Figura 24. Azoto exportado no ensaio em vasos na sequência de culturas de Alface, Alface, Nabiça (2014) e Alface, Alface, Nabiça (2015).	80
Figura 25. Azoto exportado pela cultura da Couve no ensaio em vasos de 2015.	80
Figura 26. Fósforo exportado no ensaio em vasos na sequência de culturas de Alface, Alface, Nabiça (2014) e Alface, Alface, Nabiça (2015).	81
Figura 27. Fósforo exportado pela cultura da Couve no ensaio em vasos de 2015.	82
Figura 28. Potássio exportado no ensaio em vasos na sequência de culturas de Alface, Alface, Nabiça (2014) e Alface, Alface, Nabiça (2015).	83
Figura 29. Potássio exportado pela cultura da Couve no ensaio em vasos de 2015.	84
Figura 30. Concentração de nitratos em extratos obtidos a partir de membranas de troca iónica inseridas nos solos dos vasos.	85
Figura 31. Matéria seca produzida no ensaio em vasos pela Cevada usada para avaliar o efeito residual dos tratamentos fertilizantes.	85
Figura 32. Concentração de azoto nos tecidos da Cevada cultivada no ensaio em vasos para avaliar o efeito residual dos tratamentos fertilizantes.	86
Figura 33. Azoto exportado pela Cevada cultivada no ensaio em vasos para avaliar o efeito residual dos tratamentos fertilizantes.	87

Índice de quadros

Quadro 1. Estatísticas de produção de alface e chicória. FAO (2014).....	6
Quadro 2. Estatísticas de produção de couve e outras brássicas. FAO (2014).....	14
Quadro 3. Propriedades de solo selecionadas, determinadas a partir de amostras de solo (0-20 cm) coletadas pouco antes do início dos experimentos.	50
Quadro 4. Tratamentos fertilizantes e doses aplicadas.....	51
Quadro 5. Azoto aparentemente recuperado a partir da experiência de campo nos diferentes tratamentos fertilizados, no total de 2014, individualmente por cada cultura e total no ano de 2015 e na totalidade da experiência ao fim de seis ciclos culturais.....	88
Quadro 6. Azoto aparentemente recuperado a partir da experiência em vasos nos diferentes tratamentos fertilizados, no total de 2014, individualmente por cada cultura e total no ano de 2015 e na totalidade da experiência ao fim de seis ciclos culturais.....	88

Resumo

A agricultura tem beneficiado da fixação biológica de azoto a partir da atividade de microrganismos endofíticos obrigatórios e facultativos mas menos da ação de fixadores livres que vivem na rizosfera. Contudo, recentemente têm surgido no mercado fertilizantes orgânicos enriquecidos com microrganismos heterotróficos fixadores de azoto que procuram promover a fixação através da colocação dos microrganismos junto ao substrato alimentar. O objetivo do trabalho foi a avaliação do efeito dos tratamentos fertilizantes em duas culturas sucessivas de alface (*Lactuca sativa* L.) durante o período Primavera/Verão de 2015 seguidas do cultivo de couve-tronchuda (*Brassica oleracea* var. *acephala*) e nabiça (*Brassica rapa* L.) no início do Outono.

Os ensaios de campo e em vasos foram instalados na Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Bragança (Latitude, 41° 47' 52.06" N; Longitude, 6° 45' 58.65" W). Os ensaios foram organizados de forma completamente causalizada com seis tratamentos fertilizantes: dois corretivos orgânicos comerciais enriquecidos com microrganismos fixadores de azoto (Biof1 e Biof2); um corretivo orgânico comercial não enriquecido (Organ); um fertilizante mineral aplicado em dose simples (Min1) e em dose dupla (Min2); e testemunha (Test). Na experiência de campo a amostra era composta com quatro plantas aleatórias colhidas dentro do talhão e ignorando as plantas da bordadura para alface. No caso da couve usaram-se apenas duas plantas por amostra e no caso da nabiça amostrou-se uma área de 1,25 m². Na experiência em vasos, cultivou-se uma alface por vaso, sendo a amostra constituída por uma alface. No caso da couve e da nabiça a experiência teve apenas 5 repetições (5 vasos) com uma couve por vaso e cinco plantas de nabiça por vaso. As doses de fertilizante aplicadas foram definidas de forma a serem introduzidas as mesmas quantidades de azoto, tendo, por isso, variado em função da concentração deste nutriente nos fertilizantes utilizados.

Foi analisada a produção de matéria seca, concentração de azoto, fósforo e potássio nos tecidos, exportação de azoto, fósforo e potássio, concentração de nitratos no solo, disponibilidade de azoto no solo durante e após os ensaios e eficiência de uso de azoto dos fertilizantes. Os resultados mostraram um efeito significativo dos tratamentos fertilizantes sobre a produção de matéria seca e a exportação de azoto, fósforo e potássio, onde o adubo mineral originou os maiores valores e o corretivo orgânico não enriquecido os valores mais baixos entre os fertilizantes. O tratamento testemunha apresentou no geral menor produção de biomassa e exportação de

nutrientes. Os tratamentos não proporcionaram valores de concentração de nutrientes nos tecidos das plantas diferentes entre si. O adubo mineral foi aquele que resultou em maior disponibilidade de azoto para as plantas. O azoto aparentemente recuperado teve os valores mais elevados com a aplicação da dose única do adubo mineral ao fim de dois anos de aplicação (36,6% no campo e 33,5% nos vasos), ao passo que o corretivo orgânico não enriquecido foi o que apresentou a menor eficiência de uso do azoto (18,6% no campo e 2,4% nos vasos). O adubo mineral em dose dupla e os corretivos orgânicos enriquecidos com microrganismos apresentaram um efeito residual mais elevado em relação aos demais tratamentos sobre o cultivo de cevada num ciclo cultural seguinte.

Palavras-chave: alface; *Lactuca sativa*; couve-tronchuda; *Brassica oleracea*; nabiça; *Brassica rapa*; *Azotobacter*.

Abstract

Agriculture has benefited from biological nitrogen fixation from the activity of obligate and facultative endophytic microorganisms but less from the action of free-living rhizosphere bacteria. However, new organic fertilizers have recently appeared in the market after being enriched with heterotrophic nitrogen-fixing microorganisms with the aim of increasing the potential of nitrogen fixation by joining the microorganisms with the organic substrate. The purpose of this work was to evaluate the effect of fertilizer treatments on two successive lettuce crops (*Lactuca sativa* L.) during the Spring/Summer 2015 period, followed by the cultivation of cabbage (*Brassica oleracea* var. *acephala*) and turnip (*Brassica rapa* L.) in early autumn. Field and potting trials were installed at the Higher Agricultural School of the Polytechnic Institute of Bragança (Latitude, 41 ° 47 '52.06 "N; Longitude, 6 ° 45' 58.65" W). The trials were organized in a completely randomized designer with six fertilizer treatments: two commercial organic amendments enriched with nitrogen fixing microorganisms (Biof1 and Biof2); a commercial organic amendment not enriched (Organ); a mineral fertilizer applied in single dose (Min1) and in double dose (Min2); and a control (Test) without nitrogen fertilization. In the field experiment each individual sample was composed of four random plants harvested inside the plot and avoiding plants from the outer rows. In the case of cabbage, only two plants were used per sample and in the case of the turnip an area of 1.25 m² was sampled. In the pot experiment, a single lettuce plant was cultivated per pot. In the case of cabbage and turnip, the experiment had only 5 replicates (5 pots) with one cabbage per pot and five turnip plants per pot. The fertilizer rates were defined in order to supply the same amounts of nitrogen and, therefore, varied according to the concentration of this nutrient in the fertilizers used.

Dry matter yield, tissue nitrogen, phosphorus and potassium concentration, removals of nitrogen, phosphorus and potassium in aboveground biomass, soil nitrogen availability during and after the growing season, and nitrogen use efficiency were recorded. The results showed a significant effect of fertilizer treatments on dry matter yield and nitrogen, phosphorus and potassium removal in aerial biomass. Mineral fertilization gave the highest values and the organic amendment not enriched the lowest values among the fertilizers. Control treatment showed lower production of biomass and nutrient removals. Fertilizer treatments did not provide nutrient concentration values in plant tissues significantly different from each other. Mineral fertilizer was the one that

resulted in greater availability of nitrogen to the plants. Apparent nitrogen recovery was higher with the application of the single dose of mineral fertilizer after two years of application (36.6% in the field and 33.5% in the pots) and lower in the no micro-enriched organic fertilizer (18.6% in the field and 2.4% in the pots). Double-dose mineral fertilizer and the organic amendment enriched with microorganisms gave a higher residual effect in comparison to the other treatments when assessed by barley cultivated after the end of the growing cycles of horticultural plants.

Keywords: lettuce; *Lactuca sativa*; cabbage; *Brassica oleracea*; turnip; *Brassica rapa*; *Azotobacter*.

Introdução

A fertilização das culturas hortícolas reveste-se de elevada importância para fazer frente à crescente demanda de alimentos por parte da população que vem crescendo de forma exponencial. De igual modo, nos últimos anos tem-se assistido à busca por alternativas à fertilização dos solos, reduzindo o uso de fontes minerais de fertilizantes através da utilização de outras consideradas amigas do ambiente. Além disso, tem aumentado a procura por alimentos provavelmente mais saudáveis, livres de possíveis contaminantes químicos que venham da utilização excessiva de fertilizantes minerais. Por estes motivos tem aumentado a conceção e comercialização de diversos produtos (fertilizantes) de origem orgânica que visam aumentar e melhorar a fertilidade dos solos, a produtividade e qualidade das culturas e reduzir os riscos de contaminação dos solos, das águas e até mesmo das próprias culturas. A par disso incrementa na agricultura o uso de práticas agrícolas que visam o fomento da fixação biológica do azoto, elemento essencial para o bom desempenho produtivo das culturas.

A fixação biológica de azoto é comum a um conjunto de microrganismos procariontes que possuem o complexo enzimático nitrogenase, a partir do qual conseguem transformar o azoto atmosférico em azoto utilizável pelas plantas. Estes organismos são conjuntamente designados diazotrofos. A fixação biológica de azoto atmosférico consiste na redução de azoto molecular (N_2) a amoníaco (NH_3), o qual é convertido em formas orgânicas como por exemplo os aminoácidos.

A agricultura tem beneficiado da fixação biológica de azoto a partir da atividade de microrganismos endofíticos obrigatórios e facultativos mas menos da ação de fixadores livres que vivem na rizosfera. Contudo, recentemente têm surgido no mercado fertilizantes orgânicos enriquecidos com microrganismos heterotróficos fixadores de azoto que procuram promover a fixação através da colocação dos microrganismos junto ao substrato alimentar. Porém, estes microrganismos são ubíquos em solos agrícolas, pelo que se pode questionar a utilidade da sua incorporação nos fertilizantes.

O objetivo deste trabalho é avaliar o desempenho da aplicação de fertilizantes orgânicos com microrganismos fixadores em comparação com outros fertilizantes orgânicos e minerais, numa sequência de culturas hortícolas alface (*Lactuca sativa* L.) – alface – nabiça (*Brassica rapa* L.) em experiências de campo e em vasos. No último ciclo cultural foi também cultivada couve-de-folhas (*Brassica oleracea* var. *acephala*), dividindo a área e os vasos disponíveis entre nabiça e couve.

A estrutura deste trabalho divide-se em 4 secções distintas. No capítulo 1 apresenta-se a revisão bibliográfica, nela são discutidos diversos aspetos referentes às culturas em estudo, aborda-se a fertilização das culturas, alguns aspetos importantes sobre fertilização orgânica, biofertilizantes e fixação biológica de azoto. O capítulo 2 é destinado à descrição das metodologias utilizadas na execução do trabalho experimental (no campo, nos vasos e no laboratório) e os métodos estatísticos utilizados para o tratamento de dados. No capítulo 3 apresentam-se os resultados obtidos através da análise detalhada dos mesmos. No capítulo 4 é feita a discussão dos principais resultados fundamentando-os por comparação com estudos realizados por outros autores. No capítulo 5, apresentam-se as principais conclusões de acordo com os objetivos propostos para este trabalho.

I. Revisão bibliográfica

1.1. Alface

1.1.1. Origem e história

A alface é originária do Próximo Oriente e dos países do Mediterrâneo Oriental. A sua cultura data de há milhares de anos, tal como se conclui das descobertas realizadas no Egito - pinturas em túmulos de há 4500 anos a.C - e na Pérsia (Ripado, 1993). Conhecida por persas, gregos e romanos, trata-se de uma planta cultivada desde há muitos anos, existindo testemunhos escritos de que os romanos já conheciam diferentes variedades (Maroto, 2000). De acordo com Almeida (2006) a espécie *Lactuca sativa* é possivelmente descendente da espécie silvestre *Lactuca serriola*. No Egito Antigo era cultivada para aproveitamento do óleo extraído das sementes.

Das regiões de origem disseminou-se pela Grécia, por Roma (onde alcançou grande popularidade) e pelos territórios que constituíam o Império Romano (Ripado, 1993). Na Grécia antiga e no império Romano já era cultivada pelas folhas comestíveis. A cultura terá chegado à China no século VII, à França no início século XIV e foi introduzida na América pelos espanhóis, provavelmente na segunda viagem de Colombo, em 1494. As alfaces domesticadas no Mediterrâneo eram do tipo romana, tendo as alfaces repolhudas surgido apenas no século XVI (Almeida, 2006).

As variedades de alface cultivadas atualmente são produto de uma hibridação entre espécies distintas, continuada pelo processo normal de seleção de mutações. A domesticação das alfaces silvestres implicou diversas modificações morfológicas e fisiológicas, incluindo o aumento do tamanho dos aquénios, perda da pilosidade, aumento do número e da área das folhas, formação de repolho e redução da acumulação de látex (Maroto, 2000).

1.1.2. Enquadramento taxonómico e aspetos botânicos

Em termos de taxonomia a alface pertence à família Asteraceae, género *Lactuca* e espécie *Lactuca sativa* L.. A alface é uma das cerca de cem espécies do género *Lactuca*. Este género é relativamente próximo do género *Chichorium*, ao qual pertencem a escarola e as diversas formas hortícolas de chicória. Existem apenas três espécies do

gênero que podem hibridizar com a alface, nomeadamente *L. serriola*, *L. saligna* e *L. virosa*, todas elas espontâneas na região mediterrânica (Almeida, 2006).

A alface possui um sistema radicular profundo pouco ramificado (Maroto, 2000). De acordo com Almeida (2006) o sistema radicular é apumado, pouco ramificado e relativamente superficial. A raiz principal de plantas originadas por sementeira direta pode atingir mais de 60 cm, mas em cultura intensiva de regadio a maior parte das raízes concentra-se nos primeiros 30 cm do solo. Nas plantas transplantadas, as raízes exploram um volume de solo reduzido. Se a cultura é levada a cabo pelo modo de transplantação de plântulas, a dominância apical é quebrada e há uma fácil regeneração de raízes adventícias, resultando em um sistema radicular mais ramificado e menos profundo (Tarigo, 2004).

Segundo Ripado (1993) o caule da alface é ereto, pouco extenso, com conformação cilíndrica e glabro (no geral é ramificado até cerca de um terço da altura emergindo do meio das folhas basais). De acordo com Almeida (2006) a parte aérea é bastante polimórfica. Nas alfaces de repolho o caule é curto, com 2 a 5 cm durante a fase vegetativa, mas alonga-se e ramifica durante o espigamento, podendo atingir mais de 1 metro.

As folhas de alface podem ser de forma arredondada, lanceolada ou quase espatulada. A consistência das mesmas pode ser rija e estaladiça ou macia. O bordo dos limbos foliares pode ser liso, ondulado ou serrilhado (Maroto, 2000). Durante a fase de crescimento vegetativo as folhas encontram-se dispostas em roseta. As folhas são alongadas nos primeiros estados do desenvolvimento e alargam-se quando se inicia a formação do repolho. As folhas podem conter antocianinas, pigmentos que lhes conferem uma coloração avermelhada. Na alface de caule os entrenós são mais longos e o caule carnudo é colhido com 20 a 30 cm de comprimento (Almeida, 2006).

Na fase reprodutiva o coração, ou no caso, o cacho central de folhas, abre-se para dar lugar a um caule cilíndrico e ramificado portador de folhas, assim como de capítulos florais amarelados em corimbos (Maroto, 2000). As flores são hermafroditas e agrupadas em capítulos contendo 7 a 15 flores cada um. As flores são todas liguladas, com pétalas amarelas, cinco estames de anteras concrecidas e um pistilo. A polinização é predominantemente autogâmica e efetua-se quando o estigma, pelo alongamento do estilete, é forçado a atravessar o tubo formado pelas anteras. A inflorescência é uma cabeça ou capítulo que consiste em um grande número de flores. As numerosas flores

estão muito juntas. Há um alto nível de polinização. Tanto o pólen como o óvulo são normalmente muito férteis. A síntese começa ao amanhecer e as flores abrem-se completamente de manhã. O fruto, agronomicamente designado por semente, é um aquénio com 3 a 5 mm de comprimento. A cor dos aquénios pode ser creme, castanha ou negra (Salunke e Kadam, 2005; Almeida, 2006).

A alface é uma espécie muito polimórfica. No século XIX foram atribuídas designações de variedades botânicas aos diferentes grupos de cultivares, que ainda se mantêm nalguma literatura hortícola e na legislação. Atualmente consideram-se cinco grupos de cultivares: bola de manteiga (var. *capitata*); batávia (var. *capitata*); romana (var. *longifolia*); acéfala ou de corte (var. *acephala* "sin. var. *crispa*"); e de caule (var. *asparagina* "sin. *augustana*"). As cultivares de alface são classificadas com base em diversos critérios, dos quais se destacam os seguintes: tipo varietal; aspeto das folhas (lisas ou frisadas); cor das folhas (verdes ou vermelhas); consistência das folhas; aptidão para formar repolho; adaptação à época de cultura (outono-inverno ou primavera-verão); aptidão para sistema de cultura (ar livre ou estufa); suscetibilidade à necrose marginal (*tipburn*) e resistência a doenças (Almeida, 2006).

Desde que se respeite a época da sementeira, a escolha entre o grande número de variedades a cultivar dependerá em larga medida do gosto e das preferências do consumidor (Ripado, 1993). Segundo Almeida (2006) a longevidade de uma cultivar no mercado dos produtores profissionais é relativamente baixa, devido à evolução dos circuitos comerciais e preferências do mercado, das técnicas culturais e da resistência a doenças.

1.1.3. Utilização e composição

A alface é considerada como o mais importante vegetal no grupo de vegetais de folhas. É usada quase exclusivamente como um vegetal fresco em saladas, mas nalgumas vezes também são cozidas. A alface é produzida comercialmente em muitos países em todo o mundo e também é amplamente cultivada como um vegetal em jardins residenciais (Křístková *et al.*, 2008). Em geral, é consumida em fresco como componente exclusivo ou parcial de saladas. Todavia, em algumas regiões é substituto frequente da couve no caldo verde e em outras sopas, chegando mesmo a ser consumida em esparregados. É um alimento refrescante, com reduzido valor nutritivo mas rico em

vitaminas (Ripado, 1993). As folhas de alface são essencialmente constituídas por água, mas fornecem vitaminas, minerais e fibra à dieta humana. O valor nutritivo da alface varia em função da cor das folhas: as folhas esbranquiçadas do interior do repolho são menos nutritivas do que as folhas exteriores. As principais vitaminas da alface são A e C. As alfaces de folhas e romana tendem a ser mais ricas em fibra, vitamina e minerais do que as alfaces de repolho. As folhas de alface são um ingrediente do *mesclum*, uma mistura típica do sul de França e de Itália que, para além da alface, inclui escarola, *radicchio*, rúcula, espinafre, acelga e outras hortaliças de folhas. A alface possui, em grau moderado, ação sedativa ou calmante, antiespasmódica e béquica, devido à presença de lactonas sesquiterpénicas. Estas propriedades medicinais verificam-se em maior grau em *L. virosa* (Almeida, 2006). Segundo o mesmo autor, o lactucário extraído de *L. virosa* é utilizado em farmácia como soporífero ou sedativo. Se as técnicas culturais não forem adequadas ou os solos e as águas estiverem poluídos, as alfaces podem acumular quantidades indesejáveis de nitratos e de metais pesados.

1.1.4. Estatísticas sobre a produção

Devido às exigências climáticas da cultura, a produção em larga escala da alface ocorre apenas nas zonas temperadas do Hemisfério Norte. Os principais produtores mundiais são a China, os Estados Unidos (principalmente na Califórnia) e a União Europeia. Na união Europeia cerca de 80% da produção está concentrada em quatro países: Espanha, Itália, França e Alemanha. Existe alguma especialização regional nos tipos cultivares produzidos. Nos EUA cultiva-se principalmente alface do tipo *iceberg*. Em Espanha a produção é diversificada, com predomínio para o tipo iceberg, enquanto em França predominam os tipos batávia europeia e bola de manteiga. A alface romana produz-se predominantemente em Itália (Almeida, 2006). No quadro 1 apresentam-se algumas estatísticas da produção de alface e chicória em várias regiões do mundo.

Quadro 1. Estatísticas de produção de alface e chicória FAO (2014).

País/Região	Área cultivada (ha)	Produção (t)	Produtividade (t ha ⁻¹)
Mundo	1158979	24976318	21,55
União Européia	120869	2857893	23,65
África	16056	349175	21,75
Portugal	2420	63250	26,14

1.1.5. Clima e solo

A alface é uma planta de dias longos. Desde que se efetue uma seleção adequada das variedades à disposição do horticultor, a cultura ao ar livre pode realizar-se em todos os climas e em qualquer época do ano (Ripado, 1993). Embora exista um grande número de variedades cultivadas que se adaptam a uma ampla gama de climas, em termos gerais pode dizer-se que a alface prefere climas temperados (Maroto, 2000). Segundo Gardé e Gardé (1988) algumas variedades suportam bem o calor sem terem tendência a espigar e outras são suficientemente rústicas para suportarem o Inverno que não seja demasiado rigoroso.

A alface é uma cultura microtémica. Existem cultivares adaptadas à cultura em diferentes épocas do ano e em diferentes climas. Plantas aclimatadas podem suportar uma geada pouco intensa, embora a tolerância ao gelo decresça com a idade. Quando as temperaturas médias são inferiores a 7 °C, o crescimento é muito reduzido. Temperaturas médias de 15 a 20 °C são consideradas ótimas para a produção da maioria das cultivares de alface. As temperaturas elevadas prejudicam a qualidade da alface. Quando as temperaturas permanecem acima de 24 °C durante vários dias do ciclo cultural, os repolhos não ficam firmes e os caules tendem a alongar-se. Temperaturas superiores a 33 °C favorecem a floração, inutilizando a cultura (Almeida, 2006). O excessivo calor pode produzir a subida prematura da flor e induzir um marcado sabor amargo nas folhas (Maroto, 2000). Também Illescas e Vesperinas (1994) evidenciam que a época mais difícil para o cultivo da alface é o verão, pois as temperaturas elevadas e os dias longos fazem com que suba a flor sem passar pelo estado de aproveitamento para o mercado. Temperaturas do solo ou do substrato inferiores a 7 °C favorecem a incidência de necrose marginal (Almeida, 2006).

A cultura da alface tolera baixa luminosidade. Existe uma interação entre a intensidade luminosa e a temperatura na determinação da formação do repolho. Em condições de baixa intensidade luminosa o repolho forma-se melhor a baixas temperaturas e forma-se mal se as temperaturas forem superiores a 20 °C (Almeida, 2006). A resposta ao fotoperiodismo é distinta segundo a variedade, embora floresçam quer com dias neutros ou com dias longos (Maroto, 2000).

De acordo com Almeida (2006) a alface pode ser cultivada com sucesso em diversos tipos de solo, embora prefira solos frescos e bem drenados. Dá-se melhor em solos de textura franca, ricos em matéria orgânica. Os solos arenosos devem ser

reservados para a cultura de Inverno. Os solos arenosos favorecem a ocorrência de necrose marginal. De acordo com Ripado (1993) o crescimento da alface é quase impossível em solos argilosos muito compactos, com arejamento precário, onde a dificuldade de circulação da água provoca encharcamentos frequentes na zona radicular, os quais facilitam a ocorrência de podridões na zona radical da planta.

A alface resiste à salinidade moderada, embora em estufa o desenvolvimento do cultivo possa ver-se afetado pelo incremento de sais solúveis, produzidos por uma fertilização excessiva (Maroto, 2000). Entre as culturas hortícolas de estufa, é das mais sensíveis no estado de plântula, mas torna-se mais tolerante ao longo do ciclo cultural. É sensível à acidez, e o pH ótimo situa-se entre 6,5 e 7,2 (Almeida, 2006).

1.1.6. Técnicas de cultivo

1.1.6.1. Lugar na rotação

A alface pode ser uma cultura principal na rotação mas, devido ao seu curto ciclo cultural, é normalmente uma cultura intercalar. Do ponto de vista fitossanitário, a alface não se deve seguir a outra cultura de alface, escarola ou chicória. As brassicáceas e as fabáceas hortícolas são precedentes culturais que se devem evitar, privilegiando as solanáceas, cucurbitáceas e apiáceas (Almeida, 2006).

1.1.6.2. Preparação do terreno

A preparação do terreno deve favorecer a drenagem interna do solo e deixar a superfície regularizada e suficientemente esmiuçada. As formas de armação do terreno são muito variáveis, consoante as regiões, a escala de produção e o sistema de cultura. As formas de armação do terreno são camalhões com várias linhas, camalhões com duas linhas e espigoado com uma linha de plantação. Na monocultura intensiva em estufa ou ao ar livre, a preparação do terreno deve incluir a desinfeção do solo com um método físico ou químico de largo espectro (Almeida, 2006).

1.1.6.3. Instalação da cultura

A cultura pode instalar-se por sementeira direta ou por transplantação. Nos Estados Unidos da América, a cultura ao ar livre é normalmente instalada por sementeira direta, enquanto na Europa predomina a transplantação. A sementeira direta de alface tem evoluído, antigamente utilizavam-se sementes nuas, densidades na ordem das 60 sementes por metro linear e desabastes (Almeida, 2006). Cada vez mais se tem vindo a implementar a sementeira direta com semeadores de precisão e recurso a sementes peletizadas. O peso médio destas sementes é de aproximadamente 1 kg por cada 15.000 sementes, o que faz com que se possa vir a gastar com este tipo de sementes 5-6 kg ha⁻¹. A sementeira com semeadora de precisão realiza-se com o distanciamento de golpes de 15 cm, com a finalidade de poder suprir alguma falha na germinação, e depois faz-se um desbaste quando as plantas já tenham atingido uns 30 cm (Maroto, 2000).

A instalação da cultura por transplantação permite reduzir a ocupação do terreno em cerca de 2 a 3 semanas em relação à sementeira direta. A transplantação pode ser manual, semiautomática ou com plantadores automáticos. A transplantação pode realizar-se durante todo o ano, utilizando cultivares adequadas às diferentes estações e regiões do país. Normalmente é cultivada em estufas não aquecidas durante a época de Outono-Inverno e ao ar livre durante o período de Primavera-Verão (Almeida, 2006).

A densidade deve ser estabelecida em função do peso médio de cada planta que é exigido pelo mercado, variando normalmente entre 10 e 20 plantas m². Com o aumento da densidade de plantação aumenta a produtividade e diminui o peso médio das plantas. No período Outono-Inverno deve optar-se pelas densidades menores, de forma a favorecer o arejamento da canópia e evitar um ensombramento excessivo das folhas. Os compassos típicos consistem em entrelinhas de 30 a 50 cm e distância entre plantas na linha de 20 a 30 cm. Em estufas ou ao ar livre, em sistema de pequena horta, utilizam-se compassos de 25 x 25 a 30 x 30 cm. Ao ar livre, em cultura extensiva e mecanizada, é preferível utilizar linhas duplas espaçadas de 80 a 100 cm, com 30 a 40 cm entre plantas na linha. Na Califórnia, em sementeira direta ao ar livre, a cultura é feita em camalhões de duas linhas, com uma entrelinha de 36 cm e distância entre os centros dos camalhões de 1 m (Almeida, 2006).

1.1.6.4. Fertilização

A cultura é relativamente pouco exigente em nutrientes, embora, devido ao fraco desenvolvimento do sistema radicular e rápido crescimento, necessite de ter os nutrientes facilmente disponíveis. Como a cultura é relativamente pouco exigente em azoto, este pode ser fornecido pela mineralização da matéria orgânica do solo. Por exemplo, num solo com 5% de matéria orgânica, pode reduzir-se apreciavelmente a aplicação de N em relação à exportação para plantações efetuadas quando as temperaturas ainda são elevadas e permitem a mineralização (Almeida, 2006).

Para cultivar a alface tem-se recomendado 10-45 t ha⁻¹ de esterco de estábulo suplementado com 25, 25, e 90 kg ha⁻¹ de N, P e K, respetivamente. Nos solos arenosos e franco-arenosos sem esterco, devem aplicar-se 40-50 kg ha⁻¹ de N e 75-100 kg ha⁻¹ de P e K. Para um bom desenvolvimento em solos francos e franco-argilosos podem utilizar-se 25 kg ha⁻¹ de N e K e 50-75 kg ha⁻¹ de P (Salunke e Kadam, 2005). Almeida (2006) dá como exemplo de fertilização a aplicação de 50-130 kg ha⁻¹ de N, 30-50 kg ha⁻¹ de P₂O₅ e 100-150 kg ha⁻¹ de K₂O. O N deve ser fracionado em 3 ou 4 aplicações equitativas; 1/3 ou 1/4 em fundo e a última no início da formação do repolho.

Os tipos e quantidades de fertilizantes a aplicar devem fixar-se a partir do conhecimento do provimento de nutrientes existentes no solo, o que pode obter-se com alguma segurança através da análise laboratorial de amostras colhidas em locais representativos da área destinada à cultura (Ripado, 1993). A recolha de amostras para análise foliar na alface efetua-se a meio do ciclo cultural, recolhendo-se a folha mais nova completamente expandida. Uma amostra deve conter 25 a 30 folhas (Almeida, 2006).

1.1.7. Inimigos da cultura

Na cultura em estufa não se utilizam herbicidas, pois a desinfecção do solo permite controlar também as infestantes e é arriscado utilizar substâncias que possam afetar a cultura seguinte. Existem diversas substâncias ativas homologadas para a luta química contra infestantes da alface, para aplicação pré ou pós-plantação. As sachas são uma forma de monda mecânica, podem ser efetuadas quando as plantas têm cerca de 10 a 12 folhas e devem ser realizadas com cuidado para não danificar o sistema radicular da cultura, que é muito superficial. A cobertura do solo com filmes de polietileno negro ou

materiais orgânicos permite também combater as infestantes. Outras formas de combate às infestantes são a solarização e monda térmica (Almeida, 2006).

A nível mundial, a alface pode ser afetada por cerca de 75 doenças, entre as quais 15 provocadas por 20 espécies de fungos, 5 bacterioses e 21 doenças provocadas por vírus ou fitoplasmas. A alface é atacada por larvas de diversos lepidópteros. Os ácaros são normalmente as pragas pouco importantes na cultura da alface. Os afídeos, as moscas, os tripes e nemátodes são vetores de vírus enquanto *Macrostelus* spp. é vetor do fitoplasma *aster yellows*. O afídeo *Pemphigus bursarius* ataca as raízes da alface, enquanto as outras espécies atacam a parte aérea (Almeida, 2006).

Ainda segundo Almeida (2006) as principais doenças provocadas por fungos são a podridão branca, a rizoctónia e o míldio. Para além da murchidão das plântulas, *Pythium* spp. também provoca podridões radiculares e infeções nas folhas de plantas adultas. A alface pode ainda ser infetada pelas bactérias *Pseudomonas chichorii* (doença do verniz), *Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis*, *Xanthomonas campestris* pv. *vitians* e *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* e *Rhizomonas suberificiens* (suberose radicular).

1.2. Couves de folhas

1.2.1. Origem e história

As couves constituem um dos principais alimentos do homem e são por ele consumidas desde tempos pré-históricos - 4000 anos a.C (Gardé e Gardé, 1988). O seu centro de origem parece ter sido a costa norte mediterrânica e a Ásia menor mas, provavelmente muito antes das primeiras invasões iranianas, existiam já na costa ocidental da Europa, onde hoje aparecem, ainda na forma espontânea, quer nas falésias da Normandia, quer nas ilhas Laland e Heligoland, quer ainda nas escarpas marítimas do sul da Inglaterra e Irlanda.

Ainda segundo Gardé e Gardé (1988) o papel que coube aos romanos na distribuição por toda a Europa de um grande número de culturas, parece no caso das couves, dever-se aos celtas. A própria palavra romana "brassica" surge como derivada do termo celta "bresic" e dos termos celtas "cap" ou "kap" e "caul" provieram todas as outras palavras que nas diferentes línguas europeias designam esta espécie, tais como

"cabus" (francês), "kohl" (alemão), "cabbage" (inglês), "kaulion" (grego), "kale" (escocês), "kaal" (norueguês), "col" (espanhol), "couve" (português), etc.

As brassicáceas são espécies cosmopolitas, particularmente abundantes nas regiões do Mediterrâneo, sudeste da Ásia, Ásia Central e costa ocidental da América do Norte. Entre as espécies de interesse económico, contam-se a colza (*Brassica napus*) e alguns géneros ornamentais (*Cleome*, *Hesperis*, *Erysium*, *Iberis*, *Lunaria*, *Lobularia*). É uma família que inclui ainda diversas espécies hortícolas de grande importância económica. Estão referenciadas 22 espécies de brassicáceas cultivadas como hortaliças, pertencentes a 14 géneros (Almeida, 2006).

Gardé e Gardé (1988) referem que na costa mediterrânica se encontravam em diferentes pontos (Nice, Génova, Lucca, etc.) formas silvestres de couve, sendo conhecidas três formas - *balearica*, *insularis* e *cretica* - que devem ter participado na criação das variedades hoje cultivadas.

A couve de folhas é o grupo que encerra as couves cujos caules crescem continuamente, à medida que as folhas da base vão secando e caindo, até à floração. Utilizadas normalmente como forrageiras - caso das couves "Cavaleiro" e "Mil Folhas" - podem também ser empregadas na alimentação humana, como a couve "Galega", tão expandida em Portugal (Gardé e Gardé, 1988).

1.2.2. Enquadramento taxonómico e aspetos botânicos

A família Brassicaceae, também conhecida por Cruciferae, compreende mais de 300 géneros e 3000 espécies. Definida de acordo com o critério filogenético do *Angiosperm Phylobeny Group*, o número de espécies ascende a 419, com mais de 4000 géneros. Embora as Brassicaceae se enquadrem na ordem Capparales, uma abordagem filogenética recorrendo a métodos cladísticos inclui esta família na ordem Brassicales. Esta abordagem considera igualmente a família Capparaceae, que inclui a alcaparra (*Capparis spinosa*) como fazendo parte das Brassicáceas (Almeida, 2006).

Ainda segundo o autor, sob a designação genérica de couves de folhas consideram-se também duas variedades botânicas da espécie: i) *Brassica oleracea* var. *acephala* DC., onde se inclui a couve-galega, e também contém cultivares de couves ornamentais e de couves forrageiras; ii) *Brassica oleracea* var. *costata* DC (sin. *B. oleracea* var. *tranchuda* LH. Bailey), a que pertencem as cultivares de couve-tronchuda,

também designada por couve-penca ou couve-portuguesa. A couve-tronchuda resultou provavelmente da hibridação entre formas de couves de repolho e formas de couves de folhas e foi selecionada na Península Ibérica. De acordo com Illescas e Vesperinas (1994) dentro da espécie *Brassica oleracea* var. *acephala* DC. incluem-se todas as couves que não formam repolho, mas sim exclusivamente folhas mais ou menos desenvolvidas que se estendem ao longo do caule com uma disposição aberta.

A couve-de-folha (*Brassica oleracea* var. *acephala*) é, de entre as espécies cultivadas, a que mais se assemelha à couve silvestre, não forma cabeça e suas folhas apresentam limbo bem desenvolvido, arredondado, com pecíolo longo e nervuras bem destacadas (Shingo e Ventura, 2009). Algumas couves de folhas, como o caso da couve-galega, podem alcançar até cerca de 2 m de altura durante a fase vegetativa. Este crescimento dá-se à medida que as folhas dos nós inferiores vão senescendo ou sendo colhidas. A couve-galega designa um grupo de formas cultivadas com morfologia e aspetos fisiológicos variáveis (Almeida, 2006).

1.2.3. Utilizações e composição

As couves são fonte de vitaminas - em especial A e C, mas também B1 e B2 - aminoácidos e sais minerais, exercendo função importante na regulação do aparelho digestivo. São refrescantes e podem fazer parte de inúmeros pratos, desde sopas, cozidos, saladas, etc. (Gardé e Gardé, 1988).

Em relação às couves de repolho, as couves de folhas tendem a ter maior teor de clorofila e carotenoides, sendo mais ricas em pró-vitamina A e em cálcio. A couve-galega é utilizada no Norte de Portugal numa forma minimamente processada para confeccionar o caldo-verde (Almeida, 2006).

1.2.4. Estatísticas sobre a produção

De acordo com Almeida (2006) as couves de folhas representam uma pequena fração da produção mundial de couves. No entanto, em Portugal, a produção de couve-tronchuda e de couve-galega é importante, não apenas na produção comercial, mas também na pequena horta familiar. No quadro 2 apresentam-se algumas estatísticas da produção de couve e outras brássicas em várias regiões do mundo.

Quadro 2. Estatísticas de produção de couve e outras brássicas. FAO (2014).

País/Região	Área cultivada (ha)	Produção (t)	Produtividade (t ha ⁻¹)
Mundo	2470275	71778764	29,06
União Européia	164383	5339300	32,48
África	206762	2824564	13,66
Portugal	6866	183525	26,73

1.2.5. Clima e solo

As couves são, de um modo geral, plantas adaptáveis às mais diversas condições de clima e solo. Contudo, as temperaturas baixas e os terrenos férteis e, naturalmente frescos conjugam os fatores primordiais para a obtenção dos melhores resultados (Gardé e Gardé, 1988). A couve cresce melhor em tempo relativamente fresco e húmido. Pode tolerar em certa medida as geadas. Em atmosferas mais secas afetam-se principalmente as folhas, estraga-se a qualidade e perde-se o seu sabor (Salunkhe e Kadam, 2004). O desenvolvimento e as preferências ambientais das couves de folhas são semelhantes aos das couves de repolho, sendo resistentes ao frio até cerca de 8 °C. A couve-tronchuda tolera a exposição à brisas marítimas (Almeida, 2006). Bom crescimento vegetativo da couve pode observar-se a temperaturas de 15-20 °C. Temperaturas abaixo de 0 °C impedem o seu crescimento. Nas regiões onde a temperatura invernal atinge valores inferiores a 0 °C torna-se difícil expor as plantas jovens ao inverno para a produção em inícios da primavera (Salunkhe e Kadam, 2004).

A influência do clima é muito vincada no caso das couves. No entanto, é possível preparar as plantas para uma maior resistência às geadas, à dessecação provocada pelos ventos quentes e secos e ao efeito do sol intenso. Quando a sementeira é feita em viveiros protegidos pode proceder-se ao tratamento progressivo pelo frio, pondo a descoberto as plântulas durante períodos curtos. Tal prática induz alterações químicas importantes, que resultam num aumento da percentagem de matéria seca e de açúcares totais, bem como do polvilho ceroso o que, embora retarde um pouco o crescimento, torna as plantas de fato resistentes aos fatores acima indicados (Gardé e Gardé, 1988).

Quanto aos tipos de solo favoráveis à cultura, Gardé e Gardé (1988) assinalam que interessam em especial os franco-argilosos ou todos os que tenham elevada capacidade de retenção de água, fator indispensável para uma boa produção, mas que,

simultaneamente, possuam a drenagem suficiente para evitar os excessos quase tão contraproducentes como as faltas. As terras ligeiramente arenosas são consideradas as melhores para as variedades precoces; as mais compactas para as variedades tardias. Segundo Illescas e Vesperinas (1994) a obtenção de bom desenvolvimento consegue-se em terrenos profundos e que não sejam excessivamente húmidos, sendo adequados os solos argilosos e similares. Para Salunkhe e Kadam (2004) os solos arenosos e argilosos pesados são adequados, mas são preferíveis os primeiros para as variedades precoces e os últimos para as variedades tardias. É necessário proporcionar uma boa drenagem, principalmente para as culturas de outono e inverno, já que as plantas jovens que passam o inverno no campo são muito sensíveis ao excesso de humidade do solo. As plantas também são sensíveis à acidez do solo, que deve ter um pH entre 6,0-6,5. Nos solos salinos (com pH acima de 6,5), a folhagem toma a coloração escura, as margens da folha morrem e as plantas ficam muito suscetíveis às enfermidades. Os solos para a cultura da couve devem ter uma textura uniforme e uma profundidade de 40 cm.

1.2.6. Técnicas de cultivo

1.2.6.1. Lugar na rotação

As couves são frequentemente culturas intercalares nas rotações. Como precedente cultural, devem evitar-se outras brassicáceas. Deve-se dar preferência às aliáceas, quenopodiáceas, solanáceas e cucurbitáceas, pois a essas não se apontam inconvenientes sanitários para a cultura da couve. As brassicáceas só deveriam voltar à mesma folha passados cinco anos para garantir um bom estado sanitário da cultura (Almeida, 2006).

1.2.6.2. Preparação do terreno

A preparação do terreno depende fundamentalmente da época do ano e da cultura antecedente. Deve incluir uma mobilização em profundidade e mobilizações destinadas à preparação superficial e armação do terreno. A instalação da cultura faz-se normalmente por transplantação. Os transplantes são produzidos em tabuleiros alveolados e transplantados com raiz protegida cerca de 6 semanas após a sementeira. A

plantação pode ser feita com terreno à rasa ou armado em camalhões com 1 a 2,5 m de largura (Almeida, 2006).

1.2.6.3. Instalação da cultura

A plantação pode ser feita à enxada, em covacho, em linha, depois de gradado e planado o terreno; em rego, aberto à charrua, e tapado com nova passagem da charrua, o que permite o estabelecimento imediato da regadeira; ou com plantadores mecânicos, especialmente indicados para grandes áreas. Em qualquer caso, as plantas mais robustas são as que asseguram maior rendimento, embora estejam sujeitas a maior número de falhas de pegamento. A plantação é, como regra, profunda procurando estimular-se a formação de um sistema radicular abundante que facilite maior desenvolvimento das plantas (Gardé e Gardé, 1988).

Os compassos mais frequentemente utilizados consistem em entrelinha de 50 a 90 cm e distância entre plantas na linha, variando entre 25 e 50 cm normalmente 30 a 40 cm. As densidades variam entre 22 000 a 80 000 plantas ha⁻¹ (Almeida, 2006).

1.2.6.4. Fertilização e rega

As couves de folhas são mais rústicas e menos exigentes em fertilizantes do que as couves de repolho. Em relação às necessidades de água, consideram-se os valores indicados para as couves de repolho, tendo em atenção que a altura das couves-portuguesas pode ser de uns 60 cm e a couve-galega atinge facilmente 1 a 1,5 m (Almeida, 2006).

1.2.6.5. Colheita

A colheita da couve-tronchuda efetua-se cortando manualmente o colo da planta. No caso da couve-galega, cortam-se as folhas completamente expandidas individualmente, de forma escalonada à medida que se vão expandindo (Almeida, 2006).

1.2.7. Inimigos da cultura

Em Portugal e, especificamente na região Oeste, principal região nacional produtora desta cultura, as pragas com níveis populacionais mais elevados são a mosca branca da couve (*Aleyrodes proletella*) e a áltica (*Phyllotreta atra*). A mosca da couve (*Delia radicum*) causa grandes estragos em todas as regiões produtoras (Almeida, 2006).

De entre as doenças que atacam as couves, destaca-se a potra (*Plasmidiospora brassicae*). Esta doença ocorre em solos ácidos e ataca todas as brássicas. Recomenda-se a desinfecção do solo, a prática de rotações e a calagem se o pH do solo for inferior a 6,0. A podridão negra causada pelo *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* é a principal doença de etiologia bacteriana. Os sintomas consistem em pequenas pontuações em forma de cunha e de aspeto oleoso e margens das folhas de aspeto queimado e nervuras escurecidas. As rotações, pelo menos bienais, são importantes no combate à podridão negra. Convém utilizar um molhante nas caldas dos tratamentos fitossanitários para facilitar a permanência nas folhas já que, devido à cobertura de ceras epicuticulares, a calda tende a escorrer para o solo (Almeida, 2006).

1.3. Fertilização das culturas

Uma nutrição equilibrada das culturas é particularmente importante em agricultura intensiva, quando se procuram obter elevadas produções e grande qualidade dos produtos. Em geral, os solos não contêm quantidades suficientes de nutrientes em formas disponíveis para as plantas, em particular de azoto, fósforo e potássio, pelo que os seus teores têm de ser complementados através da fertilização. Desde tempos imemoriais, a chave para manter a produtividade dos solos foi a adição de uma grande variedade de materiais capazes de fornecer nutrientes às culturas, como estrumes, compostos, ossos moídos ou cinzas (Varenes, 2003).

De acordo com Yague (1994) a fertilidade de um solo é a capacidade que o mesmo tem de fornecer às plantas os elementos nutritivos de que estas necessitam. Araújo (2008) define a fertilidade do solo como sendo o resultado da combinação de fatores físicos, químicos e biológicos, capazes de, em conjunto, propiciar as melhores condições para obtenção de altos rendimentos. Para manter a fertilidade a um nível adequado de produção é necessário que se reponham os elementos nutritivos que se

perdem, devido às exportações advindas da colheita, lixiviação, volatilização, etc. Esta reposição pode ser feita de formas naturais diversas, como meteorização de minerais primários, entrada de resíduos vegetais e animais, fixação biológica, ou de forma artificial como adição de esterco, fertilizantes verdes e/ou fertilizantes minerais (Yague, 1994).

1.3.1. Conceito de fertilizante

Fertilizantes são produtos orgânicos ou minerais que contêm um ou vários dos elementos nutritivos classificados de principais - azoto, fósforo e potássio - podendo conter ainda outros elementos secundários ou microelementos (Yague, 1994). De acordo com Madrid *et al.* (1996) consideram-se fertilizantes todas aquelas substâncias naturais ou de síntese que se adicionam ao solo ou às plantas para colocar à disposição destas, nutrientes necessários para o seu desenvolvimento. De acordo com Santos (2015) o termo “fertilizantes” é normalmente usado como abreviatura de "matérias fertilizantes", as quais se podem definir como sendo substâncias que se aplicam ao solo e/ou à parte aérea das plantas com o objetivo de, melhorando a sua nutrição, permitirem obter maiores e/ou melhores produções. Luz *et al.* (2002) apresentam a fertilização como a prática agrícola que consiste em adicionar ao solo a quantidade de nutrientes que preenche a lacuna entre o que a planta necessita e o que o solo pode fornecer, acrescentando, ainda, a quantidade perdida em diversos tipos de processos.

Yague (1994) assinala que o objetivo primordial da fertilização consiste em adicionar ao solo os elementos que são necessários para que as culturas atinjam a máxima rentabilidade na produção. Para que tal seja possível, devem ter-se em conta os seguintes aspetos: i) para manter a fertilidade do solo é necessário repor as perdas dos elementos nutritivos ou a quantidade que sai do sistema solo-planta; ii) o aumento da fertilidade não é proporcional ao incremento das doses de fertilizante aplicado; iii) a adição de uma determinada quantidade de um elemento nutritivo é tanto mais eficaz quanto mais próximos do seu ótimo se encontrem os demais elementos.

1.3.2. Classificação dos fertilizantes

Os nutrientes são divididos em orgânicos (carbono, hidrogénio e oxigénio), que são provenientes do ar e da água, e minerais (azoto, fósforo, potássio, cálcio, magnésio,

enxofre, ferro, manganês, cobre, zinco, molibdênio, boro e cloro), os quais devem ser fornecidos por meio da adubação quando não estão disponíveis em quantidades suficientes no solo, para o crescimento e desenvolvimento das plantas (Camargo, 2012). Os fertilizantes podem ser produtos minerais, orgânicos ou minero-orgânicos, sendo os últimos uma mistura entre os anteriores. Os fertilizantes minerais são os mais usados na agricultura devido ao alto conteúdo de nutrientes, menor custo por unidade do elemento, menor teor de humidade e efeito geralmente mais rápido na vegetação. Os fertilizantes orgânicos, por sua vez, são compostos de materiais orgânicos oriundos de matérias-primas industrial, urbana ou rural, vegetal ou animal.

Um *fertilizante* é uma substância que se aplica ao solo com um determinado fim. Se o objetivo for o aumento rápido da disponibilidade dos nutrientes para as plantas, as substâncias recebem a designação de *adubos*. Quando as substâncias se aplicam ao solo com o objectivo de intervir em propriedades físicas ou químicas que não permitam o adequado desenvolvimento das plantas, as substâncias recebem a designação de *corretivos* (Santos, 2015).

1.3.2.1. Adubos

Os adubos mais comuns do mercado podem classificar-se de acordo com vários critérios: i) quanto à sua origem; ii) quanto ao número de nutrientes principais que contêm; iii) quanto à forma de nutriente presente no adubo e ao resíduo que a sua aplicação deixa no solo; e iv) quanto ao estado físico em que se encontram.

Quanto à origem, e como já foi referido, os adubos dividem-se em minerais, orgânicos e minero-orgânicos. Os minerais são obtidos industrialmente por processos químicos; os orgânicos têm origem em diferentes tipos de resíduos de plantas e/ou animais nas explorações agrícolas, em unidades industriais de processamento de alimentos ou em unidades de compostagem dos resíduos orgânicos urbanos; os minero-orgânicos resultam da incorporação de adubos minerais em compostos orgânicos. Quanto ao número de nutrientes principais que contêm, os adubos dividem-se em elementares, compostos e especiais (Santos, 2015).

Santos (2015) refere que os adubos elementares são os que têm um só macronutriente principal, sendo classificados de azotados, fosfatados e potássicos, consoante o macronutriente principal presente (azoto, fósforo ou potássio). Dado que o

azoto é um elemento muito móvel no solo, no mercado encontram-se diferentes formulações com o objetivo de aumentar a eficiência do seu uso por parte das plantas. Assim, de acordo com a forma de azoto, os adubos azotados dividem-se em amoniacais, nítricos, nitroamoniacais, amídicos e nitroamoniacais-amídicos. Os adubos fosfatados subdividem-se quanto à maior ou menor solubilidade das combinações químicas em que se apresenta o fósforo. Atualmente, os adubos fosfatados mais produzidos e consumidos em Portugal são os superfosfatos, produtos que, tendo o fósforo em formas solúveis na água, são os adubos fosfatados com ação mais rápida.

De acordo com Tedesco *et al.* (2004) em geral, os adubos minerais são sais inorgânicos de diferentes solubilidades. A eficiência agronómica depende da sua solubilidade e das reações químicas com o solo. Os adubos azotados são totalmente solúveis no solo, podendo uma parte ser lixiviada. Os adubos com azoto na forma amoniacal deixam um resíduo ácido no solo, associado à perda de hidrogénios, no processo de oxidação do ião amónio a ião nitrato (Santos, 2015). Os adubos potássicos são também solúveis, porém, as perdas por lixiviação são menores do que as dos adubos azotados, pois o ião K^+ é retido nos sítios de troca, e a água de percolação retira apenas a fração presente na solução do solo. A solubilidade dos adubos fosfatados no solo é bastante variável, em função do tipo de fosfato e do tratamento térmico ou químico da rocha fosfatada.

De acordo com Santos (2015) devido à reduzida mobilidade do fósforo nos solos, os superfosfatos devem ser aplicados nas culturas anuais, à sementeira ou plantação. Os principais adubos potássicos são o cloreto e o sulfato de potássio. O primeiro, embora possa não ser adequado para algumas culturas sensíveis ao cloro (nomeadamente o tabaco), é muito mais utilizado que o segundo. Os adubos compostos podem ter dois ou três macronutrientes principais. No primeiro caso designam-se por compostos binários e no segundo caso por compostos ternários. Tanto uns como os outros são apresentados por três números, em que o primeiro indica a percentagem de azoto, o segundo a de fósforo e o terceiro a de potássio.

Existem diversos adubos compostos com diferentes equilíbrios entre os macronutrientes principais. Como exemplo de adubo binário pode citar-se 7:21:0 e de um adubo ternário o 10:10:10. Os adubos compostos, por sua vez, podem ser de mistura, quando resultam da mistura de adubos simples, e complexos, quando resultam de uma reação química. Nos adubos complexos os seus componentes estão mais

estritamente ligados que nos adubos de mistura. Os adubos compostos têm vantagens e inconvenientes em relação aos adubos elementares. Como principais vantagens pode referir-se o fato de dispensarem a mistura de adubos e de obrigarem o agricultor a efetuar adubações mais completas; como principais inconvenientes pode citar-se o de, geralmente, terem menor percentagem de macronutrientes secundários e o de não se ajustarem facilmente à diversidade de exigências dos vários condicionalismos agroclimáticos e culturais (Yague, 1994; Santos, 2015). Os adubos especiais são todos os outros elementares ou compostos a que foram adicionados outros nutrientes ou inibidores da nitrificação, adubos contendo micronutrientes, etc. (Varenes, 2003).

Quanto ao seu estado físico, os adubos podem ser sólidos e líquidos (ou fluídos), incluindo nos últimos as soluções verdadeiras e as suspensões. No mercado existem adubos líquidos com difentes composições, várias soluções azotadas e um adubo gasoso, o amoníaco anidro. No entanto, os adubos utilizados na fertilização das culturas são maioritariamente, produtos sólidos (Varenes, 2003; Santos, 2015).

1.3.2.2. Corretivos

São fertilizantes que são utilizados com fim de atuarem na melhoria da nutrição das plantas de modo essencialmente indireto, isto é, através de um aumento da fertilidade dos solos provocado pela criação de condições mais favoráveis em termos de reação, teor de matéria orgânica, propriedades físicas, etc. (Santos, 2015). São aquelas substâncias que são adicionadas ao solo com a finalidade de modificar ou melhorar algumas das suas características ou propriedades, como a reação, a estrutura, ou a capacidade de retenção de água.

Os corretivos, quando aplicados também fornecem nutrientes, embora para estes produtos este aspeto seja considerado secundário em relação ao objetivo com que foram aplicados (Varenes, 2003). Deve-se realçar no entanto, que a ação dos corretivos pode não ser exclusivamente indireta, uma vez que, na sua grande maioria, têm teores de nutrientes suscetíveis de lhes conferirem um certo efeito direto na alimentação das plantas. É o que acontece, por exemplo, com o calcário, o gesso e a matéria orgânica (Santos, 2015).

Os principais corretivos dividem-se em minerais e orgânicos, consoante sejam respetivamente, de origem mineral ou orgânica. Os corretivos minerais destinam-se a

corrigir a reação dos solos, podendo ser alcalinizantes ou acidificantes, consoante se destinem, respetivamente, a fazer subir, ou a fazer descer o pH dos solos (Santos, 2015). Na verdade, a denominação de “acidificante” ou “alcalinizante” são designações de circunstância, uma vez que o que se pretende é fazer variar o pH para valores que mais favoreçam o desenvolvimento das culturas, normalmente valores próximos da neutralidade. O ajustamento do pH da camada arável de um solo ácido, de modo a torná-lo mais favorável ao crescimento das plantas, é conseguido pela calagem, que consiste na aplicação de produtos alcalinizantes ao solo (Varenes, 2003). De acordo com Santos (2015) em Portugal os corretivos de maior interesse são os alcalinizantes, visto que os solos, na sua grande maioria, são ácidos. A utilização destes produtos constitui prática vulgarmente designada por calagem, a qual é hoje efetuada, normalmente com calcários. Os calcários são produtos essencialmente constituídos por carbonato de cálcio, mas podem também conter carbonato de magnésio.

Varenes (2003) assinala que o processo de correção da alcalinidade dos solos depende da causa, havendo que distinguir entre solos calcários e solos com níveis de sódio, visto que no primeiro caso, as plantas cultivadas podem sofrer de deficiências de vários nutrientes como ferro, zinco, boro e fósforo, pelo que o mais económico será reforçar a concentração destes elementos na solução do solo do que corrigir a reação. Santos (2015) afirma que o principal corretivo acidificante é o enxofre, o qual vai atuar através da formação de ácido sulfúrico. O gesso, utilizado na recuperação dos solos alcalinizados (solos com muito sódio no complexo de adsorção), é também incluído nos corretivos acidificantes, na medida em que vai permitir o arrastamento de elementos que são substituídos por iões de carácter ácido.

Os corretivos orgânicos destinam-se a corrigir o teor de matéria orgânica dos solos. Embora os compostos orgânicos contenham elementos nutritivos, estes estão sempre presentes em quantidades relativamente pequenas, pelo que o principal interesse destes produtos reside, de fato, no seu contributo para o aumento do teor de matéria orgânica dos solos. Para além dos corretivos orgânicos e dos corretivos minerais, existe ainda um tipo especial de corretivos, chamados de condicionadores, que se aplicam com a principal finalidade de melhorarem a estrutura dos solos. Por serem produtos muito caros, o seu uso é muito restrito, apenas se verificando a sua aplicação praticamente em estufas, jardins e relvados (Varenes, 2003; Carvalho *et al.*, 2005; Santos, 2015). Segundo Carvalho *et al.* (2005) alguns dos principais corretivos orgânicos são: i)

estrumes (bovinos, ovinos, caprinos, de aves, e de morcego); ii) resíduos de esgotos; iii) composto orgânico; iv) vermicomposto; v) adubos verdes; vi) restos de cultura; e vi) biofertilizantes.

1.3.3. Importância dos fertilizantes

Desde o ponto de vista econômico da produção agrícola, pecuária ou florestal, sem uma adequada disponibilidade de nutrientes, as plantas e animais não produzem de acordo ao seu potencial genético. A obtenção de uma produção rentável passa pelo manejo adequado da fertilidade do solo, assegurando uma adequada disponibilidade de nutrientes para as plantas. Cada cultivo em particular, necessita de quantidades específicas de nutrientes. Para além disso, a quantidade de nutrientes necessária depende em grande medida do rendimento esperado do cultivo. Num mesmo tipo de cultivo, as diferentes variedades poderão também apresentar diferentes necessidades de nutrientes e resposta aos fertilizantes. Uma variedade local não apresentará a mesma resposta aos fertilizantes como uma variedade melhorada. As plantas tal como os homens, precisam de uma alimentação equilibrada (Santos, 2015).

A taxa em que a fotossíntese ocorre é diretamente influenciada pela água e pelo estado nutricional da planta. Taxas máximas são determinadas em última análise, pela genética da planta. Quinze dos nutrientes essenciais são fornecidos pelo solo. Destes, azoto, fósforo e potássio são referidos como primários ou macronutrientes. Isto é porque eles são requeridos pela planta em grandes quantidades relativamente a outros nutrientes e são os nutrientes mais prováveis de limitarem o crescimento da planta e desenvolvimento dos sistemas de solo. Cálcio, magnésio, e enxofre são denominados nutrientes secundários, porque eles têm menos probabilidade de serem fatores que limitam o crescimento nos sistemas do solo. Cálcio e magnésio são adicionados em materiais de calagem, quando o pH do solo é ajustado e enxofre é adicionado continuamente por chuvas e libertado a partir da matéria orgânica do solo. Podem ainda acompanhar os macronutrientes principais nos adubos elementares, como é o caso do superfosfato que, além de fósforo também tem cálcio e enxofre na sua composição. Zinco, cloro, boro, molibdénio, cobre, ferro, manganês, cobalto e níquel são denominados micronutrientes porque são encontrados apenas em quantidades muito

pequenas em relação aos outros nutrientes e são menos suscetíveis de serem limitantes do crescimento e desenvolvimento da planta, em muitos sistemas de solo (Savoy, 2015).

De acordo com Isherwood (2000), os fertilizantes são usados na agricultura para complementar a disponibilidade natural de nutrientes do solo com a finalidade de: i) satisfazer a demanda das culturas que apresentam um alto potencial de produtividade e de elevar a produções economicamente viáveis; ii) compensar a perda de nutrientes decorrentes da remoção pelas culturas, lixiviação ou perdas gasosas; e iii) melhorar as condições não favoráveis, manter boas condições do solo para produção das culturas ou contribuir para recuperar solos.

Os fertilizantes permitem restaurar os nutrientes que as plantas extraem do solo, ou perdem por lavagem ou erosão, fornecendo às plantas os nutrientes de que necessitam durante o seu ciclo. Em outras palavras, o agricultor aplicando fertilizantes mantém sempre disponível o *pool* de nutrientes, que é, em parte, do solo (Jiménez *et al.*, 2010). Camargo (2012) referencia que o uso dos fertilizantes também promove grande impacto nas propriedades físicas do solo. Plantas que receberam nutrientes na quantidade adequada apresentam maior crescimento, sustentado por um sistema radicular mais vigoroso. Além disso, a maior quantidade de raízes e resíduos vegetais que voltam ao solo, aumentam a matéria orgânica, melhorando o arejamento do solo e as taxas de infiltração de água. Assim, a erosão, que é a perda de solo pela chuva ou vento, é reduzida, evitando o assoreamento dos rios e os prejuízos ambientais decorrentes. Dessa forma, os fertilizantes contribuem para reduzir a degradação química, física e biológica do solo. O autor refere ainda que de entre os fertilizantes, os minerais azotados e os fertilizantes orgânicos, ao solo, são vantajosos para o aumento da produtividade, pois fornecem azoto, que é parte central da molécula de clorofila, proporcionando elevação da capacidade fotossintética das plantas, ou seja, as plantas ficam mais verdes. Quando os adubos azotados ou os orgânicos são aplicados ao solo, eles passam da forma mineral ou orgânica para a forma nítrica (NO_3^-), que é preferencialmente absorvida pelas plantas, sendo transformada em compostos orgânicos.

1.3.4. Utilização dos fertilizantes

Varenes (2003) assinala que a aplicação de fertilizantes e corretivos tem sempre como finalidade aumentar a produtividade dos solos, por melhorar as suas características físicas, químicas e/ou elevar a sua fertilidade.

O uso de fertilizantes constitui, sem dúvida, um dos mais poderosos meios que o agricultor dispõe para aumentar as produções, tendo desempenhado um papel decisivo na passagem da agricultura de atividade de subsistência à atividade económica. No entanto, à semelhança do que, aliás, se deve verificar com todas as práticas agrícolas, é indispensável que a fertilização seja racional, isto é, que nas épocas mais oportunas, e usando as melhores técnicas, se utilizem as quantidades e os tipos de fertilizantes melhor adaptados às características dos diferentes condicionalismos agroclimáticos e culturais (Santos, 2015).

De acordo com Camargo (2012) para a obtenção de boa produção agrícola, é necessário que os nutrientes estejam em quantidades adequadas às plantas, proporcionando uma maior produtividade. A aplicação de fertilizantes minerais ao solo também é feita para repor sua perda, pois, a cada ciclo, as plantas extraem nutrientes dos solos e alguns deles são retirados do campo (tais como os grãos de milho, soja, ou arroz) e não retornam mais. Dessa forma, se esses nutrientes não forem fornecidos pelos fertilizantes, eles serão removidos das reservas do solo, podendo causar o seu esgotamento. Isso pode causar também redução da matéria orgânica, que é, também, fornecedora de nutrientes, e contribui para melhorar a retenção de água pelo solo. Sem a adubação do solo com fertilizantes, haveria sua degradação e redução da oferta de alimentos.

Nunca se pode definir a fertilização como adubação, pelo fato de existirem fatores que podem limitar de forma muito importante as condições de desenvolvimento das plantas, como é o caso da elevada acidez dos solos que pode comprometer o efeito da aplicação dos adubos. Deve-se realçar também que apesar de se associar os fertilizantes como apenas um meio de acréscimo das produções, há que não descorar de outros aspetos como a qualidade dos produtos agrícolas e das águas, a própria fertilidade dos solos e a rendibilidade económica (Santos 2015).

Uma utilização correta de fertilizantes e corretivos implica tomada de decisão sobre: i) qual o nutriente ou corretivo a aplicar; ii) em que quantidade e forma; e iii)

como e quando deve ser efetuada a sua aplicação. As exigências da cultura, para além de dependerem da sua própria natureza, dependem também do nível de produção que se espera que venha a ser obtido. Os principais fatores de seleção dos adubos são: formas químicas em que apresentam os macronutrientes principais; presença, para além dos macronutrientes principais, de outros elementos nutritivos (cálcio, enxofre, etc); reação fisiológica (acidificantes ou alcalinizantes); e salinidade (mais ou menos salinos). As épocas e as técnicas de aplicação dos adubos devem ser escolhidas em função da sua natureza e das características do clima, do solo e das culturas (CBPA, 1997; Santos, 2015).

Santos (2015) assinala que deve ter-se sempre bem presente que os adubos não substituem os corretivos ou vice-versa. Trata-se de produtos cujas ações se complementam, mas não se substituem. Quando se passa de uma exploração de sequeiro para uma outra de regadio, deve alterar-se a fertilização de forma que as produções possam ser mais elevadas (só assim se poderão pagar os maiores encargos do regadio) e a fertilidade do solo não venha a ser deteriorada. Especial atenção deve ser dispensada à qualidade da água de rega e aos sistemas de regadio a usar. Na utilização dos fertilizantes não se pode deixar de ter em atenção à diferença entre o ótimo físico e o ótimo económico, e tomar em consideração os custos energéticos de cada um dos produtos, em particular do azoto, do fósforo e do potássio.

Outro aspeto relevante é que a maioria dos solos possuem pH ácido (menor que 6), situação desfavorável às plantas para absorverem os nutrientes do solo. Aliado a isso, a absorção de nutrientes catiónicos (íões Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^{+} presentes na fase líquida do solo) pelas plantas, liberta protões (íões H^{+}) que reduzem o pH do solo, assim como ocorre quando são usados alguns tipos de fertilizantes azotados e fertilizantes orgânicos. Dessa forma, é natural que a agricultura promova a acidificação do solo ao longo do tempo, seja pelas plantas ou pelos fertilizantes minerais e orgânicos. Nestas circunstâncias a aplicação dos calcários toma especial importância já que ao mesmo tempo que promovem o aumento do pH também fornecem nutrientes como cálcio e magnésio, melhorando as propriedades químicas do solo e aumentando a produtividade agrícola (Camargo, 2012).

1.4. Fertilização orgânica

A matéria orgânica tem um papel importante na agregação das partículas minerais do solo, contribuindo para a melhoria da estrutura do solo o que facilita a expansão radicular, por outro lado, contém fósforo e potássio em formas assimiláveis pelas raízes. Também armazena formas orgânicas de azoto, fósforo e enxofre a partir das quais surgem formas disponíveis destes nutrientes por ação microbiana. A quantidade de matéria orgânica no solo depende do sistema agrícola, das características do solo e do clima (Defra, 2010).

1.4.1. Conceito de fertilizante orgânico

O fertilizante orgânico é um produto com origem em resíduos de origem animal e vegetal que, após a decomposição, resulta em matéria orgânica para o solo (Finatto *et al.*, 2013). Santos (2008) define fertilizante orgânico como sendo todo produto proveniente de qualquer resíduo de origem vegetal, animal, urbano ou industrial, composto por carbono degradável, ou ainda, toda a substância morta no solo proveniente de plantas, microrganismos, excreções animais, quer da meso ou microfauna. Para Busato (2008) os fertilizantes orgânicos são uma cópia (concentrada e acelerada) dos processos que ocorrem gradualmente na natureza com a decomposição dos resíduos orgânicos de origem vegetal ou animal.

1.4.2. Características dos fertilizantes orgânicos

Os fertilizantes orgânicos têm composição variável conforme sua origem, teor de humidade e processamento antes da sua aplicação. A mineralização no solo de nutrientes como o azoto e fósforo depende principalmente da relação carbono/azoto (C/N) do material orgânico. Por exemplo, compostos com C/N menor que 25 e relação carbono/fósforo (C/P) menor que 200 libertam a maior parte do N e do P no primeiro ano da aplicação. Em geral, produtos de origem animal sofrem um processo de mineralização mais acelerado do que os produtos de origem vegetal, quando submetidos às mesmas condições de temperatura ambiente e humidade no solo (Trani *et al.*, 2013). O efeito da aplicação de doses baixas de fertilizantes orgânicos na fertilidade do solo é quase insignificante e pode quase inteiramente ser explicado pelas pequenas

contribuições de elementos nutritivos que eles representam. O efeito da aplicação de doses elevadas de fertilizantes orgânicos sobre a fertilidade do solo pode ser considerável e depende, entre outras coisas, da natureza do fertilizante e da sua decomposição (ADAS, 2000).

1.4.3. Alguns fertilizantes orgânicos

Fertilizantes orgânicos aplicados na produção agrícola podem ser produzidos na exploração (lamas, esterco de curral e fertilizantes de aves) ou fornecidos a partir de outras fontes, como as lamas tratadas de esgoto (comumente chamadas de bio sólidos), resíduos industriais, tais como lamas celulósicas e subprodutos da indústria alimentar (Defra, 2010). Podemos destacar como sendo os principais fertilizantes orgânicos presentes no mercado: os estrumes e chorumes, adubos verdes, compostos, vermicompostos e bio sólidos.

1.4.3.1. Estrumes e chorumes

De acordo com Varennes (2003) são designados por estrumes sólidos, ou simplesmente por estrumes, o conjunto dos dejetos sólidos e líquidos misturados com restos de alimentos e materiais de origem vegetal utilizados na "cama" dos animais. Sendo que os chorumes são os resíduos recolhidos em depósitos, conjuntamente com a água de lavagem das estabulações do gado bovino sem a cama. Araújo (2008) descreve o esterco como sendo um produto formado pelos excrementos sólidos e líquidos dos animais, utilizados principalmente como adubo orgânico e na geração de energia através do biogás. Para este autor a adubação com esterco de bovino é uma prática milenar, que perdeu o seu impacto com a introdução da adubação mineral, em meados do século XIX, tendo retomado a importância nas últimas décadas, com o crescimento da preocupação com o ambiente, com a alimentação saudável e com a necessidade de dar um destino apropriado às grandes quantidades produzidas em alguns países.

Estrume de boa qualidade é talvez a matéria orgânica mais valiosa aplicada a um solo. É o fertilizante mais comumente usado na maioria dos países do mundo. Ele consiste em uma mistura decomposta de esterco de gado, a cama usada no estábulo e quaisquer vestígios de palha e caules de plantas para alimentar o gado. Os estrumes

forneem nutrientes e matéria orgânica aos solos. A quantidade e composição mineral dos estrumes e chorumes depende de vários fatores, seja a espécie e idade do animal, o regime de estabulação, o tipo e quantidade de alimento ingerido, o leite ou trabalho produzido, o material utilizado nas "camas", quando existam, e ainda o modo como os estrumes e chorumes são conservados (Varenes, 2003).

1.4.3.2. Adubação verde

A adubação verde pode ser definida como uma prática de incorporar no solo, vegetais verdes que ainda não foram decompostos, com a finalidade de melhorar a fertilidade do solo. A adubação verde é uma prática utilizada para a fertilização do solo que consiste no cultivo de determinada planta, normalmente uma leguminosa, gramínea, e/ou crucífera, com a finalidade de proteger e melhorar o solo. Os adubos verdes são de grande importância para a implantação de um sistema de agricultura orgânica, pois fornecem matéria orgânica, auxiliam na desintoxicação do solo causada por herbicidas ou outros produtos químicos. As leguminosas são usadas com mais frequência, pois são importantes fontes de azoto devido à fixação biológica com a ajuda de bactérias que se alojam nas raízes formando nódulos e exercem também uma ação protetora contra a erosão e lixiviação. As gramíneas são boas fontes de carbono e produtoras de biomassa e as ervas nativas auxiliam a reciclagem de nutrientes e a preservação do ecossistema (Sharma, 2005; Araújo 2008).

Entre os efeitos da adubação verde na fertilidade do solo estão o aumento do teor de matéria orgânica, a maior disponibilidade de nutrientes, a maior capacidade de troca de cátions efetiva, a diminuição dos teores de alumínio no solo com a capacidade de reciclagem e mobilização de nutrientes. Esses efeitos são bastante variáveis, dependendo da espécie utilizada, do manejo dado à biomassa, da época de plantação e de corte do adubo verde, do tempo de permanência dos resíduos no solo, das condições locais e da interação entre esses fatores (Fontanetti *et al.*, 2006).

Como principais adubos verdes da família das leguminosas citam-se as mucunas, crotalárias, guandu, leucena, chícharo e tremoço. De entre as gramíneas, destacam-se aveia preta, aveia branca, milho, sorgo e milheto. De entre as brássicas, cita-se o nabo forrageiro. Deve destacar-se que a escolha do adubo verde é condicionada pelo clima. Por exemplo, tremoço, ervilhaca e nabo forrageiro desenvolvem-se melhor em regiões

de clima ameno, enquanto crotalárias, guandu, chícharo e leucena têm melhor desenvolvimento em regiões de temperaturas mais elevadas (Trani *et al.*, 2013).

1.4.3.4. Compostos

A compostagem é um processo aeróbio de transformação de resíduos orgânicos em fertilizante humificado. O arejamento pode ser feito de forma manual ou mecânica com o auxílio de máquinas, sendo importante a uniformidade da granulometria de cada fertilizante orgânico para que haja facilidade de degradação e cura (Trani *et al.*, 2013). Para Varennes (2003) o processo de compostagem corresponde a uma digestão aeróbia que tem como finalidade conseguir uma rápida decomposição dos materiais orgânicos, sem uma perda exagerada de nutrientes vegetais, e obter um produto estabilizado, sem odores desagradáveis e isento de organismos patogênicos. Finatto (2013) define a compostagem como um processo controlado de decomposição microbiana de oxidação e oxigenação de uma massa heterogênea de matéria orgânica no estado sólido e húmido. A sua finalidade é obter mais rapidamente e em melhores condições a estabilização da matéria orgânica. Trani *et al.* (2013) referem o fertilizante composto como sendo o produto obtido por processo bioquímico natural ou controlado com mistura de resíduos orgânicos de origem vegetal, animal, industrial ou urbano.

Os compostos obtidos podem ser usados na recuperação de solos degradados, em jardins e como substratos para culturas envasadas. Dependendo da sua riqueza em elementos vestigiais, poderão ou não ser aplicados a solos agrícolas. Por outro lado, a elevada salinidade dos resíduos sólidos e urbanos constitui um fator limitante do seu uso em larga escala, não se devendo aplicar mais de 5-10 kg ha⁻¹ (Varennes, 2003).

Estes materiais são ricos em celulose e outros hidratos de carbono facilmente capazes de se decomporem, e têm uma relação C/N de 40 ou mais (Sharma, 2005). Quando a matéria orgânica é incorporada no solo na forma de composto faz com que o solo fique com características interessantes para as plantas. Nos solos aumenta a capacidade de troca catiónica e o seu poder tampão. A utilização de compostos melhora a estrutura do solo, favorecendo a agregação entre os colóides minerais e orgânicos, fazendo com que melhore a disponibilidade de nutrientes no solo e também diminua a lixiviação de nutrientes. O composto orgânico fornece microrganismos que ajudam no ciclo dos nutrientes, e que, após a sua morte, também serão fonte de nutrientes para as

plantas, pois irão libertar esses nutrientes (Silva, 2008). Compostos feitos de insumos biodegradáveis são fontes valiosas de nutrientes para as plantas e de matéria orgânica. São uma fonte valiosa de matéria orgânica estável e nutrientes disponíveis para as culturas, que podem ser utilizados pelos produtores para atender às necessidades de nutrientes agrícolas e para manter a fertilidade do solo. O teor de nutriente de produtos de compostagem varia com o processo e materiais de tratamento (Defra, 2010).

1.4.3.5. Vermicompostos

O vermicomposto é um fertilizante orgânico produzido por processo de decomposição aeróbia, em que, numa primeira fase, estão envolvidos fungos e bactérias e, numa segunda fase, ocorre também atuação de minhocas originando um composto de melhor qualidade. O húmus de minhoca é, na prática, o excremento das minhocas. As excreções contêm nutrientes essenciais às plantas numa forma mais disponível, especialmente o azoto (Araújo, 2008).

Os vermicompostos, também conhecidos pelas designações de húmus de minhoca, estrumes de minhoca e lombricomposto, resultam essencialmente dos dejetos das minhocas. Apresentam excelentes propriedades de corretivos orgânicos, dado que, para além do elevado teor em matéria orgânica (em geral já com um certo grau de humificação), contêm os macro e micronutrientes, no equilíbrio exigido pela grande maioria dos condicionalismos agroclimáticos e culturais (Santos, 2015). O húmus apresenta-se em forma coloidal e pode influenciar em diversas propriedades físicas e químicas do solo: melhora a estrutura do solo; reduz a plasticidade e coesão; aumenta a capacidade de retenção de água; ameniza a variação da temperatura do solo; aumenta a capacidade de troca catiónica; e aumenta o poder tampão. Os compostos orgânicos atuam como quelatos no solo e são fonte de nutrientes (Finatto, 2013).

1.4.3.6. Biossólidos

É o termo usado para designar uma grande variedade de resíduos orgânicos que podem ser aplicados aos solos, incluindo lamas de tratamento de esgotos, lamas celulósicas, e resíduos de matadouros e de agroindústrias, como bagaços de uva e restos de cozinha. Os biossólidos são frequentemente reciclados como substitutos dos

fertilizantes orgânicos. O grau e tipo de processamento determinam as aplicações específicas para biossólidos (Rechcigl e MacKinnon, 1997).

De acordo com Rechcigl e MacKinnon (1997) o tratamento de águas residuais resulta em dois produtos, o efluente tratado e o biossólido sob a forma de lamas provenientes de processos de tratamento físico e biológico. Após o tratamento de águas residuais, o efluente deve ser desinfetado geralmente por produtos químicos como o cloro antes que possam ser descarregados para as massas de água que o recebem. Da mesma forma, também os biossólidos devem ser tratados, se os mesmos forem para serem devolvidos ao meio ambiente através da aplicação ao solo. Estes biossólidos contêm quantidades significativas de matéria orgânica e nutrientes inorgânicos, que são um recurso valioso para a produção de culturas. Segundo Varennes (2003) as lamas celulósicas resultam do fabrico ou reciclagem do papel através da remoção dos sólidos em suspensão (tratamento primário) e da digestão biológica aeróbia do líquido (tratamento secundário). Do tratamento primário resulta uma lama com fibras celulósicas e vários compostos inorgânicos, incluindo carbonato de cálcio. Possui apenas cerca de 3 g N kg^{-1} de matéria seca, uma razão C/N superior a 100 e, praticamente, não contém fósforo ou potássio. Para o tratamento secundário são adicionados azoto e fósforo minerais, de modo a que os microrganismos consigam degradar o material orgânico presente no líquido.

Lamas tratadas (vulgarmente chamados biossólidos) são valiosos fertilizantes e condicionadores de solo, que tenham sido submetidos a processos para criar um produto adequado para uso benéfico na agricultura. A melhoria das propriedades do solo, através da aplicação de biossólidos resulta principalmente da matéria orgânica e nutrientes para as plantas. Ambos são recursos importantes para agricultura. Os elementos minerais estabelecidos como micro ou macronutrientes essenciais estão presentes nos biossólidos. Estes elementos, combinados com biossólidos com cerca de 50% de matéria orgânica (típico de biossólidos digeridos) são de valor considerável quando usados no sistema solo-cultura. Cerca de 50% do teor total de fósforo do biossólido está disponível para o crescimento das culturas na próxima safra, com o restante a ser disponibilizado nos anos seguintes. No entanto, a disponibilidade pode ser menor se os biossólidos terciários forem tratados usando os sais de ferro e de alumínio para melhorar a remoção de fósforo das águas residuais. O fósforo fornecido por uma aplicação de biossólido deve ser considerado em toda a rotação de culturas, gerindo entradas em

relação à exportação advinda da colheita e análise do solo (Rechcigl e MacKinnon, 1997; Defra, 2010).

O biossólido contém apenas pequenas quantidades de potássio que, devido à sua solubilidade, é removido no efluente. As lamas resultantes do tratamento dos esgotos quando aplicadas aos solos têm a vantagem de depurar o efluente e reciclar o azoto e fósforo, impedindo a eventual eutrofização de rios e lagos. A composição das lamas é muito variável, dependendo do teor de água, do grau de digestão do material orgânico e do nível de metais, como micronutrientes catiões e outros elementos vestigiais (cádmio, crómio, chumbo, etc.). O teor de azoto dos biossólidos varia um pouco, dependendo da origem do efluente e processamento das águas residuais. As lamas estabilizadas com cal também têm valor como materiais de calagem que podem equilibrar os efeitos acidificantes de entradas atmosféricas e fertilizantes inorgânicos (Rechcigl e MacKinnon, 1997; Defra, 2010).

1.4.4. Importância da fertilização orgânica

Desde a antiguidade que os materiais orgânicos vêm sendo usados para melhorar a fertilidade do solo (Santos, 2008). Apesar do baixo teor de nutrientes, contendo apenas 10 ou 20% dos nutrientes encontrados nos fertilizantes minerais, os fertilizantes orgânicos são de fundamental importância para a agricultura, visto que atuam nos mecanismos físicos e biológicos do solo, melhorando as suas propriedades físicas, químicas e biológicas. Quando estes materiais são adicionados ao solo, aumentam a atividade microbiana, o que resulta na perda de carbono na forma de dióxido de carbono e na imobilização temporária do azoto numa forma não assimilável (ADAS, 2000). Os fertilizantes orgânicos aumentam a atividade dos microrganismos no solo e a capacidade de retenção de água e reduzem a lixiviação de sais importantes (Yousafzai *et al.*, 2016).

A matéria orgânica juntamente com a argila do solo forma um complexo de adsorção, melhorando suas propriedades químicas ao reter nutrientes como o azoto, que de outra forma seria lixiviado. Os fertilizantes orgânicos também libertam micro e macronutrientes que são de suma importância para o desenvolvimento vegetal (Araújo, 2008). Esses fertilizantes por apresentarem a maior parte dos nutrientes numa estrutura orgânica, irão fornecer os elementos nutritivos (o azoto em particular) de forma mais

gradual, evitando, ou pelo menos atenuando, os fenômenos de salinização secundária dos solos, de poluição das águas e/ou dos produtos alimentares por excesso de nitratos. Outra vantagem que se pode atribuir aos fertilizantes orgânicos, é o fato de, em relação aos fertilizantes de origem mineral, conterem, embora não necessariamente no mais conveniente equilíbrio para todos os solos e culturas, a totalidade dos elementos necessários às plantas (Santos, 2015). Os fertilizantes orgânicos como estrume, contêm cerca de 15% de matéria seca. O valor de materiais orgânicos como fertilizantes depende do seu teor total de nutrientes e da biodisponibilidade dos elementos (ADAS, 2000).

1.4.5. Inconvenientes da fertilização orgânica

Os inconvenientes que se podem referir são o fato de serem mais incômodos de transportar e de distribuir, possuírem baixos teores de macronutrientes, atuarem mais lentamente e terem, de modo geral, preços mais elevados por unidades de fertilizantes (Santos, 2015). Trani *et al.* (2013) apontam os seguintes inconvenientes aos fertilizantes orgânicos: i) alguns fertilizantes orgânicos mal decompostos ou de origem não controlada podem introduzir ou aumentar o número de microrganismos de solo nocivos às plantas (ex: *Verticilium*, *Fusarium*, *Rizoctonia*) e sementes de plantas daninhas; ii) resíduos como composto de lixo urbano e lodo de esgoto tratado não monitorizados podem acarretar danos com a introdução de metais pesados no solo e microrganismos patogênicos ao homem; iii) os custos de produção, transporte e aplicação dos fertilizantes orgânicos são mais elevados em relação aos fertilizantes minerais (isso pode ser minimizado com a utilização dos fertilizantes organominerais); e iv) nem sempre a proporção dos nutrientes contidos nos fertilizantes orgânicos atende às necessidades das plantas.

1.5. Biofertilizantes

Vessey (2003) definiu biofertilizante como uma substância que contém microrganismos vivos que, quando aplicada sobre as sementes, superfície da planta, ou no solo, coloniza a rizosfera ou o interior da planta e promove o crescimento através do aumento da disponibilidade de nutrientes primários para a planta hospedeira. De acordo

com Chen (2006) biofertilizante é uma substância que contém microrganismos vivos que ajudam na expansão do sistema radicular e favorecem uma melhor germinação das sementes. Uma planta saudável tem geralmente uma rizosfera saudável, que deve ser dominada por microrganismos benéficos. Boraste *et al.* (2009) definem biofertilizantes, ou mais propriamente inoculantes microbianos, como preparações contendo organismos vivos ou latentes de estirpes eficientes de fixação de azoto, solubilização de fosfato ou celulolítica utilizados para aplicação às sementes, solo, ou materiais em compostagem, com o objetivo de aumentar o número desses microrganismos e acelerar certos processos microbianos para aumentar a disponibilidade de nutrientes para as plantas.

De acordo com Chen (2006) os biofertilizantes diferem dos fertilizantes minerais e biológicos no sentido de que não fornecem diretamente todos os nutrientes para as culturas e são culturas de bactérias e fungos especiais. A tecnologia de produção de biofertilizantes é relativamente simples e o custo de instalação é muito baixo em comparação com a tecnologia em que se fabrica os fertilizantes minerais.

Os biofertilizantes podem ser classificados de acordo com o mecanismo usado pelo microrganismo para promover o crescimento das plantas (fixadores de azoto, solubilizadores de fósforo ou desintegradores da matéria orgânica) ou consoante o tipo de microrganismos usados na sua formulação, sejam bactérias, fungos ou uma combinação de ambos (Santacruz, 2012).

Os organismos usados como biofertilizantes são usualmente cultivados e multiplicados em laboratório. Os microrganismos que podem ser utilizados como biofertilizantes incluem bactérias, fungos e algas verde-azuladas. Estes organismos são adicionados à rizosfera da planta para aumentar a sua atividade no solo (Boraste *et al.*, 2009). Segundo Romero *et al.* (2013) três grandes grupos de microrganismos são considerados benéficos para a nutrição das plantas: fungos micorrízicos arbusculares (FMA), rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (RPCP) e rizóbios fixadores de azoto, que geralmente não são considerados como RPCP. De acordo com Malusá *et al.* (2012) inóculos microbianos baseados nestes microrganismos podem ser divididos em diferentes categorias dependendo da sua utilização. No entanto, a categoria de biofertilizante mais comumente refere-se a produtos que contêm microrganismos do solo, aumentando a disponibilidade e absorção de nutrientes minerais para as plantas (como rizóbio e fungos micorrízicos).

1.5.1. Rizóbios

Rizóbios são bactérias simbióticas que fixam azoto atmosférico nos nódulos radiculares e têm uma relação mutuamente útil com suas plantas hospedeiras. As raízes das plantas fornecem minerais essenciais e substâncias sintetizadas de novo para as bactérias. Devido à sua capacidade de fixação de azoto as leguminosas são menos dependentes de fertilizantes azotados inorgânicos em relação a outras culturas não leguminosas, como as gramíneas. A inoculação do rizóbio é uma prática agronômica usada para assegurar azoto às leguminosas, no lugar de fertilizantes azotados. É relatado que o rizóbio pode contribuir com 50-300 kg N ha⁻¹ ano⁻¹. A fixação de azoto por leguminosas também pode manter a fertilidade do solo e pode ter um efeito benéfico na cultura seguinte (Chen, 2006; Mohammadi e Sohrabi, 2012).

1.5.2. *Azotobacter* e *Azospirillum*

Estas são bactérias de vida livre que podem fixar o azoto atmosférico em culturas de cereais sem qualquer simbiose, enquanto algas verde-azuladas apresentam-se muito eficazes nas plantações de arroz e banana. Foi demonstrada a influência benéfica da co-inoculação de *Azospirillum lipoferum* e *Bacillus megaterium* para plantas de trigo. A inoculação com misturas bacterianas fornece uma nutrição mais equilibrada para as plantas devido à melhoria na absorção radicular de azoto e fósforo, sendo este o principal mecanismo de interação entre plantas e bactérias. Estes microrganismos podem fixar 15 a 20 kg N ha⁻¹ ano⁻¹. *Azotobacter* spp. também pode produzir compostos antifúngicos para lutar contra muitos patógenos das plantas. Eles também aumentam a germinação e vigor em plantas jovens conduzindo a melhores resultados de cultivo (Chen, 2006; Mohammadi e Sohrabi, 2012).

1.5.3. Bactérias solubilizadoras de fósforo

Estirpes de bactérias dos géneros *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium* e *Enterobacter*, juntamente com fungos dos géneros *Penicillium* e *Aspergillus* têm sido descritos como poderosos solubilizadores de fósforo. Assim, o fósforo fixado no solo por mecanismos diversos pode ser solubilizado por aquelas bactérias e fungos, que têm a capacidade de convertê-lo nas formas solúveis de hidrogenofosfato (HPO₄²⁻) e

dihidrogenofosfato (H_2PO_4^-) através da libertação de ácidos orgânicos, reações de quelatação e de permuta de iões e torná-lo disponível para as plantas. O uso dessas bactérias na prática agrícola pode assim, dispensar o uso de fertilizantes fosfatados ou melhorar a sua solubilidade quando são aplicados ao solo. (Chen, 2006; Mohammadi e Sohrabi, 2012).

1.5.4. Fungos micorrízicos arbusculares

Os fungos micorrízicos arbusculares podem ser considerados como biofertilizantes de largo espectro. São fungos associados à maioria das culturas agrícolas e promovem a disponibilidade de nutrientes para as plantas. Por outro lado, estimulam o crescimento das plantas por efeitos fisiológicos ou pela redução da severidade de doenças causadas por agentes patogénicos do solo. As micorrizas estabelecem relações mutuamente benéficas (relações simbióticas) com as raízes das plantas. Os FMA infetam e espalham-se dentro da raiz. Eles possuem estruturas especiais conhecidas como vesículas e arbúsculos. As raízes da planta fornecem substâncias nutritivas (algumas fornecidas por exsudação) aos fungos, e esses por sua vez fornecem nutrientes e água às raízes das plantas. As hifas fúngicas podem estender-se pela raiz em comprimento de até 100 vezes o seu tamanho. As hifas atingem áreas mais húmidas do solo e ajudam as plantas a absorver nutrientes, particularmente minerais menos disponíveis, tais como fósforo, zinco, molibdénio e cobre. Alguns desses fungos formam uma espécie de invólucro em torno da raiz, por vezes, dando-lhe uma aparência felpuda. Eles fornecem uma capa protetora, aumentando a tolerância das plântulas micorrízicas à seca, às altas temperaturas, à infeção por fungos, doenças e até mesmo à extrema acidez do solo (Chen, 2006; Mohammadi e Sohrabi, 2012).

1.5.5. Rizobactérias promotoras do crescimento

Segundo Vessey (2003) as rizobactérias promotoras do crescimento das plantas representam uma grande variedade de bactérias do solo que, quando cultivadas em associação com uma planta hospedeira, promovem o crescimento do hospedeiro. Estas bactérias incluem a fixação de azoto, aumentando a disponibilidade de nutrientes na rizosfera e influenciando positivamente o crescimento das raízes (Chen, 2006). Da atividade das RPCP resultam benefícios para as plantas hospedeiras após a inoculação,

originando aumento da produção agrícola. As RPCP promovem a absorção de nutrientes pelas plantas (fixação de azoto e solubilização de fósforo), induzindo aumentos na superfície radicular (produção hormonal), ou reduzindo os efeitos nocivos dos agentes patogénicos (Herrmann e Lesueur, 2013).

Os meios pelos quais as RPCP melhoram o estado nutricional de plantas hospedeiras podem ser categorizados em cinco domínios (Vessey, 2003): i) fixação biológica de azoto; ii) aumento da disponibilidade de nutrientes na rizosfera; iii) indução do aumento da área superficial de raiz; iv) reforço de outras simbioses benéficas do hospedeiro; e v) combinação de modos de ação. Segundo Mohammadi e Sohrabi (2012) estas rizobactérias pertencem a vários géneros, como por exemplo, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Actinoplanes*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Erwinia*, *Enterobacter*, *Amorphoesporangium*, *Cellulomonas*, *Flavobacterium*, *Streptomyces* e *Xanthomonas*.

1.5.6. Mecanismo de ação dos biofertilizantes

De acordo com Santacruz (2012) os mecanismos que explicam as respostas da inoculação com microrganismos no desenvolvimento da produtividade dos cultivos podem ser diretos e indiretos. Mediante mecanismos diretos os biofertilizantes melhoram o crescimento das plantas favorecendo a sua nutrição, seja aumentando a disponibilidade de nutrientes e água, seja libertando hormonas estimuladoras do crescimento vegetal ou alterando a estrutura da superfície de absorção das raízes. Eles podem incluir fixação biológica de azoto, síntese de hormonas, síntese de vitaminas, regulação dos níveis de etileno, produção de sideróforos, solubilização de fosfatos, solubilização de enxofre e produção de compostos voláteis. A promoção indireta do crescimento de plantas ocorre quando os biofertilizantes previnem, diminuem ou eliminam um ou mais organismos fitopatogénicos através de processos biológicos, como competição por espaço e nutrientes, produção de sideróforos, síntese de antibióticos e indução de resistência a patógenos.

1.5.7. Formas de inoculação dos biofertilizantes

Os biofertilizantes são geralmente aplicados aos solos, sementes ou mudas, com ou sem algum portador para os microrganismos, por exemplo, turfa, compostos ou adesivos. Independentemente dos métodos, o número de células que chegam ao solo a partir de produtos comerciais, é menor do que o número de microrganismos existentes no solo ou na rizosfera. Estas células adicionadas são suscetíveis de ter um impacto benéfico sobre a planta desde que ocorra multiplicação. Contudo, a população de microrganismos introduzidos pode diminuir e ser eliminada num tempo muito curto, muitas vezes, em dias ou semanas. A formulação de inóculos, o método de aplicação e armazenamento do produto são críticos para o sucesso de um produto biológico. A vida útil curta, a falta de materiais de suporte adequados, a sensibilidade a temperaturas elevadas e problemas no transporte e armazenamento são problemas dos biofertilizantes que ainda precisam ser resolvidos a fim de se obter uma inoculação eficaz (Chen, 2006; Herrmann e Lesueur, 2013).

1.5.7.1. Inoculação de sementes

Na inoculação de sementes utilizam-se estirpes específicas de microrganismos que podem crescer em associação com as raízes das plantas. As condições do solo têm de ser favoráveis para os inoculantes, para que estes tenham uma boa performance. Estirpes selecionadas de bactérias de *Rhizobium* fixadoras de azoto provaram ser eficazes como inoculantes de sementes para leguminosas. O tratamento das sementes pode ser feito com várias bactérias sem efeito antagonista. No caso do tratamento de sementes com *Rhizobium*, *Azotobacter* e *Azospirillum* juntamente com bactérias solubilizadoras de fósforo, devem, em primeiro lugar, revestir-se as sementes com *Rhizobium*, *Azotobacter* ou *Azospirillum*. Quando cada semente tem uma camada das bactérias acima referidas, as bactérias solubilizadoras de fósforo devem ser aplicadas numa camada externa das sementes. Este método irá aumentar as populações de cada bactéria para gerar melhores resultados (Chen, 2006).

1.5.7.2. Inoculação do solo

Na inoculação do solo são adicionados microrganismos diretamente ao solo onde eles têm que competir com outros que já lá vivem e que estão adaptados às condições locais e ultrapassam os inóculos adicionados em número. Os inoculantes de culturas mistas de microrganismos benéficos têm um potencial considerável para controlar o equilíbrio microbiológico do solo e proporcionar um ambiente mais favorável para o crescimento da planta e proteção (Chen, 2006).

1.5.8. Efeitos dos biofertilizantes

A utilização de biofertilizante é uma alternativa de baixo custo e ambientalmente sustentável para reciclar os nutrientes originalmente retirados pelas plantas, além de contribuir para melhorar as propriedades químicas, físicas e biológicas do solo (Silva, 2011). A sua ampla ação biológica é dada principalmente pela grande diversidade de microrganismos presentes, os quais são responsáveis pela produção de hormonas vegetais e antibióticos. Assim, além de fornecer nutrientes, o biofertilizante funciona como promotor de crescimento e também como indutor de resistência na planta. Portanto, pode auxiliar na proteção das plantas contra o ataque de pragas e doenças (Haber *et al.*, 2015). Sékula (2011) refere a importância do biofertilizante, como fertilizante, devido à diversidade dos nutrientes minerais quelatizados e disponibilizados pela atividade biológica, bem como na função de ativador enzimático do metabolismo vegetal. Os microrganismos do solo desempenham um papel significativo na regulação da dinâmica da decomposição da matéria orgânica e disponibilidade de nutrientes para as plantas, tais como azoto, fósforo e enxofre.

De acordo com Chen (2006) é conhecido que os inóculos microbianos constituem uma componente importante da gestão integrada de nutrientes que conduz à agricultura sustentável. Além disso, os inoculantes microbianos podem ser usados como fonte económica de aumento da produtividade das culturas; as doses de aplicação dos fertilizantes podem ser reduzidas e mais nutrientes podem ser aproveitados a partir do solo. A aplicação de fungos micorrízicos arbusculares produz sistemas radiculares melhores que ajudam no combate do apodrecimento das raízes e patógenos do solo. A maior resposta de crescimento de fungos micorrízicos é, provavelmente, em plantas em solos ácidos tropicais altamente intemperizados que possuem valores baixos em catiões

básicos e fósforo, e podem ter níveis tóxicos de alumínio. Segundo Altuhaish *et al.* (2014) os biofertilizantes podem também diminuir o pH, o que leva a aumentar a disponibilidade dos nutrientes e ajudam a melhorar o crescimento das plantas. Para Herrmann e Lesueur (2013) os biofertilizantes podem substituir parcialmente outros fertilizantes minerais, pelo que o seu desenvolvimento é uma resposta à crescente demanda por práticas agrícolas mais amigas do ambiente.

1.6. Fixação biológica de azoto

A fixação biológica de azoto é comum a um conjunto de microrganismos procariontes que possuem o complexo enzimático nitrogenase a partir do qual conseguem transformar o azoto atmosférico em azoto utilizável pelas plantas. Estes organismos são conjuntamente designados diazotrofos (Santos, 2015). A fixação biológica de azoto atmosférico consiste na redução de azoto molecular (N_2) a amoníaco (NH_3), o qual é convertido em formas orgânicas como aminoácidos (Militão, 2004).

O processo é realizado unicamente por alguns géneros de bactérias, de actinomicetes e certas algas verde-azuladas, sendo que algumas plantas superiores apesar de não possuírem esta capacidade usam-na indiretamente (Yague, 1994). Algumas bactérias fixadoras de azoto (por exemplo do género *Azotobacter*) vivem livremente no solo. Contudo, aquelas que fixam azoto de forma mais eficaz são os rizóbios que vivem em simbiose nas raízes de plantas leguminosas. Embora algumas famílias de plantas não-leguminosas tenham relações simbióticas com bactérias fixadoras de azoto, a sua simbiose é menos eficaz, do que aquelas envolvendo leguminosas e rizóbios (Whitehead, 1995). Muitos microrganismos são capazes de fixar azoto atmosférico, podendo ser agrupados em: i) organismos fixadores de azoto de vida livre que se encontram no solo; ii) organismos que vivem em estreita associação com plantas na rizosfera sem formarem simbioses endofíticas; e iii) organismos que estabelecem simbioses com plantas superiores (Rai, 2009).

1.6.1. Microrganismos de vida livre (fixação não simbiótica)

É feita por diversos microrganismos sem estarem estabelecidas associações simbióticas com plantas. É o caso das bactérias heterotróficas dos géneros *Clostridium*,

Azotobacter e *Beijerinckia*, de bactérias fotossintéticas do género *Rhodospirillum* e de algas verde-azuladas. As bactérias fotossintéticas do género *Rhodospirillum* e as algas verde-azuladas, também fotossintéticas, encontram-se em diferentes solos, sendo, no entanto, de um modo geral, mais abundantes e eficientes em solos mal drenados, razão pela qual o seu contributo para a fixação do azoto atmosférico pode atingir valores interessantes em arrozais, em especial no caso em que aquelas algas se encontrem associadas a fetos aquáticos do género *Azolla* (Santos, 2015). As bactérias fixadoras de azoto aeróbias têm um alto nível de respiração, proliferando em solos alcalinos bem arejados e providos de matéria orgânica e fósforo em quantidades apreciáveis. A sua atividade é máxima com temperaturas próximas a 30 °C. Em climas temperados podem fixar 10 a 20 kg N ha⁻¹ ano⁻¹, sendo ainda maiores as quantidades fixadas em climas quentes e terrenos áridos (Yague, 1994).

1.6.2. Endofíticos facultativos (associação simbiótica)

De acordo com Schepers e Raun (2008) estes organismos podem ser encontrados em grandes populações, tanto na rizosfera como no interior dos tecidos dos seus hospedeiros. Exemplos de tais organismos incluem *Acetobacter diazotrophicus* e *Herbaspirillum* spp. associados à cana-de-açúcar, sorgo e milho, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Herbaspirillum*, *Klebsiella*, *Pseudomonas* e *Rhizobium* associados ao arroz e ao milho (Rai, 2009). Várias espécies de *Azospirillum* podem ser diazotróficas endofíticas facultativas, incluindo, *A. lipoferum*, *A. amazonense* e *A. irakense*. Esta última espécie tem sido relatada em arroz, enquanto as outras três habitam cereais, cana-de-açúcar e palmeiras. Como acontece com muitos diazotrofos de vida livre, estes endófitos facultativos normalmente não excretam NH₄⁺ (Schepers e Raun, 2008).

O género *Azospirillum* coloniza uma grande variedade de plantas anuais e perenes, muitas das quais nunca foram reportadas como sendo colonizadas por bactérias fixadoras de azoto. Consequentemente, *Azospirillum* possui um grande potencial como colonizador de raiz, cujo uso não é limitado pela especificidade do hospedeiro e pode aumentar o crescimento de várias culturas. Estas incluem girassol, cenoura, carvalho, beterraba sacarina, tomate, berinjela, pimenta e algodão, além de trigo e arroz. Em duas décadas de experimentos de campo, o consenso geral é que em 60-70% dos casos a aplicação de *Azospirillum* resulta em um aumento significativo do rendimento da

cultura. Os aumentos de rendimento podem ser substanciais, até 30%, mas geralmente variam de 5% a 30%. Estes aumentos de rendimento por *Azospirillum* são, possivelmente, um resultado da produção de substâncias promotoras de crescimento em vez da fixação de azoto (Rai, 2009).

1.6.3. Endofíticos obrigatórios (fixação simbiótica)

Fixação simbiótica de azoto é o fenómeno que consiste na possibilidade de certas plantas, essencialmente da família das leguminosas, formarem associações simbióticas com bactérias, sobretudo do género *Rhizobium*, em que a planta fornece à bactéria, sais minerais e substrato orgânico e a bactéria fixa e cede à planta azoto atmosférico. Existem diversas estirpes de *Rhizobium*, as quais se designam de acordo a planta hospedeira, as mesmas apresentam uma certa exigência quanto à leguminosa, havendo algumas que são eficazes em certas plantas e ineficazes noutras (Santos, 2015). Existe uma verdadeira relação de simbiose entre os microrganismos e as plantas. Há elevada especificidade microrganismo/hospedeiro (fornecimento dos hidratos de carbono através do floema; grande capacidade de fixação de azoto). Estão identificados seis géneros (*Allorhizobium*, *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium*, *Sinorhizobium* e *Rhizobium*) e 30 espécies separadas. Estima-se que haverá acima de 17000 espécies de leguminosas fixadoras (algumas espécies da família Ulmaceae também se associam a rizóbios para fixar azoto). O fenómeno é também importante em árvores (*Albizia lebbek*, *Gliricidia sepium*, *Leucaena leucocephala*). Haverá 4500 árvores a beneficiar deste processo (Schepers e Raun, 2008).

As bactérias do género *Rhizobium* infetam as raízes das leguminosas e provocam a formação de nódulos onde se dá a fixação do azoto atmosférico (Yague, 1994). Cerca de 90% das plantas leguminosas apresentam capacidade de nodulação. No entanto, existe uma marcada especificidade entre as espécies de plantas leguminosas e as espécies bacterianas. De acordo com Militão (2004) a fixação simbiótica do azoto realiza-se a taxas duas a três vezes superiores às taxas de fixação registadas por bactérias de vida livre. A relação de simbiose estabelecida entre estas bactérias e as plantas leguminosas é muito importante para a manutenção da fertilidade dos solos. A quantidade de azoto fixado por uma planta leguminosa depende em parte das características genéticas inerentes a ambas as componentes da associação leguminosa-

rizóbio, e do ambiente em que é cultivada (Whitehead, 1995). Destacam-se ainda outros organismos como *Gluconacetobacter* (*Acetobacter*) *diazotrophicus* que vivem localizados em praticamente todos os tecidos de plantas ricas em açúcares (cana-de-açúcar, batata-doce, mandioca); *Herbaspirillum seropedicae* presentes nos tecidos de plantas, sobretudo gramíneas (cana-de-açúcar, milho, sorgo, arroz, forrageira) e *Anabaena azollae* que vivem em simbiose com o feto aquático do género *Azolla*, cultivado como *cover crop* na cultura do arroz (Schepers e Raun, 2008).

A relação de bactérias hospedeiras torna-se verdadeiramente simbiótica com o feto de água *Azolla* e cianobactéria *Anabaena*. Esta associação simbiótica tem sido usada, há vários séculos, para o enriquecimento de solos de cultivo do arroz, com o objetivo de aumentar o teor em compostos azotados disponíveis para assimilação por estas plantas. *Anabaena* produz células especializadas, designadas heterocistos, onde ocorre a fixação do azoto a taxas de fixação cerca de dez vezes superiores às registadas por bactérias de vida livre. O feto desenvolve-se, utilizando o azoto fixado pela cianobactéria, e por morte dos componentes da simbiose ficam disponíveis no solo compostos azotados, que vão ser assimilados pelas plantas do arroz. A ocorrência deste processo em cada estação de cultivo permite elevados níveis de produção sem necessidade da aplicação de fertilizantes azotados (Militão, 2004; Schepers e Raun, 2008).

As bactérias do género *Frankia* são bactérias filamentosas, Gram-positivas, constituídas por hifas septadas com 0,5-2,0 μm de diâmetro e que produzem numerosos esporos. Determinadas porções das hifas diferenciam-se em células especializadas na fixação de azoto que são denominadas vesículas. As bactérias invadem o hospedeiro através dos pelos radiculares, induzindo a formação de nódulos radiculares, designados *Actinorriza*. Estas bactérias também possuem capacidade de formar vesículas e fixar azoto quando vivem livremente no solo (Militão, 2004).

1.6.3. Bioquímica da fixação

O processo biológico de fixação de azoto requer um sistema enzimático complexo uma vez que a reação é altamente endergónica. Os prótons e eletrões necessários para este processo são gerados em reações metabólicas e a catálise é formada por um sistema de enzima chamado nitrogenase. A nitrogenase é um complexo enzimático que apenas

existe nos microrganismos fixadores e é responsável pela redução de N_2 a NH_3 . É constituída por duas proteínas (duas subunidades), uma tem peso molecular elevado, contendo ferro e molibdénio. A outra, de peso molecular inferior, não contém molibdénio. A subunidade mais pequena fornece os eletrões para a redução do N_2 pela subunidade maior. (Paul e Clark, 1996).

De acordo com Kannaiyan (2002) os requisitos básicos para a fixação biológica de azoto são a enzima nitrogenase, um agente redutor forte, ATP e baixa tensão de oxigênio. Para que a reação ocorra é necessário ATP e poder redutor (ferredoxina, FAD) que são obtidos pela oxidação dos hidratos de carbono. O ATP e os eletrões da cadeia transportadora (ferredoxina) induzem modificações na conformação da Fe-Mo-proteína convertendo-a num poderoso redutor capaz de transportar eletrões para a Fe-Mo-proteína a qual reduz o N_2 a NH_3 (são necessários 15 a 30 ATP por molécula de N_2 reduzida). Outros substratos, incluindo protões e acetileno (C_2H_2) competem com o N_2 para os eletrões da nitrogenase, reduzindo a eficiência energética da fixação. No rizóbio 30 a 60 % da energia fornecida pela nitrogenase é perdida nessa redução alternativa que não interessa à planta (Paul e Clark, 1996).

A elevada capacidade de fixação nos nódulos das leguminosas deve-se à disponibilidade de substratos energéticos e à proteção que a leghemoglobina confere ao bacteróide, regulando a concentração do O_2 à sua superfície. Os ácidos orgânicos formados fixam NH_3 e são translocados na forma de aminoácidos e amidas para o hospedeiro. Estes compostos são transportados para a parte aérea predominantemente via xilema. A nitrogenase é severamente inibida pelos produtos finais das reações. Concentração elevada de NH_3 , glutamina, glutamato, etc., tem efeito supressivo na fixação. Este aspeto tem implicações importantes na aplicação de azoto em leguminosas ou outros sistemas fixadores. A síntese de hemoglobina requer cobalto (relacionado com a síntese de leghemoglobina). Os hidratos de carbono são necessários à produção de ATP, poder redutor (ferredoxina, FAD) e fornecem os esqueletos carbonados para incorporação de NH_3 (Havlin *et al.*, 2014).

A nodulação é inibida: i) devido à falta de cálcio, porque a infeção e desenvolvimento inicial dos nódulos precisa mais de cálcio que o crescimento das raízes e parte aérea da planta; ii) pH baixo, a presença de H^+ reduz o comprimento dos pelos radiculares; e iii) o aumento da solubilidade do alumínio afeta a morfologia da raiz e a sobrevivência do rizóbio. O fósforo parece afetar mais a nodulação que o crescimento

das plantas. Em plantas que dependem da fixação de azoto para se desenvolverem a falta de fósforo manifesta-se primeiro pela deficiência de azoto. Esta carência desaparece fornecendo fósforo. Em solos com teores baixos de molibdénio (frequente em solos ácidos) ocorre carência de azoto. É frequente aplicar molibdénio na peletização das sementes. O cobalto é necessário à síntese da leghemoglobina e à divisão celular do rizóbio (Whitehead, 1995; Paul e Clark, 1996; Havlin *et al.*, 2014).

Com o azoto em níveis baixos a fixação aumenta, e diminui quando a disponibilidade de azoto aumenta. Algum azoto é necessário para assegurar um nível de fotossíntese adequado e bom desenvolvimento inicial dos nódulos. Quando o azoto aumenta, baixa o peso dos nódulos e baixa muito a atividade da nitrogenase. A atividade da nitrogenase é reprimida pelo NH_3 e pelos primeiros compostos sintetizados no nódulo. O fornecimento de NH_3 reprime diretamente a atividade da nitrogenase. O NO_3^- que é reduzido nos nódulos também afeta a nitrogenase. Acrescenta-se que a atividade da nitrato redutase é superior à atividade da nitrito redutase, acumulando-se NO_2^- que é tóxico e reduz a atividade da nitrogenase. Níveis altos de azoto originam competição pelos esqueletos carbonados, necessários à síntese de aminoácidos e proteínas (Whitehead, 1995; Paul e Clark, 1996; Havlin *et al.*, 2014).

1.6.4. Importância da fixação biológica

O azoto é o nutriente mais importante exigido por plantas cultivadas, e a sua escassez no solo afeta significativamente o rendimento das culturas. Por outro lado, quantidades excessivas no solo podem resultar em efeitos ambientais indesejáveis. O esgotamento do azoto em solos agrícolas ocorre principalmente por meio da remoção pelas plantas, pelo que é muitas vezes restabelecido através de adição de fertilizantes azotados ou pelo menos em parte, através de processos naturais, o mais importante dos quais a fixação biológica. Estima-se que, à escala global, a fixação biológica de azoto possa contribuir com cerca de 90 milhões de toneladas de $\text{N ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ em sistemas agrícolas dos quais a simbiose *Rhizobium*-leguminosa é estimada em cerca de 40 milhões de toneladas (Ahmad, 1996). Todo o azoto encontrado no solo provém da atmosfera, visto que não existe uma rocha-mãe azotada.

O azoto molecular (N_2), que constitui 79 % da atmosfera, é muito estável, e requer uma grande quantidade de energia para romper a sua molécula e, portanto, não pode ser

utilizado diretamente pelos organismos vivos, salvo no caso de alguns microrganismos. Para que o azoto atmosférico possa ser aproveitado pelos animais, plantas e a maioria dos microrganismos, deve passar a fazer parte de outros compostos químicos, processo este que recebe o nome genérico de fixação (atmosférica, industrial e fixação biológica) (Yague, 1994). A grande maioria do azoto orgânico na terra é derivado de fixações biológicas de azoto, e até à última década do século XX, a fixação biológica de azoto representava uma entrada anual de azoto nos ecossistemas naturais e agrícolas, maior do que os fertilizantes azotados manufaturados. Apesar de não existirem técnicas de medição totalmente satisfatórias para a quantificação da entrada líquida de azoto, estimativas de balanço indicam um aumento médio de 30 kg ha⁻¹ de N por safra por cianobactérias e 7 kg ha⁻¹ por bactérias heterotróficas. A acumulação anual de azoto pela planta proveniente da fixação biológica totaliza cerca de 20 kg ha⁻¹.

Tal como as condições promovem o crescimento da população bacteriana, a fixação de azoto aumenta na ausência de fontes inorgânicas de azoto, mas esse azoto não é libertado até que essas células morrem (Schepers e Raun, 2008). Os autores referem ainda que as estimativas de fixação de azoto pela simbiose *Azolla-Anabaena* em campos de arroz de zonas húmidas variam muito, mas a média é entre os 30 kg N ha⁻¹ ano⁻¹. Em sistemas de dupla colheita de arroz, a fixação não-simbiótica de azoto fornece desde 26 a 92 kg N ha⁻¹ ano⁻¹, enquanto *Azolla-Anabaena* fixa um adicional de 110 a 130 kg N ha⁻¹ ano⁻¹, igual à entrada pela fixação biológica de um adubo verde de uma cultura leguminosa. As bactérias heterotróficas são, em geral, menos eficientes na fixação do azoto atmosférico do que o *Rhizobium*, fixando muito menos azoto por unidade de carbono consumido (cerca de 2%, enquanto no *Rhizobium* excede 5%). Admite-se, no entanto, que o contributo global das bactérias heterotróficas não vá além de cerca de 5 kg de N ha⁻¹ ano⁻¹. As bactérias do género *Beijerinckia*, encontradas, sobretudo nas regiões tropicais, para além de existirem nos solos, existem também, sobretudo, nas folhas. Sendo assim, a maior parte do azoto que fixam provém diretamente da atmosfera (Santos, 2015). Além de infetar raízes, um grande número de bactérias fixadoras de azoto pode ser considerado para a melhoria do rendimento das culturas. Exemplos de tais bactérias incluem *Acetobacter diazotrophicus* e *Herbaspirillum* spp. associado com cana de açúcar, milho e sorgo. *Azoarcus* spp. associado com grama kallar (*Leptochloa fusca*), e *Alcaligenes*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Herbaspirillum*, *Klebsiella*, *Pseudomonas* e *Rhizobium* associadas com

arroz e milho. O género *Azospirillum* coloniza uma grande variedade de plantas anuais e perenes. Assim, *Azospirillum* possui um grande potencial como colonizador de raiz, cuja utilização não é limitada pela especificidade do hospedeiro (Rai, 2009).

II. Material e métodos

2.1. Caracterização edafoclimática

O ensaio de campo foi instalado numa folha designada de “arboreto” na Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Bragança (Latitude, 41° 47' 52.06" N; Longitude, 6° 45' 58.65" W). O ensaio em vasos foi instalado na rede de ensaios da Quinta de Santa Apolónia, também da Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Bragança.

De acordo com a classificação de Köppen-Geiger, a região de Bragança está sob influência de um clima Temperado ou Mesotérmico do tipo C, pertencendo ao subtipo Csb, clima temperado húmido com verão seco e temperado. Uma temperatura média anual superior a 10 °C e inferior ou igual a 12,5 °C e uma precipitação acumulada entre 600 a 800 mm determinam a sua inclusão na “terra fria de planalto” (Agroconsultores e Coba, 1991).

Os valores da precipitação acumulada e da temperatura média anual do ar da normal climatológica 1971 a 2000 são 757,5 mm e 12,3 °C, respetivamente (IPMA, 2014) e são apresentados na figura 1.

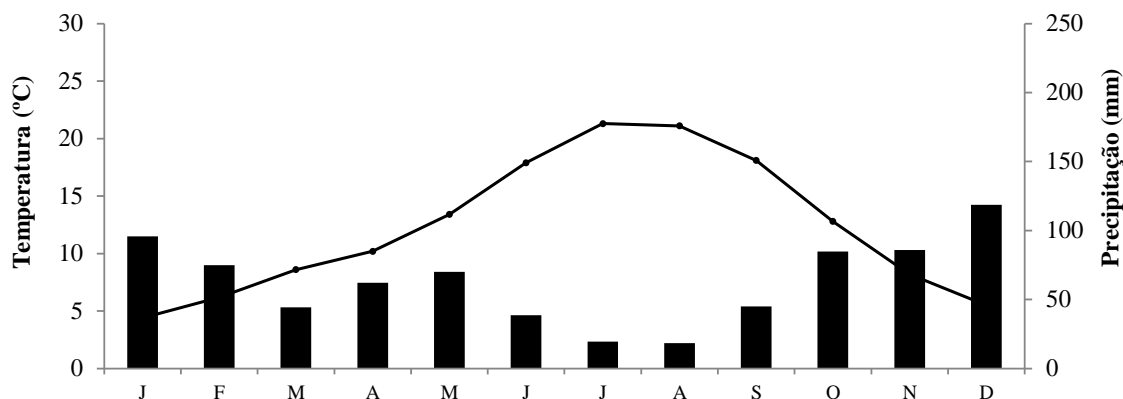


Figura 1. Valores da precipitação média mensal acumulada e temperatura média do ar mensal da normal climatológica 1971-2000.

O solo da parcela onde decorreu o ensaio de campo e de onde se retiraram amostras para os ensaios em vasos classifica-se como fluvissoilo êutrico de aluvião. A

sua textura é franca e os teores de argila, limo e areia são respectivamente 23,9%, 21,8% e 54,4%. Os resultados das análises físico-químicas são apresentados no quadro 3.

Quadro 3. Propriedades de solo selecionadas, determinadas a partir de amostras de solo (0-20 cm) coletadas pouco antes do início dos experimentos.

Propriedades do solo		Propriedades do solo	
Argila (%)	23,9	^c P extraível (mg P ₂ O ₅ kg ⁻¹)	30,0
Limo (%)	21,8	^c K extraível (mg K ₂ O kg ⁻¹)	61,9
Areia (%)	54,4	^d B extraível (mg kg ⁻¹)	0,9
pH (H ₂ O)	6,3	^e K trocável (cmol _c kg ⁻¹)	0,26
pH (KCl)	5,3	^e Na trocável (cmol _c kg ⁻¹)	0,38
^a C oxidável (g kg ⁻¹)	5,6	^e Ca trocável (cmol _c kg ⁻¹)	10,69
^b C orgânico total (g kg ⁻¹)	28,3	^e Mg trocável (cmol _c kg ⁻¹)	3,62
		^e Acidez trocável (cmol _c kg ⁻¹)	0,13

^aWalkley-Black; ^bIncineração; ^cEgner-Rhiem; ^dAzometina-H; ^eAmônio acetato, pH 7.

2.2. Instalação dos ensaios

Os ensaios consistiram na avaliação do efeito dos tratamentos fertilizantes em duas culturas sucessivas de alface durante o período Primavera/Verão de 2015, seguidas do cultivo de couve-tronchuda e nabiça no início do Outono. Para instalar as culturas de Outono, os talhões foram divididos a meio ocupando a couve e a nabiça metade da área anteriormente ocupada pela alface. Na experiência em vasos, cada tratamento fertilizante era composto de 10 repetições (10 vasos). Também neste caso, couve e nabiça foram cultivadas em apenas cinco vasos, ficando estas experiências com apenas cinco repetições.

2.3. Delineamento experimental

As experiências de campo e em vasos foram organizadas de forma completamente causalizada com seis tratamentos fertilizantes: dois corretivos orgânicos comerciais enriquecidos com microrganismos fixadores de azoto (Biof1 e Biof2); um corretivo orgânico comercial não enriquecido (Organ); um fertilizante mineral aplicado em dose simples (Min1) e em dose dupla (Min2); e testemunha (Test). No caso da experiência de

campo estabeleceram-se quatro repetições por tratamento e na experiência em vasos 10 repetições (10 vasos) por tratamento. As doses de fertilizante aplicadas foram definidas de forma a ser introduzido as mesmas quantidades de azoto, tendo, por isso, variado em função da concentração deste nutriente. Os teores de N de cada produto são de 2,29% para o produto Biof1, 2,16% para o produto Biof2, 2,31% para o Organ e 15% para o adubo mineral 15-15-15. Para aplicação de 0,3 gramas de N vaso⁻¹ e 40 kg de N ha⁻¹. Os tratamentos fertilizantes e as doses aplicadas de cada um encontram-se no quadro 4, tendo em conta o seu teor de humidade. O teor em microrganismos de ambos os produtos enriquecidos era de 8,1x10⁹ mg/g de produto.

Quadro 4. Tratamentos fertilizantes e doses aplicadas.

Tratamento Fertilizante	Dose aplicada	
	Vasos (g vaso ⁻¹)	Campo (kg ha ⁻¹)
Biof1	22,70	2500
Biof2	19,80	2178
Organ	15,54	1711
Mineral 1x	2,42	267
Mineral 2x	4,84	534
Testemunha	0,00	0

Na experiência de campo a unidade experimental ocupava uma área de 9 m² (3,6 m x 2,5 m) organizada em cinco linhas de alfaces (0,5 m na entrelinha). No caso da couve e da nabiça, o talhão foi partilhado pelas duas espécies tendo sido organizado com três linhas de couve e oito de nabiça. Na experiência de campo a amostra era composta com quatro plantas aleatórias colhidas dentro do talhão e ignorando as plantas da bordadura para alface. No caso da couve usaram-se apenas duas plantas por amostra e no caso da nabiça amostrou-se uma área de 1,25 m².

Na experiência em vasos, cultivou-se uma alface por vaso, sendo a amostra constituída por uma alface. No caso da couve e da nabiça a experiência teve apenas 5 repetições (5 vasos) com uma couve por vaso e cinco plantas de nabiça por vaso.

2.4. Preparação do campo

A parcela onde foi instalado o ensaio não havia recebido durante o pousio nenhum tratamento.

Na preparação do terreno para a instalação da primeira cultura de alface utilizou-se um motocultivador com o objetivo primário de eliminar a vegetação espontânea. Posteriormente procedeu-se a uma lavoura ligeira para destorroar o solo numa profundidade de aproximadamente 30 cm. No dia 22 de Abril de 2015 aplicaram-se os adubos no campo de acordo com o delineamento previsto, designadamente Biof1, Biof2, Organ, Min1 e Min2. Os fertilizantes foram incorporados no solo com a ajuda de um escarificador acoplado ao motocultivador. Com a ajuda do motocultivador fizeram-se também os regos assinalando as linhas de plantação.

Na segunda data de instalação da alface utilizou-se o escarificador para eliminar as ervas que estavam ainda no terreno e para incorporar os adubos ao solo. A aplicação dos adubos foi feita a 24 de junho de 2015.

Na terceira data, para instalar a couve e a nabiça efetuaram-se os mesmos procedimentos anteriores seguidos da aplicação dos adubos em 25 de agosto de 2015, sendo que para o caso da couve utilizou-se uma enxada para fazer uma prévia abertura de covachos para o transplante. No caso da nabiça assinalou-se as linhas onde as sementes seriam lançadas.

2.5. Preparação dos vasos

A preparação dos vasos para a primeira instalação da alface foi efetuada através da remoção do solo para um balde afim de poder revolvê-lo e esmiuçar completamente, tornando-o o mais homogêneo possível para uma boa instalação da cultura. De seguida dentro do balde procedeu-se a aplicação dos adubos (Biof1, Biof2, Organ, Min1 e Min2), misturou-se com o solo e consoante o delineamento voltou a meter-se nos vasos já etiquetados. Este procedimento realizou-se no dia 22 de abril de 2015. Para evitar problemas de salinidade, o fertilizante do tratamento Min2 foi dividido em duas aplicações. A segunda aplicação do adubo foi feita em 20 de maio, com a abertura de pequenos orifícios no solo para permitir que os grânulos penetrassem, seguido de uma rega com o fim de ajudar na dissolução.

Na segunda e terceira datas (alfaces e couves e nabiças) efetuaram-se os mesmos procedimentos. Na segunda data a aplicação dos adubos foi no dia 23 de Junho de 2015 e na terceira foi a 26 de Agosto. A aplicação da segunda dose do adubo mineral foi em 13 de Julho e 24 de Agosto para a alface e couve e nabiça, respetivamente.

Na experiência em vasos foi ainda semeada cevada para servir de indicador ao efeito residual dos fertilizantes aplicados nas culturas anteriores. Nesta experiência, a cevada foi semeada a 9 de Março de 2016. A preparação dos vasos consistiu nos mesmos procedimentos anteriormente referidos, com o fato de neste caso não se ter aplicado qualquer adubo.

2.6. Preparação das plantas e plantação

As plântulas de alface para a primeira instalação foram compradas numa feira de produtos agrícolas, de onde vinham acondicionadas em cusetes. A plantação foi feita com o auxílio de uma pequena pá (no campo) e uma espátula de metal com cabo de madeira (nos vasos) que ajudava na abertura de pequenos covachos. Posteriormente enterrou-se a parte radicular coberta com o substrato. A plantação foi feita a 23 e 24 de Abril de 2015, respetivamente nos vasos e no campo.

As plântulas de alface para a segunda plantação foram preparadas numa estufa da Escola Superior Agrária de Bragança. No dia 2 de Junho foram semeadas alfaces em cusetes com substrato comercial, cobertas em seguida com vermiculite e regadas. O transplante foi feito nos dias 24 e dia 25 de junho de 2015, respetivamente nos vasos e no campo, seguindo os mesmos procedimentos referidos para a data anterior.

As mudas de couve para a terceira plantação foram adquiridas numa feira. No campo foram plantadas com a ajuda de uma pequena enxada e nos vasos com uma espátula. Ambas as plantações ocorreram no dia 26 de Agosto. As nabiças foram semeadas no campo abrindo pequenos regos com um sacho de jardinagem e tapando de seguida. Nos vasos usou-se um pedaço de madeira afiada para ajudar a enterrar as sementes.

2.7. Manutenção do ensaio

2.7.1. Rega

Após a plantação e sementeira fez-se uma rega. No caso dos vasos recorreu-se ao auxílio de um copo de plástico de 33 cl, aplicando duas vezes em cada vaso. No campo a primeira rega foi feita através de uma mangueira a qual se acoplava um aspersor com o objetivo de humedecer o solo.

Nos dias seguintes, a rega dos vasos foi feita com um intervalo de um dia (pelo fato dos mesmos ficarem secos muito rapidamente) aplicando uma quantidade em função do estado hídrico aparente do solo e da planta no momento da rega. Na alface instalada no verão a frequência foi diária em função das altas temperaturas e o rápido esgotamento da água do solo nos vasos. Já nas culturas instaladas no final do verão a frequência foi definida pela humidade do solo que muitas vezes era mantida pelas chuvas.

No campo a rega foi assegurada com a instalação de um sistema de rega gota-a-gota, definidos como dias de rega segunda, quarta e sexta num período de duas horas. O funcionamento do sistema de rega era verificado todos os dias em que era utilizado. Dez minutos após a abertura da torneira, visualizavam-se individualmente os gotejadores e verificava-se se estes se encontravam a fornecer convenientemente água ao solo.

2.7.2. Combate a infestantes

O controlo de infestantes foi feito de forma mecânica e manual no início e meio do ciclo, no campo através de sachas utilizando um sacho pequeno, nos vasos procedendo-se a mondas com o objetivo de evitar a competição das ervas com as plantas cultivadas.

2.7.3. Aplicação de adubos

Nos ensaios em vasos foi ainda aplicado um plano de fertilização basal para que todos os vasos recebessem as mesmas quantidades de fósforo e potássio, uma vez que nos delineamentos experimentais as quantidades de fertilizantes foram definidas tendo em conta a sua concentração em azoto. Assim, tendo por base os fertilizantes mais

concentrados em fósforo e potássio, nos restantes suplementou-se a diferença aplicando superfosfato 18% (P_2O_5) e cloreto de potássio 60% (K_2O). Nos vasos foi ainda aplicada uma solução de micronutrientes para evitar carências potenciais de micronutrientes, dado o reduzido volume de solo que as raízes podem explorar. No campo consideraram-se desnecessários estes ajustes dado o maior volume de solo que as raízes podem explorar.

2.8. Determinações de campo

As plantas foram colhidas para avaliação da produção de biomassa no fim dos ciclos culturais. A alface dos vasos foi colhida nos dias 16 de Junho e 4 de Agosto primeira e segunda datas respetivamente, no campo a 23 de Junho e 21 de Agosto (primeira e segunda datas); a couve foi colhida nos dias 26 de Outubro e 16 de Novembro nos vasos e no campo respetivamente; a colheita da nabiça foi feita nos dias 12 de Outubro (vasos) e 30 de Outubro (campo) no ano de 2015; a cevada foi colhida no dia 18 de Maio de 2016. A colheita foi feita com o auxílio de um canivete (no caso da alface, couve e nabiça) e de uma tesoura (no caso da cevada) a partir da base do caule da planta.

No campo as plantas foram colhidas e lavadas com água para retirar a presença de terra. Após a avaliação do peso fresco da totalidade da amostra, foram retiradas subamostras que também foram pesadas em fresco. Estas subamostras foram colocadas em estufa regulada a 70 °C até estabilização do peso seco. Foram depois pesadas em seco para se poder estimar a percentagem de matéria seca e calcular a biomassa seca da amostra total inicial. As subamostras secas foram ainda moídas e usadas para análise laboratorial. Nas experiências em vasos as plantas foram pesadas em fresco, secas em estufa, pesadas em seco, moídas e usadas para análise laboratorial.

2.8.1. Membranas de troca

Membranas de troca aniónica foram usadas para monitorizar o teor de nitratos no solo, como método de avaliação da libertação de azoto pelos fertilizantes orgânicos. Foram utilizadas membranas de troca aniónica que extraem os aniões da marca BDH comercializadas em placas de 12x12 cm. As placas foram cortadas em tiras de 2x4 cm.

Primeiramente foram saturadas pelo anião HCO_3^- e colocadas em contacto com o solo. A membrana foi depois colocada numa solução diluída de ácido clorídrico para permitir que o ião NO_3^- fosse eluído e posteriormente determinado através da leitura em espectrofotómetro.

As membranas de troca foram colocadas nos vasos com o solo previamente humedecido para facilitar o manuseamento dos materiais utilizados e a inserção das membranas no solo. Para ajudar no processo foram utilizadas uma pinça de metal e uma pequena espátula de plástico. As membranas foram utilizadas em três datas diferentes, tendo as mesmas ficado nos vasos durante 6 dias. Os períodos de inserção e remoção das membranas foram: 16-21 de Julho de 2015; 01- 06 de Outubro de 2015; e 03-08 de Fevereiro de 2016.

2.9. Determinações laboratoriais

2.9.1. Análise de solos

Determinação da concentração de iões NH_4^+ - Amostras de solos foram colhidas em todos os vasos no final das experiências. Foram posteriormente postas a secar e crivadas em uma malha de 2 mm. Nessa fração foi feita a extração de ião amónio com KCl a quente e a frio, como método de avaliação do potencial de mineralização da matéria orgânica (Rodrigues, 2000). Foram pesadas 10 g de solo para um frasco Erlenmeyer e adicionados 50 ml de KCl 2M. Os recipientes com solo e KCl foram colocados numa estufa a 100 °C durante 4 horas. Passado este período, tiraram-se os frascos, deixaram-se arrefecer as amostras e filtraram-se. Fez-se o mesmo procedimento em paralelo, sem introduzir as amostras na estufa e procedeu-se à determinação da concentração de iões NH_4^+ nos extratos quente e frio. Na determinação da concentração em iões NH_4^+ foi usado o método do fenato (Clesceri *et al.*, 1998). O método tem como princípio a formação de um composto de cor azul, indofenol, pela reação da amónia, hipoclorito e fenol, catalisado pelo nitroprussido de sódio. Colocaram-se 10 ml do extracto de KCl em frascos aos quais se adicionou sucessivamente (mexendo entre cada adição) 0,4 ml de fenol, 0,4 ml de nitroprussido de sódio, e 1 ml de uma solução oxidante (solução alcalina de citrato de sódio e hipoclorito de sódio). Deixou-se desenvolver a cor à temperatura ambiente durante uma hora e foi feita a determinação da concentração dos iões NH_4^+ em espectrofotómetro, medindo a absorvância a 640 nm.

O potencial de NH_4^+ libertado por mineralização, ou a quantidade de azoto amoniacal hidrolisável, encontrou-se pela diferença entre NH_4^+ extraído a quente e a frio (Rodrigues, 2000).

Determinação de iões NO_3^- - A quantidade de iões NO_3^- eluídos a partir das membranas de troca aniónica foi determinada através da leitura direta em espectrofotómetro na gama ultravioleta (220 nm) (Clesceri *et al.*, 1998).

2.9.2. Análise de tecidos vegetais

A biomassa proveniente das culturas de alface, couve, nabiça e cevada em campo e nos vasos foi analisada para a composição elementar através das plantas inteiras. A biomassa foi previamente seca a 70 °C em estufa de ventilação forçada (Memmert). A matéria seca foi depois moída num moinho Cyclotec com um crivo de 1 mm de malha.

Determinação da concentração em azoto - Para a determinação da concentração em azoto foi pesado 1 grama de matéria seca num frasco de digestão para equipamentos Kjeldahl, e colocado em um suporte de alumínio com capacidade para 20 frascos. Em seguida foram adicionados 15 ml de ácido sulfúrico e duas pastilhas de um catalisador e posicionados num bloco de digestão em alumínio à temperatura de 400 °C durante 40 minutos. Terminado o período de digestão, e após um período de espera para o arrefecimento, colocou-se o tubo de digestão num equipamento automático *Kjeltec TM 8400 Analyser unit FOSS*, no mesmo foi adicionada uma quantidade de hidróxido de sódio acompanhado de vapor de água. A amónia formada é arrastada na corrente de vapor e titulada com ácido clorídrico num vaso com uma solução recetora de ácido bórico e indicadores (verde de bromocresol e vermelho de metilo) (Bremner, 1996).

Determinação da concentração em fósforo, potássio, cálcio, magnésio, cobre, ferro, zinco e manganês - Uma toma de 0,25 g de matéria seca foi digerida num digestor por micro-ondas MARS na presença de ácido nítrico. A solução obtida foi de seguida diluída até 50 ml. A partir desta solução procedeu-se à determinação de fósforo pelo método que consiste no desenvolvimento de uma cor azul de molibdénio e que usa o ácido ascórbico como agente redutor, cuja intensidade é avaliada (um complexo fosfomolibdato de amónio num espectrofotómetro a 880 nm. Os catiões Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , Fe^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} foram determinados no extrato, por espectrofotometria de absorção atómica (Walinga *et al.*, 1997) num equipamento PYE Unicam PU 9100X.

Determinação da concentração em boro - O boro foi determinado após incineração de 1 g da amostra com óxido de cálcio e após a diluição das cinzas com ácido sulfúrico diluído. Numa alíquota da solução procedeu-se ao desenvolvimento de cor pelo método da azometina H cuja intensidade foi avaliada num espectrofotómetro a 420 nm (Jones, 2001).

2.10. Eficiência de uso do azoto

Como indicador de eficiência de uso do azoto foi calculado o azoto aparentemente recuperado. O processo de cálculo consistiu em subtrair ao azoto contido na biomassa aérea das plantas das modalidades fertilizadas, o azoto contido na biomassa aérea das plantas da modalidade testemunha. Este valor foi dividido pela quantidade de azoto aplicado como fertilizante e multiplicado por 100 para obter um valor em percentagem. O método parte do princípio que o azoto contido na biomassa aérea das plantas da modalidade testemunha (não fertilizada) corresponde ao azoto fornecido naturalmente pelo solo. Assim, esta fração é retirada nas modalidades fertilizadas, sendo o restante azoto contido na biomassa aérea atribuído à aplicação dos fertilizantes.

2.11. Análise estatística de dados

A análise dos resultados foi efetuada no programa estatístico JMP. Na análise estatística dos resultados procedeu-se à análise de variância. As médias com diferenças significativas foram separadas com o teste Tukey HSD ($\alpha = 0,05$).

III. Resultados

3.1. Ensaio de campo

3.1.1. Produção

A figura 2 integra os resultados de matéria seca produzida cumulativamente em dois anos do ensaio de campo, embora esta tese incida apenas no segundo ano de ensaio. Desta forma, é possível obter uma visão integrada dos resultados e o efeito cumulativo dos fertilizantes. Pode observar-se que a menor produção de matéria seca total foi registada no talhão sem aplicação de adubo. Quando comparados os resultados da aplicação dos tratamentos fertilizantes, observam-se valores mais elevados no talhão com aplicação em dose dupla do adubo mineral azotado (Min2), com diferenças significativas para todos os outros tratamentos. Entre os tratamentos fertilizantes orgânicos e minerais com dose equivalente de nutrientes, Organ foi o que registou resultados médios mais baixos, embora sem diferenças significativas para os restantes fertilizantes orgânicos, Biof1 e Biof2.

Os valores da matéria seca produzida em 2014 (soma da sequência de culturas Alface1, Alface2 e Nabiça) apresentados na mesma figura, mostram o melhor desempenho da aplicação dos tratamentos Min2 (3923 kg ha⁻¹) e Min1 (3392 kg ha⁻¹), nesta fase ainda sem diferenças significativas entre si, mas já com diferenças significativas relativamente aos talhões dos tratamentos Biof1, Biof2, Organ e Testemunha. Os valores mais baixos de matéria seca, e com diferenças significativas para os restantes, foram observados na testemunha sem aplicação de fertilizante (1754 kg ha⁻¹).

Em 2015, na cultura Alface1 registaram-se valores médios mais elevados na produção de matéria seca no talhão com o tratamento Min2 (1925 kg ha⁻¹), mas sem diferenças significativas comparativamente aos talhões com todos os outros tratamentos, sendo que o talhão sem aplicação de fertilizante foi o que apresentou valores médios mais baixos (888 kg ha⁻¹). Na cultura Alface2, a produção de matéria seca apresentou valores médios mais altos com a aplicação do adubo Min2 (1355 kg ha⁻¹), porém sem diferenças significativas comparativamente aos outros tratamentos fertilizados. Quanto ao talhão testemunha, este apresentou valores significativamente mais baixos que os talhões fertilizados (518 kg ha⁻¹).

Na cultura da Nabiça observa-se um comportamento similar à cultura anterior (Alface2), onde os valores mais elevados de matéria seca foram obtidos no talhão Min2 (1848 kg ha⁻¹) sem diferenças significativas para os restantes tratamentos onde houve a aplicação de fertilizante. O valor médio mais baixo de matéria seca registou-se novamente no talhão sem a aplicação de fertilizante (98 kg ha⁻¹) e com diferenças significativas em relação a todos os outros tratamentos.

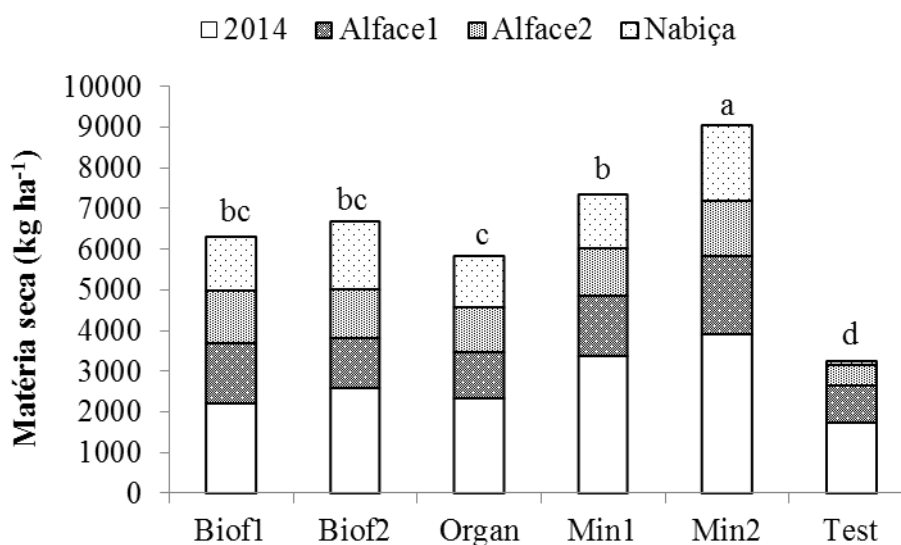


Figura 2. Matéria seca produzida no ensaio de campo de forma acumulada na sequência de culturas de Alface, Alface, Nabiça (2014) e Alface, Alface, Nabiça (2015). As letras sobre as colunas são o resultado da análise de variância para a produção de matéria seca acumulada nas seis culturas avaliadas nos dois anos de ensaio. Médias a que correspondam letras iguais não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey HSD ($\alpha = 0,05$).

A produção de matéria seca obtida no ensaio em campo da cultura de Couve apresentada na figura 3 apresenta valores médios mais elevados no talhão Min1 (990 kg ha⁻¹), embora sem diferenças significativas relativamente a Min2 (697 kg ha⁻¹) e Biof2 (592 kg ha⁻¹). No talhão testemunha registaram-se os valores médios mais baixos (97 kg ha⁻¹), mas sem diferenças significativas para os tratamentos Biof1 e Organ.

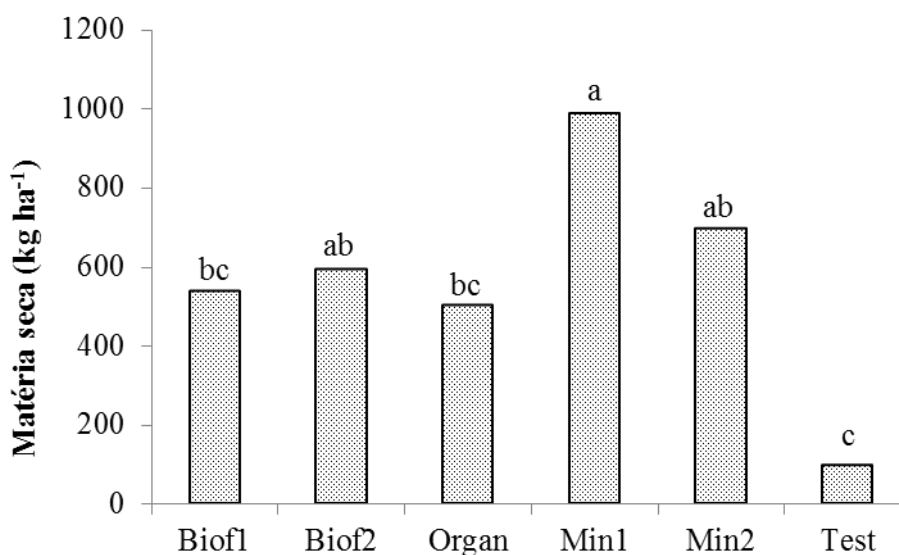


Figura 3. Matéria seca produzida no ensaio de campo de 2015 na cultura da Couve. As letras sobre as colunas são o resultado da análise de variância. Médias a que correspondam letras iguais não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey HSD ($\alpha = 0,05$).

3.1.2. Concentração de nutrientes nos tecidos vegetais

A figura 4 mostra os resultados da concentração de azoto nos tecidos na sequência de culturas de Alface1, Alface2 e Nabiça do ensaio de campo. Pode observar-se que em Alface1 os valores mais elevados são os da aplicação do tratamento Min2, sem diferenças significativas entre os diferentes tratamentos. Quanto à Alface2, observam-se resultados de concentração de azoto elevados no talhão sem aplicação de fertilizante, embora sem diferenças significativas para a maioria dos restantes tratamentos. Na cultura da Nabiça os valores médios mais altos da concentração de azoto são obtidos no tratamento Min1, embora as diferenças só sejam significativas relativamente à modalidade testemunha.

A figura 5 mostra os resultados da concentração de azoto na cultura da Couve no ensaio de campo. Verifica-se que os valores mais elevados foram obtidos no talhão com o tratamento Min2 ainda que sem diferenças significativas relativamente aos tratamentos Min1, Organ e Biof1. Os valores médios mais baixos foram observados na testemunha e com diferenças significativas para o tratamento Min2.

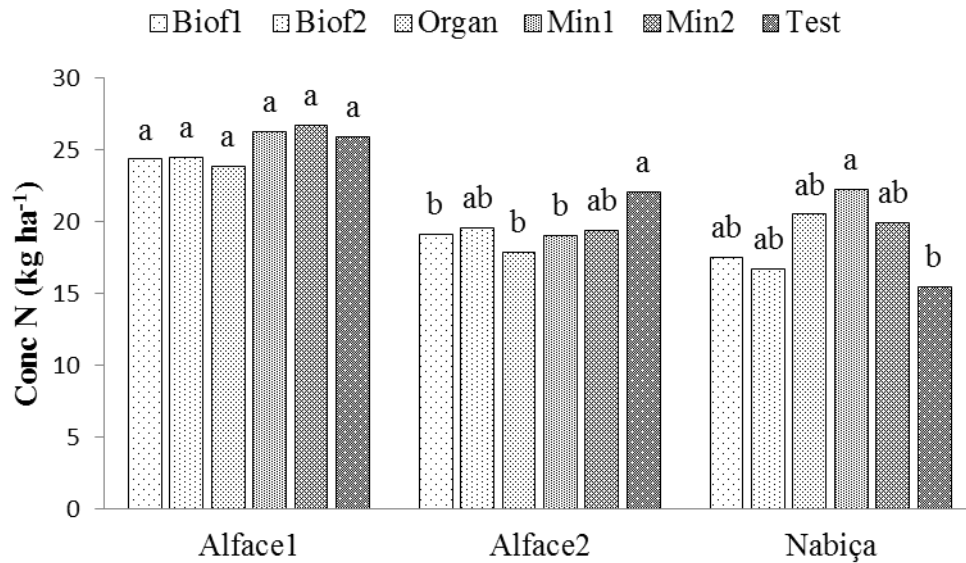


Figura 4. Concentração de azoto nos tecidos na sequência de culturas Alfaced1, Alfaced2 e Nabiça cultivadas em 2015 no ensaio de campo. As letras sobre as colunas são o resultado da análise de variância. Médias a que correspondam letras iguais dentro da mesma cultura não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey HSD ($\alpha = 0,05$).

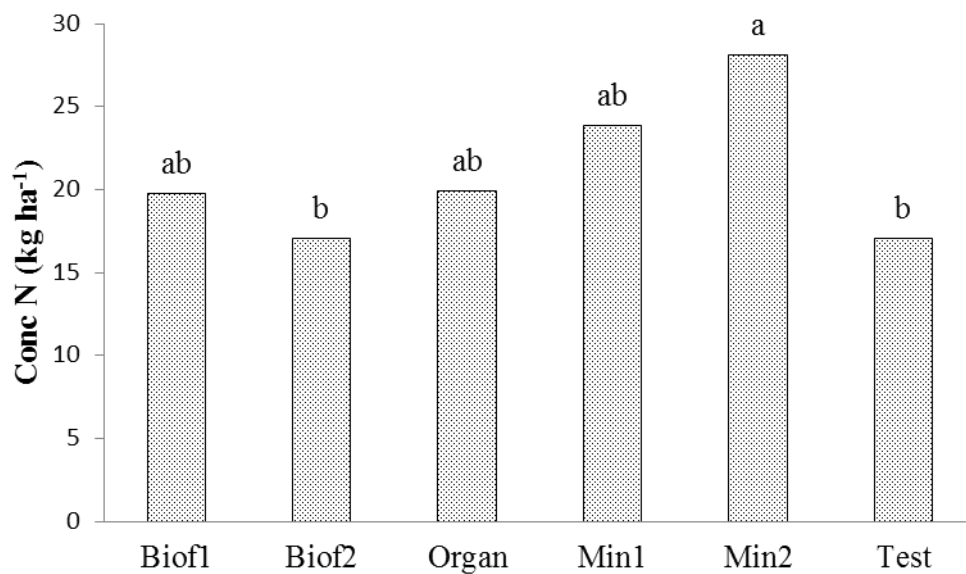


Figura 5. Concentração de azoto nos tecidos na cultura da Couve no ensaio de campo de 2015. As letras sobre as colunas são o resultado da análise de variância. Médias a que correspondam letras iguais não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey HSD ($\alpha = 0,05$).

A concentração de fósforo nos tecidos na sequência das culturas do ensaio de campo é apresentada na figura 6. Pode observar-se um comportamento similar nas culturas Alface1 e Alface2 em que não existem diferenças significativas entre todos os tratamentos. Contudo, em Alface1 o Biof2 apresenta os valores médios mais elevados (4,6 kg ha⁻¹) e Organ (3,6 kg ha⁻¹) os valores médios mais baixos. Na cultura Alface2 os valores médios mais elevados foram obtidos com o tratamento Min1 (4,2 kg ha⁻¹). Comportamento diferente é observado na cultura da Nabiça em que os valores mais elevados foram obtidos no talhão sem aplicação de fertilizante (Test), embora sem diferenças significativas relativamente aos talhões Min2, Min1 e Organ. Os valores médios mais baixos observam-se nos talhões com os fertilizantes orgânicos e sem diferenças entre eles.

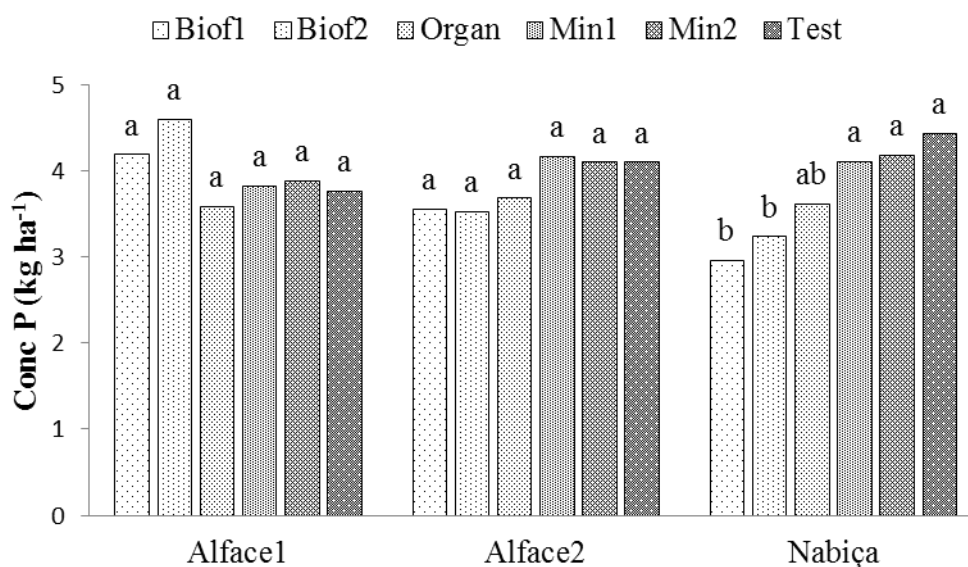


Figura 6. Concentração de fósforo nos tecidos na sequência de culturas Alface1, Alface2 e Nabiça cultivadas em 2015 no ensaio de campo. As letras sobre as colunas são o resultado da análise de variância. Médias a que correspondam letras iguais dentro da mesma cultura não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey HSD ($\alpha = 0,05$).

A concentração de fósforo nos tecidos na cultura da Couve para o ensaio em campo é apresentada na figura 7. Os valores mais elevados foram registados para a aplicação do tratamento Min1 (3,8 kg ha⁻¹), embora sem diferenças significativas para os tratamentos Min2, Organ, Biof2 e Test. Os valores médios mais baixos são

observados para o tratamento Biof1 ($2,7 \text{ kg ha}^{-1}$), embora sem diferenças significativas relativamente aos tratamentos Biof2, Organ e Test.

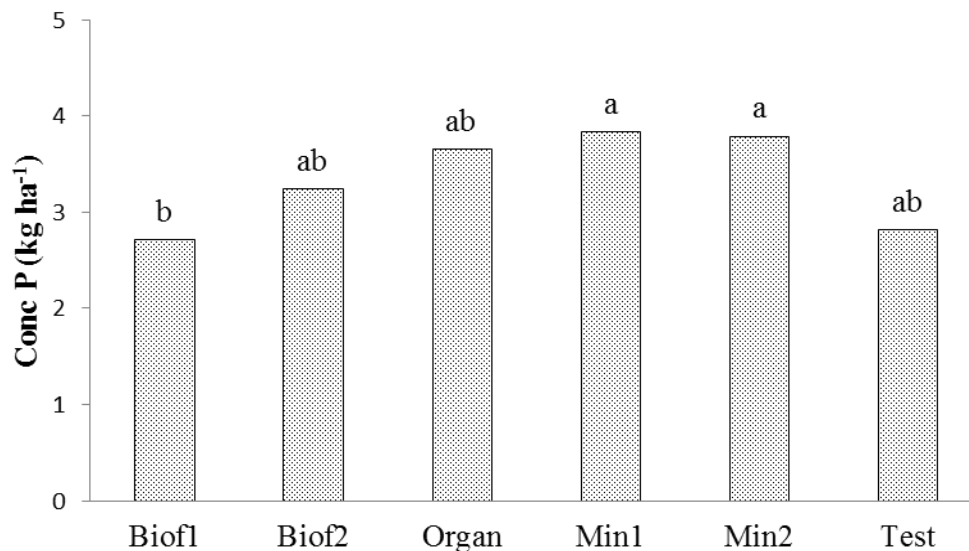


Figura 7. Concentração de fósforo nos tecidos na cultura da Couve no ensaio de campo de 2015. As letras sobre as colunas são o resultado da análise de variância. Médias a que correspondam letras iguais não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey HSD ($\alpha = 0,05$).

Na figura 8 é apresentada a concentração de potássio nos tecidos no ensaio de campo da sequência das culturas Alface1, Alface2 e Nabiça. Pode observar-se que não há diferenças significativas entre os tratamentos fertilizantes nas culturas Alface1 e Alface2. Quanto à cultura da Nabiça observam-se valores mais elevados na aplicação do tratamento Min2 ($26,4 \text{ kg ha}^{-1}$) ainda que sem diferenças significativas para os restantes tratamentos com fertilizantes. O tratamento sem aplicação de fertilizante registou os valores médios mais baixos ($20,6 \text{ kg ha}^{-1}$), ainda que sem diferenças significativas para os tratamentos Organ, Biof2, Biof1 e Min1.

Os valores da concentração de potássio nos tecidos no ensaio de campo da cultura da Couve mostram não haver diferenças significativas entre os diferentes tratamentos fertilizantes (Figura 9). O talhão testemunha registou valores significativamente mais baixos do que os obtidos nos tratamentos fertilizados.

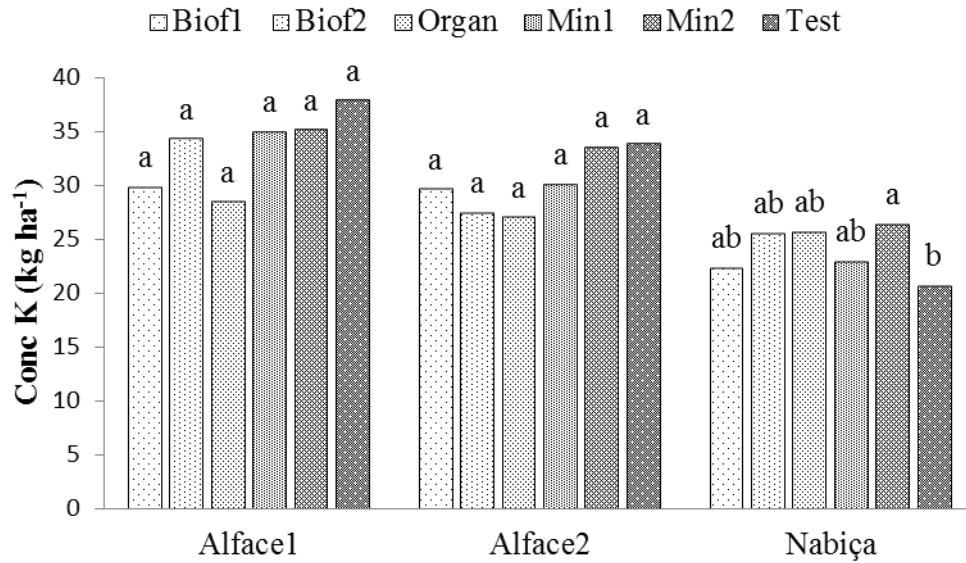


Figura 8. Concentração de potássio nos tecidos na sequência de culturas Alfaca1, Alfaca2 e Nabiça cultivadas em 2015 no ensaio de campo. As letras sobre as colunas são o resultado da análise de variância. Médias a que correspondam letras iguais dentro da mesma cultura não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey HSD ($\alpha = 0,05$).

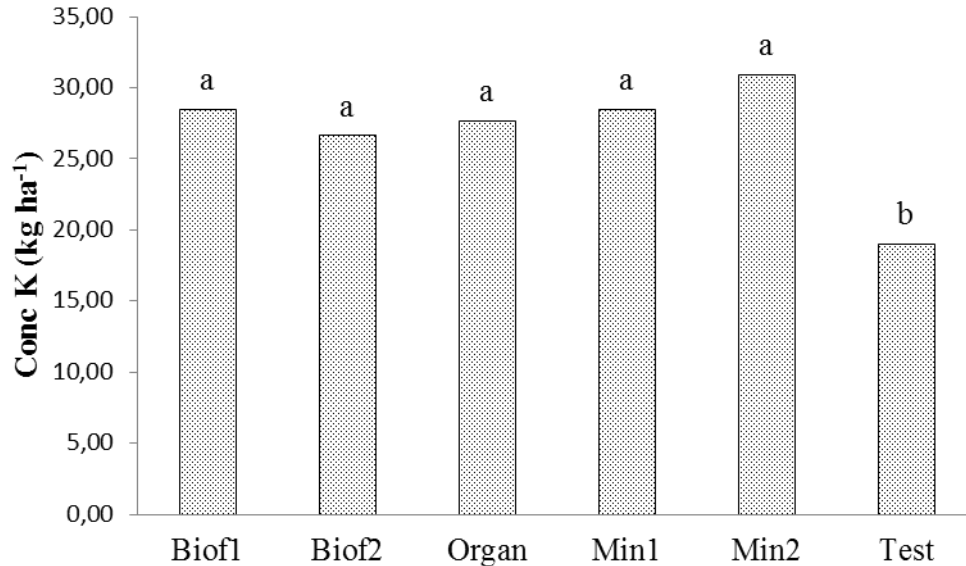


Figura 9. Concentração de potássio nos tecidos na cultura da Couve no ensaio de campo de 2015. As letras sobre as colunas são o resultado da análise de variância. Médias a que correspondam letras iguais não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey HSD ($\alpha = 0,05$).

3.1.3. Nutrientes exportados

O azoto exportado cumulativamente nos dois anos é apresentado na figura 10. Podem observar-se valores significativamente mais elevados no talhão Min2 comparativamente com todos os outros tratamentos. Em relação aos tratamentos com a aplicação de fertilizantes os valores médios mais baixos foram obtidos no talhão com aplicação de Organ ainda que sem diferenças significativas comparativamente aos tratamentos Biof1 e Biof2. O menor valor de exportação de azoto foi registado no talhão testemunha, sem aplicação de fertilizante.

Em 2014 o azoto exportado registou valores significativamente mais elevados no talhão Min2 (103,4 kg ha⁻¹) comparativamente aos talhões com os restantes tratamentos. Os valores mais baixos foram registados no talhão testemunha, embora sem diferenças significativas para os obtidos nos tratamentos Biof1, Biof2 e Organ.

A cultura Alface1 registou valores médios mais elevados de azoto exportado no talhão Min2 (51,9 kg ha⁻¹), enquanto que os valores médios mais baixos foram registados no talhão sem aplicação de fertilizantes (23,1 kg ha⁻¹), ainda que sem diferenças significativas entre todos os tratamentos.

Na cultura de Alface2 a aplicação do tratamento Min2 registou valores mais elevados de azoto exportado (26,3 kg ha⁻¹), sem diferenças significativas comparativamente aos demais tratamentos fertilizantes. Valores significativamente mais baixos em comparação com todos os restantes tratamentos foram registados no talhão testemunha (11,4 kg ha⁻¹).

Na cultura da Nabiça observam-se valores de azoto exportado mais elevados no talhão com o tratamento Min2 (36,5 kg ha⁻¹), tal como tinha sido visto para a cultura anterior, e também sem diferenças significativas comparativamente aos talhões com os demais tratamentos fertilizantes. O talhão sem a aplicação de fertilizante apresenta, uma vez mais, os valores médios mais baixos (1,5 kg ha⁻¹) com diferenças significativas em relação a todos os outros tratamentos.

Os resultados de azoto exportado no ensaio de campo da cultura de Couve apresentados na figura 11 mostram valores mais elevados nos talhões com a aplicação do tratamento Min1 (23,4 kg ha⁻¹) sem diferenças significativas relativamente a Min2 (20,1 kg ha⁻¹), mas com diferenças significativas em relação aos demais tratamentos fertilizantes. O talhão sem aplicação de fertilizante (Test) apresenta os valores médios

mais baixos ($1,7 \text{ kg ha}^{-1}$) mas sem diferenças significativas comparativamente aos tratamentos Biof1, Biof2 e Organ.

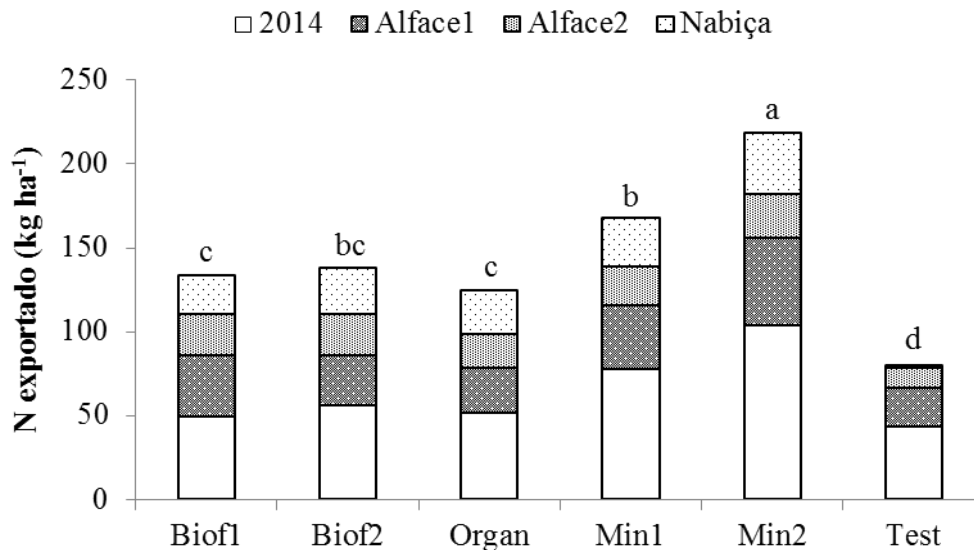


Figura 10. Azoto total exportado no ensaio de campo na sequência de culturas de Alface, Alface, Nabiça (2014) e Alface, Alface, Nabiça (2015). As letras sobre as colunas são o resultado da análise de variância para o azoto total exportado nas seis culturas avaliadas nos dois anos de ensaio. Médias a que correspondam letras iguais não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey HSD ($\alpha = 0,05$).

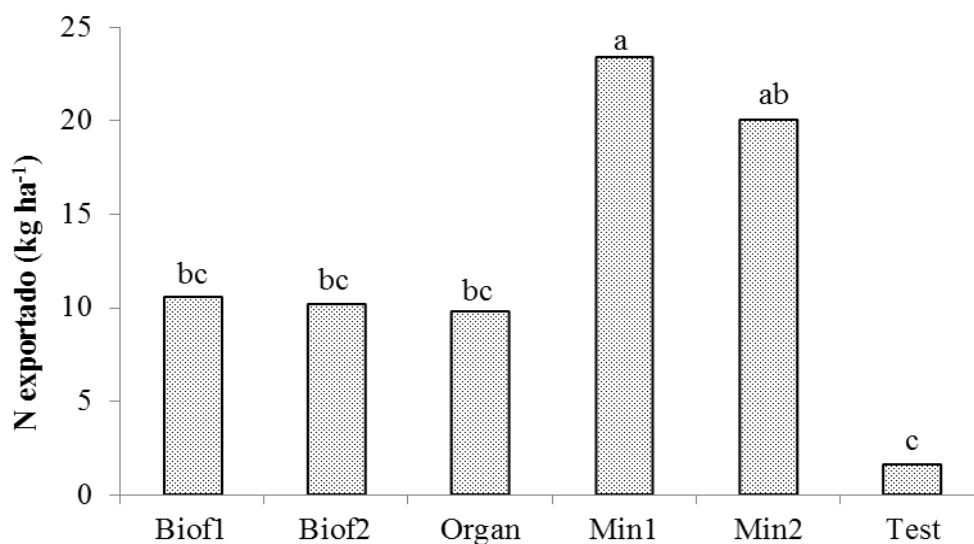


Figura 11. Azoto exportado no ensaio de campo de 2015 na cultura da Couve. As letras sobre as colunas são o resultado da análise de variância. Médias a que correspondam letras iguais não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey HSD ($\alpha = 0,05$).

O fósforo total exportado cumulativamente na sequência das culturas durante os dois anos no ensaio de campo (figura 12) registou valores significativamente mais elevados no tratamento Min2 comparativamente aos restantes. Entre os tratamentos com fertilizantes, os valores mais baixos observaram-se no talhão com o tratamento Organ. Contudo, a modalidade testemunha registou os valores médios mais baixos e com diferenças significativas comparativamente aos demais tratamentos.

Em 2014 as plantas que exportaram mais fósforo foram as dos tratamentos Min2 (15,1 kg ha⁻¹) e Min1 (12,3 kg ha⁻¹) sem diferenças significativas entre si e com diferenças comparativamente aos restantes tratamentos. Os valores médios mais baixos foram obtidos no tratamento sem aplicação de fertilizante (6,6 kg ha⁻¹), embora sem diferenças significativas comparativamente aos tratamentos Biof1, Biof2 e Organ.

Em 2015, na cultura Alface1 não se observam diferenças significativas entre tratamentos. Os valores médios mais altos foram obtidos com o tratamento Min2 (7,6 kg ha⁻¹) e os mais baixos com o tratamento sem aplicação de fertilizante (3,4 kg ha⁻¹).

No ciclo cultural de Alface2, os valores médios mais elevados foram obtidos no tratamento Min2 (5,6 kg ha⁻¹), embora sem diferenças significativas comparativamente aos demais tratamentos fertilizantes. Os valores mais baixos foram obtidos no tratamento sem fertilização (2,1 kg ha⁻¹) e com diferenças significativas comparativamente aos restantes tratamentos.

Os resultados obtidos na cultura da Nabiça de 2015 mostram valores de fósforo exportado com diferenças significativas entre tratamentos. A aplicação do tratamento Min2 originou os valores médios mais elevados (7,7 kg ha⁻¹), embora sem diferenças significativas para os tratamentos Biof2, Organ e Min1. Comparativamente aos demais tratamentos, o talhão sem aplicação de fertilizantes apresentou valores significativamente mais baixos (0,4 kg ha⁻¹).

Na figura 13 apresentam-se os resultados relativos ao fósforo exportado na cultura de Couve no ensaio de campo. Nela pode observar-se que os valores mais altos foram registados no talhão com a aplicação do tratamento Min1 (3,8 kg ha⁻¹) sem diferenças significativas comparativamente ao tratamento Min2. Os valores mais baixos foram observados no talhão sem aplicação de fertilizante (0,3 kg ha⁻¹), embora sem diferenças significativas comparativamente aos tratamentos Biof1, Biof2 e Organ.

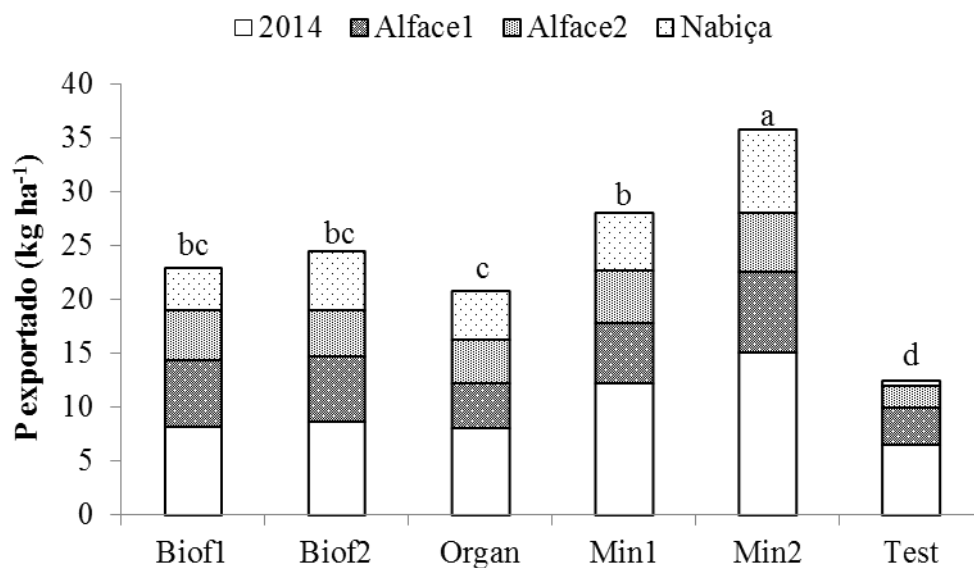


Figura 12. Fósforo total exportado no ensaio de campo na sequência de culturas de Alfaced, Alfaced, Nabiça (2014) e Alfaced, Alfaced, Nabiça (2015). As letras sobre as colunas são o resultado da análise de variância para o fósforo total exportado nas seis culturas avaliadas nos dois anos de ensaio. Médias a que correspondam letras iguais não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey HSD ($\alpha = 0,05$).

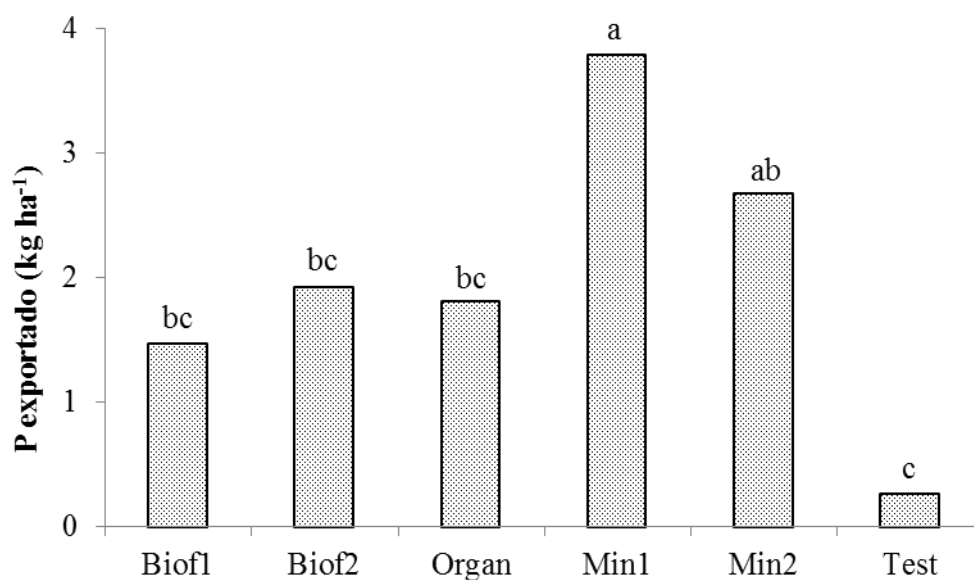


Figura 13. Fósforo exportado no ensaio de campo de 2015 na cultura da Couve. As letras sobre as colunas são o resultado da análise de variância. Médias a que correspondam letras iguais não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey HSD ($\alpha = 0,05$).

Os valores de potássio exportado no ensaio de campo cumulativamente na sequência de culturas nos anos 2014 e 2015 (figura 14) foram significativamente mais altos no talhão com a aplicação do tratamento Min2 relativamente aos demais tratamentos fertilizantes. O talhão com o tratamento sem nenhuma aplicação de fertilizante foi o que registou valores mais baixos, embora sem diferenças significativas em relação aos tratamentos Organ e Biof1.

Em 2014 os tratamentos Min2 ($157,5 \text{ kg ha}^{-1}$) e Min1 ($123,1 \text{ kg ha}^{-1}$) registaram os valores mais elevados sem diferenças entre si e com diferenças significativas comparativamente aos demais tratamentos. Os valores mais baixos foram obtidos com o tratamento Biof1 ($73,4 \text{ kg ha}^{-1}$), embora sem diferenças significativas comparativamente aos tratamentos Test, Biof2 e Organ.

Em 2015 na cultura Alface1 a exportação de potássio não registou diferenças significativas entre tratamentos. O tratamento Min2 registou os valores médios mais elevados ($67,6 \text{ kg ha}^{-1}$) e o tratamento Organ os valores médios mais baixos ($32,8 \text{ kg ha}^{-1}$).

No ciclo cultural correspondente a Alface2 os valores mais elevados foram registados no tratamento Min2 ($44,8 \text{ kg ha}^{-1}$), embora sem diferenças significativas comparativamente aos demais tratamentos fertilizantes. Os valores médios mais baixos foram obtidos no tratamento testemunha ($17,6 \text{ kg ha}^{-1}$) mas sem diferenças significativas em relação aos tratamentos Biof2 e Organ.

Na cultura da Nabiça os valores mais elevados de potássio exportado foram obtidos com o tratamento Min2 ($49,5 \text{ kg ha}^{-1}$) mas sem diferenças significativas comparativamente aos demais tratamentos com aplicação de fertilizantes. Valores significativamente mais baixos aos dos restantes tratamentos fertilizantes foram registados na testemunha ($2,0 \text{ kg ha}^{-1}$).

Os resultados de potássio exportado na cultura da Couve no ensaio de campo são apresentados na figura 15. Os valores mostram-se mais elevados no talhão com o tratamento Min1 ($28,3 \text{ kg ha}^{-1}$) sem diferenças significativas comparativamente aos tratamentos Min2, Biof1 e Bio2, mas com diferenças significativas relativamente aos demais tratamentos. O tratamento sem aplicação de fertilizante é o que apresenta valores médios mais baixos ($1,8 \text{ kg ha}^{-1}$), embora sem diferenças significativas em relação aos tratamentos Organ, Biof1 e Biof2.

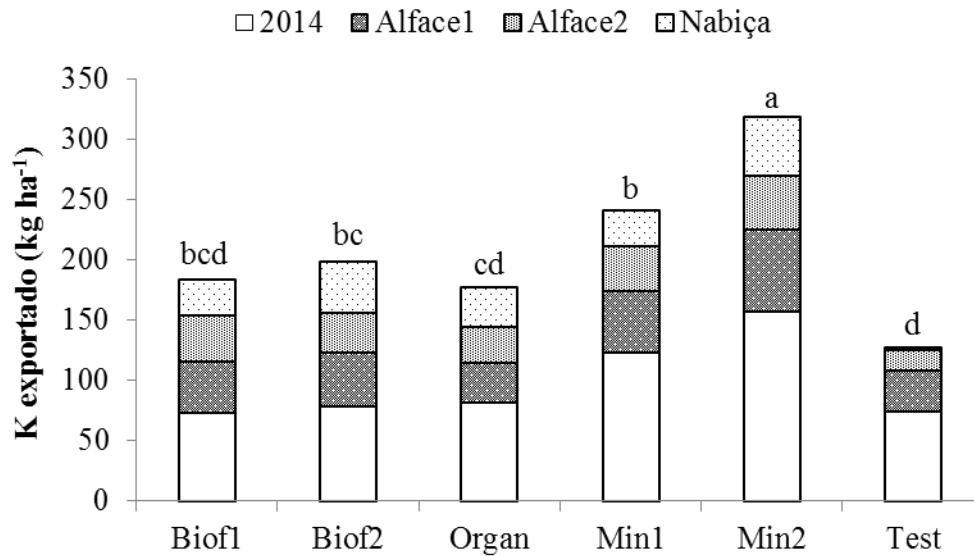


Figura 14. Potássio total exportado no ensaio de campo na sequência de culturas de Alface, Alface, Nabiça (2014) e Alface, Alface, Nabiça (2015). As letras sobre as colunas são o resultado da análise de variância para o potássio total exportado nas seis culturas avaliadas nos dois anos de ensaio. Médias a que correspondam letras iguais não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey HSD ($\alpha = 0,05$).

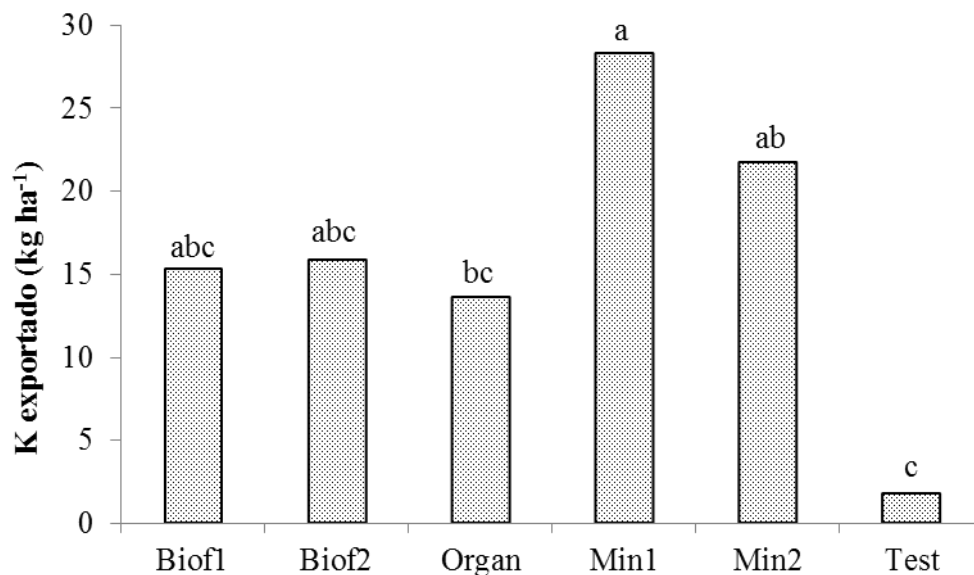


Figura 15. Potássio exportado no ensaio de campo de 2015 na cultura da Couve. As letras sobre as colunas são o resultado da análise de variância. Médias a que correspondam letras iguais não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey HSD ($\alpha = 0,05$).

3.2. Ensaio em vasos

3.2.1. Produção

Os resultados da produção cumulativa de matéria seca no ensaio em vasos, na sequência das seis culturas dos dois anos de ensaio, são apresentados na figura 16. Pela figura pode observar-se que os valores médios mais elevados foram obtidos com a aplicação do tratamento Min2, com diferenças significativas comparativamente a todos os outros tratamentos. Os valores mais baixos entre os tratamentos com fertilizantes são observados em Organ e sem diferenças significativas para a testemunha.

Os resultados cumulativos de 2014 mostram um comportamento similar aos obtidos ao fim do segundo ano de ensaios, em que os valores médios mais elevados foram obtidos nos vasos do tratamento Min2 (25,8 g vaso⁻¹) com diferenças significativas quando comparados com todos os outros tratamentos. Os valores mais baixos foram obtidos nos vasos com aplicação de Organ (3,4 g vaso⁻¹) embora sem diferenças significativas comparativamente aos vasos do tratamento testemunha.

Em 2015 na cultura Alface1 os valores mais elevados de matéria seca foram obtidos no tratamento Min2 (14,0 g vaso⁻¹) com diferenças significativas comparativamente aos demais tratamentos. Os vasos com Organ registaram os valores significativamente mais baixos (2,2 g vaso⁻¹) comparativamente aos demais tratamentos com fertilizantes e sem diferenças para os vasos do tratamento testemunha (2,0 g vaso⁻¹).

Os resultados correspondentes ao ciclo cultural Alface2 mostram valores de matéria seca produzida significativamente mais elevados nos vasos com a aplicação dos tratamentos Min2 (17,1 g vaso⁻¹) e Min1 (15,0 g vaso⁻¹) com diferenças significativas comparativamente aos demais tratamentos. Os valores médios mais baixos foram obtidos nos vasos com os tratamentos Test (3,5 g vaso⁻¹) e Organ (5,4 g vaso⁻¹), sem diferenças significativas entre si e com diferenças comparativamente aos outros tratamentos.

Na cultura da Nabiça os vasos onde foi aplicado o tratamento Min2 apresentaram melhor resposta (14,8 g vaso⁻¹) com diferenças significativas para todos os outros tratamentos. Os valores mais baixos foram, uma vez mais, registados nos vasos em que foram aplicados os tratamentos Test (1,2 g vaso⁻¹) e Organ (2,3 g vaso⁻¹) sem diferenças entre si.

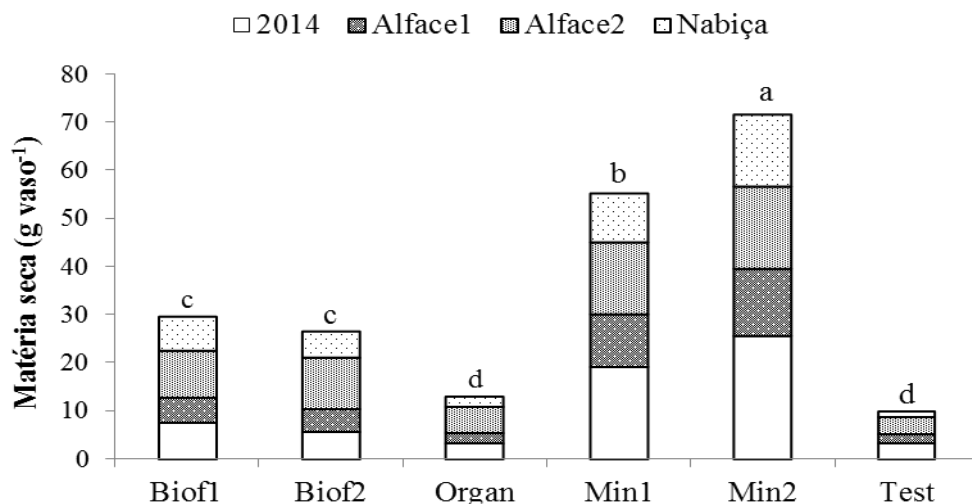


Figura 16. Matéria seca produzida no ensaio em vasos na sequência de culturas de Alface, Alface, Nabiça (2014) e Alface, Alface, Nabiça (2015). As letras sobre as colunas são o resultado da análise de variância para produção total de matéria seca nas seis culturas avaliadas nos dois anos de ensaio. Médias a que correspondam letras iguais não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey HSD ($\alpha = 0,05$).

Os resultados da matéria seca produzida na cultura da Couve no ensaio em vasos mostram valores significativamente mais elevados nos vasos em que foi aplicado o tratamento Min2 (19,7 g vaso⁻¹) comparativamente a todos os outros tratamentos (Figura 17). Os valores médios mais baixos foram registados nos vasos testemunha (4,0 g vaso⁻¹) embora sem diferenças significativas comparativamente ao tratamento Organ.

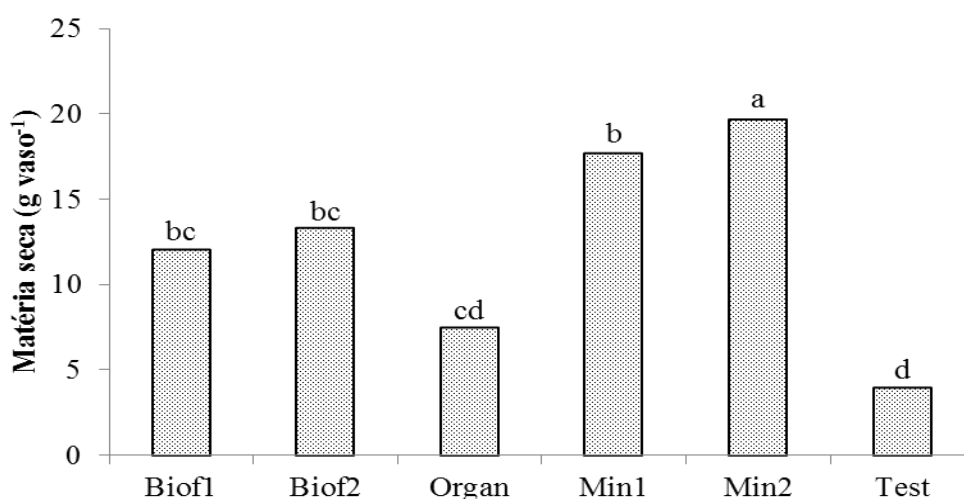


Figura 17. Matéria seca produzida no ensaio em vasos de 2015 na cultura da Couve. As letras sobre as colunas são o resultado da análise de variância. Médias a que correspondam letras iguais não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey HSD ($\alpha = 0,05$).

3.2.2. Concentração de nutrientes nos tecidos vegetais

Na figura 18 é apresentada a concentração de azoto nos tecidos na sequência das culturas no ensaio em vasos de 2015. Pode observar-se para a cultura de Alface1 valores mais elevados nos vasos com a aplicação de Min2 (23,2 g kg⁻¹) com diferenças significativas em comparação com os demais tratamentos. Os vasos com o tratamento Organ apresentam os valores médios mais baixos comparativamente aos tratamentos com fertilizantes (16,6 g kg⁻¹) ainda que sem diferenças significativas para os tratamentos Biof1 e Min1. Já os vasos da modalidade testemunha apresentam valores significativamente mais baixos (14,0 g kg⁻¹) comparativamente a todos os restantes tratamentos.

No ciclo Alface2 registam-se os valores mais elevados de azoto nos tecidos, nos vasos com a aplicação do tratamento Biof1 (19,0 g kg⁻¹) com diferenças significativas comparativamente aos demais tratamentos. Os vasos sem aplicação de fertilizante apresentam os valores médios mais baixos (10,8 g kg⁻¹) mas sem diferenças significativas comparativamente ao tratamento Organ (12,7 g kg⁻¹).

Os resultados da cultura da Nabiça evidenciam valores mais elevados nos vasos com a aplicação de Min2 (13,5 g kg⁻¹) com diferenças significativas para todos os outros tratamentos. Os valores mais baixos foram observados nos vasos com os tratamentos Bio1 (8,4 g kg⁻¹) e Biof2 (8,4 g kg⁻¹) mas sem diferenças significativas comparativamente aos tratamentos Test e Min1.

Os resultados da concentração de azoto nos tecidos na cultura da Couve da experiência em vasos são apresentados na figura 19. Pode observar-se que os valores são significativamente mais elevados nos vasos do tratamento Min2 (10,4 g kg⁻¹) relativamente aos demais tratamentos. Os valores médios mais baixos foram obtidos no tratamento Organ (6,6 g kg⁻¹) ainda que sem diferenças significativas para restantes tratamentos.

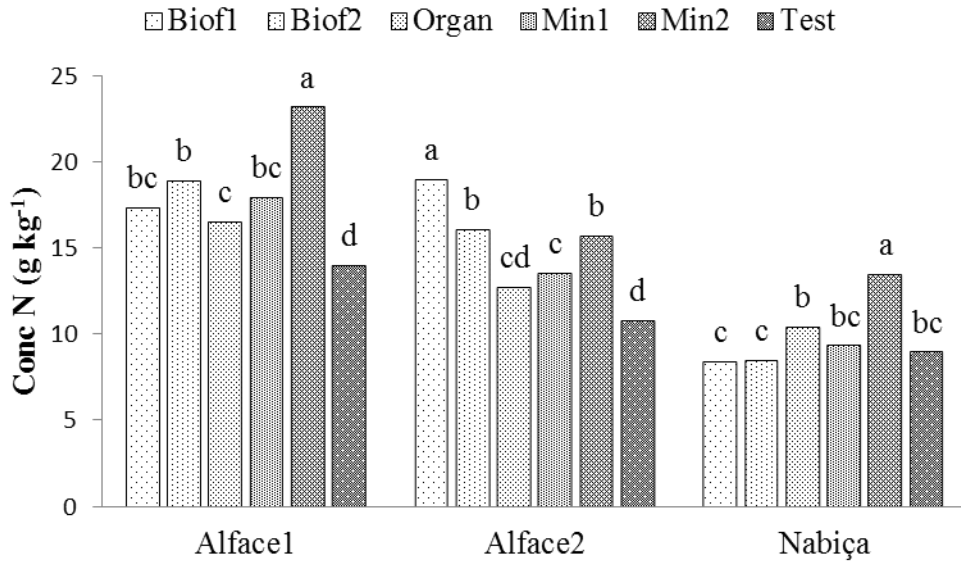


Figura 18. Concentração de azoto nos tecidos na sequência de culturas Alfaced1, Alfaced 2 e Nabiça cultivadas em 2015 no ensaio em vasos. As letras sobre as colunas são o resultado da análise de variância. Médias a que correspondam letras iguais dentro da mesma cultura não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey HSD ($\alpha = 0,05$).

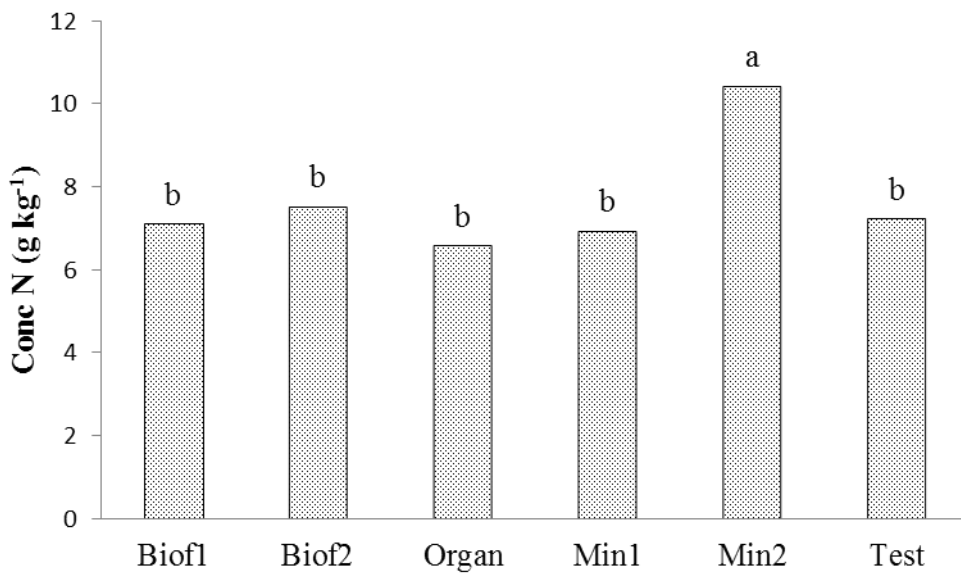


Figura 19. Concentração de azoto nos tecidos na cultura da Couve no ensaio em vasos de 2015. As letras sobre as colunas são o resultado da análise de variância. Médias a que correspondam letras iguais não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey HSD ($\alpha = 0,05$).

A concentração de fósforo nos tecidos na sequência de culturas do ensaio em vasos de 2015 é apresentada na figura 20. Na cultura Alface1 não se registaram diferenças significativas entre tratamentos. Na cultura Alface2 os valores médios mais elevados são observados nos vasos testemunha (4,3 g kg⁻¹) mas sem diferenças significativas comparativamente aos tratamentos Biof1 (3,9 g kg⁻¹) e Min2 (3,7 g kg⁻¹). Os valores médios mais baixos são observados nos vasos do tratamento Organ (3,2 g kg⁻¹) mas sem diferenças significativas para os tratamentos Min1, Biof2 e Min2.

Na cultura da Nabiça observam-se igualmente valores mais elevados nos vasos do tratamento testemunha (5,8 g kg⁻¹) embora sem diferenças significativas comparativamente aos vasos com a aplicação de Organ. Os valores médios mais baixos são observados no tratamento Biof1 (3,1 g kg⁻¹) ainda que sem diferenças significativas comparativamente aos tratamentos Min1 e Min2.

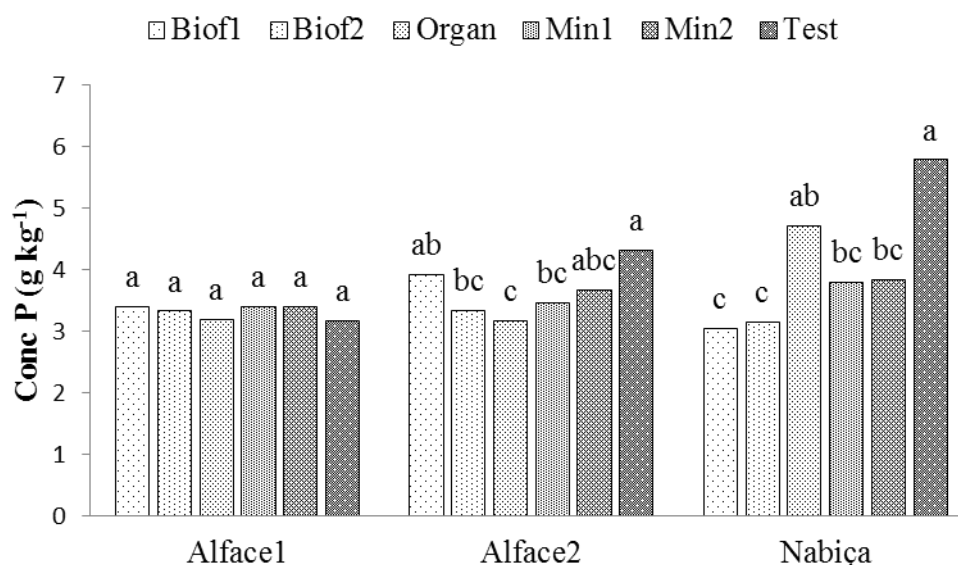


Figura 20. Concentração de fósforo nos tecidos na sequência de culturas Alface1, Alface2 e Nabiça cultivadas em 2015 no ensaio em vasos. As letras sobre as colunas são o resultado da análise de variância. Médias a que correspondam letras iguais não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey HSD ($\alpha = 0,05$).

A concentração de fósforo nos tecidos na cultura de Couve do ensaio em vasos de 2015 apresenta valores médios mais elevados nos vasos com a aplicação de Biof2 (4,2 g kg⁻¹) mas sem diferenças significativas para os restantes tratamentos (figura 21).

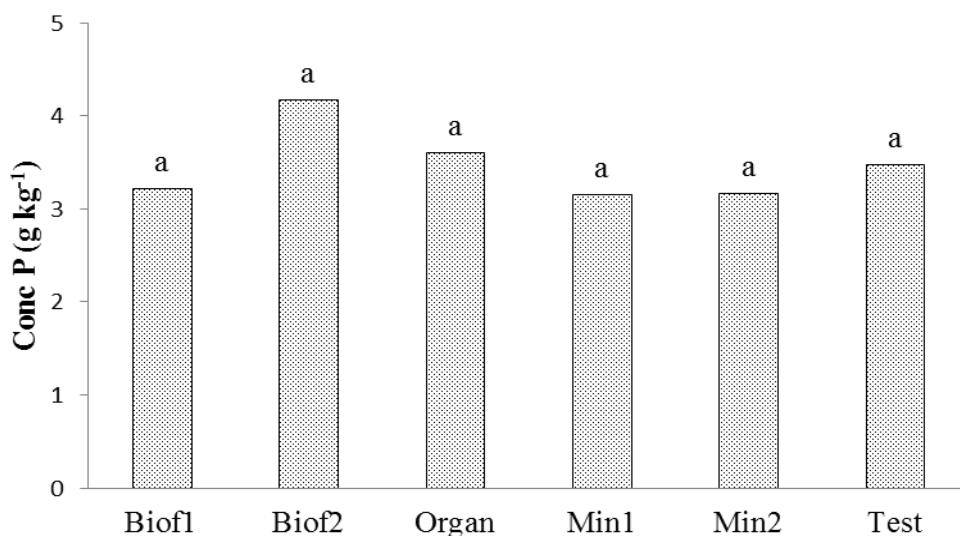


Figura 21. Concentração de fósforo nos tecidos na cultura da Couve no ensaio em vasos de 2015. As letras sobre as colunas são o resultado da análise de variância. Médias a que correspondam letras iguais não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey HSD ($\alpha = 0,05$).

A concentração de potássio nos tecidos no ensaio em vasos, na sequência das culturas Alface, Alface e Nabiça de 2015 é apresentada na figura 22. Pode observar-se na cultura Alface1 que os valores mais elevados são registados nos vasos sem aplicação de fertilizante ($53,0 \text{ g kg}^{-1}$) com diferenças significativas comparativamente aos demais tratamentos. Os valores mais baixos foram registados com a aplicação do tratamento Min1 ($36,4 \text{ g kg}^{-1}$) ainda que sem diferenças significativas comparativamente aos restantes tratamentos fertilizantes.

No segundo ciclo cultural Alface2 registam-se concentrações de potássio nos tecidos mais elevadas nos vasos com a aplicação de Biof2 ($75,6 \text{ g kg}^{-1}$) embora sem diferenças significativas comparativamente aos tratamentos Biof1 e Organ. Os valores médios mais baixos são registados com a aplicação do tratamento Min2 ($50,0 \text{ g kg}^{-1}$) sem diferenças significativas para os tratamentos Min1 e Test.

Os resultados da cultura de Nabiça apresentam valores de concentração de potássio nos tecidos mais elevados com a aplicação de Min2 ($36,1 \text{ g kg}^{-1}$) sem diferenças significativas comparativamente aos tratamentos Organ, Min1 e Test. Os valores mais baixos são observados na aplicação de Biof2 ($23,0 \text{ g kg}^{-1}$) sem diferenças significativas comparativamente aos tratamentos Biof1, Organ, Min1 e Test.

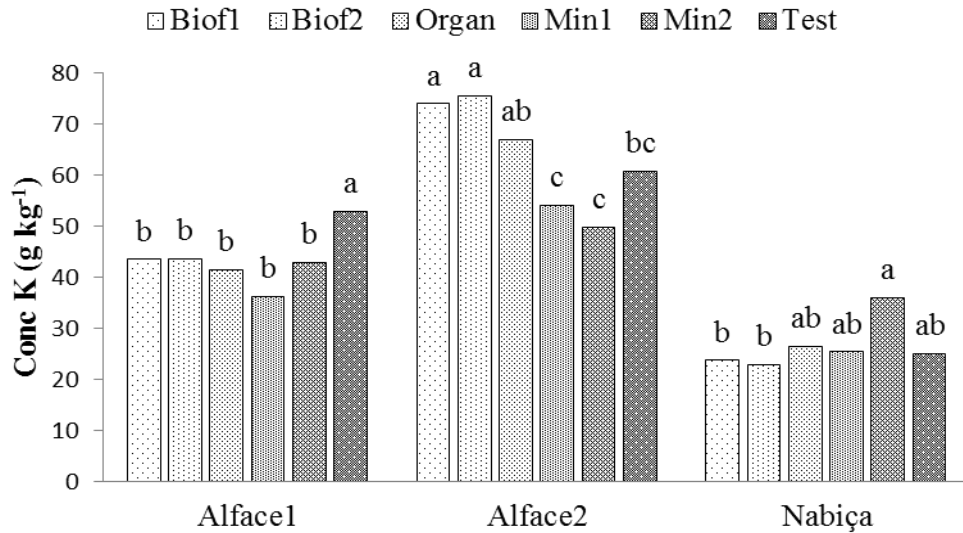


Figura 22. Concentração de potássio nos tecidos na sequência de culturas Alface1, Alface2 e Nabiça cultivadas em 2015 no ensaio em vasos. As letras sobre as colunas são o resultado da análise de variância. Médias a que correspondam letras iguais não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey HSD ($\alpha = 0,05$).

A concentração de potássio nos tecidos na cultura da Couve no ensaio em vasos apresenta valores médios sem diferenças significativas entre os diferentes tratamentos (Figura 23).

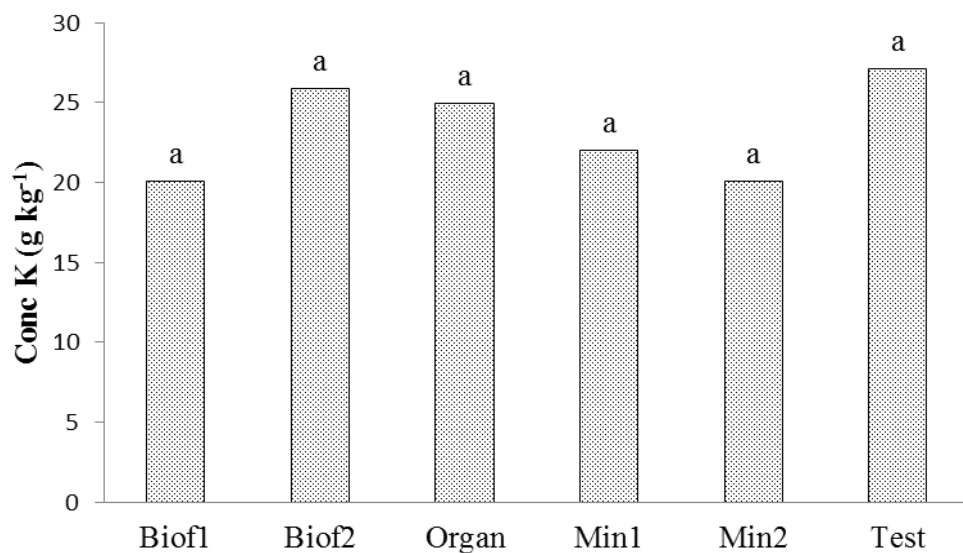


Figura 23. Concentração de potássio nos tecidos na cultura da Couve no ensaio em vasos de 2015. As letras sobre as colunas são o resultado da análise de variância. Médias a que correspondam letras iguais não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey HSD ($\alpha = 0,05$).

3.2.3. Nutrientes exportados

Na figura 24 apresentam-se os resultados de azoto exportado cumulativamente na sequência de culturas dos dois anos no ensaio em vasos. Podem observar-se valores significativamente mais elevados nos vasos em que foi aplicado o tratamento Min2 com diferenças significativas comparativamente aos restantes tratamentos. Os valores mais baixos foram registados nos vasos sem aplicação de fertilizante, mas sem diferenças significativas comparativamente à aplicação do tratamento Organ.

Os resultados de 2014 mostram comportamento similar, tendo sido registados os valores mais elevados de azoto exportado com a aplicação de Min2 ($658,7 \text{ mg vaso}^{-1}$) com diferenças significativas comparativamente aos restantes tratamentos. Já os valores médios mais baixos foram registados nos vasos com o tratamento Organ ($55,4 \text{ mg vaso}^{-1}$) embora sem diferenças significativas em comparação com o tratamento testemunha ($56,0 \text{ mg vaso}^{-1}$).

Em 2015 o ciclo cultural Alface1 mostra valores mais elevados de azoto exportado no tratamento Min2 ($354,7 \text{ mg vaso}^{-1}$) e com diferenças significativas comparativamente aos restantes tratamentos. Os vasos com o tratamento sem a aplicação de fertilizante apresentam valores significativamente mais baixos ($27,5 \text{ mg vaso}^{-1}$) mas sem diferenças comparativamente ao tratamento Organ.

No ciclo Alface2 os resultados são similares aos da cultura anterior, com o tratamento Min2 a apresentar valores significativamente mais elevados ($267,7 \text{ mg vaso}^{-1}$) que os restantes tratamentos. Os valores médios mais baixos são registados nos vasos sem aplicação de fertilizante ($37,6 \text{ mg vaso}^{-1}$) e sem diferenças significativas comparativamente ao tratamento Organ.

A cultura da Nabiça registou valores médios de exportação de azoto mais elevados no tratamento Min2 ($199,1 \text{ mg vaso}^{-1}$) e com diferenças significativas em comparação com os restantes tratamentos. O tratamento testemunha foi o que apresentou valores médios mais baixos ($10,0 \text{ mg vaso}^{-1}$) mas sem diferenças significativas em relação ao tratamento Organ.

Os valores de azoto exportado na cultura da couve no ensaio em vasos são apresentados na figura 25. Podem observar-se resultados mais elevados com a aplicação do tratamento Min2 ($253,9 \text{ mg vaso}^{-1}$) com diferenças significativas para os restantes tratamentos. Os valores médios mais baixos foram registados nos vasos sem aplicação

de fertilizante ($28,1 \text{ mg vaso}^{-1}$) ainda que sem diferenças significativas para a aplicação do tratamento Organ.

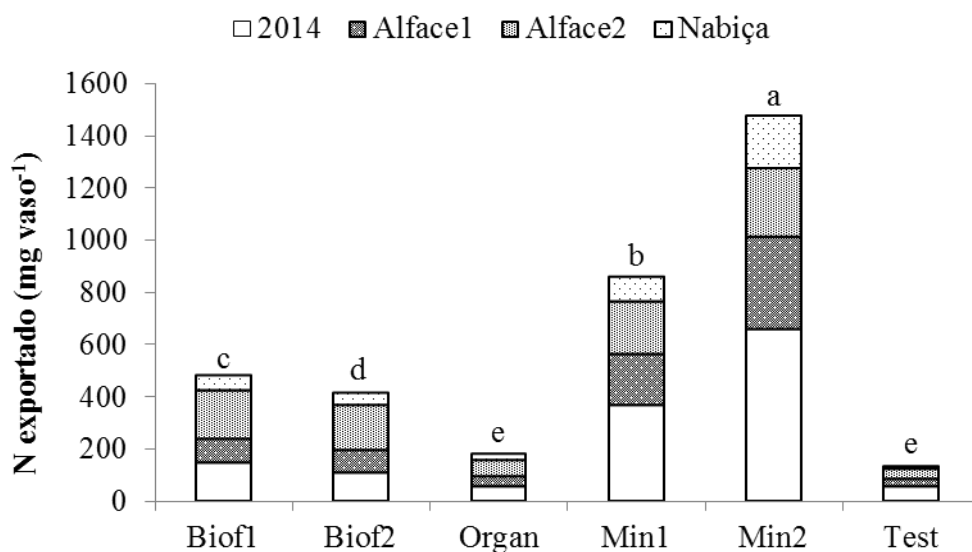


Figura 24. Azoto exportado no ensaio em vasos na sequência de culturas de Alface, Alface, Nabiça (2014) e Alface, Alface, Nabiça (2015). As letras sobre as colunas são o resultado da análise de variância para o azoto total exportado na matéria seca nas seis culturas avaliadas nos dois anos de ensaio. Médias a que correspondam letras iguais não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey HSD ($\alpha = 0,05$).

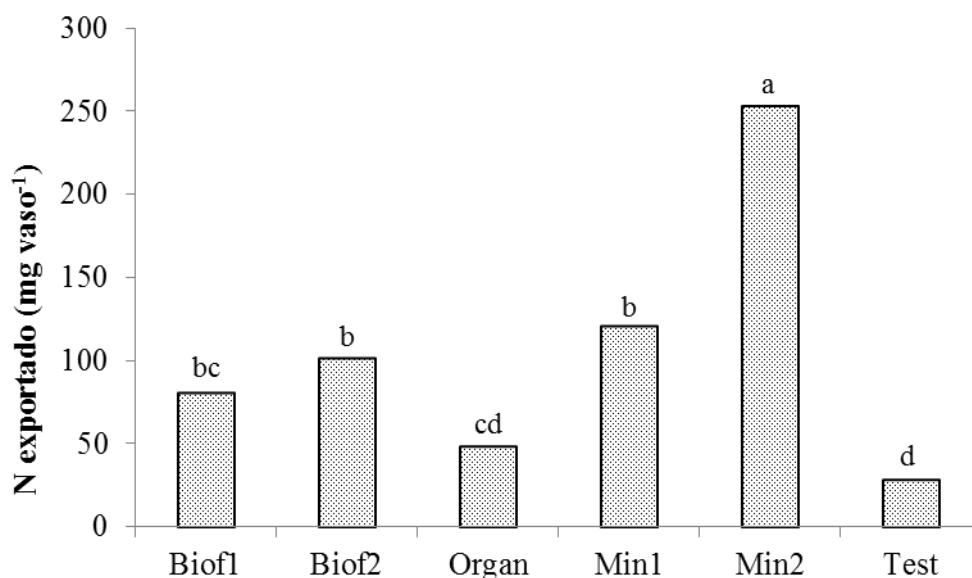


Figura 25. Azoto exportado pela cultura da Couve no ensaio em vasos de 2015. As letras sobre as colunas são o resultado da análise de variância. Médias a que correspondam letras iguais não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey HSD ($\alpha = 0,05$).

Na figura 26 apresentam-se os resultados do fósforo exportado no ensaio em vasos cumulativamente na sequência de culturas Alface, Alface e Nabiça dos anos 2014 e 2015. Nela podemos observar que a aplicação do tratamento Min2 resultou em valores significativamente mais altos de fósforo exportado comparativamente aos restantes tratamentos. Os valores mais baixos foram registados nos vasos sem aplicação de fertilizante e com a aplicação de Organ, sem diferenças significativas entre eles.

Os resultados de 2014 mostram já a tendência final obtida em 2015, com diferenças significativas entre tratamentos. O tratamento Min2 (97,1 mg vaso⁻¹) apresenta valores médios mais elevados e o tratamento sem aplicação de fertilizante regista os valores médios mais baixos (9,6 mg vaso⁻¹), embora estes sem diferenças significativas comparativamente ao tratamento Organ.

A análise individualizada aos resultados das três culturas de 2015 mostra também valores de exportação de fósforo mais elevados nos vasos em que foi aplicado o tratamento Min2 com diferenças significativas em relação aos restantes tratamentos, em resposta ao efeito multiplicativo na maior produção de matéria seca e concentração do elemento nos tecidos. Os valores médios mais baixos são observados nos vasos sem aplicação de fertilizante e com a aplicação de Organ, sem diferenças significativas entre si.

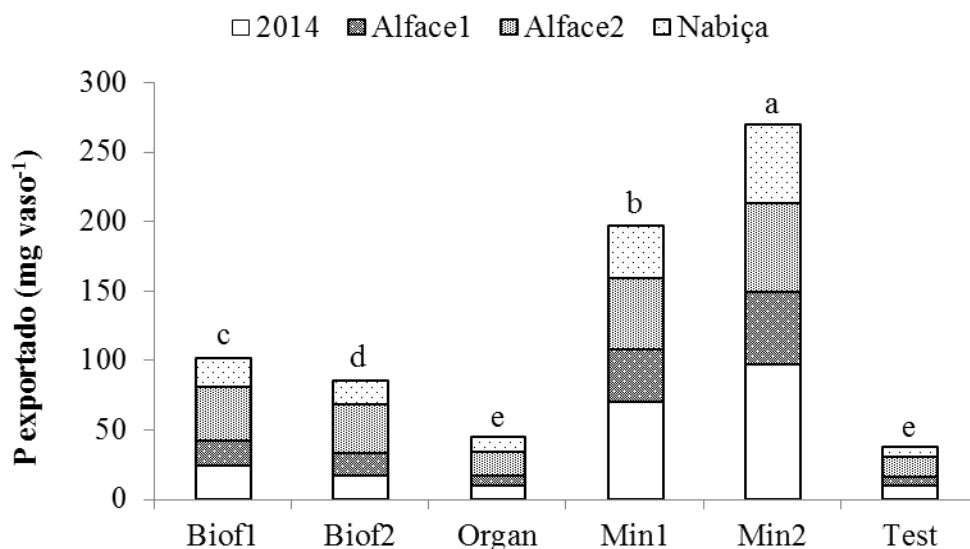


Figura 26. Fósforo exportado no ensaio em vasos na sequência de culturas de Alface, Alface, Nabiça (2014) e Alface, Alface, Nabiça (2015). As letras sobre as colunas são o resultado da análise de variância para o fósforo total exportado na matéria seca nas seis culturas avaliadas nos dois anos de ensaio. Médias a que correspondam letras iguais não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey HSD ($\alpha = 0,05$).

Os resultados de fósforo exportado na cultura da Couve no ensaio em vasos apresentado na figura 27 mostram valores médios mais elevados no tratamento Min2 (76,2 mg vaso⁻¹), sem diferenças significativas comparativamente aos restantes tratamentos com fertilizantes, mas com diferenças para a testemunha que apresentou os valores médios mais baixos (13,6 mg vaso⁻¹), embora, neste caso, sem diferenças significativas relativamente aos tratamentos Biof1, Biof2, Organ e Min1.

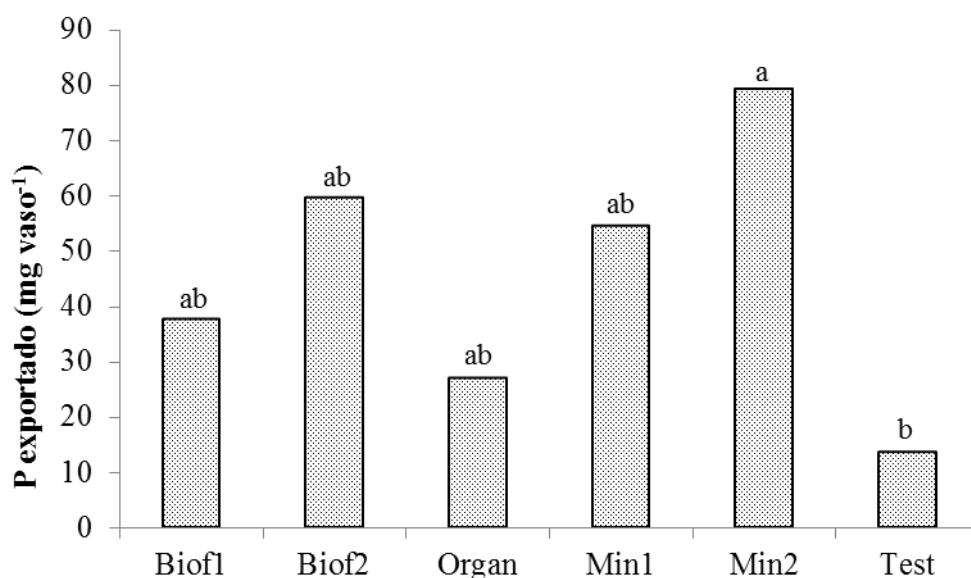


Figura 27. Fósforo exportado pela cultura da Couve no ensaio em vasos de 2015. As letras sobre as colunas são o resultado da análise de variância. Médias a que correspondam letras iguais não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey HSD ($\alpha = 0,05$).

Na figuram 28 observam-se os resultados de potássio exportado no ensaio em vasos cumulativamente na sequência de culturas Alface, Alface Nabiça de 2014 e 2015. Nos vasos onde foi aplicado o tratamento Min2 registaram-se valores significativamente mais elevados comparativamente aos restantes tratamentos. Os vasos onde não foi aplicado qualquer fertilizante e aqueles em que foi aplicado o tratamento Organ registaram valores significativamente mais baixos que os restantes mas sem diferenças entre si. Resultados semelhantes são observados nos dados do ano de 2014 e do ciclo cultural Alface1 de 2015. Na Alface2 os valores mais elevados são observados no tratamento Min2 (854,6 mg vaso⁻¹) sem diferenças significativas comparativamente aos tratamentos Biof1, Biof2 e Min1. Os valores mais baixos são observados no tratamento

sem aplicação de fertilizante ($211,7 \text{ mg vaso}^{-1}$) sem diferenças significativas comparativamente à aplicação do tratamento Organ.

Na cultura da Nabiça os valores mais elevados de potássio exportado foram registados com a aplicação de Min2 ($530,4 \text{ mg vaso}^{-1}$) com diferenças significativas comparativamente aos restantes tratamentos. Os valores mais baixos são observados nos vasos testemunha ($30,5 \text{ mg vaso}^{-1}$) mas sem diferenças significativas comparativamente aos tratamentos Biof2 e Organ.

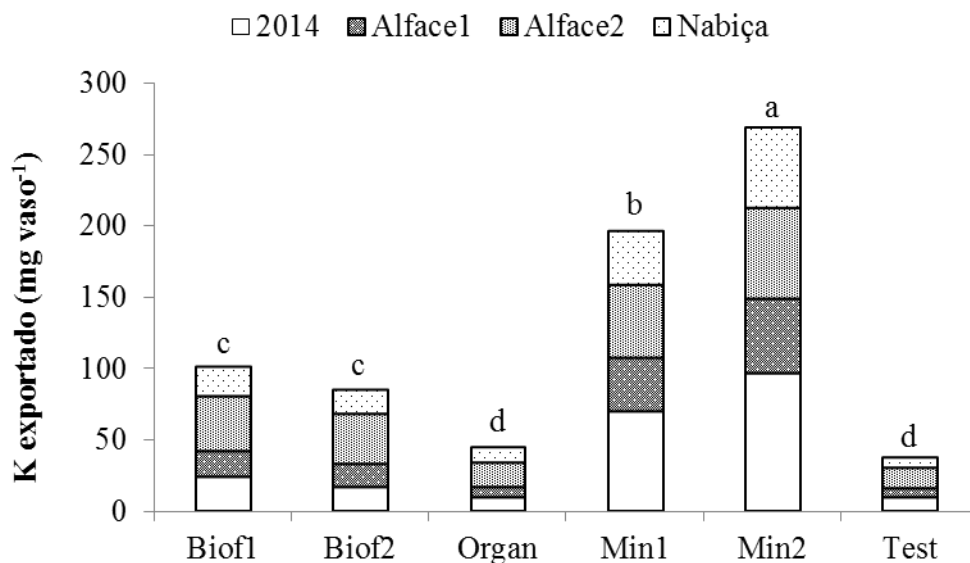


Figura 28. Potássio exportado no ensaio em vasos na sequência de culturas de Alface, Alface, Nabiça (2014) e Alface, Alface, Nabiça (2015). As letras sobre as colunas são o resultado da análise de variância para o potássio total exportado na matéria seca nas seis culturas avaliadas nos dois anos de ensaio. Médias a que correspondam letras iguais não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey HSD ($\alpha = 0,05$).

Na figura 29 apresentam-se os valores de potássio exportado na cultura da Couve no ensaio em vasos. Os valores mais elevados são observados nos vasos em que foi aplicado o tratamento Min2 ($503,2 \text{ mg vaso}^{-1}$) sem diferenças significativas comparativamente aos restantes tratamentos fertilizantes. Os valores médios mais baixos foram registados nos vasos sem aplicação de fertilizante ($105,8 \text{ mg vaso}^{-1}$) mas sem diferenças significativas comparativamente aos tratamentos Biof1, Biof1, Organ e Min1.

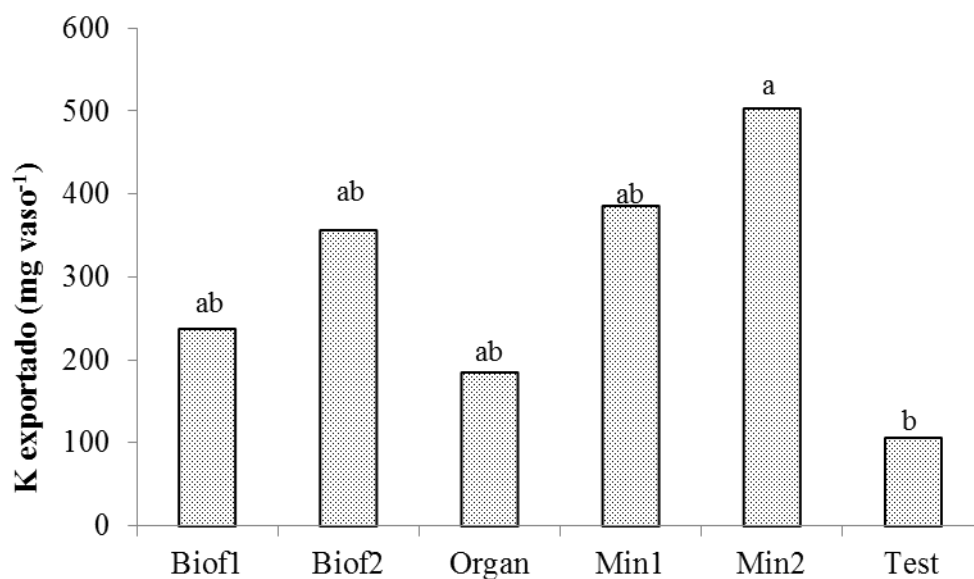


Figura 29. Potássio exportado pela cultura da Couve no ensaio em vasos de 2015. As letras sobre as colunas são o resultado da análise de variância. Médias a que correspondam letras iguais não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey HSD ($\alpha = 0,05$).

3.3. Indicadores de disponibilidade de azoto no solo durante e após os ensaios

3.3.1 Disponibilidade de nitratos no solo

Nos ensaios em vasos foi monitorizada a concentração de nitratos no solo com membranas de troca aniônica como forma de avaliar a disponibilidade do nutriente em três datas de amostragem. Os resultados são apresentados na figura 30. É possível observar que a concentração de nitratos no solo foi mais elevada na primeira data de amostragem, diminuiu para a segunda e aumentou ligeiramente para a terceira. De uma maneira geral, o tratamento Min2 registou os valores mais elevados e a testemunha os valores mais baixos. Na última data, contudo, os valores médios mais elevados foram registados nos vasos do tratamento Biof1.

3.3.2. Efeito residual dos fertilizantes

Após o corte da Nabiça de 2015 foi semeada Cevada para avaliar o efeito residual dos tratamentos fertilizantes. Nesta cultura não foi adicionado qualquer fertilizante aos vasos. Os resultados da produção de matéria seca na cultura da Cevada no ensaio em vasos são apresentados na figura 31. Os valores mais elevados foram registados nos

vasos do tratamento Min2 (1,33 g vaso⁻¹) embora sem diferenças significativas comparativamente aos tratamentos Biof1 e Biof2. Os valores mais baixos foram registados nos vasos do tratamento testemunha (0,64 g vaso⁻¹) embora, neste caso, sem diferenças significativas para os vasos onde foi aplicado o tratamento Min1.

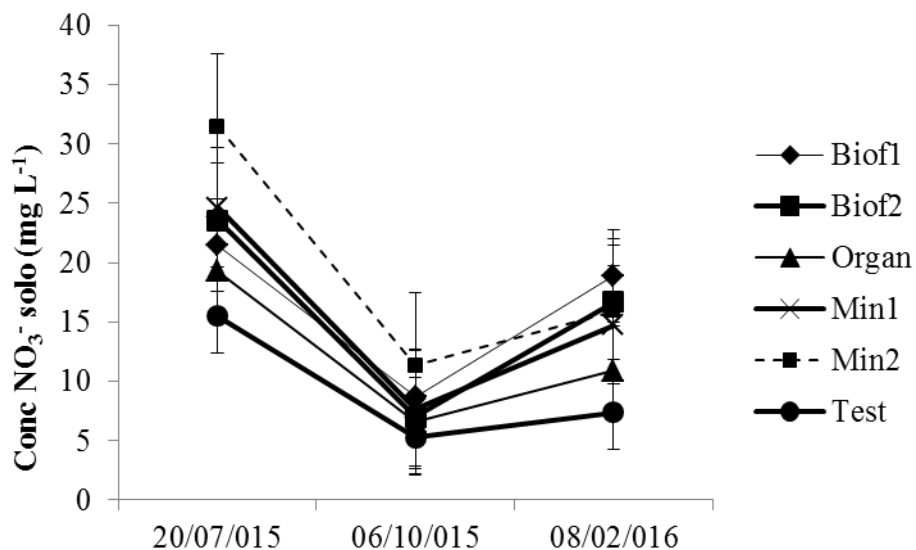


Figura 30. Concentração de nitratos em extratos obtidos a partir de membranas de troca iónica inseridas nos solos dos vasos. As barras de erro representam o intervalo de confiança da média ($\alpha = 0,05$).

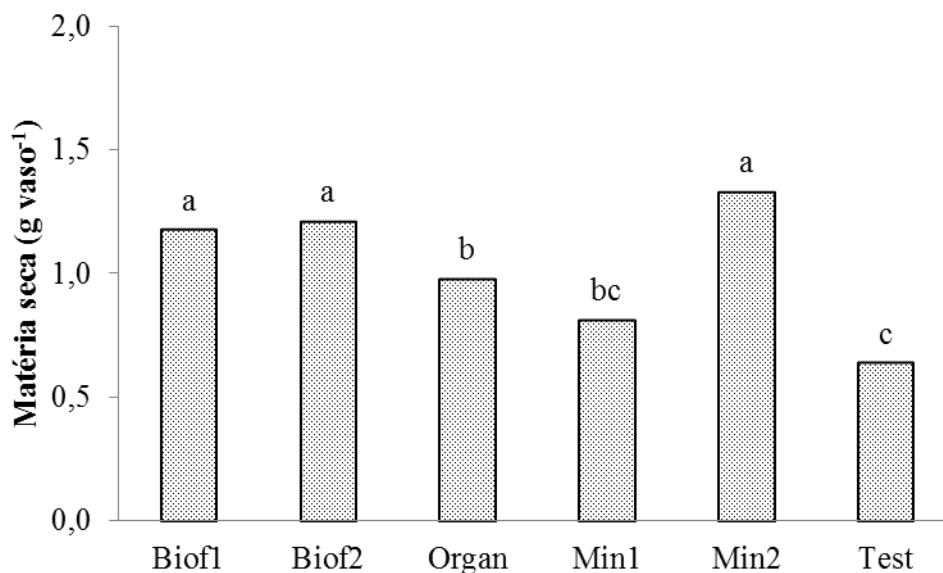


Figura 31. Matéria seca produzida no ensaio em vasos pela Cevada usada para avaliar o efeito residual dos tratamentos fertilizantes. As letras sobre as colunas são o resultado da análise de variância. Médias a que correspondam letras iguais não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey HSD ($\alpha = 0,05$).

A concentração média de azoto nos tecidos da Cevada no ensaio em vasos foi mais elevada nas plantas dos vasos com a aplicação do tratamento Min1 (22,2 g kg⁻¹) embora sem diferenças significativas para os tratamentos Biof2, Organ e Min2 (Figura 32). Os valores médios mais baixos foram registados nos vasos do tratamento testemunha (18,5 g kg⁻¹) com diferenças significativas comparativamente a todos os restantes tratamentos.

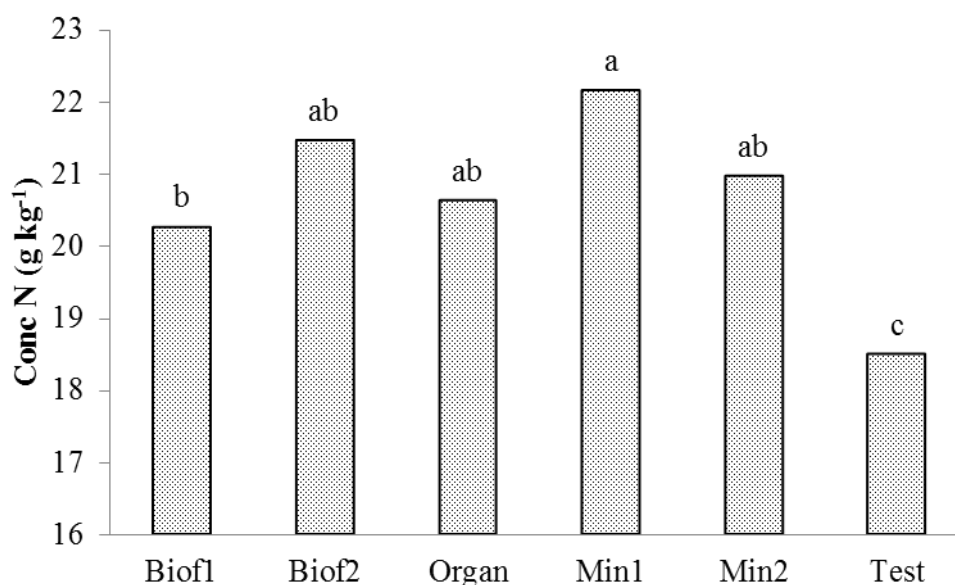


Figura 32. Concentração de azoto nos tecidos da Cevada cultivada no ensaio em vasos para avaliar o efeito residual dos tratamentos fertilizantes. As letras sobre as colunas são o resultado da análise de variância. Médias a que correspondam letras iguais não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey HSD ($\alpha = 0,05$).

Na figura 33 apresentam-se os resultados do azoto exportado na cultura da Cevada no ensaio em vasos. É possível observar que os valores mais elevados foram registados nos vasos com o tratamento Min2 (27,9 mg vaso⁻¹), embora sem diferenças significativas comparativamente aos vasos com Biof1 e Biof2. Entre os tratamentos com aplicação de fertilizantes, os valores mais baixos foram registados no tratamento Min1. Os valores médios mais baixos de azoto exportado foram, contudo, registados nos vasos da modalidade testemunha (11,8 mg vaso⁻¹) com diferenças significativas para os restantes tratamentos.

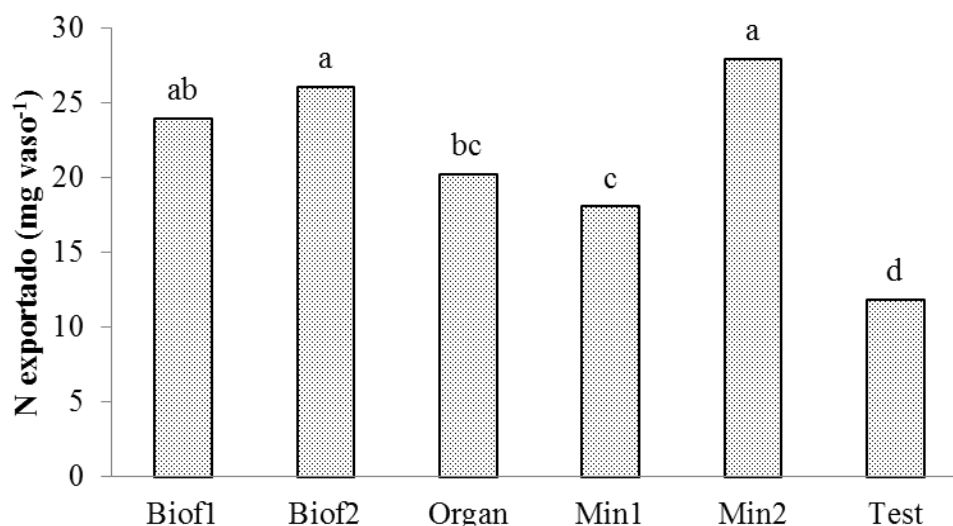


Figura 33. Azoto exportado pela Cevada cultivada no ensaio em vasos para avaliar o efeito residual dos tratamentos fertilizantes. As letras sobre as colunas são o resultado da análise de variância. Médias a que correspondam letras iguais não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey HSD ($\alpha = 0,05$).

3.4. Eficiência de uso do azoto

Como indicador de eficiência de uso do azoto foi calculado o azoto aparentemente recuperado nos tratamentos fertilizados por subtração do azoto exportado nestes tratamentos com o azoto exportado na modalidade testemunha e dividindo pela quantidade de azoto aplicado como fertilizante. Os resultados acumulados dos ensaios de campo de 2014 (total) e 2015 (parcial e total) são apresentados no quadro 5.

No primeiro ano os valores mais elevados de recuperação de azoto foram registados no talhão com a aplicação do tratamento Min1 (28,5 %) e os valores mais baixos foram registados com a aplicação de Biof1 (5,1 %). Em 2015 os valores mais elevados foram obtidos com a aplicação do tratamento Min1 (44,7 %), enquanto a aplicação do tratamento Organ originou os valores mais baixos (30,7 %). Individualmente, a cultura da Nabiça foi aquela que registou valores mais apreciáveis de azoto recuperado em todos os tratamentos, variando entre 43,7 % e 68,8 %. No total da experiência (2014+2015) a aplicação de Min1 resultou em valores mais elevados de azoto aparentemente recuperado (36,6 %) e Organ resultou nos valores mais baixos (18,6 %).

Quadro 5. Azoto aparentemente recuperado a partir da experiência de campo nos diferentes tratamentos fertilizados, no total de 2014, individualmente por cada cultura e total no ano de 2015 e na totalidade da experiência ao fim de seis ciclos culturais.

Ano	Cultura	Biof1 (%)	Biof2 (%)	Organ (%)	Min1 (%)	Min2 (%)
2014	Total	5,07	10,6	6,6	28,5	25,0
2015	Alface1	32,3	16,6	9,4	37,3	36,0
	Alface2	32,8	31,3	20,8	28,1	18,7
	Nabiça	53,5	66,7	61,7	68,8	43,7
	Total	39,5	38,2	30,7	44,7	32,8
2014+2015	Total	22,3	24,4	18,6	36,6	28,9

No quadro 6 apresentam-se os resultados do azoto aparentemente recuperado a partir da experiência em vasos nos dois anos (2014 e 2015). Em 2014 os valores mais elevados de azoto aparentemente recuperado foram registados nos vasos com a aplicação do tratamento Min1 (28,4 %), enquanto a aplicação de Organ resultou nos valores mais baixos (-0,1 %), sendo mesmo negativos, isto é, inferiores à testemunha. Em 2015 o tratamento que registou os valores mais elevados foi Min1 (38,6 %) e o valor mais baixo de recuperação de azoto continuou a ser registado nos vasos com o tratamento Organ (4,8 %). A cultura Alface2 foi aquela em que foram registados valores de azoto aparentemente recuperado mais elevados durante a experiência de 2015 com valores a variar de 8,0 % (Organ) a 45,7 % (Min1). No final da experiência o valor mais elevado foi obtido no tratamento Min1 (33,5 %) e o mais baixo nos vasos com o tratamento Organ (2,4 %).

Quadro 6. Azoto aparentemente recuperado a partir da experiência em vasos nos diferentes tratamentos fertilizados, no total de 2014, individualmente por cada cultura e total no ano de 2015 e na totalidade da experiência ao fim de seis ciclos culturais.

Ano	Cultura	Biof1 (%)	Biof2 (%)	Organ (%)	Min1 (%)	Min2 (%)
2014	Total	8,5	4,9	-0,1	28,4	27,6
2015	Alface1	17,5	16,5	2,6	46,9	45,0
	Alface2	40,5	36,5	8,0	45,7	31,6
	Nabiça	13,4	10,3	3,7	23,2	26,0
	Total	23,8	21,1	4,8	38,6	37,7
2014+2015	Total	16,2	13,0	2,4	33,5	30,9

IV. Discussão dos resultados

4.1. Ensaio de campo

4.1.1. Produção de matéria seca

A maior produção de matéria seca foi obtida com o tratamento Min2, que constitui a aplicação de dose dupla de azoto. O resultado evidencia uma resposta positiva das culturas em relação ao aumento da disponibilidade de azoto no solo. Resultados não muito inferiores foram obtidos quando se fez apenas a aplicação em dose simples deste adubo. Quanto aos fertilizantes orgânicos, estes apresentaram resultados menos notáveis, sobretudo o fertilizante Organ, o que não é enriquecido com microrganismos. Comparando os resultados de 2014 e 2015 eles foram similares, as culturas respondem melhor à aplicação do adubo mineral, ainda que aqui se possa observar uma aproximação dos resultados obtidos pelos fertilizantes orgânicos durante os ciclos culturais de 2015, comportamento que se pode dever ao efeito residual dos fertilizantes aplicados no ano anterior.

Segundo Rodrigues e Arrobas (2011) o azoto é considerado o elemento nutriente mais importante no âmbito da fertilização das culturas. Embora do ponto de vista fisiológico seja apenas mais um de entre os dezasseis elementos essenciais, do ponto de vista agrônomo é o elemento mais determinante da produtividade vegetal. Quando o azoto é factor limitante, a aplicação do elemento ao solo provoca um estímulo praticamente imediato na vegetação. As plantas apresentam um desenvolvimento luxuriante adquirindo um tom verde intenso, devido ao aumento do teor de clorofila e, de uma maneira geral, aumenta a biomassa produzida.

A maior produção de matéria seca das culturas obtida a partir do tratamento com adubo mineral pode provavelmente ser devido à disponibilidade imediata dos nutrientes deste adubo em relação aos fertilizantes orgânicos. Resultados que evidenciam uma libertação mais rápida de nutrientes a partir de fertilizantes minerais em comparação com fertilizantes orgânicos quando usados na produção de hortícolas, cereais e culturas arbóreas são frequentes em literatura da especialidade (Ipinmoroti *et al.*, 2006; Adeoye *et al.*, 2008; Ainika *et al.*, 2012). De acordo com Lai *et al.* (2008), o fato da libertação de nutrientes dos fertilizantes orgânicos ser geralmente mais lenta do que a libertação de nutrientes dos fertilizantes minerais pode afetar o crescimento das plantas. Outra razão possível para o crescimento reduzido das plantas tratadas com fertilizantes orgânicos é a

presença de compostos fitotóxicos, devido à inadequada estabilização da matéria orgânica, embora esta hipótese não deva ser colocada neste trabalho uma vez que se usaram produtos comerciais previamente compostados. Os benefícios dos fertilizantes orgânicos no crescimento das plantas dependem principalmente da qualidade do produto usado. Castellanos e Pratt (1981) afirmam que os fertilizantes orgânicos compostados e desidratados possuem boas condições físicas de aplicação, mas parecem libertar N com maior dificuldade, relativamente a matérias orgânicas mais frescas. Resultados similares foram obtidos por Rodrigues *et al.* (2009) ao estudar a resposta da couve-tronchuda à aplicação de azoto e boro e de um fertilizante orgânico autorizado em agricultura biológica e por Rodrigues *et al.* (2012) quando estudaram a produção e azoto recuperado por nabiça e cevada a partir de fertilizantes orgânicos e minerais.

Alguns dos fertilizantes orgânicos usados no estudo apesar de serem enriquecidos com microrganismos fixadores de azoto, resultaram em produção de matéria seca inferior à utilização do adubo mineral. De acordo com Sethi e Adhikary (2012) as bactérias diazotróficas na rizosfera de plantas utilizam o azoto fixado para seu próprio crescimento e libertam pouco enquanto estão vivas, e quando estas bactérias morrem, apenas uma pequena quantidade do azoto fixado é assimilada pela planta. A fixação de azoto por organismos livres é restrita pela presença excessiva de NH_4^+ , metais pesados e alguns compostos orgânicos no solo. À medida que as condições promovem o crescimento populacional bacteriano, a fixação de azoto aumenta na ausência de suprimentos inorgânicos de azoto, mas este não é libertado até que estas células morram. A falta de sincronização no fornecimento contínuo de azoto às culturas pode ser problemática. Grande parte do azoto que as rizobactérias diazotróficas de vida livre fixam pode ser retida dentro de suas células na forma de amónia, impedindo assim a transferência direta para a planta. Em última análise, no entanto, a maior parte do azoto fixado pela rizobactéria de vida livre deve entrar no pool de azoto do solo (Mukerji *et al.*, 2006). Para Schepers e Raun (2008) a libertação de azoto bacteriano pode ser promovida pelo stresse e, sob certas circunstâncias, as bactérias diazotróficas de vida livre que se associam às raízes de plantas não leguminosas podem aumentar o crescimento e o rendimento das culturas. No entanto, pensa-se que a fixação de azoto por rizobactérias de vida livre representa apenas uma pequena proporção do azoto assimilado diretamente pelas plantas. Por outro lado a adição de fertilizantes azotados é provavelmente o fator mais importante que inibe a presença de *Azotobacter* spp. em

solos agrícolas, porém, este fato não deve ser tido em conta para o nosso estudo, uma vez que nos tratamentos enriquecidos com este microrganismo não foi aplicado nenhum fertilizante mineral. Num estudo feito com três sistemas diferentes de cultivo, aplicando fertilizante mineral, orgânico e adubo verde, estes tiveram um efeito repressivo semelhante sobre as populações e atividade de bactérias fixadoras de azoto de vida livre. Altas concentrações de azoto inorgânico no solo inibem a fixação de azoto em cianobactérias e *Azotobacter* spp.. É provável que aplicações de esterco e fertilizantes resultem em concentrações de N inorgânico capazes de inibir a fixação de azoto e, em última análise, a presença desses organismos (Deluca *et al.*, 1996).

Quando comparado o desempenho dos diferentes fertilizantes orgânicos é possível verificar uma melhor produção de matéria seca por parte dos fertilizantes enriquecidos com microrganismos fixadores de azoto e a utilização do fertilizante orgânico não enriquecido como a menos produtiva. Ramakrishnan e Selvakumar (2012) sugerem que em condições adequadas, estes microrganismos (por exemplo, *Azotobacter* e *Azospirillum*) podem melhorar o desenvolvimento das plantas e promover o rendimento de várias culturas agrícolas importantes em diferentes solos e regiões climáticas, sendo que estes efeitos benéficos nas plantas são atribuídos principalmente a uma melhoria no desenvolvimento das raízes, um aumento na taxa de captação de água e mineral pelas raízes, deslocamento de fungos e bactérias patogênicas e, em menor grau, fixação biológica de azoto. Em condições adequadas, *Azotobacter* e *Azospirillum* podem melhorar o desenvolvimento das plantas e promover o rendimento de várias culturas agrícolas importantes em diferentes solos e regiões climáticas. Além da fixação de azoto, *Azotobacter* sintetiza e excreta quantidades consideráveis de substâncias biologicamente ativas como vitaminas B, ácido nicotínico, ácido pantotênico, biotina, heteroxinas, giberelinas, etc., que aumentam o crescimento radicular de plantas.

4.1.2. Concentração de azoto nos tecidos

A concentração de azoto nos tecidos no ciclo Alface1 de 2015 registou valores muito aproximados entre os diferentes tratamentos, apesar dos valores mais elevados terem sido registados nos talhões com a aplicação do adubo mineral (uma e duas vezes), comportamento que já era de se esperar visto que é expectável que as plantas absorvam o azoto de forma mais rápida a partir desses fertilizantes. Os fertilizantes orgânicos

originaram concentrações de azoto nas plantas muito equivalentes entre si. Destaca-se o fato dos talhões testemunha terem registado valores muito aproximados aos registados com a aplicação de fertilizantes, em particular dos fertilizantes orgânicos. Isto pode dever-se a efeito de diluição, isto é, mais azoto disponível nas modalidades fertilizadas estimula o crescimento vegetativo e o nutriente distribui-se por mais tecido vegetal, não aumentando muito a sua concentração. No ciclo seguinte (Alface2 de 2015) a modalidade testemunha apresentou valores médios de concentração de azoto superiores ou pelo menos equivalentes aos restantes tratamentos. No ciclo de Nabiça também não ocorreram diferenças significativas na concentração de azoto nos tecidos. Na cultura da Couve, a aplicação do tratamento Min2 originou valores médios mais elevados de concentração de azoto nos tecidos relativamente aos restantes tratamentos, tendo os valores diferenças estatísticas significativas para os tratamentos testemunha e Biof2.

No caso dos fertilizantes orgânicos, a manutenção de teores de azoto foliares em valores relativamente elevados pode ser atribuída à sua capacidade em fornecer nutrientes ao longo da estação de crescimento devido à sua mineralização progressiva (Ouda e Mahadeen, 2008). Além da influência dos microorganismos do solo, o processo de mineralização depende de várias condições ambientais (por exemplo, temperatura e humidade do solo) e práticas agrícolas (por exemplo, a preparação do solo estimula a mineralização). Por conseguinte, apenas uma porção do azoto aplicado pode estar disponível para a cultura na época da aplicação (Zoltán *et al.*, 2013). Estudos feitos por Ćustić *et al.* (2003) mostraram igualmente não ter havido diferenças nos níveis de concentração de azoto nos tecidos em chicória nos diferentes tratamentos com fertilizantes orgânicos e minerais.

Os inóculos de microorganismos fixadores de azoto podem ter um impacto notável no rendimento e qualidade das plantas, aumentando a capacidade de absorção de nutrientes e a eficiência de uso de fertilizantes minerais ou orgânicos aplicados. As espécies não simbióticas de bactérias de fixação de azoto de vida livre têm demonstrado aumentar a absorção de azoto das plantas, que podem derivar azoto da fixação biológica em 7-58% em cereais e até 60-80% em cana-de-açúcar. Os fertilizantes orgânicos geralmente afetam positivamente os microorganismos da rizosfera, embora esta não seja necessariamente uma condição favorável para inóculos introduzidos com biofertilizantes (Malusá *et al.*, 2016). Outra característica importante da associação de microorganismos fixadores (*Azotobacter* e *Azospirillum*) é a sua ajuda na melhoria das

condições da cultura, também pela excreção de amónia na presença de exsudatos radiculares que aumenta e regula a absorção de nutrientes pelas plantas (Ramakrishnan e Selvakumar, 2012; El-Lattief, 2013).

4.1.3. Concentração nos tecidos de outros nutrientes

A aplicação dos diferentes tratamentos fertilizantes não resultou em valores da concentração de fósforo nos tecidos com diferenças estatísticas entre si nos ciclos de Alfaca de 2015. O resultado pode ser atribuído ao fato de na experiência se ter aplicado fósforo em fundo para que este nutriente não fosse limitante. O solo também contém, por si só este nutriente, o que ajuda a anular o efeito dos tratamentos fertilizantes. A aplicação dos fertilizantes orgânicos enriquecidos com microrganismos registou os valores mais baixos de fósforo nos tecidos na cultura da Nabiça, sendo que aqui o talhão sem fertilização foi aquele onde a concentração de fósforo nos tecidos foi maior. Provavelmente o que aconteceu foi um efeito de concentração, isto é, na testemunha, a limitação de azoto limitou o crescimento vegetativo, mas como havia fósforo disponível este foi absorvido pela planta e se acumulou nos tecidos devido à redução de crescimento. O ciclo da Couve registou diferenças não significativas na concentração de fósforo nos tecidos. Resultados similares foram obtidos por Ćustić *et al.* (2003) em estudos de fertilização em chicória, onde os valores da concentração de fósforo não variaram significativamente entre os tratamentos.

Relativamente à concentração de potássio nos tecidos não se registaram diferenças significativas entre tratamentos. A testemunha registou inclusive os valores médios mais elevados. Tal como para o fósforo pode argumentar-se que a principal razão poderá ter sido o fato de se ter aplicado potássio em fundo, para que o elemento não fosse fator limitante. Também para o potássio ocorreu o efeito de concentração, em que devido ao menor aumento de biomassa nas modalidades testemunha por falta de azoto, a testemunha revelou maiores concentrações de potássio nos tecidos. No ciclo da Nabiça também não se registaram diferenças significativas entre tratamentos. Na cultura da Couve, o tratamento Min2 registou maior concentração de potássio nos tecidos, embora os valores não tenham sido muito diferentes aos obtidos com os outros fertilizantes. A modalidade testemunha apresentou os valores médios de potássio nos tecidos mais baixos.

Os corretivos orgânicos melhoram as características químicas do solo (Oliveira *et al.*, 2014). De acordo com Herencia *et al.* (2007) o uso de fertilizantes orgânicos resulta no aumento do teor de matéria orgânica do solo, no aumento do azoto no solo e na disponibilidade de fósforo e potássio. Em um estudo conduzido por Ouda e Mahadeen (2008), sobre o efeito de fertilizantes orgânicos e minerais em brássicas (*Brócolis*), os autores verificaram que os teores de fósforo e potássio nos tecidos das folhas não foram significativamente afetados pelas diferentes combinações de fertilizantes, exceto que o teor de potássio foi significativamente menor sem adição de fertilizantes. Por qualquer razão neste caso não se registou efeito de acumulação, talvez porque os autores tivessem utilizado fertilizantes que contêm potássio e tratamento testemunha que não contém, ou o solo era particularmente pobre em potássio.

Microrganismos fixadores como *Azotobacter* auxiliam na disponibilidade de certos nutrientes como carbono, azoto, fósforo e enxofre através da aceleração da mineralização de resíduos orgânicos no solo e evitam a absorção de metais pesados (Wani *et al.*, 2016). Eles podem ajudar na melhoria da produtividade e qualidade da cultura, aumentando a fixação biológica e disponibilidade de azoto, facilitando a absorção de nutrientes. O efeito de melhoria dos fertilizantes orgânicos sobre o teor de azoto, fósforo e potássio nas folhas pode ser atribuído à sua influência manifestada no aumento da matéria orgânica no solo. A adição de fertilizante orgânico aumenta o teor de minerais foliares devido à disponibilidade de nutrientes no solo. Os biofertilizantes ajudam na disponibilidade de minerais e suas formas no material compostado e aumentam os níveis de NPK que a planta é capaz de absorver (Shaheen *et al.*, 2013).

4.1.4. Azoto exportado

A aplicação do tratamento Min2 foi aquela que resultou em valores mais elevados de exportação de azoto, enquanto a aplicação do fertilizante não enriquecido Organ foi aquela que apresentou resultados mais baixos entre os fertilizantes. A testemunha, no geral, foi aquela onde se obtiveram os valores mais baixos. Isto é explicado pelo fato do azoto do fertilizante mineral estar integralmente disponível após aplicação e no caso dos fertilizantes orgânicos apenas uma fração é mineralizada durante a experiência, sendo essa fração variável em função das características do material orgânico. Os fertilizantes orgânicos têm um efeito mais lento devido à libertação gradual dos nutrientes, podendo

o azoto não ser integralmente recuperado durante uma estação de crescimento (Rodrigues, 1995; 2000).

No ciclo da Couve a aplicação do tratamento Min1 foi aquela onde houve maior exportação de azoto. O Organ foi o fertilizante que resultou em valores de menor exportação, enquanto no geral os valores mais baixos foram obtidos na modalidade testemunha. Os resultados são os expectáveis tendo em conta o explicado no ponto anterior, uma vez que o valor da exportação é obtido através da multiplicação do valor da matéria seca pela concentração do nutriente na massa seca.

4.1.5. Exportação de outros nutrientes

Os maiores valores de exportação de fósforo foram obtidos com a aplicação do tratamento Min2 enquanto nos talhões com o fertilizante Organ foi onde se registou menor exportação entre os tratamentos fertilizantes. Nos talhões da modalidade testemunha, sem aplicação de fertilizante, foi, como esperado, onde no geral ocorreu a menor exportação de fósforo.

O tratamento Min1 foi aquele que esteve associado aos maiores valores de exportação de fósforo na cultura da Couve. No caso da exportação ela depende da produção de biomassa e da concentração do nutriente nos tecidos. Como as concentrações de nutrientes nos tecidos variaram menos, manifestou-se sobretudo o efeito da produção de biomassa, daí resultando valores mais elevados de exportação para as modalidades de fertilização mineral.

Nos talhões em que foi aplicado o adubo Min2 registou-se maior exportação de potássio. Quando aplicado o fertilizante Organ observaram-se menores valores de exportação deste nutriente.

No caso da Couve observou-se que a exportação de potássio foi mais apreciável com a aplicação do tratamento Min1, verificando-se o oposto com a aplicação do fertilizante Organ que teve o desempenho mais baixo. Tal como se referiu anteriormente a exportação relativa destes nutrientes está sobretudo relacionada com a produção de biomassa já que as diferenças na concentração de nutrientes nos tecidos foram menos assinaláveis.

4.2. Ensaio em vasos

4.2.1. Produção de matéria seca

A aplicação do tratamento Min2 foi aquela que se revelou mais eficiente na produção de matéria seca, tendo os resultados sido superiores aos registados nos vasos com a aplicação dos demais fertilizantes. O resultado é esperado já que neste tratamento foi aplicada uma dose dupla de azoto durante os ciclos culturais e visto este nutriente exercer um efeito marcado na vegetação. Entre as modalidades fertilizadas, a menor produção de matéria seca foi observada com a aplicação do fertilizante orgânico não enriquecido com microrganismos (Organ) que obteve valores idênticos aos da modalidade testemunha. De uma maneira geral, os fertilizantes orgânicos tiveram resultados mais baixos em relação ao adubo mineral.

Na cultura da Couve observou-se um comportamento similar ao visto nas demais, tendo as plantas respondido melhor à aplicação do adubo mineral em comparação com os fertilizantes orgânicos, com destaque para a dose dupla de azoto que resultou numa maior produção de matéria seca. Entre os fertilizantes orgânicos, Organ foi o tratamento que se revelou menos eficiente, apresentando a produção de matéria seca mais baixa.

Arrobas *et al.* (2006) ao estudarem o efeito de fertilizantes minerais e orgânicos na produção de azevém referiram que o processo de libertação lenta de azoto para a cultura faz antever dificuldades na gestão destes fertilizantes em culturas anuais de ciclo curto, uma vez que podem ficar privadas de azoto durante fases importantes do seu desenvolvimento. A falta de sincronia temporal entre a mineralização de azoto da matéria orgânica e sua absorção pela cultura é um grande desafio para a gestão da fertilidade do solo e o uso de fertilizantes orgânicos (Zoltán *et al.*, 2013; Soleimanzadeh). As bactérias *Azotobacter* têm a capacidade de proliferar e colonizar a rizosfera de culturas agrícolas de forma mais eficaz se a sua inoculação for feita diretamente em sementes (Hussain *et al.*, 1987). Outros estudos referem que as maiores produções obtidas com a aplicação de fertilizantes minerais são devidas à maior disponibilidade de nutriente relativamente a outras modalidades, sobretudo às modalidades testemunha, (Souza e Alcântra, 2008; Hasan e Solaiman, 2012; Jigme *et al.*, 2015). *Azotobacter* aumenta o azoto disponível no solo, o que pode aumentar o rendimento da cultura. Isso ajuda a aumentar a disponibilidade de nutrientes e restaurar a fertilidade do solo para uma melhor resposta da cultura. É um componente importante

do sistema integrado de manejo de nutrientes, devido ao seu papel significativo na sustentabilidade do solo (Jnawali *et al.*, 2015).

4.2.2. Concentração de azoto nos tecidos

A concentração de azoto nos tecidos no ciclo Alface1 foi mais elevada no tratamento Min2 relativamente aos restantes, sendo que a aplicação do tratamento Min1 obteve resultados equivalentes aos fertilizantes orgânicos. As plantas nos vasos testemunha foram aquelas que, tal como esperado, apresentaram menor concentração de azoto nos tecidos. No ciclo Alface2 as plantas dos vasos com o tratamento Biof2 foram as que apresentaram concentrações de azoto mais elevadas. Neste ciclo cultural o fertilizante orgânico Organ foi aquele que originou resultados mais baixos em azoto e aproximados aos obtidos nos vasos da modalidade testemunha. Os vasos com o tratamento Min2 foram aqueles em que a concentração de azoto foi mais elevada na cultura da Nabiça, onde os fertilizantes orgânicos enriquecidos (Biof1 e Biof2) apresentaram valores pouco significativos.

A análise às plantas do ciclo da Couve mostrou que o tratamento Min2 foi aquele que obteve maiores concentrações de azoto, sendo que nos restantes fertilizantes a concentração do nutriente foi aproximada à obtida nos vasos com a modalidade testemunha. De uma maneira geral, os tratamentos que aumentaram a disponibilidade de azoto no solo e que originam maior produção de biomassa também originaram tendencialmente maior concentração de azoto nos tecidos, embora o efeito fique mais camuflado pelo efeito de diluição associado ao aumento da biomassa.

Quanto aos fertilizantes orgânicos enriquecidos, a inoculação de microrganismos pode melhorar o crescimento da planta e a sua nutrição em termos de azoto, embora a resposta à inoculação seja variável. Na maioria dos estudos onde a inoculação com microrganismos fixadores de azoto foi benéfica, a resposta foi devida a outros fatores que permitiram o aumento da fixação de azoto. Algumas das possibilidades são o maior crescimento dos pelos radiculares que melhoram a absorção de água e nutriente e melhoram a permeabilidade da raiz. A inoculação de *Azotobacter* e *Clostridium* pode fornecer um máximo de 5 kg ha⁻¹ de azoto, portanto, estes organismos não simbióticos têm pouco valor para a disponibilidade de azoto na agricultura intensiva (Havlin *et al.*, 2014).

4.2.3. Concentração nos tecidos de outros nutrientes.

No ciclo cultural Alface1 as plantas dos diferentes tratamentos não apresentaram valores muito dissimilares entre si, tendo sido registadas concentrações de fósforo nos tecidos equivalentes. No ciclo cultural Alface2 os valores mais elevados foram obtidos sem aplicação de fertilizante, sendo que os tratamentos fertilizantes não registaram resultados diferentes na sua aplicação. No ciclo da Nabiça houve um comportamento similar ao anterior, onde os vasos sem fertilizante apresentaram as concentrações de fósforo mais elevadas. O melhor resultado entre os fertilizantes foi de Organ, que teve resultados aproximados à modalidade testemunha, e superior aos do fertilizante mineral e dos fertilizantes orgânicos enriquecidos com microrganismos. Quanto ao ciclo da Couve as plantas não apresentaram valores de concentração de fósforo nos tecidos muito diferentes nos tratamentos aplicados. Uma vez mais, parece ser evidente um efeito de concentração, isto é, como as plantas de todas as modalidades têm acesso ao fósforo em quantidades adequadas, as que têm menor produção de biomassa aparecem com teores de fósforo mais elevados (por exemplo, testemunha).

No ciclo cultural Alface1 não foi significativo o efeito dos diferentes tratamentos sobre a concentração de potássio nos tecidos. Contudo, a modalidade testemunha foi aquela onde as plantas apresentaram maiores concentrações de potássio. No ciclo Alface2 os fertilizantes orgânicos foram os tratamentos fertilizantes onde se observaram as maiores concentrações, sendo que, claramente, os adubos minerais registaram respostas menos notáveis na concentração do nutriente. Comportamento diferente é observado na cultura da Nabiça em que os valores de concentração são mais elevados com a aplicação do tratamento Min2 e a resposta menos positiva é com a aplicação dos fertilizantes orgânicos enriquecidos. No ciclo da Couve, não houve um efeito significativo na aplicação dos tratamentos sobre a concentração de potássio nos tecidos. Apesar de alguma perturbação nos resultados (ciclo da Nabiça) associada eventualmente a alguma variabilidade experimental, a tendência é similar ao registado no caso do fósforo e as justificações serão as mesmas, isto é, com igual disponibilidade de potássio no solo, as plantas com menor crescimento revelaram valores mais elevados nos tecidos por efeito de concentração.

4.2.4. Azoto exportado

Os vasos com a aplicação do tratamento Min2 registaram valores de azoto exportado mais elevados no total da sequência de culturas e Organ foi o tratamento fertilizante cuja exportação foi menor, tendo também sido o tratamento que registou menor produção de matéria seca.

A cultura da Couve apresentou comportamento similar ao observado no ponto anterior com o destaque para o tratamento Min2 com maior exportação e os fertilizantes orgânicos Organ e Biof1 com valores menos apreciáveis. A exportação de azoto foi influenciada pela produção de biomassa, tendo os valores mais elevados sido registados nas modalidades mais produtivas e estas foram aquelas em que a disponibilidade de azoto no solo foi mais elevada.

4.2.5. Exportação de outros nutrientes

A exportação de fósforo foi mais elevada nos vasos com a aplicação dos adubos minerais. Entre os fertilizantes orgânicos a maior exportação aconteceu com o Biof1, sendo que o Organ é o tratamento com a menor exportação, próxima à observada nos vasos sem fertilização. O fósforo exportado na cultura da couve apresentou um certo equilíbrio entre os tratamentos fertilizantes, ainda que se possam destacar as modalidades Min2 e Biof2 como sendo aquelas com maiores valores.

No caso da exportação de fósforo a produção de biomassa beneficia as modalidades com maior disponibilidade de azoto e a concentração nos tecidos beneficia as modalidades de menor disponibilidade de azoto, embora como efeito final no fósforo exportado pareça prevalecer a maior produção de biomassa.

Os vasos com a aplicação do tratamento Min2 e Min1 foram aqueles em que se observou uma maior exportação de potássio. Quando analisados os resultados da aplicação dos fertilizantes orgânicos podemos observar que na aplicação do Organ é onde a exportação de potássio é menor. A exportação de potássio na cultura da Couve revelou um certo equilíbrio entre os tratamentos fertilizantes. Estes resultados seguiram o padrão do fósforo e são justificáveis pelas mesmas razões.

4.3. Indicadores de disponibilidade de azoto no solo durante e após os ensaios

4.3.1. Concentração de nitratos no solo

A concentração de nitratos nos extratos variou entre os ciclos culturais. Foram mais elevados no ciclo cultural Alface1, decresceram no ciclo Alface2 e voltaram a aumentar no ciclo da Nabiça. Isto pode ter sido devido ao fato de não ter decorrido o mesmo tempo entre a aplicação dos fertilizantes e a data de inserção das membranas no solo. No tratamento Min2 registaram-se os valores mais elevados, sendo os do fertilizante Biof1 os que mais se aproximaram. O resultado prova que nos tratamentos com adubos minerais a disponibilidade de azoto para as plantas foi maior. De acordo com estes resultados Herencia *et al.* (2007) referem que a concentração de nitratos é sempre baixa em solos fertilizados com fertilizantes orgânicos.

4.3.2. Cultivo de cevada em vasos

A Cevada apresentou melhor produção de matéria seca nos vasos com os tratamentos Min2, Biof2 e Biof1, o que revela a presença residual do azoto nos vasos onde foram aplicados estes fertilizantes. Esta cultura não foi diretamente fertilizada. O azoto disponível está relacionado com a fertilidade residual. O resultado mostrou que alguns fertilizantes continuaram a libertar azoto após o último ciclo de Nabiça mas também os fertilizantes minerais revelaram um efeito residual. É normalmente este efeito da fertilidade residual que se valoriza na rotação de culturas mas que também pode originar contaminação ambiental. Isto é, depois de colhidas as culturas principais, fica ainda azoto no solo que pode ser lixiviado ou desnitrificado com consequências ambientais negativas. Diversos trabalhos científicos têm chamado a atenção para este problema (Rodrigues e Coutinho, 2000; Rodrigues *et al.*, 2002; 2006)

Não foram registadas diferenças significativas na concentração de azoto nos tecidos da Cevada, devido provavelmente aos efeitos de diluição e concentração já anteriormente mencionados.

Os maiores valores de exportação de azoto foram observados nos vasos com aplicação do tratamento Min2 com valores aproximados aos fertilizantes orgânicos enriquecidos com microrganismos. Isto significa que a produção de biomassa se

sobrepôs, já que a concentração de azoto nos tecidos não variou significativamente entre tratamentos.

4.4. Eficiência de uso do azoto

No ensaio de campo, a aplicação do tratamento Min1 foi a que originou maior percentagem de recuperação de azoto durante o total dos dois anos, enquanto a recuperação de azoto foi mais baixa com o fertilizante Organ. Entre culturas, a maior eficiência no uso do azoto foi conseguida no ciclo da Nabiça com recuperações aparentes de azoto acima dos 50%.

A recuperação de azoto no ensaio em vasos foi similar ao observado no ensaio de campo, onde a melhor prestação foi observada nos vasos com a aplicação do Min1 e os vasos com Organ a apresentarem as menores taxas de recuperação. O ciclo Alface2 foi aquele onde se conseguiram melhores taxas de recuperação do nutriente.

Os resultados de recuperação de azoto por parte dos fertilizantes orgânicos foram, de uma maneira geral, baixos. Segundo Rodrigues (1995) a baixa eficiência de utilização do azoto com os fertilizantes orgânicos traduz o fato de apenas uma reduzida fração de azoto neles contida ser disponibilizada no primeiro ano, pelo processo de mineralização. Por outro lado, a eficiência de utilização do azoto decresce à medida que as quantidades de azoto aplicado aumentam. Do azoto aplicado como fertilizante apenas uma fração, normalmente inferior a 50%, é utilizada pelas plantas. A dose de azoto é um dos fatores que mais contribui para a baixa eficiência de uso do nutriente, embora as técnicas de aplicação tenham também papel significativo (Boswell *et al.*, 1985; Rodrigues, 1995), o que explica o fato da aplicação de dose dupla de azoto pelo adubo mineral ter registado valores de recuperação menores em relação à dose simples. Também de acordo com Tyler *et al.* (1983), de uma maneira geral, à medida que o teor de azoto aplicado aumenta, o azoto aparentemente recuperado tende a diminuir, na medida em que as plantas não o conseguem absorver de uma forma tão eficiente e aumentam as perdas para o meio ambiente. Diversa literatura tem também demonstrado que o uso de fertilizantes orgânicos origina baixos valores de recuperação de azoto (Rodrigues, 1995; 2000; Rodrigues *et al.*, 2006).

V. Conclusões

Pelos resultados obtidos conclui-se que o adubo mineral teve um desempenho agronómico superior aos fertilizantes orgânicos utilizados no ensaio, e entre estes, o fertilizante não enriquecido com microrganismos foi aquele que apresentou os piores resultados.

A produção de biomassa pelas culturas foi significativamente influenciada pelos diferentes tratamentos fertilizantes. A maior produção foi originada com a aplicação do adubo mineral, em dose dupla e em dose única, que superou o desempenho dos fertilizantes orgânicos. O pior desempenho foi observado com a aplicação do fertilizante orgânico não enriquecido, o qual não se distanciou muito da produção de biomassa obtida sem aplicação de fertilizante.

A concentração de azoto nos tecidos não variou de forma significativa entre os diferentes tratamentos, embora se deva realçar que a aplicação dos adubos minerais resultou em valores médios de concentração deste nutriente mais elevados. A aplicação dos fertilizantes orgânicos resultou em valores mais baixos de concentração de azoto nos tecidos, sendo que o fertilizante orgânico não enriquecido foi aquele que revelou menor concentração deste nutriente nos tecidos das plantas. Devido ao efeito de diluição das modalidades fertilizadas (maior produção de biomassa), a não aplicação de fertilizante resultou em valores de concentração do nutriente nos tecidos equivalentes aos obtidos nos tratamentos fertilizados.

A concentração de outros nutrientes nos tecidos, nomeadamente fósforo e potássio, não foi significativamente afetada pelos diferentes tratamentos fertilizantes, provavelmente devido à disponibilidade destes nutrientes no solo, proporcionada pela aplicação de fósforo e potássio em fundo com o objetivo de que esses nutrientes não fossem limitantes ao crescimento das plantas. Os valores médios mais elevados foram registados na modalidade testemunha devido a um efeito de concentração (menor produção de biomassa).

A exportação de nutrientes foi mais elevada nos tratamentos com fertilizante mineral devido sobretudo à maior produção de biomassa. As plantas sujeitas à aplicação do fertilizante orgânico não enriquecido foram as que exportaram menos azoto entre os tratamentos fertilizados. As plantas que não receberam qualquer tipo de fertilizante foram aquelas que no geral apresentaram menor exportação de nutrientes.

A disponibilidade de azoto para as plantas durante os ensaios, analisada através da concentração de nitratos em extratos obtidos a partir de membranas de troca iónica inseridas nos solos dos vasos, foi mais elevada com a aplicação do adubo mineral em dose dupla.

A produção de biomassa, concentração e exportação de azoto na cultura da cevada demonstrou um efeito residual mais elevado do adubo mineral em dose dupla e dos dois fertilizantes orgânicos enriquecidos com microrganismos fixadores de azoto.

A eficiência de uso do azoto foi diferente entre os tratamentos fertilizantes, onde a aplicação da dose única do adubo mineral teve os valores mais elevados de azoto recuperado. O fertilizante orgânico não enriquecido registou os menores valores de recuperação de azoto.

Por apresentarem uma libertação de azoto mais lenta que os adubos minerais, a aplicação exclusiva de fertilizantes orgânicos pode originar dificuldades na gestão da fertilidade dos solos e da disponibilidade de nutrientes para as culturas hortícolas de ciclo curto.

Referências

- ADAS, 2000. Les Fertilisants Organiques. Sciences et Techniques de L'an. Le Courier du Livre, 21, rue de Seine, 75006 Paris.
- Adeoye, G.O., Sridhar, M.K.C., Adeoluwa, O.O., Oyekunle, M., Makinde, E.A., Olowoake, A.A. 2008. Comparative evaluation of organomineral fertilizer (OMF) and mineral fertilizer (NPK) on yield and quality of maize (*Zea mays* (L) Moench). Niger J Soil Sci. 18:141–147.
- Agroconsultores e Coba. 1991. Carta dos solos, carta do uso atual da terra e carta da aptidão da terra do nordeste de Portugal. Lisboa. UTAD.
- Ahmad, N. 1996. Nitrogen Economy in Tropical Soils. Proceedings of the International Symposium on Nitrogen Economy in Tropical Soils, held in Trinidad, W.I., January 9-14, 1994. Developments in Plant and Soil Sciences. Vol. 69. Kluwer Academic Publishers.
- Ainika, J.N., Amans, E.B., Olonitola, C.O., Okutu, P.C., Dodo, E.F. 2012. Effect of organic and inorganic fertilizer on growth and yield of *Amaranthus caudatus* L. in Northern Guinea Savanna of Nigeria. World J Eng Pure Appl Sci. 2 (2): 26–30.
- Almeida, D.P.F. 2006. Manual de Culturas Hortícolas. V. 1. Editorial Presença. Lisboa.
- Altuhaish, A., Hamim., Tjahjoleksono, A. 2014. Biofertilizer effects in combination with different drying system and storage period on growth and production of tomato plant under field conditions. Plant Science (regular article), Emir J Food Agric. 26 (8): 716-722.
- Araújo, W.B.M. 2008. Fertilização orgânica no desenvolvimento da leguminosa crotalária juncea, *crotalária juncea* L. Mossoró-RN. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Área de concentração: Fitotecnia. 52f. il. CDD: 633.3.
- Arrobas, M., Rodrigues, M.A., Tomás, P. 2006. Efeito de fertilizantes minerais e orgânicos na produção de azevém (*Lolium multiflorum* L.). Eficiência de utilização de azoto. In: II Congresso Ibérico da Ciência do Solo. Huelva. p. 166

- Boraste, A., Vamsi, K.K., Jhadav, A., Khairnar, Y., Gupta, N., Trivedi, S., Patil, P., Gupta, G., Gupta, M., Mujapara, A.K., Joshi B. 2009. Biofertilizers: A novel tool for agriculture. *Int J Microbiol Res.* 1: 23-31.
- Boswell, F.C., Meisinger, J.J., Case, N.L. 1985. Production, marketing and use nitrogen fertilizers. In: Engelstad, O.P. (ed.). *Fertilizer Technology and Use.* 3rd ed. SSSA, Madison, Wis. p. 290-292.
- Bremner, J.M. 1996. Nitrogen Total. In: *Methods of Soil Analysis. Part 3 - Chemical Methods.* SSSA Book Series. 5: 1085- 1121.
- Busato, J.G., Canellas, L.P., Dobbss, L.B, Baldotto, M.A, Aguiar, N.O., Rosa, R.C.C., Schiavo, J.A., Marciano, C.R., Olivares, F.L. 2008. Guia para adubação orgânica baseado na experiência com solos e resíduos do Norte Fluminense. Programa Rio Rural. Manual Técnico. p 14.
- Camargo, M.S. 2012. A importância do uso de fertilizantes para o meio ambiente. *Pesquisa & Tecnologia.* 9: 1-3.
- Carvalho, J.C.R., Sousa C.S., Sousa C.S. 2005. Fertilizantes e fertilização. Universidade Federal da Bahia. Escola de Agronomia. Departamento de química agrícola e solos. Cruz das Almas – BA
- Castellanos, J.Z., Pratt, P.F. 1981. Mineralization of manure nitrogen-correlation with laboratory indexes. *Soil Sci Soc Am J.* 45: 354-357.
- CBPA. 1997. Código das Boas Práticas Agrícolas para a proteção da água contra a poluição com nitratos de origem agrícola. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas.
- Chen, J.H. 2006. The combined use of chemical and organic fertilizers and/or biofertilizer for crop growth and soil fertility. International Workshop on Sustained Management of the Soil-Rhizosphere System for Efficient Crop Production and Fertilizer Use. p. 2-5.
- Clesceri, L., Greenberg, A.E., Eaton, A.D. 1998. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th ed.. APHA, AWWA, WEF.

- Ćustić, M., Poljak, M., Čoga, L., Ćosić, T., Toth, N., Pecina, M. 2003. The influence of organic and mineral fertilization on nutrient status, nitrate accumulation, and yield of head chicory. *Plant Soil Environ.* 49 (5): 218-222.
- Defra. 2010. *Fertiliser Manual (RB209)*. TSO. Information & publishing solutions. 8th ed.
- Deluca, T.H., Drinkwater, L.E., Wiefeling, B.A., Denicola, D.M. 1996. Free-living nitrogen-fixing bacteria in temperate cropping systems: Influence of nitrogen source. *Biol Fertil Soils.* 23: 140-144.
- El-Lattief, E.A.A. 2013. Impact of integrated use of bio and mineral nitrogen fertilizers on productivity and profitability of wheat (*Triticum aestivum* L.) under upper Egypt conditions. *Int J Agron Agri Res.* 3: 67-73.
- FAO. 2017. <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC> (consultado em 24 de janeiro de 2017).
- Finatto, J., Altmayer T., Martini, M.C., Rodrigues, M., Basso, V., Hoehne, L. 2013. A importância da utilização da adubação orgânica na agricultura. *Revista destaques acadêmicos, CETEC/UNIVATES.* 5 (4): 86.
- Fontanétti, A., Carvalho, G.J., Gomes, L.A.A., Almeida, K., Moraes, S.R.G., Teixeira C.M. 2006. Adubação verde na produção orgânica de alface americana e repolho. *Horticultura Brasileira.* 24: 146-150.
- Gardê, H.A., Gardê N.V.P.M. 1988. *Culturas Hortícolas*. Nova Coleção Técnica agrária. V. 1: Clássica editora. 6^a ed.
- Haber, L.L., Ecolé, C.C., Bowen, W., Resende, F.V. 2015. Editores técnicos. *Horticultura em Moçambique: características, tecnologias de produção e de pós-colheita*. – Brasília, DF. Embrapa. 276 p.
- Hasan, M.R., Solaiman, A.H.M. 2012. Efficacy of organic and inorganic fertilizer on the growth of *Brassica oleracea* L. (Cabbage). *Int J Agri Crop Sci.* 4 (3): 128-138. Available online at www.ijagcs.com.
- Havlin, J.L., Tisdale, S.L., Nelson, W.L., Beaton, J.D. 2014. *Soil Fertility and Fertilizers: an introduction to nutrient management*. Pearson Education Ltd. 8th ed.

- Herencia, J.F., Ruiz-Porras, J.C., Melero, S., Garcia-Galavis, P.A., Morillo, E., Maqueda, C. 2007. Comparison between organic and mineral fertilization for soil fertility levels, crop macronutrient concentrations, and yield. *Am Soc Agron.* 99: 973-983.
- Herrmann L., Lesueur, D. 2013. Challenges of formulation and quality of biofertilizers for successful inoculation. *Appl Microbiol Biotechnol.* 97: 8859–8873 <http://www.ejfa.info/>
- Hussain, A., Arshad, M., Hussain, A., Hussain, F. 1987. Response of maize (*Zea mays*) to *Azotobacter* inoculation under fertilized and unfertilized conditions. Springer-Verlag. *Biol Fertil Soils.* 4: 73-77.
- Illescas, E.S. Vesperinas, E.S. 1994. Tratado de Horticultura Herbacea 3. Hortalizas de hoja, de raíz y de hongos. Editorial AEDOS. Barcelona.
- Ipinmoroti, R.R., Adebawale, L.A., Ogunlade, M.O., Iremiren, G.O., Adeoye, G.O. 2006. Effect of inorganic and organic nutrient sources on growth, dry matter yield and nutrient uptake of Coffee (*Coffea canephora* L) seedlings. Proceedings international coffee (ASIC) Conference, France. p. 1196–1198.
- IPMA. 2014. Boletim Climatológico Mensal: Portugal continental, Setembro de 2014. Lisboa: Instituto português do mar e da atmosfera.
- Isherwood K.F. 2000. Mineral Fertilizer Use and the Environment. International Fertilizer Industry Association. (UNEP) United Nations Environment Programme.
- Jigme, Jayamangkala, N., Sutigoolabud, P., Inthasan, J., Sakhonwasee, S. 2015. The effect of organic fertilizers on growth and yield of broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica* Plenck cv. Top Green). *J Organic Syst.* 10 (1): 9-14.
- Jiménez, P.G.S., Marotta, J.J.L., Criado, S.R., García, M.N. 2010. Guía práctica de la fertilización racional de los cultivos en España. Parte I. Governo de España. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino. Secretaría General Técnica. Centro de Publicaciones.
- Jnawali, A.D., Ojha, R.B., Marahatta, S. 2015. Role of *Azotobacter* in soil fertility and sustainability – A Review. *Adv Plants Agric Res.* 2 (6): 00069.

- Jones, J.J. 2001. Laboratory Guide for Conducting Soil Tests and Plant Analysis. London, New York, Washington, DC: CRC Press, Boca Raton.
- Kannaiyan, S. 2002. Biotechnology of Biofertilizers. Narosa Publishing House, New Delhi, India.
- Křístková, E., Doležalová, I., Lebeda, A., Vinter, V., Novotná, A. 2008. Description of morphological characters of lettuce (*Lactuca sativa* L.) genetic resources. Department of Botany, Faculty of Science, Palacký University in Olomouc, Olomouc-Holice, Czech Republic. Horticultural Science (Prague). 35 (3): 113–129.
- Lai, W., Rekha, P.D., Arun, A.B., Young, C. 2008. Effect of mineral fertilizer, pig manure, and *Azospirillum rugosum* on growth and nutrient contents of *Lactuca sativa* L. Biol Fertil Soils. 45: 155–164.
- Luz, M.J.S., Ferreira, G.B., Bezerra J.R.C. 2002. Adubação e Correção do Solo: Procedimentos a serem adotados em função dos resultados da análise do solo. Embrapa. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Circular técnica. Campina Grande.
- Madrid, A., Madrid, R., Vicente J.M. 1996. Fertilizantes. AMV Ediciones Mundi-Prensa.
- Malusá, E., Sas-Paszt, L., Ciesielska, J. 2012. Technologies for beneficial microorganisms inocula used as biofertilizers. The Sci World J. 12: 1. Article ID 491206, DOI:10.1100/2012/491206
- Malusá, E., Pinzari, F., Canfora, L. 2016. Efficacy of biofertilizers: Challenges to Improve Crop Production. Microbial Inoculants in Sustainable Agricultural Productivity. Springer India. DOI 10.1007/978-81-322-2644-4_2.
- Maroto, J.V. 2000. Horticultura Herbacea Especial. 4^a ed. Mundi-Prensa.
- Militão, C.M.T. 2004. Estudo do Ciclo do Azoto, uma aplicação para o ensino. Departamento de Botânica, Faculdade de Ciências da Universidade do Porto.
- Mohammadi, K., Sohrabi, Y. 2012. Bacterial biofertilizers for sustainable crop production: a review. ARPN J Agric Biol Sci. 7: 307-311.

- Mukerji, K.G., Manoharachary, C., Singh, J. Microbial. 2006. Activity in the Rhizosphere. Soil Biology, Ajit Varma 7. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Oliveira, L.B., Accioly, A.M.A., Santos, C.L.R., Flores, R.A., e Barbosa, F.S. 2014. Chemical characteristics of the soil and biomass of lettuce fertilized with organic compounds. Rev Br Eng Agrí Ambient. 18 (2): 157-164.
- Ouda, B.A., Mahadeen, A.Y. 2008. Effect of fertilizers on growth, yield, yield components, quality and certain nutrient contents in broccoli (*Brassica oleracea*). Int J Agri Biol. 10: 627–32.
- Paul, E.A., Clark, F.E. 1996. Soil Microbiology and Biochemistry. Library of Congress Cataloging-in-Publication Data. Academic Press, Inc. 2nd ed.
- Rai, M.K. 2009. Handbook of Microbial Biofertilizers. CRC Press.
- Ramakrishnan, K., Selvakumar, G. 2012. Effect of biofertilizers on enhancement of growth and yield on tomato (*Lycopersicum esculentum* Mill.). Original Article, Int J Res Bot. Universal Research Publications. 2 (4): 20-23. Available online at <http://www.urpjournals.com>.
- Rechcigl, J.E., Mackinnon, H.C. 1997. Agricultural Uses of By-Products and Wastes. ACS Symposium Series 668. Am Chem Soc, Washington, DC.
- Ripado, M.F.B. 1993. A Alface: variedades, cultura, produção. Biblioteca do Agricultor. Publicações Europa-América.
- Rodrigues, M.A. 1995. Influência da fertilização mineral e orgânica na cultura da batata. Eficiência de utilização do azoto. Instituto Superior de Agronomia. Universidade Técnica de Lisboa.
- 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, UTAD, Vila Real.
- Rodrigues, M.A., Coutinho, J.F. 2000. Eficiência de utilização do azoto pelas plantas. Série Estudos, nº 47. Instituto Politécnico de Bragança, 48 p.

- Rodrigues, M.A., Coutinho, J., Martins, F. 2002. Efficacy and limitations of triticale as nitrogen catch crop in a Mediterranean environment. *Eur J Agron.* 17 (3): 155-160.
- Rodrigues, M.A., Pereira, A., Cabanas, J.E., Dias, L., Pires, J., Arrobas, M. 2006. Crops use-efficiency of nitrogen from manures permitted in organic farming. *Eur J Agron.* 25: 328-335.
- Rodrigues, M.A., Pereira, J.A., Arrobas, M., Andrade, P., Bento, A. 2009. Resposta da couve Tronchuda (*Brassica oleracea* var. *costata*) à aplicação de azoto e boro e de um fertilizante orgânico autorizado em agricultura biológica. *Rev Ciênc Agr.* 1: 93-100.
- Rodrigues, M.A., Arrobas, M. 2011. Gestão da fertilização azotada em agroecossistemas. In: Workshop Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável. Bragança.
- Rodrigues, M.A., Andrade, J.A., Fernandes, H.M., Fonseca, B.M., Marrão, R.M., Nunes, J.T., Oliveira, J.M., Rego, P.M., Ribeiro, L.M., Silva, D.B., Vale, L.C., Arrobas, M. 2012. Produção e azoto recuperado por nabiça e cevada cultivadas em vasos a partir de fertilizantes orgânicos e minerais. In V Congresso Ibérico da Ciência do Solo. Angra do Heroísmo.
- Romero, E.M., Guerrero, M.G.L., Orrillo, E.O., Moles, C. 2013. Los Biofertilizantes y su uso en la Agricultura. Manual teórico-práctico. SANGARPA-COFUPRO-UNAM.
- Salunkhe, D.K., Kadam, S.S. 2004. Tratado de ciencia y tecnología de las hortalizas. Producción, composición, almacenamiento e processado. Editorial ACRIBIA, SA. Zaragoza, Espanha.
- Santacruz, G.A. 2012. Introducción al uso y manejo de los biofertilizantes en la Agricultura. INIFAP/SAGARPA. México.
- Santos, J.F. 2008. Fertilização orgânica de batata-doce com esterco bovino e biofertilizante – Areia – PB:UFPB/CCA. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal da Paraíba – Centro de Ciências Agrárias, Areia. 109f. il.

- Santos, J.Q. 2015. Fertilização: fundamentos agroambientais da utilização dos adubos e corretivos. Publindústria.
- Savoy, H. 2015. Fertilizers and their use. Agricultural Extension Service. The University of Tennessee.
- Schepers, J.S., Raun, W.R. Co-editors. 2008. Nitrogen in Agricultural Systems. Agronomy Monograph 49. Am Soc Agron.
- Sékula, C.R. 2011. Características químicas do solo e produção de grandes culturas com rochagem e biofertilizantes (Dissertação de Mestrado). Guarapuava-PR.
- Sethi, S.K., Adhikary, S.P. 2012. Azotobacter. A Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Used as Biofertilizer. Global Science Books. Dynamic Biochemistry, Process Biotechnology and Molecular Biology. 6 (Special Issue 1): 68-74.
- Shaheen, M.A., Sahar M., Sahar, M.A.E., El-Morsy, F.M., Ahmed, A.S.S. 2013. Effect of organic and bio-fertilizers as a partial substitute for NPK mineral fertilizer on vegetative growth, leaf mineral content. Yield and fruit quality of superior Grapevine. J Hort Sci Ornam Plants. 5 (3): 151-159.
- Sharma, A.K.. 2005. Biofertilizers for Sustainable Agriculture. Central Arid Zone Institute. Agrobios. India.
- Shingo, G.Y., Ventura, M.U. 2009. Produção de couve *Brassica oleracea* L. var. *acephala* com adubação mineral e orgânica. Semina: Ciências Agrárias, Londrina. 30: 589-594.
- Silva, A. 2011. Comportamento da cultura do milho (*Zea mays* L.) em função da quantidade de matéria orgânica e de biofertilizantes aplicado via foliar (Trabalho de Conclusão de Curso – Graduação em Ciências Agrárias). Centro de Ciências Humanas e Agrárias. Universidade Estadual da Paraíba.
- Silva, E.C.F. 2008. Produção de composto orgânico. Trabalho de Conclusão do Curso de Tecnologia em Cafeicultura (Graduação) - Escola Agrotécnica Federal de Muzambinho.

- Soleimanzadeh, H., Gooshchi, F. 2013. Effects of *Azotobacter* and nitrogen chemical fertilizer on yield and yield components of wheat (*Triticum aestivum* L.). *World Appl Sci J.* 21 (8): 1176-1180.
- Souza, R.B., Alcântara, R. A.2008. Adubação no sistema orgânico de produção de hortaliças. Embrapa Hortaliças. Circular Técnica nº 65.
- Tarigo, A., Repetto C., Acosta, D. 2004. Evaluación agronómica de biofertilizantes en la producción de lechuga (*Lactuca sativa*) a campo. Universidad de la Republica. Facultad de Agronomía. Montevideo Uruguay.
- Tedesco, M.J., Gianello, C., Anghioni, I., Bissani, C.A., Camargo, F.A.O. 2004. Manual de adubação e de calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. Comissão de Química e Fertilidade do Solo. 10ª ed. Porto Alegre.
- Trani, P.E., Terra, M.M., Tecchio, M.A., Teixeira, L.A.J., Hanasiro. 2013. Adubação Orgânica de Hortaliças e Frutíferas. Instituto Agronômico de Campinas.
- Tyler, K.B., Broadbent, F.E., Bishop, J.C. 1983. Efficiency of nitrogen uptake by potatoes. *Am Potato J.* 60: 261-269.
- Varennes, A. 2003. Produtividade dos Solos e Ambiente. Escolar editora. Lisboa
- Vessey, J.K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands. *Plant Soil.* 255: 571–574.
- Walinga, I., van Vark, W., Houba, V.J.G., van der Lee, J.J. 1997. Soil and Plant Analysis. Part 7 Plant analysis procedures. Landbouwniversiteit Wageningen.
- Wani, S.A., Chand, S., Wani, M.A., Ramzan, M., Hakeen, K.R. 2016. *Azotobacter chroococcum* – A potential biofertilizer in agriculture: An Overview. *Soil Science: Agricultural and Environmental Perspectives.* Springer International Publishing Switzerland, DOI 10.1007/978-3-319-34451-5_15.
- Whitehead, D.C. 1995. Grassland Nitrogen. CAB International. Wallingford. Oxon OX10 8DE. UK.

- Yague, J.L.F 1994. El Suelo y los Fertilizantes. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Instituto Nacional de Reforma y Desarrollo Agrario. 4ª edición. Ediciones Mundi-Prensa.
- Yousafzai, S.K., Khan, S.M., Rehman, K., Khan, J., Khan, S.A., Hussain, I., Naz, I. 2016. Response of tomato cultivars to different organic fertilizers under agro-climatic conditions of Mingora, swat. Pakistan J Agri Res. 29: 61-70.
- Zoltán, H., Malusa, E., Coopman, F., De Neve, S. 2013. Opportunities and bottlenecks in the utilization of new kinds of organic fertilisers. Fertiliser efficiency in horticulture. EIP-AGRI.