

# **Valor fertilizante de leguminosas anuais cultivadas como adubo verde**

**Ézar Alfredo Nharreluga**

*Dissertação apresentada à Escola Superior Agrária de  
Bragança para obtenção do Grau de Mestre em Agroecologia  
no âmbito da dupla diplomação com o Instituto Superior  
Politécnico de Gaza*

Orientado por

**Professor Doutor Manuel Ângelo Rosa Rodrigues**

Coorientado por

**Professora Doutora Margarida Maria Pereira Arrobas Rodrigues**

**Professor Doutor Mário Tauzene Afonso Matangue**

**Bragança**

**2023**

*Este trabalho dedico a família Nharreluga  
A minha esposa Benazir da Graça Pedro Bambo Nharreluga  
A todos que direta ou indiretamente me apoiaram nesta caminhada...*

## **Agradecimentos**

Primeiramente, agradeço a Deus por me conceder saúde e sabedoria para materializar esta dissertação.

Ao Sr. Professor Manuel Ângelo Rosa Rodrigues, orientador desta dissertação, pela dedicação, orientação, ensinamentos desde a escolha do tema até a conclusão do curso.

A Sra. Professora Margarida Maria Pereira Arrobas, coorientadora deste trabalho, pela paciência e ensinamentos em matérias de fertilidade do solo em agroecossistemas que contribuíram imensamente para o meu aprendizado.

Ao Sr. Professor Mário Tauzene Afonso Matange, coorientador deste trabalho, pelos ensinamentos e confiança depositada em mim.

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

Agradeço também ao programa de mobilidade ERASMUS, pelo financiamento que possibilitou minha participação em um período de estudos no exterior e num contexto diferente. Essa oportunidade foi essencial para ampliar meus horizontes, conhecer outras culturas e enriquecer minha formação acadêmica.

Aos professores e colegas do mestrado em Agroecologia no geral, pelos conhecimentos compartilhados, troca de experiências e amizade, que tornaram essa jornada mais rica e prazerosa.

Aos meus pais Alfredo Saulane Nharreluga e Lúcia Filipe Langa Nharreluga, pela educação, valores, exemplos e incentivo que me proporcionaram ao longo da vida. Sempre estiveram ao meu lado, apoiando e me encorajando em todos os momentos, e foram fundamentais para eu chegar até aqui.

À minha esposa, Benazir Pedro Bambo Nharreluga, que esteve ao meu lado em todos os momentos, me dando apoio emocional e incentivo, mesmo quando as coisas pareciam difíceis. Seu apoio foi fundamental para que eu conseguisse atravessar essa fase e chegar até aqui.

Aos amigos e familiares, que mesmo distantes, sempre me apoiaram com palavras de conforto e motivação.

E a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho, meu sincero agradecimento e reconhecimento pelo esforço e colaboração.

Muito obrigado!



## Resumo

As leguminosas anuais cultivadas como adubo verde podem variar em seu valor fertilizante dependendo de vários fatores, como a espécie de leguminosa, o manejo agronômico e as condições do solo. No entanto, em geral, as leguminosas anuais têm um alto valor fertilizante devido à sua capacidade de fixar azoto atmosférico através da simbiose com bactérias da família Rizobiaceae. O azoto é um nutriente essencial para o crescimento das plantas, mas muitas vezes é limitado no solo. As leguminosas anuais têm a capacidade de fixar azoto atmosférico e convertê-lo em uma forma utilizável pelas plantas. Essa fixação de azoto ocorre dentro dos nódulos das raízes das leguminosas, onde as bactérias fixadoras transformam azoto elementar em amônia e outros compostos nitrogenados. Além de fornecer azoto para as plantas, as leguminosas anuais também podem melhorar a saúde do solo e aumentar sua fertilidade. Isso ocorre porque as raízes das leguminosas podem penetrar profundamente no solo, contribuindo para diminuir os riscos de compactação e usando nutrientes que estavam nas camadas mais profundas. Além disso, as leguminosas anuais também podem melhorar a estrutura do solo, aumentar a matéria orgânica e a capacidade de retenção de água. Neste trabalho, avaliou-se o valor fertilizante de leguminosas e gramíneas, incluindo seu potencial de incorporação de azoto no solo e o favorecimento na absorção de outros nutrientes, em duas áreas de olival de sequeiro com solos ácidos. O primeiro ensaio foi instalado na quinta do Valongo em Mirandela, no Nordeste de Portugal. O segundo ensaio foi instalado em Bragança na quinta do Pinheiro Manso. Cada ensaio consistiu em 11 talhões, sendo cada um delimitado por quatro oliveiras num compasso 7 m × 7 m, a que correspondem 49 m<sup>2</sup>, onde se semearam individualmente, fava (*Vicia faba*, cvs. Favel e Vesúvio), tremoço-branco (*Lupinus albus*, cv. Estoril), tremoço-de-folha-estreita ou tremoço-azul (*Lupinus angustifolium*, cv. Karo), tremocilhas (*Lupinus luteus*, cvs. Nacional e Mister), trevo-encarnado (*Trifolium incarnatum*, cv. Diogene), trevo-subterrâneo (*Trifolium subterraneum*, cvs. Campeda e Dalkeith), aveia (*Avena sativa*, cv. Boa Fé) e azevém anual (*Lolium multiflorum*, cv. Falladino). As plantas foram colhidas ao longo de três fases distintas (março a maio) e levadas para estufa de secagem regulada a 70 °C até atingirem peso constante, sendo posteriormente pesadas, moídas e analisadas para a composição elementar dos seus tecidos. Nos dois ensaios, as tremocilhas, cvs. Nacional (7,27 t ha<sup>-1</sup> e 8,28 t ha<sup>-1</sup>) e o tremoço-azul, cv. Karo (7,21 t ha<sup>-1</sup> e 8,83 t ha<sup>-1</sup>), apresentaram os maiores valores de matéria seca, assim como maior acumulação de azoto, revelando-se as mais promissoras para adubação verde, constituindo-se como uma importante fonte de azoto para a cultura principal e para a melhoria da fertilidade do solo.

**Palavras-chaves:** Fixação biológica do azoto; Leguminosas anuais; Adubos Verdes.

## Abstract

Annual legumes grown as green manure can vary in their fertilizing value depending on several factors, such as the legume species, agronomic management and soil conditions. However, in general, annual legumes have a high fertilizing value due to their ability to fix atmospheric nitrogen through symbiosis with bacteria of the Rizobiaceae family. Nitrogen is an essential nutrient for plant growth, but it is often limited in the soil. Annual legumes have the ability to fix atmospheric nitrogen and convert it into a form usable by plants. This nitrogen fixation occurs in the root nodules of legumes, where bacteria transform elemental nitrogen into ammonia and other nitrogenous compounds. In addition to providing nitrogen to plants, annual legumes can also improve soil health and increase soil fertility. This is because legume roots can penetrate deep into the soil, helping to reduce the risks of compaction and releasing nutrients that were taken up from deeper layers. Additionally, annual legumes can also improve soil structure and increase organic matter and water holding capacity. In this work, the fertilizing value of legumes and grasses was studied evaluating their potential for incorporating nitrogen into the soil and favoring the uptake of other nutrients, in two plots of rainfed olive groves with acidic soils. One experiment was installed at Quinta do Valongo in Mirandela, in the Northeast of Portugal. The second trial was installed in Bragança on the Pinheiro Manso farm. Each trial consisted of 11 plots, each delimited by four olive trees in a 7 m × 7 m space, corresponding to 49 m<sup>2</sup>, where were sown individually, broad beans (*Vicia faba*, cvs. Favel and Vesúvio) and white lupine (*Lupinus albus*, cv. Estoril), narrow-leaf lupine or blue lupine (*Lupinus angustifolium*, cv. Karo), lupins (*Lupinus luteus*, cvs. Nacional and Mister), red clover (*Trifolium incarnatum*, cv. Diogene), subterranean clover (*Trifolium subterraneum*, cvs. Campeda and Dalkeith), oats (*Avena sativa*, cv. Boa Fé) and annual ryegrass (*Lolium multiflorum*, cv. Falladino). The plants were sampled three times (from March to May), oven-dried at 70 °C until they reached a constant weight, and subsequently weighed, ground and analyzed for the elemental composition in their tissues. In both experiments, lupins, cvs. Nacional (7.27 t ha<sup>-1</sup> and 8.28 t ha<sup>-1</sup>) and blue lupine, cv. Karo (7.21 t ha<sup>-1</sup> and 8.83 t ha<sup>-1</sup>), presented the highest dry matter values, as well as the highest nitrogen accumulation, proving to be the most promising for green manure, constituting an important source of nitrogen for the main crop and for improving soil fertility.

**Keywords:** Biological nitrogen fixation; Annual legumes; Green manures.

## ÍNDICE

Índice de tabelas .....	ix
Índice de figuras .....	x
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>2. REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>3</b>
2.1. A agricultura no mundo .....	3
2.2. A sustentabilidade da agricultura.....	4
2.2.1. Agricultura intensiva.....	4
2.2.2. Agricultura orgânica.....	4
2.3. A fertilização das culturas.....	5
2.4. Fertilização azotada das culturas .....	5
2.4.1. O azoto na nutrição das plantas .....	6
2.4.2. O azoto no solo.....	7
2.4.3. Perdas de azoto a partir dos agro-sistemas .....	7
2.4.4. Impacto do azoto perdido dos campos agrícolas no meio ambiente .....	8
2.5. Fixação biológica de azoto.....	9
2.5.1. Capacidade de fixação de azoto.....	10
2.5.2. As leguminosas nos agro-sistemas .....	11
2.5.3. A adubação verde .....	12
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>13</b>
3.1. Caracterização da parcela experimental, do clima e do solo.....	13
3.2. Delineamento experimental e técnicas de cultivo .....	15
3.3. Colheita de amostras.....	16
3.4. Análise dos tecidos vegetais .....	17
3.4.1. Determinação do boro .....	18
3.4.2. Determinação de azoto .....	18
3.4.2. Determinação do fósforo, potássio, cálcio, magnésio, cobre, ferro, zinco e manganês .....	19
3.5. Análise estatística .....	19
<b>4. RESULTADOS .....</b>	<b>20</b>
4.1. PRODUÇÃO DE MATÉRIA SECA .....	20
4.2. CONCENTRAÇÃO DE NUTRIENTES NOS TECIDOS .....	28
4.2.1. Concentração de macronutrientes nos tecidos.....	28
4.2.2. Concentração de micronutrientes nos tecidos .....	33
4.3. NUTRIENTES RECUPERADOS NOS TECIDOS.....	38

4.3.1. Macronutrientes recuperados.....	38
4.3.2. Micronutrientes recuperados .....	44
<b>5. DISCUSSÃO .....</b>	<b>51</b>
<b>6. CONCLUSÕES.....</b>	<b>54</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>55</b>

## **Índice de tabelas**

Tabela 1: Propriedades do solo (média±desvio padrão) a partir de amostras colhidas na profundidade 0 – 0,20 m no início da instalação do ensaio em Mirandela. ....	14
Tabela 2: Propriedades do solo (média±desvio padrão) a partir de amostras colhidas na profundidade 0 – 0,20 m no início da instalação do ensaio em Bragança.....	14
Tabela 3: Doses de sementeira utilizadas .....	15

## Índice de figuras

Figura 1: Valores mensais de temperatura e precipitação da normal climatológica de Mirandela.....	13
Figura 2: Valores mensais de temperatura e precipitação da normal climatológica de Bragança.....	13
Figura 3: Estágio de desenvolvimento das plantas ao longo do tempo de crescimento (A) e formação de nódulos nas raízes (B).....	16
Figura 4: Método de colheita das partes aéreas das plantas de tremoceiro (A) e aveia (B) e aspeto da amostra colocada no saco (C).....	16
Figura 5: Processo de secagem das amostras em estufa de ventilação forçada.....	17
Figura 6: Processo de pesagem das amostras (A), moagem em moinho CT293 Cyclotec <sup>TM</sup> (B) e armazenamento (C).....	17
Figura 7: Procedimento de determinação do boro por incineração (A) e coloração com azometina-H (B).....	18
Figura 8: Produção de matéria seca pelas onze espécies/variedades usadas nos ensaios de Mirandela (esquerda) e Bragança (direita) nos cortes de 27 e 28 de março, 11 de abril e 6 de junho. As barras de erros são o desvio padrão das médias.....	21
Figura 9: Concentração de Azoto nos tecidos das espécies/variedades utilizadas como adubos verdes em Mirandela (esquerda) e Bragança (direita). As barras de erros são o desvio padrão das médias.....	28
Figura 10: Concentração do Fósforo nos tecidos das espécies/variedades utilizadas como adubos verdes em Mirandela (esquerda) e Bragança (direita). As barras de erros são o desvio padrão das médias.....	29
Figura 11: Concentração do Potássio nos tecidos das espécies/variedades utilizadas como adubos verdes em Mirandela (esquerda) e Bragança (direita). As barras de erros são o desvio padrão das médias.....	30
Figura 12: Concentração do Cálcio nos tecidos das espécies/variedades utilizadas como adubos verdes em Mirandela (esquerda) e Bragança (direita). As barras de erros são o desvio padrão das médias.....	31
Figura 13: Concentração do Magnésio nos tecidos das espécies/variedades utilizadas como adubos verdes em Mirandela (esquerda) e Bragança (direita). As barras de erros são o desvio padrão das médias.....	32
Figura 14: Concentração do boro nos tecidos das espécies/variedades utilizadas como adubos verdes em Mirandela (esquerda) e Bragança (direita). As barras de erros são o desvio padrão das médias.....	34
Figura 15: Concentração do ferro nos tecidos das espécies/variedades utilizadas como adubos verdes em Mirandela (esquerda) e Bragança (direita). As barras de erros são o desvio padrão das médias.....	35
Figura 16: Concentração do manganês nos tecidos das espécies/variedades utilizadas como adubos verdes em Mirandela (esquerda) e Bragança (direita). As barras de erros são o desvio padrão das médias.....	36
Figura 17: Concentração do zinco nos tecidos das espécies/variedades utilizadas como adubos verdes em Mirandela (esquerda) e Bragança (direita). As barras de erros são o desvio padrão das médias.....	37
Figura 18: Concentração do cobre nos tecidos das espécies/variedades utilizadas como adubos verdes em Mirandela (esquerda) e Bragança (direita). As barras de erros são o desvio padrão das médias.....	38

Figura 19: Azoto recuperado nos tecidos das espécies/variedades utilizadas como adubos verdes em Mirandela (esquerda) e Bragança (direita). As barras de erros são o desvio padrão das médias.....	39
Figura 20: Fósforo recuperado nos tecidos das espécies/variedades utilizadas como adubos verdes em Mirandela (esquerda) e Bragança (direita). As barras de erros são o desvio padrão das médias. ....	40
Figura 21: Potássio recuperado nos tecidos das espécies/variedades utilizadas como adubos verdes em Mirandela (esquerda) e Bragança (direita). As barras de erros são o desvio padrão das médias. ....	41
Figura 22: Cálcio recuperado nos tecidos das espécies/variedades utilizadas como adubos verdes em Mirandela (esquerda) e Bragança (direita). As barras de erros são o desvio padrão das médias.....	43
Figura 23: Magnésio recuperado nos tecidos das espécies/variedades utilizadas como adubos verdes em Mirandela (esquerda) e Bragança (direita). As barras de erros são o desvio padrão das médias. ....	44
Figura 24: Boro recuperado nos tecidos das espécies/variedades utilizadas como adubos verdes em Mirandela (esquerda) e Bragança (direita). As barras de erros são o desvio padrão das médias.....	45
Figura 25: Ferro recuperado nos tecidos das espécies/variedades utilizadas como adubos verdes em Mirandela (esquerda) e Bragança (direita). As barras de erros são o desvio padrão das médias.....	46
Figura 26: Manganês recuperado nos tecidos das espécies/variedades utilizadas como adubos verdes em Mirandela (esquerda) e Bragança (direita). As barras de erros são o desvio padrão das médias. ....	47
Figura 27: Zinco recuperado nos tecidos das espécies/variedades utilizadas como adubos verdes em Mirandela (esquerda) e Bragança (direita). As barras de erros são o desvio padrão das médias.....	48
Figura 28: Cobre recuperado nos tecidos das espécies/variedades utilizadas como adubos verdes em Mirandela (esquerda) e Bragança (direita). As barras de erros são o desvio padrão das médias.....	49



# 1. INTRODUÇÃO

Na agricultura contemporânea, a busca por estratégias que otimizem a produção de alimentos e garantam o uso eficiente de recursos tornou-se uma prioridade. Isso envolve identificar os elementos essenciais para o crescimento das plantas e, ao mesmo tempo, mitigar fatores que possam prejudicar o seu desenvolvimento.

A nível global, entre todos os elementos essenciais, o azoto destaca-se como o recurso mais crítico para o crescimento e desenvolvimento das plantas, uma vez que é um componente essencial em moléculas vitais como adenosina trifosfato (ATP), clorofila e proteínas. Por outro lado, a maioria dos solos não fornece o elemento em quantidades adequadas para assegurar uma boa produção comercial. Assim, a introdução de fertilizantes azotados na agricultura teve um papel fundamental no desenvolvimento da produção de alimentos, contribuindo significativamente para o crescimento populacional.

Apesar dos benefícios, o uso de fertilizantes azotados também está associado a problemas ambientais. Emissões de amónia e óxidos de azoto para a atmosfera e lixiviação de nitratos para os cursos de água são problemas sérios de poluição ambiental. Disso resulta o aumento do efeito de estufa e a eutrofização de corpos de água. Além disso, o uso ineficiente de azoto aumenta os custos de produção.

Outro elemento crítico na agricultura é o carbono, um componente fundamental das moléculas orgânicas. Práticas agrícolas que promovem o sequestro de carbono podem trazer inúmeros benefícios, incluindo a restauração de solos degradados, aumento da eficiência da produção agrícola, redução da poluição, prevenção da erosão e melhoria da atividade microbiana e biodiversidade do solo.

Com frequência, práticas agrícolas inadequadas prejudicam a qualidade do solo e reduzem sua capacidade de sustentar a produção agrícola a longo prazo. Portanto, é imperativo que se adotem abordagens que garantam a sustentabilidade e a preservação dos recursos para as gerações futuras. Estratégias como o uso de leguminosas na agricultura, especialmente para adubação verde, emergem como uma solução viável, uma vez que podem substituir ou reduzir a dependência de fertilizantes azotados. As leguminosas desempenham um papel vital na fixação de azoto e no sequestro de carbono no solo. Quando geridas adequadamente, essas plantas têm o potencial de melhorar as

características químicas, físicas e biológicas do solo, enquanto reduzem o impacto poluente da fertilização química, promovendo, assim, uma agricultura mais sustentável.

Assim, foi objetivo deste trabalho estudar o potencial de produção de biomassa e acumulação de azoto e outros nutrientes nos tecidos de onze espécies de leguminosas e gramíneas anuais cultivadas para adubação verde, em dois olivais de sequeiro instalados em solos ácidos. Procurou-se saber quais as leguminosas anuais mais adequadas para adubação verde através da quantificação do carbono e azoto incorporado no solo bem como os momentos do ciclo cultural em que concentram a maior quantidade do nutriente.

## **2. REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1. A agricultura no mundo**

A agricultura é uma das atividades mais importantes do mundo, sendo praticada há milhares de anos por diversas culturas em diferentes regiões do planeta. Através dela é possível produzir alimentos e matérias-primas essenciais para a subsistência humana e para o funcionamento da economia. Os sistemas de produção agrícola estão numa pressão crescente devido à necessidade que eles têm em garantir alimentos, matérias-primas para as indústrias têxtil, da energia e farmacêutica (Rodrigues et al., 2021). Segundo Roohi et al. (2022), os sistemas agrícolas estão enfrentando uma crise de sustentabilidade a nível mundial para atender à crescente demanda por alimentos de uma população que se espera que atinja 9 bilhões de pessoas até 2050. Por outro lado, a atividade agrícola tem sido vista como uma das principais responsáveis pela mudança climática global e pela perda de biodiversidade (Barbieri et al., 2023).

Os sistemas agrícolas usam fertilizantes para melhorar a nutrição e o rendimento das culturas (Bai et al., 2021). Contudo, quando usados em excesso e, sobretudo os fertilizantes azotados, impactam negativamente a atmosfera (emitindo gases de estufa), os ecossistemas (acidificação do solo e eutrofização das águas) e a saúde humana (poluentes do material particulado) (Rodrigues et al., 2021).

As práticas agrícolas intensivas, sobretudo o uso de pesticidas e fertilizantes químicos, podem degradar o solo em uma escala universal, com perda da sua fertilidade, menor capacidade de retenção de água, menor biodiversidade e perturbações diversas nos ciclos biogeoquímicos (Chaudhary et al., 2022).

Para atender ao aumento da demanda por alimentos decorrente do aumento da população mundial, a produção agrícola atual é baseada em práticas muito intensivas, como a mobilização do solo, a sobrefertilização e o uso de monoculturas (Li et al., 2023). No entanto, é fundamental que os agricultores, governos e sociedade em geral procurem desenvolver e promover práticas agrícolas mais sustentáveis e responsáveis, que garantam a segurança alimentar, mas ao mesmo tempo protejam os recursos naturais e a saúde das pessoas (Tscharntke et al., 2021; Chang et al., 2022).

## **2.2. A sustentabilidade da agricultura**

### **2.2.1. Agricultura intensiva**

A agricultura intensiva é um sistema de produção agrícola que se baseia no uso de insumos em elevada quantidade, como agrotóxicos, fertilizantes químicos, maquinaria pesada e técnicas de irrigação, para maximizar a produtividade e a eficiência operacional (Hu et al., 2022). Esse modelo agrícola é caracterizado por uma produção em larga escala e uma alta mecanização, visando aumentar a eficiência e a rentabilidade dos empreendimentos agrícolas.

Embora tenha permitido uma grande expansão da produção agrícola mundial nas últimas décadas, a agricultura intensiva também tem sido associada a diversos problemas ambientais, como a contaminação de solos, águas e ar e pela perda de biodiversidade e degradação dos ecossistemas naturais, devido ao uso de agrotóxicos e outros produtos químicos (Ball et al., 2020).

Segundo Tschardt et al. (2021), embora a agricultura intensiva seja considerada a principal causa do declínio da biodiversidade global, tem se constatado que os objetivos da agricultura orgânica ou de conservação ainda colidem com os apelos da FAO para maior produção agrícola para alimentar o mundo. Os mesmos autores afirmam que apesar dos desafios, a agricultura intensiva continua sendo uma das principais formas de produção agrícola em todo o mundo, especialmente em países com grande população e demanda por alimentos. No entanto, nos últimos anos tem havido uma crescente preocupação com a necessidade de se desenvolverem modelos mais sustentáveis e equilibrados de produção agrícola, que levem em conta os impactos ambientais e sociais das atividades agrícolas (Tschardt et al., 2021).

### **2.2.2. Agricultura orgânica**

Agricultura orgânica é um sistema de produção que se baseia na utilização de práticas ecologicamente sustentáveis (Tschardt et al., 2021). De uma maneira geral, a agricultura orgânica não permite o uso de agrotóxicos, fertilizantes químicos e organismos geneticamente modificados.

Ela emergiu como um sistema ambientalmente mais sustentável devido aos seus inúmeros benefícios ecológicos e capacidade de produzir produtos agrícolas sem a aplicação de pesticidas químicos e fertilizantes sintéticos (Weerahewa and Dayananda,

2023). Ainda segundo os mesmos autores, a agricultura orgânica valoriza a preservação dos recursos naturais, a biodiversidade e o respeito aos ciclos biológicos das plantas sem prejuízo para a saúde humana e a sanidade dos animais.

Para Tschardt et al. (2021) a agricultura orgânica é uma alternativa à agricultura convencional para promover ou restaurar a biodiversidade em campos agrícolas. Embora ainda represente uma parcela pequena da produção agrícola mundial, a agricultura orgânica vem ganhando espaço e reconhecimento nos últimos anos, tanto entre os consumidores quanto entre os produtores (Weerahewa and Dayananda, 2023).

### **2.3. A fertilização das culturas**

A fertilização é uma prática amplamente utilizada pelos agricultores para superar a restrição de nutrientes no solo, o que geralmente também leva a uma maior entrada de resíduos vegetais (Crespo et al., 2021a). Tem como objetivo principal fornecer nutrientes essenciais para as plantas, de forma a maximizar o seu crescimento e a produção de alimentos.

Os nutrientes mais comumente utilizados na fertilização são azoto, fósforo e potássio, mas outros elementos como cálcio, magnésio, enxofre e micronutrientes também podem ser utilizados (Sainju et al., 2021).

A fertilização das culturas pode ser feita de diversas maneiras, como através da adição de fertilizantes químicos ou orgânicos ao solo, pelo uso de técnicas de compostagem e adubação verde, ou ainda através da aplicação de nutrientes diretamente nas folhas das plantas (Tian et al., 2022).

No entanto, é importante ressaltar que a fertilização das culturas deve ser realizada de forma equilibrada e adequada às necessidades de cada tipo de planta e de solo, evitando a aplicação excessiva de nutrientes que possa levar à contaminação do solo, da água e do ar por produtos químicos e outros poluentes (Rodrigues et al., 2019; Fan et al., 2023).

#### **Fertilização azotada das culturas**

Segundo Morrissy et al. (2021) os seres humanos reconheceram a importância do azoto, embora inconscientemente, desde os primórdios da agricultura há aproximadamente 6.500 anos. Segundo os mesmos autores, inicialmente os agricultores

reconheceram que a aplicação de esterco e a rotação de culturas com leguminosas aumentava o rendimento das plantas, o que terá influenciado a humanidade a descobrir o elemento em 1772, cerca de 6.200 anos depois. Passados 30 anos foram descobertos alguns dos seus compostos mais comuns.

Segundo Lopes (1998) cada hectare da superfície da terra é coberto por cerca de 84.000 toneladas de azoto, mas este é um gás inerte, ele precisa ser combinado com outros elementos antes que as plantas possam usá-lo. Contudo, a taxa de entrada de azoto no ciclo terrestre do elemento duplicou desde os tempos pré-industriais (Poikane et al., 2019).

A fertilização azotada das culturas é uma prática agrícola que consiste em fornecer azoto às plantas através da aplicação de fertilizantes contendo o elemento (Crespo et al., 2021b). No entanto, a aplicação excessiva de azoto pode levar à contaminação do solo e da água por nitratos, além de aumentar a emissão de gases de efeito estufa como o óxido nitroso e aumentar o custo de fertilização (Sainju et al., 2021; Rodrigues et al., 2019).

Segundo Barbieri et al. (2023) vários estudos empíricos e meta-análises forneceram evidências de que a deficiência de azoto é um fator limitante primário de muitas espécies vegetais em sistemas orgânicos. Os mesmos autores afirmam que a fertilização azotada é particularmente importante para culturas que possuem alta demanda desse nutriente e sugere a introdução de culturas fixadoras de azoto em sistemas de cultivo como culturas comerciais, culturas de cobertura e secundárias, adubos verdes temporários ou em associação com outras espécies de culturas (ou seja, consórcio, inclusive como sistemas agroflorestais).

### **2.3.1. O azoto na nutrição das plantas**

Cerca de 78% do ar que respiramos é composto por azoto elementar ou dinitrogénio ( $N_2$ ). Quase todo o azoto do solo é proveniente da atmosfera da terra, a qual contém um suprimento do nutriente quase ilimitado (Lopes, 1998). Contudo, a quantidade do azoto em forma disponível no solo para a nutrição das plantas é pequena. Segundo Rodrigues et al. (2013) isso requer que o azoto seja aplicado a cada estação de cultivo para suprir a falta do azoto naturalmente disponível no solo.

O azoto é um nutriente essencial para o crescimento das plantas e é também um elemento-chave na produtividade dos ecossistemas, sendo responsável por estimular a

formação de folhas e caules, além de participar da síntese de proteínas e de outros compostos orgânicos importantes (Rodrigues et al., 2019).

### **2.3.2. O azoto no solo**

Segundo Rodrigues et al. (2013) a dinâmica do azoto no sistema solo-planta muitas vezes não permite a sua acumulação nos solos em formas prontamente utilizáveis pelas plantas. Por outro lado, muito pouco azoto é encontrado nas rochas e nos minerais que formaram o solo (Lopes, 1998).

Nos solos também existe azoto na forma gasosa. O  $N_2O$  é produzido principalmente pelos processos microbianos de nitrificação autotrófica, oxidação de amónio ( $NH_4^+$ ) a nitrato ( $NO_3^-$ ) e desnitrificação heterotrófica, com redução de  $NO_3^-$  a  $N_2O$  e  $N_2$  (Takeda et al., 2021). Esses processos são muito determinados pela humidade do solo, temperatura, disponibilidade de carbono (C) orgânico, pH e disponibilidade de  $NH_4^+$  e  $NO_3^-$  (Friedl et al., 2016). O azoto pode também ser encontrado no solo na forma orgânica, como aminoácidos, proteínas e ácidos nucleicos, ou na forma de iões inorgânicos, como iões amónio e nitrato.

A quantidade de azoto disponível no solo pode variar de acordo com diversos fatores, como a fertilidade do solo, o clima, o tipo de vegetação e as práticas agrícolas (Friedl et al., 2016). Além disso, o azoto no solo desempenha também um papel importante na ciclagem de outros nutrientes e na manutenção da qualidade do solo.

### **2.3.3. Perdas de azoto a partir dos agro-sistemas**

Os agro-sistemas podem ser fontes significativas de azoto para o ambiente, o que pode levar a problemas ambientais e de saúde pública (Rodrigues et al., 2019).

Para minimizar as perdas de azoto dos agro-sistemas, é importante adotar práticas de gestão adequadas, como o uso de fertilizantes nitrogenados de libertação controlada, a aplicação de fertilizantes no momento certo e na quantidade adequada (Rodrigues et al., 2019), a irrigação controlada, a rotação de culturas e a manutenção da cobertura vegetal (Crespo et al., 2021b). Além disso, é importante monitorar a qualidade da água e do ar nas áreas agrícolas para identificar possíveis impactos ambientais e tomar medidas preventivas (Poikane et al., 2019).

Existem várias formas de perda de azoto nos agro-sistemas, como a volatilização de amoníaco, a desnitrificação, a lixiviação de nitratos e a erosão do solo. Segundo Arrobas et al. (2019) a volatilização de amoníaco ocorre quando o azoto aplicado como fertilizante é convertido em amoníaco, que é um gás, sendo perdido para a atmosfera. Isso pode ocorrer durante a aplicação de fertilizantes azotados, especialmente os que contêm ureia ou durante a decomposição de matéria orgânica rica em azoto. A desnitrificação geralmente ocorre em solos com baixo teor de oxigénio, quando bactérias convertem nitrato em gases azotados, que são libertados para a atmosfera, sendo esse processo mais comum em solos mal drenados, em áreas inundadas ou em solos compactados.

A lixiviação de nitratos ocorre quando o azoto aplicado como fertilizante é transportado pela água da chuva ou pela irrigação para camadas mais profundas do solo ou para lençóis freáticos (Rodrigues et al., 2019). Isso pode levar à contaminação da água causando eutrofização, o que pode ser prejudicial para a saúde humana e para o meio ambiente (Poikane et al., 2019).

As coberturas vegetais têm um papel importante na fertilidade do solo. Por um lado, reduzem a perda de nutrientes, associada ao escoamento superficial e à erosão. Por outro, contribuem para uma maior absorção de nutrientes durante o período de pousio através dos restos que se decompõem (Ordóñez-Fernández et al., 2018). A erosão do solo pode levar à perda de azoto sobretudo em solos com baixa capacidade de retenção de nutrientes. Isso pode ocorrer em áreas de declive acentuado, em solos com baixa cobertura vegetal ou em solos com manejo inadequado.

#### **2.3.4. Impacto do azoto perdido dos campos agrícolas no meio ambiente**

As perdas de azoto dos campos agrícolas têm um impacto significativo no meio ambiente, especialmente nas águas, atmosfera e solos (Morrissy et al., 2021), sendo que o azoto pode ser perdido na forma de amoníaco, óxidos de azoto (NOx) e nitratos, que são prejudiciais para o meio ambiente e para a saúde humana (Zhong et al., 2021). Segundo Zhong et al. (2021) o excesso de azoto pode levar à eutrofização das águas, que é um processo pelo qual a quantidade de nutrientes no ambiente aumenta, causando um crescimento excessivo de plantas aquáticas, como algas, que consomem oxigénio e reduzem a qualidade da água.

De acordo com Poikane et al. (2019) distúrbios indesejáveis em lagos, como proliferação de cianobactérias tóxicas, perda de vegetação submersa, deficiência severa de oxigênio e declínio de espécies de peixes sensíveis são comumente associados ao enriquecimento de nutrientes dissolvidos nesses lagos.

Além disso, a perda do azoto do solo para a atmosfera pode contribuir para a poluição do ar, aumento do efeito estufa e conseqüentemente para o aquecimento global (Morrissy et al., 2021). Os mesmos autores afirmam que a poluição do ar por azoto pode também ter impactos na saúde humana, contribuindo para a diminuição da qualidade de vida e para o aumento da pressão sobre as economias e sistemas de saúde.

A perda do azoto dos campos agrícolas também pode ter impactos no próprio solo, reduzindo a sua fertilidade e capacidade de sustentar as culturas. O excesso do azoto pode acidificar o solo, alterando o pH e reduzindo a disponibilidade de outros nutrientes importantes para as plantas (Sainju et al., 2021).

#### **2.4. Fixação biológica de azoto**

Fixação biológica de azoto é o processo pelo qual certas bactérias transformam  $N_2$  da atmosfera em compostos azotados que as plantas podem utilizar (Fan et al., 2023). Segundo Barbieri et al. (2023) muito poucos são os estudos que forneceram estimativas de fixação biológica do azoto para sistemas de agricultura orgânica e, até onde se sabe, nenhuma estimativa sistemática foi publicada sobre a fixação biológica de azoto de leguminosas sob manejo orgânico. Segundo Morrissy et al. (2021) a fixação biológica de azoto tanto ocorre em ecossistemas terrestres como aquáticos.

Para Ordóñez-Fernández et al. (2018) a fixação biológica de azoto ocorre em várias espécies de bactérias, incluindo as do gênero *Rhizobium*, que formam uma simbiose com as plantas leguminosas, como feijão, soja, ervilha e luzerna.

Para Rodrigues et al. (2021) as bactérias conhecidas como rizóbios formam nódulos nas raízes das plantas, onde é fixado o azoto atmosférico e convertido em íon amônio que é assimilada pelas plantas. A fixação biológica de azoto é um processo importante na agricultura sustentável, pois permite a redução do uso de fertilizantes azotados de síntese industrial, que são fabricados usando combustíveis fósseis, tendo um impacto ambiental significativo. A fixação biológica de azoto pode melhorar a fertilidade do solo, tornando a agricultura mais produtiva e sustentável.

Existem diferentes sistemas de fixação biológica de azoto, que podem direta ou indiretamente contribuir para melhorar a fertilidade e a produtividade do solo.

As leguminosas possuem nódulos fixadores de azoto nas raízes, onde microrganismos simbióticos convertem o azoto atmosférico em formas utilizáveis pelas plantas. Estas plantas são amplamente utilizadas em rotação de culturas, como plantas de cobertura ou para adubação verde (Rodrigues et al., 2006).

Segundo Momesso et al. (2022) algumas gramíneas podem também estar associadas a microrganismos fixadores de azoto em suas raízes ou nos tecidos da parte aérea, podendo também melhorar a sua produtividade e aumentar a fertilidade do solo. Para Querné et al. (2017) alguns sistemas agroflorestais, que combinam culturas agrícolas com árvores, podem contribuir para a fixação biológica de azoto, pois algumas árvores também possuem nódulos fixadores de azoto nas raízes. Segundo o mesmo autor espécies de árvores frutíferas com capacidades de fixar o azoto atmosférico não são, contudo, comuns na Europa.

A fixação biológica de azoto pode reduzir a necessidade de fertilizantes azotados externos, reduzindo assim a pegada ambiental da agricultura e melhorando a qualidade do solo (Momesso et al., 2022). Além disso, a promoção de sistemas fixadores pode contribuir para a produção de alimentos mais saudáveis e sustentáveis (Momesso et al., 2022).

#### **2.4.1. Capacidade de fixação de azoto**

A capacidade de fixação de azoto é um importante fator a ser considerado na escolha das culturas e sistemas agrícolas, pois pode afetar a produtividade e a sustentabilidade da produção agrícola (Sainju et al., 2021). No entanto, segundo Rodrigues et al. (2006) a recomendação de doses precisas de azoto em relação às necessidades das culturas continua sendo uma tarefa muito difícil pelo fato das culturas fixadoras não garantirem uma sincronização adequada entre o azoto disponível no solo e a demanda da cultura principal.

Segundo Sainju et al. (2021) diferentes sistemas de cultivo precisam de diferentes conjuntos de indicadores de saúde do solo tais como a agregação do solo, a infiltração, a

abundância de minhocas e as frações orgânicas de carbono e azoto para uma ótima avaliação da capacidade de fixação dos nutrientes no solo e produção agrícola.

A capacidade de fixação de azoto pode ser avaliada por meio de análises de solo e plantas, bem como por testes de campo que medem a produtividade de culturas em diferentes condições agrícolas (Arrobas et al., 2014).

#### **2.4.2. As leguminosas nos agro-sistemas**

De acordo com Arruda et al. (2003) o uso de leguminosas é uma forma eficiente e das mais vantajosas para se proteger o solo, sendo consideradas adubos verdes por incorporarem o azoto atmosférico no solo. Para Ball et al. (2020) as leguminosas podem ser usadas como culturas de cobertura, que são plantadas cultivadas entre as culturas principais para proteger e adicionar nutrientes ao solo.

As leguminosas além da fixação de azoto também podem melhorar a qualidade do solo, aumentar a matéria orgânica, melhorar a estrutura do solo e promover a biodiversidade microbiana (Ordóñez-Fernández et al., 2018; Weinert et al., 2023). De acordo com Rodrigues et al. (2013) as leguminosas também podem ser usadas como culturas principais em sistemas de rotação de culturas, que envolvem a alternância de diferentes culturas no mesmo campo ao longo do tempo, ou ainda serem usadas como culturas de cobertura ou adubos verdes em culturas arbóreas perenes.

Para Ordóñez-Fernández et al. (2018) a quantidade de azoto fornecida pelas leguminosas nos agro-sistemas depende da espécie utilizada, da biomassa total produzida, da percentagem de azoto nos tecidos da planta, da capacidade de fixar o azoto da atmosfera e das condições ambientais que afetam o crescimento das leguminosas.

A família das leguminosas (ou fabáceas) possui aproximadamente 13 mil espécies descritas, divididas em 600 géneros, sendo encontradas tanto em climas temperados, quanto em climas tropicais (Arruda et al., 2003).

A escolha da leguminosa depende das condições locais do solo, clima e culturas desejadas, além da capacidade de fixação de azoto da leguminosa em questão. No entanto, o uso de leguminosas como fonte de azoto tem suas limitações pelo facto da formação de nódulos ser inibida quando os solos tiverem elevada disponibilidade do elemento (Ordóñez-Fernández et al., 2018).

### **2.4.3. A adubação verde**

Quando as leguminosas são incorporadas ao solo como adubo verde, elas ajudam a aumentar a matéria orgânica do solo, melhorando a retenção de água e o arejamento (Weinert et al., 2023). Para Arruda et al. (2003) e Ciaccia et al. (2015) os adubos verdes melhoram as propriedades físicas, químicas e biológicas do solo, controlam plantas daninhas, evitam a erosão e enriquecem o solo com azoto, evitando-se despesas com a aquisição deste nutriente.

Segundo Hu et al. (2022) a introdução de plantas herbáceas entre ou sob as fileiras de videiras nos vinhedos como cultura de cobertura, demonstrou aumentar as entradas de matéria orgânica no solo e melhorar a disponibilidade de nutrientes.

A adubação verde envolve o plantio de plantas específicas, geralmente leguminosas, com o objetivo de melhorar a fertilidade do solo (Ball et al., 2020). O mesmo autor salienta que essas plantas são cultivadas por um curto período, geralmente durante a entressafra, e então são cortadas e incorporadas ao solo, fornecendo nutrientes e matéria orgânica.

Para Weinert et al. (2023) diversas espécies e famílias de plantas de cobertura (leguminosas, gramíneas, crucíferas e outras) podem ser utilizadas na entressafra em condições subtropicais. Culturas de cobertura podem ser qualquer tipo de planta, mas geralmente são leguminosas (Adetunji et al., 2020). Segundo o mesmo autor, a adubação verde pode ser uma alternativa económica e sustentável aos fertilizantes químicos, que podem ser caros e prejudiciais ao meio ambiente, sendo que a escolha das plantas para adubação verde vai depender das condições locais, incluindo o tipo de solo, o clima e o tipo de cultura a ser plantada posteriormente bem como do objetivo final da gestão do solo.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Caracterização da parcela experimental, do clima e do solo

O estudo envolveu dois ensaios de campo. O primeiro ensaio foi instalado na Quinta do Valongo em Mirandela (41.513946; -7.187348; 240 m acima do nível do mar), no Nordeste de Portugal. As leguminosas foram semeadas nas entrelinhas de um olival adulto de 50 anos de idade da cultivar Cobrançosa, plantado num compasso de 7 m × 7 m, a que correspondem 204 árvores por hectare, e gerido em sequeiro.

O clima de região é do tipo mediterrânico, com uma temperatura média do ar de 14,3 °C e precipitação anual acumulada de 509 mm. As temperaturas médias e os valores de precipitação mensais são apresentadas na figura 1.

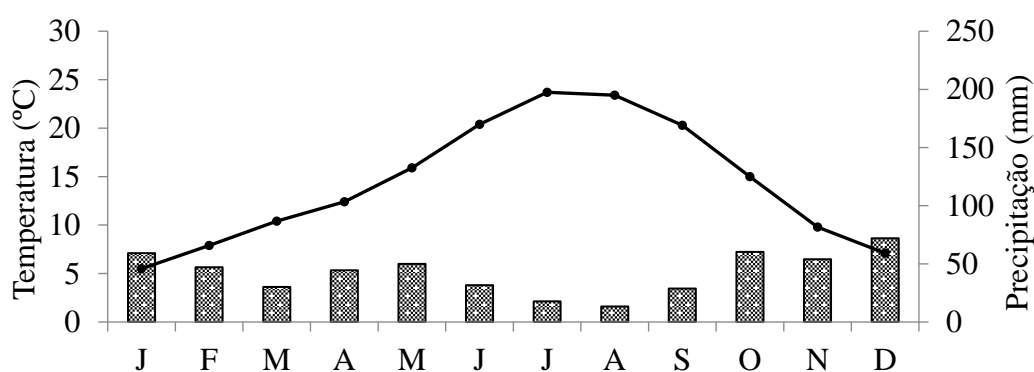


Figura 1: Valores mensais de temperatura e precipitação da normal climatológica de Mirandela.

O segundo ensaio foi instalado em Bragança na fazenda Pinheiro Manso (41.807700; -6.733378; 700 m acima do nível do mar). A região beneficia de um clima mediterrânico, com temperatura média anual do ar de 12,7 °C e precipitação anual de 772,8 mm. A temperatura média mensal do ar e a precipitação durante o período experimental são mostradas na Figura 2.

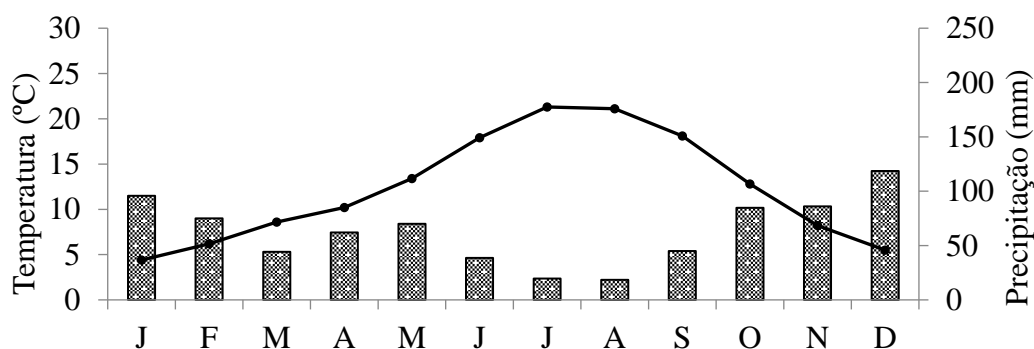


Figura 2: Valores mensais de temperatura e precipitação da normal climatológica de Bragança.

Segundo Calouro et al., (2022), a maioria dos solos em Portugal é de origem mineral, ou seja, a matéria mineral predomina, enquanto solos orgânicos, com teores de matéria orgânica superiores a 15%, são relativamente escassos. Sob a perspectiva da nutrição vegetal, apenas as partículas de tamanho menor que 2 mm (reunidas sob a denominação de terra fina) são consideradas para análise físico-química que avalia o estado de fertilidade do solo. O quadro 1 apresenta outras propriedades relevantes do solo.

Tabela 1: Propriedades do solo (média±desvio padrão) a partir de amostras colhidas na profundidade 0 – 0,20 m no início da instalação do ensaio em Mirandela.

Propriedade do solo	Mirandela	Propriedade do solo	Mirandela
<sup>1</sup> Carbono orgânico (g kg <sup>-1</sup> )	8.54 ± 0.59	<sup>4</sup> K de troca (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> )	0.31 ± 0.05
<sup>2</sup> pH (H <sub>2</sub> O)	5.90 ± 0.11	<sup>4</sup> Mg de troca (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> )	0.71 ± 0.13
<sup>2</sup> pH (KCl)	4.69 ± 0.09	<sup>5</sup> Acidez de troca (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> )	0.08 ± 0.02
<sup>3</sup> P extraível (mg P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> kg <sup>-1</sup> )	93.1 ± 9.5	<sup>4</sup> Na de troca (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> )	0.81 ± 0.11
<sup>3</sup> K extraível (mg K <sub>2</sub> O kg <sup>-1</sup> )	157.6 ± 17.5	<sup>4</sup> Ca de troca (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> )	3.88 ± 0.62

<sup>1</sup>Walkley-Black; <sup>2</sup>Espectrofotometria; <sup>3</sup>Lactato de amónio; <sup>4</sup>Acetato de amónio e EDTA; <sup>5</sup>Cloreto de potássio;

Tabela 2: Propriedades do solo (média±desvio padrão) a partir de amostras colhidas na profundidade 0 – 0,20 m no início da instalação do ensaio em Bragança.

Propriedade do solo	Bragança	Propriedade do solo	Bragança
<sup>5</sup> Carbono orgânico (g kg <sup>-1</sup> )	27,3	<sup>4</sup> Mg de troca (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> )	2,2
<sup>2</sup> pH (H <sub>2</sub> O)	5,8	<sup>5</sup> Acidez de troca (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> )	10,7
<sup>3</sup> P extraível (mg P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> kg <sup>-1</sup> )	87,9	<sup>4</sup> Na de troca (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> )	0,4
<sup>3</sup> K extraível (mg K <sub>2</sub> O kg <sup>-1</sup> )	102	<sup>4</sup> Ca de troca (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> )	7,2
<sup>4</sup> K extraível (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> )	0,2		

<sup>1</sup>Walkley-Black; <sup>2</sup>Espectrofotometria; <sup>3</sup>Lactato de amónio; <sup>4</sup>Acetato de amónio e EDTA; <sup>5</sup>Cloreto de potássio;

### 3.2. Delineamento experimental e técnicas de cultivo

Cada ensaio compreendeu 11 tratamentos completamente casualizados, correspondendo cada um a sua espécie/cultivar, nove pertencentes à família das leguminosas e duas à família das gramíneas. Cada um dos talhões onde cada espécie/cultivar foi semeada, era delimitado por quatro oliveiras num compasso  $7\text{ m} \times 7\text{ m}$  ( $49\text{ m}^2$ ). As espécies/cultivares a estudar foram as seguintes: fava (*Vicia faba*, cvs. Favel e Vesúvio), tremço-branco (*Lupinus albus*, cv. Estoril), tremço-de-folha-estreita ou tremço-azul (*Lupinus angustifolium*, cv. Karo), tremocilhas (*Lupinus luteus*, cvs. Nacional e Mister), trevo-encarnado (*Trifolium incarnatum*, cv. Diogene), trevo-subterrâneo (*Trifolium subterraneum*, cvs. Campeda e Dalkeith), aveia (*Avena sativa*, cv. Boa Fé) e azevém anual (*Lolium multiflorum*, cv. Falladino).

A sementeira foi realizada no dia 11 e 12 de novembro de 2022 em Mirandela e Bragança, respetivamente. O solo foi preparado com uma escarificação ao qual se adicionou uma grade lisa para que a superfície do solo ficasse nivelada. De seguida aplicaram-se as sementes tendo sido incorporadas apenas pela ação da grade lisa. As doses de sementeira utilizadas são as apresentadas no quadro 2.

Tabela 3: Doses de sementeira utilizadas

Espécie (cultivar)	Dose (kg/ha)
Fava, cv. Favel	300
Fava, cv. Vesúvio	200
Tremço-doce, cv. Estoril	200
Tremocilha, cv. Nacional	180
Tremocilha, cv. Mister	180
Tremço-de-folha-estreita, cv. Karo	180
Trevo-encarnado, cv. Diogene	10
Trevo-subterrâneo, cv. Campeda	25
Trevo-subterrâneo, cv. Dalkeith	25
Aveia, cv. Boa Fé	120
Azevém-anual, cv. Falladino	25

### 3.3. Colheita de amostras

Procedeu-se à colheita de amostras ao longo de tempo nos talhões experimentais, recolhendo três amostras por talhão em cada data de amostragem, correspondendo a três repetições (Figura 3). As datas de amostragem ocorreram nos dias 27 e 28 de março, 11 de abril e 06 de maio de 2023.



Figura 3: Estágio de desenvolvimento das plantas ao longo do tempo de crescimento (A) e formação de nódulos nas raízes (B).

No total foram realizadas 198 colheitas de amostras das diferentes cultivares semeadas, sendo 99 amostras em Mirandela e o mesmo número de amostras em Bragança. Essas colheitas foram realizadas ao longo de três fases distintas, onde cada fase contribuiu para a amostragem de acordo com as características das espécies e cultivares selecionadas.

Para coletar as partes aéreas das plantas, foi empregue uma grelha metálica retangular com dimensões de 20 cm x 50 cm para delimitar a área de colheita nas parcelas e utilizou-se uma tesoura de corte de marca Bosch para efetuar os cortes conforme mostram as imagens da figura 4. Sacos plásticos previamente identificados, devidamente etiquetados com as informações pertinentes a cada espécie e cultivar foram utilizados.



Figura 4: Método de colheita das partes aéreas das plantas de tremoceiro (A) e aveia (B) e aspeto da amostra colocada no saco (C).

### 3.4. Análise dos tecidos vegetais

As amostras colhidas foram imediatamente transportadas para as estufas de secagem, onde foram submetidas a um processo de desidratação para preservação das características físicas e químicas como pode se ver na figura 5.



Figura 5: Processo de secagem das amostras em estufa de ventilação forçada.

A secagem foi realizada em temperatura controlada (70 °C) em estufa de ventilação forçada (Memmert), garantindo a remoção da humidade sem comprometer a integridade das amostras.

Em seguida foram pesadas para obtenção da massa seca e moídas em malha de um milímetro a partir de um moinho CT293 Cyclotec™ da marca Foss (figura 6), visando à obtenção de partículas finas e homogêneas que permitissem a realização das análises subsequentes.

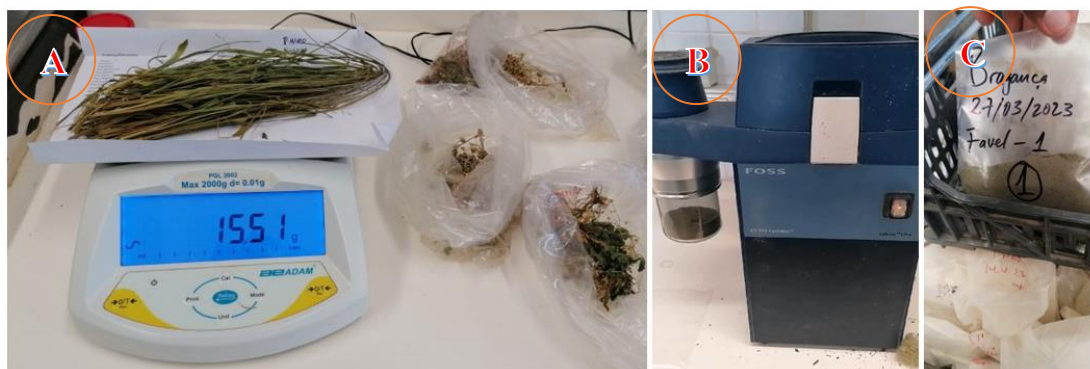


Figura 6: Processo de pesagem das amostras (A), moagem em moinho CT293 Cyclotec™ (B) e armazenamento (C).

Após esse processo, as amostras já estavam prontas para a análise, tendo sido realizadas as determinações de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio, boro, ferro, zinco, cobre e manganês.

### 3.4.1. Determinação do boro

A determinação do boro foi realizada mediante a incineração de 1 g da amostra com óxido de cálcio, seguida da diluição das cinzas utilizando ácido sulfúrico diluído (0,5 M). A intensidade da coloração foi avaliada por meio do método da azometina-H e medida em um espectrofotômetro a 420 nm (Elton-Bo'it, 1976).



Figura 7: Procedimento de determinação do boro por incineração (A) e coloração com azometina-H (B).

### 3.4.2. Determinação de azoto

A concentração de azoto foi determinada utilizando o procedimento Kjeldahl, que envolve a técnica de solubilização húmida, seguida por destilação a vapor e titulação para a quantificação do  $\text{NH}_4^+$ . A solubilização sulfúrica, com a adição de catalisadores, converte as proteínas e aminoácidos presentes no tecido vegetal em  $\text{N-NH}_4^+$ , que é destilado e complexado com ácido bórico e indicador misto. Em seguida, é titulado com uma solução padronizada de ácido sulfúrico diluído (Bechlin et al., 2014; Korn et al., 2005).

Inicialmente, uma amostra de um grama de matéria seca foi pesada e colocada em um frasco de digestão, juntamente com um suporte de alumínio. Em seguida, foram adicionados 15 ml de ácido sulfúrico e duas pastilhas de um catalisador para aumentar a taxa de oxidação da matéria orgânica. O frasco foi colocado em um bloco de digestão de alumínio e mantido a uma temperatura de 400 °C por 40 minutos. Após a digestão e o resfriamento das amostras, o azoto amoniacal foi determinado por destilação. A amónia formada foi arrastada na corrente de vapor e titulada com ácido clorídrico em um recipiente contendo uma solução de ácido bórico a 4%, hidróxido de sódio a 40% e os indicadores verde de bromocresol e vermelho de metila (Korn et al., 2005).

### **3.4.2. Determinação do fósforo, potássio, cálcio, magnésio, cobre, ferro, zinco e manganês**

Os demais nutrientes foram analisados após a pesagem de 0,25 g de material seco, que foi digerido em um forno de micro-ondas (MARS, CEM Corporation) com ácido nítrico. A solução resultante foi diluída para um volume final de 50 ml. A partir dessa solução, o fósforo foi determinado utilizando o método de espectrofotometria UV/VIS. Esse método envolve o desenvolvimento de uma cor azul de molibdênio, usando o ácido ascórbico como agente redutor, e a intensidade da cor é avaliada em um espectrofotômetro a 882 nm, com base no complexo fosfomolibdato de amônio. O potássio foi determinado por espectrofotometria de chama, enquanto os demais nutrientes foram determinados por absorção atômica no extrato, utilizando o equipamento PYE Unicam PU 9100X (Bechlin et al., 2014).

### **3.5. Análise estatística**

Os dados obtidos foram importados para o ambiente de programação R, onde foram processados e analisados estatisticamente. Todas as análises estatísticas foram conduzidas considerando um nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ), o que significa que diferenças com probabilidade menor que 5% de ocorrerem ao acaso foram consideradas estatisticamente significativas. Além disso, foram realizadas análises complementares, como o teste de Tukey, para identificar quais tratamentos diferem significativamente entre si. As tabelas e gráficos foram elaborados no programa Excel.

## 4. RESULTADOS

### 4.1. PRODUÇÃO DE MATÉRIA SECA

As diferentes espécies/cultivares utilizadas nos ensaios mostraram produções de matéria seca muito diferenciadas entre si (Figura 8). Em Mirandela variaram de menos de 1 t ha<sup>-1</sup> até valores médios superiores a 7 t ha<sup>-1</sup>. Em Bragança variaram de valores médios próximos 1 t ha<sup>-1</sup> até valores próximos de 9 t ha<sup>-1</sup>. No ensaio de Mirandela a tremocilha, cv. Nacional (7,27 t ha<sup>-1</sup>), e o tremoceiro-azul, cv. Karo (7,21 t ha<sup>-1</sup>), destacaram-se entre as demais espécies/variedades pela elevada produção de biomassa. Em Mirandela seguiram-se o tremoceiro-doce (4,29 t ha<sup>-1</sup>), a tremocilha, cv. Mister (4,00 t ha<sup>-1</sup>), e as favas, cv. Favel (3,19 t ha<sup>-1</sup>) e cv. Vesúvio (2,58 t ha<sup>-1</sup>). Com valores já bastante mais baixos surge aveia (1,18 t ha<sup>-1</sup>), e depois os trevos, em que, de uma maneira geral, devido à sua precocidade, atingiram os valores mais elevados em abril, mas próximos de apenas 0,5 t ha<sup>-1</sup>.

Em Bragança o tremoceiro-azul foi a espécie mais produtiva (8,83 t ha<sup>-1</sup>), seguida de tremocilha, cv. Nacional (8,28 t ha<sup>-1</sup>), fava, cv. Favel (7,56 t ha<sup>-1</sup>), tremoço-doce (7,31 t ha<sup>-1</sup>) e fava, cv. Vesúvio (6,24 t ha<sup>-1</sup>) (Figura 8). Neste ensaio, a tremocilha, cv. Mister apresentou o valor mais baixo (3,91 t ha<sup>-1</sup>) entre os grupos de tremoceiros e favas. A estes grupos seguiu-se a aveia (3,10 t ha<sup>-1</sup>), tal como no ensaio de Mirandela, tendo os trevos apresentados os valores mais baixos e inferiores a 2 t ha<sup>-1</sup>. Ao contrário de Mirandela, os trevos ainda aumentaram a produtividade entre abril e maio.

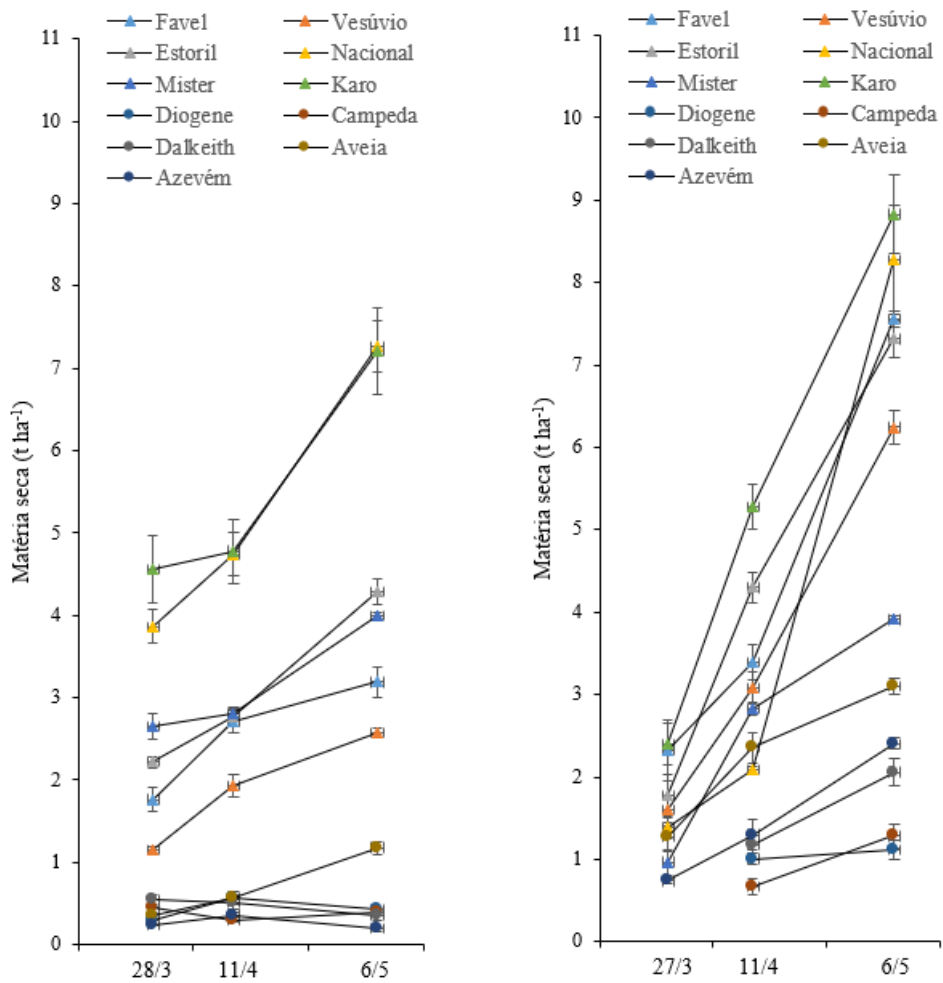


Figura 8: Produção de matéria seca pelas onze espécies/variedades usadas nos ensaios de Mirandela (esquerda) e Bragança (direita) nos cortes de 27/28 de março, 11 de abril e 6 de junho. As barras de erros são o desvio padrão das médias.

## 4.2. CONCENTRAÇÃO DE NUTRIENTES NOS TECIDOS

### 4.2.1. Concentração de macronutrientes nos tecidos

A concentração de azoto nos tecidos mostrou uma tendência decrescente, com raras exceções, ao longo das datas de amostragem e em ambos os ensaios (Figura 9). A concentração de azoto mais elevada registada no ensaio de Mirandela, considerando todas as espécies/variedades e datas de amostragem, foi observada na tremocilha, cv. Nacional, em 28 de março ( $40,7 \text{ g kg}^{-1}$ ). Na última amostragem, a maior concentração de azoto nos tecidos foi observada no tremçoço-doce, cv. Estoril ( $33,7 \text{ g kg}^{-1}$ ). As tremocilhas, tremoçoceiros e favas mostraram, na última amostragem, valores acima de  $25 \text{ g kg}^{-1}$  e os trevos entre  $16$  e  $23 \text{ g kg}^{-1}$ . Azevém e aveia registaram os teores mais baixos de azoto nos tecidos, tendo a aveia um valor médio de  $9,7 \text{ g kg}^{-1}$  na última amostragem.

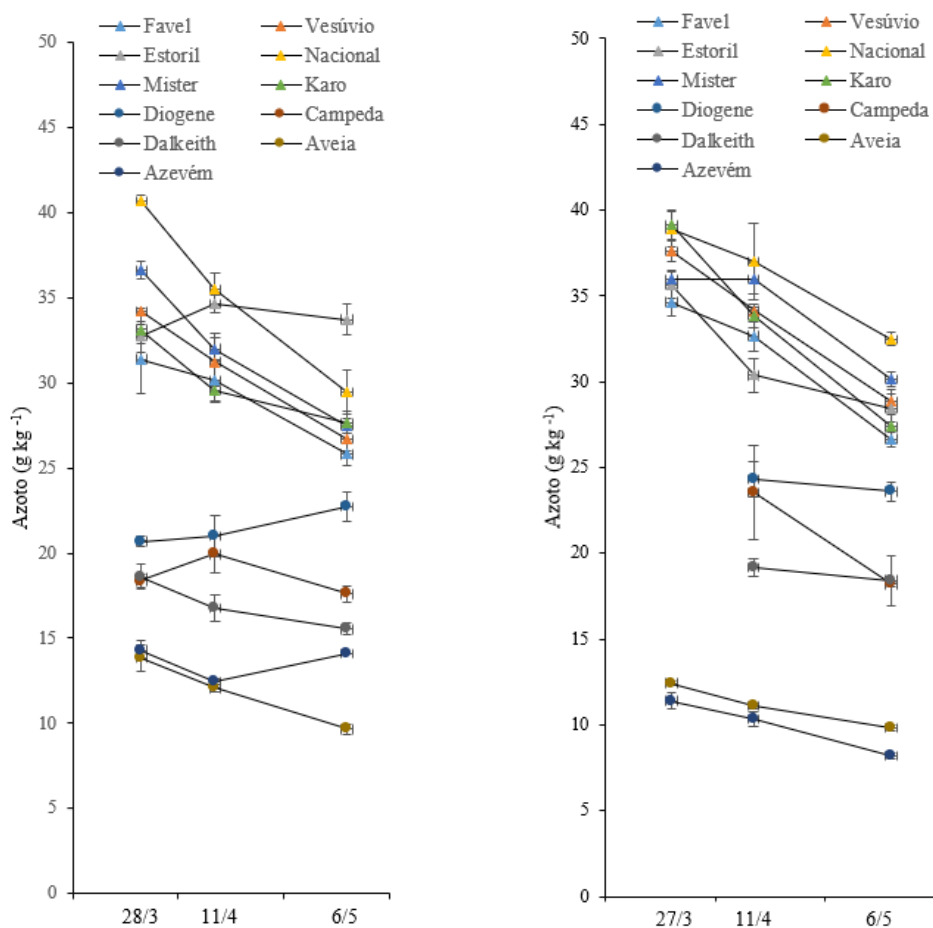


Figura 9: Concentração de azoto nos tecidos das espécies/variedades utilizadas como adubos verdes em Mirandela (esquerda) e Bragança (direita). As barras de erros são o desvio padrão das médias.

No ensaio de Bragança os teores de azoto nos tecidos foram da mesma ordem de grandeza dos registados em Mirandela, constituindo-se três grupos, com valores mais

elevados nas tremocilhas, tremeceiros e favas, seguindo-se os trevos e por último as gramíneas, aveia e azevém.

As concentrações de fósforo nos tecidos também decresceram ao longo da estação de crescimento em todas as espécies/variedades e em ambos os ensaios (Figura 10). Em Mirandela, considerando todas as espécies e datas de amostragem, o valor médio mais elevado foi registado no trevo-vermelho, cv. Diogene, na primeira amostragem em março com um valor de 3,7 g kg<sup>-1</sup>. No extremo oposto, o valor médio mais baixo foi registado na fava, cv. Favel, na última amostragem (1,5 g kg<sup>-1</sup>). Na última amostragem, trevo-vermelho, aveia e azevém registaram os teores de fósforo nos tecidos mais elevados, a variar entre 2,7 e 3,0 g kg<sup>-1</sup>. As demais leguminosas mostraram valores médios compreendidos entre 1,5 e 2,5 g kg<sup>-1</sup>.

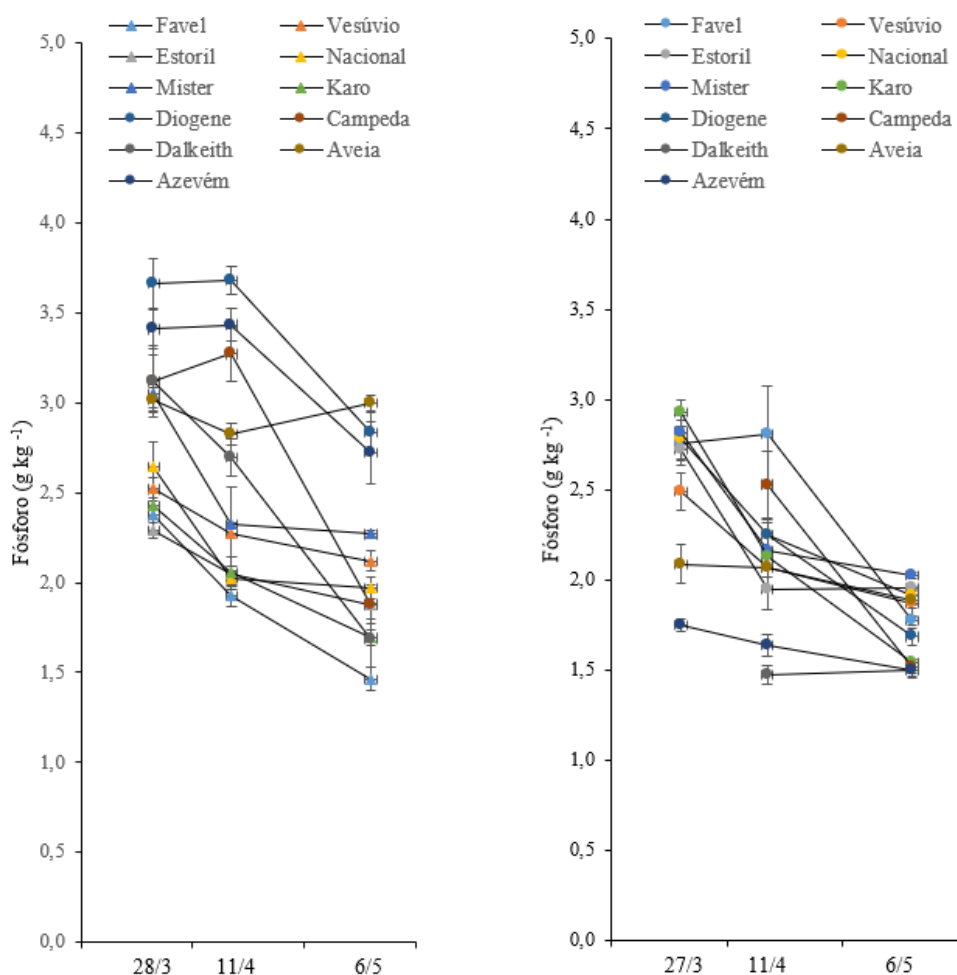


Figura 10: Concentração do fósforo nos tecidos das espécies/variedades utilizadas como adubos verdes em Mirandela (esquerda) e Bragança (direita). As barras de erros são o desvio padrão das médias.

Em Bragança, as concentrações de fósforo nos tecidos foram tendencialmente mais baixas que em Mirandela. Na última amostragem, o intervalo de variação entre espécies/cultivares também foi mais estreito que em Mirandela. Considerando todas as espécies, as concentrações de fósforo nos tecidos variaram entre 1,5 e 2,0 g kg<sup>-1</sup>.

A concentração de potássio nos tecidos das cultivares mostrou uma tendência decrescente em todos os ensaios, com raras exceções, ao longo das datas de amostragem (Figura 11). A concentração de potássio mais elevada registada no ensaio de Mirandela, considerando todas as espécies/variedades e datas de amostragem, foi observada no trevo-encarnado, cv. Diogene, em 28 de março (26,14 g kg<sup>-1</sup>). Na última amostragem, a maior concentração de potássio nos tecidos foi observada no azevém-anual, cv. Falladino (15,82 g kg<sup>-1</sup>).

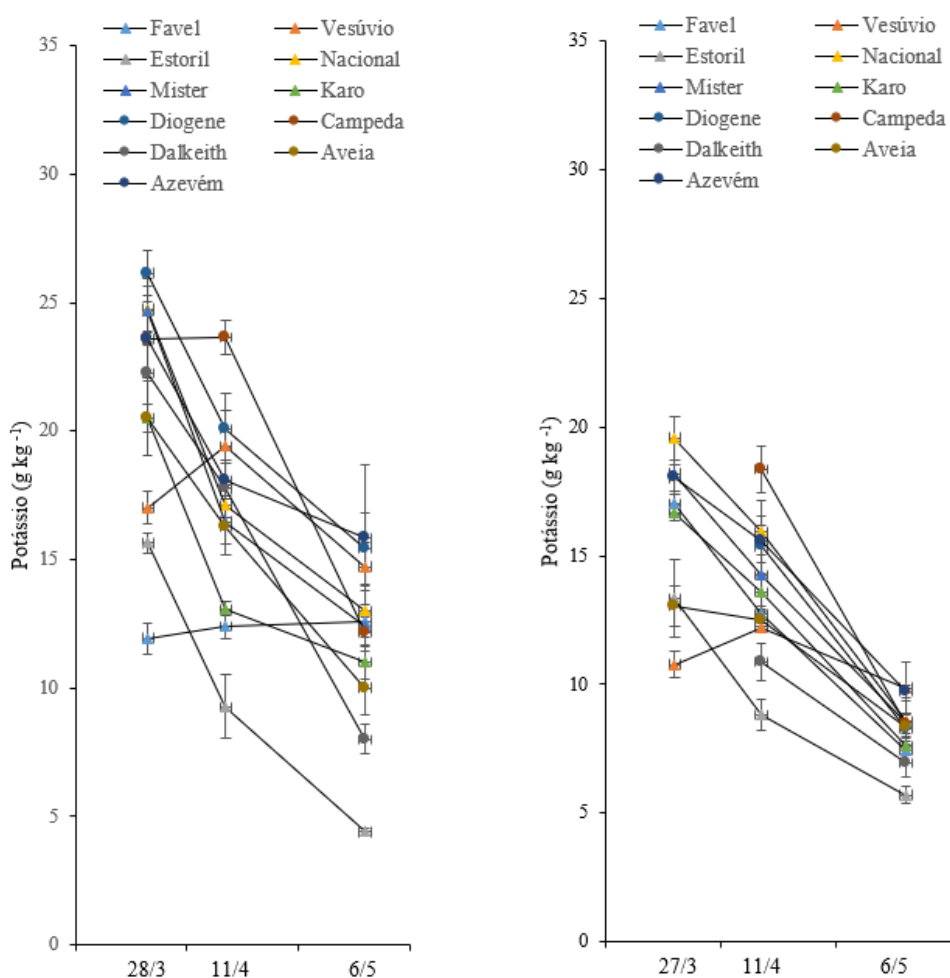


Figura 11: Concentração do potássio nos tecidos das espécies/variedades utilizadas como adubos verdes em Mirandela (esquerda) e Bragança (direita). As barras de erros são o desvio padrão das médias.

Em ambos ensaios, o tremoceiro-doce, cv. Estoril registou os teores mais baixos de potássio nos tecidos nas últimas amostragens, com valores médios de 4,40 e 5,71 g kg<sup>-1</sup>

<sup>1</sup> em Mirandela e Bragança, respetivamente. Em Bragança a tremocilha, cv. Nacional foi a espécie com maiores teores de potássio nos tecidos ( $19,58 \text{ g kg}^{-1}$ ), seguida de azevém-anual, cv. Falladino ( $18,03 \text{ g kg}^{-1}$ ), tremocilha, cv. Mister ( $18,20 \text{ g kg}^{-1}$ ), fava, cv. Favel ( $17,01 \text{ g kg}^{-1}$ ) e tremoço-de-folha-estreita, cv. Karo ( $16,66 \text{ g kg}^{-1}$ ), por último aveia e vesúvio.

A concentração do cálcio nos tecidos das plantas apresentou uma tendência crescente da primeira para a segunda amostragem em Mirandela, com algumas exceções da segunda para a terceira amostragem, enquanto em Bragança, a tendência foi decrescente conforme ilustrado na Figura 12. O tremoço-de-folha-estreita cv. Karo apresentou a concentração de cálcio mais elevada registrada em Mirandela, com  $10,39 \text{ g kg}^{-1}$  em 28 de março, seguido pelo trevo-encarnado cv. Diogene e tremocilha cv. Mister, com  $6,62$  e  $6,57 \text{ g kg}^{-1}$ , respetivamente.

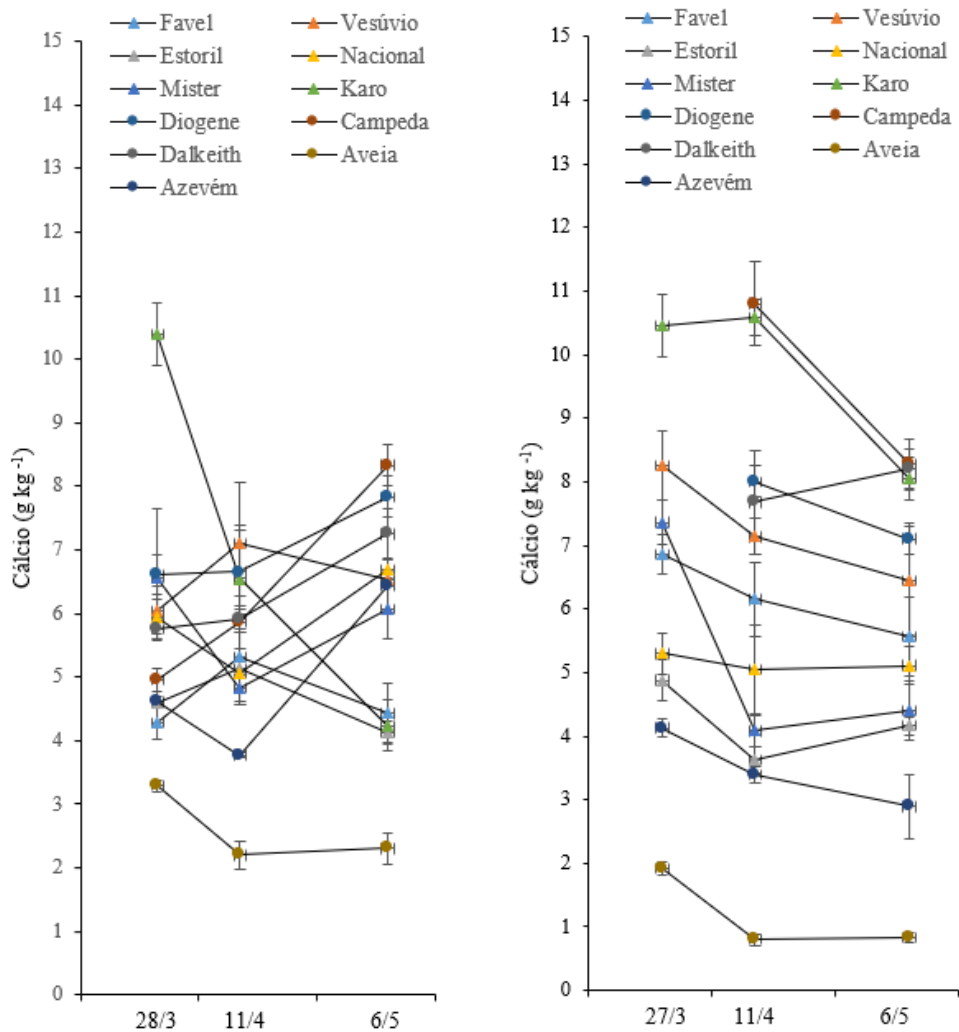


Figura 12: Concentração do cálcio nos tecidos das espécies/variedades utilizadas como adubos verdes em Mirandela (esquerda) e Bragança (direita). As barras de erros são o desvio padrão das médias.

Na última amostragem, a maior concentração de cálcio nos tecidos foi observada nos trevos, na seguinte ordem: trevo-subterrâneo cv. Campeda (8,33 g kg<sup>-1</sup>), trevo-encarnado cv. Diogene e trevo-subterrâneo cv. Dalkeith, com médias de 7,84 e 7,25 g kg<sup>-1</sup>, respectivamente. As tremocilhas, a fava cv. Vesúvio e o azevém mostraram valores acima de 6,0 g kg<sup>-1</sup> na última amostragem, enquanto a aveia registou o teor mais baixo de azoto nos tecidos, com um valor médio de 2,30 g kg<sup>-1</sup> na última amostragem. Em Bragança, os teores de cálcio nos tecidos foram da mesma ordem de grandeza dos registados em Mirandela, constituindo-se em três grupos, com valores mais elevados nos trevos e tremoceiro, seguindo-se as favas e tremocilhas e, por último, as gramíneas, azevém e aveia.

A concentração do magnésio nos tecidos mostrou uma tendência decrescente, com algumas exceções, ao longo das datas de amostragem e em ambos os ensaios (Figura 13).

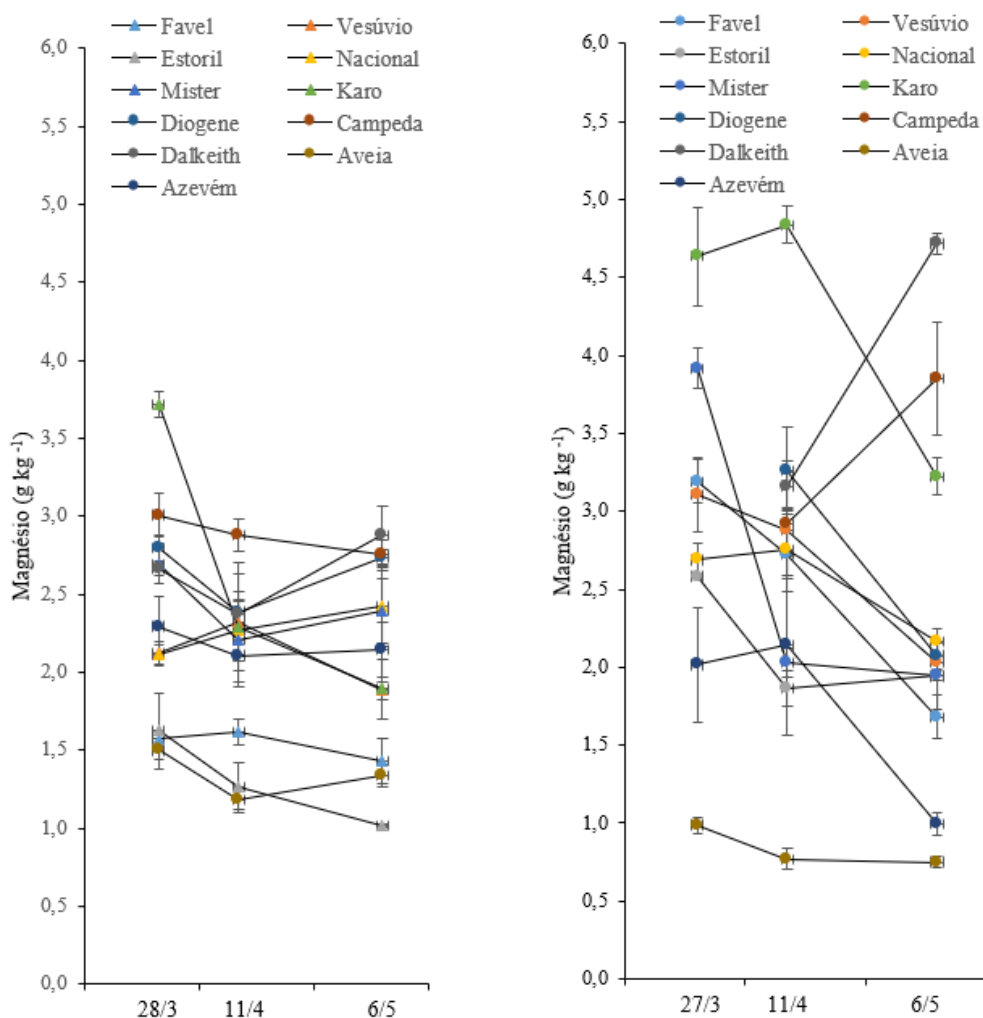


Figura 13: Concentração do magnésio nos tecidos das espécies/variedades utilizadas como adubos verdes em Mirandela (esquerda) e Bragança (direita). As barras de erros são o desvio padrão das médias.

A maior concentração de magnésio registada no ensaio de Mirandela, considerando todas as espécies/variedades e datas de amostragem, foi observada no tremoço-de-folha-estreita, cv. Karo, em 28 de março (3,72 g kg<sup>-1</sup>). Na última amostragem, a maior concentração de magnésio nos tecidos foi observada no trevo-subterrâneo, cv. Dalkeith (2,88 g kg<sup>-1</sup>). Os trevos, tremocilhas e azevém mostraram valores acima de 2,0 g kg<sup>-1</sup> na última amostragem. O tremoço-doce, cv. Estoril e aveia registaram os teores mais baixos de magnésio nos tecidos, com o tremoço apresentando um valor médio de 1,01 g kg<sup>-1</sup> na última amostragem. Em Bragança, as concentrações de magnésio nos tecidos foram tendencialmente mais altas que em Mirandela. Na última amostragem, o intervalo de variação entre espécies/cultivares também foi menor do que em Mirandela. Considerando todas as espécies, as concentrações de magnésio nos tecidos variaram entre 0,75 e 4,71 g kg<sup>-1</sup>.

#### **4.2.2. Concentração de micronutrientes nos tecidos**

A concentração do boro nos tecidos das plantas apresentou uma tendência crescente em Mirandela, com algumas exceções ao longo das datas, enquanto em Bragança houve uma tendência decrescente (Figura 14). Os resultados do ensaio em Mirandela mostraram que a fava, cv. Vesúvio, teve maior concentração de boro nos tecidos em 28 de março (60,66 mg kg<sup>-1</sup>), seguida pelo tremoço-de-folha-estreita, cv. Karo (55,11 mg kg<sup>-1</sup>). Na última amostragem, a maior concentração de boro nos tecidos foi observada no azevém-anual, cv. Falladino (72,74 mg kg<sup>-1</sup>). Os trevos, as favas, tremoceiro-doce e tremocilha, cv. Mister, também apresentaram valores acima de 40,0 mg kg<sup>-1</sup> na última amostragem. Os teores mais baixos de boro nos tecidos foram registados pela tremocilha, cv. Nacional, tremoço-de-folha-estreita, cv. Karo, e aveia, com um valor médio de 33,0 mg kg<sup>-1</sup> na última amostragem.

Em Bragança, a fava, cv. Vesúvio, também foi a espécie com maior concentração de boro nos tecidos (31,07 mg kg<sup>-1</sup>), seguida pela fava, cv. Favel (27,96 mg kg<sup>-1</sup>). No entanto, as concentrações de boro nos tecidos foram tendencialmente menores do que em Mirandela. Na última amostragem, o intervalo de variação entre espécies/cultivares também foi mais estreito que em Mirandela, com as concentrações de boro nos tecidos variando entre 6,11 e 26,66 mg kg<sup>-1</sup> para todas as espécies.

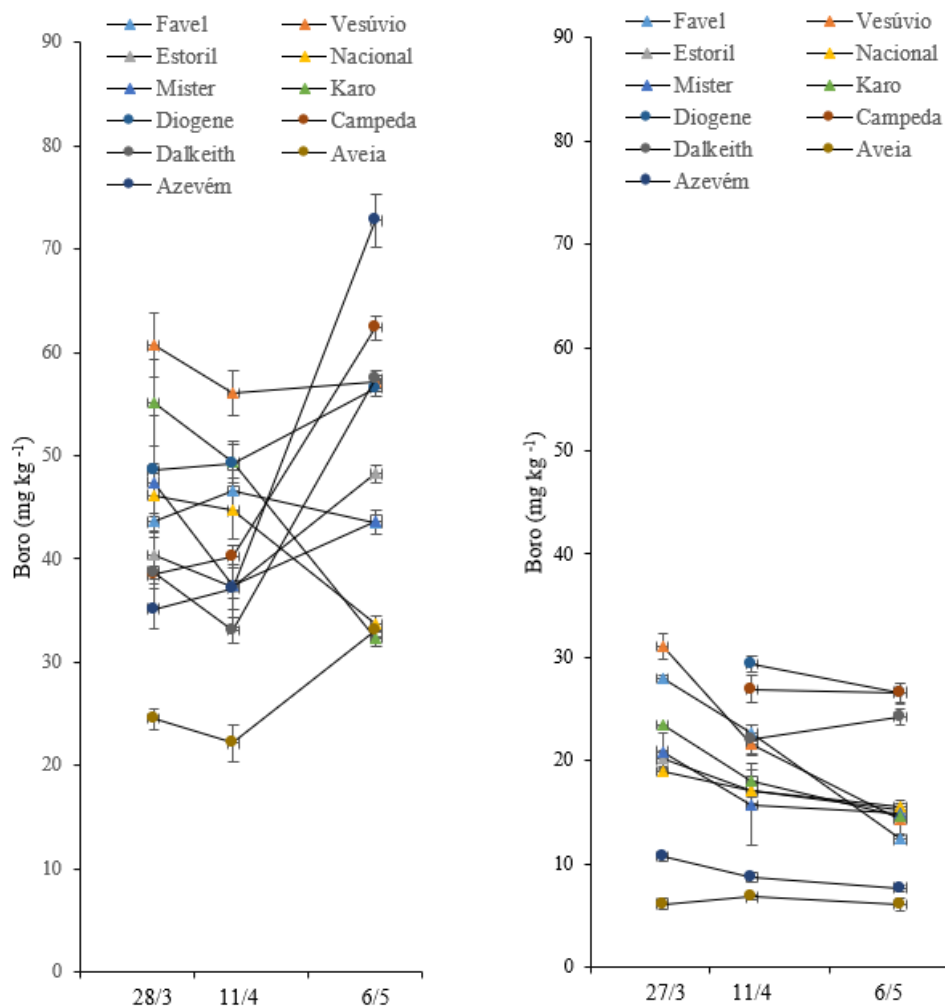


Figura 14: Concentração do boro nos tecidos das espécies/variedades utilizadas como adubos verdes em Mirandela (esquerda) e Bragança (direita). As barras de erros são o desvio padrão das médias.

A concentração de ferro nos tecidos das cultivares em ambos ensaios mostrou uma tendência decrescente ao longo das datas de amostragem, com algumas exceções (Figura 15). A maior concentração de ferro registada no ensaio de Mirandela, considerando todas as espécies/variedades e datas de amostragem, foi observada no trevo-subterrâneo, cv. Campeda, em 28 de março, com um valor de 3733,42 mg kg<sup>-1</sup>. Na última amostragem, a maior concentração de ferro nos tecidos foi observada no trevo-subterrâneo, cv. Dalkeith, com um valor de 3983,01 mg kg<sup>-1</sup>. Em ambos ensaios as favas, tremoços, tremocilhas, trevo-encarnado, aveia e azevém registaram os teores mais baixos de ferro nos tecidos nas últimas amostragens, com valores médios entre 106,60 e 885,51 mg kg<sup>-1</sup>. Em Bragança o trevo-subterrâneo, cv. Dalkeith foi a espécie com maiores teores de ferro nos tecidos, com 5404,87 mg kg<sup>-1</sup>, seguida do trevo-subterrâneo, cv. Campeda, com uma média de 4866,03 mg kg<sup>-1</sup>.

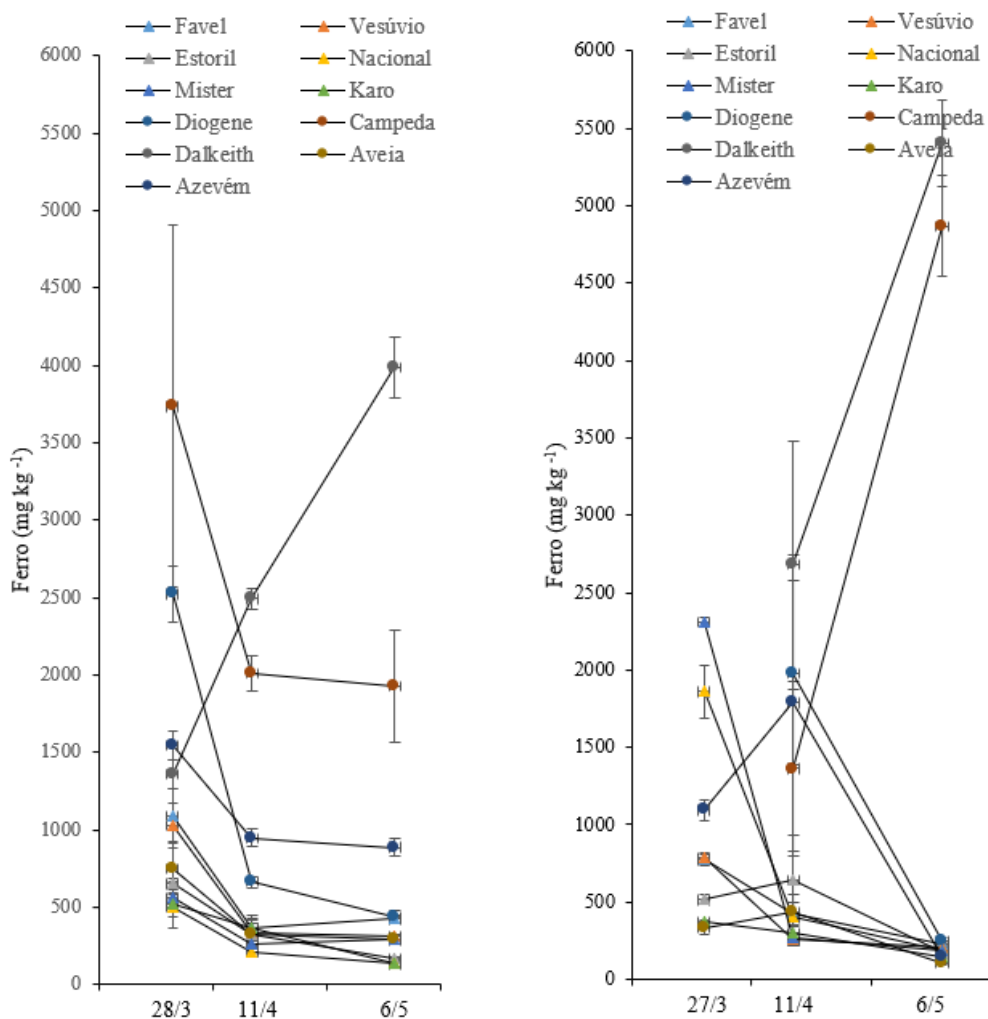


Figura 15: Concentração do ferro nos tecidos das espécies/variedades utilizadas como adubos verdes em Mirandela (esquerda) e Bragança (direita). As barras de erros são o desvio padrão das médias.

As concentrações do manganês nos tecidos também tiveram uma tendência decrescente ao longo da estação de crescimento em todas as espécies/variedades e em ambos os ensaios (Figura 16). Os valores médios mais altos foram registados no tremço-doce, cv. Estoril, na primeira amostragem em março, com um valor de  $8078,88 \text{ mg kg}^{-1}$  em Mirandela. O valor médio mais baixo foi registado no trevo-encarnado, cv. Diogene, na última amostragem, com  $159,70 \text{ mg kg}^{-1}$ . Na última amostragem, o tremço-doce, cv. Estoril, novamente registou os teores mais altos de manganês nos tecidos, com  $5434,0 \text{ mg kg}^{-1}$ . As outras leguminosas apresentaram valores médios entre  $196,60$  e  $658,30 \text{ mg kg}^{-1}$ . Em Bragança, os teores do manganês nos tecidos foram da mesma ordem de grandeza dos registados em Mirandela, com três grupos distintos: tremços com valores mais altos, seguidos por tremocilhas e favas e, por último, as gramíneas, azevém e aveia.

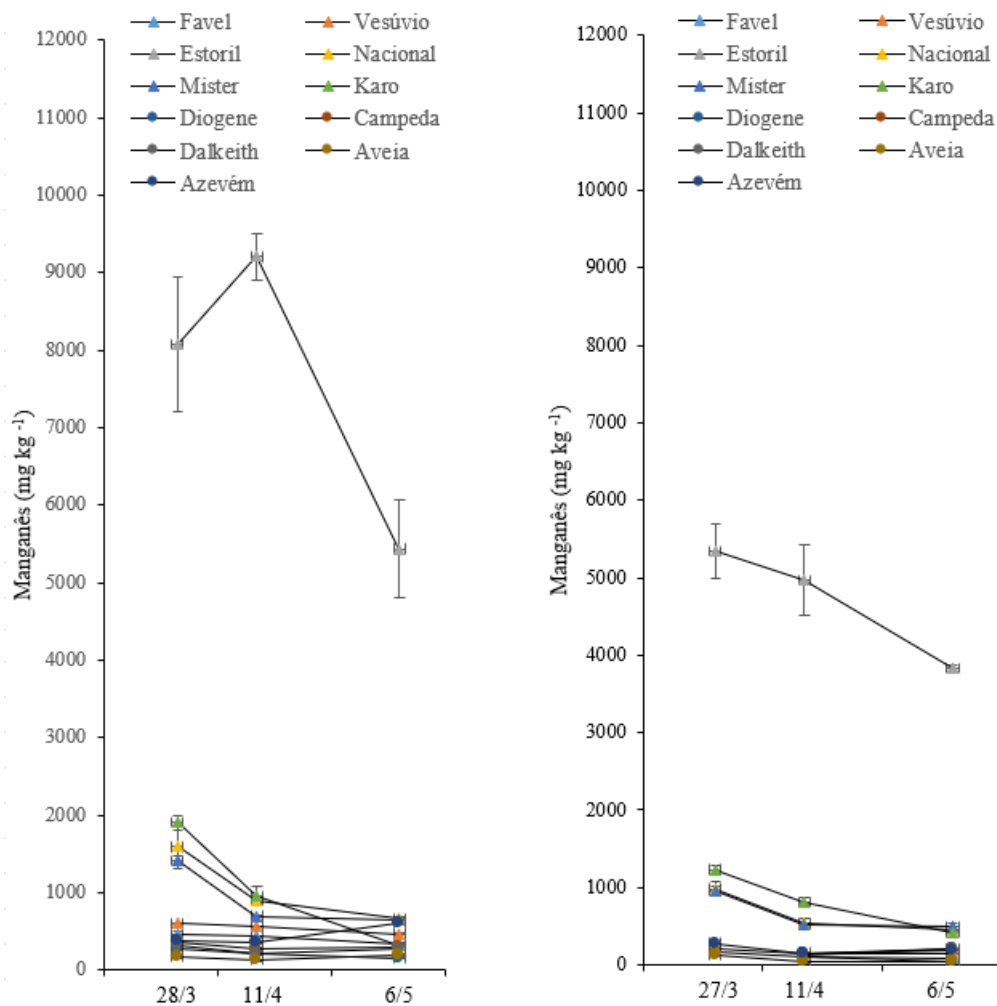


Figura 16: Concentração do manganês nos tecidos das espécies/variedades utilizadas como adubos verdes em Mirandela (esquerda) e Bragança (direita). As barras de erros são o desvio padrão das médias.

A concentração de zinco nos tecidos mostrou uma tendência decrescente ao longo da estação de crescimento em todas as espécies/variedades, tanto em Mirandela quanto em Bragança (Figura 17). Em Mirandela, a primeira amostragem em março registou o valor médio mais alto de zinco na tremocilha, cv. Mister, com  $69,04 \text{ mg kg}^{-1}$ . Na última amostragem, a aveia registou o valor médio mais baixo de zinco ( $12,51 \text{ mg kg}^{-1}$ ), enquanto a tremocilha, cv. Mister, registou os teores mais altos de zinco nos tecidos ( $57,14 \text{ mg kg}^{-1}$ ). As outras leguminosas apresentaram valores médios entre  $13,83$  e  $30,87 \text{ mg kg}^{-1}$ . No ensaio de Bragança os teores de zinco nos tecidos foram da mesma ordem de grandeza dos registados em Mirandela, com três grupos distintos: tremocilhas com os valores mais altos, seguidas por trevos, tremeços, favas, e por último as gramíneas, azevém e aveia.

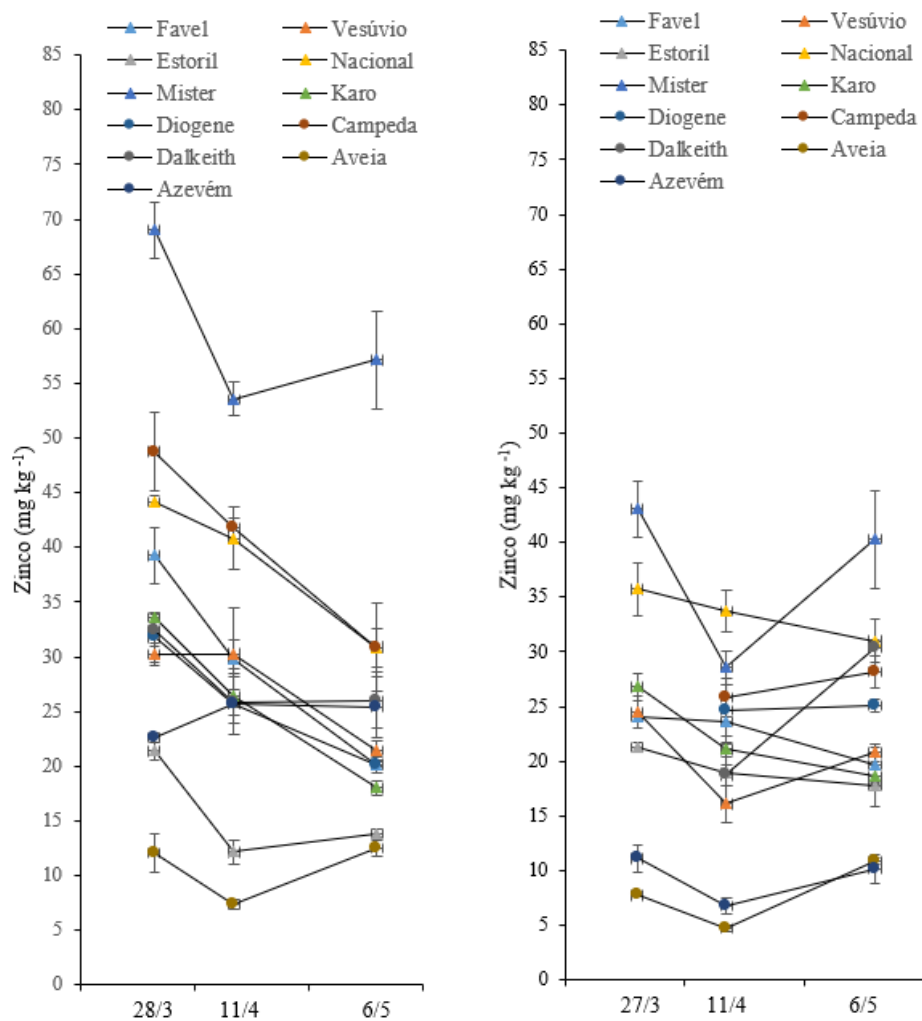


Figura 17: Concentração do zinco nos tecidos das espécies/variedades utilizadas como adubos verdes em Mirandela (esquerda) e Bragança (direita). As barras de erros são o desvio padrão das médias.

A concentração de cobre nos tecidos das cultivares em ambos ensaios mostrou uma tendência decrescente, com algumas exceções, ao longo das datas de amostragem (Figura 18). Os valores mais altos de concentração de cobre foram observados no trevo-subterrâneo, cv. Campeda, em 28 de março ( $17,38 \text{ mg kg}^{-1}$ ) no ensaio de Mirandela e no trevo-subterrâneo, cv. Dalkeith ( $16,27 \text{ mg kg}^{-1}$ ) na última amostragem. Em ambos ensaios aveia e azevém registaram os teores mais baixos de cobre nos tecidos nas últimas amostragens, com um valor médio inferior a  $10,00 \text{ mg kg}^{-1}$ . Em Bragança, a espécie com maiores teores de cobre nos tecidos foi a tremocilha, cv. Mister, na primeira amostragem ( $15,23 \text{ mg kg}^{-1}$ ), e a maior concentração de cobre nos tecidos foi observada no trevo-subterrâneo, cv. Dalkeith, na última amostragem ( $26,99 \text{ mg kg}^{-1}$ ), seguida de aveia e vesúvio (Figura 18).

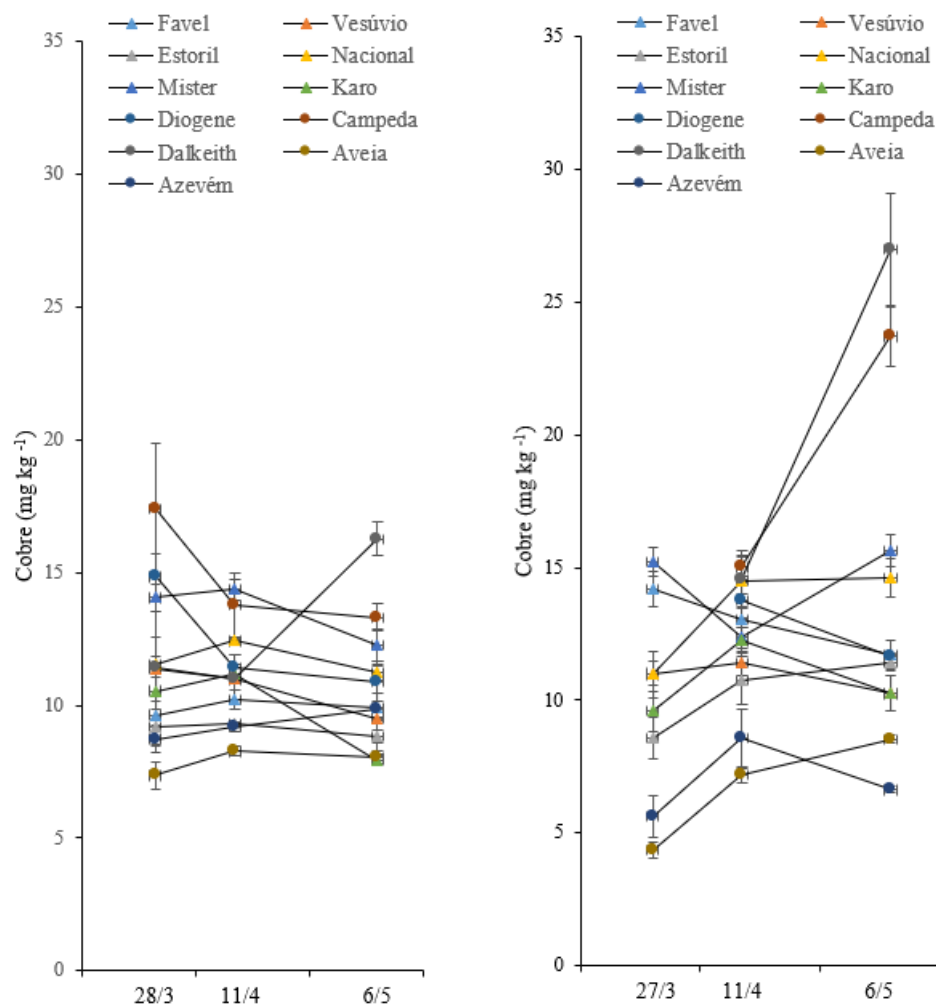


Figura 18: Concentração do cobre nos tecidos das espécies/variedades utilizadas como adubos verdes em Mirandela (esquerda) e Bragança (direita). As barras de erros são o desvio padrão das médias.

### 4.3. NUTRIENTES RECUPERADOS NOS TECIDOS

#### 4.3.1. Macronutrientes recuperados

As diferentes espécies/cultivares utilizadas nos ensaios apresentaram variações significativas na recuperação do azoto, como mostrado na Figura 19. Em Mirandela, os valores variaram de menos de 5,0 kg ha<sup>-1</sup> até médias superiores a 200 kg ha<sup>-1</sup>, enquanto em Bragança, variaram entre médias próximas a 10 kg ha<sup>-1</sup> até valores próximos a 270 kg ha<sup>-1</sup>. No ensaio de Mirandela, a tremocilha, cv. Nacional (215,30 kg ha<sup>-1</sup>), e o tremoço-de-folha-estreita, cv. Karo (199,10 kg ha<sup>-1</sup>), se destacaram das outras espécies/variedades devido à grande quantidade de azoto recuperado. Em Mirandela, o tremoço-doce, cv. Estoril (144,80 kg ha<sup>-1</sup>), a tremocilha, cv. Mister (109,80 kg ha<sup>-1</sup>), as favas, cv. Favel (82,15 kg ha<sup>-1</sup>) e cv. Vesúvio (68,75 kg ha<sup>-1</sup>) seguiram-se com valores consideravelmente

mais baixos. Os trevos, aveia e azevém apresentaram valores ainda mais baixos, atingindo, de maneira geral, valores inferiores a 12 kg ha<sup>-1</sup>.

Em Bragança, os valores foram da mesma ordem de grandeza dos registados em Mirandela, sendo a tremocilha, cv. Nacional a espécie com valor mais elevado (268,00 kg ha<sup>-1</sup>), seguida pelo tremoço-de-folha-estreita, cv. Karo (240,50 kg ha<sup>-1</sup>), tremoço-doce (207,70 kg ha<sup>-1</sup>), fava, cv. Favel (201,80 kg ha<sup>-1</sup>), e fava, cv. Vesúvio (180,20 kg ha<sup>-1</sup>). Neste ensaio, o azevém apresentou o valor mais baixo de azoto recuperado (19,69 kg ha<sup>-1</sup>) entre os grupos de trevos e aveia. Os trevos-subterrâneos, cv. Dalkeith (37,90 kg ha<sup>-1</sup>), aveia (30,45 kg ha<sup>-1</sup>), trevo-encarnado, cv. Diogene e trevo-subterrâneo, cv. Campeda, apresentaram os valores mais baixos e inferiores a 27 kg ha<sup>-1</sup>.

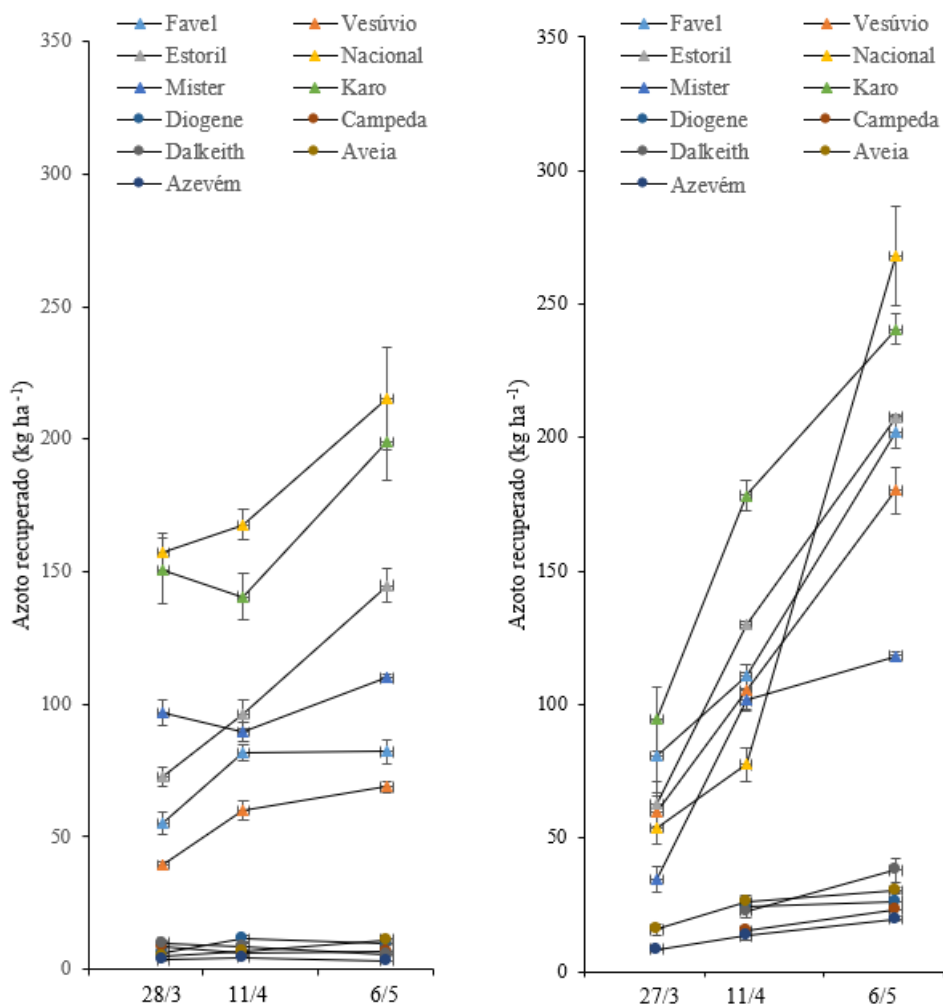


Figura 19: Azoto recuperado nos tecidos das espécies/variedades utilizadas como adubos verdes em Mirandela (esquerda) e Bragança (direita). As barras de erros são o desvio padrão das médias.

As diferentes espécies/cultivares utilizadas nos ensaios apresentaram recuperação de fósforo bastante distintas entre si (Figura 20). A maior quantidade de fósforo recuperada, considerando todas as espécies/variedades e datas de amostragem, foi observada na tremocilha, cv. Nacional em 6 de maio, no ensaio de Mirandela, com um valor de 14,32 kg ha<sup>-1</sup>. Na primeira amostragem, a maior recuperação de fósforo nos tecidos foi observada no tremço-de-folha-estreita, cv. Karo, com um valor de 10,97 kg ha<sup>-1</sup>. O azevém registou os teores mais baixos de fósforo recuperado nos tecidos nas últimas amostragens, com um valor médio de 0,52 kg ha<sup>-1</sup>.

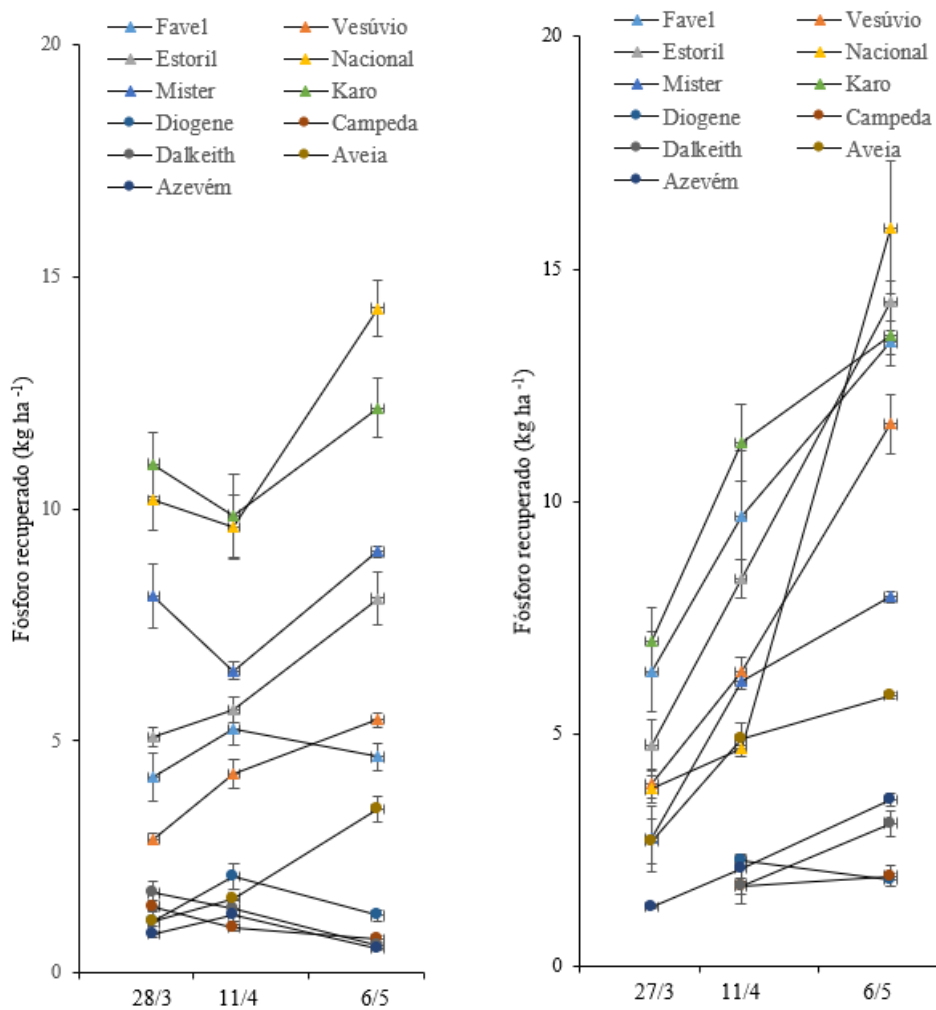


Figura 20: Fósforo recuperado nos tecidos das espécies/variedades utilizadas como adubos verdes em Mirandela (esquerda) e Bragança (direita). As barras de erros são o desvio padrão das médias.

Os trevos, aveia e as favas, de uma maneira geral, atingiram os valores mais elevados próximos de apenas 5,5 kg ha<sup>-1</sup>. Em Bragança os teores de fósforo recuperado variaram de valores médios próximos 1,0 kg ha<sup>-1</sup> até valores próximos de 16,0 kg ha<sup>-1</sup>. De forma semelhante a Mirandela, em Bragança, a tremocilha, cv. Nacional foi a espécie

com maior fósforo recuperado ( $15,88 \text{ kg ha}^{-1}$ ), seguida de tremoço-doce, cv. Estoril ( $14,31 \text{ kg ha}^{-1}$ ), tremoço-de-folha-estreita, cv. Karo ( $13,58 \text{ kg ha}^{-1}$ ), fava, cv. Favel ( $13,42 \text{ kg ha}^{-1}$ ), fava, cv. Vesúvio ( $11,66 \text{ kg ha}^{-1}$ ) e tremocilha, cv. Mister ( $7,95 \text{ kg ha}^{-1}$ ) (Figura 20). Neste ensaio, o trevo-encarnado, cv. Diogene apresentou o valor mais baixo de fósforo recuperado na última amostragem ( $1,87 \text{ kg ha}^{-1}$ ) entre os grupos de trevos, aveia e azevém.

A concentração de potássio recuperado nos tecidos mostrou uma tendência decrescente em Mirandela, com algumas exceções ao longo das datas, enquanto em Bragança houve uma tendência crescente, também com algumas exceções (Figura 21).

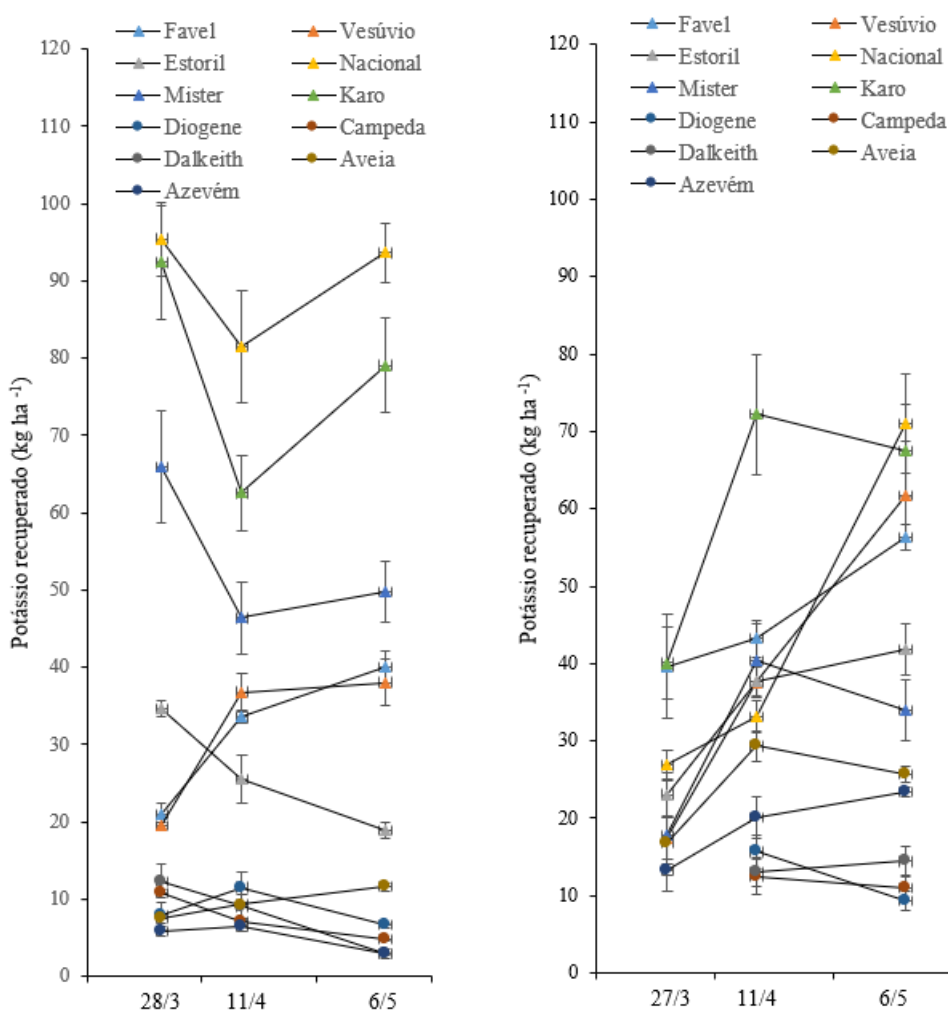


Figura 21: Potássio recuperado nos tecidos das espécies/variedades utilizadas como adubos verdes em Mirandela (esquerda) e Bragança (direita). As barras de erros são o desvio padrão das médias.

Em Mirandela, a quantidade de potássio recuperado foi mais elevada na tremocilha, cv. Nacional, em 28 de março ( $95,46 \text{ kg ha}^{-1}$ ), seguida pelo tremoço-de-folha-estreita, cv. Karo ( $92,40 \text{ kg ha}^{-1}$ ), tremocilha, cv. Mister ( $65,97 \text{ kg ha}^{-1}$ ) e tremoço-doce,

cv. Estoril (34,67 kg ha<sup>-1</sup>). Esse padrão foi verificado na última amostragem em maio. Nas favas, na última amostragem, foram observados valores médios de potássio recuperado 40,0 kg ha<sup>-1</sup>. Os teores mais baixos de potássio recuperado nos tecidos foram registados pelos trevos, aveia e azevém, com um valor médio de 12,0 kg ha<sup>-1</sup> na última amostragem. Em Bragança, o tremoço-de-folha-estreita, cv. Karo foi a espécie com maiores teores de potássio nos tecidos (40,07 kg ha<sup>-1</sup>), seguida pela fava, cv. Favel (39,66 kg ha<sup>-1</sup>) na primeira amostragem. As concentrações de potássio recuperado nos tecidos foram tendencialmente menos elevadas que em Mirandela. Na última amostragem, os maiores teores de potássio recuperado foram observados na tremocilha, cv. Nacional (71,04 kg ha<sup>-1</sup>), seguida pelo tremoço-de-folha-estreita, cv. Karo (67,45 kg ha<sup>-1</sup>), fava, cv. Vesúvio (61,73 kg ha<sup>-1</sup>) e fava, cv. Favel (56,32 kg ha<sup>-1</sup>).

As diferentes espécies/cultivares utilizadas nos ensaios mostraram uma tendência crescente na recuperação de cálcio, com algumas exceções ao longo das datas (Figura 22). A concentração mais elevada de cálcio recuperado foi observada na tremocilha, cv. Nacional, em maio, no ensaio de Mirandela, com um valor de 48,55 kg ha<sup>-1</sup>. Na primeira amostragem, a maior concentração de cálcio recuperado nos tecidos foi observada no tremoço-de-folha-estreita, cv. Karo, com 47,55 kg ha<sup>-1</sup>. Em ambos ensaios, aveia e azevém registaram os teores mais baixos de cálcio recuperado nos tecidos nas últimas amostragens, com um valor médio inferior a 7,00 kg ha<sup>-1</sup>. Em Bragança o tremoço-de-folha-estreita, cv. Karo foi a espécie com maiores teores de cálcio recuperado nos tecidos, tanto na primeira amostragem (25,06 kg ha<sup>-1</sup>) quanto na última amostragem (71,10 kg ha<sup>-1</sup>), seguido das favas, tremoços e tremocilhas (Figura 22).

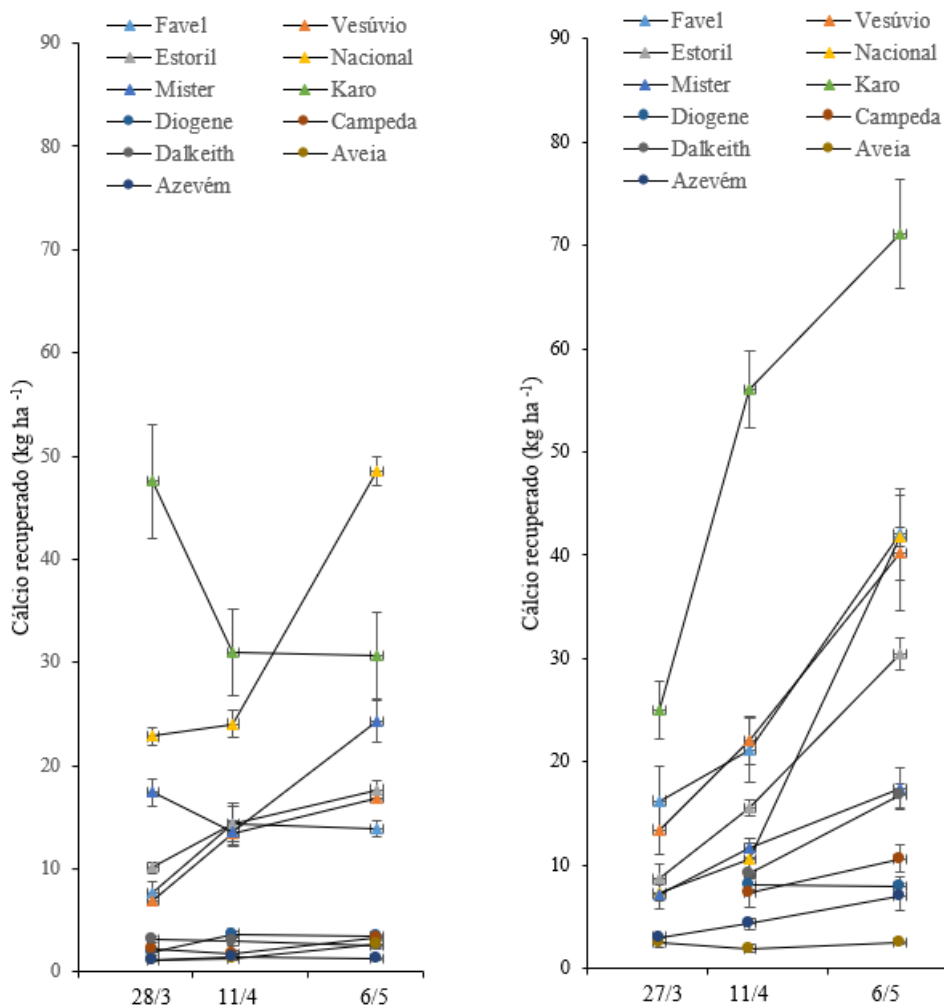


Figura 22: Cálcio recuperado nos tecidos das espécies/variedades utilizadas como adubos verdes em Mirandela (esquerda) e Bragança (direita). As barras de erros são o desvio padrão das médias.

As diferentes espécies/cultivares utilizadas nos ensaios apresentaram uma tendência crescente na recuperação de magnésio, com algumas exceções ao longo das datas (Figura 23). A concentração mais alta de magnésio recuperado registada no ensaio de Mirandela, considerando todas as espécies/variedades e datas de amostragem, foi observada na tremocilha, cv. Nacional, em 6 de maio (17,80 kg ha<sup>-1</sup>). Na primeira amostragem, a maior concentração de magnésio recuperado nos tecidos foi observada no tremoço-de-folha-estreita, cv. Karo (16,86 kg ha<sup>-1</sup>). Em ambos ensaios, aveia e azevém registaram os teores mais baixos de magnésio recuperado nos tecidos nas últimas amostragens, com o valor médio inferior a 3,0 kg ha<sup>-1</sup>. Em Bragança o tremoço-de-folha-estreita, cv. Karo foi a espécie com maiores teores de cálcio recuperado nos tecidos (11,14 kg ha<sup>-1</sup>) na primeira amostragem, assim como na última amostragem (28,51 kg ha<sup>-1</sup>),

seguido da tremocilha, cv. Nacional (17,77 kg ha<sup>-1</sup>), tremoço-doce, cv. Estoril (14,22 kg ha<sup>-1</sup>) e das favas.

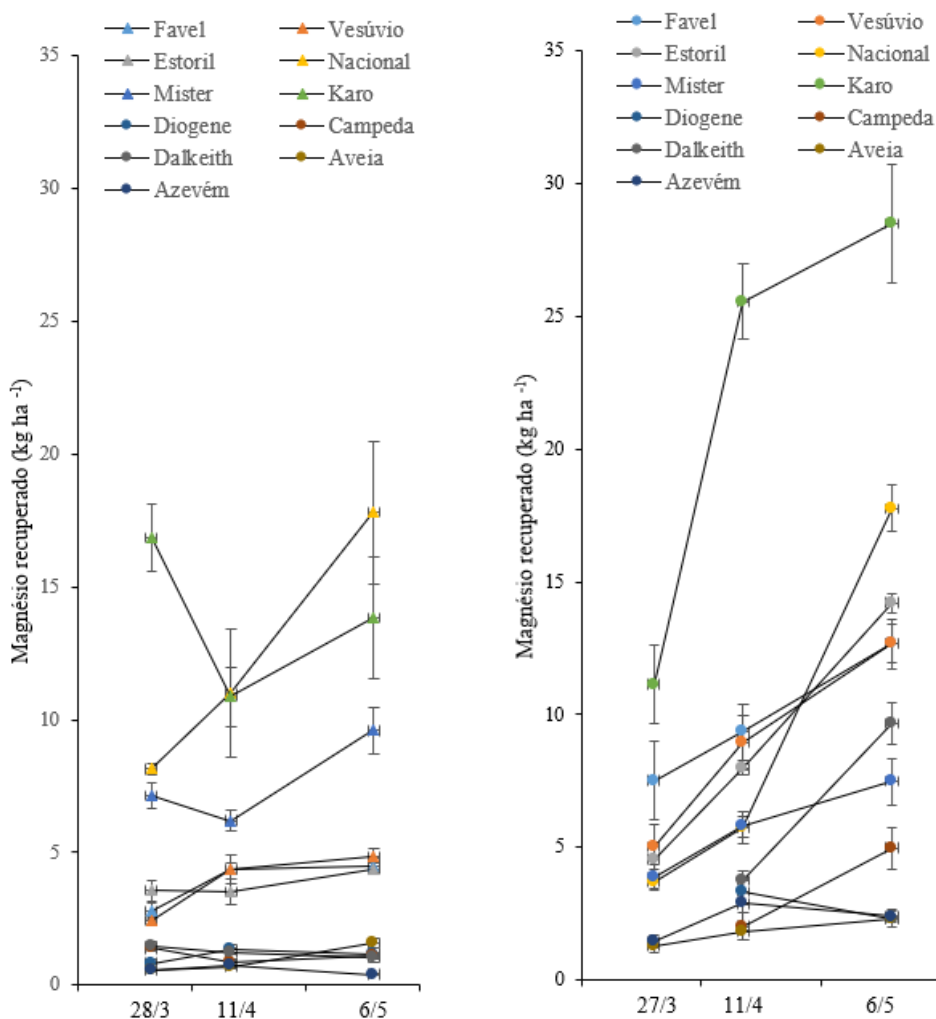


Figura 23: Magnésio recuperado nos tecidos das espécies/variedades utilizadas como adubos verdes em Mirandela (esquerda) e Bragança (direita). As barras de erros são o desvio padrão das médias.

#### 4.3.2. Micronutrientes recuperados

As diferentes espécies/cultivares utilizadas nos ensaios apresentaram uma tendência crescente na recuperação de boro, com algumas exceções ao longo das datas (Figura 24). A quantidade mais elevada de boro recuperado foi observada no ensaio de Mirandela, considerando todas as espécies/variedades e datas de amostragem. Em 28 de março, a maior quantidade de boro recuperado nos tecidos foi observada no tremoço-de-folha-estreita, cv. Karo, com o valor de 254,80 g ha<sup>-1</sup>. Na última amostragem, a maior quantidade de boro recuperado nos tecidos foi observada na tremocilha, cv. Nacional,

com 244,20 g ha<sup>-1</sup>. Em Bragança a fava, cv. Favel foi a espécie com maiores teores de boro recuperado nos tecidos na primeira amostragem, com o valor de 64,83 g ha<sup>-1</sup>. Na última amostragem, o tremoço-de-folha-estreita, cv. Karo, apresentou o maior teor de boro recuperado nos tecidos, com o valor de 28,51 g ha<sup>-1</sup>, seguido da tremocilha, cv. Nacional (128,60 g ha<sup>-1</sup>), e do tremoço-doce, cv. Estoril, com 111,40 g ha<sup>-1</sup>. As favas apresentaram um valor médio inferior a 94,0 g ha<sup>-1</sup>. Em ambos ensaios, os trevos, aveia e azevém registaram os teores mais baixos de boro recuperado nos tecidos nas últimas amostragens, com o valor médio inferior a 30,0 g ha<sup>-1</sup>.

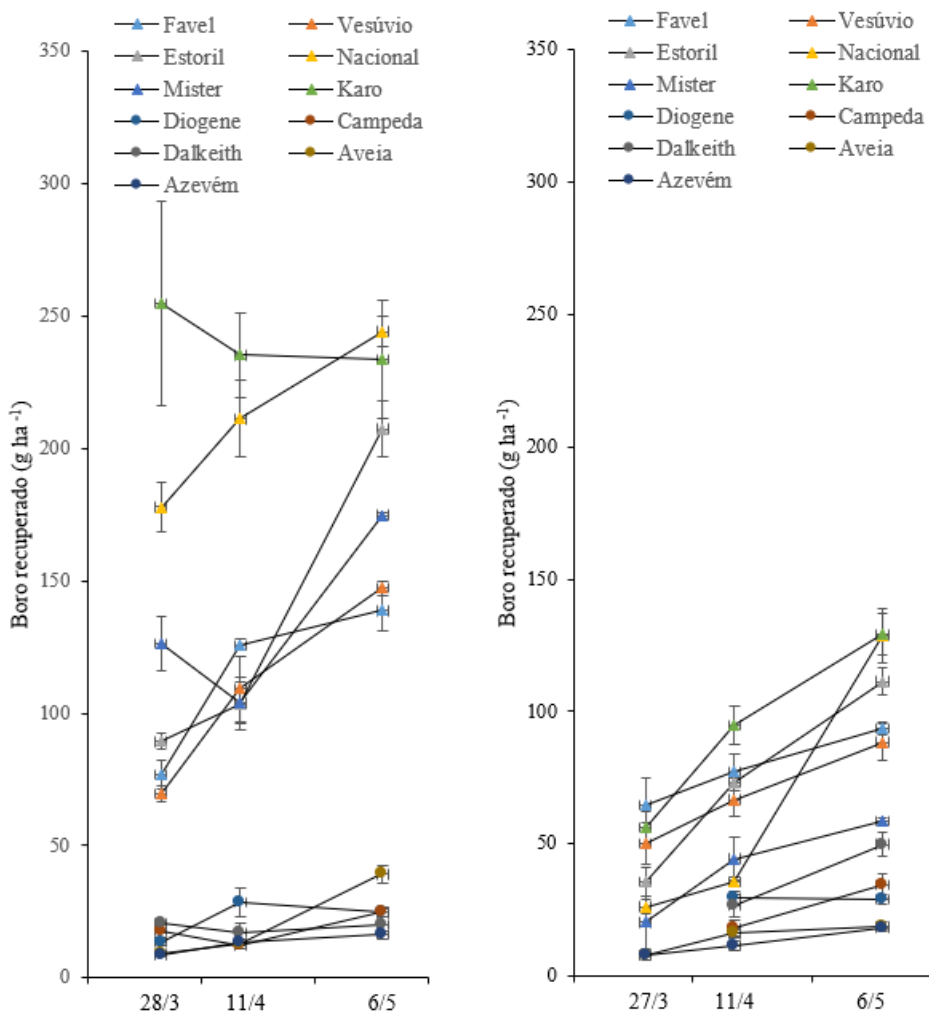


Figura 24: Boro recuperado nos tecidos das espécies/variedades utilizadas como adubos verdes em Mirandela (esquerda) e Bragança (direita). As barras de erros são o desvio padrão das médias.

As diferentes espécies/cultivares utilizadas nos ensaios apresentaram uma tendência crescente na recuperação de ferro, com algumas exceções ao longo das datas (Figura 25). A quantidade mais elevada de ferro recuperado foi observada no ensaio de Mirandela, no tremoço-de-folha-estreita, cv. Karo, em 28 de março, com o valor de

2250,20 g ha<sup>-1</sup>. Na última amostragem, a maior quantidade de ferro recuperado nos tecidos foi observada no trevo-subterrâneo, cv. Dalkeith (1433,0 g ha<sup>-1</sup>).

Em Bragança, a espécie com maiores teores de ferro recuperado nos tecidos foi a tremocilha, cv. Nacional, na primeira amostragem, com um valor de 2560,0 g ha<sup>-1</sup>, e na última amostragem, o trevo-subterrâneo, cv. Dalkeith, apresentou a maior quantidade de ferro recuperado nos tecidos, com um valor de 11227,73 g ha<sup>-1</sup>, seguido do trevo-subterrâneo, cv. Campeda (6351,68 g ha<sup>-1</sup>). As favas, tremoços e tremocilhas registaram os teores mais baixos de ferro recuperado, com valores médios inferiores a 1750,0 g ha<sup>-1</sup>, e o trevo-encarnado, aveia e azevém apresentaram os teores mais baixos de ferro recuperado nos tecidos, nas últimas amostragens, com o valor médio inferior a 370,0 g ha<sup>-1</sup>.

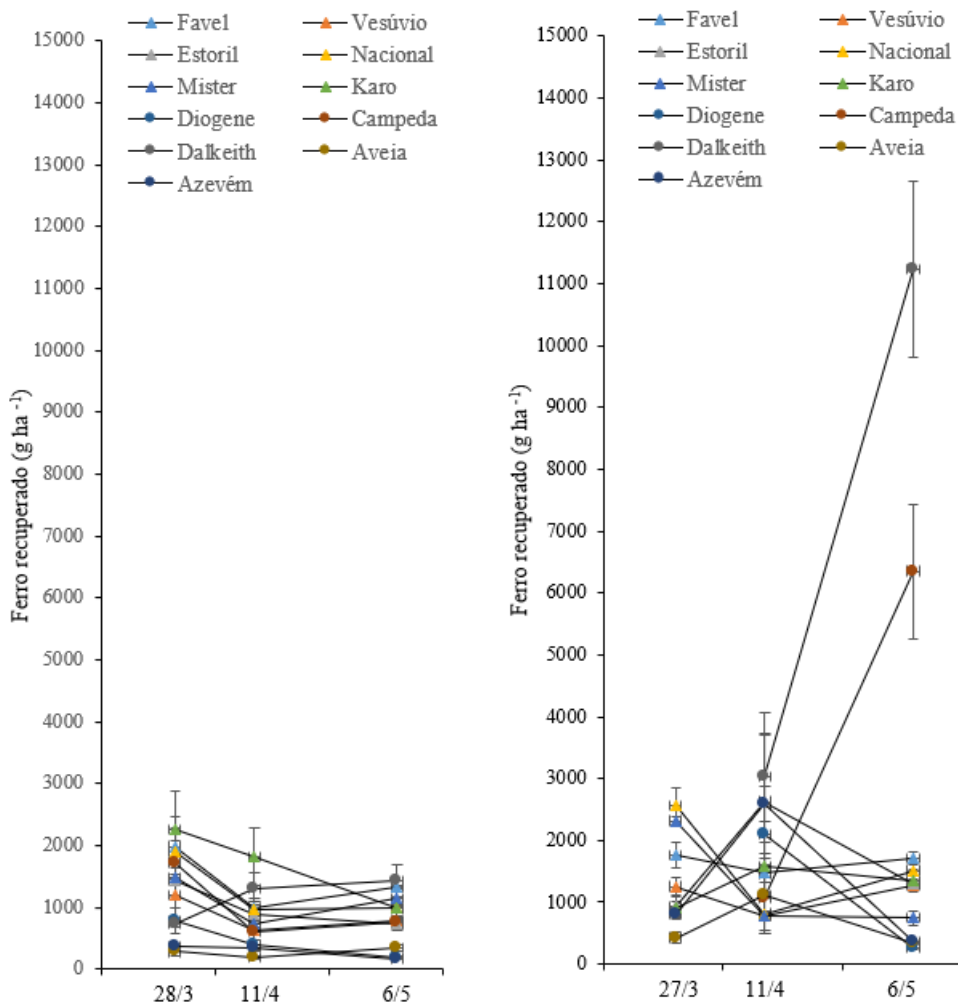


Figura 25: Ferro recuperado nos tecidos das espécies/variedades utilizadas como adubos verdes em Mirandela (esquerda) e Bragança (direita). As barras de erros são o desvio padrão das médias.

A quantidade de manganês recuperado nos tecidos mostrou uma tendência decrescente, com algumas exceções, ao longo das datas de amostragem e em ambos os ensaios (Figura 26). Os valores mais altos de manganês recuperado foram observados no ensaio de Mirandela, no tremoço-doce, cv. Estoril, na primeira amostragem (17860,11 g ha<sup>-1</sup>) e na última amostragem (23593,0 g ha<sup>-1</sup>). As favas, tremocilhas, tremoço-de-folha-estreita, trevos, aveia e azevém apresentaram menores quantidades de manganês recuperado nos tecidos, com valores médios entre 100,0 e 4700,0 g ha<sup>-1</sup> na última amostragem. No ensaio de Bragança a quantidade de manganês recuperado nos tecidos foram da mesma ordem de grandeza dos registados em Mirandela, constituindo-se uma única espécie/variedade (tremoço-doce, cv. Estoril), com valores mais elevados na primeira assim como na última amostragem (9497,0 e 28030,0 g ha<sup>-1</sup>) respetivamente, seguindo-se as favas, tremocilhas, tremoços, trevos, aveia e azevém com valores mais baixos de manganês recuperado nos tecidos.

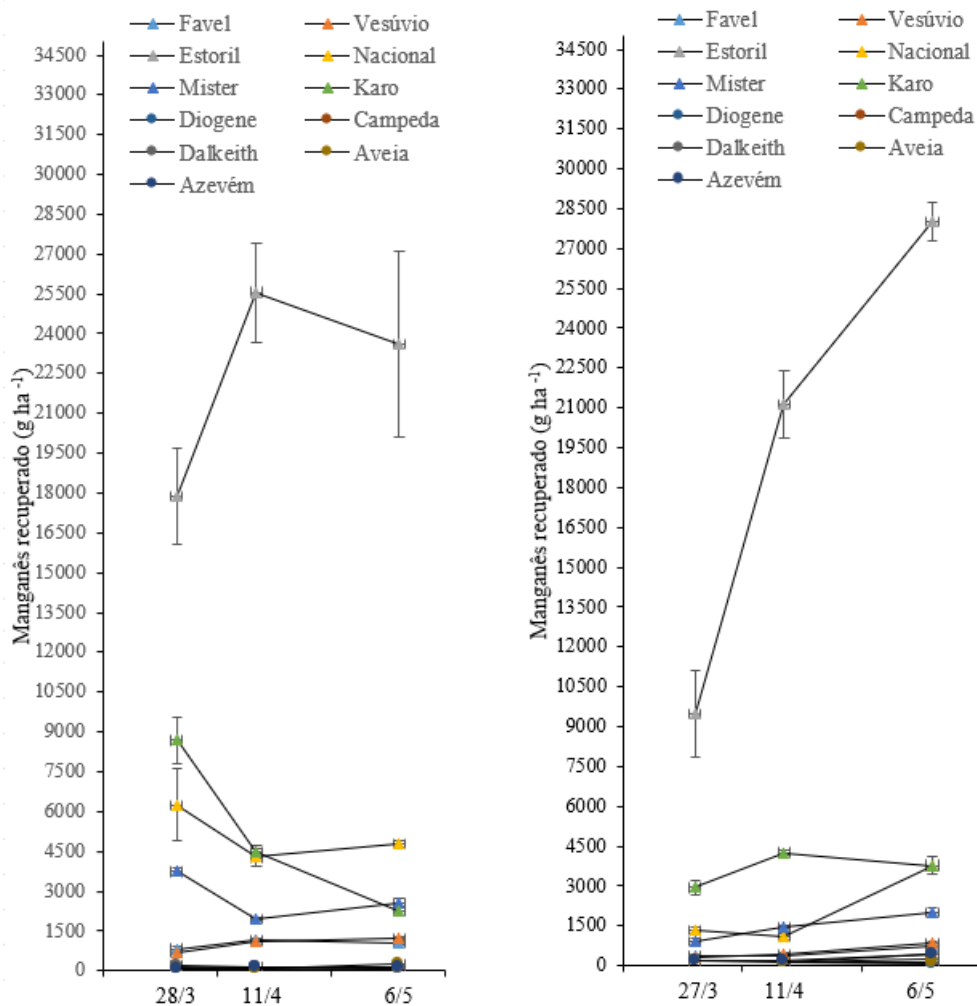


Figura 26: Manganês recuperado nos tecidos das espécies/variedades utilizadas como adubos verdes em Mirandela (esquerda) e Bragança (direita). As barras de erros são o desvio padrão das médias.

A concentração de zinco recuperado nos tecidos mostrou uma tendência decrescente, com raras exceções, ao longo das datas de amostragem nos ensaios em Mirandela e uma tendência crescente em Bragança (Figura 27).

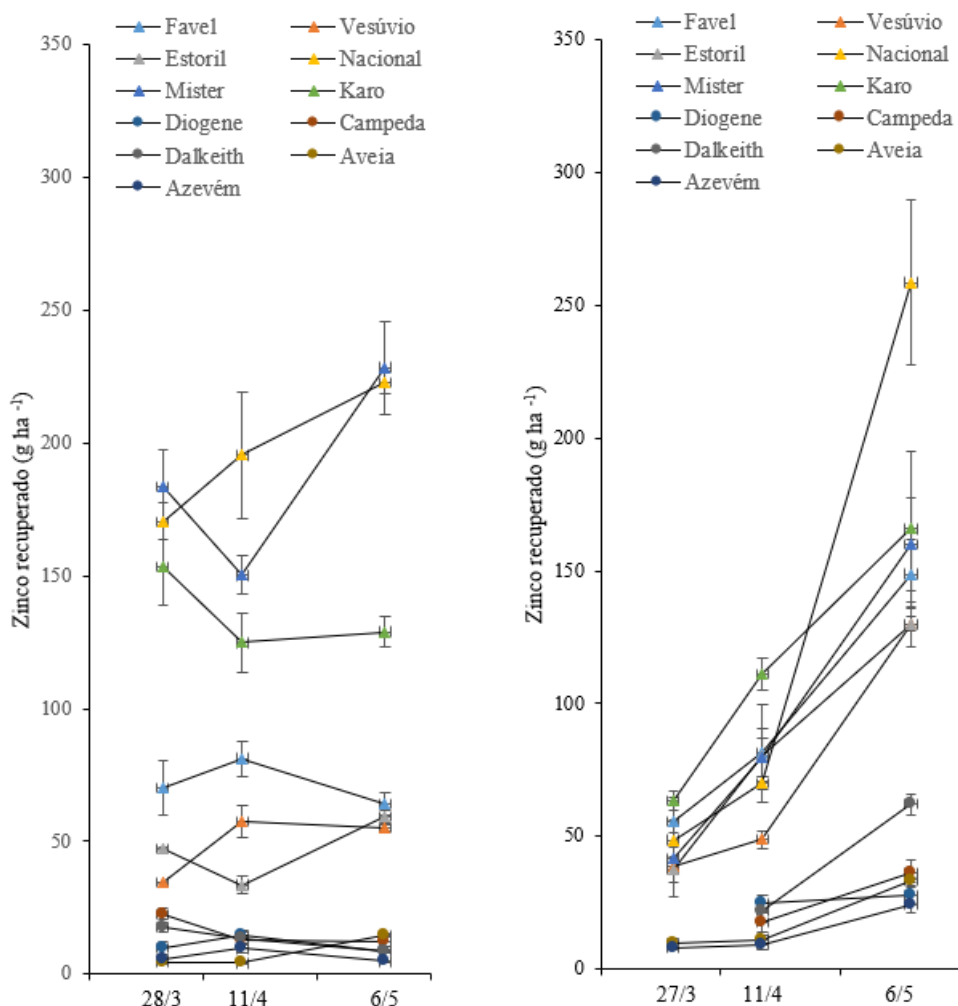


Figura 27: Zinco recuperado nos tecidos das espécies/variedades utilizadas como adubos verdes em Mirandela (esquerda) e Bragança (direita). As barras de erros são o desvio padrão das médias.

O maior valor de zinco recuperado registado no ensaio de Mirandela, considerando todas as espécies/variedades e datas de amostragem, foi observado na tremocilha, cv. Mister, na primeira e na última amostragem ( $183,53 \text{ g ha}^{-1}$  e  $228,5 \text{ g ha}^{-1}$ , respetivamente). Na última amostragem, seguiu-se a tremocilha, cv. Nacional ( $222,8 \text{ g ha}^{-1}$ ), os tremoços e as favas que registaram valores médios entre  $50,0$  a  $130 \text{ g ha}^{-1}$ . Os trevos, aveia e azevém registaram menores os teores de zinco recuperado nos tecidos em ambos ensaios. No ensaio de Bragança, a quantidade de zinco recuperada nos tecidos foi da mesma ordem de grandeza que a registada em Mirandela. A maior quantidade de zinco

recuperado foi observada na tremocilha, cv. Nacional na última amostragem em maio (258,7 g ha<sup>-1</sup>).

O cobre recuperado nos tecidos das diferentes espécies/cultivares mostrou tendência crescente nos ensaios de Mirandela e Bragança ao longo das datas de amostragem (Figura 28).

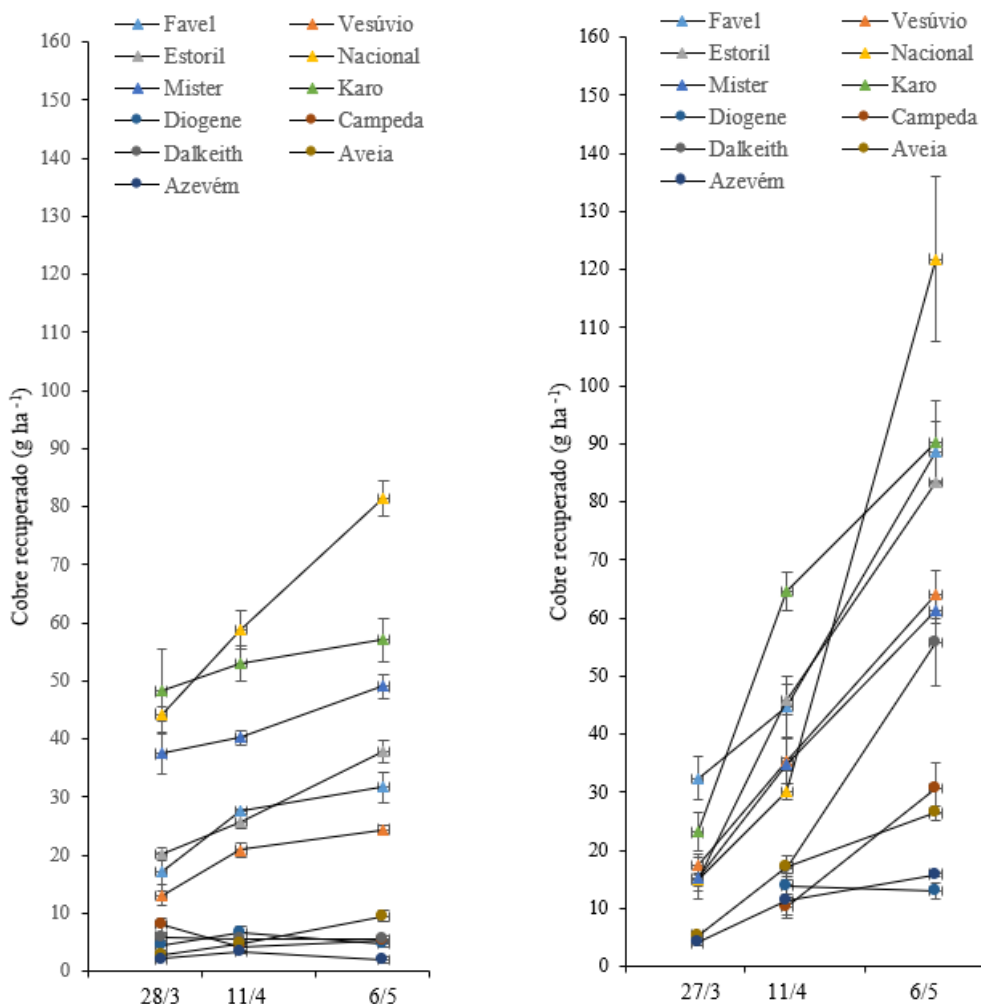


Figura 28: Cobre recuperado nos tecidos das espécies/variedades utilizadas como adubos verdes em Mirandela (esquerda) e Bragança (direita). As barras de erros são o desvio padrão das médias.

A maior quantidade de cobre recuperado no ensaio de Mirandela, considerando todas as espécies/variedades e datas de amostragem, foi observada no tremoço-de-folha-estreita, cv. Karo, em 28 de março (48,25 g ha<sup>-1</sup>). Na última amostragem, a maior quantidade de cobre recuperado nos tecidos foi observada na tremocilha, cv. Nacional (81,52 g ha<sup>-1</sup>). Em Bragança a fava, cv. Favel foi a espécie que teve maiores teores de cobre recuperados nos tecidos (32,38 g ha<sup>-1</sup>) na primeira amostragem, e na última amostragem, a tremocilha, cv. Nacional, apresentou o maior valor (121,80 g ha<sup>-1</sup>). Os

trevos, aveia e azevém registaram os menores valores de cobre recuperados nos tecidos em ambos ensaios, com valores médios inferiores a  $10,0 \text{ g ha}^{-1}$ , em Bragança e inferiores a  $60,0 \text{ g ha}^{-1}$  em Mirandela nas últimas amostragens.

## 5. DISCUSSÃO

A tremocilha, cv. Nacional, e o tremoceiro-azul destacaram-se entre as demais espécies/variedades pela elevada produção de biomassa em Mirandela assim como em Bragança. Trata-se de valores semelhantes aos obtidos pela cultivar *Trifolium incarnatum* L. cv. Contea, em coberto vegetal de olival tradicional de sequeiro em Trás-os-Montes (Rodrigues et al., 2013). Estes valores podem ser considerados elevados quando comparados com a produção de leguminosas anuais de ressementeira natural registada em outros estudos na região mediterrânica, em Apulia, Italia (Driouech et al., 2008).

É interessante notar que, ao contrário de Mirandela, onde os trevos apresentaram os valores mais baixos de produção de matéria seca, em Bragança, essas espécies ainda aumentaram sua produtividade entre abril e maio, indicando que o pico máximo de produção de biomassa não tinha sido atingido na última colheita. Bragança é uma região mais fria, levando a atrasos nos ciclos biológicos e estas espécies possuem uma capacidade de adaptação e evolução ao longo do tempo que lhes permite melhorar seu desempenho em condições específicas (Driouech et al., 2008; Filho et al., 2023). A precocidade deverá ser um critério determinante na escolha das espécies/variedades para introduzir nos cobertos vegetais em olival de sequeiro na perspectiva de reduzir a competição pela água (Rodrigues et al., 2013). Essa variação pode ser atribuída, em parte, à adaptação ecológica das espécies e/ou variedades ao longo do tempo (Filho et al., 2023). As espécies/variedades mais precoces apresentaram, de uma maneira geral, menor produção de matéria seca.

A tremocilha, cv. Nacional, apresentou a concentração de azoto mais elevada em 28 de março em Mirandela, enquanto na última amostragem, a maior concentração de azoto nos tecidos foi observada na tremocilha, cv. Mister. O mesmo padrão foi observado em Bragança onde as tremocilhas, tremoceiros e favas apresentaram valores mais elevados de concentração de azoto nos tecidos, seguidos pelos trevos e, por último, pelas gramíneas, aveia e azevém. Essa variação pode ser atribuída, em parte, à capacidade de fixação de azoto dessas espécies e/ou variedades (Francisco et al., 2020), que pode ter evoluído ao longo do tempo, tornando-as mais eficientes na absorção e utilização desse nutriente. Nestas condições, as leguminosas semeadas, com acesso ao azoto atmosférico, ficaram em condições muito privilegiadas para competir com outras espécies e/ou

variedades, sobretudo na Primavera quando a temperatura e a luminosidade também lhes são favoráveis (Rodrigues et al., 2013; Rodrigues et al., 2019). É importante ressaltar que a fixação de azoto é um processo complexo que envolve a interação entre as plantas e bactérias fixadoras de azoto presentes no solo (Arrobas et al., 2019). A eficiência desse processo pode ser influenciada por diversos fatores, como a disponibilidade de nutrientes, a presença de microrganismos benéficos no solo e a capacidade das plantas em estabelecer simbiose com esses microrganismos (Filho et al., 2023). De acordo com Rodrigues et al (2013), o importante é que o coberto assegure proteção do solo, não compita excessivamente pela água e, se possível, introduza azoto.

O trevo-vermelho, cv. Diogene, apresentou o valor médio mais elevado de fósforo na primeira amostragem em março, enquanto na última amostragem, a fava, cv. Favel, apresentou o valor médio mais baixo em Mirandela. Na última amostragem, trevo-vermelho, aveia e azevém registaram os teores de fósforo nos tecidos mais elevados. Em Bragança, as concentrações de fósforo nos tecidos foram tendencialmente mais baixas que em Mirandela. Em outros estudos na região foi demonstrado que a capacidade de solubilização de fósforo das espécies e/ou variedades pode estar relacionada à fertilidade inicial do solo e à evolução ao longo do tempo (Filho et al., 2023). Segundo Rodrigues et al. (2016), a adubação com fósforo pode aumentar a produção de matéria seca em pastagens naturais, mas a eficiência desse processo pode variar de acordo com a disponibilidade de nutrientes no solo e a capacidade das plantas em absorvê-los. Além disso, a solubilização de fósforo pode ser influenciada pela presença de microrganismos benéficos no solo, que podem ajudar as plantas a absorver esse nutriente (Filho et al., 2023). No entanto, a disponibilidade desse nutriente no solo pode ser limitada, especialmente em solos ácidos e com baixa fertilidade. Nesse sentido, as plantas podem desenvolver mecanismos de adaptação para aumentar a absorção e utilização de fósforo ao longo do tempo, o que pode explicar a variação observada nos resultados apresentados.

No que diz respeito a outros nutrientes, é evidente que as leguminosas, em geral, se destacam por apresentarem teores significativamente mais altos de potássio, cálcio, magnésio, boro, ferro, manganês, zinco e cobre em comparação com as gramíneas, que, por sua vez, tendem a ter concentrações mais baixas desses elementos. Isso ocorre principalmente devido às maiores necessidades fisiológicas desses nutrientes por parte das leguminosas, resultando em acúmulo mais pronunciado desses compostos em seus

tecidos. Esse fenômeno está parcialmente relacionado ao papel desses nutrientes nas estruturas celulares, como membranas e paredes celulares (Gupta, 2014). Um exemplo notável é o tremoço-doce, cv. Estoril, que demonstra níveis excepcionalmente elevados de manganês em seus tecidos, chegando a aproximadamente 5400 mg kg<sup>-1</sup> na última amostragem em Mirandela. Essa concentração é tão alta que poderia ser tóxica para a maioria das plantas cultivadas, de acordo com as diretrizes de Bryson et al. (2014). No entanto, apesar desses níveis excepcionalmente elevados de manganês, é importante observar que essas plantas não exibiram quaisquer sintomas de toxicidade. Isso sugere que essa espécie vegetal possui uma notável adaptabilidade a solos ácidos.

Além disso, os resultados apontam para a ideia de que essa planta não emprega mecanismos de exclusão de metais, ou seja, ela não restringe a acumulação de metais em suas raízes. Pelo contrário, ela parece transportar esses metais para a parte aérea. Isso difere de outras plantas que têm a tendência de acumular alguns metais em níveis tóxicos nas raízes (Arrobas et al., 2022; Lopes et al., 2021; Rodrigues et al., 2021c).

Para o azoto, a tremocilha, cv. Nacional, e o tremoço-de-folha-estreita, cv. Karo, se destacaram com as maiores quantidades recuperadas em Mirandela. No entanto, em Bragança, a tremocilha, cv. Nacional, foi a espécie mais produtiva. No caso do fósforo, a tremocilha, cv. Nacional, em Mirandela, e a tremoço-de-folha-estreita, cv. Karo, em Bragança, apresentaram as maiores quantidades recuperadas. Trata-se de valores semelhantes aos obtidos pelas mesmas espécies em uma área de olival de sequeiro com solo ácido na freguesia de Pinelo, no município de Vimioso, nordeste de Portugal (Ferreira et al., 2022).

## 6. CONCLUSÕES

Na última avaliação de campo realizada em 6 de maio em ambos os ensaios, observou-se que as variedades de tremocilhas, tanto a Nacional como a Mister, e o tremoceiro-azul da variedade Karo, exibiram os níveis mais elevados de matéria seca. Os dados coletados também indicaram que, no ensaio de Bragança, as plantas estavam em pleno crescimento ativo, ainda não tendo alcançado o pico máximo de produção de biomassa. Portanto, essas variedades demonstraram uma notável capacidade de adaptação às condições ambientais de cultivo, que incluem fatores como o frio e a acidez do solo, além de outros aspectos nutricionais. Todas as variedades investigadas demonstraram capacidade de fixação interessante de azoto, embora, de maneira geral, aquelas com ciclos de crescimento mais longos tenham registado valores mais elevados, o que está em linha com sua maior produção de biomassa.

No que se refere ao teor de fósforo nos tecidos vegetais, os maiores valores foram observados nas variedades de trevo-vermelho da cultivar Diogene, aveia e azevém no final da temporada de crescimento. Em Bragança, esses valores tendiam a ser um pouco mais baixos do que em Mirandela. É possível que a capacidade de solubilização de fósforo por parte dessas variedades tenha relação com a fertilidade inicial do solo nos dois ensaios, bem como com a sua evolução ao longo do tempo, o que, por sua vez, pode influenciar a absorção e utilização desse nutriente pelas plantas.

No que diz respeito ao acúmulo dos demais nutrientes, a variedade de tremocilha Nacional se destacou com os valores mais elevados em grande parte dos nutrientes, sendo seguida de perto pelo tremoceiro-azul. Essas plantas surgem, portanto, como candidatas promissoras para a prática de adubação verde, sendo uma fonte significativa de azoto para cultivos principais. Além disso, dada a sua capacidade de produzir consideráveis quantidades de biomassa, desempenham um papel relevante na melhoria da fertilidade do solo.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adetunji, A. T., Ncube, B., Mulidzi, R., & Lewu, F. B. (2020). Management impact and benefit of cover crops on soil quality: A review. *Soil and Tillage Research*, 204. <https://doi.org/10.1016/j.still.2020.104717>
- Arrobas, M., Almeida, S., Raimundo, S., Domingues, L., & Rodrigues, M. A. (2022). Leonardites rich in humic and fulvic acids had little effect on tissue elemental composition and dry matter yield in pot-grown olive cuttings. *Soil Systems*, 1–2.
- Arrobas, M., Ferreira, I. Q., Freitas, S., Verdial, J., & Rodrigues, M. Â. (2014). Guidelines for fertilizer use in vineyards based on nutrient content of grapevine parts. *Scientia Horticulturae*, 172, 191–198. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.04.016>
- Arrobas, M., Ribeiro, A., Barreales, D., Pereira, E. L., & Rodrigues, M. Â. (2019). Soil and foliar nitrogen and boron fertilization of almond trees grown under rainfed conditions. *European Journal of Agronomy*, 106, 39-48. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2019.02.014>
- Bai, M., Suter, H., Macdonald, B., & Schwenke, G. (2021). Ammonia, methane and nitrous oxide emissions from furrow irrigated cotton crops from two nitrogen fertilisers and application methods. *Agricultural and Forest Meteorology*, 303. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2021.108375>
- Ball, K. R., Baldock, J. A., Penfold, C., Power, S. A., Woodin, S. J., Smith, P., & Pendall, E. (2020). Soil organic carbon and nitrogen pools are increased by mixed grass and legume cover crops in vineyard agroecosystems: Detecting short-term management effects using infrared spectroscopy. *Geoderma*, 379. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2020.114619>
- Barbieri, P., Starck, T., Voisin, A. S., & Nesme, T. (2023). Biological nitrogen fixation of legumes crops under organic farming as driven by cropping management: A review. *Agricultural Systems*, 205. <https://doi.org/10.1016/j.agsy.2022.103579>
- Bechlin, M. A., Fortunato, F. M., Da Silva, R. M., Ferreira, E. C., & Gomes Neto, J. A. (2014). A simple and fast method for assessment of the nitrogen-phosphorus-potassium rating of fertilizers using high-resolution continuum source atomic and molecular absorption spectrometry. *Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy*, 101, 240–244. <https://doi.org/10.1016/j.sab.2014.09.012>
- Bryson, G. M., Mills, H. A., Sasseville, D. N., Jones, J. B., Barker, A. V. (2014). *Plant Analysis Handbook III: A Guide to Sampling, Preparation, Analysis, Interpretation*

- and Use of Results of Agronomic and Horticultural Crop Plant Tissue. Grécia: Micro-Macro Publishing, Incorporated.
- Calouro, F., Veloso, A., Sempiterno, C., Calouro, F., Rebelo, F., Pedra, F., Castro, I. V., da Conceição Gonçalves, M., da Encarnação Marcelo, M., Pereira, P., Fareleira, P., Jordão, P., Mano Rui Fernandes Colaboração, R., Curto, A., Lopes, A., Dias, A., Raposo, A., Maçãs, B., Ferreira, E., & Monteiro João Moura, I. M. (2022). *Manual de fertilização das culturas* (3ª Edição). Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P. - INIAV.
- Chang, S. H. E., YI, X. yan, SAUER, J., YIN, C. bin, & LI, F. duo. (2022). Explaining farmers' reluctance to adopt green manure cover crops planting for sustainable agriculture in Northwest China. *Journal of Integrative Agriculture*, 21(11), 3382–3394. <https://doi.org/10.1016/j.jia.2022.09.005>
- Chaudhary, A., Vassilev, N., & Upadhyay, S. K. (2022). Overview of biofertilizers in crop production and stress management for sustainable agriculture. *Frontiers in Plant Science*, 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.930340>
- Ciaccia, C., Montemurro, F., Campanelli, G., Diacono, M., Fiore, A., & Canali, S. (2015). Legume cover crop management and organic amendments application: Effects on organic zucchini performance and weed competition. *Scientia Horticulturae*, 185, 48–58. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.01.011>
- Crespo, C., Wyngaard, N., Sainz Rozas, H., Barbagelata, P., Barraco, M., Gudelj, V., & Barbieri, P. (2021a). Improving soil organic nitrogen and sulfur pools by cover cropping and crop fertilization in soybean-based cropping systems. *Soil and Tillage Research*, 213. <https://doi.org/10.1016/j.still.2021.105138>
- Crespo, C., Wyngaard, N., Sainz Rozas, H., Barbagelata, P., Barraco, M., Gudelj, V., & Barbieri, P. (2021b). Improving soil organic nitrogen and sulfur pools by cover cropping and crop fertilization in soybean-based cropping systems. *Soil and Tillage Research*, 213. <https://doi.org/10.1016/j.still.2021.105138>
- Driouech, N. 1 A., Fayad, F. 2, Ghanem, A. 2 &, & Al-Bitar, L. 1. (2008). Agronomic performance of annual self-reseeding legumes and their self-establishment potential in the Apulia region of Italy. *16th IFOAM Organic World Congress*. <http://orgprints.org/view/projects/conference.html>
- Elton-Bo'it, R. R. (1976). The determination of boron in plant tissue by atomic absorption spectrometry. In *Analytica Chimica Acta* (Vol. 86).

- Fan, Z., Li, R., Guan, E., Chen, H., Zhao, X., Wei, G., & Shu, D. (2023). Fertilization regimes affect crop yields through changes of diazotrophic community and gene abundance in soil aggregation. *Science of the Total Environment*, 866. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.161359>
- Ferreira, A. C., Rodrigues, M. A., & Arroba, M. (2022). *Produção de biomassa e acúmulo de nutrientes por leguminosas anuais cultivadas em um solo ácido*. [Dissertação de Mestrado, Instituto Politécnico de Bragança]. Biblioteca de Teses e Dissertações.
- Filho, O. F. D. L., Ambrosso, E., & Wutke, E. B. (2023). *Adubação verde e plantas de cobertura no Brasil Prática*. Embrapa, Superintendência de Comunicação.
- Francisco, M., Encarnação, S., Ângelo, M., & Bragança, R. (2020). *Práticas Agroecológicas em Portugal: Escalas, Intensidades, Mitigação e Adaptação*. [Dissertação de Mestrado, Instituto Politécnico de Bragança]. Biblioteca de Teses e Dissertações.
- Friedl, J., Scheer, C., Rowlings, D. W., McIntosh, H. v., Strazzabosco, A., Warner, D. I., & Grace, P. R. (2016). Denitrification losses from an intensively managed subtropical pasture - Impact of soil moisture on the partitioning of N<sub>2</sub> and N<sub>2</sub>O emissions. *Soil Biology and Biochemistry*, 92, 58–66. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.09.016>
- Gupta, U. (2014). Impact of high boron concentration on plants. *Biolife*, 610–611.
- Hu, Y., Zhan, P., Thomas, B. W., Zhao, J., Zhang, X., Yan, H., Zhang, Z., Chen, S., Shi, X., & Zhang, Y. (2022). Organic carbon and nitrogen accumulation in orchard soil with organic fertilization and cover crop management: A global meta-analysis. *Science of the Total Environment*, 852. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.158402>
- Korn, M. D. G. A., Dos Santos, W. P. C., Korn, M., & Ferreira, S. L. C. (2005). Optimisation of focused-microwave assisted digestion procedure for Kjeldahl nitrogen determination in bean samples by factorial design and Doehlert design. *Talanta*, 65(3), 710–715. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2004.07.047>
- Li, G., Tang, X., Hou, Q., Li, T., Xie, H., Lu, Z., Zhang, T., Liao, Y., & Wen, X. (2023). Response of soil organic carbon fractions to legume incorporation into cropping system and the factors affecting it: A global meta-analysis. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 342. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2022.108231>

- Lopes, A. S. (1998). *Manual internacional de fertilidade do solo*. Potash & Phosphate Institute (PPI).
- Lopes, J. I., Correia, C. M., Gonçalves, A., Silva, E., Martins, S., Arrobas, M., & Rodrigues, M. Â. (2021). Arbuscular mycorrhizal fungi inoculation reduced the growth of pre-rooted olive cuttings in a greenhouse. *Soil Systems*, 5(2). <https://doi.org/10.3390/soilsystems5020030>
- Momesso, L., Crusciol, C. A. C., Leite, M. F. A., Bossolani, J. W., & Kuramae, E. E. (2022). Forage Grasses Steer Soil Nitrogen Processes, Microbial Populations, and Microbiome Composition in A Long-term Tropical Agriculture System. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 323. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2021.107688>
- Morrissy, J. G., Currell, M. J., Reichman, S. M., Surapaneni, A., Megharaj, M., Crosbie, N. D., Hirth, D., Aquilina, S., Rajendram, W., & Ball, A. S. (2021). Nitrogen contamination and bioremediation in groundwater and the environment: A review. In *Earth-Science Reviews* (Vol. 222). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2021.103816>
- Ordóñez-Fernández, R., Repullo-Ruibérriz de Torres, M. A., Márquez-García, J., Moreno-García, M., & Carbonell-Bojollo, R. M. (2018a). Legumes used as cover crops to reduce fertilisation problems improving soil nitrate in an organic orchard. *European Journal of Agronomy*, 95, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2018.02.001>
- Ordóñez-Fernández, R., Repullo-Ruibérriz de Torres, M. A., Márquez-García, J., Moreno-García, M., & Carbonell-Bojollo, R. M. (2018b). Legumes used as cover crops to reduce fertilisation problems improving soil nitrate in an organic orchard. *European Journal of Agronomy*, 95, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2018.02.001>
- Poikane, S., Phillips, G., Birk, S., Free, G., Kelly, M. G., & Willby, N. J. (2019). Deriving nutrient criteria to support ‘good’ ecological status in European lakes: An empirically based approach to linking ecology and management. *Science of the Total Environment*, 650, 2074–2084. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.350>
- Querné, A., Battie-laclau, P., Dufour, L., Wery, J., & Dupraz, C. (2017). Effects of walnut trees on biological nitrogen fixation and yield of intercropped alfalfa in a Mediterranean agroforestry system. *European Journal of Agronomy*, 84, 35–46. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2016.12.001>

- Rodrigues De Arruda, M., & Régis Da Costa, J. (2003). *Importância e alguns aspetos no uso de leguminosas na Amazônia*. Embrapa.
- Rodrigues, M. Â., Coelho, V., Arrobas, M., Gouveia, E., Raimundo, S., Correia, C. M., & Bento, A. (2019). The effect of nitrogen fertilization on the incidence of olive fruit fly, olive leaf spot and olive anthracnose in two olive cultivars grown in rainfed conditions. *Scientia Horticulturae*, 256.  
<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108658>
- Rodrigues, M. Â., Correia, C. M., Claro, A. M., Ferreira, I. Q., Barbosa, J. C., Moutinho-Pereira, J. M., Bacelar, E. A., Fernandes-Silva, A. A., & Arrobas, M. (2013). Soil nitrogen availability in olive orchards after mulching legume cover crop residues. *Scientia Horticulturae*, 158, 45–51. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.04.035>
- Rodrigues, M. Â., Ferreira, I., & Afonso, S. (2016). Adubação com azoto, fósforo, potássio e boro numa pastagem natural (lameiro) em Trás-os-montes: produção e composição elementar da matéria seca. *XXXVII Reunião de Primavera Da SPPF*, 35–36.
- 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. *European Journal of Agronomy*, 25(4), 328–335.  
<https://doi.org/10.1016/j.eja.2006.07.002>
- Rodrigues, M. Â., Pires, J. M., Claro, M., Ferreira, I. Q., Barbosa, C., & Arrobas, M. (2013). Instalação de leguminosas anuais de ressementeira natural como cobertos vegetais em olivais de sequeiro. In *Pastagens e Forragens* (Vol. 32).
- Rodrigues, M. Â., Piroli, L. B., Forcelini, D., Raimundo, S., da Silva Domingues, L., Cassol, L. C., Correia, C. M., & Arrobas, M. (2021a). Use of commercial mycorrhizal fungi in stress-free growing conditions of potted olive cuttings. *Scientia Horticulturae*, 275. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109712>
- Rodrigues, M. Â., Piroli, L. B., Forcelini, D., Raimundo, S., da Silva Domingues, L., Cassol, L. C., Correia, C. M., & Arrobas, M. (2021b). Use of commercial mycorrhizal fungi in stress-free growing conditions of potted olive cuttings. *Scientia Horticulturae*, 275. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109712>
- Rodrigues, M. Â., Piroli, L. B., Forcelini, D., Raimundo, S., da Silva Domingues, L., Cassol, L. C., Correia, C. M., & Arrobas, M. (2021c). Use of commercial

- mycorrhizal fungi in stress-free growing conditions of potted olive cuttings. *Scientia Horticulturae*, 275. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109712>
- Roohi, M., Saleem Arif, M., Guillaume, T., Yasmeen, T., Riaz, M., Shakoor, A., Hassan Farooq, T., Muhammad Shahzad, S., & Bragazza, L. (2022). Role of fertilization regime on soil carbon sequestration and crop yield in a maize-cowpea intercropping system on low fertility soils. *Geoderma*, 428. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2022.116152>
- Sainju, U. M., Liptzin, D., Dangi, S., & Ghimire, R. (2021). Soil health indicators and crop yield in response to long-term cropping sequence and nitrogen fertilization. *Applied Soil Ecology*, 168. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2021.104182>
- Takeda, N., Friedl, J., Rowlings, D., de Rosa, D., Scheer, C., & Grace, P. (2021). Exponential response of nitrous oxide (N<sub>2</sub>O) emissions to increasing nitrogen fertiliser rates in a tropical sugarcane cropping system. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 313. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2021.107376>
- Tian, S., Zhu, B., Yin, R., Wang, M., Jiang, Y., Zhang, C., Li, D., Chen, X., Kardol, P., & Liu, M. (2022). Organic fertilization promotes crop productivity through changes in soil aggregation. *Soil Biology and Biochemistry*, 165. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2021.108533>
- Tscharntke, T., Grass, I., Wanger, T. C., Westphal, C., & Batáry, P. (2021). Beyond organic farming – harnessing biodiversity-friendly landscapes. In *Trends in Ecology and Evolution* (Vol. 36, Issue 10, pp. 919–930). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2021.06.010>
- Weerahewa, J., & Dayananda, D. (2023). Land use changes and economic effects of alternative fertilizer policies: A simulation analysis with a bio-economic model for a Tank Village of Sri Lanka. *Agricultural Systems*, 205. <https://doi.org/10.1016/j.agsy.2022.103563>
- Weinert, C., Sousa, R. O. de, Bortowski, E. M., Campelo, M. L., Pacheco, D. da S., Santos, L. V. dos, Deuner, S., Valente, G. B., Matos, A. B., Vargas, V. L., Martins, A. P., Camargo, F. A. de O., & Carlos, F. S. (2023). Legume winter cover crop (Persian clover) reduces nitrogen requirement and increases grain yield in specialized irrigated hybrid rice system. *European Journal of Agronomy*, 142. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2022.126645>

Zhong, X., Zhou, X., Fei, J., Huang, Y., Wang, G., Kang, X., Hu, W., Zhang, H., Rong, X., & Peng, J. (2021). Reducing ammonia volatilization and increasing nitrogen use efficiency in machine-transplanted rice with side-deep fertilization in a double-cropping rice system in Southern China. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 306. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2020.107183>