

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA**

TESE

**DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO AGRONÔMICA DE
UM FERTILIZANTE FORMULADO COM A BIOMASSA DE
GLIRICÍDIA**

Ana Lígia Panain de Souza Rezende
2023



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA**

**DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO AGRONÔMICA DE
UM FERTILIZANTE FORMULADO COM A BIOMASSA DE
GLIRICÍDIA**

ANA LÍGIA PANAIN DE SOUZA REZENDE

Sob a Orientação do Professor/Pesquisador
Dr. José Guilherme Marinho Guerra

e Coorientação do Pesquisador
Dr. Ednaldo da Silva Araújo

Tese submetida como requisito parcial
para obtenção do grau de **Doutora em
Fitotecnia**, no Programa de Pós-
Graduação em Fitotecnia, Área de
Concentração em Produção Vegetal.

Seropédica, RJ
Agosto de 2023

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Rd Rezende, Ana Lígia Panain de Souza, 1987-
Desenvolvimento e avaliação agronômica de um
fertilizante formulado com a biomassa de gliricídia /
Ana Lígia Panain de Souza Rezende. - Seropédica, 2023.
116 f.: il.

Orientador: José Guilherme Marinho Guerra.
Coorientador: Ednaldo da Silva Araújo.
Tese(Doutorado). -- Universidade Federal Rural do
Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em
Fitotecnia, 2023.

1. Agroecologia. 2. Gliricídia sepium. 3. N-verde.
4. Disponibilidade de nitrogênio. 5. Microrganismos
decompositores. I. Guerra, José Guilherme Marinho,
13/12/1958-, orient. II. Araújo, Ednaldo da Silva,
22/12/1974-, coorient. III Universidade Federal Rural
do Rio de Janeiro. Programa de Pós-Graduação em
Fitotecnia. IV. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA

ANA LÍGIA PANAIN DE SOUZA REZENDE

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutora em Fitotecnia** no Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da UFRRJ, área de concentração Produção Vegetal.

TESE APROVADA EM: 31 de agosto de 2023

José Guilherme Marinho Guerra (UFRRJ/IA/DFITO)
(Orientador)

Margarida Górete Ferreira do Carmo (UFRRJ/IA/DFITO)
(Membro interno)

Norma Gôuvea Rumjanek (Embrapa Agrobiologia)
(Membro Externo)

Raul Castro Carriello Rosa (Embrapa Agrobiologia)
(Membro Externo)

David Vilas Boas de Campos (Embrapa Solos)
(Membro Externo)

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Myrian Lígia e José Dimas que sempre me apoiaram e incentivaram, ao meu noivo Eric Lemes que esteve comigo durante todo o doutorado.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus pai onipresente, por tudo que fez e faz em nossas vidas.

Aos meus pais Myrian Lígia e José Dimas por todo afeto, dedicação e apoio fundamentais em meus anos de estudos, sem vocês eu não chegaria até aqui.

A minha irmã e amiga Ana Karla que me deu o maior e melhor presente, meu afilhado Augusto.

Ao meu noivo Eric Lemes que sempre me apoiou, incentivou e ajudou durante o doutorado, sua companhia foi essencial.

Ao meu orientador Dr. José Guilherme Marinho Guerra por todo o apoio e ensinamentos compartilhados durante o doutoramento.

Ao meu coorientador Dr. Ednaldo da Silva Araújo por todo apoio, ensinamentos e ajuda durante o doutoramento.

Ao pesquisador Dr. Jerri Zili que permitiu o desenvolvimento deste trabalho no Centro de Recursos Biológicos Johanna Döbereiner (CRB-JD) e toda ajuda fornecida durante este período.

Ao pesquisador Dr. Marco Leal pela orientação e ajuda no desenvolvimento de análises.

Ao pesquisador Dr. Segundo Urquiaga pela contribuição no trabalho com marcação isotópica.

Aos funcionários da Embrapa Agrobiologia e da Fazendinha Agroecológica km 47, que contribuíram no desenvolvimento deste trabalho, em especial ao Rosinaldo do laboratório de Agricultura Orgânica e ao Eugênio do Terraço, pela amizade e ajuda nos momentos em que solicitei.

Aos colegas do laboratório de Agricultura Orgânica e do CRB-JD pela amizade e ajuda nos momentos necessários.

Ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

À Embrapa Agrobiologia e Fazendinha Agroecológica Km 47.

Ao Irradiador Multipropósito de Cobalto-60 do CETER/IPEN.

Aos membros da banca Dra. Margarida Gorete, Dra. Norma Gôuvea, Dr. Raul Castro, Dr. David Campos e aos suplentes Dra. Anelise Dias e Dr. Marco Leal por aceitarem o convite.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

RESUMO GERAL

A necessidade de produzir alimentos de forma sustentável tem se intensificado nos últimos anos e a agricultura orgânica é norteada por estes princípios, porém, necessita de avanços no desenvolvimento de produtos, em especial fertilizantes, para uma potencial expansão. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência do fertilizante N-verde peletizado, formulado com biomassa de folhas da *Gliricidia sepium* e avaliar o efeito da inoculação de leveduras na biomassa de ramos e folhas da gliricídia, na disponibilização do nitrogênio (N). Inicialmente a gliricídia foi cultivada por um período de 18 meses em condições de vasos e realizadas marcações com solução de ureia contendo 3,0 % de átomos de ^{15}N , após cada colheita o material foi seco, finamente moído e homogeneizado ao final. No capítulo I foi avaliada a dinâmica do N do fertilizante N-verde marcado, em cultivo orgânico da cebolinha (*Allium fistulosum*), foi adotado delineamento experimental de blocos casualizados (DBC), em um arranjo fatorial 2x6, sendo duas fontes de fertilizantes (N-verde e farelo de mamona) e 6 doses de N total (0, 50, 100, 200, 300 e 400 kg ha⁻¹). Foram realizadas três colheitas aos 55, 89 e 123 dias após o transplantio (DAT) e mensurados o comprimento, o diâmetro, o número de folhas, a produção de massa fresca e seca e a concentração de N. Na última colheita determinou-se a massa seca e a concentração de N nas raízes e no solo, calculando-se a eficiência de recuperação de N. Verificou-se maior produtividade da cebolinha (986 g m²) com a dose de 228 kg de N total ha⁻¹ com uso do N-verde e para o farelo de mamona a produtividade foi de 867 g m² com 280 kg de N total ha⁻¹. A eficiência de recuperação do N derivado do N-verde pelas plantas de cebolinha foi de 6,68%, o que demonstra a necessidade de aumentá-la. Desse modo, no capítulo II foram realizados ensaios para avaliar o efeito da inoculação na disponibilização do N. No primeiro ensaio foi adotado DBC em arranjo fatorial (2x7), sendo as fontes esterilização da biomassa de folhas e ramos de gliricídia (ausência e presença) e a inoculação (leveduras XMD, LA22, LF22 isoladamente e em mistura, produto comercial Embiotic®, e os controles contendo somente água destilada ou meio inoculante). Após 21 dias de incubação, foram avaliados pH, condutividade elétrica, macronutrientes totais e solúveis, relação C:N, emissão potencial de CO₂ e NH₃ e a sobrevivência dos microrganismos inoculados. A disponibilização de N foi analisada por meio de um bioensaio em casa de vegetação, sendo adicionados três tratamentos controles (ausência de adubação, farelo de mamona e a biomassa de gliricídia não incubada e nem inoculada). Todos os tratamentos, com exceção daqueles contendo a linhagem XMD sob condições estéreis, foram tão eficientes quanto o farelo de mamona na produção de massa seca da aveia preta e na porcentagem de N recuperado. Foi realizado também um experimento quantitativo em casa de vegetação, sob um Planossolo, utilizando a biomassa de folhas e ramos de gliricídia marcada, o delineamento adotado foi DBC em arranjo fatorial (6x5), sendo as fontes: inoculação com LF22 e XMD isoladamente e em mistura, somente meio inoculante, ausência de inoculação e incubação, farelo de mamona, e as cinco doses de N total (0, 100, 200, 300 e 400 kg ha⁻¹). Não houve diferença entre os fertilizantes com biomassa de gliricídia na produção de massa seca, assim como não houve diferença na recuperação de ^{15}N , porém, o farelo de mamona se mostrou mais eficiente a uma menor dose. Conclui-se que nas condições estudadas o fertilizante N-verde peletizado é tão eficiente quanto o farelo de mamona na produção da cebolinha e que a biomassa de folhas e ramos de gliricídia possui excelente potencial como fertilizante, porém, a inoculação com as leveduras, seguida de incubação, não aumentou sua eficiência.

Palavras-chave: Agroecologia; *Gliricidia sepium*; N-verde; disponibilidade de nitrogênio; microrganismos decompositores.

GENERAL ABSTRACT

The need to produce food sustainably has intensified in recent years and organic agriculture is guided by these principles, however, it requires advances in the development of products, especially fertilizers, for potential expansion. The present work aimed to evaluate the efficiency of pelletized N-green fertilizer, formulated with biomass from *Gliricidia sepium* leaves, and to evaluate the effect of yeast inoculation on the biomass of branches and leaves of *Gliricidia*, on the availability of nitrogen (N). Initially, *gliricidia* was cultivated for a period of 18 months in pot conditions and marked with a urea solution containing 3.0% ^{15}N atoms, after each harvest, the material was dried, finely ground and homogenized at the end. In chapter I, the dynamics of N in marked N-green fertilizer was evaluated in organic cultivation of chives (*Allium fistulosum*), a randomized block experimental design (DBC) was adopted, in a 2x6 factorial arrangement, with two fertilizer sources (N-green and castor bean meal) and 6 doses of total N (0, 50, 100, 200, 300 and 400 kg ha⁻¹). Three harvests were carried out at 55, 89 and 123 days after transplanting (DAT) and the length, diameter, number of leaves, fresh and dry mass production and N concentration were measured. In the last harvest, the dry mass and N concentration in the roots and soil were determined, calculating the N recovery efficiency. A higher productivity of chives (986 g m²) with a dose of 228 kg of total N ha⁻¹ contained in green-N, and for castor bean bran the productivity reached was 867 g m² with 280 kg of N total ha⁻¹. The recovery efficiency of N derived from green N by chive plants was 6.68%, which demonstrates the need to increase it. Thus, in chapter II, tests were carried out to evaluate the effect of inoculation on the availability of N. In the first test, DBC was adopted in a factorial arrangement (2x7), with the sources being sterilization of the biomass of leaves and branches of *gliricidia* (absence and presence) and inoculation (yeasts XMD, LA22, LF22 alone and in mixture, commercial product Embiotic®, and abiotic controls containing only water distilled or inoculant medium). After 21 days of incubation, pH, electrical conductivity, total and soluble macronutrients, C:N ratio, potential emission of CO₂ and NH₃ and the survival of inoculated microorganisms were evaluated. The availability of N was analyzed using a bioassay in a greenhouse, with the addition of three control treatments (absence of fertilization, castor bean meal and *gliricidia* biomass that was not incubated or inoculated). All treatments, with the exception of those containing the XMD strain under sterile conditions, were as efficient as castor bean meal in the production of black oat dry mass and the percentage of N recovered. A quantitative experiment was also carried out in a greenhouse, under a Planosol, using the biomass of leaves and branches of marked *gliricidia*, the design adopted was DBC in a factorial arrangement (6x5), with sources inoculation with LF22 and XMD alone and in mixture, only inoculant medium, absence of incubation/ inoculation, castor bean meal and five doses of total N (0, 100, 200, 300 and 400 kg ha⁻¹). There was no difference between fertilizers with *gliricidia* biomass in the production of dry mass, as well as no difference in the recovery of ^{15}N , however, castor bean meal proved to be more efficient at a lower dose. It is concluded that under the conditions studied, the pelletized N-green fertilizer is as efficient as castor bean meal in the production of chives and that the biomass of leaves and branches of *gliricidia* has excellent potential as a fertilizer, however, inoculation with yeasts, followed of incubation, did not increase its efficiency.

Keywords: Agroecology, *Gliricidia sepium*; N-green, nitrogen availability, decomposers microorganisms.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

- Figura 1.** Área experimental, com foco na adubação localizada realizada em cada linha da parcela.33
- Figura 2.** Variáveis fitotécnicas de plantas de cebolinha, submetidas ao manejo orgânico de produção, nas condições climáticas da Baixada Fluminense, em função de doses de N total aplicado a partir de fontes de fertilizantes vegetais (N-verde e farelo de mamona), por ocasião da primeira colheita (55 DAT). A) Comprimento das folhas de cebolinha; B) Diâmetro das folhas de cebolinha; C) Número de folhas por planta de cebolinha.37
- Figura 3.** Comprimento de plantas de cebolinha, submetidas ao manejo orgânico de produção, nas condições climáticas da Baixada Fluminense, em função de doses de N total aplicado a partir de fontes de fertilizantes vegetais (N-verde e farelo de mamona). A) Por ocasião da segunda colheita (89 DAT). B) Por ocasião da terceira colheita (123 DAT).38
- Figura 4.** Concentração de N na parte aérea e raiz de plantas de cebolinha, em diferentes épocas de colheita, submetidas ao manejo orgânico de produção, nas condições climáticas da Baixada Fluminense, em função de doses de N total aplicado a partir de fontes de fertilizantes vegetais (N-verde e farelo de mamona). A) Na parte aérea colhida aos 55 DAT; B) Na parte aérea colhida aos 89 DAT; C) Na parte aérea colhida aos 123 DAT; D) Na raiz colhida aos 123 DAT.....40
- Figura 5.** Biomassa seca da parte aérea de cebolinha, submetidas ao manejo orgânico de produção, nas condições climáticas da Baixada Fluminense, em função de doses de N total aplicado a partir de fontes de fertilizantes vegetais (N-verde e farelo de mamona). A) Por ocasião da primeira colheita (55 DAT). B) Por ocasião da segunda colheita (89 DAT). C) Por ocasião da terceira colheita (123 DAT).42
- Figura 6.** Biomassa seca, teor e acúmulo de N durante o ciclo da cebolinha, submetidas ao manejo orgânico de produção, nas condições climáticas da Baixada Fluminense, em função de doses de N total aplicado a partir de fontes de fertilizantes vegetais (N-verde e farelo de mamona). A) Biomassa seca após as três colheitas da parte aérea da cebolinha. B) Teor de N após as três colheitas da parte aérea da cebolinha. C) Acúmulo de N após as três colheitas da parte aérea da cebolinha.....43
- Figura 7.** Produtividade de massa fresca da parte aérea de plantas de cebolinha, em diferentes épocas de colheita, submetidas ao manejo orgânico de produção, nas condições climáticas da Baixada Fluminense, em função de doses de N total aplicado a partir de fontes de fertilizantes

vegetais (N-verde e farelo de mamona). A) colheita da parte aérea aos 55 DAT; B) colheita da parte aérea aos 89 DAT; C) colheita da parte aérea aos 123 DAT.47

Figura 8. Produtividade total da cebolinha, submetidas ao manejo orgânico de produção, nas condições climáticas da Baixada Fluminense, em função de doses de N total aplicado a partir de fontes de fertilizantes vegetais (N-verde e farelo de mamona), durante o seu ciclo com três colheitas da parte aérea (55, 89 e 123 DAT).49

CAPÍTULO II

Figura 9. Bioensaio em casa de vegetação, 35 DAS da aveia preta.61

Figura 10. Experimento de eficiência de recuperação de ^{15}N , em casa de vegetação, 40 DAS de milho.64

Figura 11. Observação de colônias presentes na parte superior dos vidros, próximas a abertura da tampa, para os tratamentos não estéreis após 21 dias de incubação.74

Figura 12. Visualização das colônias presentes no tratamento contendo biomassa de gliricídia e Embiotic, após 21 dias de incubação e diluição seriada.76

Figura 13. Produção de massa seca da parte aérea do milho cultivado em casa de vegetação, a partir fertilização com biomassa de parte aérea (folha + caule) de gliricídia marcada, inoculada com as linhagens de leveduras e não inoculada (contendo somente meio inoculante), ambas seguidas de incubação por 21 dias, em comparação a biomassa não inoculada e nem incubada (controle) e ao farelo de mamona.85

Figura 14. Produção de massa seca para raiz do milho cultivado em casa de vegetação, a partir da fertilização com a biomassa de parte aérea (folha + caule) de gliricídia marcada, inoculada com as linhagens de leveduras e não inoculada (contendo somente meio inoculante), ambas seguidas de incubação por 21 dias, em comparação a biomassa não inoculada e nem incubada (controle) e ao farelo de mamona.86

Figura 15. Produção de massa seca total para o milho cultivado em casa de vegetação, a partir da fertilização com biomassa de parte aérea (folha + caule) de gliricídia marcada, inoculada com as linhagens de leveduras e não inoculada (contendo somente meio inoculante), ambas seguidas de incubação por 21 dias, em comparação a biomassa não inoculada e nem incubada (controle) e ao farelo de mamona.88

Figura 16. Concentração de N e N acumulado no milho (parte aérea + raiz) cultivado em casa de vegetação, a partir da fertilização com biomassa de parte aérea (folha + caule) de gliricídia marcada, inoculada com as linhagens de leveduras e não inoculada (contendo somente meio

inoculante), ambas seguidas de incubação por 21 dias, em comparação a biomassa não inoculada e nem incubada (controle) e ao farelo de mamona.....90

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1. Análise química da fertilidade do solo.....	32
Tabela 2. Teor de macronutrientes totais dos fertilizantes N-verde e Farelo de mamona.....	32
Tabela 3. Média das variáveis fitotécnicas: comprimento das folhas (cm), diâmetro das folhas (mm) e a média do número de folhas por planta de cebolinha, em diferentes épocas de colheita, submetidas ao manejo orgânico de produção, nas condições climáticas da Baixada Fluminense sob diferentes doses de N total aplicado a partir de fontes de fertilizantes vegetais (N-verde e farelo de mamona) e o controle (dose 0 de N).....	35
Tabela 4. Concentração de N na parte aérea da cebolinha (PA) em diferentes épocas de colheita (55, 89 e 123 DAT), na raiz (R) e no solo (S) ao final do ciclo (123 DAT) da cebolinha submetida ao manejo orgânico de produção, nas condições climáticas da Baixada Fluminense sob diferentes doses de N total aplicado a partir de fontes de fertilizantes vegetais N-verde e farelo de mamona.....	39
Tabela 5. Teor de ¹⁵ N em excesso na parte aérea da cebolinha e eficiência de recuperação do N derivado do fertilizante N-verde pela cebolinha, submetida ao manejo orgânico de produção, nas condições climáticas da Baixada Fluminense.....	44
Tabela 6. Produtividade média de massa fresca da parte aérea da cebolinha, submetidas ao manejo orgânico de produção, nas condições climáticas da Baixada Fluminense, em função de doses de N total aplicado a partir de fontes de fertilizantes vegetais (N-verde e farelo de mamona) em comparação ao controle (ausência de fertilização nitrogenada), após cada uma das três colheitas realizadas durante seu ciclo de cultivo.....	48

CAPÍTULO II

Tabela 7. Teor de macronutrientes totais e P, K, Ca e Mg solúveis da biomassa de gliricídia e do farelo de mamona utilizados nos ensaios experimentais.....	58
Tabela 8. Teor de N total, C total e a relação C:N da biomassa de gliricídia e do farelo de mamona utilizados nos ensaios experimentais.....	58
Tabela 9. Análise química da fertilidade do solo.....	62

Tabela 10. Valores médios de pH e condutividade elétrica (CE), para a biomassa de parte aérea (folha + caule) de gliricídia (estéril e não estéril), submetida a inoculação, antes e após incubação por período de 21 dias.....	65
Tabela 11. Teor de N total e C total, relação C:N para a biomassa de parte aérea (folha + caule) de gliricídia (estéril e não estéril), submetida a inoculação, seguida de incubação por período de 21 dias.....	68
Tabela 12. Teor de macronutrientes (P, K, Ca e Mg) na biomassa de parte aérea (folha + caule) de gliricídia (estéril e não estéril), submetida a inoculação seguida de incubação, por período de 21 dias.....	70
Tabela 13. Teor de macronutrientes (P, K, Ca e Mg) solúveis na biomassa de parte aérea (folha + caule) de gliricídia (estéril e não estéril), submetida a inoculação seguida de incubação, por período de 21 dias.....	71
Tabela 14. Emissões potenciais de CO ₂ e NH ₃ para as fontes vegetais biomassa de parte aérea (folha + caule) de gliricídia (estéril e não estéril) submetida a incubação por período de 21 dias, em comparação a biomassa não incubada/inoculada e farelo de mamona.....	72
Tabela 15. Controle de qualidade e contagem de unidades formadoras de colônias (UFC ml ⁻¹), após 21 dias de incubação da biomassa da parte aérea (folha + caule) da gliricídia esterilizada e incubada com os inoculantes contendo as linhagens de levedura (LA22, LF22, XMD isoladas e em mistura)	75
Tabela 16. Produção de massa fresca da parte aérea (MFPA) e massa seca da parte aérea (MSPA), da raiz (MSR) e total (MST) da aveia preta crescida em casa de vegetação, a partir da aplicação da biomassa de parte aérea (folha + caule) de gliricídia (estéril e não estéril) submetida a inoculação, seguida de incubação por período de 21 dias, biomassa de gliricídia não incubada e farelo de mamona.....	77
Tabela 17. Concentração de N e porcentagem de recuperação de N pela aveia preta crescida em casa de vegetação, a partir da aplicação da biomassa de parte aérea (folha + caule) de gliricídia (estéril e não estéril) submetida a inoculação, seguida de incubação por período de 21 dias, biomassa de gliricídia não incubada e farelo de mamona.....	78
Tabela 18. Relação C:N e porcentagem de recuperação de N pela aveia preta crescida em casa de vegetação, a partir da aplicação da biomassa de parte aérea (folha + caule) de gliricídia (estéril e não estéril) submetida a inoculação, seguida de incubação por período de 21 dias,	

biomassa de gliricídia não incubada e farelo de mamona.....80

Tabela 19. Características gerais dos fertilizantes vegetais, biomassa de parte aérea (folha + caule) de gliricídia marcada, inoculada com as linhagens de leveduras e não inoculada (contendo somente meio inoculante), ambas seguidas de incubação por 21 dias, em comparação a biomassa não inoculada e nem incubada (controle) e ao farelo de mamona.....82

Tabela 20. Índice Clorofílog em folhas de milho cultivado em casa de vegetação, a partir da fertilização com biomassa de parte aérea (folha + caule) de gliricídia marcada, inoculada com as linhagens de leveduras e não inoculada (contendo somente meio inoculante), ambas seguidas de incubação por 21 dias, em comparação a biomassa não inoculada e nem incubada (controle) e ao farelo de mamona. CV=7,51%.....82

Tabela 21. Produção de massa seca da parte aérea do milho cultivado em casa de vegetação, a partir da fertilização com biomassa de parte aérea (folha + caule) de gliricídia marcada, inoculada com as linhagens de leveduras e não inoculada (contendo somente meio inoculante), ambas seguidas de incubação por 21 dias, em comparação a biomassa não inoculada e nem incubada (controle) e ao farelo de mamona. CV=7,35%.....83

Tabela 22. Produção de massa seca total para o milho cultivado em casa de vegetação, a partir da fertilização com biomassa de parte aérea (folha + caule) de gliricídia marcada, inoculada com as linhagens de leveduras e não inoculada (contendo somente meio inoculante), ambas seguidas de incubação por 21 dias, em comparação a biomassa não inoculada e nem incubada (controle) e ao farelo de mamona. CV=14,81%.....87

Tabela 23. Concentração de N (g kg^{-1}) na parte aérea do milho cultivado em casa de vegetação, a partir da fertilização com biomassa de parte aérea (folha + caule) de gliricídia marcada, inoculada com as linhagens de leveduras e não inoculada (contendo somente meio inoculante), ambas seguidas de incubação por 21 dias, em comparação a biomassa não inoculada e nem incubada (controle) e ao farelo de mamona. CV=11,96%.....89

Tabela 24. Teor de ^{15}N em excesso e eficiência de recuperação (ER) de ^{15}N na parte aérea do milho cultivado em casa de vegetação, a partir da fertilização com biomassa de parte aérea (folha + caule) de gliricídia marcada, inoculada com as linhagens de leveduras e não inoculada (contendo somente meio inoculante), ambas seguidas de incubação por 21 dias, em comparação a biomassa não inoculada e nem incubada (controle).....91

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 Aspectos gerais	3
2.2 N na adubação orgânica	5
2.3 Fertilizantes sustentáveis	7
2.4 Gliricídia (<i>Gliricidia sepium</i>)	8
2.5 N-verde	11
2.6 Peletização	13
2.7 Inoculantes microbianos	14
2.8 Leveduras	17
2.9 Contribuição da técnica isotópica do ¹⁵ N para a quantificação da eficiência no aproveitamento do N-fertilizante	19
2.10 Plantas modelos	21
2.10.1 Cebolinha (<i>Allium fistulosum</i>)	21
2.10.2 Gramíneas: aveia-preta e milheto	23
3 CAPÍTULO I	25
3.1 INTRODUÇÃO	28
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	30
3.2.1 Produção de gliricídia marcada com ¹⁵ N	30
3.2.2 Produção do ¹⁵ N-verde	30
3.2.3 Produção do N-verde não marcado	31
3.2.4 Descrição da área experimental	31
3.2.5 Análises estatísticas	34
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
3.3.1 Variáveis fitotécnicas	35
3.3.2 Concentração de N e eficiência de recuperação	39
3.3.3 Produtividade e eficiência agronômica	46
3.4 CONCLUSÕES	50
4 CAPÍTULO II	51
4.1 INTRODUÇÃO	54
4.2 MATERIAL E MÉTODOS	55
4.2.1 Preparo dos inoculantes	55
4.2.2 Preparo da biomassa inoculada	56
4.2.3 Análise biomassa inoculada	57
4.2.4 Avaliação conjunta das emissões potenciais de CO ₂ e NH ₃	59
4.2.5 Quantificação dos microrganismos inoculados	59

4.2.6 Efeito da inoculação seguida da incubação na recuperação de N	60
4.2.7 Preparo da biomassa marcada e inoculada com leveduras	61
4.2.8 Avaliação da eficiência de recuperação de ¹⁵ N	62
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	64
4.3.1 Análise da biomassa inoculada após período de incubação	64
4.3.2 Emissões potenciais de CO ₂ e NH ₃	72
4.3.3 Análise dos microrganismos inoculados após incubação	74
4.3.4 Efeito da inoculação, seguida de incubação na recuperação de N	77
4.3.5 Eficiência de recuperação ¹⁵ N	81
4.4 CONCLUSÕES	92
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	93
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	94

1 INTRODUÇÃO GERAL

Diante das crescentes projeções de aumento da população mundial, aumentou-se também a preocupação de como satisfazer a demanda nutricional da população.

Durante a Revolução Verde buscou-se aumentar a produção de alimentos pela aplicação de pacotes tecnológicos, como os fertilizantes e defensivos sintéticos, produzindo monoculturas com uso intensivo da terra, gerando um grande impacto ambiental que levou a debates profundos e a busca constante por alternativas.

Portanto, aumentar a produção de alimentos sem impactar negativamente o ambiente é um desafio mundial, estando ainda entre os objetivos do desenvolvimento sustentável (ODS) da agenda 2030, amplamente difundida pela Organização das Nações Unidas (ONU, 2015).

Entre os nutrientes essenciais as culturas o nitrogênio (N) é o macro elemento requerido em maiores quantidades. Apesar de a atmosfera conter cerca de 78% de N_2 , o N se encontra pouco disponível, devido a tripla ligação extremamente estável entre os elementos, sendo as formas reativas obtidas por alguns processos naturais como as descargas elétricas e a fixação biológica do nitrogênio (FBN) ou pelo processo industrial (Haber-Bosch) (TAIZ & ZEIGER, 2004).

O processo industrial de obtenção de N apresenta alto custo e leva a impactos ambientais negativos, devido ao elevado custo energético envolvido (MENDES JUNIOR & BUENO, 2015), mas também pela sua alta solubilidade que pode levar a perdas de N por lixiviação com contaminação de aquíferos e rios (JAMA et al., 2023; MERCANTE et al., 2014) ou ainda pela alta emissão de gases como o óxido nitroso (N_2O) e o óxido nítrico (NO) que agravam o efeito estufa e levam a degradação da camada de ozônio (GENG et al., 2021).

Desse modo, é de extrema importância o investimento em fontes de N alternativas aos sintéticos como os fertilizantes orgânicos, em especial os de origem vegetal, por não apresentar risco toxicológico como os de origem animal e estar fundamentado em dois importantes processos ecológicos e biológicos, a fotossíntese e a fixação biológica do N_2 (FBN), caracterizando-se como fertilizantes sustentáveis.

As espécies da família botânica Fabaceae, também conhecidas como leguminosas, são especialmente indicadas para esse fim, pois elas são capazes de interagir com bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico, estabelecendo uma relação simbiótica, desse modo, essas bactérias chamadas de rizóbios se alojam em nódulos radiculares fornecendo o nitrogênio biologicamente fixado para a planta, que irá lhes fornecer a energia necessária para sua

sobrevivência, a partir de seus produtos do metabolismo fotossintético (HUNGRIA & NOGUEIRA, 2022; REIS et al., 2018).

A gliricídia (*Gliricidia sepium*) é uma leguminosa arbórea que apresenta vantagens para a fertilização que vão além do fornecimento do N fixado, pois produz elevada quantidade de biomassa, concentra relativamente mais nutrientes que outras leguminosas e suas folhas se decompõem rapidamente (EIRAS & COELHO, 2010).

De acordo com Almeida et al. (2008), a transformação da biomassa aérea de determinadas espécies da família Fabaceae, como a *G. sepium*, em fertilizantes processados é promissora para os sistemas orgânicos de produção, mostrando-se capaz de substituir a adubação de cobertura com “cama” de aviário industrial, durante o cultivo da alface, com dosagem equivalente de N total, contudo, esta tecnologia desafiadora ainda necessita de avanços para aprimorar o processo de produção como fertilizante.

Desse modo, pesquisas científicas foram desenvolvidas a partir da biomassa aérea da gliricídia (ALMEIDA et al., 2008; ALMEIDA, 2008; ALMEIDA, 2012; SANTOS, 2017) atestando o seu potencial na adubação. Porém, esses trabalhos demonstraram a eficiência da adubação utilizando as folhas da gliricídia, sendo ainda necessárias melhorias no processo para otimização e aproveitamento de toda a planta.

Santos (2017) demonstrou a eficiência a campo de fertilizante desenvolvido a partir das folhas da gliricídia processadas como grânulos, no cultivo orgânico de feijão, milho e alface, este fertilizante posteriormente foi denominado como N-verde protótipo nº 1. Porém, o modo de produção deste fertilizante nas condições estudadas elevou seu tempo de preparo, além disso não possibilita a redução de volume da biomassa.

Desse modo, buscou-se modificar o modo de produção do fertilizante desenvolvido a partir das folhas da gliricídia, que passou pelo processo de peletização no lugar da granulação, com o objetivo de otimizar o tempo de preparo e reduzir o volume da biomassa, reduzindo assim custos com mão-de-obra e armazenamento, sendo este fertilizante denominado de N-verde protótipo nº 2.

Diante do exposto o presente trabalho foi dividido em dois capítulos desenvolvidos de acordo com as hipóteses de estudo estabelecidas e postas sob testes, sendo estas. O fertilizante N-verde peletizado, denominado de protótipo nº 2, apresenta eficiência na capacidade de fornecimento de N no cultivo orgânico de cebolinha. A inoculação na biomassa moída (ramos e folhas) de *G. sepium* com microrganismos decompositores aumenta a disponibilização do N

contido na biomassa vegetal, resultando no aumento da eficiência de utilização desse elemento pelas plantas.

Desse modo, o presente trabalho tem como objetivos avaliar a capacidade de N do fertilizante N-verde, formulado com a biomassa de folhas moídas e peletizadas da *G. sepium*, e avaliar o efeito da inoculação de leveduras na biomassa moída de ramos e folhas da gliricídia na disponibilização de N.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Aspectos gerais

De acordo com levantamento da FAO (2021) a população global aumentará de 7,7 bilhões para 9,7 bilhões em 2050, e para satisfazer a demanda nutricional será necessário que a produção de alimentos aumente em cerca de 50%.

Entre as medidas adotadas para aumentar a produtividade agrícola estão as técnicas de cultivo e manejo, bem como o uso consciente da mecanização, defensivos e principalmente fertilizantes (CRUZ et al., 2017).

No que se refere ao consumo de fertilizantes, os nitrogenados são os requeridos em maiores quantidades principalmente nos ambientes tropicais. O nitrogênio (N) é de maneira geral, o macro elemento requerido em maiores quantidades pelas culturas, haja vista, ser componente de diversos compostos celulares vegetais, sobretudo, nas proteínas, ácidos nucleicos, clorofilas, vitaminas entre outros (VIEIRA, 2017).

De acordo com dados da FAO (2021) a produtividade na agricultura aumentou 2,5% ao ano nas últimas décadas, e o uso de fertilizantes nitrogenados sintéticos aumentou quase 81 milhões de toneladas desde 2000, com um pico de 110 milhões de toneladas em 2017, contribuindo para o aumento de gases do efeito estufa, como óxido nitroso e impactando na eutrofização da água doce, representando também uma ameaça à segurança alimentar (FAO, 2021).

O Brasil está entre os países que mais consomem fertilizantes minerais, ocupando a quarta posição, atrás dos Estados Unidos, Índia e China, respectivamente (FAOSTAT, 2020). Sendo mais de 80% dos fertilizantes utilizados no país importado, o que denota a sua grande dependência externa e vulnerabilidade às oscilações do mercado internacional. Desse modo, o Decreto 10.605, 22 de janeiro de 2021 propõe o Plano Nacional de Fertilizantes voltado para

uma agricultura sustentável (MAPA, 2022), que vai concatenar com os Objetivos do Desenvolvimento Sustentável, em especial ODS 2: Fome zero e Agricultura Sustentável proposto pela Agenda 2030 (ONU, 2015).

Além de tudo, o uso intensivo dos fertilizantes minerais acarreta em impactos sanitários e ambientais, como a contaminação do solo e da água, além da emissão de gases do efeito estufa.

Uma excelente alternativa são os fertilizantes de origem orgânica, que além de atender a produção orgânica de alimentos, está ganhando espaço na agricultura convencional como uma alternativa de nutrição do solo, sendo as matérias-primas mais utilizadas na sua produção os resíduos de origem urbana, industrial, doméstica, agrícola ou florestal e segundo a Associação de Promoção dos Orgânicos (Organis) tem movimentado cerca de 145 bilhões de dólares anualmente no mundo (ABISOLO, 2018).

De acordo com a Organis, o mercado de orgânicos está em pleno crescimento também no Brasil, alavancando 30% de crescimento em 2020 e 12% em 2021, movimentou cerca de 6,5 bilhões de reais, com aumento de 16% no número de consumidores em 2022.

Porém, para uma maior expansão da agricultura orgânica, a fim de atender o crescente mercado, em especial o internacional, como o europeu e chinês, que cresce ainda mais, é necessário maior investimento no desenvolvimento de produtos, em especial nos fertilizantes.

Os fertilizantes orgânicos podem apresentar resultados iguais ou até mesmo superiores aos minerais, proporcionando melhorias na qualidade ambiental, por promover a reciclagem dos nutrientes já explorados em jazidas não renováveis, além de proporcionar maior lucratividade (MATTEI et al., 2013).

Botelho et al (2020) destacam entre os fertilizantes orgânicos disponíveis, os esterco de animais, as tortas oleaginosas, os adubos verdes, o lixo urbano, os resíduos de esgoto tratado e os resíduos da agroindústria. No Brasil os fertilizantes devem atender a legislação, decreto e instrução normativa correspondente, aqueles preconizados ao sistema orgânico de produção, devem atender também a Lei 10.831 de 2003.

A adubação verde é fonte de fertilização de extrema importância, contribuindo na ciclagem de nutrientes do solo, na fixação de N_2 atmosférico e no fornecimento de N as culturas, na adição de matéria orgânica, na proteção do solo, na redução de efeitos climáticos, e de plantas espontâneas indesejadas, ou ainda no controle de fitomoléstias do solo e na manutenção da diversidade funcional (GUERRA et al., 2023).

Suas formas tradicionais de uso são pela rotação de culturas, em que o cultivo da leguminosa antecede o da cultura de interesse econômico, sendo posteriormente incorporada no solo ou mantida em superfície, outra forma é pela consorciação com a espécie de interesse econômico (ESPINDOLA et al, 2005).

Apesar de a adubação verde proporcionar muitas vantagens ao agroecossistema, nem sempre ela é adotada pelos agricultores, seja por desconhecimento ou dificuldades de manejo, desse modo, pesquisas têm sido realizadas a fim de desenvolver um fertilizante de leguminosa, capaz de proporcionar os benefícios da adubação verde, mas de forma mais prática (ALMEIDA et al., 2008).

2.2 N na adubação orgânica

Uma nutrição equilibrada no solo é um dos fatores essenciais para o bom desenvolvimento das plantas e produção agrícola. O nitrogênio depois do carbono, oxigênio e hidrogênio é o elemento requerido em maior quantidade pelos seres vivos, sendo um dos nutrientes essenciais que mais limita a produção agrícola, por ser regulador de processo fisiológicos e bioquímicos importantes, além de ser componente fundamental nos aminoácidos, proteínas, nucleotídeos, clorofila, membranas e hormônios vegetais (SOUZA & FERNANDES, 2018).

A atmosfera é um grande reservatório de nitrogênio, pois contém cerca de 78% de N_2 , porém encontra-se pouco disponível nos solos, pois para a obtenção desse nitrogênio é necessária a quebra da tripla ligação covalente entre os dois átomos de N, que é extremamente estável, para então produzir as formas reativas amônia (NH_3) ou nitrato (NO_3^-). Essas reações podem ser obtidas pelo processo industrial (Haber-Bosch) ou por processos naturais como as descargas elétricas e a fixação biológica do nitrogênio (FBN), na qual bactérias diazotóficas fixam o N_2 em amônio (NH_4^+) (TAIZ & ZEIGER, 2004).

Conforme descrito por Souza e Fernandes (2018) o N disponível para as plantas pode estar em diferentes formas, como o nitrato, amônio, ureia, peptídeos solúveis e formas complexas insolúveis, sendo que as formas inorgânicas NO_3^- e NH_4^+ são as mais absorvidas pelas plantas. O N absorvido como NH_4^+ é rapidamente assimilado, o NO_3^- para a maioria das espécies será reduzido a amônio pelas enzimas nitrato redutase e nitrito redutase, sendo assim incorporado em aminoácidos pelas enzimas da via glutamina sintetase-glutamato sintase (GS-GOGAT), formando glutamina, glutamato entre outros aminoácidos e seus metabólitos.

A maior parte de N no solo encontra-se como N orgânico e será quebrado em unidades menores pelas enzimas extracelulares para ser absorvido pelos organismos, os compostos resultantes poderão ser absorvidos diretamente ou mineralizados (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006; VIEIRA, 2017). Na mineralização, bactérias e fungos agem na degradação do N orgânico em N mineral, por meio da amonificação ou nitrificação (TAIZ & ZEIGER, 2004).

A taxa de mineralização dependerá dos microrganismos e dos fatores temperatura, umidade do solo, aeração, textura do solo, pH, teor de N e a relação C:N (LIMA et al., 2011; VIEIRA, 2017).

O método mais utilizado para fornecer N aos solos agrícolas é a adubação nitrogenada com fontes sintéticas, porém além de apresentar custos elevados, causa grandes impactos ambientais, seja pelo elevado custo energético para a síntese química de amônia (NH_3), pois para produzir uma tonelada de amônia pelo processo Haber-Bosch serão necessários cerca de seis barris de petróleo (MERCANTE et al., 2014), ou pela alta solubilidade desse fertilizantes que levam a perda de N por lixiviação que pode resultar em acúmulo de nitrato (NO_3^-) nos rios e aquíferos atingindo níveis tóxicos aos peixes e aos homens (JAMA et al., 2023; MERCANTE et al., 2014) e pela desnitrificação com alta emissão de gases como o óxido nitroso (N_2O) e o óxido nítrico (NO) que agravam o efeito estufa e levam a degradação da camada de ozônio (GENG et al., 2021).

Desse modo, a adubação orgânica é uma excelente alternativa para reduzir a emissão desses gases e ainda reduzir as perdas do N para o ambiente pela menor solubilidade em relação aos sintéticos (BHATT et al., 2023; GENG et al., 2021; HOSSAIN et al., 2021, WEI et al., 2020), podendo ser realizada a partir de resíduos agroindustriais como os farelos de mamona (LIMA et al., 2011) ou girassol (MAZZONCINI et al., 2015), que podem ainda serem compostados com outros resíduos vegetais ou animais, além da adubação verde com plantas fixadoras de N (FREITAS et al., 2011; JAMA et al., 2023), os resíduos de animais como os péletes de lã de ovelhas (BRADSHAW & HAGEN, 2022) e os estercos de animais que são tradicionalmente aplicadas de forma isolada, ou vermicompostado ou combinados com biomassa vegetal (ABOYEJI et al., 2021; BHATT et al., 2023), porém as excretas animais causam maior risco a saúde humana e ambiental, pela contaminação microbiológica, por fármacos e por metais pesados (YANG, HUANG & HUANG, 2019; KYAKUWAIRE et al., 2019).

É de conhecimento geral que a adubação orgânica com fontes ricas em N pode proporcionar vantagens que vão além do fornecimento de N, pois estas fontes fornecem outros

nutrientes às plantas, podendo ainda melhorar propriedades do solo como a aeração, umidade e temperatura, proporcionando aumento da CTC do solo, e/ou ainda aumentando a biodiversidade de microrganismos benéficos no solo (TRANI et al., 2013).

Porém, a oferta de fertilizantes orgânicos ricos em N ainda é limitada, sendo as fontes mais utilizadas as excretas animais e o farelo de mamona (KYAKUWAIRE et al., 2019; SEVERINO et al., 2021), que a depender da região possui elevado custo para aquisição, transporte e aplicação.

2.3 Fertilizantes sustentáveis

Entre os fertilizantes orgânicos simples (MAPA, 2005), devem ser exaltados aqueles que regem os princípios da sustentabilidade, sendo ambientalmente correto, socialmente justo e economicamente viável, de modo que não comprometa o acesso aos recursos pelas gerações futuras. Desse modo, vão de encontro aos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável amplamente difundido pela Organização das Nações Unidas e ao Plano Nacional de Fertilizantes.

Entre esses estão disponíveis aqueles oriundos de matérias-primas naturais de origem industrial, urbana ou rural, que proporcionam ainda benefícios como a reciclagem de materiais, promovendo a economia circular. Porém, esses materiais podem não estar facilmente disponíveis em determinados locais, levando a uma dependência externa, que pode tornar inviável sua produção ou aplicação.

Desse modo, os fertilizantes de origem vegetal podem reduzir esta dependência externa, além de que compreendem perfeitamente os princípios da sustentabilidade, sendo que aqueles baseados em espécies da família Fabaceae estão fundamentados nos dois mais importantes processos biológicos e ecológicos, a fotossíntese e a FBN, possibilitando à transformação da biomassa sintetizada em adubo (ALMEIDA et al., 2008; MERCANTE et al., 2014).

Pesquisas científicas estão sendo realizadas desde antes de 2007 em Seropédica-RJ, com o objetivo de fornecer um fertilizante de origem vegetal, eficiente agronomicamente, em especial no fornecimento de N as culturas (ALMEIDA, 2007; ALMEIDA, 2012; SANTOS, 2017). Segundo Almeida et al. (2008) os fertilizantes de leguminosas são tão eficientes quanto a “cama” de aviário no cultivo da alface em sistema orgânico de produção.

Outra fonte de fertilização sustentável que tem sido amplamente estudada através de pesquisas científicas em Seropédica-RJ, são os compostos fermentados formulados com fontes vegetais (LEAL et al., 2010; OLIVEIRA, 2015; PIAN, 2019; GOULART, 2020).

Os compostos fermentados também conhecidos como “bokashi”, consistem de uma mistura com diferentes materiais vegetais farelados, a depender dos insumos localmente disponíveis, buscando combinar materiais com elevado teor de N com materiais com elevado teor de carboidratos, submetidos ao processo de fermentação pela inoculação de microrganismos (OLIVEIRA, 2015; PIAN, 2019).

Uma formulação do bokashi tem sido bastante utilizada, esta contém 40% de farelo de mamona e 60% de farelo de trigo, com inoculação de microrganismos eficazes (EM) (SIQUEIRA & SIQUEIRA, 2013). Segundo esses autores, o bokashi favorece a nutrição vegetal, por fornecer quantidades balanceadas de macro e micronutrientes e proporciona benefícios ao solo, por fornecer diversidade microbiana.

Os compostos fermentados alternativos, produzidos pela substituição do farelo de mamona por farelo de leguminosas, como a gliricídia, e o farelo de trigo por capim elefante ou resíduos agroindustriais, se mostram tão eficiente quanto o análogo ao padrão (LEAL et al., 2010; OLIVEIRA, 2015; PIAN, 2019; GOULART, 2020).

2.4 Gliricídia (*Gliricidia sepium*)

A gliricídia é uma leguminosa arbórea que tem como centro de origem à América Central, e hoje está amplamente distribuída pelos trópicos (EIRAS & COELHO, 2011). Segundo Drumond & Carvalho Filho (1999) a espécie *Gliricidia sepium* (Jacq.) Steud. é popularmente conhecida como gliricídia no Brasil e pode receber outros nomes como madero negro, mata ratón, madre de cacao, no México e em países da América Central.

Possui crescimento rápido e enraizamento profundo, o que possibilita boa tolerância à seca, podendo ocorrer perda de folhas e ramos mais velhos em períodos prolongados de seca. A gliricídia tem melhor desenvolvimento em clima quente e úmido, com crescimento limitado sob baixas temperaturas (CARVALHO FILHO et al., 1997), mas pode ser encontrada em regiões localizadas desde o nível do mar até 1500 m de altitude, com precipitação de 600 a 3500 mm ao ano, suportando até oito meses de seca (ALTERNATIVAS, 1988; DUNSDON & HUGHES, 1991; PARROTTA, 1992 *apud* DRUMOND & CARVALHO FILHO, 1999).

Pertencente à família Fabaceae, é uma planta perene que se reproduz sexuadamente por sementes e assexuadamente por estaquia. Tem porte arbóreo podendo atingir até 15 m de

altura, possui folhas opostas com 7 a 17 folíolos, flores reunidas em inflorescências terminais do tipo cacho ou racemo, pétalas de cor lilás predominante e frutos vagens chatas de cor verde pálido, sementes lisas de cor marrom, possui sistema radicular profundo, com nódulos nas raízes devido a associação simbiótica com bactérias do gênero *Rhizobium* (DRUMOND & CARVALHO FILHO, 1999).

De acordo com Liyanage et al. (1994), aproximadamente 55% do N de diferentes genótipos da gliricídia vem da fixação biológica. Kaba et al. (2019) observaram diferenças na porcentagem de N derivado da fixação biológica entre 22 a 50% em sistema agroflorestal, segundo os autores esta variação pode ocorrer devido a muitos fatores, como idade da planta, regime de podas, disponibilidade de N e P no solo, além de a umidade do solo. No entanto, Paulino et al. (2009) já encontraram 80% de potencial de FBN para a gliricídia sobre regime de podas e consorciada com manga e graviola em um pomar orgânico.

A gliricídia apresenta muitas vantagens como a facilidade de propagar-se sexuada e assexuadamente, o rápido crescimento, a alta capacidade de regeneração, a tolerância à seca e as múltiplas possibilidades de usos como cerca viva, adubo verde, na recuperação de solos, em sistema agroflorestal, como madeira de alto poder calorífero ou ainda na alimentação animal pelo seu elevado teor proteico (DRUMOND & CARVALHO FILHO, 1999).

Deste modo, a gliricídia pode ser utilizada em áreas agrícolas, em sistemas integrados de lavoura, pecuária, floresta e agrofloresta. Como adubo verde tem grande potencial para a fertilidade de áreas degradadas, pois tolera solos ácidos e pobres, produz grande quantidade de biomassa e concentra relativamente mais nutrientes que outras leguminosas (EIRAS & COELHO, 2010).

Segundo Florentino et al. (2014), sua função de recuperação do solo se deve principalmente à relação simbiótica que a espécie estabelece com bactérias fixadoras de nitrogênio, que fornecem nitrogênio total ou parcial, essencial ao crescimento desta espécie, reduzindo então custos de implantação e proporcionando, maior acúmulo de N na parte aérea, o que contribui também para o fornecimento da matéria orgânica com menor relação C:N para o solo.

De acordo com Marin et al. (2006), a gliricídia tem sido plantada no agreste paraibano devido a fatores como a sua alta capacidade de produzir biomassa em condições de baixa disponibilidade hídrica e a possibilidade de se cultivar culturas agrícolas ou forrageiras entre suas fileiras, fazendo o manejo com cortes periódicos de suas copas e sua deposição como adubo verde, podendo ser realizados de 2 a 3 cortes por ano.

Paulino et al. (2011) avaliaram o desempenho da gliricídia no cultivo em aleias com um pomar orgânico de manga e graviola em Campos do Goytacazes-RJ e concluíram que a espécie apresentou elevada sobrevivência (93%), que a relação fitomassa de ramos tenros e folhas com ramos lignificados foi de 60% e 40%, respectivamente, obtendo boa quantidade de fitomassa seca, sendo no primeiro e segundo ano de cultivo $2.436 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ e $3.389 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ respectivamente, adotando-se 3 podas anuais. Em relação à concentração dos nutrientes N, P, K adicionados ao solo pela fitomassa podada da parte aérea da gliricídia, os autores relataram adição de cerca de 56, 4,4 e 27 kg ha^{-1} no primeiro ano e 75, 4,1 e 29 kg ha^{-1} no segundo ano.

Os autores Barreto et al. (2004) também recomendam o cultivo da gliricídia em aleias em solos de tabuleiro costeiro com os objetivos de melhoria do solo e adubação, mas não recomendam a poda no primeiro ano, podendo a partir do segundo ano fazer cortes drásticos, utilizando-se então o material podado como adubo. De acordo com os autores a espécie possui grande capacidade de rebrota, levando em torno de 4 meses após o corte para recompor toda a parte aérea, podendo realizar 3 cortes ao ano.

Drumond & Carvalho Filho (1999) definem que o espaçamento ideal vai depender do objetivo de produção e que espaçamentos menores (2.500 a 5.000 árvores/ha) são adotados para a produção de biomassa forrageira, obtendo-se árvores de menor tamanho em menor tempo, e espaçamentos maiores (1.100 a 2.500 árvores/ha) para a produção de lenha, estacas e sombreamento.

Segundo Rangel et al. (2011), para implantação de uma legumineira de gliricídia, o plantio deve ser feito em uma área plana, sem risco de encharcamento, com espaçamento de 0,5 m entre plantas e 1,0 m entre as linhas de plantio, de modo que a partir do terceiro ano em um hectare será produzido 20 toneladas de biomassa verde comestível ou 5 toneladas de massa seca por corte.

No entanto, Almeida (2012) avaliando a produtividade da gliricídia cultivada em espaçamento 1,0 x 0,4 m, com população de 25.000 plantas ha^{-1} , realizando 3 podas anuais, sendo a primeira após 239 dias do transplantio, obteve produtividade média anual da parte aérea de 20,1 Mg de matéria seca ha^{-1} , contendo 436 kg ha^{-1} de nitrogênio. Este autor concluiu em seu trabalho que a produtividade de bancos de leguminosas é influenciada pela disponibilidade hídrica e temperatura, e isso afeta o regime de podas e qualidade da biomassa aérea produzida.

Paulino et al. (2009) cultivando a gliricídia em aleias sob um pomar orgânico com manga e graviola, obtiveram após o segundo ano do plantio com três podas um total de 2,436 Mg de massa seca ha⁻¹, com 56,4 kg ha⁻¹ de nitrogênio e no terceiro ano de plantio com três podas 3,389 Mg de massa seca ha⁻¹, com 80,3 kg ha⁻¹ de nitrogênio.

A gliricídia tem apresentado bons resultados na fertilização de hortaliças. Keya et al. (2020) verificaram que a adubação do tomate com folhas de gliricídia, além de favorecer a produção devido a rápida decomposição e liberação de N a cultura, proporciona benefícios ao solo como aumento do carbono orgânico, pH e CTC do solo. Aboyeji et al. (2021) também verificaram aumento na produção de quiabo utilizando gliricídia com esterco de aves, o que segundo os autores ocorreu devido a contribuição química e biológica desse tipo de adubação e principalmente pela rápida disponibilização de N.

Segundo Mohanty et al. (2011) a gliricídia é um adubo verde com baixa relação C:N, lignina e polifenóis, por isso é facilmente degradada por microrganismos e seu N mineralizado liberado ao ambiente e solo.

Pesquisas realizadas pelo grupo de agricultura orgânica da Embrapa Agrobiologia também demonstraram o potencial da gliricídia na adubação de hortaliças, sendo sua eficiência agrônômica comparada a “cama” de aviário (ALMEIDA et al., 2008) e ao farelo de mamona (SANTOS, 2017).

2.5 N-verde

Diante das muitas vantagens da utilização dos fertilizantes sustentáveis, em especial aqueles produzidos a partir das espécies da família Fabaceae que fornecem N a partir da FBN e contribuem na redução do C através da fotossíntese, podendo ser aplicados nos mais diversos cultivos agrícolas, inclusive pela agricultura orgânica. Pesquisas têm sido realizadas pela Empresa Brasileira de Pesquisa e Agropecuária (Embrapa Agrobiologia) e pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) já há alguns anos com diferentes espécies da família Fabaceae a fim de fornecer este fertilizante de modo eficiente ao mercado.

Almeida (2007) avaliou o efeito da adubação com biomassa de folhas de gliricídia e de folhas de mucuna na fertilização da alface, em comparação a “cama” de aviário e verificou que a fertilização com a biomassa de gliricídia ou da mucuna se mostrou tão eficientes quanto o fertilizante referência a “cama” de aviário, em relação a produtividade da alface. O autor verificou ainda maior potencial físico e químico para o fertilizante desenvolvido a partir de

biomassa de gliricídia, em relação a maior facilidade de manipulação do material e a biodisponibilização de N, devido a menor relação C:N e lignina:N da gliricídia.

Almeida (2012) avaliou a produtividade de bancos de gliricídia e de leucena por um período de três anos realizando dois cortes anuais a 1,2 m de altura, concluindo que a gliricídia é mais eficiente na produção de biomassa. O autor comparou também a produtividade do milho fertilizado com gliricídia e com ureia, em que se verificou que inicialmente a dose de N aplicada pelos fertilizantes de gliricídia devem ser o dobro da aplicada pela ureia para alcançar produtividade semelhante, mas que nas aplicações subseqüente essa quantidade seria reduzida, devido ao efeito residual do fertilizante de gliricídia. O autor exalta ainda as vantagens ambientais da utilização do fertilizante de gliricídia, uma vez que após um mês de sua aplicação houve aumento no pH, no teor de N total e do C total do solo quando aplicado fertilizante constituído de folhas e galhos de gliricídia, não observando mesmo efeito quando fertilizado com ureia, em que houve redução do pH do solo, e o dobro da perda de N por volatilização de amônia.

A efetividade na altura das podas de gliricídia foi avaliada por Gonçalves (2017) em um banco de gliricídia, plantado há aproximadamente nove anos em Seropédica – RJ, em que 200 dias da poda de nivelamento iniciou-se o experimento, foi realizado um total de cinco podas com auxílio de motosserra, em épocas diferentes nos anos de 2015, 2016 e 2017, o autor verificou que não houve influência da altura do corte (0,3 m a 1,5 m) no crescimento, produtividade da biomassa e a quantidade acumulada de N na parte aérea da gliricídia, mas houve diferença em relação a época da colheita sendo a produtividade da parte aérea e N acumulado mais elevados depois de períodos chuvosos.

O fertilizante N-verde protótipo nº 1 foi desenvolvido por Santos (2017) e colaboradores, sendo avaliado diferentes protótipos de fertilizantes de gliricídia, como somente pó, farelado e os granulados entre 1 e 2 mm e entre 2 e 4 mm, confeccionados com as diferentes partes da planta caule, folha (fólio + pecíolo) e mistura de caule e folhas. Em condições de casa de vegetação verificou-se aumento na produção do milho fertilizado com os protótipos de folhas mais caule, somente folhas ou folíolos, independente da granulometria, de modo semelhante ao milho fertilizado com farelo de mamona. Sendo que nas condições de campo, sob cultivo orgânico, o granulado com 2 a 4 mm de diâmetro, produzido a partir de folhas de gliricídia também apresentou efeito semelhante ao farelo de mamona na produção do feijão e o milho em sucessão. O autor verificou ainda eficiência deste fertilizante no cultivo da alface, com até 13% de recuperação de N derivado do N-verde protótipo nº 1 pela alface.

Diante disso, novos trabalhos estão sendo desenvolvidos a fim de otimizar a mão de obra, o tempo de colheita e a manipulação do fertilizante através do uso da mecanização, possibilitando assim o aproveitamento de toda a biomassa de folhas e ramos da gliricídia. O fertilizante hoje está sendo peletizado e busca-se aumentar sua eficiência agrônômica, sendo este fertilizante denominado de N-verde protótipo nº 2.

2.6 Peletização

O processo de peletização é utilizado para diferentes fins e executado por muitas empresas no Brasil e exterior, especialmente por indústrias de ração e biomassa. A fim de reduzir espaço e custos com transporte e armazenamento, facilitar o manuseio, além de permitir padronização do produto, com garantia de qualidade.

Bellaver & Nones (2000) definem o processo como uma aglomeração de partículas moídas de um único ingrediente ou da mistura de vários, por meio de processos mecânicos, em combinação com umidade, pressão e calor.

O mercado de fertilizantes organominerais já tem buscado a granulação ou peletização dos seus produtos, pois segundo Oliveira (2014) a aceitação dos organominerais pelo mercado produtor de grãos, que é o maior consumidor de fertilizantes no Brasil, depende desses processos, além de formulações com maior concentração de NPK e a padronização dos produtos.

Porém, em relação à utilização do processo para a produção de fertilizantes orgânicos peletizados poucas informações estão disponíveis, mas alguns trabalhos têm apresentado resultados positivos.

Mattei et al. (2013) analisaram a fertilidade do solo com fertilizantes orgânicos peletizado e farelado de “cama” de aviário em comparação ao fertilizante mineral na mesma concentração de NPK, no sistema de plantio direto e concluíram que neste sistema os fertilizantes orgânicos (farelado e peletizado) possibilitam melhor disponibilidade de Ca, Mg e K, além do aumento do C orgânico até a profundidade de 40 cm, durante os 3 anos agrícolas.

Enquanto Rodrigues e colaboradores (2012) analisaram o desenvolvimento da cultura do milho ao utilizar 450 kg ha⁻¹ de um fertilizante mineral 8-20-20, húmus de minhoca peletizado nas doses de 450 e 900 kg ha⁻¹, a mistura dos dois com 225 kg ha⁻¹ do fertilizante mineral 8-20-20 mais 225 kg ha⁻¹ de húmus de minhoca peletizado, além da testemunha sem adubação e concluíram que o húmus de minhoca peletizado com 900 kg ha⁻¹ apresentou os

melhores resultados, o fertilizante mineral apresentou resultados semelhantes, porém o custo foi maior e a mistura dos fertilizantes foi melhor apenas em relação à testemunha.

O efeito da secagem e peletização na “cama” de aviário foi avaliado por López-Mosquera et al. (2008). Segundo esses autores vários benefícios já são conhecidos como redução dos riscos de contaminação e facilitação no manuseio, transporte, armazenamento e aplicação, porém pouco foi comentado em relação ao valor fertilizante, sendo verificado por esses autores que a secagem permitiu características de nutrientes mais estáveis, porém houve redução de N total com o aumento da temperatura de secagem, principalmente pela volatilização de NH_3 , mas não houve diferença entre “cama” de aviário fresca e peletizada em N de amônio, N de nitrato ou N de ureia.

O efeito da aplicação de fertilizantes orgânicos peletizados foi estudado por Bradshaw e Hagen (2022), em que os autores não verificaram diferença na produção de espinafre e tomate fertilizados com lã de ovelha peletizada, em comparação ao fertilizante comercial Pro-Booster 10-0-0 (USA), sendo esse também peletizado e certificado no país para uso na agricultura orgânica.

2.7 Inoculantes microbianos

De acordo com Parnell et al. (2016) o mercado de produtos microbiológicos está em constante ascensão e os produtos são baseados nos inoculantes usados como biofertilizantes e aqueles usados no biocontrole. Nos inoculantes biofertilizantes, são utilizados microrganismos capazes de aumentar a disponibilidade de nutrientes “essenciais” às plantas, enquanto os microrganismos utilizados para o biocontrole são aqueles envolvidos em mecanismos como antibiose, competição por espaço e nutrientes, micoparasitismo, atividade enzimática e resistência induzida.

No Brasil os inoculantes são regidos pelo decreto N° 4.954 (2004), que define inoculante como produto que contém microrganismos com atuação favorável ao crescimento de plantas.

Segundo Malusà et al. (2016), diferentes microrganismos podem ser utilizados na produção de inoculantes, como bactérias, fungos e protozoários, que colonizam a rizosfera e promovem o crescimento de plantas. Os microrganismos atuam por diferentes mecanismos, como pela produção de sideróforos, fixação de N_2 atmosférico, síntese de fitormônios, aumentando a disponibilidade de nutrientes encontrados no solo nas formas não assimilável,

favorecendo a entrada de água e nutrientes para a planta ou ainda por atividade antagonista a fitopatógenos (EL-GRAMRY et al., 2018).

A maioria dos inoculantes disponíveis no mercado são para cultivos anuais, como leguminosas e cereais, mas observa-se um aumento na demanda desses produtos para o cultivo de frutas e hortaliças, especialmente na agricultura orgânica (KOWALSKA et al., 2020).

De acordo com El-Gramry et al. (2018), a formulação produzida deve ser fácil de manipular e aplicar, deve proteger o agente contra fatores ambientais prejudiciais, ser capaz de melhorar ou manter atividade do microrganismo no campo, permanecendo estável durante a produção, distribuição, armazenamento e transporte. Os microrganismos vivos são então transportados em material inerte, que deve fornecer um microambiente adequado para a sobrevivência dos microrganismos, ser estável na temperatura ambiente, com maior vida útil, fácil de esterilizar em autoclave ou outros métodos, como a irradiação, de preferência ter baixo custo, não pode ser tóxico ou poluente e deve ser facilmente biodegradável, podendo ter consistência sólida ou líquida (EL-GRAMRY et al., 2018).

Para Gomes et al. (2016), um dos principais gargalos para a aplicação de inoculantes em larga escala é a transferência dos resultados gerados em laboratório para a escala industrial e campo, pois os microrganismos nem sempre alcançam a mesma eficiência em condições de campo e na escala industrial, a fermentação é determinada pela estabilidade e qualidade do microrganismo.

Existe também um produto do tipo inoculante contendo um grupo de microrganismos conhecidos em alguns países como efetivos ou eficazes (EM), que segundo Olle & Williams (2013) consiste de um mix com culturas de bactérias fotossintetizantes, bactérias lácticas e leveduras, aplicado para diferentes finalidades, como o crescimento e produção das plantas, controle biológico e decomposição de compostos orgânicos.

A tecnologia EM foi trazida para o Brasil pela fundação Mokiti Okada, na década de 80, sendo atualmente comercializado pela Korin Agricultura e Meio Ambiente com o nome comercial Embiotic.

Alguns trabalhos desenvolvidos no grupo de agricultura orgânica da Embrapa Agrobiologia têm demonstrado o potencial da adubação com bokashi anaeróbio produzido com diferentes materiais vegetais e o produto comercial Embiotic® contendo *Lactobacillus plantarum* e *Saccharomyces cerevisiae* (OLIVEIRA, 2015; PIAN, 2019; GOULART, 2020).

De acordo com Olle & Williams (2013) as bactérias lácticas, como as do gênero *Lactobacillus*, produzem ácido láctico a partir de açúcares, estas bactérias aumentam a

degradação da matéria orgânica, pela quebra da lignina e celulose, acelerando sua fermentação. As leveduras contidas no EM, como as do gênero *Saccharomyces* produzem ainda substâncias bioativas e antimicrobianas, promovendo o crescimento das plantas (OLLE & WILLIAMS, 2013).

Youssef & Farag (2021) verificaram efeito positivo da adubação com esterco e EM, sendo este pertencente a marca comercial (EMROJAPAN), segundo os autores foi possível melhorar propriedades do solo como pH, CE, carbono orgânico do solo e a disponibilidade de NPK, além de proporcionar maior produtividade e qualidade da cultura, permitindo ainda efeito residual positivo para a cultura posterior.

Porém, ainda são poucos os produtos desenvolvidos com diferentes microrganismos dentro do mesmo produto devido à complexidade da comunidade microbiana e suas interações no campo e microbioma da planta (BUSBY et al., 2017).

Assim, na última década o uso de inoculantes contendo diferentes microrganismos tem se expandido, a ideia é combinar linhagens ou espécies atuando em diferentes processos microbianos, de modo que os benefícios de cada um em conjunto resultam em maiores benefícios e maiores produtividades das culturas (SANTOS et al., 2019).

De um modo geral, as principais características desejáveis para o bom desempenho de um inoculante, são descritas por Reis (2007) para inoculantes em gramíneas, como: a escolha da estirpe (ou linhagem) que deve ser competitiva em condição de solo, além do seu estágio fisiológico na inoculação e o número de células no produto, bem como o tempo de vida útil. A autora também destacou que o principal obstáculo para a utilização desta tecnologia é a inconsistência de resultados em experimento de campo, estando ainda ligada com as condições edafoclimáticas e a interação com a biota do solo, além da falta de testes em diferentes locais e variedades, visando estabelecer as condições ideais de uso.

Segundo Santos et al. (2019), com a demanda crescente por alimentos e pela agricultura orgânica deve-se aumentar o uso de produtos biológicos, já sendo possível observar um aumento do número de estudos sobre o desenvolvimento de novos inoculantes, com outras estirpes e novos métodos de inoculação, fazendo com que os autores acreditem que a inovação em tecnologias e microrganismos seja apresentada nos próximos anos, o que estimulará ainda mais o seu uso.

Além disso, o governo brasileiro criou em 2020 o Programa Nacional de Bioinsumos, com o objetivo de ampliar e fortalecer a utilização dos bioinsumos no país, o que irá incentivar novas pesquisas no setor.

2.8 Leveduras

As leveduras são fungos, unicelulares, com células ovais ou esféricas de 1 a 10 μm , se reproduzem principalmente por brotamento ou cissiparidade e possuem crescimento rápido formando colônias cremosas ou membranosas e ausência de hifas aéreas, sendo seu crescimento celular mais rápido e eficiente na presença de oxigênio (CARVALHO, 2010).

Em relação ao seu metabolismo podem ser classificadas como aeróbias obrigatórias, em que os açúcares são catabolizados somente pela via respiratória e as anaeróbias facultativas que metabolizam açúcares pelas vias respiratória e fermentativa (VENTURINI FILHO et al., 2017).

As leveduras possuem ampla distribuição no ambiente, podendo ser encontrada em solos, flores, folhas, frutos, ar, lagos, rios, mares, ou ainda em animais e insetos. Sendo sua importância historicamente associada a processos fermentativos e substratos com açúcares, usadas principalmente na produção de alimentos. Possuem habilidade de assimilar uma larga gama de compostos orgânicos, possibilitando sua dispersão e sobrevivência nos diferentes nichos ecológicos, possibilitando que produzam diferentes compostos, que podem ser benéficos ao homem e utilizados em importantes processos biotecnológicos (PHAFF e STARMER, 1987 *apud* ROSA, 2009).

Segundo Scarcella et al. (2017), uma grande variedade de leveduras apresenta características capazes de promover o crescimento das plantas, como pela disponibilização de nutrientes, a produção de fitormônios, a produção de sideróforos, ou pelo controle de fitopatógenos, ou ainda por estimular a colonização de raízes por fungos micorrízicos. Os autores colocam ainda que a utilização desses microrganismos como bioprodutos é uma alternativa para a produção agrícola se tornar mais sustentável.

Mohamed & Metwally (2014) também relatam sobre o importante papel das leveduras na fertilidade do solo e na capacidade de produzir substâncias promotoras do crescimento em plantas, porém pontuam que estas são menos estudadas em relação aos outros microrganismos com potencial para produção de biofertilizantes, como as bactérias e fungos, devido a sua baixa concentração no solo em relação a esses outros microrganismos.

Diferentes espécies de leveduras têm sido estudadas pela sua capacidade de agir no controle de doenças de plantas durante o cultivo e na pós-colheita, atuando por diferentes mecanismos, de modo direto como pela produção de compostos orgânicos voláteis, enzimas hidrolíticas que degradam a parede celular, sideróforos, biofilme e atividade killer ou de modo

indireto pela competição por espaço e nutrientes, ou ainda pela mineralização e solubilização de compostos. Entre esses trabalhos linhagens de *Torulaspora* têm se destacado principalmente para o biocontrole de fungos em culturas como o arroz (INTO et al., 2020), o milho e o sorgo (ROSA-MAGRI et al., 2011), ou ainda em frutas como a manga (KONSUE et al., 2020).

Rosa (2009) estudou leveduras isoladas da rizosfera e folhas da cana-de-açúcar e observou que apresentavam capacidade de controle biológico por diferentes mecanismos, sendo que a espécie *Torulaspora globosa* apresentou ainda potencial como promotora do crescimento vegetal, com capacidade de produzir AIA e solubilizar fosfatos insolúveis e potássios de rochas a partir de pó-de-rocha ultramáfica alcalina.

Algumas espécies de leveduras encontradas no solo são capazes de disponibilizar nutrientes às plantas pela mineralização do nitrogênio, solubilização e mineralização de fósforo e oxidação do enxofre (FALIH & WAINWRIGHT, 1995; TORRES et al., 2021), além da solubilização do potássio do pó de rocha aplicado ao solo (ROSA-MAGRI et al., 2012).

Rezende et al. (2004) inoculando levedura seca obtida de uma destilaria de álcool em amostras de solos, observou que a quantidade de nitrato foi semelhante às amostras em que se aplicou NPK. Os autores atribuem esse efeito a mineralização pela levedura e concluem que o uso de leveduras apresenta um excelente potencial na nutrição de plantas.

Segundo Moreira & Siqueira (2006), os microrganismos são os decompositores primários. Sendo que as leveduras podem desempenhar diferentes papéis na decomposição do material vegetal, seja de modo ativo, produzindo enzimas hidrolíticas ou de modo passivo, como oportunistas, que usam os produtos liberados durante a decomposição realizada por outros microrganismos, como bactéria e fungos (CADETE et al., 2017).

De acordo com Cadete et al. (2017), na madeira em decomposição e na serapilheira há uma predominância de espécies de leveduras basidiomicetos, mas também de leveduras ascomicetos, em especial as espécies assimiladoras de xilose.

Muitas espécies de leveduras de diferentes gêneros, mas principalmente aquelas associadas ao gênero *Spathaspora*, têm sido encontradas em madeiras em decomposição e nos insetos presentes nestas madeiras. Espécies deste gênero são conhecidas no setor de biocombustíveis, pois possuem elevada capacidade para fermentar a xilose, que é o segundo açúcar mais abundante em material lignocelulósico, produzindo então o bioetanol (CADETE et al., 2013).

As espécies estudadas no presente trabalho pertencentes aos gêneros *Torulaspora* e *Spathaspora*, espécies destes gêneros apresentam perfil fermentativo, sendo capazes de fermentar e assimilar a glicose, possuem também potencial para o crescimento de plantas e ainda para o biocontrole de patógenos (ANDRADE, 2020).

Segundo Cadete et al. (2017) as leveduras podem atuar nas diferentes fases da decomposição, produzindo enzimas hidrolíticas, que atuam sobre a celulose, hemicelulose, xilose e pectina, podendo desta forma auxiliar na decomposição de materiais orgânicos.

Vários microrganismos possuem a capacidade de fermentar e degradar diferentes substratos, porém, o produto final da fermentação irá depender do microrganismo, do substrato, das enzimas ativas e ainda de outros fatores como a temperatura, pH, nutrientes, oxigenação (TORTORA, FUNKE & CASE, 2017).

2.9 Contribuição da técnica isotópica do ^{15}N para a quantificação da eficiência no aproveitamento do N-fertilizante

A atmosfera terrestre é rica em N_2 , constituído de aproximadamente 99,635% de átomos de ^{14}N e de 0,365% de ^{15}N , sendo sua marcação natural e estável (REIS et al., 2018).

O ^{15}N é um isótopo estável do nitrogênio, ou seja, possui o mesmo número de prótons, mas diferente número de nêutrons, o que afeta o número total de núcleos que determina o número de massa atômica (LOPES, MORAES & LANG, 2016).

Segundo Inácio & Urquiaga (2017), os isótopos estáveis não são radioativos e a variação na composição isotópica no ambiente deve-se aos processos físicos e químicos de fracionamento isotópico.

A técnica que mais tem sido utilizada para estudar o balanço de N e determinar o destino de N-fertilizante nos diversos agroecossistemas, avaliando também a eficiência deste fertilizante, é a do isótopo ^{15}N (GAVA et al., 2010; CHALK et al., 2017; Müller et al., 2011).

O uso de fertilizantes marcados com ^{15}N possibilita calcular a recuperação do N no sistema solo-planta e a perda do fertilizante por balanço de massa, estes estudos também têm sido feitos para determinar a eficiência de N para compostos orgânicos, esterco de animais e para os fertilizantes de liberação lenta ou controlada (INÁCIO & URQUIAGA, 2017). A técnica pode ser aplicada também para favorecer o manejo de N no sistema de acordo com o tipo de solo, especialmente em relação à textura arenosa ou argilosa (LI et al., 2023).

Cabezas et al. (2017) também relatam que a melhor ferramenta para obter dados quantitativos em estudos de balanço de N-fertilizante, é o uso dos fertilizantes marcados com

^{15}N , porém os autores relatam que a sua utilização na pesquisa ainda é limitada pelo alto custo do fertilizante marcado, aliado a falta de preparo técnico para o uso aplicado de técnicas nucleares à agricultura.

Técnicas envolvendo materiais marcados com ^{15}N permitem separar o N do material orgânico (ou do fertilizante) do N do solo que é aproveitado (ou recuperado) pela planta (INÁCIO & URQUIAGA, 2017). Sendo possível determinar ainda a porcentagem de N derivada do fertilizante (sintético ou orgânico) que permaneceu no solo mesmo após anos da adubação, estando associada ou não as frações da matéria orgânica do solo (FUCHS et al., 2023).

Desse modo, é possível determinar de forma precisa a dinâmica do N no sistema solo-planta derivada também dos adubos verdes pelo uso do isótopo estável ^{15}N (MERCANTE et al., 2014).

A dinâmica do N derivado do adubo verde pode ser estudada de forma direta e indireta (Urquiaga & Zapata et al., 2000; Cueto-Wong et al., 2001; Ambrosano et al., 2003 *apud* ARAÚJO et al., 2011). O método direto consiste na aplicação do adubo verde marcado, sendo esta marcação realizada durante o cultivo de uma leguminosa em substrato contendo ^{15}N em excesso, desse modo o excesso de ^{15}N encontrado na cultura teria sido fornecido por esta leguminosa, já no método indireto trabalha-se com comparação de amostras de dois tratamentos, no primeiro aplica-se duas diferentes fontes de N na mesma planta, uma fonte é a adubação verde e a outra o fertilizante sintético marcado com ^{15}N e no segundo tratamento aplica-se somente o fertilizante sintético marcado com ^{15}N , sendo o N do adubo verde determinado pela diferença em ^{15}N marcado entre plantas cultivadas com e sem adubo verde (ARAÚJO et al., 2019).

De acordo com Araújo et al. (2019) para determinar a eficiência de recuperação do N derivado do adubo verde o método direto é o mais correto, pois estes autores constataram em sua pesquisa que utilizando o feijão-de-porco para adubação do milho pelo método indireto de diluição, aplicado ao lado da planta ou em sulco ao lado da linha de plantio, gerou um aumento de 10 vezes na eficiência de recuperação do N, portanto superestimou este parâmetro.

Em 2011, Chieza e colaboradores propuseram uma técnica de marcação de leguminosas, a fim de otimizar o seu potencial como adubo verde, que consiste na aplicação de 360 mg de N kg^{-1} de substrato, fornecidas na forma de uréia com 3% de átomos de ^{15}N e o substrato composto por areia e vermiculita expandida, em condição não estéril, que permite

obter adubo verde com marcação igual ou próxima a marcação planejada, reduzindo assim o custo do estudo, e com eficiência de uso do ^{15}N adicionado superior a 70%.

Porém, como discutido por Araújo e colaboradores (2023), a marcação deve ser constante para que não haja diluição do ^{15}N pelo N não marcado, derivado do solo ou da FBN, de modo que ocorra o decaimento de ^{15}N em excesso na parte aérea da planta marcada.

Primo et al. (2014) exaltaram a importância da técnica de marcação de leguminosas em vasos com areia e não solo, pois a mineralização da matéria orgânica do solo pode provocar a diluição do ^{15}N do fertilizante e aumentar o custo experimental em até 50% com a compra de fertilizante ^{15}N para obter biomassa com o mesmo nível de enriquecimento.

Não foram encontrados dados na literatura de marcação da gliricídia com ^{15}N processada para a produção de fertilizante peletizado. Santos (2017) realizou a marcação direta da gliricídia com 3% de átomos de ^{15}N para produção de fertilizante granulado (N-verde protótipo 1) aplicado no cultivo de hortaliças para avaliar a eficiência agrônômica com o fertilizante, os autores exaltaram a viabilidade experimental pelo ^{15}N em excesso encontrado nas hortaliças.

Além da aplicação direta ou indireta do ^{15}N para estudar a dinâmica do N no solo derivado dos adubos orgânicos ou sintéticos, a técnica também é aplicada para avaliar a transferência do N pela FBN, em que pode ser aplicado o método da diluição isotópica, ou enriquecimento de ^{15}N , ou ainda pela abundância natural de ^{15}N (INÁCIO & URQUIAGA, 2017).

2.10 Plantas modelos

2.10.1 Cebolinha (*Allium fistulosum*)

A cebolinha comum (*Allium fistulosum* L.) é originária da Sibéria, pertence à família Alliaceae e possui semelhanças com a cebola, sendo suas folhas tubulares-alongadas, macias e aromáticas, com alto valor condimentar e muito apreciada na culinária brasileira, porém diferente da cebola não há formação de bulbo, há alto perfilhamento e formação de touceiras, podendo surgir uma pequena estrutura cônica, tipo bulbo, envolvida por uma película rósea (ARAÚJO et al., 2017; FILGUEIRA, 2007; HEREDIA ZÁRATE et al., 2003).

A planta pode ser considerada perene e se adapta a uma ampla faixa de temperaturas, suportando frio prolongado e calor devido as cultivares resistentes, no entanto a faixa de

temperatura considerada ideal para a cultura está entre 8 e 22 °C (HEREDIA ZÁRATE et al., 2003).

A cultivar mais tradicional é a Todo Ano, podendo ser semeada em sementeiras e posteriormente transplantadas ou pode ser propagada pela divisão das touceiras e plantio das partes vegetativas (FILGUEIRA, 2007).

De acordo com Simões et al. (2016), a densidade de plantio irá interferir na qualidade e produtividade da cebolinha, podendo ser plantada de modo adensado (10 x 10 cm) ou em densidades maiores (20 x 30 cm ou 25 x 30 cm). No entanto, Filgueira (2007) recomenda que as mudas sejam plantadas em sulcos longitudinais nos canteiros, com espaçamento de 25 x 15 cm, sendo os principais tratos culturais as regas intensivas e capinas.

A cebolinha se adapta aos diferentes tipos de solo, com pH ideal de 6,0 a 6,5, recomenda-se adubação orgânica antes do plantio e para solo de média a baixa fertilidade aplicação nos sulcos de plantio com 30 kg de N por hectare; 200-300 kg de P₂O₅ por hectare e 100-120 kg de K₂O por hectare, com complementação de 100 kg de N por hectare em cobertura, de forma parcelada a cada 15 dias após o transplântio (FILGUEIRA, 2007).

Jiang et al. (3007) verificaram maior produtividade da cebolinha fertilizada com 360 kg N mineral por hectare, mas segundo Liu et al. (2009) elevada produção da cebolinha pode ser alcançada com elevada adubação, em especial com N e S, porém, por não apresentarem sistema radicular eficiente pode ocorrer elevadas perdas de N, por lixiviação do nitrato.

Heredia Zaráte et al. (2003) verificaram aumento da massa fresca em até 80% e 55% de massa seca da cebolinha cultivada em solo adubado com 14 ton ha⁻¹ de “cama” de frango de corte semidecomposta, aplicada em cobertura. Enquanto Araújo et al. (2017) verificaram maior produção da cebolinha fertilizada com 5 ton ha⁻¹ de “cama” de frango decomposta.

Araújo Neto et al. (2010) verificaram efeito residual da adubação com composto de esterco bovino e braquiária na produção de cebolinha, sendo o aumento de massa seca proporcional ao aumento do composto, sendo a dose máxima de 105 t ha⁻¹ ano⁻¹, os autores verificaram ainda maior produção da cebolinha sob sistema de plantio direto com até 70 g por planta.

Segundo Heredia Zárate et al. (2003), a época de colheita da cebolinha irá interferir em sua produtividade, pois a cebolinha cultivada com 14 Mg ha⁻¹ de “cama” de frango de corte semidecomposta em cobertura e colheita 60 DAP produziu 3 Mg ha⁻¹, enquanto sob mesma adubação e colheita 95 DAP a produção foi de 11,3 Mg ha⁻¹.

Simões et al. (2016) verificaram que o método de colheita e o espaçamento entre as plantas de cebolinha em cultivo orgânico, influência na produtividade, verificando maior produtividade na realização de corte raso em relação a colheita de folha-folha e com espaçamento de 10 cm entre plantas, em relação a espaçamento superiores.

Heredia Zárate et al. (2006) verificaram influência da adubação com “cama” de frango em cobertura e da época de colheita das folhas de cebolinha, em que houve menor produção na ausência da adubação e na primeira colheita aos 81 DAT, com aumento nas colheitas aos 139 DAT e 174 DAT, totalizando 10,60 Mg ha⁻¹.

De acordo com Filgueira (2007), a colheita das folhas da cebolinha se inicia quando a planta atinge 35 cm, na propagação por mudas aos 55 dias após o transplântio, enquanto por semeadura aos 85 dias da semeadura, podendo efetuar diversas colheitas das folhas ou então arrancar a planta de uma só vez.

2.10.2 Gramíneas: aveia-preta e milho

Pertencentes a família Poaceae, são bastante utilizadas como adubos verdes, no manejo conservacionista do solo, em sistema de plantio direto, em rotação e sucessão de culturas (TORRES et al., 2008).

De acordo com Wutke et al. (2014), o milho (*Pennisetum glaucum* L.) é uma forrageira, anual, de clima tropical, possui crescimento ereto e é adaptado a solos de diferentes texturas e pouco férteis, pois possui crescimento rápido, com sistema radicular vigoroso, com grande potencial de perfilhamento e ciclagem de nutrientes, podendo produzir até 10 t ha⁻¹ de fitomassa seca. A espécie é mais cultivada na primavera verão, embora possa ser cultivada no outono inverno, mas por ser uma planta de dias curtos pode haver estímulo fotoperiódico ao florescimento precoce aos 50 dias (WUTKE et al., 2014).

Enquanto as espécies de aveia são originárias da Ásia, mais cultivadas no outono inverno. A aveia-preta (*Avena strigosa* Scrb) é uma planta anual, mais rústica, de crescimento ereto e grande capacidade de perfilhamento, com sistema radicular fasciculado e rendimento médio de 50 t ha⁻¹ de fitomassa verde e de 6 t ha⁻¹ de fitomassa seca (WUTKE et al., 2014).

De acordo com Foloni et al. (2008), as gramíneas são responsivas a adubação nitrogenada, apresentando alta demanda por N, porém, as gramíneas C4, como o milho, são mais eficientes no aproveitamento do N e respondem a níveis relativamente mais elevados deste nutriente, do que as gramíneas C3, como a aveia-preta. Esses autores verificaram

aumento da massa seca do milho de até 2,8 vezes com o aumento da adubação nitrogenada, enquanto para a aveia-preta o aumento foi de 1,7 vezes.

Segundo Mascarenhas & Wutke (2014), a composição de N na parte aérea do milho é de 0,34 a 3,40 % na matéria seca, enquanto na aveia-preta a composição de N na parte aérea pode variar de 0,70 a 1,68 % na matéria seca.

Melo et al. (2015) avaliaram o crescimento e eficiência nutricional de duas cultivares de milho (BN2 e ADR500) em função da dose de N aplicado em forma de ureia e sulfato de amônio, verificando maior produção de matéria seca da parte com a dose estimada de 179 kg ha⁻¹ de N, sendo que acima desta dose as cultivares não responderam mais a aplicação de N.

Enquanto Balbinot Junior et al. (2012), verificaram interação entre os genótipos de milho a doses de “cama” de aviário para o total de fitomassa seca aérea, em que os genótipos melhorados (ADR 500 e LAB733) demonstraram maior resposta de acordo com o aumento da dose de cama de aviário em relação a variedade comum, mas exaltam que há efeito residual significativo para o fertilizante orgânico.

Segundo Santos et al. (2013), a aveia preta é altamente responsiva a adubação nitrogenada, verificando que quanto maior foi a dose de N como ureia, maiores foram as variáveis altura de plantas, número de folhas, massa fresca e seca, sendo a dose máxima aplicada de 184 kg de N ha⁻¹.

Melo et al. (2011) analisaram a produção de matéria seca e reciclagem de nutrientes da aveia preta cultivada em solos submetidos a dezoito anos de adubações orgânicas e minerais, em cultivo de milho e verificaram maior acúmulo de massa seca e maior extração de nutrientes quando o solo foi adubado com composto orgânico, sendo a massa seca acumulada igual a 5,17 ton ha⁻¹ e 51,99 kg de N ha⁻¹ acumulado na parte aérea.

3 CAPÍTULO I

AVALIAÇÃO AGRONÔMICA DE UM FERTILIZANTE PELETIZADO FORMULADO COM FOLHAS DE GLIRICÍDIA NO CULTIVO ORGÂNICO DE CEBOLINHA

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a dinâmica do N do fertilizante N-verde, formulado com a biomassa de folhas moídas e peletizadas da Fabaceae arbórea *Gliricidia sepium*, utilizando da técnica isotópica e cultivo orgânico da cebolinha (*Allium fistulosum* L.). Para isso, mudas de gliricídia foram cultivadas em vasos com 10 L de substrato, sendo o N adicionado de forma parcelada por solução de ureia com 3,0 % de átomos de ^{15}N , durante 18 meses de cultivo, com um total de cinco podas da parte aérea. Todo o material foi seco em estufa de circulação forçada, totalizando 11 kg de folhas e 4 kg de caule. O material foi finamente moído separadamente, sendo as folhas e caule de cada coleta homogeneizados separadamente, utilizando a técnica de quarteação. Para compor os tratamentos foram coletadas também folhas de um banco de gliricídia localizado em área experimental da Embrapa Agrobiologia. O experimento foi instalado na Fazendinha Agroecológica Km 47 com delineamento experimental de blocos casualizados, tendo 12 tratamentos distribuídos em um arranjo fatorial 2x6, sendo duas fontes de fertilizantes (N-verde e farelo de mamona) e 6 doses de N total (0, 50, 100, 200, 300 e 400 kg ha⁻¹) contido nas respectivas fontes, sendo quatro repetições, totalizando 48 parcelas com 1m². A adubação foi realizada de modo superficial em cada linha de cultivo e as mudas de cebolinha cv. Todo Ano foram transplantadas aos sete dias após a aplicação dos fertilizantes, em espaçamento de 0,25 x 0,10 m. Foram realizadas três colheitas durante o ciclo de cultivo, aos 55, 89 e 123 dias após o transplântio (DAT). Foram mensurados o comprimento, o diâmetro e o número de folhas, além da produção de massa fresca e seca, a concentração de N na parte aérea das plantas. Para a última colheita, determinou-se também as produções de massa fresca e seca das raízes, a concentração de N nas raízes e no solo, estimando-se então o N acumulado na parte aérea e a eficiência de recuperação de N pelo N-verde. Para as variáveis fitotécnicas comprimento, diâmetro, número de folhas e biomassa fresca e seca da parte aérea não houve efeito interativo ($p \leq 0,05$) entre fontes x doses, nem diferença entre as fontes (N-verde e farelo de mamona), mas houve efeito das doses de N total aplicadas, sendo os dados melhores ajustados ao modelo quadrático da análise de regressão, de modo que para o N-verde a dose de 228 kg de N total ha⁻¹, proporcionou maior produtividade da cebolinha com 986 g m², enquanto para o farelo de mamona a produtividade máxima alcançada foi de 867 g m² com 280 kg de N total ha⁻¹. A eficiência de recuperação do N pelas plantas de cebolinha fertilizadas com o N-verde foi de 6,68% e a proporção do N remanescente nos primeiros 15 cm de solo foi 24,13%. Desse modo, conclui-se que o N-verde foi capaz de dobrar a produtividade da cebolinha em sistema orgânico, de modo semelhante ao farelo de mamona. Porém, possui baixa eficiência na recuperação do N, sendo necessários novos estudos a fim de aumentá-la.

Palavras-chave: N-verde peletizado; disponibilização de N; farelo de mamona; *Allium fistulosum*; manejo orgânico.

ABSTRACT

The present work aims to evaluate the N dynamics of N-green fertilizer, formulated with the biomass of ground and pelletized leaves of the arboreal Fabaceae *Gliricidia sepium*, using the isotopic technique and organic cultivation of chives (*Allium fistulosum*). For this, gliricidia seedlings were cultivated in vases with 10 L of substrate, N being added in portions by means of a urea solution with 3.0% of ^{15}N atoms, during 18 months of cultivation, with a total of five prunings of the aerial part. All material was dried in a forced circulation oven, totaling 11 kg of leaves and 4 kg of stem. The material was finely ground separately, with the leaves and stem from each collection homogenized separately, using the quartering technique. To compose the treatments, gliricidia leaves were also collected from a gliricidia bank located in an experimental area of Embrapa Agrobiologia. The experiment was installed at Fazendinha Agroecológica Km 47 with an experimental design of randomized blocks, with 12 treatments distributed in a 2x6 factorial arrangement, with two sources of fertilizers (N-green and castor bean bran) and 6 doses of total N (0, 50, 100, 200, 300 and 400 kg ha⁻¹) contained in the respective sources, with four repetitions, totaling 48 plots with 1m². Fertilization was carried out superficially in each crop line and the chive seedlings cv. Every year they were transplanted seven days after fertilizer application, at a spacing of 0,25 x 0,10 m. Three harvests were performed during the cultivation cycle, at 55, 89 and 123 days after transplanting (DAT). The length, diameter and number of leaves were measured, in addition to the production of fresh and dry mass, the concentration of N in the aerial part of the plants. For the last harvest, the production of fresh and dry mass of the roots, the concentration of N in the roots and in the soil were also determined, thus estimating the accumulated N in the aerial part and the efficiency of N recovery by the green-N. For the phytotechnical variables length, diameter, number of leaves and fresh and dry biomass of shoots, there was no interactive effect ($p \leq 0.05$) between sources x doses, nor difference between sources (N-green and castor bean bran), but there was an effect of the doses of total N applied, with the data being better adjusted to the quadratic model of the regression analysis, so that for the N-green the dose of 228 kg of total N ha⁻¹, it learned greater productivity of the chives with 986 g m², while for castor bean meal the maximum productivity achieved was 867 g m² with 280 kg of total N ha⁻¹. The efficiency of N recovery by chive plants fertilized with green-N was 6.68% and the proportion of N remaining in the first 15 cm of soil was 24.13%. Thus, it is concluded that N-verde was able to double the productivity of chives in an organic system, similarly to castor bean meal. However, it has low efficiency in N recovery, requiring further studies in order to increase it.

Keywords: N-green pelletized; castor bean meal; *Allium fistulosum*; organic management.

3.1 INTRODUÇÃO

Os consumidores têm se mostrado mais exigentes e mais preocupados com as questões de saúde humana e ambiental, o que conseqüentemente, tem levado ao aumento da procura por alimentos orgânicos no Brasil e no mundo (LIMA et al., 2020). Por outro lado, para a expansão sustentada do setor agroalimentar de orgânicos, tornam-se necessários avanços científicos que promovam o aumento da produção orgânica no Brasil.

Do ponto de vista técnico científico, para a ampliação da oferta de hortaliças produzidas em sistemas orgânicos, torna-se imprescindível ampliar a oferta de fertilizantes compatíveis com esses sistemas de produção.

Entre as principais fontes de fertilizantes utilizados nos sistemas orgânicos de produção, destaca-se o farelo de mamona (LIMA et al., 2011). Este farelo contém alto teor de N e, por isso, é a fonte orgânica primordialmente empregada para o fornecimento deste macronutriente, haja vista a rápida taxa de mineralização e, portanto, disponibilização para as culturas (SEVERINO et al., 2021). Contudo, a depender da região, a aquisição do farelo de mamona pode ser um entrave, além de apresentar alto custo.

A utilização de plantas de cobertura de solo com fins de adubação verde é uma forma de favorecer o ingresso de N nos sistemas orgânicos, sobretudo com o cultivo de espécies da família Fabaceae (GUERRA et al., 2023).

Fabaceas arbóreas, como a *Gliricidia sepium* têm sido estudadas e difundidas com esse fim (ABOYEJI et al., 2021; FREITAS et al., 2011; KEYA et al., 2020). Trabalhos científicos evidenciam a alta capacidade de produção de fitomassa e de acumulação de N em sua parte aérea (ALMEIDA, 2007; GONÇALVES JUNIOR, 2017; SANTOS, 2017).

Em contrapartida, a introdução e o manejo da gliricídia nos sistemas de produção, é um desafio para os agricultores. Por outro lado, a abundante produção de fitomassa desta Fabaceae (ALMEIDA, 2007; GONÇALVES JUNIOR, 2017) remete ao seu alto potencial de emprego com substrato para formulação de fertilizantes. Almeida (2007) enfatiza que o farelo de gliricídia apresenta valor fertilizante comparável ao da “cama” de aviário industrial no fornecimento de N em cultivo de alface e rúcula sob sistema orgânico de produção, o autor estudou a transformação da biomassa aérea de diferentes espécies de leguminosas em fertilizantes, concluindo que o fertilizante desenvolvido a partir da gliricídia tem maior potencial devido ao seu elevado teor de N e a baixa relação C:N. De acordo com o mesmo autor, os fertilizantes de leguminosas têm potencial comparável ao da “cama” de aviário industrial para fornecimento de N às culturas.

Outros ensaios foram realizados por Almeida (2012) a fim de comprovar a eficiência da fertilização utilizando a gliricídia, não só no aporte de N para os sistemas orgânicos de produção, mas também para os sistemas convencionais. Em seu trabalho o autor evidenciou que é possível alcançar produtividade semelhante a ureia, ainda que utilizando inicialmente doses maiores do fertilizante de gliricídia, mas que deverão ser reduzidas ao longo do tempo pelo seu efeito residual, proporcionando ainda outros benefícios como a menor perda de N por volatilização e o fornecimento de outros nutrientes como o K. Segundo Almeida (2012), o fertilizante contendo apenas folhas de gliricídia é mais eficiente em promover N para as culturas do que o fertilizante derivado de folhas e galhos de gliricídia.

Resultados alcançados por Santos (2017) evidenciam a eficiência agronômica da fertilização com a fitomassa de gliricídia no cultivo orgânico de alface. Em seu trabalho o autor formulou alguns protótipos de fertilizantes, a partir da fitomassa de folhas e ramos processadas em pó, farelo e grânulos, obtendo melhores resultados para o fertilizante desenvolvido a partir da granulação de somente folhas da gliricídia, denominado então de N-verde protótipo n° 1.

Todavia, a granulação da fitomassa acarreta em grande volume do fertilizante, o que é uma desvantagem tanto do ponto de vista da aplicação em condições reais de campo, quanto da logística de transporte. Assim, melhorias no processo de obtenção do fertilizante N-verde se fazem necessárias para disponibilização de um produto de qualidade no mercado.

Desse modo, o presente trabalho objetivou avaliar a dinâmica de N do fertilizante N-verde protótipo n° 2, formulado com a biomassa de folhas moídas e peletizadas da Fabaceae arbórea *Gliricidia sepium*, utilizando da técnica isotópica e cultivo orgânico da cebolinha (*Allium fistulosum* L.).

Sendo a cebolinha escolhida como cultura modelo, por possibilitar várias podas durante seu ciclo, permitindo assim avaliar o efeito remanescente do N derivado do N-verde protótipo n°2, durante o ciclo de cultivo da planta.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Produção de gliricídia marcada com ^{15}N

Para a produção das mudas, foram utilizadas sementes de gliricídia provenientes do banco de gliricídia da Embrapa Agrobiologia, semeadas em duas bandejas de isopor com 72 células cada, tendo como substrato a mistura de areia lavada e húmus peneirado na proporção 1:1 v/v, mantidas em viveiro de mudas na Fazendinha Agroecológica Km 47 com irrigação diária por microaspersão.

Após 30 dias, as mudas foram transplantadas para vasos com capacidade para 10 L, sendo duas mudas por vaso e mantidas em viveiro localizado na área experimental da Embrapa Agrobiologia (Terraço).

O substrato utilizado foi composto pela mistura de areia lavada e vermiculita expandida na proporção 1:1 v/v. Para a adubação e marcação fora utilizada a metodologia de Chieza et al. (2011) com 1 g vaso⁻¹ de FTE BR-12; 37,87 g vaso⁻¹ de superfosfato simples; 2,30 g vaso⁻¹ de sulfato de potássio; 0,90 g vaso⁻¹ de calcário dolomítico; sulfato de magnésio 3,80 g vaso⁻¹ e 10 mL vaso⁻¹ da solução de micronutrientes descrita por Franco e Dobereiner (1967).

O nitrogênio foi adicionado de forma parcelada em solução de ureia com 3,0 % de átomos de ^{15}N , na dose de 360 mg de N kg⁻¹ de substrato. A primeira dose foi aplicada no plantio, nos primeiros 4 meses a cada 30 dias e, posteriormente, após cada poda.

Durante o cultivo a irrigação foi realizada manualmente e após o aparecimento de pragas como o pulgão (*Aphis craccivora*) foi realizada a catação manual e pulverizações com óleo de neem a 1% intercalado com Cladosporium da Agribio a 2%.

A gliricídia foi cultivada nas condições de vasos por um período de 18 meses, a fim de obter biomassa suficiente para a produção dos fertilizantes marcados para a realização dos experimentos planejados, desse modo, durante o cultivo foi realizado um total de 11 marcações e cinco podas, totalizando 15 kg de biomassa seca.

3.2.2 Produção do ^{15}N -verde

Após coleta da biomassa marcada, o material foi seco em estufa de ventilação forçada a 65 °C, até atingir massa constante, separadas as folhas do caule e então moídos em moinho tipo Wiley, equipado com peneira com malha de 0,2 mm de diâmetro.

O material, folhas e ramos moídos de todas as coletas foram homogeneizados separadamente e quarteados a fim de obter material homogêneo, utilizando-se da técnica de quarteação manual (MANEGHETTI, 2018).

Em seguida foi realizada análise de N-total e de átomos de ^{15}N em excesso por analisador elementar da Costech Instruments e espectrômetro de massa de razão isotópica da Thermo Scientific, no Laboratório de Isótopos Estáveis John Day da Embrapa Agrobiologia.

Após então, foi realizada a peletização somente das folhas em máquina peletizadora de biomassa, projetada especialmente para este fim, em que se obtém pellets com diâmetro de 3 mm, que foram secos em estufa até massa constante e armazenados para a aplicação experimental.

3.2.3 Produção do N-verde não marcado

Para as parcelas experimentais não marcadas o N-verde peletizado foi produzido a partir das folhas de gliricídia obtidas de um banco da espécie localizado em área experimental da Embrapa Agrobiologia (Terraço), plantado há quatro anos e cultivado sob manejo orgânico.

A colheita nesta área é realizada de forma mecanizada, utilizando colhedora do tipo tarupe acoplada em trator, sendo realizada de 3 a 4 colheitas anuais, conforme descrito por Araújo et al. (2024). Porém, especialmente para este experimento a colheita das folhas de gliricídia foi realizada manualmente, de modo aleatório.

Todo o material coletado foi seco em estufa de circulação forçada a 65 °C, até atingir massa constante e moídos em moinho tipo Wiley, equipado com peneira com malha de 0,2 mm de diâmetro.

Foi realizada análise de N total pelo método Kjeldahl no laboratório de Química Agrícola da Embrapa Agrobiologia. Após realizada a peletização em máquina peletizadora, obtendo pellets com diâmetro de 3 mm, que foram secos em estufa até massa constante e armazenados para a aplicação experimental.

3.2.4 Descrição da área experimental

O experimento de campo foi realizado na Fazendinha Agroecológica Km 47, localizada em Seropédica-RJ, com latitude 22° 45' S e longitude 43° 41' W, altitude média de 33 m, relevo levemente ondulado, clima quente e úmido do tipo Aw da classificação de Koppen, a precipitação anual média é 1213 mm e a temperatura média anual de 24,5 °C (CARVALHO et al., 2006).

O solo da área experimental é classificado como Argissolo Vermelho Amarelo (GOULART, 2020) ou Argissolo Amarelo Distófico típico, com histórico de fertilização orgânica ao longo dos anos, antes da instalação do experimento foram coletadas amostras de

solo da área na profundidade de 0–20 cm de profundidade, sendo as mesmas analisadas no laboratório de química agrícola segundo a metodologia de Nogueira & Souza (2005).

A área experimental totaliza 108 m², divididos em 4 canteiros de 18 m de comprimento e 1 m de largura, duas amostras compostas de solo foram analisadas e os resultados apresentados na tabela (Tabela 1).

Tabela 1. Análise química da fertilidade do solo.

Amostras	C total (%)	Al (cmolc/d)	Ca (cmolc/d)	H+Al (cmolc/d)	K (mg/L)	Mg (cmolc/d)	N total (%)	P (mg/L)	pH
A1	0,84	0,00	3,70	1,82	94,21	1,41	0,11	77,66	6,29
A2	0,78	0,00	3,09	1,48	94,08	1,13	0,08	40,82	6,44

Antes da implantação do experimento foi realizada uma adubação manual com termofosfato (YOORIN) na dose de 60 kg ha⁻¹ de P₂O₅ e com sulfato de potássio (YARA KRISTA SOP) na dose de 30 kg ha⁻¹ de K₂O, aplicados por canteiros após o levantamento dos mesmos por rotoencanteirador e incorporação dos adubos realizada de forma manual.

O delineamento experimental adotado foi o de blocos casualizados com quatro repetições e 12 tratamentos, distribuídos em arranjo fatorial (2x6). Sendo duas fontes de fertilização orgânica o farelo de mamona e o N-verde formulado a partir das folhas de gliricídias peletizadas, e seis doses de N total contido nas respectivas fontes (0, 50, 100, 200, 300 e 400 kg ha⁻¹).

Os teores de macronutrientes totais dos fertilizantes foram analisados no laboratório de química agrícola, também pela metodologia de Nogueira & Souza (2005), sendo os resultados apresentados na tabela (tabela 2).

Tabela 2. Teor de macronutrientes totais dos fertilizantes N-verde e Farelo de mamona.

Fertilizantes	N (g kg ⁻¹)	P (g kg ⁻¹)	K (g kg ⁻¹)	C:N
N-verde	38,39	1,61	7,40	14
Farelo de mamona	74,10	7,64	12,36	7

A adubação com os fertilizantes orgânicos foi realizada dentro de cada parcela, com área total de 1 m², espaçadas entre si por 50 cm de distância e implementadas de acordo com sorteio estatístico. A adubação foi realizada de forma localizada nas linhas de plantio (Figura

1) com leve incorporação até ± 5 cm de profundidade. O N-verde marcado com $1,293^{15}\text{N}$ em excesso foi aplicado somente nas parcelas com dose de $200 \text{ kg de N ha}^{-1}$ e nas demais foi aplicado o N-verde não marcado.



Figura 1. Área experimental, com foco na adubação localizada realizada em cada linha da parcela.

O plantio da cebolinha foi realizado após 7 dias da adubação, utilizando mudas de cebolinha (*Allium fistulosum* L.) da cv. Todo Ano (ISLA) adquiridas no comércio local. As mudas de cebolinha foram obtidas a partir da divisão de touceiras de mudas com aproximadamente 60 dias, sendo plantada uma única muda de cebolinha por berço, em espaçamento de 25 cm entre linhas e 10 cm entre plantas. Nas duas primeiras semanas foi realizado o replantio conforme necessário.

Os tratos culturais durante o cultivo foram irrigação por aspersão convencional, capina manual realizada inicialmente uma vez por semana e posteriormente a cada 15 dias, foi realizado o controle de formigas cortadeiras com isca e de lagartas com Dipel e Trichobio, todo o manejo foi realizado conforme a lei 10.831 de 2003 e os decretos que regem a agricultura orgânica.

A primeira colheita da cebolinha foi realizada a 55 DAT, a segunda aos 89 DAT e a terceira aos 123 DAT, com auxílio de tesoura de poda as folhas foram cortadas acima do pseudocaule de cada planta. As plantas da bordadura foram descartadas, sendo analisadas somente as da área útil. As plantas das duas linhas centrais foram levadas para o laboratório de Agricultura Orgânica, onde foram analisadas as variáveis fitotécnicas: biomassa fresca e seca, número de folhas por planta, altura e diâmetro da maior folha de cada planta. Na terceira e última colheita os cortes foram realizados logo acima do solo, sendo analisado além da parte aérea a massa fresca e seca das raízes.

Todas as amostras após serem secas em estufa de circulação forçada a 65 °C, até atingir massa constante, foram moídas em moinho tipo Wiley e também em moinho especial de rolos, após estarem finamente moídas foram realizadas as análises de N total por analisador elementar modelo VARIO MACRO CUBE, cujo o funcionamento se baseia no método Dumas, pelo laboratório de Ciclagem de Nutrientes. Nas parcelas marcadas, o teor de ^{15}N foi determinado por analisador elementar da Costech instruments e espectrômetro de massa de razão isotópica da Thermo scientific, no Laboratório de Isótopos Estáveis John Day da Embrapa Agrobiologia.

Foram coletadas também amostras de solo da área útil de cada parcela, sendo retiradas amostras com 20x20 cm e 15 cm de profundidade, sendo esta pesada, homogeneizada e retirada uma subamostra que foi seca ao ar, finamente moídas e submetida a análise de N total pelo método Dumas e ^{15}N por espectrômetro de massa de razão isotópica.

A partir dos resultados foi determinada a eficiência de recuperação do nitrogênio derivado do N-verde pelas plantas de cebolinha e o balanço do nitrogênio derivado do N-verde no sistema solo-planta, seguindo metodologia proposta por Araújo et al. (2011).

Para determinar o nitrogênio no solo proveniente do fertilizante N-verde foi utilizada a seguinte equação: $N_{\text{soloNV}} (\text{kg ha}^{-1}) = [^{15}\text{N no solo} (\%) / ^{15}\text{N do N-verde} (\%)] \times \text{N total na camada de solo} (\text{kg ha}^{-1})$.

E para o nitrogênio na cebolinha, proveniente do N-verde as equações: $N_{\text{cebolinhaNV}}(\%) = [^{15}\text{N na cebolinha} (\%) / ^{15}\text{N do NV}(\%)] \times 100$ e $N_{\text{cebolinhaNV}} (\text{kg ha}^{-1}) = [N_{\text{cebolinhaNV}} (\%) / 100] \times \text{N total na cebolinha} (\text{kg ha}^{-1})$.

Para a eficiência de recuperação do nitrogênio derivado do N-verde pelas plantas de cebolinha a equação utilizada foi $ER (\%) = [N_{\text{cebolinha NV}} (\text{kg ha}^{-1}) / NAV(\text{kg ha}^{-1})] \times 100$, em que, NAV é a quantidade de N aplicada através do N-verde à cultura da cebolinha (kg ha^{-1}).

3.2.5 Análises estatísticas

Primeiramente foram analisadas a homogeneidade das variâncias e a normalidade dos dados pelo programa estatístico R, sendo aplicado o teste de Bartlett para a homogeneidade e Shapiro-Wilk para a normalidade.

Posteriormente foi realizada a análise de variância (ANOVA), avaliando a interação entre os fatores pelos desdobramentos dose dentro de fertilizante e fertilizantes dentro de cada dose, analisados também se existe diferença estatística para as variáveis qualitativas e quantitativas, aplicando teste Tukey para a fonte de variação fertilizantes orgânicos e análise

de regressão para as doses. Foi utilizado o programa estatístico SISVAR versão 5.8 (FERREIRA, 2003).

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Variáveis fitotécnicas

A partir da análise dos resultados das principais variáveis fitotécnicas estudadas verificou-se que não houve interação significativa ($p \leq 0,05$) entre os fatores fonte x dose, assim como não houve diferença significativa entre as fontes fertilizantes, no que se refere ao comprimento, ao diâmetro e ao número de folhas, dentro de cada época de colheita realizada ao longo do ciclo de cultivo da cebolinha (Tabela 3).

Tabela 3. Média das variáveis fitotécnicas: comprimento das folhas (cm), diâmetro das folhas (mm) e a média do número de folhas por planta de cebolinha, em diferentes épocas de colheita, submetidas ao manejo orgânico de produção, nas condições climáticas da Baixada Fluminense sob diferentes doses de N total aplicado a partir de fontes de fertilizantes vegetais (N-verde e farelo de mamona) e o controle (dose 0 de N).

Colheita (DAT) ¹	Fertilizante	Comprimento (cm)	Diâmetro (mm)	Média N° folhas
55	Controle	32,61	5,04	4,35
55	N-verde	39,57 a ²	6,35 a	5,11 a
55	Farelo de mamona	38,68 a	6,44 a	4,90 a
89	Controle	33,87	6,85	3,63
89	N-verde	39,41 a	7,80 a	4,08 a
89	Farelo de mamona	38,24 a	7,49 a	3,92 a
123	Controle	36,20	5,99	4,04
123	N-verde	37,65 a	6,31 a	4,07 a
123	Farelo de mamona	37,48 a	6,13 a	3,90 a

¹ Colheitas realizadas aos: 1- 55 DAT; 2- 89 DAT; 3- 123 DAT

² Médias seguidas de letras iguais dentro de cada coluna não diferem entre si pelo teste F no nível de significância de 5%.

Os resultados alcançados neste trabalho, no que diz respeito ao comprimento das folhas de cebolinha cultivada em sistema orgânico de produção e fertilizada com o farelo de mamona ou com o N-verde, denotam valores superiores aos encontrados por Araújo et al. (2017), que variaram de 15 à 30 cm para a cv Todo Ano, fertilizada com “cama” de aviário e colhida aos 30, 45 e 60 DAT. Silva et al. (2018) observaram que a fertilização com doses de esterco bovino, na presença de diferentes lâminas de água, resultou em plantas de cebolinha

com 21 cm na presença da lâmina (150% da evapotranspiração da cultura) que correspondeu a maior resposta da planta, não sendo verificada diferença em relação às doses de esterco. Heredia Zárate et al. (2006) encontraram valores que variaram de 18 a 27 cm, 20 a 23 cm e 21 a 24 cm, respectivamente, sem cobertura morta e com cobertura morta, em colheitas realizadas aos 81 DAT, 139 DAT e 174 DAT, portanto comprimentos também inferiores ao presente trabalho.

Heredia Zárate et al. (2010) estudaram o cultivo da cebolinha cv. Todo Ano com “cama” de aviário em cobertura e amontoas, verificando maior comprimento e diâmetro na primeira colheita das folhas da cebolinha aos 64 DAP, com cobertura e amontoa, porém, houve redução nesses parâmetros para a segunda colheita aos 104 DAP, o que segundo os autores pode ter ocorrido devido ao menor tempo que tiveram para desenvolvimento e crescimento da parte aérea ou a perda de vitalidade das plantas. Segundo Souza et al. (2021) outros fatores também podem afetar essas variáveis, os autores verificaram que a restrição hídrica afetou negativamente o diâmetro da cebolinha.

No presente trabalho não foi realizada análises dos fatores ao longo do tempo, mas observando os dados não há evidências na redução desses parâmetros após segunda e terceira colheita, apesar de alguns autores citarem que esses se reduzem ao longo do tempo para esse tipo de colheita (FIGUEIRA, 2008; SIMÕES et al., 2016).

As variáveis comprimento e diâmetro são parâmetros importantes nas análises fitotécnicas e vão interferir na produção da cebolinha, porém como citado por Simões et al. (2016) esses não interferem diretamente na comercialização desta hortaliça, que é vendida em maço e não pelo comprimento e diâmetro.

Em relação ao número de folhas, foram colhidas, em valores médios, 5,00 planta⁻¹ aos 55 DAT, independentemente de a fonte de fertilizante utilizada ser o farelo de mamona ou o N-verde. Valor médio semelhante foi encontrado por Araújo et al. (2017) com a cebolinha colhida aos 60 DAT e fertilizada com uma dose equivalente a 5 Mg ha⁻¹ de “cama” de aviário.

Para as três variáveis comprimento, diâmetro e n° de folhas da cebolinha (Figura 2A, 2B e 2C), verificaram-se efeitos significativos ($p \leq 0,05$) da dose de N aplicada, independentemente da fonte de fertilização, por ocasião da primeira colheita (55 DAT).

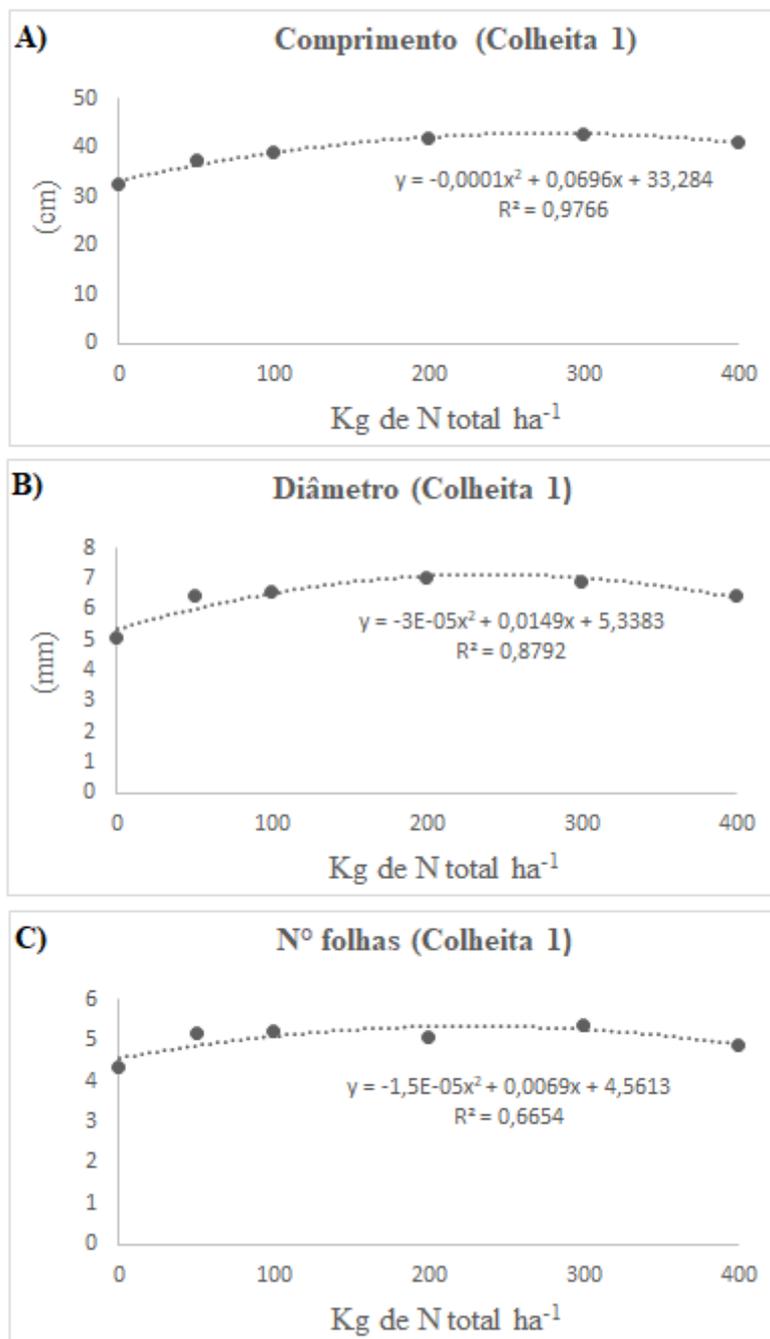


Figura 2. Variáveis fitotécnicas de plantas de cebolinha, submetidas ao manejo orgânico de produção, nas condições climáticas da Baixada Fluminense, em função de doses de N total aplicado a partir de fontes de fertilizantes vegetais (N-verde e farelo de mamona), por ocasião da primeira colheita (55 DAT). A) Comprimento das folhas de cebolinha; B) Diâmetro das folhas de cebolinha; C) Número de folhas por planta de cebolinha.

No que se refere ao comprimento, diâmetro e número de folhas das plantas de cebolinha observou-se que as distribuições dos dados coletados em função da dose de

fertilizante, para ambas variáveis, foram melhores ajustadas a modelos quadráticos, indicando que valores máximos foram alcançados com doses determinadas.

O comprimento máximo das plantas de cebolinha por ocasião da primeira colheita foi de 45,39 cm sendo esse alcançado com a dose de 348 kg de N total ha⁻¹, aplicado pelos fertilizantes vegetais (N-verde e farelo de mamona). Enquanto maior diâmetro foi alcançado com a dose de 248,33 kg de N total ha⁻¹, tendo diâmetro igual a 7,19 mm e a maior média de número de folhas com a dose de 345 kg de N total ha⁻¹ sendo a média de 5,75.

Em relação ao comprimento das folhas de cebolinha verificou-se efeitos significativos ($p \leq 0,05$) da dose de N aplicada, independentemente da fonte de fertilização também na segunda e terceira colheita, aos 89 e 123 DAT (Figura 3A e 3B).

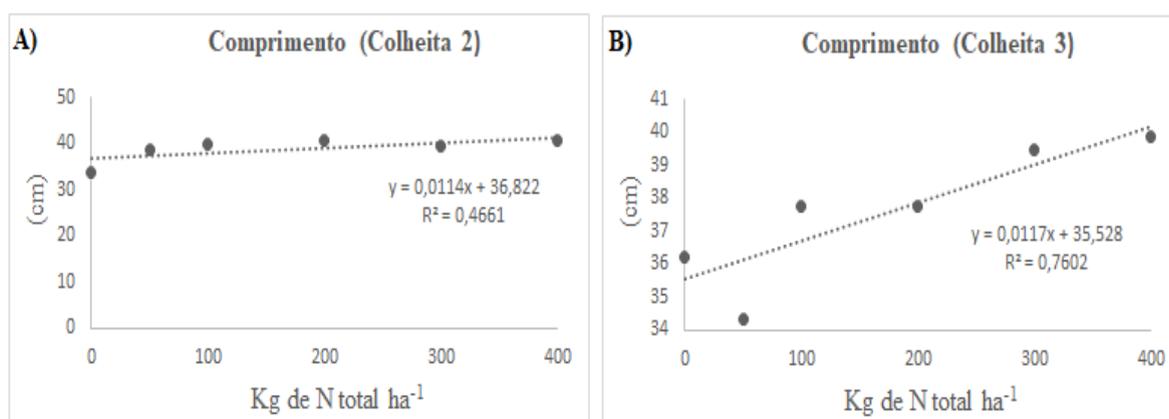


Figura 3. Comprimento de plantas de cebolinha, submetidas ao manejo orgânico de produção, nas condições climáticas da Baixada Fluminense, em função de doses de N total aplicado a partir de fontes de fertilizantes vegetais (N-verde e farelo de mamona). A) Por ocasião da segunda colheita (89 DAT). B) Por ocasião da terceira colheita (123 DAT).

O efeito da dose de N aplicado através dos fertilizantes vegetais N-verde e farelo de mamona para o comprimento das folhas de cebolinha foi melhor ajustado ao modelo linear, para a segunda e terceira colheita, de modo que para cada kg de N aplicado verificou-se aumento em 1 mm do comprimento para ambas as colheitas. Enquanto para as variáveis diâmetro e número de folhas para a segunda e terceira colheita não houve ajuste dos dados aos modelos estudados.

O efeito positivo nos parâmetros de crescimento da cebolinha com a fertilização com doses de N era esperado, assim como verificado por Gebretsadik & Dechassa (2018) para o cultivo da cebola, sendo esse atribuído ao efeito positivo do nitrogênio no crescimento vegetativo e na expansão das folhas.

3.3.2 Concentração de N e eficiência de recuperação

Verificou-se efeito significativo ($p \leq 0,05$) para a interação doses x fonte na concentração de N da parte aérea da cebolinha, nas três colheitas (55, 89 e 123 DAT) e para a raiz da cebolinha aos 123 DAT, não havendo efeito significativo ($p \leq 0,05$) para a concentração de N no solo.

Nas maiores doses de N total aplicadas pelos fertilizantes vegetais (N-verde e farelo de mamona) houve diferença significativa ($p \leq 0,05$), sendo verificada maior concentração de N para a cebolinha fertilizada com N-verde (Tabela 4).

Tabela 4. Concentração de N na parte aérea da cebolinha (PA) em diferentes épocas de colheita (55, 89 e 123 DAT), na raiz (R) e no solo (S) ao final do ciclo (123 DAT) da cebolinha submetida ao manejo orgânico de produção, nas condições climáticas da Baixada Fluminense sob diferentes doses de N total aplicado a partir de fontes de fertilizantes vegetais N-verde e farelo de mamona.

Colheita (DAT) ¹	Dose/ Fertilizante	Dose (g kg ⁻¹)					
		0	50	100	200	300	400
PA - 55	N-verde	22,86 a ²	21,02 a	23,11 a	26,08 a	25,82 a	30,08 a
PA - 55	Farelo de mamona	23,88 a	21,26 a	22,51 a	23,38 a	21,28 b	23,03 b
PA - 89	N-verde	20,53 a	21,62 a	20,66 a	23,21 a	22,29 a	24,82 a
PA - 89	Farelo de mamona	23,00 a	22,98 a	22,32 a	21,65 a	22,03 a	20,71 b
PA - 123	N-verde	20,66 a	19,51 a	20,99 a	21,57 a	22,59 a	24,00 a
PA - 123	Farelo de mamona	21,25 a	21,09 a	20,23 a	22,96 a	19,71 a	20,90 a
R - 123	N-verde	10,98 a	11,73 a	12,00 a	13,20 a	13,15 a	13,97 a
R - 123	Farelo de mamona	11,73 a	11,90 a	10,83 a	12,27 a	11,80 b	12,40 b
S - 123	N-verde	0,86 a	0,78 a	0,95 a	1,20 a	1,04 a	1,01 a
S - 123	Farelo de mamona	1,04 a	0,92 a	0,88 a	0,93 a	1,02 a	1,09 a

¹ Colheitas da parte aérea realizadas aos: 1- 55 DAT; 2- 89 DAT; 3- 123 DAT; 4- colheita da raiz aos 123 DAT; 5- colheita do solo aos 123 DAT.

² Médias seguidas de letras iguais dentro de cada coluna não diferem entre si pelo teste F no nível de significância de 5%.

A maior dose de N pelo fertilizante N-verde possibilitou aumento de N nos tecidos da parte aérea da cebolinha após primeira e segunda colheita (55 e 89 DAT) e da raiz ao final do ciclo, sendo estatisticamente superior aquelas fertilizadas com farelo de mamona. Porém, para a terceira colheita da parte aérea (123 DAT) e para o solo, não houve diferença estatística entre os fertilizantes vegetais aplicados para a concentração de N.

Cardoso & Berni (2012) observaram médias próximas a 40 g kg⁻¹ de N nas folhas da cebolinha cv. Todo Ano, adubada com 30 kg ha de N na forma de sulfato de amônio ou ureia em cobertura, o que segundo os autores é um teor adequado, comparando-os ao da cebola.

Segundo Belfort & Haag (1983), o N é o nutriente mais exigido pela cebolinha cv. Todo Ano, sendo o N e o K os elementos com maior concentração nas folhas, em especial as mais jovens, seguido do bulbo ou pseudocaule e da raiz.

Ao analisar o desdobramento dose dentro dos fertilizantes, verificou-se efeito significativo para a concentração de N na cebolinha fertilizada com N-verde ($p \leq 0,05$) para as três diferentes colheitas (55, 89 e 123 DAT) e para a concentração de N nas raízes (Figura 4).

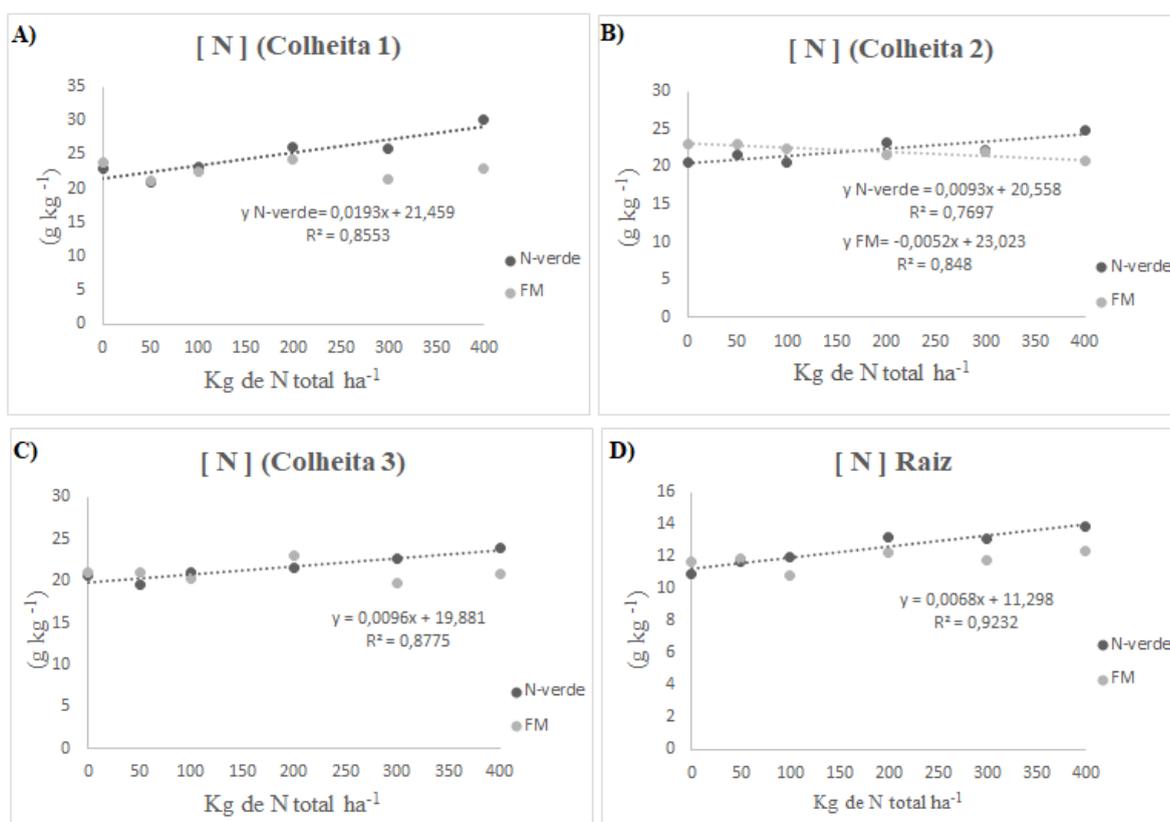


Figura 4. Concentração de N na parte aérea e raiz de plantas de cebolinha, em diferentes épocas de colheita, submetidas ao manejo orgânico de produção, nas condições climáticas da Baixada Fluminense, em função de doses de N total aplicado a partir de fontes de fertilizantes vegetais (N-verde e farelo de mamona). A) Na parte aérea colhida aos 55 DAT; B) Na parte aérea colhida aos 89 DAT; C) Na parte aérea colhida aos 123 DAT; D) Na raiz colhida aos 123 DAT.

É possível verificar aumento linear na concentração de N da parte aérea e raiz da cebolinha fertilizada com N-verde para as três colheitas. Sendo que a dose de 400 kg de N

total por hectare possibilitou aumento de 32% na concentração de N da parte aérea da cebolinha por ocasião da primeira colheita, desse modo para cada kg de N aplicado houve aumento de 73 mg na concentração de N foliar. Porém, houve menor aumento por ocasião da segunda e terceira colheita, sendo proporcionalmente de 21% e 16%.

Também houve aumento linear na concentração de N na raiz da cebolinha, sendo este de 26% quando fertilizada com N-verde na dose de 400 kg de N total por hectare. Menor concentração de N na raiz já era esperado, pois a cebolinha concentra mais os macronutrientes em sua parte aérea, seja na fase inicial de crescimento ou na rebrota (BELFORT & HAAG, 1983).

Cardoso & Berni (2012) também verificaram aumento linear no teor de N nas folhas da cebolinha cv. Todo Ano de acordo com doses de sulfato de amônio (0 a 45 kg de N ha⁻¹) em cobertura, sendo o menor teor de 33,18 g kg⁻¹ e o maior de 44,99 g kg⁻¹, segundo estes autores o aumento deve-se ao fato de aumentar a quantidade de N solúvel no meio radicular das plantas, como o N é um nutriente com alta mobilidade na planta era de se esperar aumento de N foliar, porém verificaram aumento proporcional na produtividade da cebolinha.

Belfort & Haag (1983) também verificaram maior concentração de N nas folhas da cebolinha, associando a maior produção de massa seca que resulta em maior exportação de nutrientes.

Ao comparar a concentração de N na parte aérea da cebolinha com a biomassa seca, verifica-se tendência semelhante de aumento proporcional a dose de N fertilizante aplicada. Porém, para a biomassa seca não houve efeito significativo ($p \leq 0,05$) para a interação doses x fonte, para as três colheitas (55, 89 e 123 DAT) da cebolinha, sendo verificado somente para a dose de N fertilizante aplicada (Figura 5).

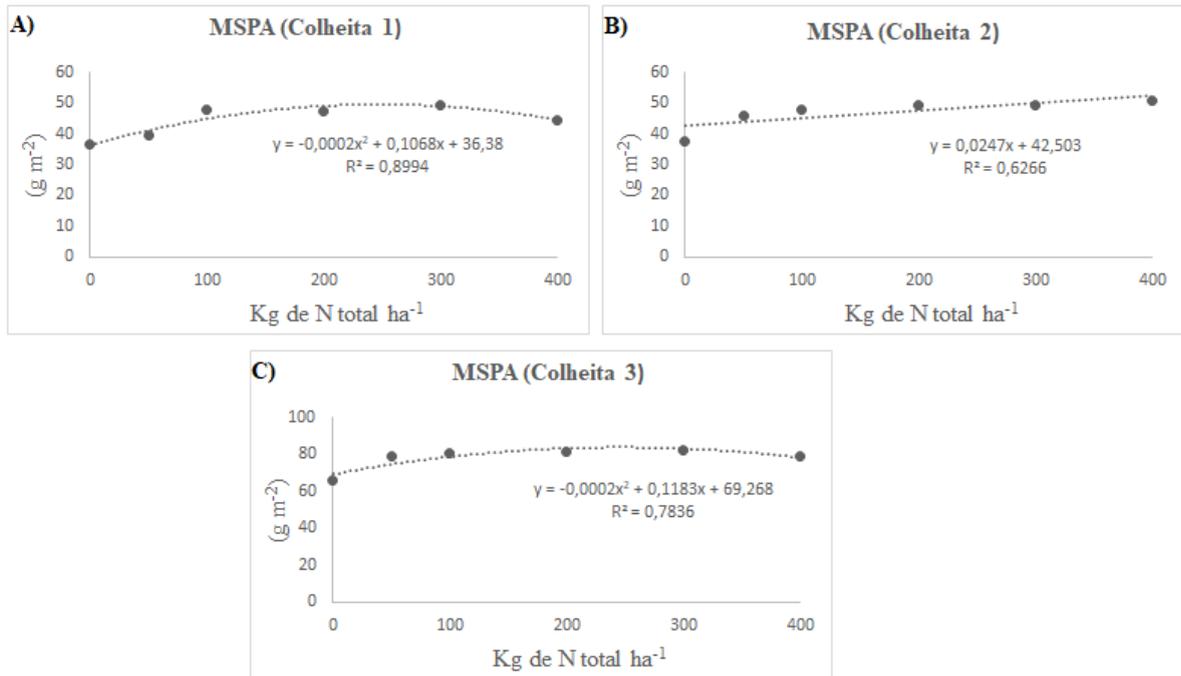


Figura 5. Biomassa seca da parte aérea de cebolinha, submetidas ao manejo orgânico de produção, nas condições climáticas da Baixada Fluminense, em função de doses de N total aplicado a partir de fontes de fertilizantes vegetais (N-verde e farelo de mamona). A) Por ocasião da primeira colheita (55 DAT). B) Por ocasião da segunda colheita (89 DAT). C) Por ocasião da terceira colheita (123 DAT).

Em comparação a ausência da fertilização nitrogenada (Dose 0) verificou-se que houve contribuição de ambas fontes (N-verde e farelo de mamona) pelo aumento na produção de biomassa seca da cebolinha, sendo este aumento de 39 % na primeira colheita, ao aplicar dose equivalente a 267 kg de N total ha⁻¹. Enquanto para a segunda colheita houve ganho linear, de modo que para cada kg de N aplicado houve aumento da massa seca de cebolinha em 0,13 g m² e para a terceira colheita com a dose equivalente a 296 kg de N total ha⁻¹ houve aumento de 32 % na massa seca da cebolinha, em comparação a cebolinha não fertilizada com N-verde ou farelo de mamona.

Apesar do aumento na biomassa seca ser proporcional a dose de N aplicada independentemente da fonte fertilizante aplicada (N-verde ou farelo de mamona), houve tendência contrária na concentração de N para a cebolinha fertilizada com o farelo de mamona, conforme verificado na figura 4, com redução na concentração, ainda que não proporcional à dose aplicada. Esta tendência pode ser explicada pela diluição do N, devido a um crescimento da planta mais rápido do que a acumulação do nutriente (JARREL & BERVERLY, 1981).

Foi verificada também a quantidade de N acumulada após as três colheitas da parte aérea da cebolinha, sendo esta determinada pela concentração de N na parte aérea x a biomassa seca.

Não houve efeito significativo ($p \leq 0,05$) da interação dose x fertilizante para a massa seca total, média do acúmulo de N e média do teor de N durante o ciclo da cebolinha, sendo verificado somente para a dose de N fertilizante aplicada (Figura 6).

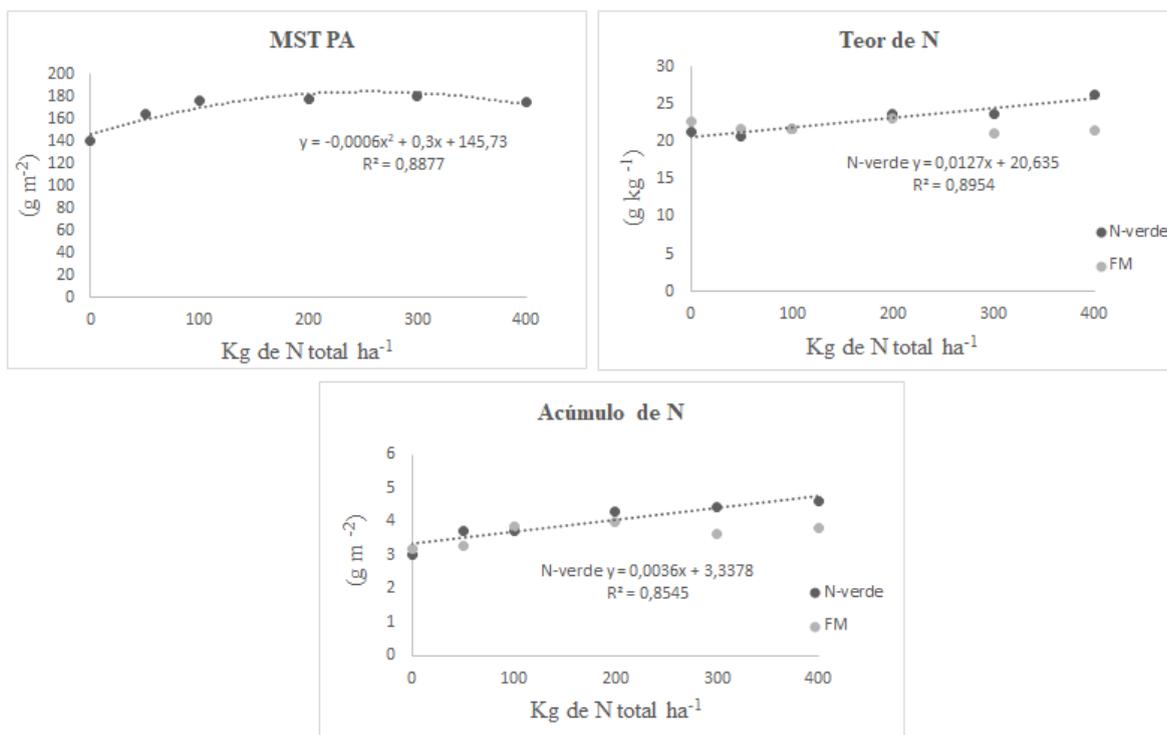


Figura 6. Biomassa seca, teor e acúmulo de N durante o ciclo da cebolinha, submetidas ao manejo orgânico de produção, nas condições climáticas da Baixada Fluminense, em função de doses de N total aplicado a partir de fontes de fertilizantes vegetais (N-verde e farelo de mamona). A) Biomassa seca após as três colheitas da parte aérea da cebolinha. B) Média teor de N após as três colheitas da parte aérea da cebolinha. C) Média acúmulo de N após as três colheitas da parte aérea da cebolinha.

A partir do somatório das três colheitas da parte aérea da cebolinha foi possível verificar que a dose de 250 kg de N total por hectare dos fertilizantes vegetais, possibilitou maior produtividade de massa seca, com $183,23\ g\ m^{-2}$, enquanto o teor de e acúmulo de N tiveram aumento linear com a dose aplicada de N-verde, o que denota que a disponibilidade de N não foi fator determinante após esta dose para a produtividade da cebolinha.

Aumento da concentração de N e do N acumulado são respostas esperadas devido a mineralização do N fertilizante no solo, que torna o N nutriente disponível às plantas, permitindo sua absorção pelas plantas, bem como sua translocação e acumulação nos tecidos.

Porém, não foi possível verificar a mesma tendência para a cebolinha fertilizada com farelo de mamona, em que houve tendência de redução da concentração de N e N acumulado a partir da dose de 200 kg de N total por hectare, também houve redução na produtividade de massa seca, o que denota uma faixa ou nível crítico, em que abaixo desta a produção é reduzida e acima desta não haja eficiência econômica.

Araújo et al. (2016), cultivando cebolinha sobre diferentes concentrações de N em hidroponia, verificaram que elevada concentração promove crescimento vegetativo excessivo, com aumento da flacidez das folhas e seu tombamento, no presente trabalho não foi evidenciado este fato a campo, mas acredita-se que possa ter ocorrido para as plantas fertilizadas com o farelo de mamona, justificando a diluição de N.

Foi verificado também o teor de ^{15}N em excesso na parte aérea da cebolinha e a eficiência de recuperação do N derivado do fertilizante N-verde, para as parcelas fertilizadas com N-verde na dose de 200 kg de N total por hectare (Tabela 5).

Tabela 5. Teor de ^{15}N em excesso na parte aérea da cebolinha, eficiência de recuperação do N derivado do fertilizante N-verde pela cebolinha, N acumulado na cebolinha e N na cebolinha derivado do N-verde, nas condições climáticas da Baixada Fluminense e manejo orgânico de produção.

	55 DAT	89 DAT	123 DAT
N acumulado (kg ha^{-1})	12,75	11,98	17,70
N cebolinha NV (kg ha^{-1})	4,71	3,35	5,24
^{15}N excesso (%)	0,48	0,35	0,28
ER (%)	2,36	1,67	2,61

De forma semelhante Santos (2017) verificou média de 0,301% de ^{15}N em excesso na raiz e parte aérea da alface cultivada com N-verde granulada (protótipo 1), sendo a biomassa marcada com 3% de ^{15}N em excesso, em um ensaio de campo com 100 kg de N ha^{-1} aplicado no plantio, porém o autor observou diferença estatística na porcentagem de ^{15}N em excesso de acordo com o modo de aplicação do fertilizante, sendo a maior média igual a 0,477% ao aplicar 100 kg do fertilizante no plantio mais 100 kg em cobertura.

A eficiência de recuperação verificada por Santos (2017) foi de 12,61% para a fertilização com N-verde (protótipo 1) na dose de 100 kg de N ha^{-1} aplicado no plantio, de

10,02% ao aplicar 100 kg no plantio mais 100 kg em cobertura do mesmo fertilizante e de 6,68% ao aplicar o fertilizante somente em cobertura, não havendo diferença estatística entre os tratamentos.

A eficiência de recuperação do N derivado do fertilizante N-verde pela cebolinha foi de 6,64% durante o ciclo de 123 DAT com três colheitas, portanto inferior ao verificado por Santos (2017). Não foi encontrado na literatura trabalhos comparando fertilizantes granulados e peletizados, em especial na sua taxa de decomposição, a fim de verificar se existe efeito direto na disponibilização dos nutrientes.

Bradshaw & Hagen (2022) avaliaram a fertilização com péletes de lã de ovelha em comparação a outro fertilizante comercial também peletizado no cultivo de hortaliças, evidenciando que o fertilizante produzido é tão eficiente quanto o comercial, relacionando este com a adubação de lã pura, se mostrou tão eficiente quanto na produção de alimentos.

De acordo com Araújo et al. (2011), a eficiência de recuperação do N do fertilizante pela cultura pode estar associada com a relação C:N do material, pois a partir do cultivo de repolho com adubos verdes, os autores verificaram 9% de eficiência de recuperação quando aplicada palhada de mucuna, com relação C:N de 14 e de 16% ao aplicar palhada de feijão-de-porco, com relação C:N 17. Os autores concluíram que a relação C:N mais baixa pode ter contribuído para mineralização mais rápida de N, causando uma falta de sincronia entre a liberação do nutriente e a necessidade de uso pela cultura.

No presente trabalho a relação C:N do N-verde foi de aproximadamente 14, portanto, semelhante ao relatado por Araújo et al. (2011) para a mucuna, porém a recuperação do nitrogênio derivado do N-verde no sistema solo-planta do presente trabalho foi de 30,81%, ou seja, muito inferior aos 60% verificado por Araújo et al. (2011), sendo que os autores relataram que 50% estava nos resíduos da mucuna e no solo, com 10% no repolho, enquanto no presente trabalho 6,64% estava na cebolinha e 24,13% na parcela superficial de solo, coletado após 123 dias de cultivo da cebolinha.

Desse modo, acredita-se que a rápida liberação de N do N-verde, pode não ter permitido a total sincronia entre a necessidade de N pela cebolinha durante o ciclo, além disso as condições climáticas e características do solo podem ter contribuído para a lixiviação de N para as camadas inferiores aos 15 cm mensurados, contribuindo também para a baixa recuperação de N pelo N-verde peletizado.

Li et al. (2023) observaram durante dois anos de experimento de campo com milho em solos de diferentes texturas, que a recuperação de N pela cultura e o N residual foi menor

nos solos com textura arenosa, com perdas de N por lixiviação de nitrato para as camadas profundas, ocasionadas principalmente pela alta precipitação durante o cultivo.

De acordo com Moreira et al. (2011), sob condições de alta lixiviação é essencial sincronizar a dose de N com a demanda da planta em tempo real, através de aplicações periódicas do adubo nitrogenado, com parte antes do plantio e o restante aplicado de acordo com a necessidade da cultura.

Para a cultura da cebolinha, Filgueira (2008) recomendou que a adubação de plantio seja de 30 kg de N ha⁻¹ e que seja complementada com 100 kg de N ha⁻¹ em cobertura, parcelada em três vezes a cada 15 dias após o transplantio. Como no presente trabalho o objetivo foi avaliar o efeito residual do fertilizante N-verde aplicado antes do plantio, não é possível avaliar se o parcelamento possibilitaria melhor sincronia do N do N-verde pela cebolinha.

Com relação a perda de N por volatilização da amônia apesar não ter sido analisada acredita-se que tenha sido baixa, pois a adubação foi incorporada na camada superficial do solo, Rocha et al. (2019) conseguiram reduzir em até 80% a perda de N por volatilização em adubos orgânicos quando estes foram incorporados ao solo, ao invés de ser aplicado em superfície, além disso os autores constataram que mesmo ao aplicar em superfície fertilizantes de leguminosas esses apresentavam baixa volatilização da amônia, sendo duas vezes inferior à encontrada para o farelo de mamona.

3.3.3 Produtividade e eficiência agronômica

Um dos parâmetros de extrema importância no cultivo de hortaliças folhosas, como a cebolinha, é a produção de biomassa fresca da parte aérea. No presente trabalho, verificou-se que não houve interação significativa ($p \leq 0,05$) fertilizante x dose para a biomassa fresca, assim como não houve diferença entre as fontes fertilizantes (N-verde e farelo de mamona), mas houve efeito significativo das doses de N aplicada independentemente da fonte de fertilização, por ocasião das três colheitas aos 55, 89 e 123 DAT (Figura 7).

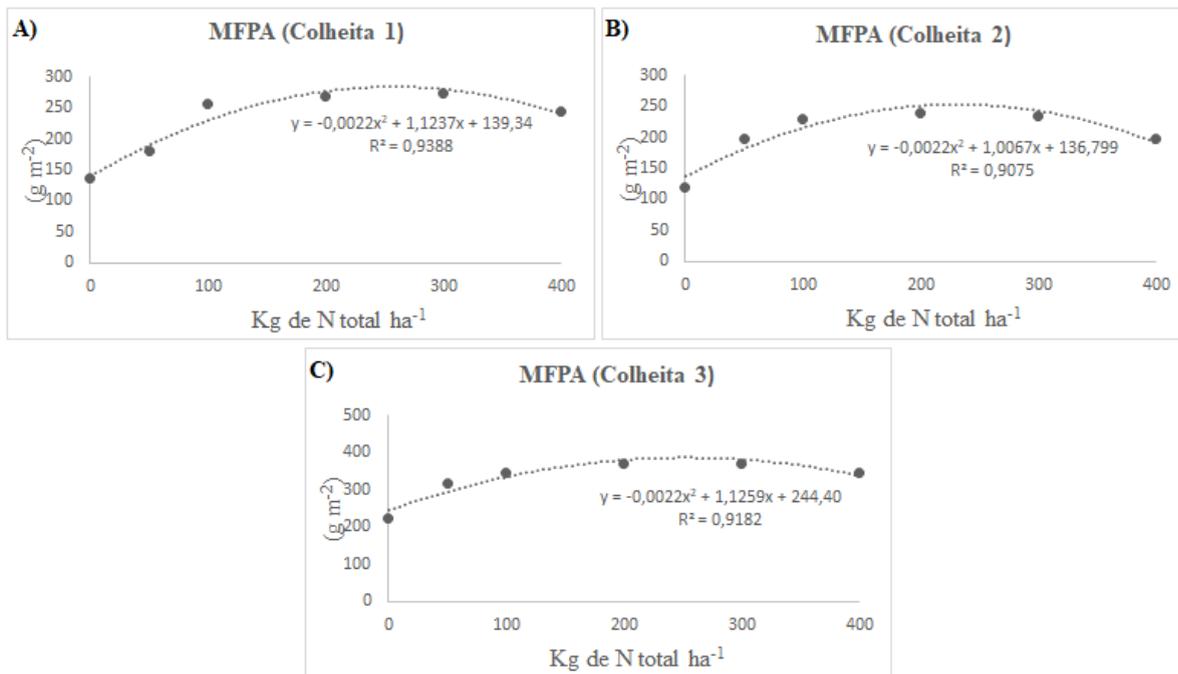


Figura 7. Produtividade de massa fresca da parte aérea de plantas de cebolinha, em diferentes épocas de colheita, submetidas ao manejo orgânico de produção, nas condições climáticas da Baixada Fluminense, em função de doses de N total aplicado a partir de fontes de fertilizantes vegetais (N-verde e farelo de mamona). A) colheita da parte aérea aos 55 DAT; B) colheita da parte aérea aos 89 DAT; C) colheita da parte aérea aos 123 DAT.

Verificou-se que os dados de biomassa fresca da cebolinha melhor se ajustaram ao modelo quadrático da análise de regressão, o que denota resposta positiva da cebolinha a fertilização com N-verde e farelo de mamona, sendo a dose de 256 kg de N ha⁻¹ a que proporcionou maior produtividade da massa fresca para a primeira e terceira colheita das folhas da cebolinha, com 283 g m² e 389 g m², respectivamente, enquanto para a segunda colheita alcançou-se produtividade massa de 252 g m² na dose de 229 kg de N ha⁻¹. A maior produtividade de matéria fresca na colheita final, aos 123 DAT, deve-se a inserção do pseudocaule, que nesta foi colhido junto com as folhas.

Adequação das variáveis de crescimento da cebolinha ao modelo quadrático também foi observado por Cardoso & Berni (2012), ao colher cebolinha 58 dias após o transplante, sendo a dose de 14,54 kg de N ha⁻¹ fornecida pelo sulfato de amônio em cobertura (10, 25 e 45 DAT) a que proporcionou maior número de folhas e massa seca, observaram ainda que para as doses maiores essas variáveis decresceram, porém os autores ressaltam que a dose aplicada em cobertura foi a metade da recomendada por Filgueira (2008), mas exaltam que as

maiores doses aumentaram a severidade de *Rhizoctonia solani* reduzindo assim a produção da cebolinha.

Martins et al (2021) avaliaram o efeito de doses de composto orgânico em cobertura na cultura da cebolinha, observando aumento linear nas variáveis de crescimento e produção com o aumento da dose, sendo que a maior dose 105 Mg ha⁻¹ equivale a cerca de 529,2 kg de N ha⁻¹, o que de acordo com os autores seria uma dose muito alta para a cultura, mas que tornou-se a mais vantajosa pelo fato de a adubação orgânica ter liberação mais lenta dos nutrientes e a aplicação foi realizada na superfície do solo, o que torna a mineralização ainda mais lenta.

Em relação às médias de massa fresca da parte aérea da cebolinha, obtidas com os fertilizantes N-verde e farelo de mamona (Tabela 6) verifica-se que após a primeira colheita foram superiores ao encontrado por Heredia Zárata et al. (2006), para a cebolinha colhida aos 81 dias após o transplântio, que foram de 1,66 Mg ha⁻¹ e 0,33 Mg ha⁻¹ com e sem cobertura com cama de frango, respectivamente. Já para a segunda e terceira colheita os autores encontraram médias superiores no cultivo da cebolinha com cobertura, enquanto para o cultivo sem cobertura as médias seguem inferiores às encontradas no presente trabalho.

Tabela 6. Produtividade média de massa fresca da parte aérea da cebolinha, submetidas ao manejo orgânico de produção, nas condições climáticas da Baixada Fluminense, em função de doses de N total aplicado a partir de fontes de fertilizantes vegetais (N-verde e farelo de mamona) em comparação ao controle (ausência de fertilização nitrogenada), após cada uma das três colheitas realizadas durante seu ciclo de cultivo.

Colheita (DAT) ¹	Fertilizante	MFPA (Mg ha ⁻¹)
55	Controle	1,36
55	N-verde	2,44 a ²
55	Farelo de mamona	2,44 a
89	Controle	1,20
89	N-verde	2,31 a
89	Farelo de mamona	2,08 a
123	Controle	2,25
123	N-verde	3,76 a
123	Farelo de mamona	3,23 a

¹ Colheitas da parte aérea realizadas aos: 1- 55 DAT; 2- 89 DAT; 3- 123 DAT.

² Médias seguidas de letras iguais dentro de cada coluna não diferem entre si pelo teste F no nível de significância de 5%.

De acordo com Heredia Zárata et al. (2006), o aumento na massa fresca da cebolinha no segundo corte pode ocorrer devido a rebrota ser mais rápida, pois as plantas não necessitam mais de gastar energia com a formação de raízes, facilitando assim a rebrota, os autores relacionam ainda com o intervalo de corte que foi de 58 dias entre a primeira e segunda colheita. No presente trabalho não foi verificado aumento na massa fresca na segunda colheita das folhas da cebolinha, sendo o intervalo de corte de 34 dias, Martins et al. (2021) também não observaram diferença na massa fresca da cebolinha colhida aos 60 DAT e aos 90 DAT em um cultivo com diferentes doses de composto orgânico em cobertura.

Para a produtividade total de parte aérea da cebolinha (somatório das três colheitas), também houve significância ($p \leq 0,05$) e melhor ajuste dos dados ao modelo quadrático da análise de regressão (Figura 8).

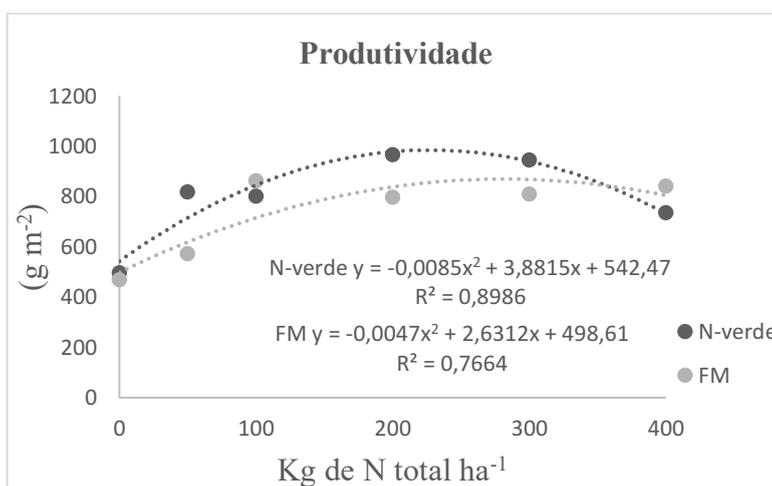


Figura 8. Produtividade total da cebolinha, submetidas ao manejo orgânico de produção, nas condições climáticas da Baixada Fluminense, em função de doses de N total aplicado a partir de fontes de fertilizantes vegetais (N-verde e farelo de mamona), durante o seu ciclo com três colheitas da parte aérea (55, 89 e 123 DAT).

Verificou-se maior produtividade da cebolinha fertilizada com $228\ kg\ de\ N\ total\ ha^{-1}$, contido no N-verde em que foram obtidos $986\ g\ m^2$, enquanto para a cebolinha fertilizada com farelo de mamona a produtividade máxima alcançada foi de $867\ g\ m^2$ com $280\ kg\ de\ N\ total\ ha^{-1}$. Todavia, tendo em vista que a concentração de N no farelo de mamona é maior do que o N-verde, para se alcançar máxima produtividade para a cebolinha deve-se aplicar $400\ g\ m^2$ de farelo de mamona e $930\ g\ m^2$ de N-verde, ou seja, mais que o dobro em quantidade de fertilizante.

Além disso, a aplicação com as fontes de fertilizantes permitiu aumentar em 99% a produtividade da cebolinha, pois as parcelas que não receberam a adubação com N-verde tiveram produtividade equivalente a 4,94 Mg ha⁻¹ enquanto as que receberam foi de 9,86 Mg ha⁻¹, enquanto aquelas que não receberam farelo de mamona a produtividade foi proporcional a 4,67 Mg ha⁻¹ e as que receberam foi de 8,67 Mg ha⁻¹, portanto, aumento de 85%.

Desse modo, a produtividade para a cebolinha cv. Todo Ano neste presente trabalho foi próxima à verificada por Heredia Zárate et al (2010) quando cultivada com “cama” de aviário semidecomposta em cobertura que foi de 10,60 Mg ha⁻¹ para as três colheitas durante o ciclo.

3.4 CONCLUSÕES

O fertilizante N-verde protótipo N° 2 é tão eficiente quanto o farelo de mamona para aumentar a produtividade da cebolinha em sistema orgânico de produção.

Com a dose de 228 kg N ha⁻¹ do N-verde, foi possível aumentar 99% da produtividade, enquanto que a dose de 280 kg de N total contido no farelo de mamona, possibilitou aumento de 85% na produtividade, em comparação a ausência de fertilização com fonte nitrogenada.

O fertilizante N-verde possui eficiência de recuperação de N próxima a 6%, o que denota a necessidade de investimento em novas pesquisas a fim de aumentar sua eficiência relativa.

4 CAPÍTULO II

AVALIAÇÃO DA BIOMASSA DE GLIRICÍDIA INCUBADA E INOCULADA COM MICROORGANISMOS DECOMPOSITORES

RESUMO

O presente trabalho tem como objetivo avaliar a eficiência da biomassa de folhas e ramos de gliricídia na disponibilização de N, buscando aumentá-la pela inoculação de microrganismos decompositores. Para o primeiro ensaio experimental a biomassa foi coletada por máquina colhedora em um banco de gliricídia, manejado mecanicamente em campo experimental da Embrapa Agrobiologia. Toda a biomassa foi seca e finamente moída, para compor os tratamentos, em que parte do material foi esterilizado por irradiação. Paralelamente foram produzidos os inoculantes de leveduras com as linhagens XMD, LA22, LF22, em condições de laboratório. Utilizou-se delineamento em blocos casualizados, com arranjo fatorial (2x7), sendo as fontes ausência e presença da esterilização da biomassa e inoculação com a) leveduras XMD, b) leveduras LA22, c) leveduras LF22, d) leveduras LA22+LF22+XMD, e) produto comercial Embiotic®, e os controles abióticos contendo f) somente água destilada e g) meio inoculante. Todo o material foi compactado em vidros e armazenado em sala de incubação, por período de 21 dias. Após esse período foram avaliados pH, condutividade elétrica, macronutrientes totais, relação C:N, emissão potencial de CO₂ e NH₃ e a sobrevivência dos microrganismos inoculados. Um bioensaio em casa de vegetação foi realizado utilizando a aveia preta como planta indicadora, crescida em vasos com coletor de lixiviado, preenchidos com areia lavada, adotou-se o mesmo delineamento DBC em arranjo fatorial (2x7+3), sendo adicionados três tratamentos controles (ausência de adubação, farelo de mamona e biomassa de gliricídia não inoculada e nem incubada). As avaliações consistiram em quantificação da produção de massa seca e a concentração de N na parte aérea e raiz das plantas, estimando-se a quantidade total de N recuperado. A fim de verificar o efeito da inoculação seguida de incubação, foi realizado um segundo experimento em casa de vegetação, sendo utilizada biomassa de gliricídia marcada com ¹⁵N (caule e folha, 1:1) e doses de N. O delineamento adotado foi DBC em arranjo fatorial (6x5), sendo as fontes inoculação com LF22 e XMD isoladamente e em mistura, somente meio inoculante, ausência de inoculação e incubação, farelo de mamona e as cinco doses de N total contido nas fontes (0, 100, 200, 300 e 400 kg ha⁻¹). A planta indicadora foi o milho semeado em vasos com 5,5 kg de solo (Planossolo). As avaliações consistiram na produtividade de massa fresca e seca da parte aérea e raiz, concentração de N, N acumulado e calculada a eficiência de recuperação do N a partir do teor de ¹⁵N na parte aérea. Todos os tratamentos incubados apresentaram boa aparência e odor agradável após 21 dias, porém, para os tratamentos incubados sob condições estéreis com a linhagem XMD, houve aumento do pH que pode ter levado a maior emissão de NH₃, resultando em menor produtividade e menor recuperação de N pela aveia preta fertilizada com XMD isolada e em mistura, para os demais tratamentos não houve diferença. Desse modo, para os demais tratamentos foi possível aumentar em até 150% a produtividade da aveia preta, em comparação a ausência de adubação. Para o segundo experimento houve efeito fertilizante x dose, tendo maior produção de massa seca da parte aérea com aproximadamente 300 kg de N total por hectare, contidos no farelo de mamona. Ambos fertilizantes proporcionaram ganhos aproximados de 100% na produtividade, em comparação a ausência de N. Não houve diferença na recuperação de ¹⁵N pelo milho fertilizado com somente biomassa de folhas e ramos de gliricídia ou inoculado com as leveduras. Contudo, conclui-se que a biomassa de folhas e ramos de gliricídia proporciona ganhos de produtividade para a aveia preta e milho, tendo grande potencial como fertilizante. No entanto, a inoculação com leveduras, não aumentou sua eficiência nas condições estudadas.

Palavras-chave: *Gliricidia sepium*; inoculação leveduras; incubação; disponibilização de N.

ABSTRACT

The present work aims to evaluate the efficiency of the biomass of leaves and branches of *Gliricidia* in the availability of N, seeking to increase it through the inoculation of decomposers microorganisms. For the first experimental test, biomass was collected by a harvester machine from a *Gliricidia* bank, mechanically managed in an experimental field at Embrapa Agrobiologia. All biomass was dried and finely ground to compose the treatments, in which part of the material was sterilized by irradiation. In parallel, yeast inoculants with strains XMD, LA22, LF22 were produced under laboratory conditions. A randomized block design was used, with a factorial arrangement (2x7), the sources being absence and presence of biomass sterilization and inoculation with a) XMD yeasts, b) LA22 yeasts, c) LF22 yeasts, d) yeasts LA22+LF22+XMD, e) commercial product Embiotic®, and the abiotic controls containing f) only distilled water and g) inoculant medium. All material was compacted in glasses and stored in an incubation room for a period of 21 days. After this period, pH, electrical conductivity, total macronutrients, C:N ratio, potential emission of CO₂ and NH₃ and the survival of inoculated microorganisms were evaluated. A bioassay in a greenhouse was carried out using black oats as an indicator plant, grown in vases with a leachate collector, filled with washed sand, the same DBC design was adopted in a factorial arrangement (2x7+3), with three control treatments being added (absence of fertilization, castor bean meal and non-inoculated or incubated 'gliricidia biomass'). The evaluations will consist of quantification production of the dry mass in the aerial part and roots, the concentration of N of the plants, accumulated N and calculated N recovery efficiency from the ¹⁵N content in the shoot. In order to verify the effect of inoculation followed by incubation, a second experiment was carried out in a greenhouse, using biomass of *gliricidia* marked with ¹⁵N (stem and leaf, 1:1) and doses of N. The design adopted was DBC in factorial arrangement (6x5), being the sources inoculation with LF22 and XMD alone and in mixture, only inoculating medium, absence of inoculation and incubation, castor bean meal and five doses of total N contained in the sources (0, 100, 200, 300 and 400 kg ha⁻¹). The indicator plant was millet sown in pots with 5.5 kg of soil (Planossolo). The evaluations will consist of the productivity of fresh and dry mass of shoots and roots, N concentration, N accumulated and calculated N recovery efficiency from the ¹⁵N content in the shoot. All incubated treatments presented good appearance and pleasant odor after 21 days, however, for treatments incubated under sterile conditions with the XMD strain, there was an increase in pH that may have led to greater NH₃ emission, resulting in lower productivity and lower recovery of N by black oat fertilized with XMD alone and in mixture, for the other treatments there was no difference. Thus, for the other treatments it was possible to increase black oat productivity by up to 150%, compared to the absence of fertilization. For the second experiment there was a fertilizer x dose effect, with greater dry mass production of the aerial part with approximately 300 kg of total N per hectare, contained in castor bean meal. Both fertilizers provided approximately 100% gains in productivity, compared to the absence of N. There was no difference in the recovery of ¹⁵N by millet fertilized with only biomass of leaves and branches of *gliricidia* or inoculated with yeast. However, it is concluded that the biomass of *gliricidia* leaves and branches provides productivity gains for black oats and millet, having great potential as a fertilizer. However, inoculation with yeast did not increase its efficiency under the conditions studied.

Keywords: *Gliricidia sepium*; yeast inoculation; incubation; availability of N.

4.1 INTRODUÇÃO

Diante das vantagens do cultivo da gliricídia (*Gliricidia sepium*), como a tolerância a solos ácidos e pobres, a sua alta capacidade de produzir biomassa em condições de baixa disponibilidade hídrica, tolerar vários cortes ao longo do ano e ainda ser capaz de concentrar relativamente mais nutrientes que outras leguminosas (EIRAS & COELHO, 2010, MARIN et al., 2006), outros estudos estão sendo realizados a fim ainda de evidenciar a sua eficiência na adubação (ABOYEJI et al., 2021; FREITAS et al., 2011; KEYA et al., 2020).

A fertilização de hortaliças com fertilizantes confeccionados a partir das folhas da gliricídia demonstrou efeito semelhante ao da “cama” de aviário (ALMEIDA et al., 2008) e ao farelo de mamona (SANTOS, 2017). Porém, a eficiência de recuperação do N para os protótipos do N-verde se mostrou relativamente baixa, conforme evidenciado por Santos (2017) e no presente trabalho (capítulo 1).

Segundo Vieira (2017), os microrganismos são os agentes primários do processo de mineralização de N orgânico para as formas inorgânicas, e os fatores que favorecem essa mineralização estão em sua maioria associados às atividades dos microrganismos, podendo ser afetada pela temperatura, umidade, O₂ e pH.

Os microrganismos atuam por diferentes mecanismos favorecendo o crescimento de plantas, como pelo aumento na disponibilização de nutrientes no solo, pela mineralização de N, conforme relatado por Rezende et al. (2004), ao misturar levedura de destilaria ao solo, ou pela solubilização de fósforo por *Rhizobium* sp (TORRES et al., 2021) e por *Bacillus megaterium* (SILVA et al., 2021), como também pela mineralização do fósforo orgânico por *Hebaspirillum* sp. (TORRES et al., 2021), ou ainda pela solubilização do pó de rocha e liberação do potássio por *Torulaspora globosa* (ROSA-MAGRI et al., 2012), como também pela aplicação de consórcios microbianos, como por exemplo, com bactérias rizosféricas e endofíticas que aumentaram a eficiência de aproveitamento do fósforo (EMAMI et al., 2020).

De acordo com Wainwright (1995) *apud* Feddern (2007), a atividade metabólica dos microrganismos em processos fermentativos pode ainda transformar matérias-primas em nutrientes.

As leveduras utilizadas no presente trabalho foram cedidas pelo Centro de Recursos Biológicos Johanna Döbereiner (CRB-JD) da Embrapa Agrobiologia. De acordo com Andrade (2020), as espécies possuem ação antagonista a alguns fungos fitopatogênicos, solubilização de fosfato inorgânico e de óxido de zinco e capacidade para produzir AIA. Além disso, as espécies, pertencentes ao gênero *Torulaspora*, foram capazes de fermentar e

assimilar a glicose, mas não fermentam a xilose e a maltose, pela metodologia utilizada. Enquanto a outra levedura utilizada no presente trabalho, pertencente ao gênero *Spathaspora*, é capaz de fermentar e assimilar a glicose, além de outras fontes de carbono, como a galactose e a maltose (CADETE et al., 2012).

De um modo geral, as leveduras podem contribuir nos processos fermentativos e nas diferentes fases da decomposição vegetal, de modo passivo usando os produtos liberados durante a decomposição realizada por outros microrganismos ou de modo ativo em que a partir da produção de enzimas hidrolíticas, irão atuar sobre a celulose, hemicelulose, xilose e pectina (CADETE et al., 2017).

Sabemos que a disponibilização do N presente no material vegetal depende da relação C:N, bem como dos seus teores de lignina, celulose, hemicelulose e polifenóis (JAMA et al., 2023). Sendo que a quantidade de C e N solúveis em água do material, pode facilitar a decomposição inicial pelos microrganismos (AITA & GIACOMINI).

Desse modo, o presente trabalho tem como objetivo avaliar o efeito na disponibilização de N da inoculação com leveduras, por ocasião da incubação da biomassa moída de ramos e folhas de *Gliricidia sepium*.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Preparo dos inoculantes

Os inoculantes de leveduras foram produzidos a partir de colônias das linhagens (XMD, LA22, LF22) pertencentes ao Centro de Recursos Biológicos (CRB-JD) da Embrapa Agrobiologia.

A linhagem XMD refere-se a espécie *Spathaspora suhii*, isolada de madeira em decomposição de uma Reserva Ecológica São João da Baliza, cedida pela UFMG ao CRB-JD. As linhagens LA22 e LF22 foram isoladas e classificadas por Andrade (2020), sendo isoladas respectivamente da rizosfera de arroz e feijão cultivados em campo experimental da Embrapa Agrobiologia e classificadas como *Torulaspota indica*.

As leveduras foram recebidas em meio de cultura GYMP e óleo mineral e repicadas para placas de Petri com meio de cultura YM sólido, armazenadas para crescimento em estufa tipo BOD a 30 °C por um período aproximado de 48 horas.

Após o período de crescimento, com o auxílio de uma alça de platina as colônias foram transferidas inicialmente para tubos de ensaio com meio de cultura YM líquido, incubados

com agitação orbital a 120 rpm por um período de 24 horas, para então ser transferido para Erlenmeyer contendo meio de cultura YM líquido e incubado novamente nas condições anteriormente citadas, produzindo volume 10 vezes maior e após repetido todo processo para aumento do volume em mais 10 vezes.

Todo o crescimento foi monitorado através da leitura da densidade óptica (DO) do caldo em espectrofotômetro a 600 nm sendo as leituras próximas de 2,0. Ao finalizar a terceira etapa o caldo inoculante é misturado ao veículo estabilizador GX, na proporção 1:1 (v:v).

Os ingredientes contidos nos meios de cultura GYMP e YM estão inseridos no anexo A e os ingredientes do GX estão sob segredo industrial.

Após 24 horas foi realizado o controle de qualidade de cada inoculante, de acordo com a IN N° 30/2010, determinando a quantidade em unidade formadora de colônia por mL, assim verificou-se que o inoculante com XMD possui média de $1,77 \times 10^8$ UFC mL⁻¹, o inoculante com LA22 com $6,52 \times 10^7$ UFC mL⁻¹, o inoculante com LF22 com $5,44 \times 10^7$ UFC mL⁻¹ e o inoculante contendo a mistura das três XMD+LA22+LF22 com $1,26 \times 10^8$ UFC mL⁻¹.

Todas as etapas foram realizadas sob condições totalmente estéreis utilizando para isso as dependências e equipamentos do Centro de Recursos Biológicos (CRB-JD) da Embrapa Agrobiologia.

Foi utilizado também como inoculante o produto comercial Embiotic®, que segundo o fabricante, contém *Lactobacillus plantarum* 10^4 UFC mL⁻¹ e *Saccharomyces cerevisiae* 10^3 UFC mL⁻¹. Antes de ser utilizado, o produto passa por um processo de ativação onde em um recipiente adiciona-se 50 mL de Embiotic®, 50 g de açúcar mascavo e água destilada até completar volume de 500 mL, a solução permanece tampada por um período de 7 dias, antes da sua utilização é diluída na concentração de 1%.

O inoculante com produto comercial Embiotic foi produzido sob condições estéreis e não estéreis, sendo inicialmente sob condições estéreis em que o produto foi aberto em fluxo laminar, utilizando água destilada e vidrarias estéreis.

4.2.2 Preparo da biomassa inoculada

Primeiramente foi coletada biomassa da *Gliricidia seppium* do banco de gliricídia, localizado em área experimental da Embrapa Agrobiologia, conhecida como Terraço, sendo utilizado máquina colhedora do tipo Tarupe acoplada em trator, colhendo assim toda a parte aérea da planta que está acima de 0,30 m do solo.

A coleta da biomassa de gliricídia deste banco é realizada com a Tarupe a cada 3-4 meses, levando a produção de ramos finos, com diâmetro até 1 cm.

Todo o material colhido (ramos e folhas) foi seco em estufa de circulação forçada a 65°C até atingir massa constante e então moído em moinho tipo Willey, equipado com peneira de malha de 2 mm de diâmetro.

Foram retiradas amostras para análise de N total e C total pelo analisador elementar modelo VARIO MACRO CUBE, cujo funcionamento se baseia no método Dumas, realizada no laboratório de Ciclagem de Nutrientes e os demais macronutrientes totais analisados no laboratório de Química Agrícola, pela metodologia de Nogueira & Souza (2005), ambos laboratórios localizados na Embrapa Agrobiologia

Para avaliar o efeito dos microrganismos, de forma isolada, parte deste material foi submetido a esterilização pelo Irradiador Multipropósito de Cobalto-60 do CETER/IPEN na dose de 25 kgy.

A biomassa processada da gliricídia foi misturada aos inoculantes, na proporção 1:1 (m/v), sendo esta proporção determinada através de testes preliminares. Este material foi então acondicionado e compactado com pistilo em recipientes de vidro de 268 mL, sendo hermeticamente fechado e mantido ao abrigo da luz, em sala de incubação com temperatura entre 27 e 30 °C por um período de 21 dias.

A ausência de inoculação foi avaliada por dois controles, sendo em um adicionado somente água destilada e em outro somente o meio inoculante (YM + GX).

Todo o preparo foi realizado sob duas condições, sendo uma totalmente estéril utilizando a biomassa irradiada e todos os inoculantes, vidrarias e equipamentos estéreis nas instalações do Centro de Recursos Biológicos (CRB-JD) e outra não estéril, sendo os materiais utilizados não esterilizados e realizado no laboratório de Agricultura Orgânica, ambos pertencente a Embrapa Agrobiologia.

4.2.3 Análise biomassa inoculada

Todas as análises foram realizadas nas dependências da Embrapa Agrobiologia.

Antes e após a inoculação seguida de incubação por 21 dias foram retiradas amostras para análises de pH em pHmetro de bancada e condutividade elétrica em condutímetro de bancada, realizadas no laboratório de Agricultura Orgânica.

Foram realizadas também as análises de macronutrientes (P, K, Ca e Mg) totais e solúveis pela metodologia de Nogueira & Souza (2005), sendo os macronutrientes totais avaliados após digestão da amostra e os macronutrientes solúveis após a extração, ambas realizadas pelo laboratório de Química Agrícola.

As análises de N total e C total foram realizadas no laboratório de Ciclagem de Nutrientes, pelo analisador elementar modelo VARIO MACRO CUBE.

O teor de macronutrientes totais e solúveis dos materiais foram analisados antes da incubação pelas metodologias citadas (Tabelas 7 e 8).

Tabela 7. Teor de macronutrientes totais e P, K, Ca e Mg solúveis da biomassa de gliricídia e do farelo de mamona utilizados nos ensaios experimentais.

Material	Macronutrientes totais				Macronutrientes solúveis			
	P total (g kg ⁻¹)	K total (g kg ⁻¹)	Ca total (g kg ⁻¹)	Mg total (g kg ⁻¹)	P total (g kg ⁻¹)	K total (g kg ⁻¹)	Ca total (g kg ⁻¹)	Mg total (g kg ⁻¹)
Biomassa gliricídia	1,86	11,92	4,74	4,56	973,50	8840,67	12,52	12,96
Farelo de mamona	3,02	11,17	7,76	3,80	1442,20	8859,60	12,38	20,27

Tabela 8. Teor de N total, C total e a relação C:N da biomassa de gliricídia e do farelo de mamona utilizados nos ensaios experimentais.

Material	N total (g kg ⁻¹)	C total (g kg ⁻¹)	Relação C:N
Biomassa gliricídia	23,81	422,85	17,76
Farelo de mamona	72,23	384,82	5,17

O delineamento experimental adotado foi de blocos casualizados, com os tratamentos dispostos em arranjo fatorial (2x7) e 3 repetições, onde o primeiro fator corresponde a presença e ausência da esterilização da biomassa de gliricídia pelo Irradiador Multipropósito de Cobalto-60 do CETER/IPEN na dose de 25 kgy e dos vidros e demais materiais pela autoclavagem a 120 °C por 30 minutos, o segundo corresponde a inoculação com: a) levedura linhagem XMD, b) levedura linhagem LA22, c) levedura linhagem LF22, d) mistura das três linhagens (XMD, LA22 e LF22) na proporção 1:1:1 (v), e) inoculação com *Lactobacillus plantarum* e *Saccharomyces cerevisiae* pelo produto comercial Embiotic®, e os controles, sem inoculação microbiana, onde em um foi adicionada f) água destilada e em outro g) meio inoculante (YM e GX).

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), avaliando a interação entre os fatores pelo desdobramento das fontes inoculação dentro de esterilização,

aplicando o teste de Scott-Knott a 5% de significância, sendo utilizado o programa estatístico SISVAR versão 5.8 (FERREIRA, 2003).

4.2.4 Avaliação conjunta das emissões potenciais de CO₂ e NH₃

Após o período de 21 dias de incubação, foi realizado um ensaio experimental no Laboratório de Agricultura Orgânica da Embrapa Agrobiologia para avaliar a emissão potencial e conjunta de CO₂ e NH₃ dos materiais incubados, conforme delineamento proposto no item anterior (4.2.3) e as metodologias descritas por Oliveira et al. (2014) com adaptações realizadas por Leal (2020).

Desse modo, após o período de 21 dias de incubação, foram retiradas amostras representativas de cada tratamento e congeladas para a realização da análise em um outro momento. As amostras foram descongeladas no dia da análise, pesadas e umedecidas até 70-85% da máxima capacidade de retenção de água, deixadas em temperatura ambiente por período de 24 horas.

A unidade experimental foi composta por cada pote plástico com capacidade de 1L, contendo 5 g da amostra umedecida de cada tratamento e os recipientes plásticos contendo as soluções de captura, sendo 30 mL de NaOH 1,0 Mol L⁻¹ para captura de CO₂ e 10 mL de ácido bórico 1,0 % para captura de NH₃.

Os potes plásticos foram tampados e vedados com filme plástico, sendo mantidos em sala de incubação com temperatura próxima a 30 °C, por um período 72 horas. Após quantificados CO₂ a partir da titulação do NaOH com ácido clorídrico 1 Mol L⁻¹ e da quantificação de NH₃ pela titulação do ácido bórico com H₂SO₄ 0,1 N.

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), avaliando a interação entre os fatores pelo desdobramento das fontes de inoculação dentro de esterilização, aplicando o teste de Scott-Knott a 5% de significância, sendo utilizado o programa estatístico SISVAR versão 5.8 (FERREIRA, 2003).

4.2.5 Quantificação dos microrganismos inoculados

Após os 21 dias de incubação, os vidros com a biomassa irradiada e os inoculantes confeccionados sob condições estéreis, foram abertos também sob condições estéreis em laboratório no CRB-JD para verificar pureza e realizar a contagem de colônias.

A contagem foi realizada seguindo a Instrução Normativa N° 30/2010 para controle de qualidade em inoculantes. Em capela de fluxo laminar, primeiramente foi pesado 10 g de cada tratamento em Erlenmeyer de 250 mL e adicionado 90 mL de solução salina 0,85% estéril,

posto para agitação a 120 rpm por 20 minutos, em temperatura ambiente. Após realizadas as demais diluições seriadas (10^{-2} a 10^{-7}) das amostras, sendo retiradas alíquotas de 0,1 mL das diluições 10^{-5} , 10^{-6} e 10^{-7} inoculadas na superfície da placa de Petri com meio YM sólido, usando alça de Drigalski para o espalhamento uniforme, com três repetições para cada diluição. As placas foram incubadas em estufa tipo BOD a 30 °C e após 24 horas foram realizadas as contagens em UFC mL⁻¹.

4.2.6 Efeito da inoculação seguida da incubação na recuperação de N

Para analisar o efeito dos tratamentos descritos foi realizado um bioensaio em casa de vegetação da Embrapa Agrobiologia, seguindo a metodologia de Leal et al. (2010) com modificações, a fim de avaliar a porcentagem de recuperação de N, utilizando a aveia preta como planta indicadora.

As sementes da aveia preta foram desinfestadas superficialmente em álcool 70% durante 2 minutos, seguindo para solução hipoclorito de sódio 2% por 3 minutos e lavagem por 10 vezes com água destilada estéril.

Foram semeadas 50 sementes por vaso, pois o plantio em alta densidade ajuda a manter elevado potencial de utilização do N liberado pelos materiais testados, possibilitando que o N quantificado na biomassa seja uma leitura mais próxima do N disponibilizado no solo (LEAL et al., 2010).

Os vasos utilizados foram desinfestados com hipoclorito de sódio 2% e álcool 70, os vasos possuem capacidade de 650 mL e contém coletor de líquidos lixiviados a fim de evitar perdas de nutrientes. O substrato utilizado foi areia lavada autoclavada para o material estéril e não autoclavada para o material não estéril e os nutrientes, com exceção do N, foram fornecidos semanalmente por solução nutritiva segundo Norris modificada (DOBEREINER, 1968).

A irrigação diária foi realizada com água filtrada e autoclavada, sendo a solução nutritiva também autoclavada, a fim de evitar contaminações externas.

O nitrogênio foi fornecido pelos tratamentos descritos a seguir, sendo a dose empregada de 0,15 g vaso⁻¹ equivalente ao N total contido na fonte.

O delineamento experimental foi de blocos casualizados com três repetições, dispostos em arranjo fatorial ($2 \times 7 + 3$), onde o primeiro fator corresponde presença e ausência da esterilização da biomassa de gliricídia pelo Irradiador Multipropósito de Cobalto-60 do CETER/IPEN na dose de 25 kgy e dos vidros e areia pela autoclavagem a 120 °C por 30 minutos e 60 minutos, o segundo fator corresponde a inoculação com: a) leveduras da

linhagem XMD, b) leveduras da linhagem LA22, c) leveduras da linhagem LF22 , d) mistura das três linhagens (XMD, LA22 e LF22) na proporção 1:1:1, e) *Lactobacillus plantarum* e *Saccharomyces cerevisiae* pelo produto comercial Embiotic® e os controles, sem inoculação microbiana, f) com somente água destilada e g) com somente o meio inoculante (YM e GX). Além dos tratamentos adicionais que consistiram da biomassa de gliricídia processada e não incubada/inoculada, de uma testemunha absoluta (sem adubação nitrogenada e sem inoculação) e da testemunha nitrogenada (farelo de mamona).

Foi realizado desbaste mantendo 20 plantas por vaso, que foram colhidas com 35 dias após a semeadura e realizada as seguintes análises: massa fresca e seca da parte aérea e massa seca da raiz; concentração de N na parte aérea e na raiz pelo método Dumas e a percentagem de recuperação do N. Sendo a percentagem de recuperação de N calculada pela equação:

Recuperação (%) = $((N_{trat} - N_{tes}) / N_{ad}) \times 100$, onde:

N_{trat} = N recuperado nas plantas de milho de cada tratamento.

N_{tes} = N contido nas plantas de milho da testemunha sem adubação.

N_{ad} = N adicionado como fertilizante.

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), avaliando a interação entre os fatores pelo desdobramento esterilização dentro das fontes de fertilizantes, aplicando o teste de Scott-Knott a 5% de significância, sendo utilizado o programa estatístico SISVAR versão 5.8 (FERREIRA, 2003).



Figura 9. Bioensaio em casa de vegetação, 35 DAS da aveia preta.

4.2.7 Preparo da biomassa marcada e inoculada com leveduras

Um segundo experimento com o objetivo de avaliar a recuperação de N através da técnica isotópica com ^{15}N foi realizado. Desse modo, a biomassa da gliricídia foi marcada segundo a metodologia de Chieza et al. (2011), sendo o processo de marcação descrito anteriormente no primeiro capítulo, item 3.2.1.

A fim de simular as condições idealizadas para a produção do fertilizante N-verde em que a colheita é realizada de forma mecanizada com a Tarupe, sendo colhido folhas e ramos finos da gliricídia com até 1 cm de diâmetro na proporção 1:1 (m/m), foi realizada a homogeneização das folhas e ramos da gliricídia marcada em que a colheita foi manual, também na proporção 1:1 (m/m).

A partir das análises por espectrometria de massas nas folhas e ramos da gliricídia marcada sabe-se que a mistura folha e ramos (1:1) possui médias de 2,326% para nitrogênio total e 1,272 ¹⁵N em excesso, sendo a relação C:N de 20,40.

Para incubação deste material foram produzidos novos inoculantes conforme descrito no item 4.2.1 sendo utilizadas somente as linhagens XMD com 1,81x10⁸ UFC mL⁻¹, e para a linhagem LF22 3,25 x10⁸ UFC mL⁻¹ e para a mistura das duas XMD + LF22 3,99 x10⁸ UFC mL⁻¹.

Os inoculantes foram então misturados a biomassa de gliricídia marcada na proporção 1:1 (m:v) e compactados com pistilo em recipientes de vidro de 268 mL, sendo hermeticamente fechados e mantidos ao abrigo da luz, em sala de incubação com temperatura entre 27 e 30 °C por um período de 21 dias.

Após este período foram retiradas amostras dos materiais para análise de pH e CE, o restante do material foi seco em estufa de circulação forçada a 65 °C até atingir massa constante e analisados teor de N total, ¹⁵N, a relação C:N e os demais macronutrientes totais, conforme as metodologias descritas anteriormente.

4.2.8 Avaliação da eficiência de recuperação de ¹⁵N

Foi adotado delineamento experimental de blocos casualizados com quatro repetições e 36 tratamentos, distribuídos em esquema fatorial (6x5). Sendo as fontes de fertilização: gliricídia marcada com ¹⁵N incubada com as linhagens XMD, LF22, XMD+LF22; controle abiótico contendo somente o meio inoculante; biomassa de gliricídia não incubada e farelo de mamona, sendo as doses de 0, 100, 200, 300 e 400 kg de N ha⁻¹.

Foram utilizados vasos plásticos contendo 5,5 kg de terra de um Planossolo coletado em Campo Experimental da Embrapa Agrobiologia e realizada análise química segundo metodologia de Nogueira & Souza (2005) (Tabela 9).

Tabela 9. Análise química da fertilidade do solo.

Amostras	C	N	P	K	Ca	Mg	Al	H+Al	pH
----------	---	---	---	---	----	----	----	------	----

	(%)	(%)	(mg/L)	(mg/L)	(cmolc/d)	(cmolc/d)	(cmolc/d)	(cmolc/d)	
A1	0,43	0,03	2,75	9,85	0,36	0,12	0,12	1,76	5,12

Foram realizadas a calagem e a adubação, incorporando em cada vaso o equivalente a 491 kg ha⁻¹ de termofosfato magnésiano (YOORIN), 197 kg ha⁻¹ de sulfato de potássio (YARA KRISTA SOP), 109 kg ha⁻¹ de FTE BR-12 (NUTRIPLANT) e 131 kg ha⁻¹ de calcário dolomítico antecedendo um mês da semeadura.

A adubação com os protótipos de N-verde foi aplicada de modo superficial com incorporação a 5 cm de profundidade e após sete dias realizada a semeadura do milheto (*Pennisetum glaucum*) em alta densidade, sendo o milheto utilizado como planta indicadora devido a sua grande capacidade de extrair nutrientes.

A irrigação diária durante todo o experimento foi realizada com água filtrada. Após sete dias da semeadura foi realizado o desbaste, permanecendo 60 plantas por vaso.

Aos 30 dias após a semeadura (DAS), foi determinado o índice de clorofila foliar ou índice de clorofila Falker, pelo medidor de clorofila portátil Clorofilog da Falker. E aos 40 DAS foi realizada a colheita das plantas, sendo analisados: massa fresca e seca da parte aérea e raiz, concentração de N nas plantas, N acumulado pela multiplicação do teor de N total da fitomassa e a sua produção massa seca, calculada ainda a eficiência de recuperação do nitrogênio derivado do N-verde pelas plantas de milheto, segundo metodologia de Araújo et al. (2011).

Para determinar o nitrogênio no milheto, proveniente do N-verde incubado e não incubado foram utilizadas as equações $N_{\text{milhetoNV}}(\%) = [^{15}\text{N no milheto } (\%) / ^{15}\text{N do NV}(\%)]100$ e $N_{\text{milhetoNV}}(\text{kg ha}^{-1}) = [N_{\text{milhetoNV}}(\%) / 100] \times N \text{ total no milheto } (\text{kg ha}^{-1})$.

Para a eficiência de recuperação do nitrogênio derivado do N-verde pelo milheto a equação a ser utilizada é $ER(\%) = [N_{\text{milheto NV}}(\text{kg ha}^{-1}) / N_{\text{AV}}(\text{kg ha}^{-1})]100$, em que, N_{AV} é a quantidade de N aplicada através do N-verde ao milheto (kg ha⁻¹).

Foram realizadas análises de homogeneidade das variâncias e a normalidade dos dados pelo programa estatístico R, sendo aplicado o teste de Bartlett para a homogeneidade e Shapiro-Wilk para a normalidade.

Em sequência realizada a análise de variância (ANOVA), avaliando a interação entre os fatores pelos desdobramentos dose dentro de fertilizante e fertilizantes dentro de cada dose, analisados também se existe diferença estatística para as variáveis qualitativas e quantitativas,

aplicando teste Tukey para a fonte de variação fertilizantes orgânicos e análise de regressão para as doses. Foi utilizado o programa estatístico SISVAR versão 5.8 (FERREIRA, 2003).



Figura 10. Experimento de eficiência de recuperação de ^{15}N , em casa de vegetação, 40 DAS de milheto.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Análise da biomassa inoculada após período de incubação

De um modo geral verificou-se, que após 21 dias de incubação todos os tratamentos apresentavam material com boa aparência e ausência de odor desagradável, sendo o cheiro semelhante aos produtos fermentados, somente os tratamentos contendo inoculante com a linhagem XMD apresentavam um cheiro diferenciado, mas também com ausência de odor desagradável.

De acordo com Siqueira & Siqueira (2013), o produto fermentado tipo bokashi possui aroma agradável, semelhante a silagem, sendo este um indicativo de que a umidade foi adequada e o material teve processo de fermentação ideal.

Foi possível verificar interação significativa ($p \leq 0,05$) entre as fontes inoculante x esterilização após os 21 dias de incubação, conforme análise do desdobramento fertilizante dentro da esterilização (Tabela 10).

Tabela 10. Valores médios de pH e condutividade elétrica (CE), para a biomassa de parte aérea (folha + caule) de gliricídia (estéril e não estéril), submetida a inoculação, antes e após incubação por período de 21 dias.

Tratamento	Biomassa gliricídia incubada			
	pH (Dia 0)	CE (dia 0) mS cm ⁻¹	pH (21 dias)	CE (21 dias) mS cm ⁻¹
Estéril				
Água destilada	5,63	2,99	5,04 b ¹	3,05 c
Meio inoculante	5,63	2,52	5,03 b	3,09 c
Leveduras LA22	5,56	3,84	5,34 b	3,97 a
Leveduras LF22	5,55	3,94	5,36 b	3,87 a
Leveduras XMD	5,63	3,66	7,28 a	3,96 a
LA22+LF22+XMD	5,61	3,74	7,14 a	4,00 a
Embiotic®	5,52	3,17	4,34 c	3,56 b
Não estéril				
Água destilada	5,73	2,76	4,75 b	3,35 c
Meio inoculante	5,74	2,88	4,83 b	3,40 c
Leveduras LA22	5,59	3,61	5,55 a	4,09 a
Leveduras LF22	5,60	3,59	5,36 a	4,08 a
Leveduras XMD	5,75	3,59	5,19 a	4,22 a
LA22+LF22+XMD	5,75	3,51	5,42 a	3,94 a
Embiotic®	5,75	2,88	4,45 b	3,73 b
CV%	-	-	5,74	3,07

¹ Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,01$).

Em relação ao pH, verificou-se efeito biológico significativo após o período de incubação da gliricídia com o produto comercial Embiotic, com redução significativa do pH após 21 dias de incubação.

O produto comercial Embiotic contém dois microrganismos caracterizados, conforme descrito em seu rótulo (*Lactobacillus plantarum* e *Saccharomyces cerevisiae*), que possuem a capacidade de fermentar diferentes substratos, tendo como produto final o ácido láctico, no caso de *Lactobacillus* e o etanol e o CO₂ para *Saccharomyces* (TORTORA, FUNKE & CASE, 2005).

As bactérias produtoras de ácido láctico fermentam carboidratos solúveis principalmente a ácido láctico, mas também podem produzir em menor quantidade ácido acético, etanol, CO₂ e outros produtos menos importantes (PEDROSO, 1998). Há muitos anos

se reconhece a importância da fermentação por essas bactérias na ensilagem, para a redução do pH, a inibição da ação das enzimas proteases e de microrganismos que levam a sua deterioração (PEDROSO, 1998; TOMICH et al., 2003).

Porém, as bactérias lácticas heterofermentativas, as enterobactérias e até os clostrídios podem reduzir o pH na ensilagem pela produção de ácidos acético e butírico, mas levam a uma menor redução do pH e a maiores perdas de massa seca e energia do material ensilado (TOMICH et al., 2003).

Segundo Olle & Williams (2013) as bactérias lácticas, como as do gênero *Lactobacillus*, produzem ácido láctico a partir de açúcares, e auxiliam na degradação da matéria orgânica, pela quebra da lignina e celulose, acelerando sua fermentação.

Para os tratamentos contendo inoculante com a linhagem XMD, houve aumento do pH após o período de 21 dias de incubação. A linhagem XMD foi identificada como *Spathaspora suhii* (ANDRADE, 2021), uma espécie ainda pouco estudada, pertencente a um clado relativamente novo (CADETE et al., 2016), capaz de fermentar diferentes açúcares como glicose, maltose, galactose e xilose, levando a produção de etanol e xilitol a depender da biomassa vegetal, das condições do meio e do metabolismo da linhagem (CADETE et al., 2012; PROMPT, 2012).

Segundo Converti, Perego e Domínguez (1999) o produto final do metabolismo da levedura vai depender de alguns fatores como a disponibilidade de oxigênio, a concentração celular e o pH do meio. Esses autores, ao avaliar *Pachysolen tannophilus* sobre condições microaerófilas verificaram que o pH influenciou mais que a concentração celular, sobre pH de 4,5 até 7,0 houve estímulo à produção de xilitol e acima de 7,5 a fermentação alcoólica foi favorecida.

Verificou-se que não houve diferença estatística ao incubar a gliricídia com os inoculantes LA22, LF22 e os controles abióticos, em que continha somente água destilada ou somente o meio inoculante, sob condições estéreis.

Pian (2019) estudou a produção de compostos fermentados com diferentes materiais e verificou que o pH se manteve ácido quando se utilizou a gliricídia, independente dos demais compostos adicionados, sendo de 5,19 quando fermentado com somente gliricídia e de 5,66 quando fermentado com 40% de farelo de gliricídia e 60% de farelo de capim elefante. A autora verificou correlação entre o pH e os ácidos orgânicos encontrados nos materiais após a fermentação, e inferiu que componentes intrínsecos da gliricídia devem servir como substrato as bactérias lácticas beneficiando a fermentação láctica de modo que o ácido láctico acidifique

o meio, sendo os ácidos majoritariamente encontrados nos compostos o ácido láctico, acético, etanol e propanóico, além do ácido butírico que esteve presente quando o composto foi fermentado com 60% de resíduo de cervejaria, sendo que mesmo nesses o pH se manteve ácido.

Porém, no presente trabalho verificou-se que mesmo para os controles abióticos, sob condições estéreis, o pH se manteve ácido, de modo que esse resultado contrasta com o de Pian (2019), pois a acidez mantida nestes tratamentos não está relacionada a presença de microrganismos fermentadores, mas possivelmente a composição da própria planta.

O pH médio da biomassa da gliricídia in natura foi de 5,59, portanto, semelhante ao verificado por Carvalho et al. (2017) para a gliricídia in natura colhida manualmente de um banco de gliricídia no estado do Ceará, sendo a média de 5,45 para coleta em três diferentes alturas, que não diferiram estatisticamente, porém quando submetida ao processo de silagem o pH médio foi reduzido a 3,93. Valores superiores foram verificados por Oliveira et al. (2014) para o farelo de folhas e ramos finos da gliricídia in natura, cultivada em Seropédica-RJ, com pH de 6,06. Enquanto Silva et al. (2013) utilizaram ramos de gliricídia cultivada em Linhares-ES na compostagem e verificou pH inicial de 7,2.

Cabe salientar que existe diferença estatística ($p \leq 0,05$) pelo desdobramento inoculante dentro de esterilização, para os tratamentos contendo inoculante XMD, em que o pH foi de 7,28 sob condições estéreis e de 5,19 sob condições não estéreis, e quando inoculado com a mistura LA22+LF22+XMD sob condições estéreis foi de 7,14 e de 5,42 quando não estéril. Esse fato demonstra a atuação de outros microrganismos sob condições não estéreis, como os microrganismos produtores de ácidos orgânicos, como as bactérias do ácido láctico, com origem provável do microbioma da gliricídia.

Segundo Pedroso (1998), as plantas forrageiras podem abrigar inúmeros microrganismos a depender da espécie, seu estágio de maturação, as condições ambientais como temperatura, umidade e radiação solar e os processos de colheita, sendo que a picagem do material tende a aumentar esse número, favorecendo as bactérias produtoras de ácido láctico, que levam a redução do pH do meio.

Em relação a condutividade elétrica, não houve interação significativa ($p \leq 0,05$) para fonte inoculante x esterilização, mas houve efeito significativo ($p \leq 0,05$) dos tratamentos em que os contendo os inoculantes XMD, LA22, LF22 e a mistura das três possibilitou maior CE em condições estéril e não estéril (tabela 5).

Também houve efeito significativo ($p \leq 0,05$) da comunidade microbiana na CE, pois sob condições não estéril os tratamentos controles abióticos foram superiores ao estéril.

A condutividade elétrica indica a capacidade da passagem da corrente elétrica em uma solução onde os cátions e ânions estão presentes, portanto, está relacionada a quantidade de sais dissolvidos na água, sofrendo influência direta da adição de sais fertilizantes (BERNET et al., 2015).

Oliveira et al. (2014) verificaram diferença na CE entre seus compostos formulados após 21 dias de incubação, atribuindo essa diferença aos teores de potássio dos materiais vegetais utilizados. Desse modo, os tratamentos contendo os inoculantes LA22, LF22 e XMD, principalmente sob condições não estéreis podem vir a contribuir significativamente na adubação das plantas, ou pode estar relacionado a um balanço iônico H^+ e OH^- , não traduzindo em contribuição significativa.

Em relação ao teor de N total e C total contido nos materiais incubados não houve interação significativa ($p \leq 0,05$) para fonte inoculante x esterilização, assim como não houve diferença estatística ($p \leq 0,05$) entre as fontes inoculantes, enquanto para a relação C:N houve interação significativa ($p \leq 0,05$) para fonte inoculante x esterilização (Tabela 11).

Tabela 11. Teor de N total e C total, relação C:N para a biomassa de parte aérea (folha + caule) de gliricídia (estéril e não estéril), submetida a inoculação, seguida de incubação por período de 21 dias.

Tratamento	Biomassa gliricídia incubada		
	N total (g kg ⁻¹)	C total (g kg ⁻¹)	C:N
Estéril			
Água destilada	27,21 a ¹	443,93 a	16,31 b
Meio inoculante	24,85 a	440,54 a	17,74 a
Leveduras LA22	26,20 a	438,77 a	16,76 b
Leveduras LF22	27,31 a	440,87 a	16,16 b
Leveduras XMD	24,85 a	434,59 a	17,53 a
LA22+LF22+XMD	25,39 a	435,36 a	17,18 a
Embiotic®	25,70 a	424,08 a	16,54 b
Não estéril			
Água destilada	25,02 a	423,08 a	16,91 a
Meio inoculante	26,65 a	421,64 a	15,86 a
Leveduras LA22	25,74 a	416,61 a	16,19 a
Leveduras LF22	25,44 a	412,49 a	16,21 a
Leveduras XMD	25,38 a	414,58 a	16,33 a
LA22+LF22+XMD	25,73 a	414,58 a	16,12 a
Embiotic®	26,30 a	395,83 a	15,04 a
CV%	5,23	3,20	3,39

¹ Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$).

Os teores de N encontrados neste trabalho estão próximos ao dos fertilizantes orgânicos tradicionalmente utilizados, como esterco bovino curtido de 23 g kg⁻¹, “cama” de frango 22 g kg⁻¹ e aos adubos verdes *Crotalaria júncea* de 20 g kg⁻¹ e *Mucuna* sp 23 g kg⁻¹ (TRANI et al., 2013). Também próximos ao encontrado por Pian (2019) ao incubar a gliricídia com o produto comercial Embiotic, que foi de 26,73 g kg⁻¹, porém quando a autora adicionou diferentes porcentagens de outros compostos farelados encontrou diferenças no teor de N total.

Enquanto Oliveira et al. (2014) encontraram teor médio de N aproximado ao incubar a gliricídia com capim elefante e inoculante Embiotic ou Kefir, sendo a média de 20,9 g kg⁻¹, porém, esses autores verificaram diferenças no teor de acordo com o material farelado adicionado, sendo o teor de N igual a 18,9 g kg⁻¹ para a gliricídia incubada com bagaço de cana e de 32,2 g kg⁻¹ quando incubada com farelo de trigo.

Com relação a proporção C:N, Oliveira et al. (2014) verificaram proporcionalidade ao material utilizado, de modo que os menores teores de N resultaram em mais alta relação C:N, que foi de 27,71 para a gliricídia incubada com o bagaço de cana e de 25,62 quando incubada com capim elefante, o que segundo esses autores pode desfavorecer a disponibilização de N para as plantas quando comparada a incubação com farelo de trigo, em que verificaram proporção de 16,90, sendo esta semelhante a do presente trabalho.

Leal et al. (2010), verificaram que a relação C:N dos compostos depende do material utilizado e do seu tempo de compostagem, sendo o teor de N e a relação C:N indicativos da taxa de mineralização de N em fertilizantes orgânicos, mas que outros fatores devem ser considerados. Fato esse verificado por Jama et al. (2023), em que um tratamento com *Azolla* sp. com relação C:N de 13,9 disponibilizou maior teor de N e em menor tempo em relação a um composto com relação C:N de 13,1, segundo esses autores além do teor de N e da relação C:N a mineralização dos materiais depende de outros fatores como lignina, celulose, hemicelulose e polifenóis.

No presente trabalho, verificou-se diferença estatística para a relação C:N, em que sob condições estéreis, os tratamentos em que a gliricídia foi incubada com inoculante XMD e inoculante da mistura LA22+LF22+XMD apresentaram maior relação C:N, enquanto sob condições não estéreis não houve diferença entre os tratamentos.

Ao desdobrar os fatores ausência ou presença da esterilização, verificou-se também efeito significativo para os tratamentos de gliricídia incubada com inoculante (controle

abiótico), com Embiotic, com XMD e com LA22+LF22+XMD sendo as maiores médias para aqueles produzidos em condições estéreis, o que pode estar relacionado ao metabolismo do microbioma da gliricídia vinda do campo.

Verifica-se maior relação C:N para aqueles em que o pH se encontrava mais alto, em pH básico a perda de N por volatilização é mais alta, desse modo, uma redução de N pode ter elevado a relação C:N, se tratando de uma perda de N muito pequena, não sendo perceptível pela análise de teor de N total.

Em relação aos macronutrientes P, Ca e Mg, contidos nos materiais incubados houve interação significativa ($p \leq 0,05$) fonte inoculante x esterilização, enquanto para o teor de K não foi verificada interação entre os fatores e nem diferença entre os tratamentos (Tabela 12).

Tabela 12. Teor de macronutrientes (P, K, Ca e Mg) na biomassa de parte aérea (folha + caule) de gliricídia (estéril e não estéril), submetida a inoculação seguida de incubação, por período de 21 dias.

Tratamento	Biomassa gliricídia incubada			
	P total	K total	Ca total (g kg ⁻¹)	Mg total
Estéril				
Água destilada	1,64 b ¹	10,01 a	6,81 a	4,41 a
Meio inoculante	1,56 b	9,92 a	5,53 b	3,62 b
Leveduras LA22	1,87 a	10,06 a	6,25 b	3,55 b
Leveduras LF22	1,89 a	10,34 a	6,09 b	3,06 b
Leveduras XMD	2,09 a	10,45 a	6,10 b	3,62 b
LA22+LF22+XMD	1,88 a	10,82 a	6,12 b	3,59 b
Embiotic®	1,65 b	10,34 a	5,89 b	3,42 b
Não estéril				
Água destilada	1,52 b	10,22 a	6,01 a	3,63 a
Meio inoculante	1,50 b	9,24 a	5,79 a	3,49 a
Leveduras LA22	1,66 a	10,17 a	6,21 a	3,58 a
Leveduras LF22	1,69 a	10,66 a	6,19 a	3,68 a
Leveduras XMD	1,53 b	9,60 a	5,88 a	3,30 a
LA22+LF22+XMD	1,72 a	9,98 a	6,11 a	3,60 a
Embiotic®	1,79 a	10,50 a	6,63 a	3,91 a
CV%	7,23	6,84	4,59	8,85

¹ Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$).

Teores diferentes foram encontrados por Oliveira et al. (2014) e Santos (2017) para a biomassa de folhas e ramos de gliricídia. Segundo Silva et al. (2023) a capacidade de um adubo verde em extrair e concentrar os nutrientes irá depender do genótipo da planta, a época de cultivo, as práticas de manejo, bem como as condições edáficas e climáticas.

Oliveira et al. (2014) não verificaram diferença estatística no teor total dos macronutrientes N, P, K, Ca e Mg ao incubar diferentes materiais vegetais por 21 dias com os inoculantes Embiotic e Kefir, encontrando efeito significativo somente em relação ao material utilizado, seja gliricídia com farelo de trigo ou bagaço de cana, ou ainda capim elefante.

No presente trabalho se verificou diferenças entre os tratamentos para o teor de P total, que foi estatisticamente mais elevado para a biomassa de gliricídia incubada com as leveduras, sob condições estéreis, este fato pode estar associado a perdas de carbono, por emissão de CO₂, durante a incubação microbiana, levando a uma concentração do nutriente.

Porém, diferença entre os materiais também foi verificada pela análise de macronutrientes solúveis, em que houve interação significativa ($p \leq 0,05$) fonte inoculante x esterilização para o teor de P, enquanto para os demais macronutrientes não houve diferença (Tabela 13).

Tabela 13. Teor de macronutrientes (P, K, Ca e Mg) solúveis na biomassa de parte aérea (folha + caule) de gliricídia (estéril e não estéril), submetida a inoculação seguida de incubação, por período de 21 dias.

Tratamento	Biomassa gliricídia incubada			
	P	K	Ca	Mg
	(mg L ⁻¹)		(cmo _c dm ⁻³)	
Estéril				
Água destilada	131,74 b ¹	871,96 a	1,89 a	3,76 a
Meio inoculante	133,93 b	882,92 a	1,69 a	3,45 a
Leveduras LA22	152,77 a	909,35 a	1,83 a	3,85 a
Leveduras LF22	156,71 a	899,61 a	1,84 a	3,58 a
Leveduras XMD	124,95 b	906,95 a	1,82 a	3,84 a
LA22+LF22+XMD	128,67 b	971,20 a	1,90 a	3,51 a
Embiotic®	114,87 c	948,79 a	1,75 a	3,34 a
Não estéril				
Água destilada	115,31 b	979,79 a	1,89 a	4,44 a
Meio inoculante	124,73 b	880,77 a	1,94 a	3,34 a
Leveduras LA22	123,85 b	963,32 a	1,43 b	3,70 a
Leveduras LF22	121,22 b	952,11 a	1,79 a	3,87 a
Leveduras XMD	124,07 b	967,08 a	1,85 a	3,19 a
LA22+LF22+XMD	115,09 b	921,33 a	1,83 a	3,30 a
Embiotic®	137,43 a	992,37 a	1,84 a	3,79 a
CV%	4,95	7,51	11,34	15,81

¹ Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$).

As médias de P solúvel para a biomassa de gliricídia incubada com as linhagens LA22 e LF22 de forma isolada e sob condições estéreis, foram estatisticamente maiores que as demais.

De acordo com Cardoso & Andrade (2016), o P solúvel é o P assimilável por plantas e microrganismos do solo, sendo que a forma disponível no solo (H_3PO_4 , $H_2PO_4^-$, HPO_4^{2-} e PO_4^{3-}) dependerá do pH, do teor de óxidos, da atividade microbiana e de outros fatores que alteram o equilíbrio de P da fase sólida/P solução.

No solo, as plantas e microrganismos atuam na mineralização do fósforo, transformando o P orgânico em P solúvel, pelas enzimas fosfatases, porém o P também pode ser imobilizado pela biomassa microbiana, a depender da qualidade do resíduo em decomposição e da disponibilidade de carbono e nitrogênio no solo (CARDOSO & ANDRADE, 2016).

Segundo Andrade (2020), as linhagens de leveduras utilizadas no presente trabalho, podem contribuir no aumento de P para as plantas, a autora verificou em condições de laboratório a capacidade desses microrganismos em solubilizar fosfatos e óxido de Zn.

4.3.2 Emissões potenciais de CO₂ e NH₃

Houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) para a evolução de CO₂ e volatilização de NH₃ dos tratamentos com biomassa da gliricídia incubada, em comparação a não incubada e ao farelo de mamona (Tabela 14).

Tabela 14. Emissões potenciais de CO₂ e NH₃ para as fontes vegetais biomassa de parte aérea (folha + caule) de gliricídia (estéril e não estéril) submetida a incubação por período de 21 dias, em comparação a biomassa não incubada/inoculada e farelo de mamona.

Tratamento	CO ₂	NH ₃
	(mg g ⁻¹ MS dia ⁻¹)	
Estéril: Água destilada	6,631 c ¹	0,000 c
Estéril: Meio inoculante	2,408 d	0,000 c
Estéril: Leveduras LA22	8,024 b	0,000 c
Estéril: Leveduras LF22	8,870 b	0,000 c
Estéril: Leveduras XMD	11,276 b	0,238 b
Estéril: Leveduras LA+LF+XMD	14,407 b	0,321 b
Estéril: Embiotic®	0,367 d	0,000 c
Não estéril: Água destilada	12,075 b	0,171 b
Não estéril: Meio inoculante	12,741 b	0,005 c
Não estéril: Leveduras LA22	16,344 b	0,058 c
Não estéril: Leveduras LF22	12,696 b	0,012 c
Não estéril: Leveduras XMD	14,338 b	0,031 c

Não estéril: Leveduras LA+LF+XMD	11,807 b	0,000 c
Não estéril: Embiotic®	-0,274 d	0,000 c
Não incubada	28,631 a	0,112 c
Farelo de mamona	24,957 a	0,909 a
CV%	23,02	88,20

¹ Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$).

Verificou-se maior emissão potencial de CO₂ para o farelo de mamona e a gliricídia não incubada. Apesar de o farelo de mamona ser comercializado estabilizado devido a sua baixa umidade, quando colocado sob temperatura e umidade favoráveis a atividade dos microrganismos aeróbios decompositores, ele se torna instável emitindo mais CO₂ e NH₃.

A emissão de CO₂ para o farelo de mamona foi o equivalente a 19,5% do seu total de 384,82 g kg⁻¹ de C orgânico e para a biomassa de gliricídia não incubada foi de 20% do seu total de 422,84 g kg⁻¹ de C orgânico, durante os três dias de avaliação.

Não houve diferença na emissão potencial de CO₂ para a biomassa incubada com as linhagens de leveduras durante o período de avaliação, sendo o equivalente a 10% do total de 435,36 g kg⁻¹ de carbono orgânico da biomassa de gliricídia incubada com a mistura das três linhagens (XMD+LA22+LF22) e sob condições estéreis, se comparada a emissão da biomassa incubada com Embiotic, que foi o equivalente a 0,26% do teor total de carbono orgânico, sendo 424,08 g kg⁻¹, concluindo-se que a emissão potencial de CO₂ foi bastante alta para a biomassa incubada com as linhagens de leveduras.

De acordo com Leal (2020), emissões de CO₂ acima de 4, podem ser consideradas altas e indicativa de que o material ainda não está estável, mais sujeito as degradações microbianas.

Também foi verificada maior emissão de NH₃ para o farelo de mamona, em que durante o período de avaliação houve uma emissão de 2,727 mg NH₃ g⁻¹ MS, sendo o teor de N total do farelo de mamona igual a 72,23 g kg⁻¹, o que significa uma perda de 3,5% durante os três dias de incubação, sob condições ideais. A segunda maior perda de N durante o período foi para a biomassa de gliricídia incubada com a linhagem XMD sob condições estéreis isolada ou em mistura com as três linhagens, em que o teor de N total foi igual a 24,85 g kg⁻¹ verifica-se uma perda de 2,87% de N. Enquanto para a gliricídia não incubada essa perda foi de 1,41% do teor de N total que foi igual a 23,81 g kg⁻¹, não se encontrou diferença estatística na emissão de NH₃ para as demais fontes fertilizantes.

As amostras cuja a emissão de NH_3 encontra-se como zero, deve-se as condições ácidas dos materiais, ou seja, pelo provável elevado teor de ácidos orgânicos, pois não ocorre emissão de NH_3 nestas condições de acidez.

Segundo Oliveira et al. (2014), o farelo de mamona e a biomassa de gliricídia são bastante instáveis, ou seja, com maior emissão potencial de CO_2 e de NH_3 em relação ao bagaço de cana, o que se deve principalmente ao elevado teor de N e a menor relação C:N destes materiais.

Além do teor de N, a relação C:N, a composição do material também interfere nas perdas de N, em compostagem, materiais que são facilmente degradáveis elevam a perda de N, pela volatilização de amônia (BERNAL et al., 2009).

4.3.3 Análise dos microrganismos inoculados após incubação

Após 21 dias de incubação, verificou-se que os tratamentos desenvolvidos sob condições estéreis, estavam com a mesma aparência inicial, ao contrário dos tratamentos desenvolvidos sob condições não estéreis, em que ao abrir os vidros foi possível visualizar diferentes colônias, com cores variadas somente na parte superior dos vidros (Figura 11).



Figura 11. Observação de colônias presentes na parte superior dos vidros, próximas a abertura da tampa, para os tratamentos não estéreis após 21 dias de incubação.

Vale destacar que a parte superior dos vidros, onde o material provavelmente não ficou bem compactado, portanto, sujeito a degradações por O₂ e por microrganismos aeróbios, é descartada logo após a abertura dos vidros, não sendo utilizadas nas análises e experimentos.

Somente para os tratamentos estéreis, foi realizada a análise de controle de qualidade, em que após a diluição seriada com solução fisiológica e plaqueamento em meio YM sólido, foi possível verificar que não houve contaminação com outros microrganismos, pois para os controles abióticos, em que não foi inoculado microrganismos (incubação da biomassa de gliricídia com água destilada estéril e com o meio inoculante) não houve presença de colônias microbianas, o que denota a efetividade da esterilização.

Enquanto para os tratamentos em que a gliricídia foi incubada com os inoculantes de leveduras, foi realizada análise de qualidade e contagem de unidades formadoras de colônias (Tabela 15).

Tabela 15. Controle de qualidade e contagem de unidades formadoras de colônias (UFC ml⁻¹), após 21 dias de incubação da biomassa da parte aérea (folha + caule) da gliricídia esterilizada e incubada com os inoculantes contendo as linhagens de levedura (LA22, LF22, XMD isoladas e em mistura).

Linhagem	UFC ml⁻¹
LA22	4,16x10 ⁷
LF22	2,66x10 ⁷
XMD	2,57x10 ⁹
LA22+LF22+XMD	2,56x10 ⁹

Ao comparar a contagem final do material, após os 21 dias de incubação, com a contagem inicial dos inoculantes líquidos, ou seja, antes de serem incubados com a biomassa da gliricídia, verificou-se que para as linhagens LA22 e LF22, o número de unidade formadora de colônias foi mantido, enquanto para os tratamentos contendo inoculante XMD e a mistura LA22+LF22+XMD foi possível verificar aumento do número de unidades formadoras de colônias.

Desse modo, além de se adaptar muito bem a condição estudada, houve aumento dos microrganismos, indicando que a biomassa de gliricídia serve como substrato ao metabolismo dessas leveduras, em que durante o processo diferentes produtos são formados, podendo vir a contribuir no desenvolvimento das plantas.

Para os tratamentos contendo o produto comercial Embiotic, não foi possível fazer uma contagem precisa dos microrganismos presentes pelo método utilizado, uma vez que através deste é possível realizar contagem geral do número de unidades formadoras de colônias e para este tratamento verificou-se a presença de mais de duas colônias distintas em formato e coloração (Figura 12).

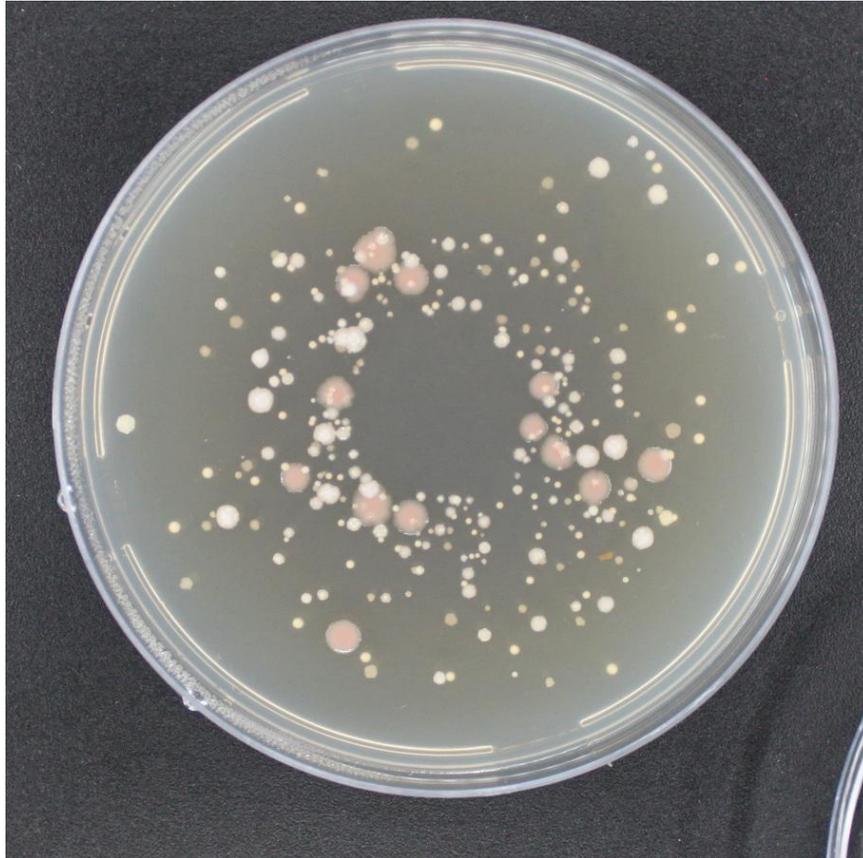


Figura 12. Visualização das colônias presentes no tratamento contendo biomassa de gliricídia e Embiotic, após 21 dias de incubação e diluição seriada.

Além disso, o tempo de crescimento foi diferenciado, de modo que após 2 dias de incubação havia poucas colônias com coloração branca, e ao passar dos dias, estas aumentaram em número e tamanho, aparecendo também as de coloração rosa, porém difícil separação devido a sobreposição entre elas e os diferentes formatos observados.

Apesar de o rótulo do produto Embiotic descrever a presença de *Lactobacillus plantarum* e *Saccharomyces cerevisiae*, acredita-se que possa conter outros microrganismos, pelas diferentes colônias observadas durante a análise de qualidade do material estudado.

4.3.4 Efeito da inoculação, seguida de incubação na recuperação de N

Em relação à produção de massa fresca e seca pela aveia preta, verifica-se que houve efeito significativo ($p \leq 0,05$) da fertilização e entre as fontes fertilizantes aplicadas (tabela 16).

Tabela 16. Produção de massa fresca da parte aérea (MFPA) e massa seca da parte aérea (MSPA), da raiz (MSR) e total (MST) da aveia preta crescida em casa de vegetação, a partir da aplicação da biomassa de parte aérea (folha + caule) de gliricídia (estéril e não estéril) submetida a inoculação, seguida de incubação por período de 21 dias, biomassa de gliricídia não incubada e farelo de mamona.

Tratamento	MFPA	MSPA	MSR	MST
	(g vaso ⁻¹)			
Estéril: Água destilada	6,07 a ¹	1,30 a	0,83 a	2,13 a
Estéril: Meio inoculante	5,70 a	1,17 a	0,83 a	2,00 a
Estéril: Leveduras LA22	5,30 a	1,03 a	0,90 a	1,93 a
Estéril: Leveduras LF22	5,43 a	1,13 a	0,97 a	2,10 a
Estéril: Leveduras XMD	2,53 b	0,53 b	0,53 a	1,07 b
Estéril: Leveduras LA+LF+XMD	4,50 a	0,73 b	0,77 a	1,50 b
Estéril: Embiotic®	7,00 a	1,20 a	0,77 a	1,97 a
Não estéril: Água destilada	5,87 a	1,17 a	0,70 a	1,87 a
Não estéril: Meio inoculante	6,07 a	1,23 a	0,80 a	2,03 a
Não estéril: Leveduras LA22	6,83 a	1,27 a	0,83 a	2,10 a
Não estéril: Leveduras LF22	6,70 a	1,27 a	0,87 a	2,13 a
Não estéril: Leveduras XMD	6,23 a	1,27 a	0,93 a	2,20 a
Não estéril: Leveduras LA+LF+XMD	6,63 a	1,33 a	0,67 a	2,00 a
Não estéril: Embiotic®	5,47 a	1,17 a	0,67 a	1,83 a
Não incubada	6,43 a	1,43 a	0,87 a	2,30 a
Farelo de mamona	6,73 a	1,33 a	0,70 a	2,03 a
Controle (ausência de N fertilizante)	1,87 b	0,57 b	0,37 b	0,93 b
CV%	23,34	16,23	23,29	16,30

¹ Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$).

Em comparação ao controle absoluto, sem adubação orgânica nitrogenada, verificou-se contribuição na produção de massa fresca e seca na parte aérea e raiz da aveia preta. De modo que a fertilização com a biomassa de gliricídia proporcionou aumento de 150% na produção de massa seca na parte aérea da aveia preta, sendo que não houve diferença estatística entre esse tratamento e os demais fertilizantes estudados. Com exceção da fertilização com a biomassa de gliricídia contendo inoculante da linhagem XMD, produzido sob condições estéreis, que proporcionou menor massa seca da parte aérea.

Foi verificado que a inoculação da linhagem XMD isolada ou em mistura na biomassa da gliricídia estéril elevou o pH após 21 dias de incubação, o que pode ser desvantajoso uma

vez que as plantas absorvem os nutrientes do solo em pH próximo a neutralidade, com isso a maioria dos fertilizantes aplicados têm pH próximo a neutralidade ou levemente ácido. Além disso, sob pH entre 6 e 7, a degradação de proteínas das plantas é facilitada por suas próprias enzimas, as proteases e em sequência os microrganismos degradam os aminoácidos, com formação de amônia, o que dificulta a redução do pH do meio (TOMICH et al., 2003), sendo verificada emissão de NH₃ nestes tratamentos, pela análise de emissão potencial.

Li et al. (2020) buscaram aumentar o teor de aminoácidos livres e peptídeos curtos no farelo de mamona, através da sua fermentação em estado sólido com inoculante contendo bacilos, leveduras e *Trichoderma viride* (1:1:1), relatando ser possível melhorar o seu efeito como fertilizante, sendo as condições ótimas de 62% de umidade e 0,23% de inóculo por um período de 20 dias. Porém, de acordo com esses autores, durante o processo de fermentação, os microrganismos decompõem proteínas, liberando gás amônia, resultando em perdas de N total, significando que a taxa de conversão da proteína será maior.

Além disso, verificou-se maior relação C:N para a biomassa de gliricídia incubada com os inoculantes da linhagem XMD sob condições estéreis. A relação C:N interfere na decomposição e mineralização dos materiais, porém, não deve ser analisada de forma isolada, mas em conjunto com as outras características como o teor de lignina, de carboidratos e polifenóis, bem como a interação destas características (SILVA et al., 2023).

Em relação a produção de massa seca nas raízes verificou-se que não houve diferença entre as fontes fertilizantes aplicadas, sendo que a adubação proporcionou aumentos acima de 80% na produção de raiz, porém, quando fertilizada com a biomassa de gliricídia inoculada com a linhagem XMD sob condições estéreis, houve menor aumento, de 43%, mas também estatisticamente superior ao controle.

Em relação à concentração de N nas plantas de aveia preta houve efeito significativo ($p \leq 0,05$) entre os fertilizantes aplicados, porém para a recuperação de N já não se verificou o mesmo efeito (Tabela 17).

Tabela 17. Concentração de N e porcentagem de recuperação de N pela aveia preta crescida em casa de vegetação, a partir da aplicação da biomassa de parte aérea (folha + caule) de gliricídia (estéril e não estéril) submetida a inoculação, seguida de incubação por período de 21 dias, biomassa de gliricídia não incubada e farelo de mamona.

Tratamento	Teor de N (g kg ⁻¹)	Recuperação N (%)
Estéril: Água destilada	24,98 c ¹	24,22 a

Estéril: Meio inoculante	24,22 c	23,05 a
Estéril: Leveduras LA22	25,45 c	22,22 a
Estéril: Leveduras LF22	22,55 c	20,11 a
Estéril: Leveduras XMD	25,21 c	14,77 a
Estéril: Leveduras LA+LF+XMD	24,66 c	14,66 a
Estéril: Embiotic®	26,55 c	24,59 a
Não estéril: Água destilada	25,76 c	22,37 a
Não estéril: Meio inoculante	26,77 c	25,00 a
Não estéril: Leveduras LA22	22,85 c	21,67 a
Não estéril: Leveduras LF22	26,43 c	27,32 a
Não estéril: Leveduras XMD	24,82 c	25,94 a
Não estéril: Leveduras LA+LF+XMD	27,61 c	26,51 a
Não estéril: Embiotic®	31,97 b	28,12 a
Não incubada	30,90 b	39,87 a
Farelo de mamona	39,29 a	32,01 a
Controle	15,48 d	-
CV%	7,98	20,32

¹ Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$).

A concentração de N foi significativamente superior na aveia preta fertilizada com o farelo de mamona, porém essa superioridade não foi evidenciada em produção de massa seca e consequentemente também na porcentagem de N recuperado, o que pode ser explicado pelo efeito de concentração de N nos tecidos da planta, porém sem resultar em ganho de produção, provavelmente pelo efeito fitotóxico causado, pois por se tratar de uma farelo de mamona guardado por maior tempo, seu teor de N total foi mais elevado que o esperado, de modo que a quantidade de N aplicado foi equivalente a 700 kg de N ha⁻¹ e não aos 500 kg de N ha⁻¹ inicialmente planejado e aplicado para os demais tratamentos.

Também é importante ressaltar que de modo geral as médias para o teor de N total e a porcentagem de recuperação de N foram superiores para os tratamentos não estéril, o que exalta a importância da comunidade microbiana local.

Os valores para a concentração de N nas plantas de aveia preta e a porcentagem de recuperação de N foram superiores às verificadas por Oliveira et al. (2014) em milho, esses autores incubaram por 21 dias a biomassa de gliricídia com os materiais (farelo de trigo, bagaço de cana, capim elefante), não encontrando diferença em incubar com Embiotic ou controle abiótico, segundo esses autores a maior recuperação de N pelo milho está associada a menor relação C:N do material, que foi de 16,90 para farelo de gliricídia com farelo de trigo e sua recuperação de N foi igual a 16,2%.

No entanto, Pian et al. (2023) verificaram redução na porcentagem de recuperação de N pelo milho fertilizado com os compostos formulados com a gliricídia em substituição ao

farelo de mamona, estando próxima a 25%, enquanto pela fertilização com o farelo de mamona foi próxima a 50%, segundo os autores deve-se a relação C:N mais elevada para os compostos com farelo de gliricídia, em comparação ao farelo de mamona.

O teor de N e a relação C:N dos fertilizantes orgânicos, são os principais indicadores da velocidade de decomposição e mineralização de N (LEAL et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2014; PIAN et al., 2023).

Porém, a relação C:N no presente trabalho não está diretamente relacionada a porcentagem de recuperação de N, uma vez que o farelo de mamona possui menor relação C:N, mas não teve maior porcentagem de recuperação e não diferiu significativamente ($p \leq 0,10$) da biomassa de gliricídia submetida a inoculação com as fontes microbianas sob condições não estéreis e estéreis, seguida da incubação pelo período, assim como para o controle abiótico, mas com exceção daqueles incubados com a linhagem XMD sob condições estéreis, em que a porcentagem de recuperação foi estatisticamente menor e a biomassa de gliricídia não incubada em que a porcentagem de recuperação foi estatisticamente maior (Tabela 18).

Tabela 18. Relação C:N e porcentagem de recuperação de N pela aveia preta crescida em casa de vegetação, a partir da aplicação da biomassa de parte aérea (folha + caule) de gliricídia (estéril e não estéril) submetida a inoculação, seguida de incubação por período de 21 dias, biomassa de gliricídia não incubada e farelo de mamona.

Trtamento	C:N	Recuperação de N (%)
Estéril: Água destilada	16,31 b ¹	24,22 b ¹
Estéril: Meio inoculante	17,74 a	23,05 b
Estéril: Leveduras LA22	16,76 a	22,22 b
Estéril: Leveduras LF22	16,16 b	20,11 b
Estéril: Leveduras XMD	17,52 a	14,77 c
Estéril: Leveduras LA+LF+XMD	17,18 a	14,66 c
Estéril: Embiotic®	16,54 b	24,59 b
Não estéril: Água destilada	16,91 a	22,37 b
Não estéril: Meio inoculante	15,87 b	25,00 b
Não estéril: Leveduras LA22	16,19 b	21,67 b
Não estéril: Leveduras LF22	16,21 b	27,32 b
Não estéril: Leveduras XMD	16,33 b	25,94 b
Não estéril: Leveduras LA+LF+XMD	16,12 b	26,51 b
Não estéril: Embiotic®	15,04 b	28,12 b
Não incubada	17,77 a	39,87 a
Farelo de mamona	5,17 c	32,01 b
CV%	4,02	20,32

¹ Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$).

² Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,10$).

Jama et al. (2023) também não encontraram relação direta na disponibilização de N pela relação C:N, uma vez que um tratamento contendo *Azolla* sp. com relação C:N de 13,9 disponibilizou maior teor de N e em menor tempo em relação a um composto com a relação C:N de 13,1, segundo os autores além desses parâmetros a mineralização depende diretamente do teor de lignina, celulose, hemicelulose e polifenóis.

Segundo Cuttle et al. (2003), em alguns casos a relação C:N não reflete a capacidade da população microbiana em acessar o C e N do material. Além de que, relação C:N muito baixa pode não fornecer energia suficiente ao metabolismo microbiano, desse modo, não favorecerá a mineralização.

Enquanto a gliricídia é considerada um adubo verde facilmente degradado por microrganismos, devido a sua relação C:N, além do teor de lignina e polifenóis.

Desse modo, não foi verificada contribuição da incubação da biomassa de gliricídia e inoculação microbiana na recuperação de N pelas fontes fertilizantes, mas a biomassa de folhas e ramos da gliricídia demonstrou eficiência superior ao farelo de mamona, nas condições estudadas, provavelmente devido a toxicidade do farelo de mamona, aplicado em excesso.

Porém, esses resultados necessitam de novos estudos para comprovação, uma vez que o farelo de mamona é o fertilizante vegetal mais utilizado na agricultura orgânica, sendo considerado extremamente eficiente no fornecimento de N às culturas, em especial aquelas de ciclo curto, como as hortaliças. Contudo, nem sempre está disponível ao agricultor, apresentando muitas vezes um custo bastante elevado, de modo que apresentar um fertilizante com eficiência semelhante seria uma grande vantagem, porém, necessita de avaliações para verificar esses resultados, em especial em relação a dose de N utilizada.

4.3.5 Eficiência de recuperação ¹⁵N

Para verificar a eficiência de recuperação dos fertilizantes desenvolvidos com a biomassa de gliricídia, foi realizado novo experimento com a biomassa marcada. Desse modo, após 21 dias de incubação, obteve-se os parâmetros a seguir, que foram comparados com a biomassa de gliricídia não inoculada e nem incubada (controle), e ao farelo de mamona (Tabela 19).

Tabela 19. Características gerais dos fertilizantes vegetais, biomassa de parte aérea (folha + caule) de gliricídia marcada, inoculada com as linhagens de leveduras e não inoculada (contendo somente meio inoculante), ambas seguidas de incubação por 21 dias, em comparação a biomassa não inoculada e nem incubada (controle) e ao farelo de mamona.

Tratamento	pH	CE	C total	N total	K total	P total	Ca total	Mg total
	(mS cm ⁻¹)			(g kg ⁻¹)				
Leveduras LF22	6,31 a ¹	4,92 b	431,24 a	27,76 b	11,24 a	2,28 b	5,35 b	4,60 a
Leveduras XMD	6,05 a	4,90 b	414,17 a	27,13 b	11,15 a	2,25 b	5,27 b	4,63 a
Leveduras LF22+XMD	6,03 a	4,90 b	410,80 a	27,53 b	11,07 a	2,32 b	5,55 b	4,84 a
Meio inoculante	6,02 a	5,03 b	410,96 a	26,52 b	10,96 a	2,16 b	5,11 b	4,57 a
Controle	6,04 a	6,51 a	410,97 a	26,76 b	9,69 a	1,48 c	5,29 b	3,38 c
Farelo de mamona	6,36 a	3,26 c	431,36 a	61,32 a	11,17 a	3,02 a	7,76 a	3,80 b
CV%	4,15	2,63	4,27	3,86	6,51	4,19	2,83	3,02

¹ Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$).

Não houve efeito significativo ($p \leq 0,05$) da incubação/inoculação no pH, relação C:N, teor de N, K e Ca, em que as médias permaneceram a mesma após o período de incubação, porém, houve aumento para o teor de P e Mg após incubação da biomassa, independente da inoculação da levedura.

O aumento no teor total de P e Mg pode ter ocorrido por perdas de C durante a incubação, devido a emissão de CO₂, porém por serem muito pequenas não foi possível detectar diferença no teor de C total, ou ainda pode estar associada a mineralização microbiana.

Para o índice clorofílog ou índice de clorofila Falker houve interação significativa ($p \leq 0,05$) doses x fontes, com diferença entre as fontes nas doses de 100, 200 e 300 kg N total ha⁻¹ (Tabela 20).

Tabela 20. Índice Clorofílog em folhas de milho cultivado em casa de vegetação, a partir da fertilização com biomassa de parte aérea (folha + caule) de gliricídia marcada, inoculada com as linhagens de leveduras e não inoculada (contendo somente meio inoculante), ambas seguidas de incubação por 21 dias, em comparação a biomassa não inoculada e nem incubada (controle) e ao farelo de mamona. CV=7,51%

Tratamento/dose	0	100	200	300	400
Leveduras LF22	14,33	16,28 b ¹	17,05 b	18,93 b	22,15 a
Leveduras XMD	14,33	16,05 b	17,70 b	20,58 b	21,48 a
Leveduras LF22+XMD	14,33	17,13 b	18,80 b	19,98 b	20,83 a

Meio inoculante	14,33	17,38 b	18,28 b	19,68 b	20,25 a
Controle	14,33	16,38 b	18,68 b	21,75 b	20,15 a
Farelo de mamona	14,33	19,18 a	22,60 a	25,48 a	22,35 a

¹ Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$).

O índice de clorofila é bastante utilizado como medida indireta do estado nutricional da planta, pois a intensidade do verde e a concentração de clorofila tem correlação com a concentração de N e o acúmulo de massa seca nas folhas (GIL et al., 2002; PORTO et al., 2014; BACELAR et al., 2015).

No presente trabalho o índice de clorofila foi mais alto para o milho cultivado com farelo de mamona com 100, 200 e 300 kg N ha⁻¹, porém, foi quase a metade do verificado por Costa et al. (2020), mas estes autores realizaram a análise aos 60 DAS e cultivaram o milho em diferente condição climática e sob condições de campo, utilizando doses de N ureia e sulfato de amônio.

Como citado por Bacelar et al. (2015), às condições edafoclimáticas, local, ano, cultivar entre outros fatores interferem nos valores do índice de clorofila foliar, dificultando as comparações.

De modo semelhante ao verificado para o índice de clorofila foliar aos 30 DAS, houve interação significativa ($p \leq 0,05$) doses x fontes para a produção de massa seca da parte aérea aos 40 DAS, com diferença entre os tratamentos nas doses de 100 e 200 kg N total ha⁻¹ (Tabela 21).

Tabela 21. Produção de massa seca da parte aérea do milho cultivado em casa de vegetação, a partir da fertilização com biomassa de parte aérea (folha + caule) de gliricídia marcada, inoculada com as linhagens de leveduras e não inoculada (contendo somente meio inoculante), ambas seguidas de incubação por 21 dias, em comparação a biomassa não inoculada e nem incubada (controle) e ao farelo de mamona. CV=7,35%

Fertilizante/dose	0	100	200	300	400
	(g vaso ⁻¹)				
Leveduras LF22	14,83	19,26 b ¹	26,22 b	28,12 a	30,19 a
Leveduras XMD	14,83	18,96 b	23,81 b	27,45 a	30,83 a
Leveduras LF22+XMD	14,83	20,63 b	26,58 b	28,16 a	28,90 a
Meio Inoculante	14,83	18,45 b	24,74 b	28,28 a	28,70 a
Controle	14,83	20,18 b	25,46 b	29,23 a	30,96 a
Farelo de mamona	14,83	25,47 a	29,47 a	30,43 a	25,79 b

¹ Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$).

Verificou-se que a dose de 200 kg de N total ha^{-1} em comparação a ausência da adubação com N, proporcionou aumento de 98% na massa seca da parte aérea do milho fertilizado com farelo de mamona, de 77% se fertilizado com a biomassa de gliricídia inoculada com a linhagem LF22, 79% quando fertilizado com a biomassa de gliricídia inoculada com a mistura das linhagens LF22 e XMD e de 67% se fertilizado com a biomassa de gliricídia não inoculada/incubada.

Não houve diferença estatística na produção de massa seca quando a dose utilizada foi de 300 kg de N total contido nas fontes fertilizantes aplicada por hectare, sendo a média de 29 g vaso^{-1} .

Ferreira et al. (2023) consideraram bom acúmulo de massa seca no milho valores acima de 4 Mg ha^{-1} , sendo que os autores verificaram máxima produção de massa seca ao aplicar 60 kg N ha^{-1} na forma de ureia, com 6,85 Mg ha^{-1} .

Enquanto Balbinot Junior et al. (2012) verificaram produção de massa seca média, para três genótipos de milho, igual a 5,8 Mg ha^{-1} após cinco cortes, de acordo com os autores as cultivares de milho tiveram resposta linear a adubação com “cama” de aviário, que variou entre 0 a 12 Mg ha^{-1} , sendo verificado ainda efeito residual desta fertilização.

A produção de massa seca no milho é um parâmetro de extrema importância, uma vez que a espécie é bastante utilizada como forrageira para bovinos. Devido as suas vantagens agrônomicas como rápido crescimento, elevada produção de massa verde e seca, alta tolerância à seca, alta capacidade de extração e recuperação de nutrientes, também é bastante utilizada como planta de cobertura e adubo verde (NETTO, 1998).

Segundo Porto et al. (2014), a massa seca da parte aérea expressa o acúmulo de biomassa pela planta em função da maior produção de aminoácidos e assimilados de carbono da fotossíntese, acarretada pelo fornecimento e absorção de nutrientes pela planta.

Foi possível verificar o efeito significativo ($p \leq 0,05$) das doses de N aplicadas pelas fontes fertilizantes (Figura 13).

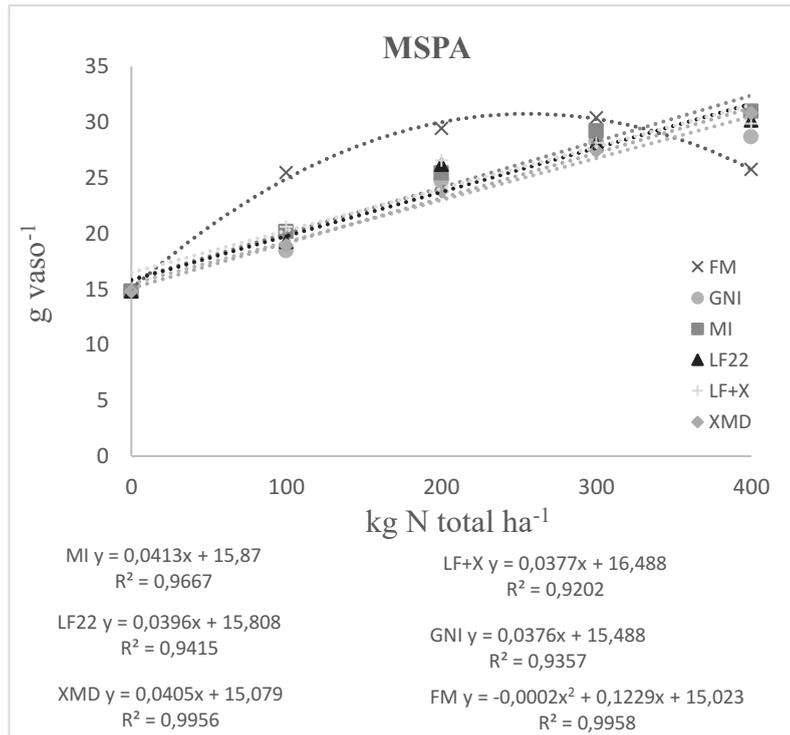


Figura 13. Produção de massa seca da parte aérea do milho cultivado em casa de vegetação, a partir fertilização com biomassa de parte aérea (folha + caule) de gliricídia marcada, inoculada com as linhagens de leveduras e não inoculada (contendo somente meio inoculante), ambas seguidas de incubação por 21 dias, em comparação a biomassa não inoculada e nem incubada (controle) e ao farelo de mamona.

Desse modo, verificou-se o ajuste dos dados de massa seca da parte aérea do milho ao modelo linear para fertilização com biomassa de gliricídia, de modo que para cada kg de N total aplicada por biomassa de gliricídia houve um ganho de 76 mg vaso⁻¹ na biomassa seca do milho, não verificando efeito diferenciado da inoculação e incubação da biomassa.

Enquanto para a fertilização com farelo de mamona houve ajuste dos dados ao modelo quadrático, em que a dose de máxima resposta foi 307,25 kg N contido no farelo de mamona, assegurando produção de massa seca da parte aérea do milho de 33,90 g vaso⁻¹, sendo que acima desta dose houve redução da produção de massa seca da parte aérea do milho.

Lima et al. (2011) também verificaram redução nos parâmetros de produção pelo aumento da dose de farelo de mamona, de acordo com os autores isso acontece pela rápida mineralização do N deste fertilizante, de modo que elevadas doses causam efeito fitotóxico pelo excesso de N mineral, tal fato não foi observado pela fertilização com a biomassa de gliricídia, que possivelmente possui mineralização mais lenta em relação ao farelo de mamona.

Para a produção de massa seca de raiz para o milho não houve efeito significativo ($p \leq 0,05$) doses x fontes fertilizantes, assim como para as fontes, verificou-se somente efeito de dose (Figura 14).

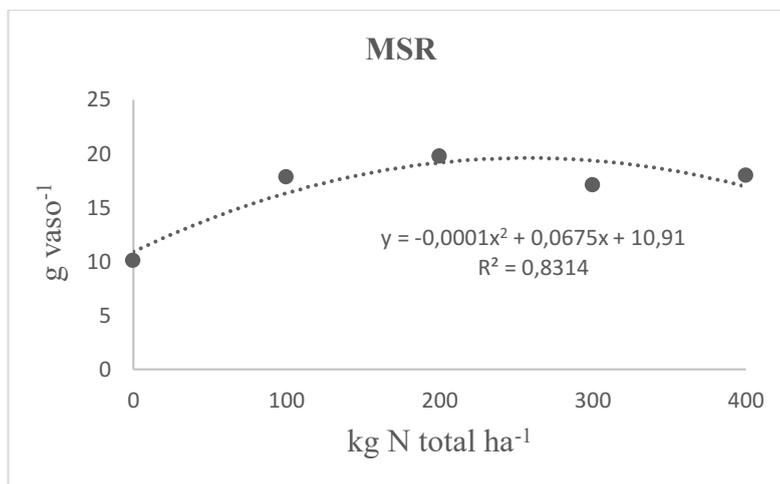


Figura 14. Produção de massa seca para raiz do milho cultivado em casa de vegetação, a partir da fertilização com a biomassa de parte aérea (folha + caule) de gliricídia marcada, inoculada com as linhagens de leveduras e não inoculada (contendo somente meio inoculante), ambas seguidas de incubação por 21 dias, em comparação a biomassa não inoculada e nem incubada (controle) e ao farelo de mamona.

Portanto, não houve diferença entre os fertilizantes na produção de massa seca de raízes do milho. É notório que a maior produção de raízes favorece as plantas na absorção de água e nutrientes, influenciando de forma direta ou indireta na sua produção, desse modo, todos os fertilizantes favoreceram igualmente na produção de raízes do milho. Sendo verificada maior a produção de raiz na dose de 337 kg de N total ha⁻¹, com 22,30 g vaso⁻¹, portanto aumento de 121% em relação à ausência de adubação.

Melo et al. (2015) também relataram influência das doses de N na produção de massa seca de raízes para o milho, sendo os dados ajustados ao modelo quadrático, com maior produção na dose de 148 kg ha⁻¹ de N ureia.

Enquanto para o teor total de massa seca total (parte aérea + raiz) houve efeito significativo ($p \leq 0,05$) doses x fontes fertilizantes (Tabela 22).

Tabela 22. Produção de massa seca total para o milho cultivado em casa de vegetação, a partir da fertilização com biomassa de parte aérea (folha + caule) de gliricídia marcada, inoculada com as linhagens de leveduras e não inoculada (contendo somente meio inoculante), ambas seguidas de incubação por 21 dias, em comparação a biomassa não inoculada e nem incubada (controle) e ao farelo de mamona.

CV=14,81%

Fertilizante/dose	0	100	200	300	400
	(g vaso⁻¹)				
Leveduras LF22	24,90	35,17 a ¹	52,30 a	45,21 a	53,80 a
Leveduras XMD	24,90	34,48 a	40,80 b	41,28 a	47,64 a
Leveduras LF22+XMD	24,90	38,61 a	51,35 a	45,05 a	50,26 a
Meio inoculante	24,90	38,31 a	39,96 b	46,43 a	47,65 a
Controle	24,90	36,97 a	42,58 b	46,19 a	46,26 a
Farelo de mamona	24,90	46,37 a	47,83 a	50,06 a	38,65 b

¹ Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (p≤0,05).

Verificou-se que na produção de massa seca total, não houve diferença estatística nas doses de 100 e 300 kg N total ha⁻¹, enquanto na dose de 200 kg N total ha⁻¹ a maior média foi para a fertilização com biomassa de gliricídia incubada com leveduras da linhagem LF22, que não diferiu estatisticamente da fertilização com a biomassa incubada com a mistura das linhagens LF22 e XMD e da fertilização com o farelo de mamona. Enquanto na dose de 400 kg N total ha⁻¹ verificou-se menor produção de massa seca para o farelo de mamona, que pode ter ocorrido pelo efeito fitotóxico do farelo de mamona em alta concentração.

Andrade (2020) verificou contribuição das leveduras em produção de raízes, destacando a linhagem LF22 por maior contribuição na biomassa seca de raízes do feijão, crescido em casa de vegetação, apesar de tal fato não ter sido observado no presente trabalho, pode estar relacionado a maior produção de massa seca total para os tratamentos contendo biomassa de gliricídia inoculada com leveduras da linhagem LF22 na dose de 200 kg N total ha⁻¹, em relação aos demais tratamentos contendo a biomassa de gliricídia em mesma dose.

Verificou-se melhor ajuste dos dados de massa seca total do milho ao modelo quadrático para a fertilização com a biomassa de gliricídia inoculada com as linhagens de leveduras (LF22 e LFF22+XMD), não inoculada (contendo somente meio inoculante) e farelo de mamona, enquanto para o restante houve aumento linear da massa seca total de acordo com a dose de N total dos fertilizantes (Figura 15).

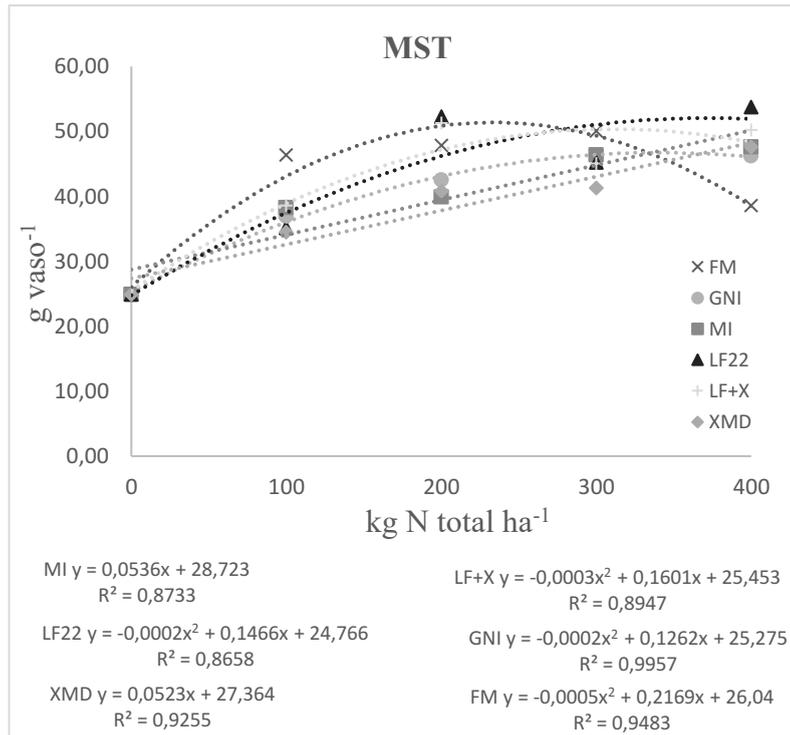


Figura 15. Produção de massa seca total para o milho cultivado em casa de vegetação, a partir da fertilização com biomassa de parte aérea (folha + caule) de gliricídia marcada, inoculada com as linhagens de leveduras e não inoculada (contendo somente meio inoculante), ambas seguidas de incubação por 21 dias, em comparação a biomassa não inoculada e nem incubada (controle) e ao farelo de mamona.

Aplicando os modelos matemáticos de segundo grau, verificou-se maior produção de massa seca total para o milho pela fertilização com a biomassa de gliricídia inoculada com a linhagem LF22, em que se obteve 52 g vaso⁻¹ com a dose com 367 kg N total ha⁻¹, porém, com menor dose (217 kg N total ha⁻¹) de farelo de mamona a produção foi de 49,5 g vaso⁻¹ enquanto para a biomassa de gliricídia não incubada com 316 kg N total ha⁻¹ obteve-se produção de massa seca igual a 45,25 g vaso⁻¹.

O farelo de mamona é um fertilizante com reconhecido efeito na fertilização das culturas e rápida mineralização, de acordo com Severino et al. (2004) sua mineralização é 6 vezes mais rápida que para o esterco bovino e 14 vezes maior que a do bagaço de cana, o que se deve a sua composição química e a relação C:N, sendo que no presente trabalho sua relação C:N foi de 7, enquanto os fertilizantes de biomassa de gliricídia (folhas e ramos) possui relação C:N de 15, portanto, possivelmente possuem mineralização mais lenta em relação ao farelo de mamona.

Em relação a concentração de N na parte aérea do milho também se verificou efeito significativo ($p \leq 0,05$) doses x fontes fertilizantes (Tabela 23).

Tabela 23. Concentração de N (g kg^{-1}) na parte aérea do milho cultivado em casa de vegetação, a partir da fertilização com biomassa de parte aérea (folha + caule) de gliricídia marcada, inoculada com as linhagens de leveduras e não inoculada (contendo somente meio inoculante), ambas seguidas de incubação por 21 dias, em comparação a biomassa não inoculada e nem incubada (controle) e ao farelo de mamona. CV=11,96%

Fertilizante ¹ /dose	0	100	200	300	400
	(g vaso ⁻¹)				
Leveduras LF22	10,07	11,60 a ¹	11,67 b	13,76 b	16,42 c
Leveduras XMD	10,07	11,62 a	11,72 b	14,70 b	16,10 c
Leveduras LF22+XMD	10,07	11,98 a	12,07 b	13,70 b	18,22 b
Meio inoculante	10,07	10,39 a	12,22 b	13,84 b	19,20 b
Controle	10,07	13,70 a	13,15 b	15,22 b	15,79 c
Farelo de mamona	10,07	11,69 a	15,40 a	19,34 a	28,93 a

¹ Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$).

No presente trabalho verificou-se que para todas as doses de N fertilizante aplicada, independente da fonte, a concentração de N na parte aérea estava dentro da faixa considerada ótima por Malavolta et al. (1997), que está entre 11,3 e 18,0 g kg^{-1} .

Semelhante a Melo et al. (2015) houve aumento de N na parte aérea do milho de acordo com a dose de N fertilizante aplicada.

Houve efeito significativo ($p \leq 0,05$) doses x fontes fertilizantes também para a concentração de N na parte aérea + raiz do milho e no N total acumulado no milho (Figura 16).

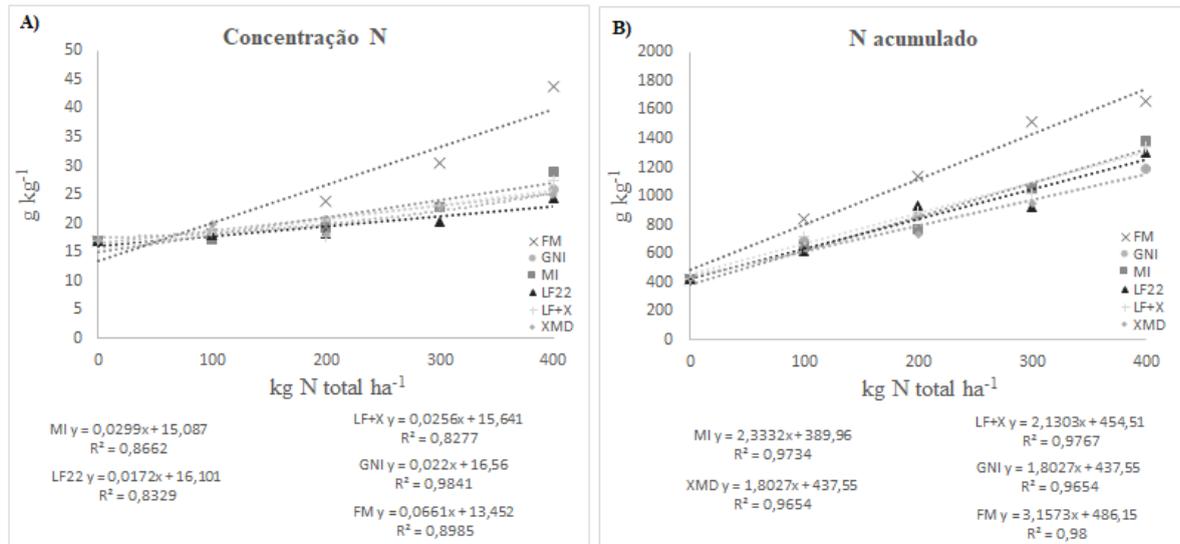


Figura 16. Concentração de N e N acumulado no milho (parte aérea + raiz) cultivado em casa de vegetação, a partir da fertilização com biomassa de parte aérea (folha + caule) de gliricídia marcada, inoculada com as linhagens de leveduras e não inoculada (contendo somente meio inoculante), ambas seguidas de incubação por 21 dias, em comparação a biomassa não inoculada e nem incubada (controle) e ao farelo de mamona.

Assim como para a produção de massa seca da parte aérea, verificou-se ajuste da maioria dos dados de concentração de N e N acumulado ao modelo linear. Um aumento linear da concentração de N em plantas jovens é esperado, como resposta do aumento da dose de N fertilizante fornecido a planta e da alta mobilidade desse nutriente nas plantas.

Lima et al. (2011) também verificaram aumento linear na concentração de N, o que segundo esses autores deve-se a maior disponibilização do N mineral (amônio e nitrato), no caso dos autores pelo fertilizante farelo de mamona.

Segundo Braz et al. (2004) o milho possui a capacidade de acumular elevado teor de nutrientes, como o nitrogênio, e em menor período de tempo, em comparação a outras gramíneas como a braquiária, o que estimula a utilização desta planta na adubação verde.

A partir das equações de primeiro grau obtidas, estima-se que para cada kg de N aplicado pelos fertilizantes de biomassa de gliricídia houve acúmulo no milho de 3 g kg⁻¹ de planta, enquanto para o farelo de mamona esse acúmulo foi de 4,3 g kg⁻¹ de planta.

Em relação ao teor de ¹⁵N em excesso na parte aérea do milho e a eficiência de recuperação de ¹⁵N, verificou-se que não há efeito significativo ($p \leq 0,05$) doses x fontes N fertilizantes, nem efeito de dose ou das fontes (Tabela 24).

Tabela 24. Teor de ^{15}N em excesso e eficiência de recuperação (ER) de ^{15}N na parte aérea do milho cultivado em casa de vegetação, a partir da fertilização com biomassa de parte aérea (folha + caule) de gliricídia marcada, inoculada com as linhagens de leveduras e não inoculada (contendo somente meio inoculante), ambas seguidas de incubação por 21 dias, em comparação a biomassa não inoculada e nem incubada (controle).

Tratamento	Meio inoculante	Leveduras LF22	Leveduras XMD	Leveduras LF+X	Controle	CV (%)
^{15}NNV (%)	1,235	1,221	1,225	1,236	1,257	-
^{15}N excesso (%)	0,697 a ¹	0,679 a	0,684 a	0,693 a	0,688 a	3,06
ER (%)	32,26 a	30,26 a	29,83 a	31,56 a	31,19 a	12,46
N acumulado (g kg ⁻¹)	856,60 a	839,71 a	798,09 a	880,57 a	840,98 a	12,60

¹ Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$).

A porcentagem média de ^{15}N em excesso foi de 0,688, portanto superior aos valores encontrados por Santos (2017) em um estudo de campo, no qual foi feita marcação de 3% de átomos de ^{15}N em excesso na biomassa de gliricídia, que foi aplicada durante o cultivo da alface como N-verde granulado (protótipo nº 1), sendo observado valores entre 0,268 a 0,477% de ^{15}N em excesso nas folhas de alface. Sendo superior também a média verificada no capítulo 1 do presente trabalho para o N-verde (protótipo nº2) em condições de campo, que foi de 0,480% na primeira coleta da cebolinha, reduzindo nas coletas posteriores. Porém, ambos estudos foram realizados em condições de campo e tal fato pode se dar pelas maiores perdas de N nestas condições.

Assim como para a eficiência de recuperação de ^{15}N em que a média foi de 31,02, enquanto Santos (2017) verificou máxima de 12,61% para o N-verde protótipo nº 1, a no capítulo 1 do presente trabalho verificou-se 7,41% para o N-verde protótipo nº 2. Assim como citado, é de conhecimento geral que nos cultivos a campo as perdas de N por lixiviação e volatilização são maiores devido à dificuldade de controlar os fatores climáticos.

Vale ressaltar que o N-verde foi formulado somente com as folhas da gliricídia, enquanto a biomassa da gliricídia, trabalhada no presente capítulo, foi constituída com toda a parte aérea da gliricídia, ou seja, com folhas e ramos, possivelmente material mais lignificado, desse modo, uma boa eficiência de recuperação de ^{15}N nesses fertilizantes significa uma vantagem para o seu uso.

Porém, não houve diferença estatística entre os tratamentos, desse modo, a incubação da biomassa da gliricídia com meio inoculante ou com as linhagens de levedura LF22 e XMD,

isolada ou em mistura, não trouxeram contribuição na recuperação de N, sendo a média semelhante a biomassa de gliricídia não inoculada e nem incubada (controle), portanto, não justificando sua aplicação, nas condições estudadas.

4.4 CONCLUSÕES

Conclui-se que a biomassa de folhas e ramos da gliricídia possui um bom potencial como fertilizante, possibilitando aumento na produtividade de massa fresca e seca das gramíneas aveia preta e milho, em condições de casa de vegetação.

Sendo que a fertilização com a biomassa de folhas e ramos de gliricídia, aumentou em até 150% a produção de massa seca da aveia preta, de modo semelhante ao farelo de mamona.

Assim como na produção de massa seca no cultivo do milho, em que a fertilização com o farelo de mamona ou a biomassa de folhas e ramos de gliricídia proporcionou ganhos semelhantes, estando próximos a 100% da massa seca do milho, porém, para a produção de aproximadamente 30 g vaso⁻¹ se faz necessário aplicação de 400 kg N total de biomassa de folhas e ramos de gliricídia por hectare, enquanto para mesma produção utilizando o farelo de mamona 300 kg N total por hectare se mostra suficiente.

Nas condições estudadas a incubação da biomassa de folhas e ramos de gliricídia com as linhagens LA22 e LF22 (*Torulaspora indica*) e com a linhagem XMD (*Spathaspora suhii*) e com produto comercial Embiotic, não possibilitaram aumento de produtividade das gramíneas e nem da eficiência de recuperação de N.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O N-verde, protótipo nº 2, formulado com biomassa peletizada de folhas da gliricídia, mostra eficiência agronômica semelhante ao farelo de mamona, em sistema orgânico de produção de cebolinha nas condições climáticas da Baixada Fluminense, torna-se importante que novos estudos envolvendo outras culturas, em condições edafoclimáticas distintas sejam conduzidos, de forma a validar amplamente o emprego deste fertilizante.

A hipótese posta sob teste, de que a inoculação de leveduras na biomassa de folhas e ramos da gliricídia, aumentaria a disponibilização de N, foi rejeitada no presente estudo, tendo como base a eficiência de recuperação de ^{15}N , este resultado remete à necessidade de estudos envolvendo novas estratégias, que contribuam para aumentar a taxa de mineralização do N contido na biomassa da *Gliricidia sepium*.

O fertilizante N-verde protótipo nº 2, possui efeito residual conforme verificado pelas colheitas consecutivas na cebolinha, desse modo, a fertilização com a biomassa de folhas e ramos da gliricídia proporciona mais esse benefício, pois materiais mais lignificados levam maior tempo para se decomporem.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABOYEJI, C.M.; OLANIYAN, D.O.; DUNSIN, O.; ADEKIYA, A.O.; OKUNLOLA, F.O.; EJUE, S.W.; ADEBIYI, O.T.V.; OLOFINTOYE, T.A.J.; AREMU, C.O.; AFOLAYAN, J.O.; ADENIYI, H.A. Physiological growth, yield and quality responses of okra to sole and combined soil application of green biomass, poultry manure and inorganic fertilizers. *Plant Physiology*, v.26, n. 4, p. 709–721, 2021.

ABREU, M.F.; ABREU JUNIOR, C.H.; SILVA, F.C.; SANTOS, G.C.G.; ANDRADE, J.C.; GOMES, T.F.; COSCIONE, A.R.; ANDRADE, C.A. Análises químicas de fertilizantes orgânicos (urbanos). In: **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**, Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, 2009, 627 p.

AITA, C.; GIACOMINI, J. Decomposição e liberação de nitrogênio de resíduos culturais de plantas de cobertura de solo solteiras e consorciadas. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, v. 27, n. 4, 2003.

ALMEIDA, M. M. T. B.; LIXA, A. T. SILVA, E. E, AZEVEDO, P. H. S.; DE-POLLI, H.; RIBEIRO, R. L. D.; Fertilizantes de leguminosas como fontes alternativas de nitrogênio para produção orgânica de alface. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 6, p. 675-682, 2008.

ALMEIDA, M. M. T. B. **Fertilizantes de leguminosas: autossuficiência de nitrogênio em sistemas orgânicos de produção**. 145p. Tese (Doutorado em Fitotecnia). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2012.

ANDRADE, Kerly Martínez. **Bioprospecção, Caracterização e Seleção de Leveduras Promotoras de Crescimento Vegetal em Plantas Arroz e Feijão**. 86p. Tese (Doutorado em Agronomia, Ciência do Solo). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2020.

ARAÚJO, E. S.; ARAÚJO, F. C. D.; GONÇALVES JÚNIOR, M.; PEREIRA, B. C. J.; JOSÉ GUILHERME MARINHO GUERRA, J. G.; ESPINDOLA, J. A.; ALVES, B. J.; CORREIA, M. E. F.; RISSO, I. A. M.; SANTOS, S. S.; SILVA, C. S. R. A.; REZENDE, A. L. P. S., MELLO, G. A. B.; SANTOS, C. M.; SILVA, F. M. B. **Sistema mecanizado de produção de**

biomassa de gliricídia. Embrapa Agrobiologia, Seropédica, 2024. (Comunicado Técnico 152).

ARAÚJO, E.S.; GUERRA, J.G.M.; ESPINDOLA, J.A.A.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R.M.; MARTELLETO, L.A.P.; ALVES, J.R. Recuperação no sistema solo-planta de nitrogênio derivado da adubação verde aplicada à cultura do repolho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 7, p. 729-735, 2011.

ARAÚJO, J.L.; FAQUIN, V.; BALIZA, D.P.; ÁVILA, F.W.; GUERRERO, A.C. Crescimento e nutrição mineral de cebolinha verde cultivada hidroponicamente sob diferentes concentrações de N, P e K. **Revista Ceres**, v. 63, n.2, p. 232-240, 2016.

ARAÚJO, E.S.; MARSOLA, T.; MIYAZAWA, M.; SOARES, L.H.B.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R.M.; ALVES, B.J.R. Calibração de câmara semiaberta estática para quantificação de amônia volatilizada do solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 7, p. 769-776, 2009.

ARAÚJO, E.S.; SILVA, B.F.; CHIEZA, E.D.; URQUIAGA, S.; GUERRA, J.G.M.; COSTA, J.R.; ESPÍNDOLA, J.A.A. Comparison of ¹⁵N isotope methods to determine the recovery efficiency of nitrogen from green manure. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.54, e00721, 2019.

ARAÚJO, K.E.C.; VERGARA, C.; SANTOS, R.C.; SANTOS, W.M.; SOUZA, R.F.; SILVA, C.F.; GUIMARÃES, A.P.; JANTALIA, C.P.; URQUIAGA, S.; ARAÚJO, E.S.; ALVES, B.J.R.; BODDEY, R.M. (2022) Can ¹⁵N leaf-labelling reliably quantify rhizodeposited nitrogen remaining after a nodulated legume crop? **Nutr Cycl Agroecosyst**, v. 125, p.235-260, 2023.

ARAÚJO, V.F.; SILVA, E.S.B.; MORESCO, C.; ULBINSKI, A.F. Utilização do resíduo de “cama” de frango em diferentes dosagens na produção da cebolinha. **Revista Ciências Exatas e da Terra e Ciências Agrárias**, v. 12, n. 1, p. 36-44, 2017.

ARRUTIA, F.; BINNER, E.; WILLIAMS, P.; WALDRON, K.W. Oilseeds beyond oil: Press cakes and meals supplying global protein requirements. *Trends in Food Science & Technology*, v. 100, p. 88-102, 2020.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE TECNOLOGIA EM NUTRIÇÃO VEGETAL – ABISOLO. (2018). *Anuário brasileiro de tecnologia em nutrição vegetal*. IV ed. 175p.

BACELAR, B.M.S.; SALMAN, A.K.D.; ALVES, E.A.; CRUZ, P.G.; MENDES, A.M. **Uso do medidor de clorofila portátil (clorofilômetro) na adubação nitrogenada de pastagens**. Porto Velho, RO: Embrapa Rondônia, 2015, 21p. (Documentos 161).

BALBINOT JUNIOR, A.A.; HANISCH, A.L.; VOGT, G.A. Produtividade de forragem em três genótipos de milho em diferentes doses de “cama” de aviário. *Revista de Ciências Agroveterinárias*, v. 11, n. 1, p. 63-69, 2012.

BARRETO, A.C.; FERNANDES, M.F.; CARVALHO FILHO, O.M. **Cultivo de Alamedas de Gliricídia (*Gliricidia sepium*) em Solos da Tabuleiros Costeiros**. Aracaju, SE: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2004. (Circular Técnica 36).

BELFORT, C.C.; HAAG, H.P. Nutrição mineral de hortaliças – LVI – **Carência de macronutrientes em cebolinha (*Allium schoenoprasum*)**. Anais da E.S.A. “Luiz de Queiroz”. v. XL, 1983.

BELLAVER, C. & NONES, K. **A importância da granulometria, da mistura e da peletização da ração avícola**. In: IV Simpósio Goiano de Avicultura, Goiânia, 2000. Disponível em: http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc_arquivos/palestras_t8l15r4z.pdf
Acesso em: 8 de agosto de 2019.

BERNERT, M.R.; ESCHEMBACK, V.; JADOSKI, S.O.; LIMA, A.S.; POTT, C.A. Características do pH e condutividade elétrica no manejo de fertirrigação. *Applied Technology for Agricultural Science*, v. 8, n. 1, p. 80-87, 2015.

BHATT, N.; BUDDHI, D.; SUTHAR, S. Synthesizing biochar-based slow-releasing fertilizers using vermicompost leachate, cow dung, and plant weed biomass. *Journal of Environmental Management*, v. 326, Part B, 116782, 2023.

BRADSHAW, T.; HAGEN, K. Wool Pellets Are a Viable Alternative to Commercial Fertilizer for Organic Vegetable Production. *Agronomy*. v. 12, n. 5, 1210, 2022.

BRASIL. Lei nº 10.831, de 23 de dezembro de 2003. Dispõe sobre a agricultura orgânica e dá outras providências. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sustentabilidade/organicos/legislacao/portugues/lei-no-10-831-de-23-de-dezembro-de-2003.pdf/view> Acesso em: 20 de setembro de 2019.

BRAZ, A.J.P.; SILVEIRA, P.M.; KLIEMANN, H.J.; ZIMMERMANN, F.J.P. Acumulação de nutrientes em folhas de milho e dos capins braquiária e Mombaça. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, v. 34, n. 2, p. 83-87, 2004.

BUSBY, P.E., SOMAN, C.; WAGNER, M.R.; FRIESEN, M.L.; KREMER, J.; BENNETT, A.; MORSY, M.; EISEN, J.A.; LEACH, J.E.; DANGL, J.L. Research priorities for harnessing plant microbiomes in sustainable agriculture. *PLOS Biology*, v. 15, n. 3, 2017.

CABEZAS, W.A.R.L. Manejo de nitrogênio no cerrado em sistema plantio direto: Resultados de trabalhos utilizando o isótopo estável ¹⁵N. *Alfa, Revista de Investigación en Ciencias Agronómicas y Veterinarias* v.1, n.3, p. 74-87, 2017.

CADETE, R.M.; LOPES, M.R.; ROSA, C.A. Yeasts Associated with Decomposing Plant Material and Rotting Wood. In: P. Buzzini et al. (eds.), *Yeasts in Natural Ecosystems: Diversity*, cap. 9, 2017.

CADETE, R.M.; MELO, M.A.; ZILLI, J.E.; VITAL, M.J.S.; MOURO, A.; PROMPT, A.H.; GOMES, F.C.O.; STAMBUK, B.U.; LACHANCE, M.A.; ROSA, C.A. *Spathaspora brasiliensis* sp. nov., *Spathaspora suhii* sp. nov., *Spathaspora roraimanensis* sp. nov. and *Spathaspora xylofermentans* sp. nov., four novel D-xylose-fermenting yeast species from Brazilian Amazonian forest. *Antonie Van Leeuwenhoek*. v. 7, n. 8, 2012.

CARDOSO, E.J.B.N.; ANDREOTE, F.D. **Microbiologia do solo** (recurso eletrônico). 2.ed. Piracicaba: ESALQ, 2016.

CARDOSO MO; BERNI, RF. Índices agronômicos na cebolinha com doses de sulfato de amônio. *Horticultura Brasileira*, v. 30, n. 2, p. 2375-2382, 2012.

CARVALHO, C.B.M.; SILVA, S.F.; CARNEIRO, M.S.S.; EDVAN, R.L.; PEREIRA, E.S. Composição química de silagem e feno de *Gliricídia sepium* em diferentes alturas de resíduo. **Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.**, Salvador, v. 18, n. 2, p. 239-248, 2017.

CARVALHO, D.F.; SILVA, L.D.B.; FOLEGATTI, M.V.; COSTA, J.R.; CRUZ, F.A. Avaliação da evapotranspiração de referência na região de Seropédica - RJ utilizando lisímetro de pesagem. *Revista Brasileira de Agrometeorologia*, v. 14, n. 2, p. 1-9, 2006.

CARVALHO FILHO, O. M. **Silagem de leucena e de gliricídia como fontes proteicas em dietas para vacas em lactação tendo como único volumoso a palma forrageira semi-desidratada**. Petrolina: EMBRAPA-CPATSA, 1999, 6p. (Comunicado Técnico, 82).

CARVALHO FILHO, O. M. de; DRUMOND, M.A.; LANGUIDEY, P.H. **Gliricidia sepium, leguminosa promissora para regiões semiáridas**. Petrolina: EMBRAPA-CPATSA, 1997, 16p. (Circular Técnica, 35).

CARVALHO, I.T. **Microbiologia básica**. EDUFRPE, Recife, 2010. 108p.

CARVALHO, D.F.; SILVA, L.D.B.; FOLEGATTI, M.V.; COSTA, J.R.; CRUZ, F.A. Avaliação da evapotranspiração de referência na região de Seropédica - RJ, utilizando lisímetro de pesagem. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, v. 14, n. 2, p. 108-116, 2006.

CHIEZA, E.D.; ARAÚJO, E.S.; GUERRA, J.G.M.; ESPINDOLA, J.A.A.; LEAL, M.A.A.; ROUWS, J.C.R.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R.M.; ALVES, B.J.R. (2011). **Marcação de leguminosa com ^{15}N para estudos da dinâmica de N, derivado de adubo verde no sistema**

solo-planta. Embrapa Agrobiologia, Seropédica. 16 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 72).

COSTA, L.S. **Cultivo Simultâneo de *Paraburkholderia tropica* e *Gluconacetobacter diazotrophicus* para a Produção de Inoculante**. 48 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Ciência do Solo). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2018.

CRUZ, A.C.; PEREIRA, F.S.; FIGUEIREDO, V.S. **Fertilizantes organominerais de resíduos do agronegócio: avaliação do potencial econômico brasileiro**. BNDES Setorial 45, 2017. Disponível em: https://web.bndes.gov.br/bib/jspui/bitstream/1408/11814/1/BS%2045%20Fertilizantes%20organominerais%20de%20res%C3%ADduos%20%5b...%5d_P_BD.pdf Acesso em: 14 de agosto de 2022.

DOBEREINER, G.I. Anais da IV reunião latino americana sobre inoculantes para leguminosas. Porto Alegre, pág.84, 1968.

DRUMOND, M. A.; CARVALHO FILHO, O. M. *Gliricídia*. In: KIILL, L. H. P.; MENEZES, E. A. **Espécies vegetais exóticas com potencialidades para o Semiárido brasileiro**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005, 340p.

DRUMOND, M.A. & CARVALHO FILHO, O.M. Introdução e avaliação da *Gliricidia sepium* na região semi-árida do Nordeste Brasileiro. In: QUEIRÓZ, M. A.; GOEDERT, C. O.; RAMOS, S. R. R. (Ed.) **Recursos genéticos e melhoramento de plantas para o Nordeste brasileiro**. Versão 1.0, 1999. Petrolina: Embrapa Semi-Árido /Brasília-DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Disponível em: <http://www.cpatas.embrapa.br:8080/catalogo/livrorg/gliricidia.pdf> Acesso em: 27 de julho de 2019.

EIRAS, P.P. & COELHO, F.C. **Adubação verde na cultura do milho**. Manual Técnico 28. Niterói: Programa Rio Rural, 2010, 14 p.

EMAMI, S.; ALIKHANI, H.A.; POURBABAEI, A.A.; ETESAMI, H. Consortium of endophyte and rhizosphere phosphate solubilizing bacteria improves phosphorus use efficiency in wheat cultivars in phosphorus deficient soils. **Rhizosphere**, v. 14, 2020.

ESPINDOLA, J. A. A.; GUERRA, J. G. M.; DE-POLLI, H.; ALMEIDA, D. L. de; ABBOUD, A. C. de S. **Adubação verde com leguminosas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. 49p. (Coleção Saber).

FAO. *The state of the world's land and water resources for food and agriculture – Systems at breaking point. Synthesis report* 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.4060/cb7654en>
Acesso em: 20 de novembro de 2022.

FAOSTAT (2020). Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/RFN/visualize>
Acesso em: 28 de abril de 2023.

FEDDERN, V.; FURLONG, E.B.; SOARES, L.A. Efeitos da fermentação nas propriedades físico-químicas e nutricionais de farelo de arroz. **Ciência Tecnologia Alimentos**, v. 27, n. 4, p. 800-804, 2007.

FERREIRA, D.F. **Software Sisvar: versão 5.8**. Lavras: DEX/ UFLA, 2003.

FERREIRA, L.E.; FRANÇA, A.F.S.; FLORES, R.A.; FERREIRA, R.N.; BASTO, D.C.; SILVA, W.L.; BAUER, L.O. Biomassa, composição químico-bromatológica de cultivares de milho submetidos a adubação nitrogenada, com e sem inoculante bacteriano. **Brazilian Journal of Development**, v. 9, n. 3, p. 11054-11071, 2023.

FILGUEIRA, F.A.R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 3. ed. Viçosa: UFV, 2008. 421 p.

FLORENTINO, L.A.; REZENDE, A.V.; MESQUITA, A.C.; LIMA, A.R.S.; MARQUES, D.J. MIRANDA, J.M. Diversidade e potencial de utilização dos rizóbios isolados de nódulos de *Gliricidia sepium*. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 37, n. 3, p. 320-328, 2014.

FRANCO, A.A.; DOBEREINER, J. Especificidade hospedeira na simbiose com *Rhizobium-Feijão* e influência de diferentes nutrientes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 2, p. 467-474, 1967.

FREITAS, G.B.; ROCHA, M.S.; SANTOS, R.H.S.; FREITAS, L.M.S.; RESENDE, L.A. Broccoli yield in response to top-dressing fertilization with green manure and biofertilizer. **Revista Ceres**, v. 58, n. 5, p. 645-650, 2011.

FUCHS, M.; FRICK, H.; MOINET, G.Y.K.; MAYER, M.; BUNEMANN, E.K. Residual nitrogen from slurry and mineral fertiliser two years after application: Fractionation and plant availability. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 177, 2023.

GAVA, G.J.C.; OLIVEIRA, M.W.; SILVA, M.A.; JERÔNIMO, E.M.; CRUZ, J.C.S.; TRIVELIM, P.C.O. Produção de fitomassa e acúmulo de nitrogênio em milho cultivado com diferentes doses de ¹⁵N-uréia. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 4, p. 851-862, 2010.

GEBRETSADIK, K.; DECHASSA, N. Response of Onion (*Allium cepa* L.) to nitrogen fertilizer rates and spacing under rain fed condition at Tahtay Koraro, Ethiopia. **Scientific Reports**, v. 8, 2018.

GENG, Y.; WANG, J.; SUN, Z.; JI, C.; HUANG, M.; ZHANG, Y.; XU, P.; LI, S.; PAWLETT, M.; ZOU, J. Soil N-oxide emissions decrease from intensive greenhouse vegetable fields by substituting synthetic N fertilizer with organic and bio-organic fertilizers. **Geoderma**, v. 383, 2021.

GIL, P.T.; FONTES, P.C.R.; CECON, P.R.; FERREIRA, F.A. Índice SPAD para o diagnóstico do estado de nitrogênio e para o prognóstico da produtividade da batata. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 4, p. 611-615, 2002.

GIZ, P.M.; SMITH, C.J. ¹⁵N methodologies for estimating the transfer of N from legumes to non-legumes in crop sequences. **Nutrient Cycling Agroecosyst**, v. 107, n. 3, 2017.

GOMES, E.A.; SILVA, U.C.; PAIVA, C.A.O.; LANA, U.G.P.; MARRIEL, I.E. SANTOS, V.L. **Microrganismos promotores do crescimento de plantas**. Embrapa Milho e Sorgo, 2016. 51p. (Documentos 208).

GONÇALVES JUNIOR, M. **Manejo de poda de *Gliricidia sepium* e utilização do resíduo como cobertura morta no cultivo de hortaliças em sistema orgânico**. 151p. Tese (Doutorado em Fitotecnia). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2017.

GOULART, J.M. **Estratégias de produção in situ de biomassa de leguminosas arbustivas e arbórea para confecção de compostos fermentados empregados na fertilização de cenoura e alface consorciadas em cultivo orgânico**. 78p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2020.

GUERRA, J.G.M.; ESPINDOLA, J.A.A.; ARAÚJO, E.S.; LEAL, M.A.A.; ABBOUD, A.C.S.; ALMEIDA, D.L.; DE-POLLI, H.; NEVES, M.C.P.; RIBEIRO, R.L.D. Adubação verde no cultivo de hortaliças. In: FILHO, O.F.L.; AMBROSANO, E.J.; WUTKE, E.B.; ROSSI, F.; CARLOS, J.A.D. **Adubação verde e plantas de cobertura no Brasil: fundamentos e prática**. vol. 2, 2. ed. Brasília, DF: Embrapa, 2023. 586p

HEREDIA ZÁRATE, N.A.; MATTE, L.C.; VIEIRA, M.C.; GRACIANO, J.D.; HEID, D.M.; HELMICH, M (2010) Amontoas e cobertura do solo com cama-de-frango na produção de cebolinha, com duas colheitas. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 32, n. 3, p. 449-454, 2010.

HEREDIA ZÁRATE, N.A.; VIEIRA, M.C.; BRATTI, R. Efeitos da cama-de-frangos e da época de colheita sobre a produção e a renda bruta da cebolinha “todo ano”. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 33, n. 2, p. 73-78, 2003.

HEREDIA ZÁRATE, N.A.; VIEIRA, M.C.; DIMAS GRACIANO, J.; PEREIRA GASSI, R.; BENEDITO ONO, F.; HELAISE AMADORI, A. Produção de cebolinha, solteira e consorciada com rúcula, com e sem cobertura do solo com cama-de-frango **Semina: Ciências Agrárias**, v. 27, n. 4, p. 505-513, 2006.

HOSSAIN, M.E.; MEI, X.; ZHANG, W.; DONG, W.; YAN, Z.; LIU, X.; RACHIT, S.; GOPALAKRISHNAN, S.; LIU, E. (2021) Substitution of Chemical Fertilizer with Organic Fertilizer Affects Soil Total Nitrogen and Its Fractions in Northern China. **International Journal of Environmental Research Public Health**. v. 18, n. 23, 2021.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M.A. Fixação biológica do nitrogênio. In: MEYER, M.C. et al. **Bioinsumos na cultura da soja**. Brasília, DF: Embrapa, 2022. 550p.

INTO, P.; KHUNNAMWONG, P.; JINDAMORAGOT, S.; AM-IN, S.; INTANOO, W.; LIMTONG, S. Yeast Associated with Rice Phylloplane and Their Contribution to Control of Rice Sheath Blight Disease. **MDPI Microorganisms**, v. 8, n. 3, 2020.

INÁCIO, T.; URQUIAGA, S. **Aplicações da análise de isótopos estáveis na agricultura**. Dados eletrônicos. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2017. 52 p.

JAMA, A.; WIDIASTUTI, D.P.; GAFUR, S.; DAVIS, J.G. (2023) Azolla Biofertilizer Is an Effective Replacement for Urea Fertilizer in Vegetable Crops. **Sustainability**, v. 15, n. 7, 2023.

JARREL, W.M.; BEBERLY, R.B. The Dilution Effect in Plant Nutrition Studies. **Advances in Agronomy**, v. 34, p.197-224, 1981.

JIANG Li-hua, LIU Zhao-hui, ZHANG Wen-jun, CHEN Qing, ZHENG Fu-li, WANG Mei, LIN Hai-tao. Study on the effect of nitrogen on green Chinese onion yield and N supplying target value[J]. **Journal of Plant Nutrition and Fertilizers**, v. 13, n. 5, p. 890-896, 2007.

KABA, J.S.; ZERBE, S.; AGNOLUCCI, M.; SCANDELLARI, F.; ABUNYEWA, A.A.; GIOBANNETTI, M.; TAGLIAVINI, M. Atmospheric nitrogen fixation by gliricidia trees (*Gliricidia sepium* (Jacq.) Kunth ex Walp.) intercropped with cocoa (*Theobroma cacao* L.). **Plant Soil**, v. 435, p. 323–336, 2019.

KEYA, S.S.; MIAH, M.G.; RAHMAN, M.A.; ISLAM, M.T. (2020) Aplicação de *Gliricidia sepium* Tree Leaves and Nitrogen Fertilizer to Improve Tomato Production and Soil Properties. **Annals of Bangladesh Agriculture**, v. 24, n. 1, p. 77-87, 2020.

KYAKUWAIRE, M.; OLUPOT, G.; AMODING, A.; NKEDI-KIZZA, P.; BASAMBA, T.A. How Safe is Chicken Litter for Land Application as an Organic Fertilizer?: A Review. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 16, n. 19, 2019.

KONSUE, W.; DETHOUP, T.; LIMTONG, S. Biological Control of Fruit Rot and Anthracnose of Postharvest Mango by Antagonistic Yeasts from Economic Crops Leaves. **MDPI Microorganisms**, v. 8, n. 3, 2020.

KOWALSKA, J.; TYBURSKI, J.; MATYSIAK, K.; TYLKOWSKI, B.; MALUSÁ, E. Field Exploitation of Multiple Functions of Beneficial Microorganisms for Plant Nutrition and Protection: Real Possibility or Just a Hope? **Front. Microbiol.**, v. 11, 2020.

LEAL, M.A.A.; MATEUS, J.S.; AQUINO, A.M.; SANTOS, S.S. **Avaliação da recuperação de nitrogênio contido em diferentes fertilizantes orgânicos por meio de bioensaio.** Embrapa Agrobiologia, Seropédica, 2010. 16 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 63).

LI, Y.; JIANG, X.; HOU, C.; JIANG, J.; LI, Z. Study on free amino acid and short peptide fertilizer production by solid state fermented castor bean meal. **Agricultural Biotechnology**, v. 9, n. 6, p. 88-91, 2020.

LI, X.; WANG, Y.; FENG, G.; XU, Z.; MENG, F.; GAO, Q. Differential fertilizer nitrogen fates in maize cropping system among three soil textures based on ¹⁵N. **Field Crops Research**, v. 291, 2023.

LIMA, S.K.; GALIZA, M.; VALADARES, A.; ALVES, F. **Produção e consumo de produtos orgânicos no mundo e no Brasil.** Texto para discussão 2538, Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada, Brasília: Rio de Janeiro: IPEA, 2020.

LIMA, R.L.S.; SEVERINO, L.S.; SAMPAIO, L.R.; SOFIATTI, V.; GOMES, J.A.; BELTRÃO, N.E.M. Blends of castor meal and castor husks for optimized use as organic fertilizer. **Industrial Crops and Products**, v. 33, n. 2, p. 364–368, 2011.

LIU, SONGZHONG.; HE HONGJU; FENG, GU; CHEN QING. Effect of nitrogen and sulfur interaction on growth and pungency of different pseudostem types of Chinese spring onion (*Allium fistulosum* L.). **Scientia Horticulturae**, v. 121, n. 1, 2009.

LIYANAGE, M.S.; DANSO, S.K.A.; JAYASUNDARA, H.P.S. Biological nitrogen fixation in four *Gliricidia sepium* genotypes. **Plant and Soil**, v. 161, p. 267-274, 1994.

LOPES, A. C. A., Nascimento, W. M. **Peletização em sementes de hortaliças**. Embrapa Hortaliças, Brasília, 2012. 28 p. (Documentos, 137).

LOPES, E.C.P.; MORAES, A.; LANG, C.R. Estudo do fracionamento isotópico de nitrogênio aplicado a gramíneas e leguminosas forrageiras. **Brazilian Journal of Applied Technology for Agricultural Science**, v.9, n.1 p.121-130, 2016.

LÓPEZ-MOSQUERA, M.E.; CABALEIRO, F.; SAINZ, M.J.; LÓPEZ-FABAL, A.; CARRAL, E. (2008) Fertilizing value of broiler litter: Effects of drying and pelletizing. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 13, p. 5626–5633, 2008.

MALUSÀ, E.; PINZARI, F.; CANFORA, L. Efficacy of Biofertilizers: Challenges to Improve Crop Production. In: Singh, D., Singh, H., Prabha, R. (eds) **Microbial Inoculants in Sustainable Agricultural Productivity**. Springer, New Delhi, 2016. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-81-322-2644-4_2. Acesso em: 06 de julho de 2021.

MANEGHETTI, A.M. **Manual de procedimentos de amostragem e análise química de plantas, solo e fertilizantes** [Recurso eletrônico]. Curitiba: EDUTFPR, 2018. 252 p.

MAPA (2021) **Decreto Nº10.605, de 22 de janeiro de 2021**. Disponível em: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/ato2019-2022/2021/decreto/d10605.htm Acesso em: 10 de maio de 2023.

MARIN, A.M.P.; MENEZES, R.S.C.; SILVA, E.D.; SAMPAIO, E.V.S.B. Efeito da *Gliricidia sepium* sobre nutrientes do solo, microclima e produtividade do milho em sistema agroflorestal no agreste paraibano. **Revista Brasileira Ciências do Solo**, v. 30, p. 555-564, 2006.

MARTINS, B.N.M.; CANDIAN, J.S.; COLOMBARI, L.F.; RODRIGUES, M.M.; CARDOSO, A.I.I. (2021). Doses of organic compost in top dressing in the production of chives. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 3, 2021.

MASCARENHAS, H.A.A.; WUTKE, E.B. Adubação, nutrição e fatores climáticos limitantes ao desenvolvimento dos adubos verdes. In: FILHO, O.F.L.; AMBROSANO, J.; ROSSI, F.; CARLOS, J.A.D. **Adubação verde e plantas de cobertura no Brasil: fundamentos e prática**, v. 1. Brasília, DF: Embrapa, 2014. 507p

MATTEI, R.M.; CORRÊA, J.C.; REBELLATTO, A.; NICOLOSO, R.S.; HENTZ, P.; LOPES, L.S. **A fertilidade do solo por fertilizantes orgânicos peletizado e farelado com cama de aves**. XXXIV Congresso Brasileiro de Ciência do Solo. Florianópolis, 2013. Disponível em: <https://www.embrapa.br/documents/1355242/0/Biog%C3%A1sFert+-+A+fertilidade+do+solo+por+fertilizantes+org%C3%A2nicos+peletizado+e+farelado+com+cama+de+aves.pdf> Acesso em: 30 de julho de 2019.

MATTOS, B.B.; PAIVA, C.A.O.; MARRIEL, I.E.; SANTOS, F.C.; BATISTA, A.M.; GOMES, E.A.; TEIXEIRA, P.C.; BENITES, V.M. **Sobrevivência de Microrganismos Solubilizadores de Fosfato em Fertilizantes Organominerais Granulados**. Embrapa Solos, Rio de Janeiro, 2017. (Circular Técnica, 50)

MAZZONCINI, M.; ANTICHI, D.; TAVARINI, S.; SILVESTRI, N.; LAZZERI, L.; D'AVINO, L. (2015) Effect of defatted oilseed meals applied as organic fertilizers on vegetable crop production and environmental impact. **Industrial Crops and Products**, v. 75, p. 54–64, 2015.

MELO, N.C.; FERNANDES, A.R.; GALVÃO, J.R. Crescimento e eficiência nutricional do nitrogênio em cultivares de milho forrageiro na Amazônia. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 28, n. 3, 2015.

MELO, A.V; GALVÃO, J.C.C.; BRAUN, H.; SANTOS, M.M.; COIMBRA, R.R.; SAILVA, R.R.; REIS, W.F. Extração de nutrientes e produção de biomassa de aveia-preta cultivada em solo submetido a dezoito anos de adubação orgânica e mineral. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 2, p. 411-420, 2011.

MENDES JUNIOR, A.A.; BUENO, O.C. Participação da energia fóssil na produção dos fertilizantes industriais nitrogenados com ênfase na ureia. **Energia na Agricultura**, v. 30, n.4, p.442-447, 2015.

MERCANTE, F.M.; HUNGRIA, M.; MENDES, I.C.; REIS JUNIOR, F.B.; ANDRADE, D.S. Fixação biológica de nitrogênio em adubos verdes (2014). In: FILHO, O.F.L.; AMBROSANO, J.; ROSSI, F.; CARLOS, J.A.D. **Adubação verde e plantas de cobertura no Brasil: fundamentos e prática**. v. 1. Brasília, DF: Embrapa, 2014. 507p

MOHAMED, H.M.; METWALLY, A.K. Effect of combined inoculation of Rhizobium with soil yeasts on nodulation, growth and yield of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under field condition. **American Journal of Plant Nutrition and Fertilization Technology**, v.4, p.1-10, 2014.

MOHANTY, M.; REDDY, K.S.; PROBERT, M.R.; DALAL, R.C.; RAO, A.S.; MENZIES, N.W. Modelling N mineralization from green manure and farmyard manure from a laboratory incubation study. **Ecological Modelling**, v. 222, 719–726, 2011.

MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.W. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 729p. 2 ed. Editora UFLA, Lavras, 2006.

MOREIRA, M.A.; FONTES, P.C.R.; CECON, P.R.; ARAÚJO, R.F. Índices para avaliar o estado de nitrogênio da batata multiplicada por distintos materiais propagativos. **Revista Ceres**, v. 58, n. 3, p. 384-392, 2011.

NETTO, D.A.M. A cultura do milho (1998) Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/477132/1/ct111.pdf> Acesso em: 10 de agosto de 2023.

NOGUEIRA & SOUZA. *Manual de Laboratórios: Solo, Água, Nutrição Animal e Alimentos*. Embrapa, 2005.

OLIVEIRA, G.R **Validação do processo de digestão e de peletização de cama de aviário para a produção de fertilizante organomineral**. 87p. Tese (Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2014.

OLIVEIRA, E.A.G.; RIBEIRO, R.L.D.; LEAL, M.A.A.; GUERRA, J.G.M.; ARAÚJO, E.S.; ESPÍNDOLA, J.A.A.; ROCHA, M.S.; BASTOS, T.C.; SAITER, O. **Compostos orgânicos fermentados tipo “bokashi” obtidos com diferentes materiais de origem vegetal e diferentes formas de inoculação visando sua utilização no cultivo de hortaliças**. Embrapa Agrobiologia. Seropédica, 2014. 28p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 98)

OLLE, M.; WILLIAMS, I.H. Effective microorganisms and their influence on vegetable production – a review. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, v. 88, n. 4, p. 380–386, 2013.

ONU (2015) Transforming our world: the 2030 Agenda for Sustainable Development. Disponível em: <https://sdgs.un.org/publications/transforming-our-world-2030-agenda-sustainable-development-17981>. Acesso em: 05 de maio de 2023.

PARNELL, J.J.; BERKA, R.; YOUNG, H.A.; STURINO, J.M.; KANG, Y.; BARNHART, D.M.; DILEO, M.V. From the Lab to the Farm: An Industrial Perspective of Plant Beneficial Microorganisms. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, 2016.

PAULINO, G.M.; ALVES, B.J.R.; BARROSO, D.G.; URQUIAGA, S.; ESPINDOLA, J.A.A. Fixação biológica e transferência de nitrogênio por leguminosas em pomar orgânico de mangueira e gravioleira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 12, p. 1598-1607, 2009.

PAULINO, G.M.; BARROSO, D.G.; LAMÔNICA, K.R.; COSTA, G.S.; CARNEIRO, J.G.A. Desempenho da gliricídia no cultivo em aleias em pomar orgânico de mangueira e gravioleira. **Revista Árvore**, v. 35, n. 4, p. 781-789, 2011.

PEDROSO, A.F. **Silagem. Princípios básicos - Produção – Manejo**. Resumo das Palestras Curso: Produção e Manejo de Silagem. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/44489/1/PedrosoAF8552.pdf>.

Acesso em: 10 de junho de 2023.

PHAFF, H.J.; STARMER, W.T. **Yeasts associated with plants, insects and soils**. The Yeasts, London: Academic Press, 508p., 1987.

PIAN, L.B. **Fertilização de origem vegetal em atributos do solo e no desempenho agroeconômico de hortaliças em sistemas orgânicos**. 164 p. Tese (Doutorado em Agronomia Ciência do Solo). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2019.

PIAN, L.B.; GUERRA, J.G.M.; BERBARA, R.L.L.; JESUS, M.S.C.; JUNIOR, J.B.; ARAÚJO, J.B.; ARAÚJO, E.S. (2023) Characterization, nitrogen availability, and agronomic efficiency of fermented composts in organic vegetable production. **Organic Agriculture**, v. 13, p. 461-481, 2023.

PORTO, J.S.; AMORIM, Y.F.; REBOUÇAS, T.N.H.; LEMOS, O.L.; LUZ, J.M.Q.; COSTA, R.Q. Índice SPAD e crescimento do tomateiro em função de diferentes fontes e doses de nitrogênio. **Scientia Plena**, v. 10, n. 11, 2014.

PÔRTO, M.L.; PUIATTI, M.; FONTES, P.C.R.; CECON, P.R.; ALVES, J.C.; ARRUDA, J.A. Índice SPAD para o diagnóstico do estado de nitrogênio na cultura da abobrinha. **Horticultura Brasileira**, v, 29, p. 311-315. 2011.

PRIMO, D.C.; MENEZES, R.S.C.; SAMPAIO, E.V.S.B.; GARRIDO, M.S.; JÚNIOR, J.C.B.D.; SOUZA, C.S. Recovery of N applied as ¹⁵N-manure or ¹⁵N-gliricidia biomass by maize, cotton and cowpea. **Nutrient Cycling Agroecosyst**, v. 100, p. 205–214, 2014.

RANGEL, J.H.A.; MUNIZ, E.N.; SÁ, C.O.; SÁ, J.L. **Implantação e manejo de legumineira com gliricídia (*Gliricidia sepium*)**. Aracaju, SE: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2011. (Circular Técnica, 63).

REIS, V.M. **Uso de bactérias fixadoras de nitrogênio como inoculantes para aplicação em gramíneas**. Embrapa Agrobiologia, Seropédica, 2007, 22p. (Documentos, 232)

REIS, V.M.; JESUS, E.C.; SCHWAB, S.; OLIVEIRA, A.L.M.; OLIVARES, F.L.; BALDANI, V.L.D.; BALDANI, J.I. Fixação biológica de nitrogênio simbiótica e associativa. In: FERNANDES, M.S.; SOUZA, S.R.; AZEVEDO, L. **Nutrição mineral de plantas**. 2.ed. Viçosa, MG: SBCS, 2018. 670p

REZENDE, L.A.; ASSIS, L.C.; NAHAS, E. Carbon, nitrogen and phosphorus mineralization in two soils amended with distillery yeast. **Bioresource Technology**, n. 94, p. 159–167, 2004.

ROCHA, A.A.; ARAÚJO, E.S.; SANTOS, S.S.; GOULART, J.M.; ESPÍNDOLA, J.A.A.; GUERRA, J.G.M.; ALVEZ, B.J.R.; ROUWS, J.R.C. Ammonia volatilization from soil-applied organic fertilizers. **Revista Brasileira Ciências do Solo**, v. 43, 2019.

RODRIGUES T.R.D.; BROETTO, L.; OLIVEIRA, P.S.R.; RUBIO, F. Desenvolvimento da cultura do milho submetida a fertilizantes orgânicos e minerais. **Bioscience Journal**, v. 28, n. 4, p. 509-514, 2012.

ROSA, M.M. **Avaliação de leveduras isoladas de áreas agrícolas como agentes no controle biológico de fitopatógenos**. 150 p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas-Microbiologia Aplicada). Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, São Paulo, 2009.

ROSA-MAGRI, M.M; AVANSINI, S.H.; LOPES-ASSAD, M.L.; TAU-K-TORNISELO, S.M.; CECCATO-ANTONINI, S.R. Release of Potassium from Rock Powder by the Yeast *Torulaspota globosa*. **Brazilian Archives of Biology Technology**, v. 55, n. 4, p. 577-582, 2012.

ROSA-MAGRI, M.M; TAU-K-TORNISELO, S.M.; CECCATO-ANTONINI, S.R. (2011) Bioprospection of Yeasts as Biocontrol Agents Against Phytopathogenic Molds. **Brazilian Archives of Biology Technology**, v. 54, n. 1, p. 1-5, 2011.

SANTOS, S.S.; ESPÍNDOLA, J.A.A.; GUERRA, J.G.M.; LEAL, M.A.A.; RIBEIRO, R.L.D. Produção de cebola orgânica em função do uso de cobertura morta e torta de mamona. **Horticultura Brasileira**, v. 30, p. 549-552. 2012.

SANTOS, S.S. **Desenvolvimento e Avaliação Agronômica de Protótipos de Fertilizantes Vegetais Obtidos a Partir da Biomassa Processada de *Gliricidia sepium***. 85p. Tese (Doutorado em Fitotecnia), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2017.

SANTOS, M.S.; NOGUEIRA, M.A.; HUNGRIA, M. Microbial inoculants: reviewing the past, discussing the present and previewing an outstanding future for the use of beneficial bacteria in agriculture. **AMB Expr**, v. 9, n. 205, 2019.

SANTOS, R.F.; WERNCKE, I.; BASSEGIO, D.; PARDINHO, J.P.; SOUZA, S.N.M.; TOMASSONI, F. Dinâmica do uso do nitrogênio em aveia preta para cobertura de solo em plantio direto. **Cultivando o Saber**, v. 6, n. 2, p. 38-46, 2013.

SCARCELLA, A.S.; BIZARRIA JUNIOR, R.; BASTOS, R.G.; MAGRI, M.M.R. Temperature, pH and carbon source affect drastically indole acetic acid production of plant growth promoting yeasts. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 34, n. 2, p. 429 - 438, 2017.

SEDIYAMA, M.A.N.; SANTOS, I.C.; LIMA, P.C. Cultivo de hortaliças no sistema orgânico. **Revista Ceres**, v. 61, Suplemento, p. 829-837, 2014.

SEVERINO, L.S.; COSTA, F.X.; BELTRÃO, N.E.M.; LUCENA, M.A.; GUIMARÃES, M.M.B. Mineralização da torta de mamona, esterco bovino e bagaço de cana estimada pela respiração microbiana. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 5, n. 1, 2004.

SEVERINO, L.S.; MENDES, B.S.S.; SABOYA, R.C.C.; BARROS, L.A.; MARINHO, D.R.F. Nutrient content of solvent-extracted castor meal separated in granulometric fractions by dry sieving and applied as organic fertilizer. **Industrial Crops & Products**, v. 161, 2021.

SILVA, C.B.; SILVA, J.C.; SANTOS, D.P.; SANTOS, M.A. Production function of culture chives (*Allium fistulosum*, L): water levels and organic fertilizer on Agreste Alagoas. **Revista Ambientale**, v. 10, n. 3, 2018.

SILVA, E.C.; AMBROSANO, E.J.; SCIVITTARO, W.B.; MURAOKA, T.; BUZETTI, S.; CARVALHO, A.M. Adubação verde como fonte de nutrientes às culturas. In: FILHO, O.F.L.; AMBROSANO, E.J.; WUTKE, E.B.; ROSSI, F.; CARLOS, J.A.D. **Adubação verde e plantas de cobertura no Brasil: fundamentos e prática**. v. 1, 2. ed. Brasília, DF: Embrapa, 2023. 586p

SILVA, P.N.L.; LANNA, N.B.L.; CARDOSO, A.I.I. Produção de beterraba em função de doses de torta de mamona em cobertura. **Horticultura Brasileira**, v. 34, p. 416-421, 2016.

SILVA, S.D.; PRESOTTO, R.A.; MAROTA, H.B.; ZONTA, E. Uso de torta de mamona como fertilizante orgânico. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 42, n. 1, p. 19-27, 2012.

SILVA, U.C.; CUADROS-ORELLANA, S.; SILVA, D.R.C.; FREITAS-JÚNIOR, L.F.; FERNANDES, A.C.; LEITE, L.R.; OLIVEIRA, C.A.; DOS SANTOS, V.L. Genomic and phenotypic insights into the potential of rock phosphate solubilizing bacteria to promote millet growth in vivo. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, 2021.

SILVA, V.M.; RIBEIRO, P.H.; TEIXEIRA, A.F.R.; SOUZA, J.L. Qualidade de compostos orgânicos preparados com diferentes proporções de ramos de gliricídia (*Gliricidia sepium*). **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 8, n. 1, p.187-198, 2013.

SILVIO, J.B.C **Utilização de sementes peletizadas**. Embrapa Hortaliças. Brasília, 1998. (Comunicado Técnico 10). Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/765902/1/Utilizacaodesementespeletizadas.pdf> Acesso em: 2 de agosto de 2019.

SIMÕES, A.C.; ALVES, G.K.E.B.; SILVA, N.M.; FERREIRA, R.L.; NETO, S.E.A. Densidade de plantio e método de colheita de cebolinha orgânica. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 12, n. 1, p. 93-99, 2016.

SOUZA, M.P.S.; PRINS, C.L.; RIBEIRO, L.N.; MARCIANO, C.R.; VIEIRA, I.J.C.; FREITAS, S.P. Crescimento, fisiologia e compostos voláteis de cebolinha em resposta a diferentes níveis de restrição hídrica. **Revista Cultura Agronômica**, v. 30, n. 1, 2021.

SOUZA, S.R. & FERNANDES, M.S. Nitrogênio. In: FERNANDES, M.S.; SOUZA, S.R.; AZEVEDO, L. **Nutrição mineral de plantas**. 2.ed. Viçosa, MG: SBCS, 2018. 670p

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719p

TOMICH, T.R.; PEREIRA, L.G.R.; GONÇALVES, L.C.; TOMICH, R.G.P.; BORGES, I. **Características Químicas para Avaliação do Processo Fermentativo de Silagens: uma Proposta para Qualificação da Fermentação**. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2003. (Documentos, 57).

TORRES, J.L.R.; PEREIRA, M.G.; FABIAN, A.J. Produção de fitomassa por plantas de cobertura e mineralização de seus resíduos em plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 3, p. 421-428, 2008.

TORRES, M.S.; ROMERO-PERDOMO, F.; MENDOZA-LABRADOR, J.; GUTIÉRREZ, A.Y.; VARGAS, C.; CASTRO-RINCON, E.; CARO-QUINTERO, A.; URIBE-VELEZ, D.; ESTRADA-BONILLA, G.A. Genomic and phenotypic analysis of rock phosphate-solubilizing rhizobacteria. **Rhizosphere**. v. 17, 2021.

TORTORA, G.J., FUNKE, B.R.; CASE, C.L. **Microbiologia [Recurso eletrônico]**. 12. Ed. Artmed, Porto Alegre, 2017.

WEI, Z.; YING, H.; GUO, X.; ZHUANG, M.; CUI, Z. Substitution of mineral fertilizer with organic fertilizer in maize systems: A meta-analysis of reduced nitrogen and carbon emissions. **Agronomy**, v. 10, n. 8, 2020.

YANG, Y.; HUANG, W.; HUANG, W. (2019) Antibiotic inhibition on anaerobic digestion of animal manure and controlling strategies: A short review. **Clean – Soil, Air, Water**, v. 47, n. 1, 2019.

YOUSSEF, M.A.; FARAG, M.I.H. Co-application of organic manure and bio-fertilizer to improve soil fertility and production of quinoa and preceding jew's mallow crops. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 21, n. 1, 2021.

VENTURINI FILHO, W.G.; FIGUEIRA, R.; SARTORI, M.M.P.; AUER, S.; ANDRADE, T.L. **Quantificação do metabolismo aeróbio e anaeróbio de levedura alcoólica sob diferentes condições ambientais**. Boletim do CEPPA, Curitiba, v. 35, n. 2, 2017.

VIEIRA, R.F. **Ciclo do nitrogênio em sistemas agrícolas**. Embrapa, Brasília, DF, 2017. 163 p.

WUTKE, E.B.; CALEGARI, A.; WILDNER, L.P. Espécies de adubos verdes e plantas de cobertura e recomendações para seu uso (2014). In: FILHO, O.F.L.; AMBROSANO, J.; ROSSI, F.; CARLOS, J.A.D. **Adubação verde e plantas de cobertura no Brasil: fundamentos e prática**, v. 1. Brasília, DF: Embrapa, 2014. 507p

ZANDVAKILI, O.R.; BARKER, A.V.; HASHEMI, M.; ETEMADI, F. Biomass and nutrient concentration of lettuce grown with organic fertilizers. **Journal of Plant Nutrition**, v. 42, n. 5, p. 444-457, 2019.

ANEXO A

Meios de cultura

YM – Glicose-extrato de levedura-peptona-extrato de malte (YARROW, 1998)

- glicose 1%
- extrato de levedura 0,3%
- extrato de malte 0,3%
- peptona 0,5%
- ágar 2% (para meio sólido)

GYMP - glicose-extrato de levedura -extrato de malte-fosfato (HAGLER et al.,1995)

- glicose 2%
- extrato de levedura 0,5%
- extrato de malte 0,5%
- fosfato de sódio monobásico 0,5%
- ágar 2% (para meio sólido)

ANEXO B

Solução para vasos de Leonard, segundo Norris (modificada)

Para o preparo de 40 litros de solução com água destilada, adicionar: (1), (2), (3) e (5) e dissolver. 20 ml da solução (6) e 40 ml da solução (7). Adicionar o (4) na hora de usar a solução.

(1) KCl – 5,96 g

(2) K₂HPO₄ – 2,00 g

(3) KH₂PO₄ – 4,00 g

(4) CaSO₄.2H₂O -13,76 g

(5) MgSO₄.7H₂O -19,72 g

(6) Completar o volume para 1000 ml água destilada

CuSO₄.5H₂O – 0,15 g

ZnSO₄.7H₂O – 0,44 g

MnSO₄.2H₂O – 0,40 g

(NH₄)₆Mo₇O₂₄.H₂O – 0,02 g

H₃BO₃ – 1,43 g

(7) Completar o volume para 1000 ml água destilada

$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 5,0 g

Ácido Cítrico – 5,0 g