

Avaliação do efeito da inoculação de espécies forrageiras na produção de biomassa aérea e radicular

João Pedro Monteiro Martins

Agronomia

2024

João Pedro Monteiro Martins

Avaliação do efeito de inoculação de espécies forrageiras na produção de biomassa aérea e radicular

Relatório de estágio curricular do tipo II – Introdução às Atividades
de I&DE, apresentado para obtenção do grau de licenciado em
Agronomia conferido pelo Instituto Politécnico de Portalegre

Orientador interno: Noémia do Céu Machado Farinha

Orientador Externo: Ana Maria de Carvalho Tello Barradas

Arguente: Carlos Alberto Pinto Santana

Presidente do Júri: Ana Isabel Rodrigues Cordeiro

Classificação: 18 valores

Escola Superior Agrária de Elvas

2024

Agradecimentos

Concluindo esta etapa académica à qual me dediquei nestes últimos três anos e também após terminar a minha época de estágio, chegou o momento de elaborar o Relatório Final de Estágio. Esta etapa contou com enormes apoios e incentivos de muitas pessoas, bem como todo o percurso académico até aqui.

Deste modo, pretendo endereçar os meus mais sinceros agradecimentos a todos os que contribuíram para que este dia chegasse.

Em primeiro lugar, quero agradecer à Doutora Ana Barradas pela forma como me recebeu e pela integração na equipa da Fertiprado, bem como, toda a disponibilidade, simpatia e empenho demonstrado desde o primeiro dia em transmitir os seus conhecimentos.

À professora Noémia Farinha pela atenção e tempo dedicado a este trabalho. Agradecer-lhe por todo o empenho e profissionalismo para comigo enquanto aluno e orientando.

Deixar também sinceros agradecimentos ao Rafael, à Filipa, à Perpétua, à Irina e à Ana Bela, por toda a ajuda, carinho, simpatia e espírito de entre ajuda que demonstraram ao longo deste estágio. Não podia deixar de agradecer ao meu colega de estágio, António Pereira, pois tornou todo este processo mais fácil.

Agradeço do fundo do meu coração, aos meus pais pelo modo como me sabem inculcar valores, educação e espírito de superação e por todo o apoio em todas as minhas decisões, só graças a eles foi possível realizar esta etapa, tal como todas as outras.

A todos os docentes da Escola Superior Agrária de Elvas que me ajudaram ao longo do meu percurso e que contribuíram para a minha formação profissional e pessoal.

Por fim, agradeço aos amigos que conheci durante esta etapa, por todo o apoio, ajuda e amizade.

Resumo

O presente trabalho decorreu na empresa Fertiprado, Sementes e Nutrientes, Lda., na Herdade dos Esquerdos, Vaiamonte, mais concretamente no departamento de Investigação e Desenvolvimento. O seu objetivo global é avaliar o efeito de inoculantes, com base em consórcios microbianos, em diferentes espécies forrageiras (*Trifolium suaveolens* Willd, *Lolium multiflorum* Lam., *Avena strigosa* Schreb. e x *Triticosecale* Witt.). As sementes destas espécies foram inoculadas com grupos específicos de microrganismos e foram avaliadas em campo e em vaso, para estudar o efeito na produção de biomassa aérea e radicular das culturas. Para as leguminosas foram testados os inoculantes: 1 (consórcio de *Rhizobium leguminosarum*), 2 (*Rhizoglosum irregulare*, *Funneliformis mosseae* e *Trichoderma koningii*) e 3 (consórcio de *Rhizobium leguminosarum*). Para as gramíneas, foi avaliado o efeito do Inoculante 2 (*Rhizoglosum irregulare*, *Funneliformis mosseae* e *Trichoderma koningii*), o Inoculante 4 (*Xanthomonas* sp., *Pseudomonas* sp. e *Stenotrophomonas rhizophila*) e o Inoculante 5 (*Pseudomonas* sp. e *Paenibacillus* sp.). Nas leguminosas, os melhores resultados em termos de biomassa e rebrote, foram observados em plantas inoculadas com o Inoculante 3. Nas gramíneas, o Inoculante 4 aparenta ser o mais eficiente, quando consideramos a produção de biomassa aérea e radicular. Este estudo corrobora as evidências bibliográficas de que a pré-inoculação de leguminosas e gramíneas pode influenciar positivamente a produtividade destas culturas. Os resultados obtidos evidenciam a importância da seleção criteriosa de consórcios microbianos para a otimização da produção forrageira, podendo reduzir a utilização de adubos de síntese química, a redução de custos ao agricultor e, assim, promover práticas mais sustentáveis na agricultura.

Palavras-chave: Consórcios microbianos; leguminosas; gramíneas; produtividade; sustentabilidade.

Abstract

The present work took place in the company Fertiprado, Sementes e Nutrientes, Lda., in Herdade dos Esquerdos, Vaiamonte, more specifically in the department of Research and Development. Its overall objective is to evaluate the effect of inoculants based on microbial consortia on different forage species (*Trifolium suaveolens* Willd., *Lolium multiflorum* Lam., *Avena strigosa* Schreb. e x *Triticosecale* Witt.). The seeds of these species were inoculated with specific groups of microorganisms and were evaluated in the field and in pots to study the effect on the production of aerial and root biomass of crops. For legumes, the inoculants were tested: 1 (*Rhizobium leguminosarum* consortium), 2 (*Rhizoglomus irregulare*, *Funneliformis mosseae*, and *Trichoderma koningii*), and 3 (*Rhizobium leguminosarum* consortium). For grasses, the effect of Inoculant 2 (*Rhizoglomus irregulare*, *Funneliformis mosseae*, and *Trichoderma koningii*), Inoculant 4 (*Xanthomonas* sp., *Pseudomonas* sp., and *Stenotrophomonas rhizophila*), and Inoculant 5 was evaluated. (*Pseudomonas* sp. e *Paenibacillus* sp.). In legumes, the best results in terms of biomass and regrowth were observed in plants inoculated with Inoculant 3. In grasses, Inoculant 4 appears to be the most efficient when we consider the production of aerial and root biomass. This study corroborates bibliographic evidence that pre-inoculation of legumes and grasses can positively influence the productivity of these crops. The results obtained highlight the importance of careful selection of microbial consortia for the optimization of forage production, which can reduce the use of chemically synthesized fertilizers, reduce costs for the farmer, and thus promote more sustainable practices in agriculture.

Key words: Microbial consortia; legumes; grasses; productivity; sustainability.

Abreviaturas, Siglas e Acrónimos

g - gramas

ha – hectare

I&D – Investigação e Desenvolvimento

IPMA – Instituto Português do Mar e da Atmosfera

Kg – Quilogramas

m – Metros

MS – Matéria seca

OMM – Organização Mundial Meteorológica

PEPAC – Plano Estratégico da Política Agrícola Comum

°C – Graus Celsius

Índice

1.	Introdução e Objetivos	1
1.1.	Introdução	1
1.2.	Objetivos	2
2.	Revisão Bibliográfica	3
2.1.	A disponibilidade de alimentos para animais no atual contexto de crises humanitárias e ambientais	3
2.2.	As pastagens e as forragens como base da alimentação animal em extensivo	4
2.3.	Importância das misturas biodiversas na produção de pastagens e forragens	4
2.4.	Projeto ECOSEED	6
2.5.	Inoculação	7
2.6.	Importância da inoculação de sementes na produção de pastagens e forragens	8
2.7.	Breve descrição das espécies forrageiras	9
2.7.1.	Trevo da Pérsia (<i>Trifolium suaveolens</i> Willd.)	9
2.7.2.	Azevém (<i>Lolium multiflorum</i> Lam.)	9
2.7.3.	Aveia (<i>Avena strigosa</i> Schreb.)	9
2.7.4.	Triticale (x <i>Triticosecale</i> Witt.)	10
2.8.	Consórcios microbianos	10
2.8.1.	Consórcios microbianos para leguminosas	10
2.8.2.	Consórcios microbianos para gramíneas	11
3.	Descrição do trabalho realizado	14
3.1.	Caracterização do local de estágio	14
3.1.1.	Fertiprado	14
3.1.2.	Herdade dos Esquerdos	14
3.1.3.	Solos	15
3.1.4.	Caracterização climática	16
4.	Material e Métodos	23
4.1.	Material	23
4.1.1.	Material para trabalho de campo	23
4.1.2.	Material para trabalho de laboratório	23
4.2.	Delineamento experimental	24
4.3.	Instalação e condução dos ensaios	25
4.3.1.	Observações efetuadas	27
4.4.	Tratamento dos dados	29
5.	Resultados e Discussão	31
5.1.	Produção de biomassa aérea e radicular	31

5.1.1.	Trevo da Pérsia.....	31
5.1.2.	Azevém.....	35
5.1.3.	Aveia	39
5.1.4.	Triticale	41
6.	Conclusões.....	45
7.	Bibliografia	46

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Valores normais da Temperatura do ar (°C), 1981-2010, Portalegre.....	18
Tabela 2 - Valores normais da precipitação (mm), 1981-2010, Portalegre Fonte: IPMA - Instituto Português do Mar e da Atmosfera (www.ipma.pt)	19
Tabela 3 - Valores normais de Precipitação (mm), 1981-2010, Portalegre	20
Tabela 4 - Valores de Precipitação e Temperatura referentes aos meses em que decorreu o ensaio.....	22

Índice de Figuras

Figura 1 - Tipos de solo existentes no ensaio de campo.	16
Figura 2 - Mapa da classificação de Köppen	17
Figura 3 - Valores normais da Temperatura do ar (°C), 1981-2010, Portalegre.....	18
Figura 4 - Valores normais de Precipitação (mm), 1981-2010, Portalegre	20
Figura 5 - Diagrama Ombrométrico de Gausson de valores normais, 1981-2010, Portalegre..	21
Figura 6 - Valores de Precipitação e Temperatura referentes aos meses em que decorreu o ensaio.....	22
Figura 7 - Planeamento do ensaio dos inoculantes.....	25
Figura 9 – 2 ° Corte para recolha de amostragens.....	26
Figura 8 – 1° Corte para recolha de amostragens	26
Figura 10 - Lavagem de Raízes.....	29
Figura 11 - produção de MS do Trevo da Pérsia 1° e 2° corte. Em cada tratamento inoculante, a coluna da esquerda representa o 1° corte e a da direita representa o 2° corte.	31
Figura 12 – Gráfico da matéria seca total acumulada nos 2 cortes no Trevo da Pérsia.....	32
Figura 13 - Presença de <i>Uromyces trifolii</i> no Trevo da Pérsia - pormenor	33
Figura 14 - Presença de <i>Uromyces trifolii</i> no Trevo da Pérsia - vista geral do ataque do fungo ..	33
Figura 15 - Produção de MS de Trevo da Pérsia da parte aérea e radicular e comprimento da raiz em vaso	34
Figura 16 - produção de MS do Azevém 1° e 2° corte. Em cada tratamento inoculante, a coluna da esquerda representa o 1° corte e a da direita representa o 2° corte.....	35
Figura 17 - Presença de <i>Puccinia graminis</i> no azevém	36
Figura 18 - Presença de <i>Puccinia graminis</i> no azevém - pormenor	36
Figura 19 - Gráfico da matéria seca acumulada nos 2 cortes no azevém.....	37
Figura 20 - Gráfico comparativo da produção de MS de Azevém da parte aérea e radicular e comprimento da raiz.....	38
Figura 21 - Gráfico da produção total de MS dos diferentes inoculantes na Aveia	39
Figura 22 - Gráfico comparativo da Produção de MS de Aveia da parte aérea e radicular e comprimento da raiz.....	40
Figura 23 - Gráfico da Produção Total de MS dos diferentes inoculantes no Triticale	41
Figura 24 - Gráfico comparativo da produção de MS de Triticale da parte aérea e radicular e comprimento da raiz.....	43

I. Introdução e Objetivos

I.1. Introdução

O Plano estratégico da Política Agrícola Comum (PEPAC), que está em vigor de 2023 até 2027, implementou normas que promovem a redução da fertilização química. Existem alternativas para fazer face à redução do uso de fertilizantes de síntese química, tais como a incrementação de matéria orgânica no solo, nomeadamente através de composto, e também a promoção do uso de biofertilizantes. A utilização destas práticas deve-se à necessidade recorrente de aumentos de produção mais sustentáveis, respeitando o meio ambiente e permitindo a adaptação às alterações climáticas, uma vez que a população mundial está a aumentar e consequentemente, aumenta a procura por alimentos, enquanto os recursos naturais diminuem.

Os inoculantes são substâncias que contém microrganismos vivos capazes de promover o crescimento e o desenvolvimento das plantas de forma benéfica. Estes microrganismos podem aumentar a absorção de nutrientes, melhorar a fertilidade do solo ou aumentar o rendimento das culturas, através da fixação de azoto atmosférico, da solubilização do fósforo, da excreção de fitohormonas, da produção de substâncias que suprimem fitopatógenos e da proteção de plantas nos stresses abióticos e bióticos (Mącik *et al.*, 2020).

Este trabalho, inspirado no projeto ECOSEED, utilizou consórcios microbianos (inoculantes constituídos por diversos grupos de microrganismos) incorporados nas sementes de leguminosas e gramíneas utilizadas pela Fertiprado, nas misturas biodiversas de pastagens, forragens e culturas de revestimento, tendo em vista o aumento da produtividade dos sistemas, a custos mais baixos, e a melhoria dos solos e das condições ambientais.

A Fertiprado foi pioneira e é líder na inoculação de sementes de leguminosas com *Rhizobium* específico, fornecendo ao agricultor a semente já inoculada, permitindo uma redução dos custos. Assim, surge a importância deste trabalho que consiste no estudo da avaliação do efeito de inoculação de espécies pratenses e forrageiras, com o intuito de perceber a mais-valia da utilização dos inoculantes para este tipo de culturas e, consequentemente, para as explorações agrícolas.

I.2. Objetivos

O objetivo global deste trabalho está integrado nos objetivos da empresa Fertiprado no que diz respeito à avaliação do efeito de inocular sementes de espécies forrageiras para a produção de biomassa.

Os objetivos específicos deste trabalho são:

- Inocular sementes de trevo da pérsia (*Trifolium suaveolens* Willd.) com estirpes selecionadas de *Rhizobium leguminosarum*, *Rhizoglonus irregulare*, *Funneliformis mosseae* e *Trichoderma koningii*.
- Inocular sementes de azevém (*Lolium multiflorum* Lam.) com *Rhizoglonus irregulare*, *Funneliformis mosseae*, *Trichoderma koningii*, *Xanthomonas* sp., *Pseudomonas* sp., *Stenotrophomonas rhizophila* e *Paenibacillus* sp.
- Inocular sementes de tritcale (x *Triticosecale* Witt.) e aveia (*Avena strigosa* Schreb.) com *Xanthomonas* sp., *Pseudomonas* sp., *Stenotrophomonas rhizophila* e *Paenibacillus* sp.
- Comparar a eficiência dos inoculantes para cada espécie.
- Avaliar a produção de biomassa aérea no campo e biomassa radicular em vaso, de cada espécie inoculada, em comparação com uma testemunha sem inoculação.

2. Revisão Bibliográfica

2.1. A disponibilidade de alimentos para animais no atual contexto de crises humanitárias e ambientais

A segurança alimentar, como direito humano visa garantir que todas as pessoas tenham sempre acesso, a alimentos suficientes, seguros e nutritivos para satisfazer as suas necessidades nutricionais e levar uma vida de forma saudável e sustentável. Assim, esta segurança é afetada por crises humanitárias e ambientais, como conflitos, secas e pandemias, que por sua vez aumentam a vulnerabilidade das populações (FAO, 2020).

Estudos como o de Thornton *et al.* (2014), destacam que as mudanças climáticas estão a alterar os padrões normais do clima ao nível da temperatura e da precipitação, afetando a disponibilidade e a qualidade das forragens espontâneas e cultivadas para os animais. Isto pode levar à redução da produtividade agrícola e qualidade nutricional das plantas forrageiras, essenciais para a alimentação animal.

A competição por recursos, para produção de alimentos para o homem e para os animais, é atualmente um desafio crítico. Estudos indicam que a intensificação da agricultura para atender à necessidade humana pode ter impactos negativos na disponibilidade de alimentos para animais, especialmente em regiões onde ambos competem por recursos limitados (FAO, 2018).

No cenário atual, verifica-se um aumento do crescimento populacional e um aumento da expectativa média de vida dos indivíduos. Assim produzir mais alimentos para garantir alimentação para esse crescimento populacional torna-se condição necessária para combater a fome e a pobreza, fornecendo condições de vida saudáveis e sustentáveis ao aumento da população mundial que se vem confirmando.

Existem programas de investigação e políticas focados na promoção de práticas agrícolas sustentáveis para melhorar a disponibilidade de alimentos para animais, incluindo o desenvolvimento de misturas biodiversas e a promoção de uma agricultura sustentável. Isto é essencial para garantir a sustentabilidade e a segurança alimentar tanto para o ser humano como para os animais (Garnett *et al.*, 2013).

2.2. As pastagens e as forragens como base da alimentação animal em extensivo

As pastagens e forragens são a base de alimentação de ruminantes (bovinos, ovinos e caprinos). Este facto prende-se com o elevado teor em proteína bruta presente na sua biomassa, aliado à capacidade que estes animais têm de digerir e utilizar a hemicelulose e a celulose das plantas.

As pastagens permanentes, sejam naturais ou melhoradas/semeadas, possuem uma enorme biodiversidade de espécies. Fornecem valiosos serviços ecossistémicos como a melhoria da fertilidade do solo e da capacidade de infiltração da água, a manutenção da diversidade de espécies, o aumento do sequestro de carbono e o melhoramento da saúde animal (Carita, 2021).

As pastagens com base em leguminosas anuais de ressementeira natural e gramíneas, constituem a base da alimentação do gado explorado em regime extensivo e, com manejo adequado, podem aumentar a produtividade e a biodiversidade das mesmas, permitindo reduzir a dependência da exploração relativamente ao exterior, aproximando-se a um autoabastecimento da exploração agrícola (Barradas, 2009).

As pastagens, que são a fonte principal da alimentação de diversas espécies pecuárias exploradas em regime extensivo, apresentam um balanço energético altamente positivo quando são consumidas em pastoreio pelos animais. Outra vantagem atribuída às pastagens, é a de diminuir ou evitar a utilização de alimentos fabricados com matérias-primas que podem ser utilizados diretamente pelo homem, diminuindo assim a competição, entre o homem e o animal, pelos alimentos. No entanto, uma pastagem, do mesmo modo que qualquer outra cultura agrícola, têm um objetivo fundamentalmente económico na exploração, de forma que devem contribuir para melhorar e diminuir na medida do possível, os custos das produções pecuárias (Muslera Pardo & Ratera Garcia, 1991).

2.3. Importância das misturas biodiversas na produção de pastagens e forragens

Segundo Moreira (2002), as pastagens, prados ou culturas pratenses são culturas ou comunidades de plantas geralmente herbáceas, aproveitadas predominantemente no

próprio local em que crescem pelos animais em pastoreio e, portanto, sujeitas diretamente à sua ação de preensão e ingestão (desfoliação), pisoteio e dejeção. Assim, pastagens semeadas são, como o nome indica, resultantes de sementeira pelo homem de plantas selecionadas para serem usadas pelos animais em pastoreio.

Tendo em conta as alterações climáticas às quais temos vindo a assistir, Barradas (2009), preconiza a necessidade de cada exploração agropecuária dedicar pelo menos 1/3 da sua área de produção, às forragens. Esta prática reduz a dependência externa de alimentos, garantido assim a sustentabilidade da exploração para a alimentação animal.

As misturas biodiversas foram desenvolvidas para aumentar a garantia de persistência e produtividade na exploração de parcelas com grande heterogeneidade em termos físicos e químicos do solo e para lidar com variações climáticas (Barradas, 2009).

As pastagens e culturas forrageiras biodiversas e, principalmente, as ricas em leguminosas apresentam vantagens em relação às pastagens naturais ou às culturas forrageiras baseadas apenas numa só espécie ou num número reduzido de espécies/cultivares (Crespo, 2006).

Segundo o mesmo autor, uma pastagem rica em leguminosas, é capaz de, em associação com bactérias efetivas de rizóbio, fixar elevadas quantidades de azoto atmosférico, que geralmente se situam entre 75 e 200 kg/ha em sequeiro, e entre 150 a 500kg/ha em regadio. Assim, surge a importância de se inocularem as espécies de leguminosas com *Rhizobium*, já que a fixação simbiótica de azoto substitui com grande vantagem as quantidades de adubos azotados que, de outro modo, teriam de ser aplicados para alcançar idênticos níveis de produção, com os inerentes aumentos de custos de produção e impacto ambiental negativo.

A biodiversidade desempenha um papel fundamental na estabilização da produção de pastagem, contribuindo para atenuar as diferenças de produção dentro do ano e entre anos, que se verificam nas pastagens de sequeiro nas condições Mediterrânicas. Por outro lado, a presença de várias espécies com diferentes capacidades de adaptação a certas condições de solo, como a fertilidade, profundidade, drenagem, o pH, salinidade, entre outros..., acabam por revestir os vários nichos de solo que eventualmente ocorram numa área de pastagens, o que não sucederia se a pastagem fosse formada por uma só espécie cultivar (Freixial & Barros, 2012).

A fixação de azoto pelas leguminosas feita pelas pastagens e forragens biodiversas é um fator importante para a sua sustentabilidade. Estudos conduzidos por Unkovich et

al. (2010), culminaram na conclusão de que as leguminosas têm a capacidade de fixar aproximadamente 30 unidades de N/ton MS.

As misturas biodiversas também necessitam de grandes quantidades de fósforo. De acordo com Quelhas dos Santos (2015), este macronutriente principal corre menos riscos de ser lixiviado pela água, visto que tem uma grande capacidade de formar combinações químicas de reduzida solubilidade, ficando adsorvido aos colóides do solo. Com isto, foi necessário que se desenvolvem-se estratégias de aplicação de fósforo durante vários anos.

Assim, surgiu a inoculação com bactérias solubilizadoras de fosfato que são microrganismos benéficos que têm capacidade de solubilizar os fosfatos imobilizados no solo, visando o aumento da disponibilidade de fósforo para as plantas.

2.4. Projeto ECOSEED

Este projeto, que teve como base a realização do estudo em que se insere este trabalho, aborda o tema do microbioma da semente e conta com um protocolo de colaboração, entre a Fertiprado, Sementes e Nutrientes, Lda, o Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV) e a Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa (FCUL), pretende adicionar valor às sementes forrageiras que a Fertiprado comercializa através da utilização de diferentes micro-bio-tecnologias com impacto positivo sobre a nutrição das plantas e consequentemente impacto positivo sobre a biomassa vegetal, em quantidade e qualidade.

Por outro lado, espera-se que os inoculantes sejam inovadores por serem constituídos por diversos grupos de microrganismos previamente selecionados, como as bactérias fixadoras de azoto em simbiose com as leguminosas, e outras bactérias promotoras de crescimento vegetal em associação com gramíneas, para que possam ser incorporados nas sementes das diferentes espécies de leguminosas e gramíneas utilizadas nas misturas biodiversas de pastagens, forragens e culturas de revestimento, comercializadas pela Fertiprado (Cruz, 2023).

As inoculações dos diferentes tipos de consórcios têm em vista o aumento da produtividade dos sistemas agropecuários a custos mais baixos, ao mesmo tempo que permite a redução de fertilizantes químicos, conseguindo promover a melhoria dos solos

e das condições ambientais, conferindo também resistência a stresses bióticos e abióticos.

Para perceber a mais-valia dos inoculantes desenvolvidos no projeto em relação à prática corrente da Fertiprado, realizou-se um ensaio de campo em Abela, Santiago do Cacém, com a sementeira de uma mistura de trevos, luzerna anual, serradela, azevém anual e Dactylis, feita a 29 de Novembro de 2022, com uma dose de sementeira de 25Kg por hectare.

As conclusões deste projeto, embora muito preliminares, foram que os novos inoculantes testados mostraram ser eficientes não se verificando incompatibilidade entre inóculos, os consórcios microbianos desenvolvidos mostram efeitos diretos nas plantas (produção de biomassa) e têm um impacto positivo em todo o ecossistema e conseguiu-se reduzir a aplicação de fertilizantes, eliminar a fertilização azotada e reduzir o fósforo em 30% (Cruz, 2023).

Este relatório de estágio dá continuidade ao estudo do projeto Ecosseed. Esta fase do estudo focou-se na avaliação dos impactos destas técnicas inovadoras sobre os ecossistemas proporcionando novas soluções inovadoras, neste caso com a avaliação da introdução de inoculantes em espécies forrageiras para se conseguir perceber se há possibilidade de diminuir o uso de fertilizantes de síntese química.

2.5. Inoculação

A inoculação de sementes com consórcios microbianos oferece resultados promissores, podendo aumentar a produtividade das culturas, principalmente devido a certos mecanismos como o estímulo do crescimento vegetal pela produção de fitohormonas, o aumento da absorção de nutrientes, o biocontrolo de agentes patogénicos, aumento da resistência a stresses bióticos e abióticos e a fixação de azoto atmosférico (Martínez *et al.*, 2013).

Segundo Lopes *et al.* (2021), os microrganismos do solo (rizosféricos) e do material vegetal (endofíticos) são capazes de promover o crescimento vegetal da planta designado por “Plant growth-promoting microbes” (PGPM), sendo por isso uma ferramenta essencial e promissora para a agricultura e o meio ambiente. Entre os géneros que se destacam, existem alguns que irão ser abordados neste trabalho como *Bacillus*, *Pseudomonas* e *Rhizobium*.

Segundo o mesmo autor, os consórcios microbianos como as micorrizas, rizobactérias e fungos, podem ser inoculados nas sementes, nas folhas, nas raízes ou no solo.

Existem alguns benefícios da inoculação na saúde vegetal, dado que pode induzir a resistência sistêmica nas plantas, fortalecendo-as contra fitopatógenos. Esta prática também promove um sistema radicular mais extenso e eficiente, facilitando a absorção de água e nutrientes (Martínez *et al.*, 2013).

O uso de biofertilizantes pode diminuir a dependência de fertilizantes de síntese química, promovendo uma agricultura mais sustentável. A atividade microbiana induzida pelos biofertilizantes pode melhorar a estrutura do solo e aumentar a matéria orgânica, contribuindo para um maior equilíbrio (Maçik *et al.*, 2020).

Existem desafios e limitações inerentes à inoculação. A efetividade dos inoculantes pode ser contingente a vários fatores como o tipo de solo, o clima e a espécie da planta. A incorporação dos inoculantes às práticas agrícolas convencionais pode suscitar desafios de adaptação e implementação.

A pesquisa contínua e o desenvolvimento tecnológico são cruciais para superar os desafios e maximizar os benefícios desta prática.

2.6. Importância da inoculação de sementes na produção de pastagens e forragens

A inoculação de sementes é um processo crucial para melhorar a produção de pastagens e forragens.

Existem várias vantagens associadas à inoculação de sementes como o aumento da fixação de azoto atmosférico, um melhor crescimento das plantas, a promoção da sustentabilidade ambiental e a eficiência económica.

Nas leguminosas, as bactérias fixadoras de azoto atmosférico, como as do género *Rhizobium*, transformam o azoto atmosférico em formas que as plantas conseguem usufruir dele, reduzindo assim a necessidade de fertilizantes azotados sintéticos. Isto é, particularmente, importante em solos pobres em azoto, melhorando a produtividade das culturas de pastagens e forragens (O'Callaghan, 2016).

A utilização de consórcios microbianos pode levar a um crescimento mais vigoroso das plantas, maior produção de biomassa e melhor qualidade das pastagens e

forragens. As plantas inoculadas geralmente mostram um desenvolvimento radicular mais robusto, facilitando a absorção de água e nutrientes do solo (Abreu, 2018).

A utilização de inoculantes reduz a necessidade de fertilizantes químicos, minimizando a emissão de gases com efeito de estufa e a lixiviação de nutrientes, contribuindo assim para práticas agrícolas mais sustentáveis (Morel et al., 2012).

Embora a inoculação represente algum custo para os agricultores, revela-se menos dispendiosa a longo prazo em relação à compra de adubos sintéticos.

2.7. Breve descrição das espécies forrageiras

2.7.1. Trevo da Pérsia (*Trifolium suaveolens* Willd.)

O *Trifolium suaveolens* Willd. é uma planta herbácea anual pertencente à família Fabaceae. Nesta espécie, o *Rhizobium* em simbiose com as plantas tem a capacidade de fixação de azoto. É geralmente integrado em forragens, proporcionando valiosos nutrientes para a alimentação animal e contribui para a melhoria do solo.

2.7.2. Azevém (*Lolium multiflorum* Lam.)

O *Lolium multiflorum* Lam. é uma gramínea anual altamente valorizada na produção de forragem devido à sua elevada produtividade e qualidade nutricional. É uma das escolhas preferidas para produção intensiva de forragem, visto que proporciona alimento de alta palatibilidade para o gado (Kemešytė et al., 2023).

2.7.3. Aveia (*Avena strigosa* Schreb.)

A *Avena strigosa*, vulgarmente denominada aveia preta, é uma planta anual pertencente à família Poaceae. É maioritariamente utilizada como forragem, sendo apreciada pela sua resistência a solos pobres e condições climáticas adversas, tornando-se uma escolha popular para o controlo da erosão do solo. As suas inflorescências são panículas delgadas e as suas folhas são longas e estreitas, contribuindo para uma biomassa densa e nutritiva para a alimentação animal.

2.7.4. Triticale (x *Triticosecale* Witt.)

O triticale é um cereal híbrido, obtido pelo cruzamento do trigo (*Triticum spp.*) e do centeio (*Secale cereale*), conhecido por sua resistência e versatilidade em diversas condições de cultivo. Este cereal é valorizado pela sua alta produtividade e valor nutricional, contendo proteínas, fibras, vitaminas e minerais (Neuweiler et al., 2020).

2.8. Consórcios microbianos

Um consórcio microbiano é uma associação natural de duas ou mais populações microbianas, de diferentes espécies, que atuam em conformidade num sistema complexo, onde todos beneficiam das atividades dos outros. Pode desempenhar funções complexas que populações individuais não poderiam. Além disso, a vida em comunidade de populações microbianas podem gerar maior resistência às alterações do meio ambiente e promover estabilidade dos membros, ao longo do tempo (Ochoa y Montoya, 2010).

2.8.1. Consórcios microbianos para leguminosas

2.8.1.1. *Rhizobium leguminosarum*

Os *rhizobium* são bactérias gram negativas que vivem normalmente no solo de forma saprófita. São aeróbias e a sua temperatura ótima para o seu desenvolvimento varia entre os 25°C e os 30°C, tanto para o seu desenvolvimento em laboratório como para a infecção e formação de nódulos nas plantas, se bem que suportam temperaturas entre 3°C e 33°C (Muslera y Ratera, 1991).

Segundo os mesmos autores, estas bactérias têm mobilidade própria por meio de flagelos periféricos. São normalmente encontradas em terrenos onde existem ou já existiram hóspedes (leguminosas). No entanto, podem viver durante muitos anos na ausência de hospedeiro, desde que as condições do solo sejam favoráveis.

O *Rhizobium* ao entrar em contacto com as raízes dos trevos, induz a formação de nódulos radiculares. Dentro desses nódulos, as bactérias estabelecem uma relação

simbiótica com as células das plantas, transformando o azoto atmosférico em amónio e em nitratos que são assimiláveis pelas plantas (Dinkins et al., 2022).

2.8.1.2. *Rhizogloium irregulare*

O *Rhizogloium irregulare* é um fungo micorrízico arbuscular que facilita a absorção de fósforo e de outros micronutrientes essenciais. Este fungo estimula um crescimento vigoroso e saudável das plantas e pode resultar numa maior produtividade de biomassa (Lucini et al., 2019).

2.8.1.3. *Funneliformis mosseae*

O *Funneliformis mosseae* é um fungo simbiótico que coloniza as raízes das plantas. Melhora significativamente o crescimento destas ao aumentar a absorção de nutrientes essenciais, como o fósforo e micronutrientes. A presença deste fungo ajuda a aumentar a área efetiva de absorção radicular, facilitando uma maior captação de água e nutrientes (Köhl & van der Heijden, 2016).

2.8.1.4. *Trichoderma koningii*

Trichoderma koningii é um fungo conhecido por promover o crescimento das plantas. Pode aumentar a absorção de nutrientes essenciais. Além disso, estimula o desenvolvimento radicular, facilitando a absorção de água e micronutrientes (Rouphael et al., 2020).

2.8.2. Consórcios microbianos para gramíneas

Os consórcios microbianos para gramíneas pretendem ter um impacto positivo sobre a nutrição vegetal, em quantidade e qualidade, com o intuito de promover um impacto ambiental positivo.

2.8.2.1. *Xanthomonas sp.*

Estas bactérias são protagonistas na facilitação do crescimento vegetal, devido à sua capacidade de sintetizar ácido indol-acético (IAA). Esta auxina, de primordial importância, possui a capacidade de estimular a divisão celular (Cruz, 2023).

As *Xanthomonas sp.* também exercem um papel crucial na solubilização do fósforo.

2.8.2.2. *Pseudomonas sp.*

Estas bactérias têm um efeito benéfico direto nas raízes das plantas, através da síntese de fito-hormonas e de vitaminas, conseguindo promover a germinação de sementes e a emergência das plântulas. As *Pseudomonas sp.* realizam também um papel importante na solubilização de fósforo, sendo este essencial para as plantas. De forma indireta, atuam na produção de sideróforos ou pela indução à resistência sistêmica a agentes patogénicos.

As bactérias que atuam na zona das raízes, em virtude da sua capacidade de adaptação fisiológica, são elementos-chave na alteração dos solos, com efeitos positivos. Assim, em termos de tolerância a solos com altos teores de sais, conseguem um maior rendimento das culturas e melhoria na qualidade de solo, no que diz respeito à disponibilidade de nutrientes (Cano, 2011).

2.8.2.3. *Stenotrophomonas rhizophila*

São bactérias gram-negativas, que possuem um potencial promotor de crescimento vegetal, devido à sua capacidade de produzir sideróforos e solubilizar o fósforo (Kumar et al., 2023).

Segundo o mesmo autor, as *Stenotrophomonas rhizophila* tende a aumentar a produtividade das plantas através de vários mecanismos, incluindo a produção de hormonas responsáveis pelo crescimento vegetal.

2.8.2.4. *Paenibacillus sp.*

Segundo Ruíz-Valdiviezo et al., (2023), este microrganismo pertence a um grupo de bactérias gram positivas, são anaeróbias facultativas e tem a capacidade de produzir esporos que conferem resistência a diversos tipos de stress biótico e abiótico. São responsáveis por participarem na promoção de crescimento vegetal através da sua habilitação para produzir ácido indol-acético (IAA), auxina que regula a expressão de alguns genes ao longo da vida das plantas, com capacidade de estimular a divisão celular. Está também encarregue de realizar a solubilização do fósforo e a produção de sideróforos (organismos que desempenham a função de solubilizar o ferro).

3. Descrição do trabalho realizado

3.1. Caracterização do local de estágio

3.1.1. Fertiprado

A empresa que me acolheu e tornou possível a realização deste estágio foi a Fertiprado, Sementes e Nutrientes Lda. A Fertiprado iniciou o seu trabalho em 1990, baseando-se no conhecimento e filosofia do Eng. Agrónomo David Crespo, que dedicou grande parte da sua vida ao estudo de sistemas de produção animal baseados em pastagens e forragens, com o intuito de promover a sustentabilidade dos sistemas agropecuários. Esta sustentabilidade passa pelo uso de pastagens e forragens biodiversas ricas em leguminosas de alta qualidade, perfeitamente adaptadas a distintas condições edafoclimáticas.

Esta empresa tem como objetivo o desenvolvimento de uma panóplia de atividades, tais como, a Investigação e Desenvolvimento, o marketing e a assistência técnica, que proporcionem ao agricultor uma melhoria da rentabilidade das suas empresas através de soluções para a alimentação animal de qualidade superior, de acordo com todas as exigências das suas explorações agropecuárias.

No que toca à tecnologia, a Fertiprado, foi a pioneira na pré-inoculação de sementes com *Rhizobium* específico, isto é, cada leguminosa presente numa mistura é devidamente inoculada e peletizada.

Além de todos os resultados positivos e do caso de sucesso que é em Portugal, está também, expandida em Espanha, Itália, França e Uruguai. Mantém parcerias e contactos estreitos com várias empresas, instituições, universidades, entre outros..., tanto a nível nacional como internacional, com quem estabelece acordos de colaboração e onde participa em diversos projetos nacionais e internacionais.

3.1.2. Herdade dos Esquerdos

A Herdade dos Esquerdos é uma exploração agrícola que se situa no distrito de Portalegre, concelho de Monforte, freguesia de Vaiamonte.

É nesta herdade, que se situa a sede da empresa Fertiprado, e onde se realizam a maior parte dos trabalhos de investigação, testes, multiplicação, produção e armazenagem dos produtos que irão chegar aos agricultores e às suas explorações.

Além destas atividades, os Esquerdos comportam um laboratório, uma zona que funciona como campo experimental de diversos ensaios e ainda uma zona de bancadas, vasos e MIC's (Multiplicação Intensiva Controlada), onde se inicia todo um processo de observação de plantas e pequena multiplicação de sementes.

3.1.3. Solos

O departamento de Investigação e Desenvolvimento (I&D), localizado na Herdade dos Esquerdos, situa-se mais propriamente na área representada na figura 1, sendo esta parcela composta por dois tipos de solos:

- **Vm** – Solos Argiluvitados Pouco insaturados; Mediterrâneos Vermelhos ou Amarelos; de Materiais Não Calcários; Para-Barros, de dioritos ou quartzodioríticos ou rochas microfaneríticas afins;
- **Ppg** – Solos Litólicos; Não Húmidos; dos Climas Sub-Húmidos e Semiáridos; Normais; de rochas microfíricas claras.

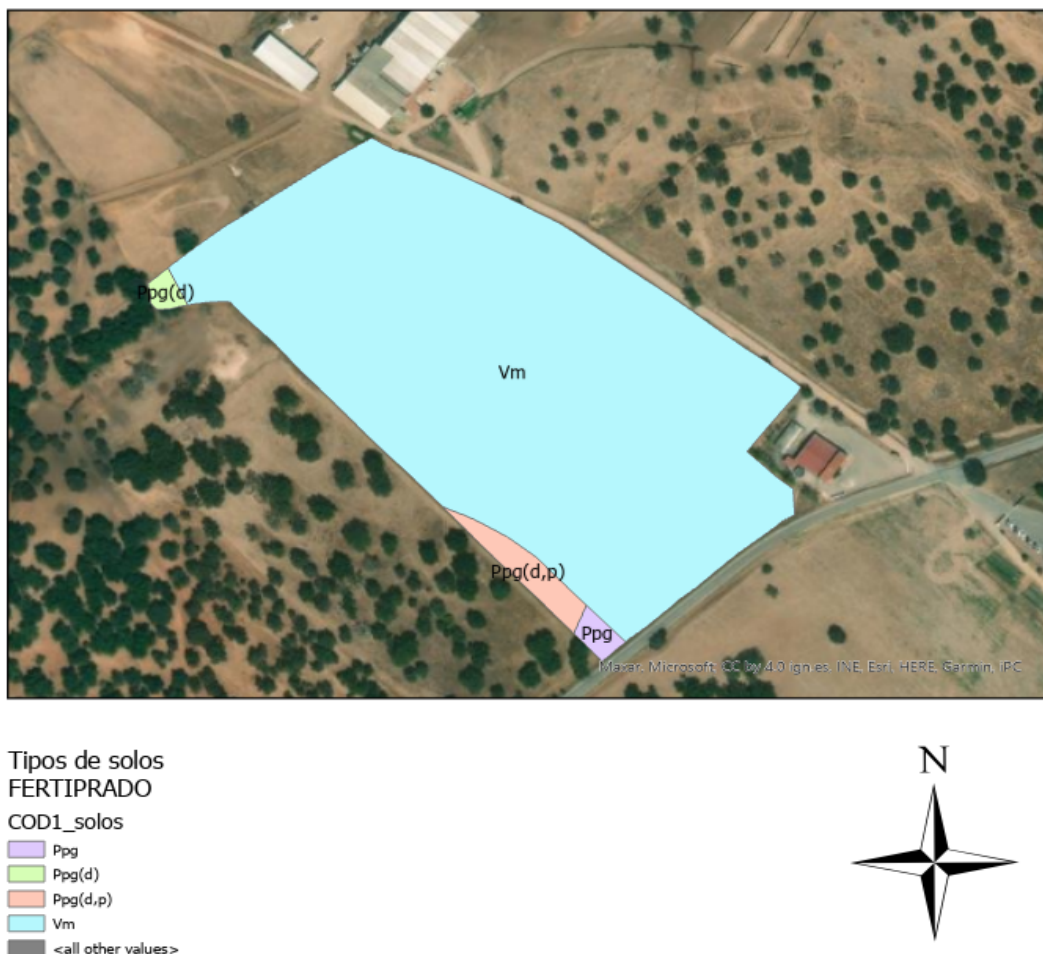


FIGURA I - TIPOS DE SOLO EXISTENTES NO ENSAIO DE CAMPO.
FUNTE: PROGRAMA ARCGIS

3.1.4. Caracterização climática

Quando se fala na produção de pastagens e forragens, é corrente afirmar como características principais de cultivo as condições de solo e as necessidades hídricas da cultura. No entanto, o clima é um fator de relevância na influência direta sobre culturas, tanto na qualidade, como na quantidade e persistência dos resultados produtivos.

Para se caracterizar o clima da região onde este trabalho está inserido, e conforme convencionado pela Organização Meteorológica Mundial (OMM), acederam-se aos valores médios de vários elementos climáticos num período de 30 anos, neste caso no período entre 1981-2010.

3.1.4.1. Classificação climática de Köppen

Segundo a classificação climática de Köppen a região está inserida num clima do tipo **Csa**, isto é, clima temperado com verão quente e seco.

- **C – Climas temperados:** climas mesotérmicos, das latitudes médias, com invernos pouco frios;
- **s – Estação seca no verão:** com precipitação do mês mais seco do semestre quente inferior a 1/3 da do mês mais chuvoso do semestre frio e inferior a 30mm;
- **a – Verão quente:** temperatura média do mês mais quente > 22°C

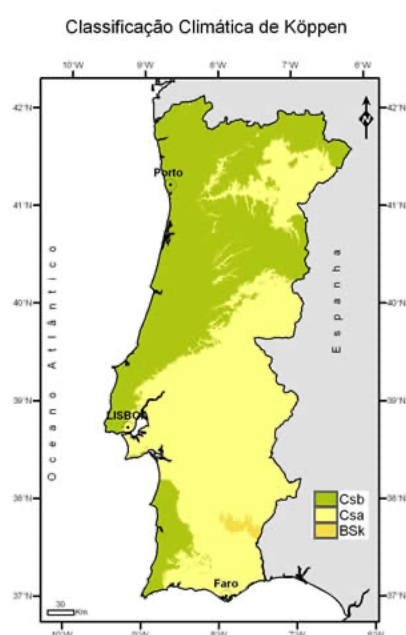


FIGURA 2 - MAPA DA CLASSIFICAÇÃO DE KÖPPEN
FONTE: IPMA - INSTITUTO PORTUGUÊS DO MAR E DA ATMOSFERA (WWW.IPMA.PT)

3.1.4.2. Temperatura do Ar

A temperatura é um elemento-chave do clima, pois influencia diretamente o crescimento e desenvolvimento das plantas.

Na floração, temperaturas adversas poderão levar à diminuição da taxa de fertilidade, com a consequente diminuição da produção. No caso das pastagens de sequeiro, poderá vir a comprometer a sua longevidade e qualidade nutricional.

Na tabela I e na figura 3, apresentam-se os dados referentes aos valores normais da temperatura do ar entre 1981 e 2010 para a região de Portalegre, distrito onde está inserido o local onde foi realizado o estágio.

TABELA I - VALORES NORMAIS DA TEMPERATURA DO AR (°C), 1981-2010, PORTELEGRE
 FONTE: IPMA – INSTITUTO PORTUGUÊS DO MAR E DA ATMOSFERA (WWW.IPMA.PT)

Mês	Tem. Máx. Absoluta (°C)	Média Temp. Máx. (°C)	Média Tem. Diária (°C)	Média Temp. Min. (°C)	Temp. Min. Absoluta (°C)
Jan	21,9	11,6	8,6	5,7	-4,5
Fev	22,5	12,9	9,6	6,2	-3,7
Mar	27,4	16,3	12,2	8,2	-4,3
Abr	31	17,2	13	8,7	-0,2
Mai	34,5	21	16,1	11,3	2,3
Jun	39,5	26,8	21	15,2	5
Jul	40,4	30,5	24	17,4	8,2
Ago	41,3	30,5	24,1	17,7	9,4
Set	39,5	26,6	21,4	16,2	8,3
Out	32,4	20,2	16,5	12,8	2,8
Nov	25,7	14,9	12	9,1	0,3
Dez	21,1	12,1	9,4	6,7	-1,2

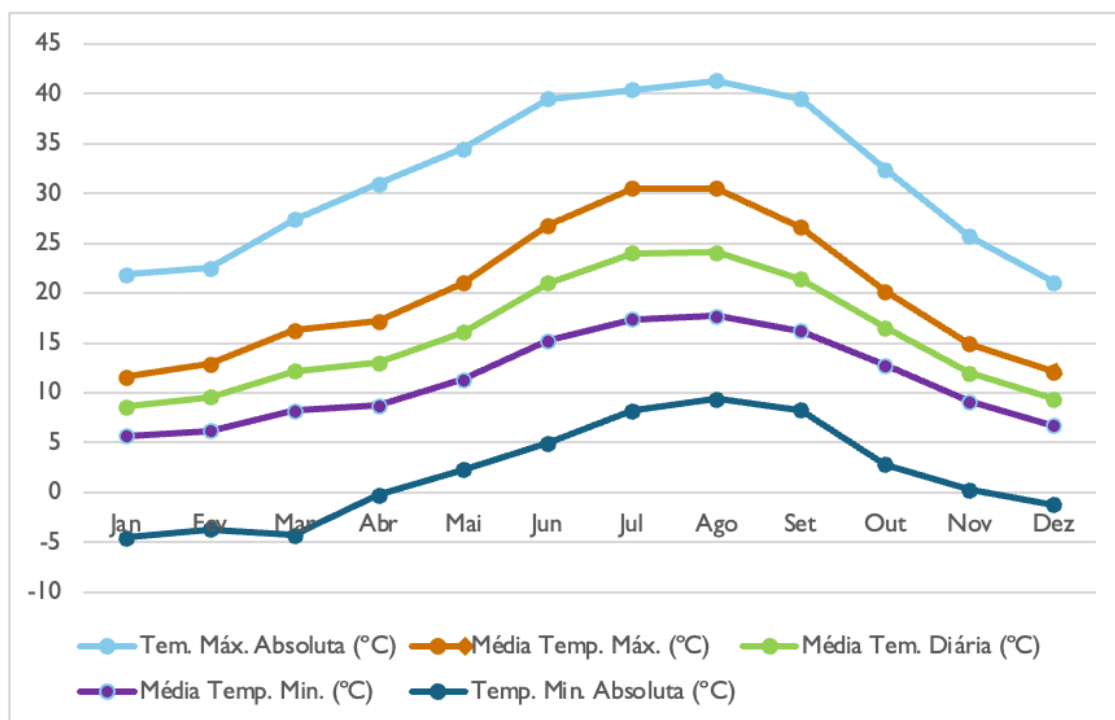


FIGURA 3 - VALORES NORMAIS DA TEMPERATURA DO AR (°C), 1981-2010, PORTELEGRE
 FONTE: IPMA – INSTITUTO PORTUGUÊS DO MAR E DA ATMOSFERA (WWW.IPMA.PT)

Os meses mais quentes são o mês de Julho e Agosto com uma temperatura média diária de 24°C e 24,1 °C respetivamente, tendo a temperatura máxima absoluta atingido 41,3°C no mês de Agosto. Os Meses que registaram temperaturas mais frias foram Janeiro, Fevereiro e Dezembro, registando uma temperatura média mínima de 5,7 °C, 6,2°C e 6,7 °C respetivamente, sendo a temperatura média mínima destes meses um fator importante na contabilização da vernalização, fator altamente condicionante no desenvolvimento das culturas.

É de salientar que em Abril houve uma temperatura mínima absoluta registada de -0,2°C, sendo que nesta época desse ano a maior parte das espécies estão em floração, podendo assim, afetar as produções.

3.1.4.3. Precipitação

TABELA 2 - VALORES NORMAIS DA PRECIPITAÇÃO (MM), 1981-2010, PORTALEGRE
 FONTE: IPMA - INSTITUTO PORTUGUÊS DO MAR E DA ATMOSFERA (WWW.IPMA.PT)

Mês	Média da Quantidade Total (mm)
Jan	104,2
Fev	81,6
Mar	62,2
Abr	78,1
Mai	61,9
Jun	24,6
Jul	7,1
Ago	9
Set	40,7
Out	113
Nov	122,4
Dez	128,3
Total Anual	833,1

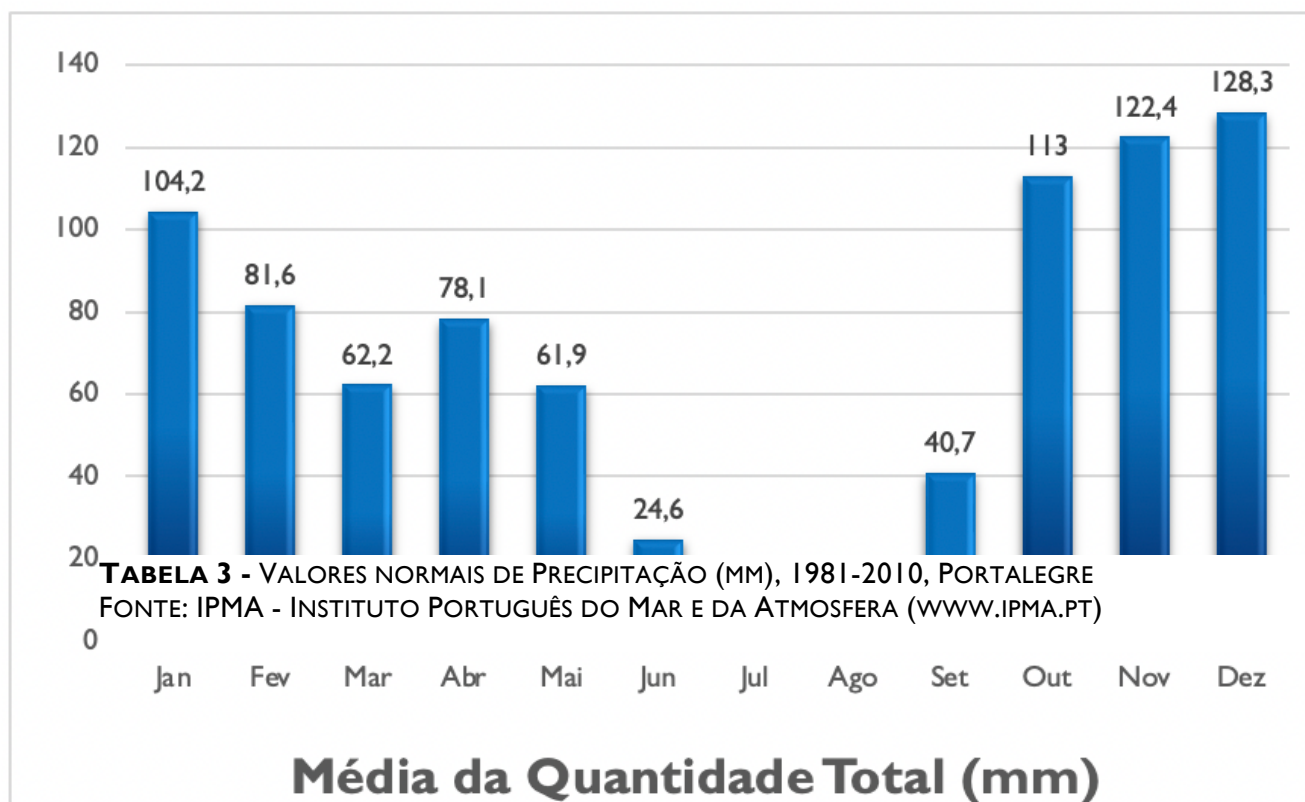


FIGURA 4 - VALORES NORMAIS DE PRECIPITAÇÃO (MM), 1981-2010, PORTALEGRE
FONTE: IPMA - INSTITUTO PORTUGUÊS DO MAR E DA ATMOSFERA (WWW.IPMA.PT)

Analisando os valores de precipitação na tabela 2 e figura 4, pode concluir-se que os meses com a maior quantidade total média de precipitação são os meses de Outubro a Janeiro, sendo o mês de Dezembro o que atinge o valor maior, 128,3mm, de precipitação. Os meses com menos precipitação são Julho (7,1mm) e agosto (9mm).

Conclui-se ainda da tabela 2 que a quantidade de precipitação anual média é de 833,1mm.

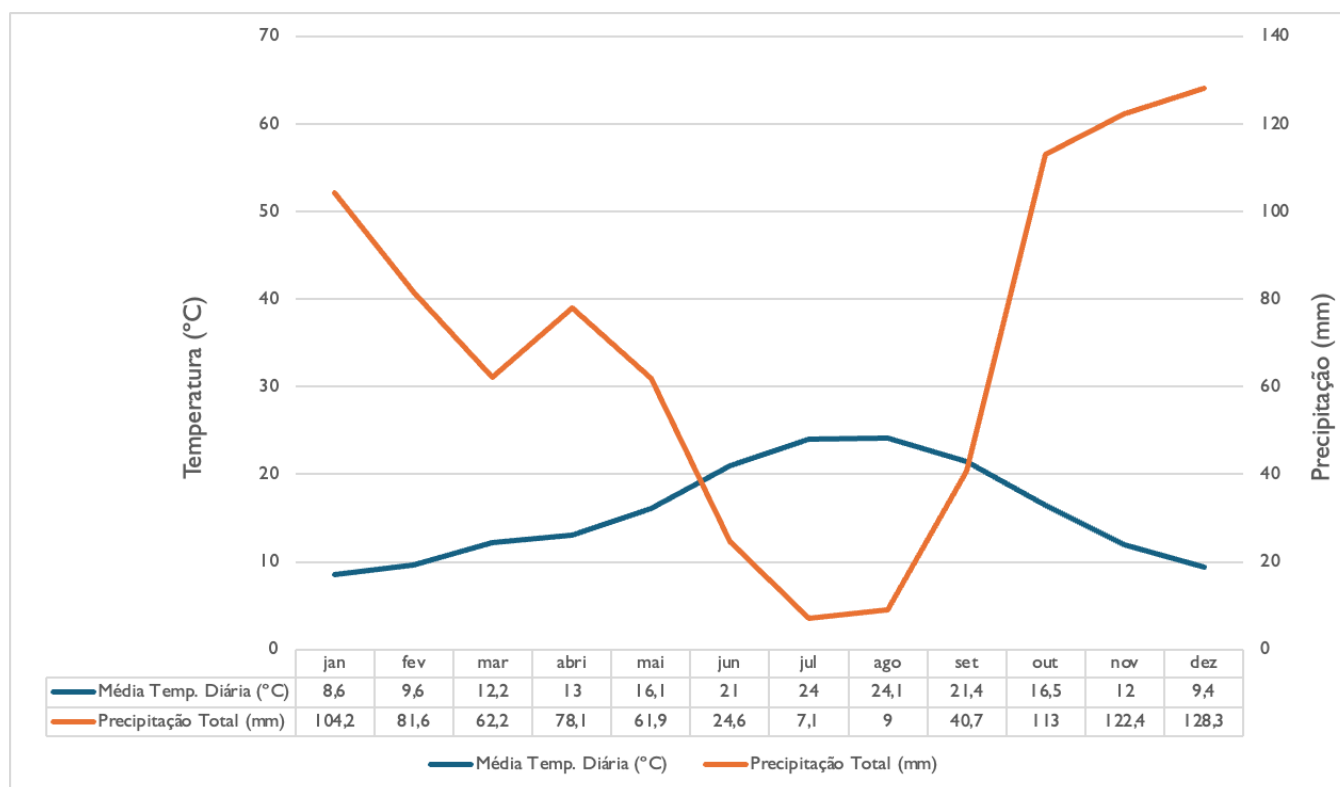


FIGURA 5 - DIAGRAMA OMBROMÉTRICO DE GAUSSEN DE VALORES NORMAIS, 1981-2010, PORTALEGRE

Segundo o Diagrama ombrométrico de Gausen representado na figura 5, verifica-se que o período seco (curva da precipitação abaixo da curva da temperatura) ocorre entre o mês de Junho e Agosto.

3.1.4.4. Condições climáticas prevaletentes durante o ensaio

Este trabalho realizou-se no decorrer do ano agrícola de 2023/2024 entre os meses de novembro e junho.

Os valores climáticos da temperatura e precipitação referentes ao intervalo de tempo em que decorreu o trabalho obtiveram-se na estação meteorológica da Fertiprado, situada na Herdade dos Esquerdos.

Os valores registados diariamente estão apresentados no anexo I, sendo que tanto na tabela 3 como na figura 6 estão referidos os valores mensais. No caso da temperatura apresentam-se os valores de temperatura média do ar de cada mês. No que toca à precipitação apresentam-se os valores totais de cada mês.

TABELA 4 - VALORES DE PRECIPITAÇÃO E TEMPERATURA REFERENTES AOS MESES EM QUE DECORREU O ENSAIO

Meses	set/23	out/23	nov/23	dez/23	jan/24	fev/24	mar/24	abr/24	mai/24	Total
Precipitação (mm)	54,6	148,4	139,8	37,8	113,4	83,8	148,0	26,8	10,4	763,0
Temp. Média do ar (°C)	20,6	19,2	12,7	9,9	11,1	11,7	11,4	15,7	16,9	14,4

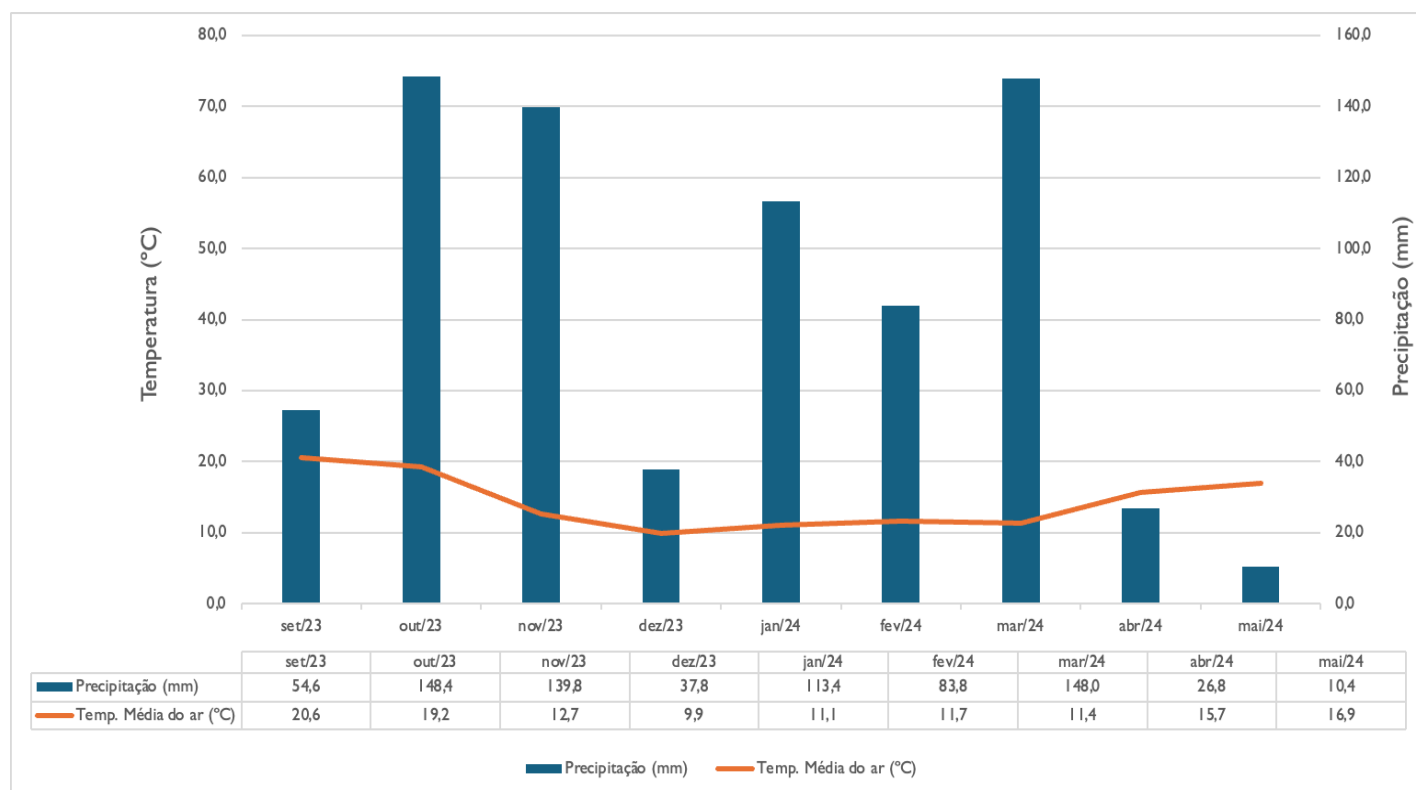


FIGURA 6 - VALORES DE PRECIPITAÇÃO E TEMPERATURA REFERENTES AOS MESES EM QUE DECORREU O ENSAIO

De um modo geral, comparando valores normais, entre 1981 e 2010, de temperatura e precipitação, com os valores prevalentes durante o período de Setembro 2023 a Maio 2024, em que decorreu o trabalho, pode constatar-se que quanto à temperatura, o valor médio aumentou 1,2°C no ano do ensaio, visto que o valor médio destes meses nos valores normais 1981-2010 era de 13,2°C e no ano do ensaio foi de 14,4 (tabela 3). No que diz respeito à precipitação, o somatório destes meses nos valores normais 1981-2010 era de 792,4mm, enquanto nos meses do ensaio foi de 763,0mm (tabela 3), havendo um decréscimo de 29,4mm.

4. Material e Métodos

4.1. Material

O material necessário para a realização deste trabalho pode dividir-se em:

- Material para o trabalho de campo para a recolha das amostras dos ensaios;
- Material para o trabalho de laboratório para as tarefas a realizar nas amostras propriamente ditas.

4.1.1. Material para trabalho de campo

- Trator Kubota de 45cv e 4RM;
- Reboque;
- Sacas para colocar amostras;
- Caneta de acetato para identificar as sacas;
- Tesouras de poda;
- Ancinho;
- Ferro com $1m^2$ (1m x 1m);
- Etiquetas para marcar os ensaios.
- Vasos;

4.1.2. Material para trabalho de laboratório

- Balança de precisão;
- Computador;
- Fichas para anotar o peso das sub-amostras;
- Tabuleiros para colocar as sub-amostras;
- Tesouras para cortar as sub-amostras;
- Caneta de acetato para identificar os tabuleiros;
- Estufa (secador de corrente de ar forçado) para secagem das sub-amostras;

- Sacos herméticos para colocar sub-amostras.

4.2. Delineamento experimental

Foram estudadas 4 espécies de plantas (1 leguminosa e 3 gramíneas): trevo da pérsia (leguminosa), azevém, aveia e tritcale (gramíneas) e 5 consórcios microbianos mais 1 controlo.

Os consórcios microbianos utilizados para a leguminosa foram:

- Inoculante 1: Consórcio de *Rhizobium leguminosarum*;
- Inoculante 2: *Rhizoglyphus irregularis*, *Funneliformis mosseae* e *Trichoderma koningii*;
- Inoculante 3: Consórcio de *Rhizobium leguminosarum*;
- Controlo: Ausência de inoculação.

Para o azevém foram utilizados:

- Inoculante 2: *Rhizoglyphus irregularis*, *Funneliformis mosseae* e *Trichoderma koningii*;
- Inoculante 4: *Xanthomonas* sp., *Pseudomonas* sp. e *Stenotrophomonas rhizophila*;
- Inoculante 5: *Pseudomonas* sp. e *Paenibacillus* sp.;
- Controlo: Ausência de inoculação.

Para a aveia e para o tritcale foram utilizados:

- Inoculante 4: *Xanthomonas* sp., *Pseudomonas* sp. e *Stenotrophomonas rhizophila*;
- Inoculante 5: *Pseudomonas* sp. e *Paenibacillus* sp.;
- Controlo: Ausência de inoculação.

Nos ensaios de campo, cada espécie foi considerada separadamente e foi semeada (com as doses de sementeira indicadas na figura 7), em estreme, em 3 talhões por tratamento, com uma área de 32m² (8m x 4m) cada talhão. Cada talhão foi identificado com o número do ensaio e nome da espécie.

No total foram semeados 12 talhões de trevo da pérsia, 12 de azevém, 9 de aveia e 9 de tritcale, ou seja, 42 talhões. Contudo, no decurso do ensaio 3 dos talhões de tritcale tiveram de ser eliminados, tendo-se ficado apenas com 6 talhões de tritcale e 39 talhões no total (Figura 7).

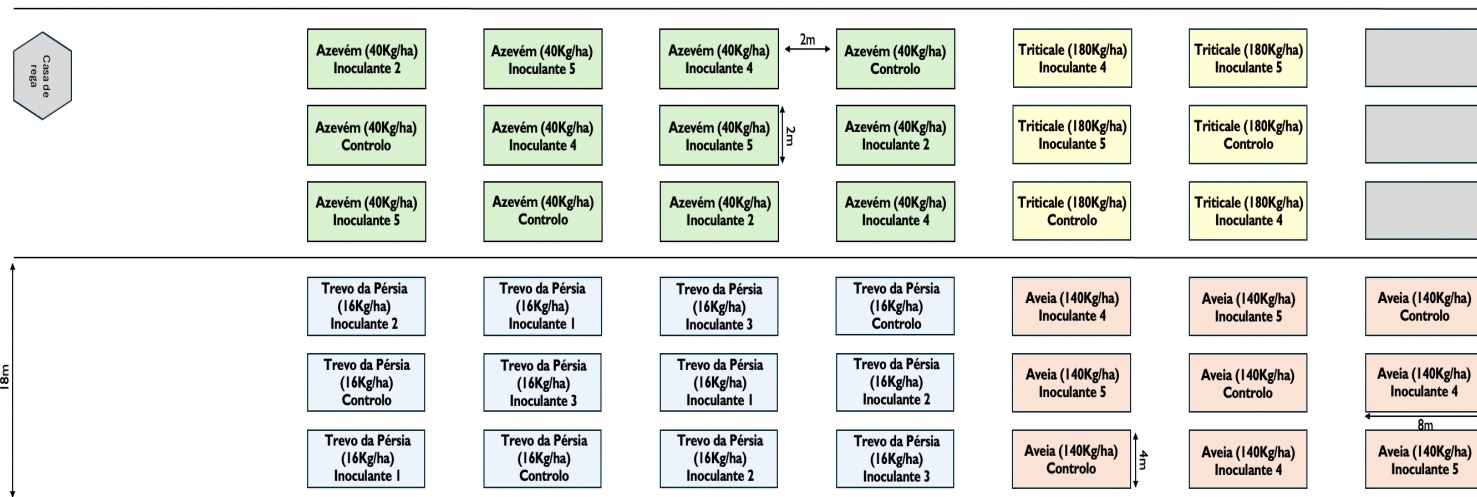


FIGURA 7 - PLANEAMENTO DO ENSAIO DOS INOCULANTES

Em cada talhão, foram recolhidas 3 amostras de $1m^2$ de área.

Deste modo, por cada inoculante estudado (tratamento) foram consideradas nove repetições no trevo da pérsia, no azevém e na aveia e seis repetições no triticale.

Para avaliar a biomassa, nas culturas de corte múltiplo (trevo da pérsia e azevém), foram efetuados 2 cortes (corte e rebrote), enquanto nas culturas da aveia e do triticale, procedeu-se a 1 corte único.

Nos ensaios em vaso, os tratamentos inoculantes foram os mesmos que no ensaio de campo. Para medição da biomassa radicular e do comprimento das raízes, em cada espécie semearam-se 12 vasos por cada tratamento, ou seja, foram semeados 48 vasos de trevo da pérsia, 48 de azevém, 36 de aveia e 36 de triticale, num total de 168 vasos.

4.3. Instalação e condução dos ensaios

Previamente foi feita a inoculação das sementes (trevo da pérsia, azevém, aveia e triticale) com o consórcio de microrganismos específico para cada espécie a testar.

Foi feita a preparação do terreno e a sementeira, feita mecanicamente, decorreu no dia 16/11/2023.

As datas dos cortes foram ajustadas à realidade do ano tendo em conta todas as condições do ano agrícola atual. Nas culturas de corte múltiplo (trevo da pérsia e

azevém), procedeu-se ao primeiro corte no dia 19 de março e ao segundo corte (para avaliação do rebrote do 1º corte), no dia 16 de maio. Nas culturas da aveia e do triticale, procedeu-se ao corte único no dia 24 de abril.

Os cortes efetuaram-se manualmente com tesouras de poda para se determinar a produção de MS total para cada espécie (figura 8 e 9).



FIGURA 9 – 1º CORTE PARA RECOLHA DE AMOSTRAGENS



FIGURA 8 – 2º CORTE PARA RECOLHA DE AMOSTRAGENS

De seguida, recolheu-se todo o material vegetal cortado e colocou-se em sacas devidamente identificadas com o nome e número do ensaio.

A deslocação para os ensaios realizou-se através de um trator e respetivo reboque que transportava todo o material necessário para se efetuar os cortes e, posteriormente, as amostras foram ensacadas e transportadas para o laboratório para serem pesadas e divididas em sub-amostras.

Nos ensaios em vaso, a sementeira efetuou-se no dia 16/11/2023, em “cuvettes”. Após 3 semanas, foi transplantada 1 planta por vaso, onde foi utilizado solo para se tentar replicar as condições naturais, e realizaram-se apenas regas de socorro. No dia 09/05/2024, as plantas foram retiradas dos vasos juntamente com a terra para se proceder à limpeza das raízes. De seguida, levaram-se as plantas para o laboratório

devidamente identificadas para se proceder à pesagem da parte aérea e radicular e também à medição do comprimento da parte radicular.

4.3.1. Observações efetuadas

4.3.1.1. Produção de Biomassa Aérea e Determinação de Matéria Seca

Para que se possam realizar os estudos efetuados neste trabalho há que ter um conhecimento prévio do que é a composição dos alimentos. Basicamente, os alimentos são compostos da seguinte forma:



É importante analisar a composição dos alimentos não só pela sua mais-valia da informação que traz, mas também a nível da produção.

Após a chegada das diversas amostras ao laboratório, os materiais vegetais de cada amostra retirada em $1m^2$, foram pesados numa balança de precisão para se determinar a quantidade de Matéria Verde total recolhida na amostra.

Em seguida, realizaram-se as tarefas para a determinação da Matéria Seca. Pesou-se um tabuleiro, identificado com o nome e número do ensaio e, também, com “Comp” de Composto (denominação atribuída a estas sub-amostras que representam todo o material vegetal incluído na amostra principal), onde se tirou a tara. De seguida, cortaram-se 500g de material vegetal em pequenos troços para facilitar a extração da humidade e o acondicionamento deste material nos tabuleiros. Posteriormente, procedeu-se à colocação das amostras numa estufa de ar forçado a $65^{\circ}C$ durante 48h, de modo a não afetar o valor nutritivo das sub-amostras.

Ao fim das 48h, retiraram-se os tabuleiros da estufa e procedeu-se à sua pesagem. Do peso total das sub-amostras retirou-se o peso do tabuleiro e registaram-se os valores obtidos. A produtividade em Kg de MS por unidade de superfície é estimada a partir do peso total da amostra em MV, aplicando-se a percentagem do seu peso após a secagem (% de matéria seca).

4.3.1.2. Composição Florística

Para a determinação da composição florística, retiraram 500g da amostra de matéria verde total para separação mediante processo manual da espécie em estudo e das infestantes. De seguida, identificaram-se, respetivamente, dois tabuleiros com o nome da espécie e “outros” para as outras espécies. Colocaram-se as diferentes plantas nos respetivos tabuleiros e pesaram-se estas sub-amostras para determinar o peso da matéria verde de cada uma delas. Depositaram-se as sub-amostras numa estufa de ar forçado a 65°C durante 48h. Ao fim deste período, retiraram-se os tabuleiros da estufa e procedeu-se à sua pesagem, com a qual se conseguiu determinar o peso seco da espécie em estudo e das infestantes, calculando a sua percentagem em relação ao total.

4.3.1.3. Biomassa e comprimento das raízes

A biomassa radicular refere-se ao total de matéria seca acumulada nas raízes das plantas. É uma medida importante em questões agronómicas porque as raízes desempenham funções vitais, tais como a absorção de água e nutrientes, a fixação da planta, a estabilização do solo e a promoção de interações benéficas com microrganismos. A inoculação tem o potencial de estimular o crescimento radicular, aumentando a superfície de contacto com o solo e, consequentemente, a capacidade de absorção de água e nutrientes. Portanto, torna-se imprescindível avaliar este parâmetro.

A metodologia empregada para avaliar este parâmetro consistiu na inoculação de sementes, enchimento de vasos, sementeira em “cuvettes” e transplantação para vaso que foi realizada 3 semanas depois da sementeira. Em seguida, os vasos permaneceram ao ar livre, preservando as condições ambientais naturais para refletir com maior precisão a realidade. Para a recolha de dados (amostragem, limpeza e análise), as plantas

foram removidas dos vasos no dia 9/5/2024, a fim de evitar a danificação das raízes e de nódulos radiculares no caso das leguminosas. Para retirar todas as partículas de solo, as plantas foram cuidadosamente lavadas com água sob pressão (figura 10). No laboratório, procedeu-se à pesagem separada da biomassa aérea e radicular, bem como à medição do comprimento das raízes de cada planta.



FIGURA 10 - LAVAGEM DE RAÍZES

4.4. Tratamento dos dados

Após a obtenção dos resultados, a análise estatística foi feita com recurso ao programa Excel. Os valores da biomassa dos ensaios de campo foram convertidos de m^2 para o hectare. Foram calculados os valores da média e desvio padrão, e efetuados os gráficos para melhor visualização dos resultados. Aplicou-se o teste-t para amostras independentes a todos os grupos de dados em que consideramos a variância iguais. A

diferença observada entre os grupos comparados foi considerado estatisticamente significativo sempre que $p < 0.05$.

5. Resultados e Discussão

5.1. Produção de biomassa aérea e radicular

No anexo 2, estão apresentados os resultados recolhidos durante o trabalho, relativos à produção de MS de cada cultura em estudo, assim como os valores da média e desvio padrão.

5.1.1. Trevo da Pérsia

Este estudo visa avaliar o efeito dos diferentes tratamentos de inoculação em cada um dos dois cortes, na produção de MS do Trevo da pérsia e da presença de infestantes (outros). A análise de variância foi efetuada para comparar os diferentes tratamentos em cada corte (figura 11).

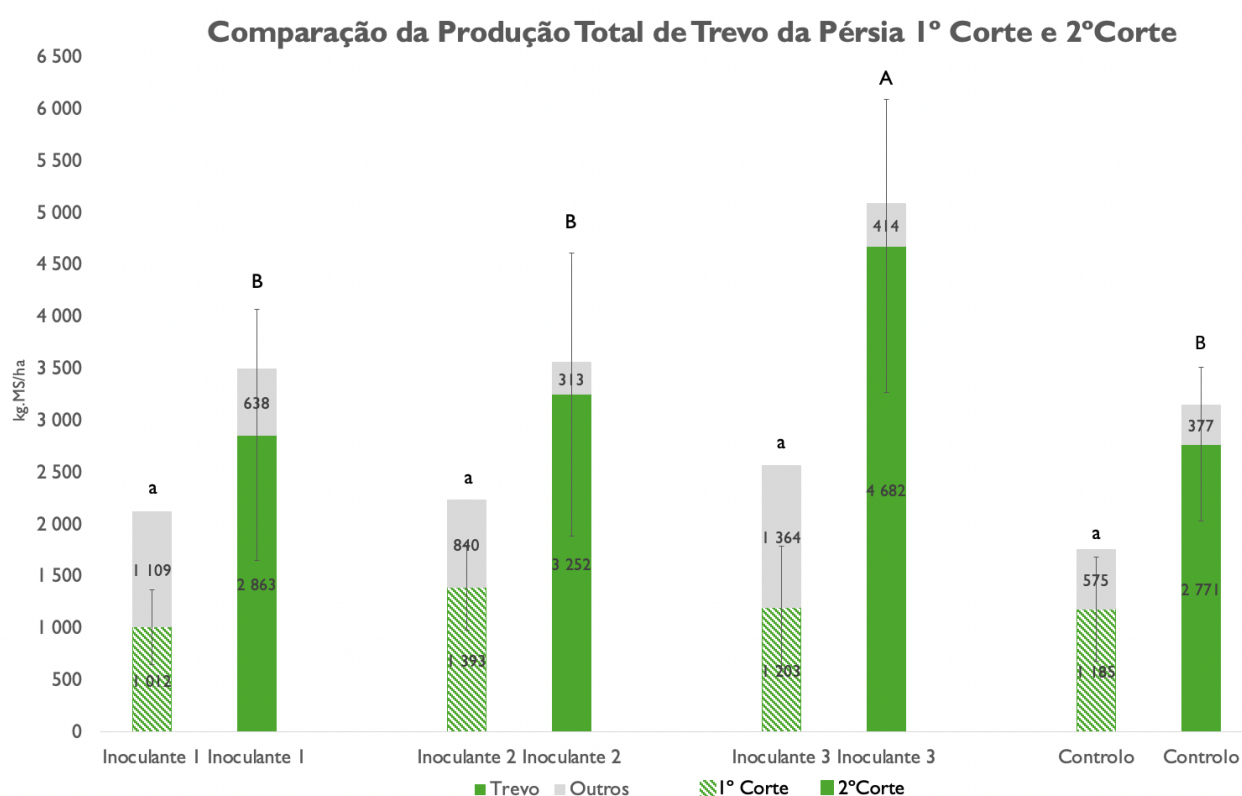


FIGURA 11 - PRODUÇÃO DE MS DO TREVO DA PÉRSIA 1º E 2º CORTE, EM CADA TRATAMENTO INOCULANTE, A COLUNA DA ESQUERDA REPRESENTA O 1º CORTE E A DA DIREITA REPRESENTA O 2º CORTE.

O trevo da pérsia é uma espécie que possui uma acentuada capacidade de rebrote, o que é confirmado pelas maiores produções que se observam no rebrote comparativamente com o 1º corte.

No que diz respeito aos dados obtidos no primeiro corte, não se verificaram diferenças significativas entre inoculantes e nenhum dos inoculantes evidenciou uma superioridade estatística significativa em relação ao controlo.

No 2º corte, o inoculante 3 revelou-se a opção mais vantajosa, sendo estatisticamente superior ao controlo e aos restantes inoculantes, favorecendo significativamente o rebrote desta cultura.

A figura 12, exibe a produção total de MS acumulada em 2 cortes no Trevo da Pérsia, comparando os diferentes inoculantes com o Controlo (testemunha). Este tipo de análise é crucial para entender a eficácia dos inoculantes na promoção efetiva do crescimento desta espécie.

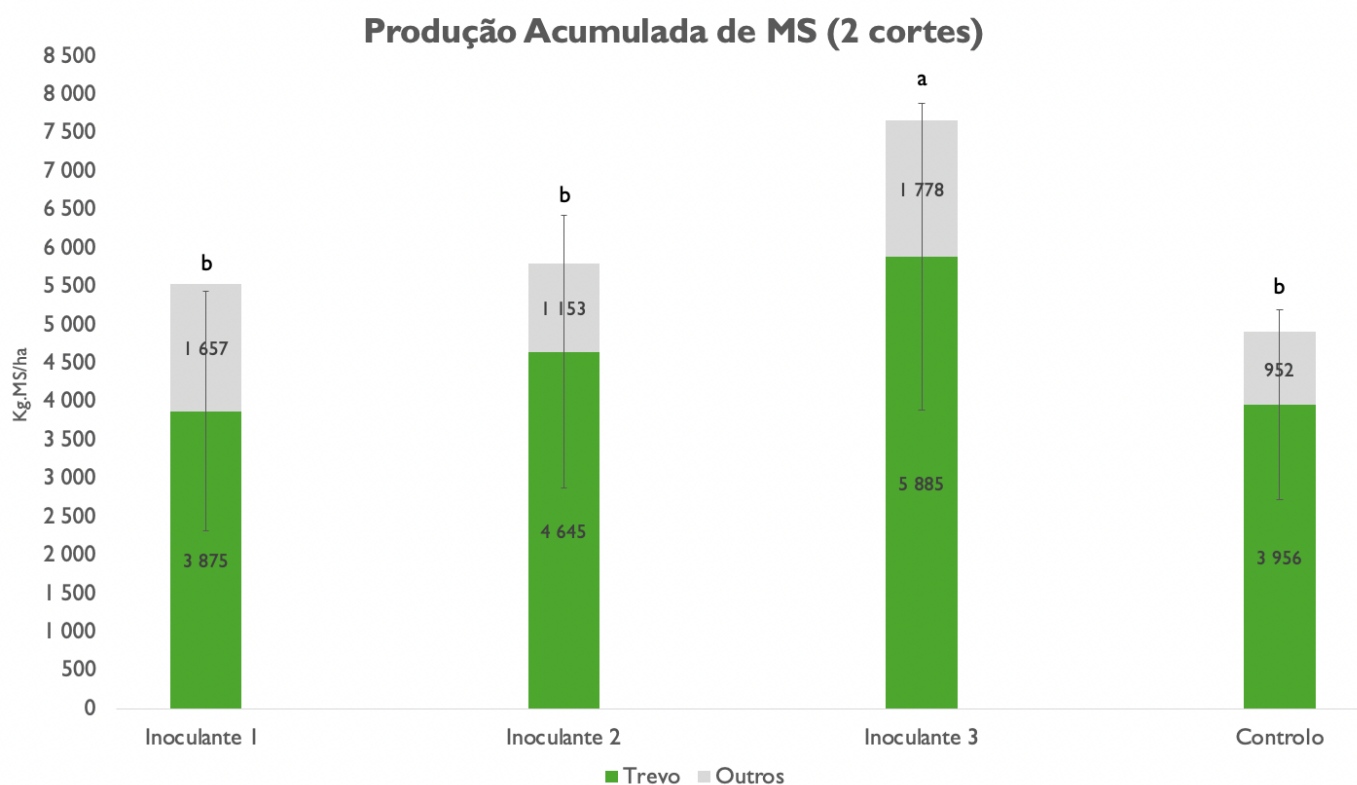


FIGURA 12 – GRÁFICO DA MATÉRIA SECA TOTAL ACUMULADA NOS 2 CORTES NO TREVO DA PÉRSIA

O Inoculante 3 destaca-se com a maior produção total de MS de trevo da pérsia entre todos os tratamentos, com 5.885Kg.MS/ha. Este resultado indica a eficácia deste

inoculante em promover o crescimento geral das plantas, no entanto, também foi o que apresentou uma maior quantidade de infestantes: 1.778Kg.MS/ha.

O único inoculante que obteve uma produção total de MS de trevo da pérsia ligeiramente inferior ao controlo foi o Inoculante I com 3.875Kg.MS/ha.

A produção de Trevo da pérsia nos diferentes tratamentos foi afetada pela presença do fungo *Uromyces trifolii*, como se pode observar nas figuras 13 e 14.



FIGURA 13 - PRESENÇA DE *UROMYCES TRIFOLII* NO TREVO DA PÉRSIA - PORMENOR



FIGURA 14 - PRESENÇA DE *UROMYCES TRIFOLII* NO TREVO DA PÉRSIA - VISTA GERAL DO ATAQUE DO FUNGO

A figura 15 apresenta os dados referentes à produção de MS da parte aérea e radicular, bem como o comprimento das raízes em vasos.

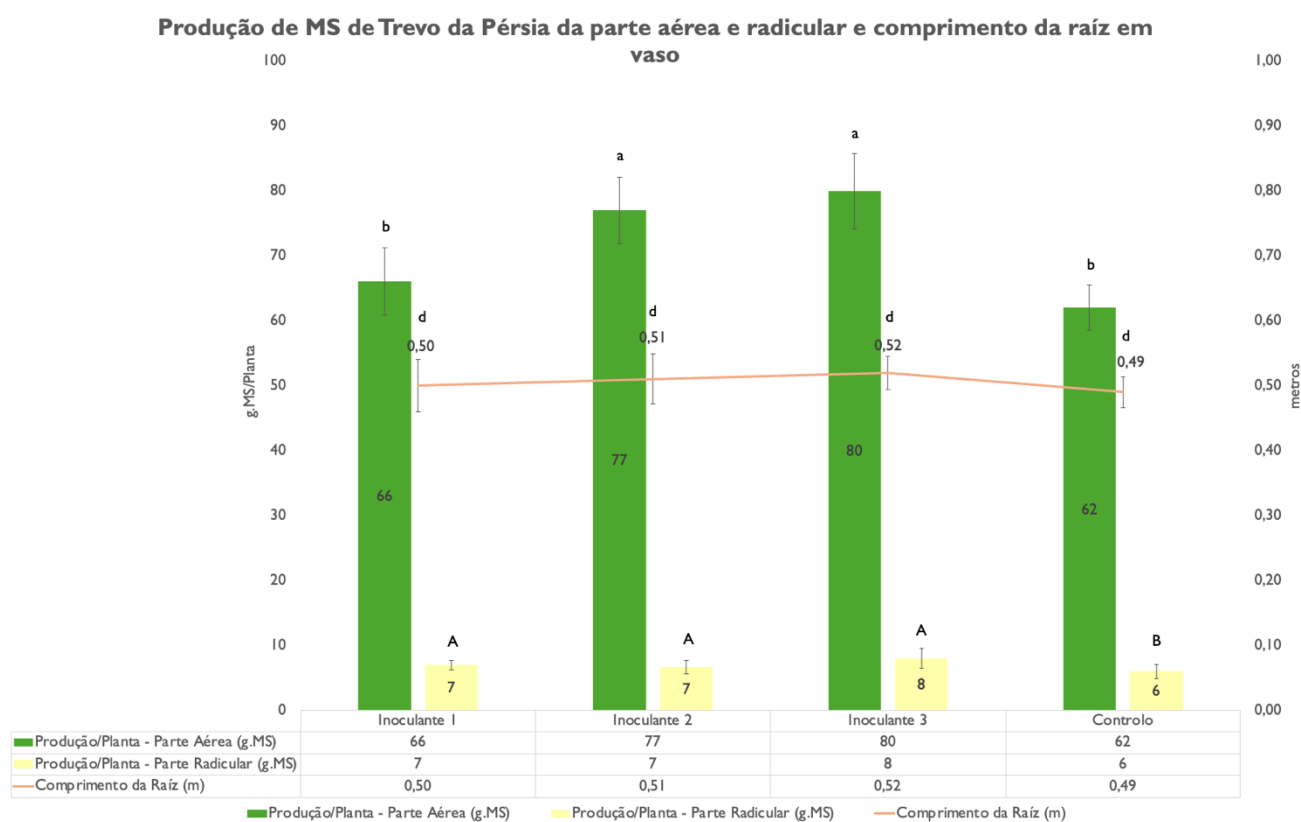


FIGURA 15 - PRODUÇÃO DE MS DE TREVO DA PÉRSIA DA PARTE AÉREA E RADICULAR E COMPRIMENTO DA RAÍZ EM VASO

No ensaio em vasos, o inoculante 3 também se destacou: conduziu à maior produção de biomassa aérea, de biomassa de raiz e maior comprimento de raiz. Contudo as diferenças foram não significativas relativamente ao inoculante 2 para a biomassa aérea e aos inoculantes 1 e 2 para a biomassa de raiz e as diferenças entre inoculantes foram não significativas para o comprimento da raiz.

Por outro lado, em relação à biomassa radicular, observou-se que todos os inoculantes demonstraram uma superioridade estatisticamente significativa em comparação ao controle.

Ainda que os inoculantes tenham promovido um aumento de peso radicular, tal efeito não se refletiu no comprimento da raiz. Estes valores podem indicar um acréscimo na formação de nódulos. Portanto, futuramente deve-se aferir se os inoculantes estimularam a nodulação do trevo.

5.1.2. Azevém

O gráfico apresentado na figura 16, compara a produção total de MS do azevém no 1º e 2º corte (19 de março e 16 de maio, respetivamente), incluindo a presença de infestantes (outros).

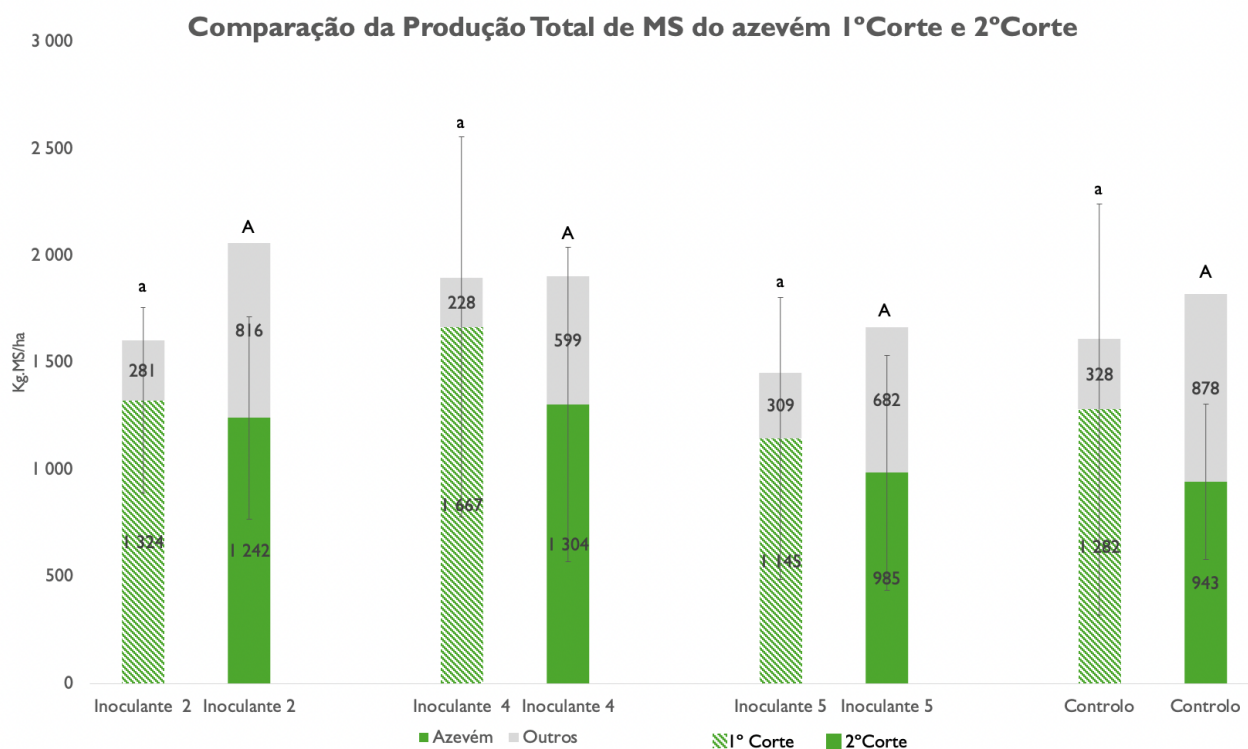


FIGURA 16 - PRODUÇÃO DE MS DO AZEVÉM 1º E 2º CORTE. EM CADA TRATAMENTO INOCULANTE, A COLUNA DA ESQUERDA REPRESENTA O 1º CORTE E A DA DIREITA REPRESENTA O 2º CORTE.

A maior produção de MS de azevém foi no 1º corte com o Inoculante 4 com 1.667Kg.MS/ha.

Os inoculantes mostraram-se eficazes na produção de MS de azevém em comparação com o Controlo, à exceção do Inoculante 5 apenas no 1º Corte. No entanto todos os tratamentos apresentaram um aumento significativo de infestantes e uma diminuição de produção de azevém no 2º corte. Este facto pode dever-se à presença intensa de *Puccinia graminis* que afetou em grande escala esta espécie, como se pode verificar nas figuras 17 e 18.



FIGURA 18 - PRESENÇA DE *PUCCINIA GRAMINIS* NO AZEVÉM - PORMENOR

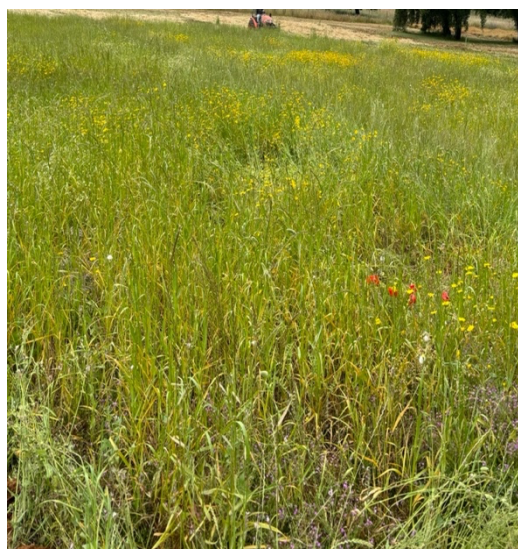


FIGURA 17 - PRESENÇA DE *PUCCINIA GRAMINIS* NO AZEVÉM

Ainda que não se tenham observado diferenças significativas entre os inoculantes e o controlo, a adição de inoculantes às sementes resultou numa maior homogeneidade entre os cortes. A diferença entre os dois cortes no controlo é substancialmente superior, no que toca ao desvio padrão. Portanto, é possível afirmar que, nos tratamentos com inoculantes, a produção de azevém apresentou uma maior uniformidade.

Entre os inoculantes, o inoculante 4 garantiu repetidamente uma produção superior nos dois cortes.

A figura 19, exibe a produção total de MS acumulada em 2 cortes no Azevém, comparando os diferentes Inoculantes com o Controlo (testemunha).

Produção Acumulada de MS (2 cortes)

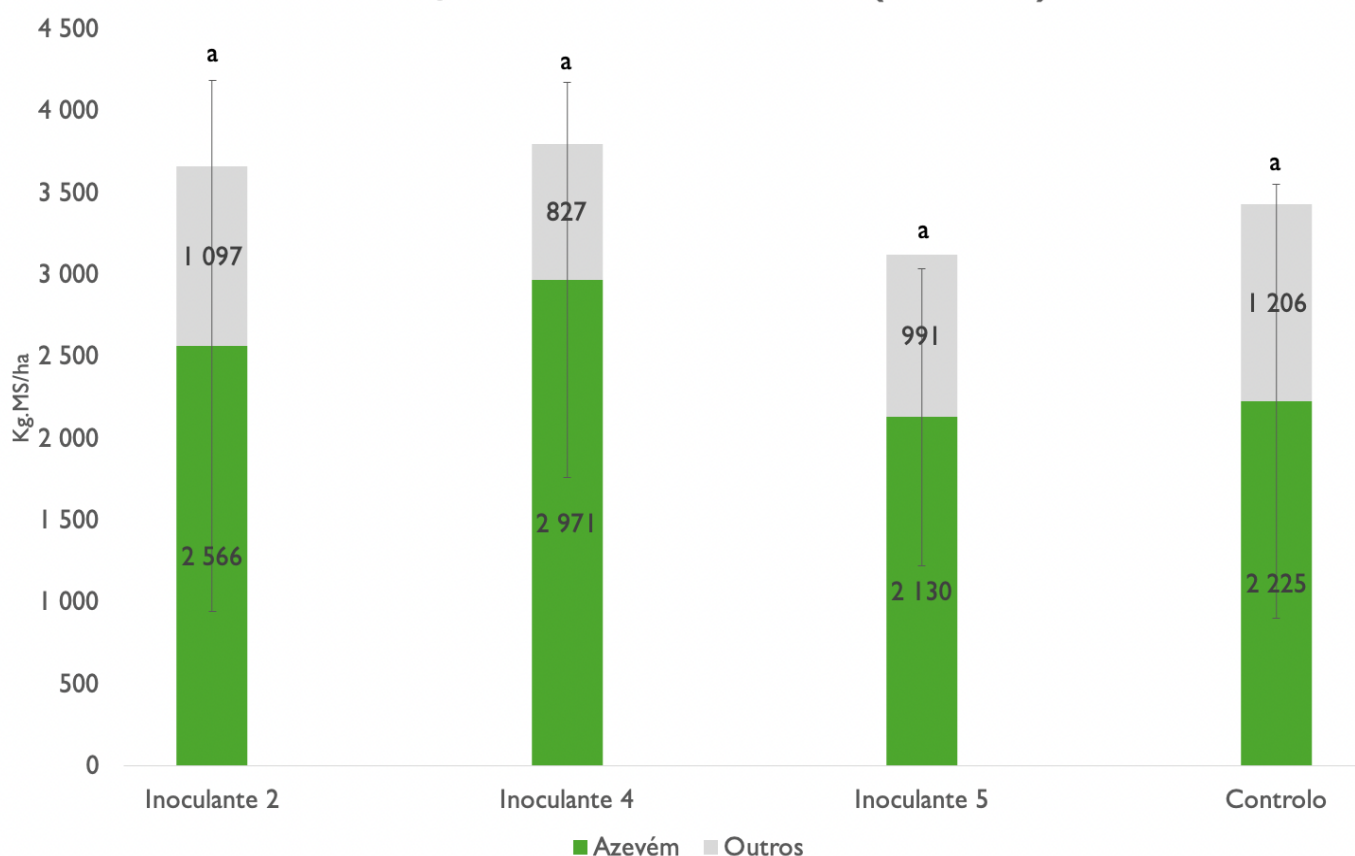


FIGURA 19 - GRÁFICO DA MATÉRIA SECA ACUMULADA NOS 2 CORTES NO AZEVÉM

A maior produção de azevém verifica-se no Inoculante 4, seguido no Inoculante 2 e, por fim, no Inoculante 5. De destacar, a grande presença de infestantes nos quatro tratamentos.

Castanheira *et. al.*, (2017), defende que a inoculação de azevéns anuais com um grupo de bactérias promotoras de crescimento de plantas, do qual fazia parte as *Pseudomonas sp.* e *Paenibacillus sp.*, aumentou significativamente o crescimento e o estado fisiológico das plantas, melhorando parâmetros essenciais como os pigmentos fotossintéticos das folhas.

A figura 20, apresenta dados referentes à produção de MS da parte aérea e radicular, bem como o comprimento das raízes em vasos.

Produção de MS de azevém da parte aérea e radicular e comprimento da raiz em vaso

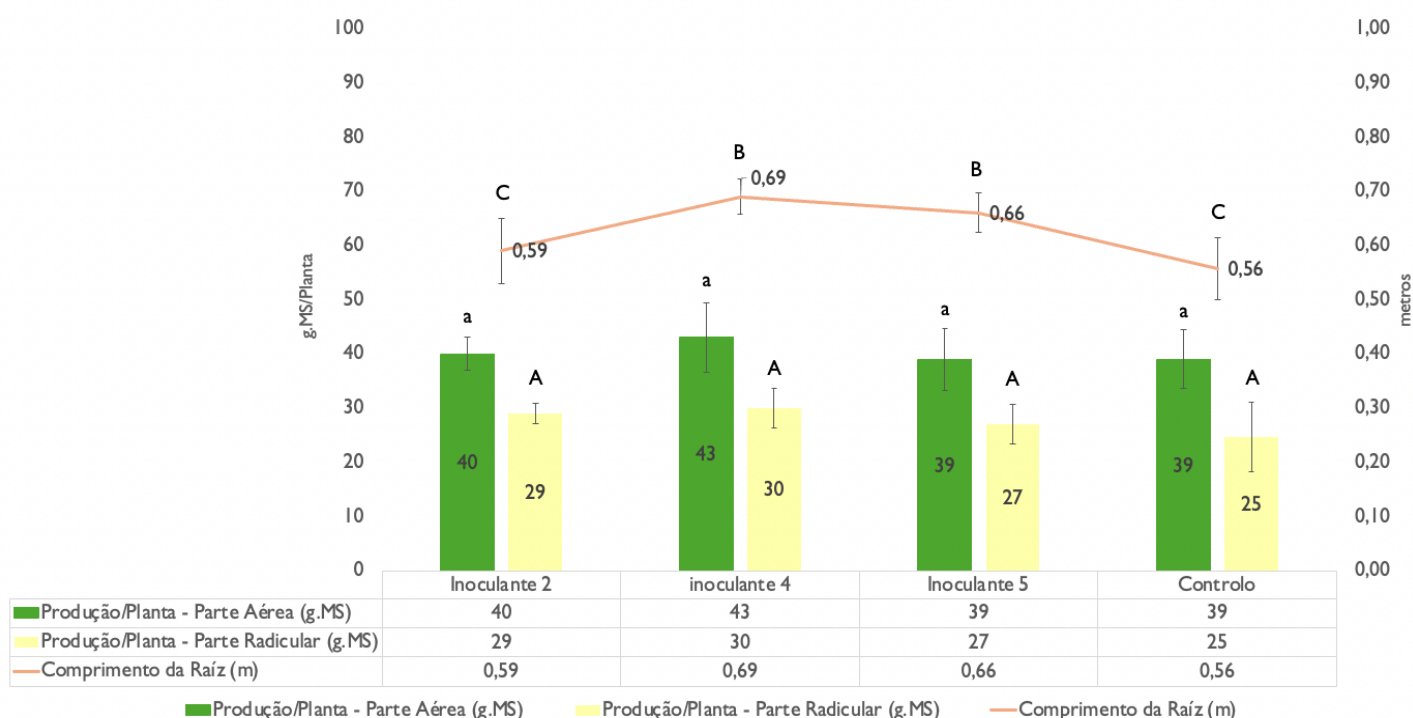


FIGURA 20 - GRÁFICO COMPARATIVO DA PRODUÇÃO DE MS DE AZEVÉM DA PARTE AÉREA E RADICULAR E COMPRIMENTO DA RAÍZ

O resultado do Inoculante 4 foi consistente com o obtido em campo: foi o que teve maior produção de biomassa aérea e radicular, seguido do Inoculante 2 e, por fim, o Inoculante 5.

Os três parâmetros avaliados em todos os inoculantes tiveram maiores produções em relação ao controlo.

Em concordância com o que vimos nos ensaios em campo, no sistema de avaliação em vasos não se observou diferenças significativas em termos de biomassa aérea e radicular. No entanto, no que toca ao comprimento da raiz, tanto o Inoculante 4 como o Inoculante 5 proporcionaram raízes mais longas. Na escolha entre os dois, pode-se dar prioridade a fatores como: o custo económico e facilidade de logística, já que os resultados de produção são similares.

5.1.3. Aveia

A figura 21 ilustra a produção total de MS de diferentes tratamentos com inoculantes na aveia, abrangendo três grupos distintos: Inoculante 4, Inoculante 5 e Controlo. Os valores numéricos presentes no topo de cada barra proporcionam uma visão quantitativa e clara da produção, permitindo uma comparação direta entre o Inoculante 4 e Inoculante 5 face à testemunha (Controlo). A análise destes dados é essencial para avaliar a eficácia dos diferentes inoculantes utilizados e o seu impacto na produção de aveia, fornecendo percepções valiosas para práticas agrícolas otimizadas.

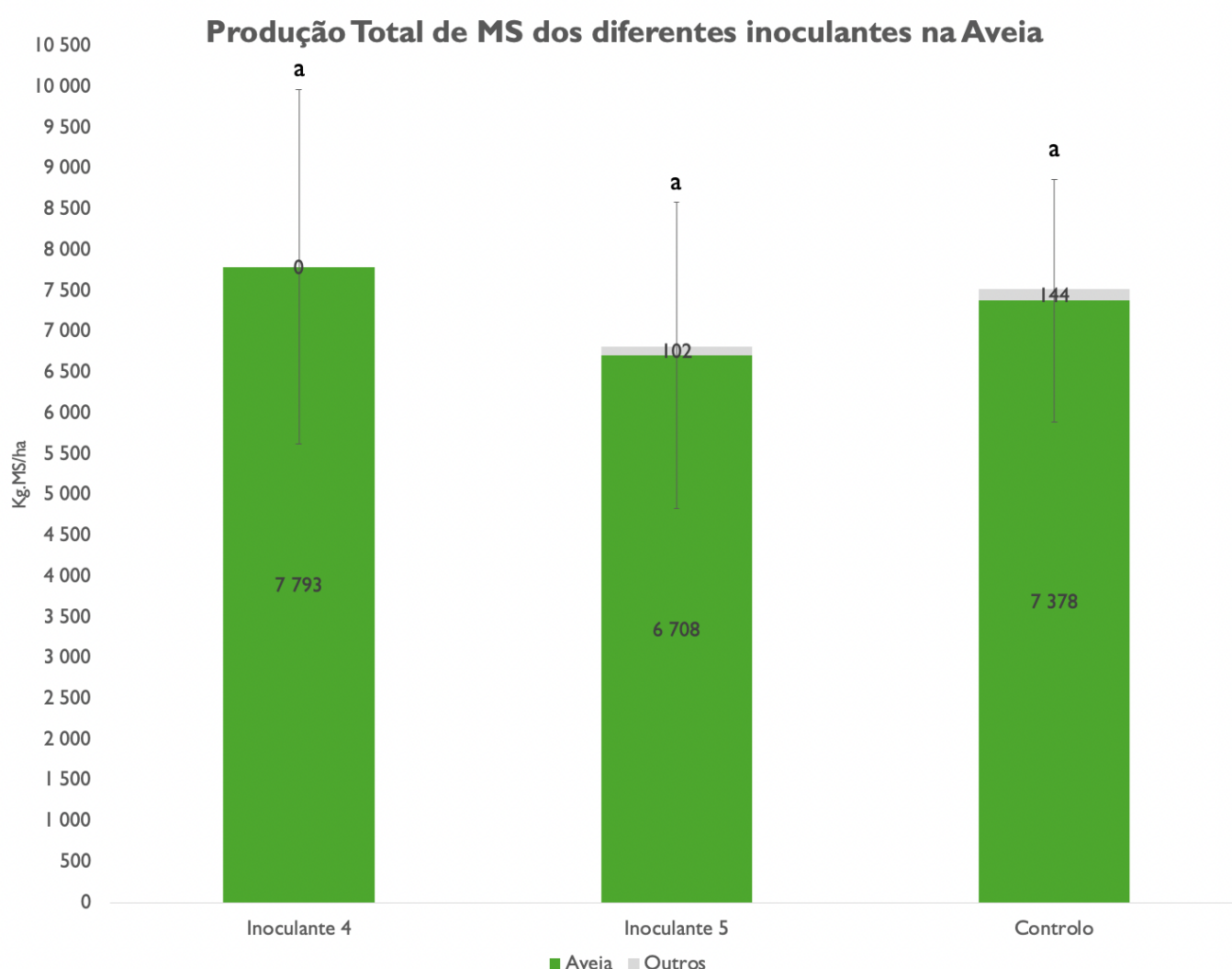


FIGURA 21 - GRÁFICO DA PRODUÇÃO TOTAL DE MS DOS DIFERENTES INOCULANTES NA AVEIA

Podemos destacar deste gráfico que o Inoculante 4, revela-se superior (ainda que as diferenças sejam estatisticamente não significativas) em relação à testemunha, devido

à maior produção total de MS de aveia e foi o único tratamento onde não se verificou a presença de infestantes.

Estatisticamente não há diferenças significativas entre o controlo e os inoculantes. No entanto, o inoculante 4 mostrou ser mais eficaz que o inoculante 5 com uma diferença de produção de cerca de 1.000Kg.MS/ha. Embora a diferença entre o Inoculante 4 e o controlo não seja significativa, o inoculante resultou num aumento em cerca de 400Kg.MS/ha. Considerando que um agricultor semeie 100ha de aveia, a produção final será superior em 40.000Kg. Em grandes áreas, o uso do inoculante pode ser vantajoso, pois reduz a necessidade de fertilização adicional para aumentar a produção, tornando-se, assim, uma prática económica e ambientalmente sustentável.

A figura 22, apresenta dados referentes à produção de MS da parte aérea e radicular, bem como o comprimento das raízes em vasos.

Produção de MS de Aveia da parte aérea e radicular e comprimento de raiz em vaso

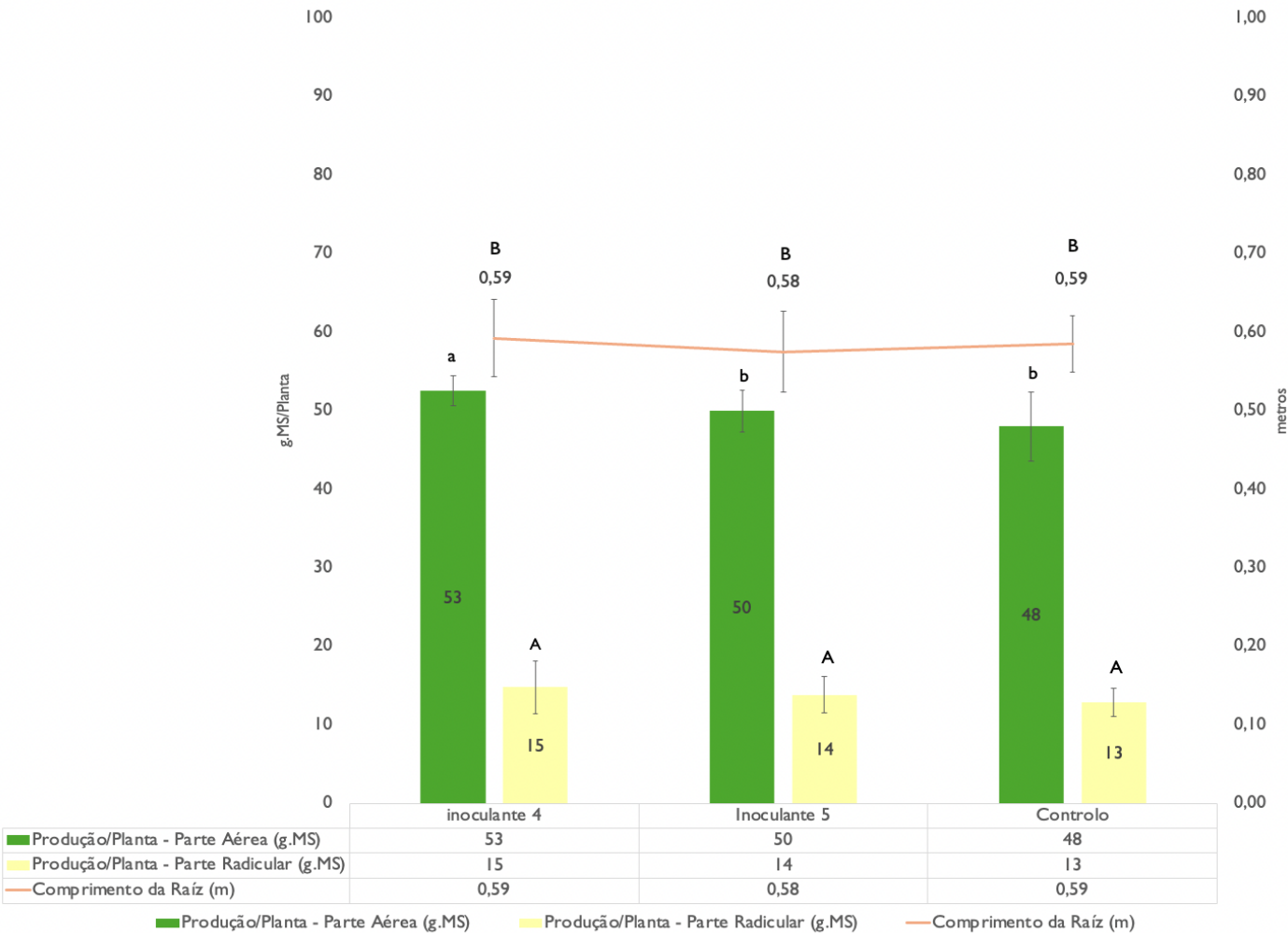


FIGURA 22 - GRÁFICO COMPARATIVO DA PRODUÇÃO DE MS DE AVEIA DA PARTE AÉREA E RADICULAR E COMPRIMENTO DA RAÍZ

O inoculante 4 apresentou os melhores resultados em termos de produção. No entanto, o comprimento das raízes mostrou pouca variação entre os diferentes tratamentos.

No que diz respeito à biomassa aérea, os resultados são consistentes, o Inoculante 4 demonstra ser mais eficaz que o Inoculante 5 e, de facto, revela-se estatisticamente superior ao controlo.

Não existem diferenças significativas na avaliação de biomassas radicular e no comprimento da raíz.

5.1.4. Triticale

A figura 23, ilustra a Produção Total de MS de triticale sob diferentes tratamentos de inoculantes.

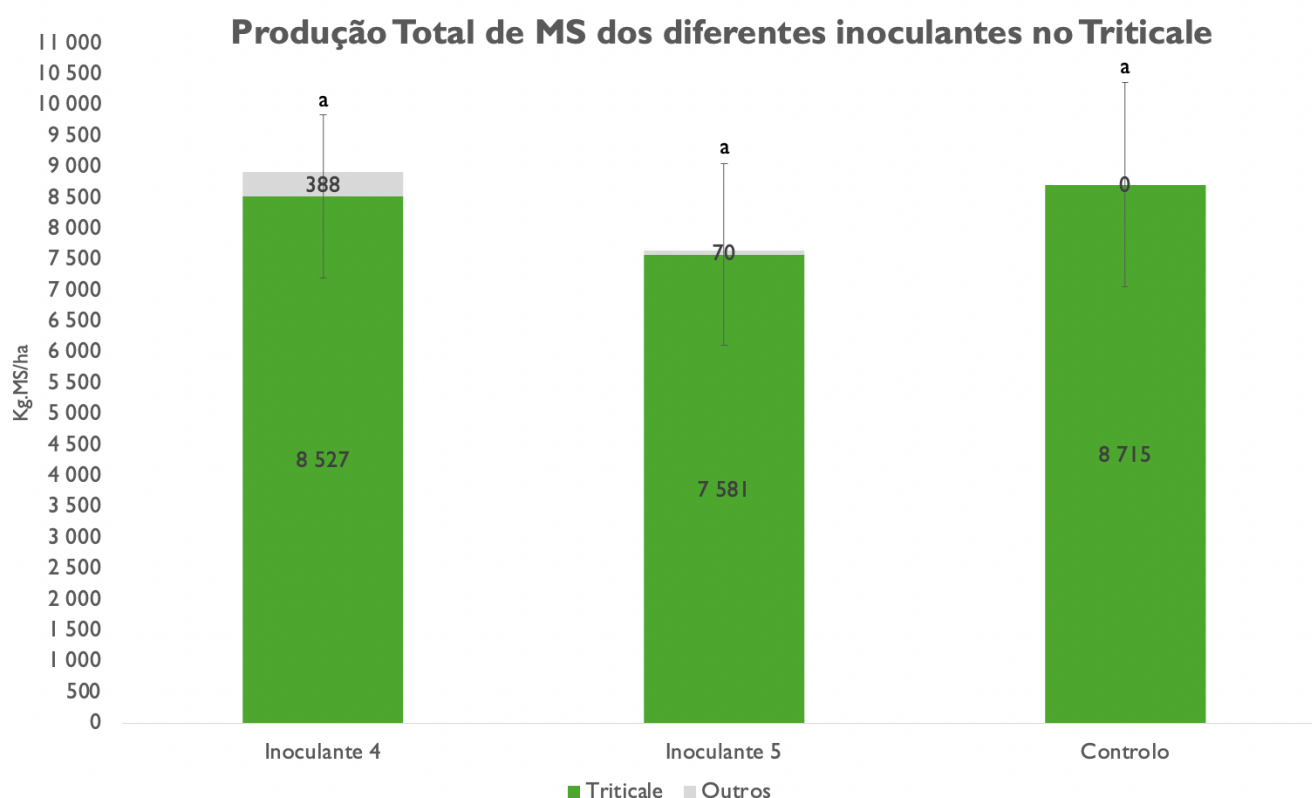


FIGURA 23 - GRÁFICO DA PRODUÇÃO TOTAL DE MS DOS DIFERENTES INOCULANTES NO TRITICALE

O controlo foi o que registou maior produção de MS, com 8.715Kg.MS/ha. Verificou-se também que este tratamento foi o único com ausência de infestantes. O

triticale com o Inoculante 4 apresenta a segunda maior produção de MS entre os três grupos analisados. No entanto, foi o tratamento onde predominaram mais infestantes com uma produção de 388Kg.MS/ha. O Inoculante 5 apresenta a menor produção de MS, com 7.581Kg.MS/ha.

A produção do controlo ultrapassou a produção dos inoculantes, assim a possibilidade de ter ocorrido um erro de amostragem não pode ser descartada. Amostragens inadequadas podem resultar em dados que não reflitam com precisão os dados obtidos, levando a conclusões equivocadas sobre eficácia dos inoculantes. Alternativamente, é possível que a eficácia dos inoculantes não se tenha manifestado devido às variações ambientais, os consórcios microbianos em estudo podem não ser eficazes nesta espécie, a interação com outros microrganismos presentes no solo podem influenciar a atividade dos inoculantes, comprometendo a expressão dos seus benefícios esperados.

A aplicação de inoculantes pode resultar numa significativa redução de custos para os agricultores. Ao melhorar a eficiência do uso de nutrientes e promover o crescimento saudável das plantas, os inoculantes podem diminuir a necessidade de fertilizantes de síntese química. Além disso, a redução da dependência de produtos químicos não economiza apenas os recursos financeiros, mas também promove práticas agrícolas mais sustentáveis e ecológicas.

As diferenças observadas entre os inoculantes e o controlo não são estatisticamente significativas.

Sendo o processo de amostragem uma condicionante ao resultado final, é de vital importância que num futuro estudo este procedimento se repita para validar estes resultados.

A seguinte figura 24 revela os dados sobre a produção de MS da parte aérea e radicular, bem como o comprimento das raízes de triticale cultivado em vasos. Os tratamentos analisados são: Inoculante 1, Inoculante 2 e Controlo.

Produção de MS de Triticale da parte aérea e radicular e comprimento da raiz em vaso

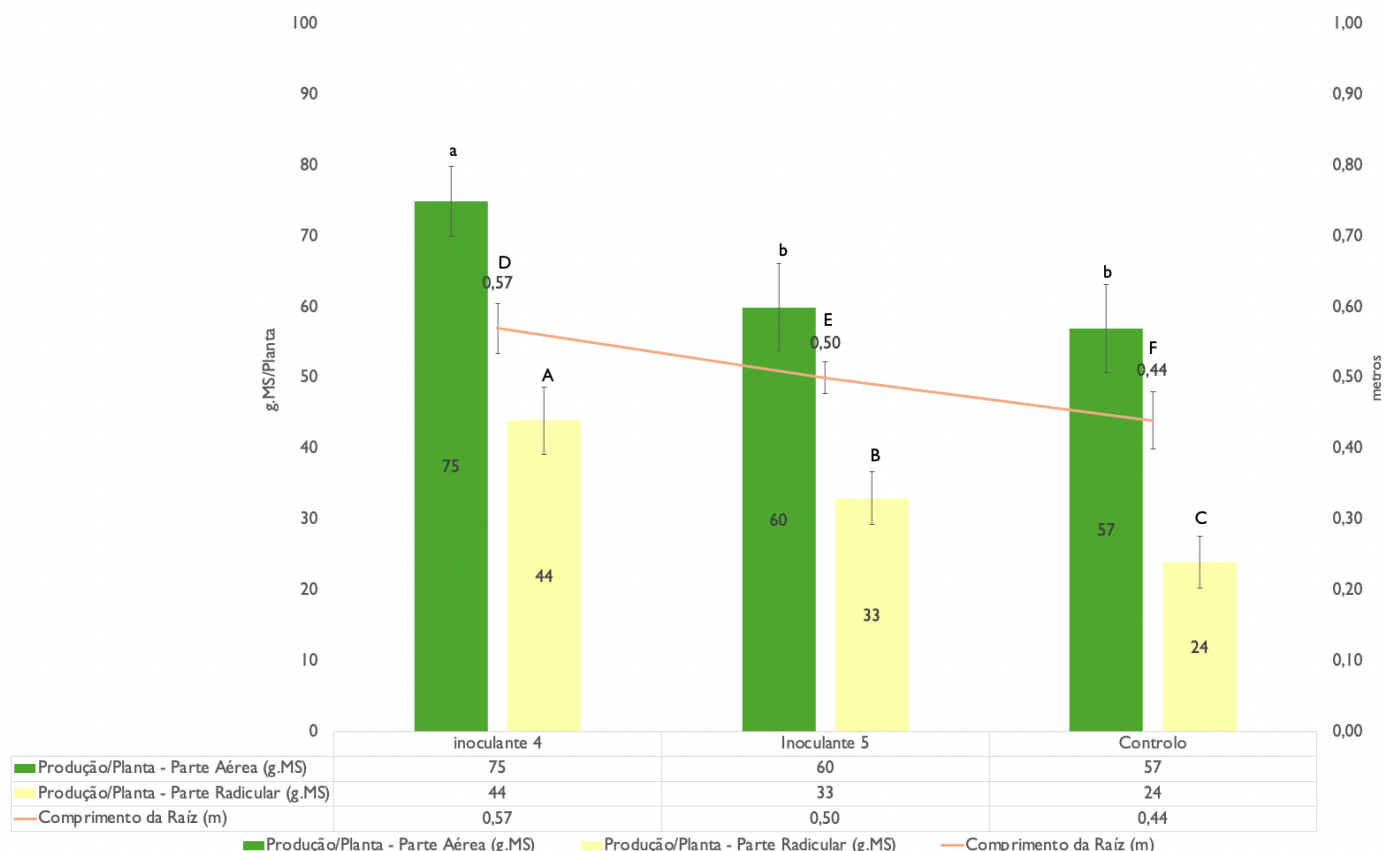


FIGURA 24 - GRÁFICO COMPARATIVO DA PRODUÇÃO DE MS DE TRITICALE DA PARTE AÉREA E RADICULAR E COMPRIMENTO DA RAÍZ

Do ponto de vista estatístico, o Inoculante 4 evidenciou uma produção de biomassa aérea superior ao controlo. Comparativamente aos dois inoculantes, o inoculante 4 superou o inoculante 5, neste aspecto.

A respeito da biomassa radicular, ambos os inoculantes resultaram numa produção significativamente maior do que o controlo. Além disso, os resultados indicam que o Inoculante 4 foi mais eficaz do que o Inoculante 5, seguindo a tendência observada na biomassa aérea

No que se refere ao comprimento da raiz, ambos os inoculantes são significativamente melhores que o controlo. É de referir que o Inoculante 4 volta a ser melhor que o Inoculante 5.

Os ensaios em vasos apontam para uma mais valia na adição dos inoculantes em termos de produção, com destaque do Inoculante 4 entre os testados.

Embora estes resultados sejam promissores e não sendo contraditórios, os resultados vistos no ensaio em vaso não se transpuseram ao ensaio de campo, salvaguardando mais uma vez a necessidade de repetir o ensaio em campo.

6. Conclusões

Após ter concluído este estágio, no qual me foram dados objetivos para retirar ilações sobre a inoculação de sementes, é agora possível concluir diversos aspetos sobre esta prática.

No Trevo da Pérsia, o Inoculante 3 destacou-se em relação aos outros inoculantes. Em vaso, voltou-se a confirmar, não só uma maior produção da parte aérea e radicular, mas também um maior comprimento das raízes. A produção de biomassa nesta espécie foi atenuada por fatores patogênicos, especificamente pela presença de *Uromyces trifolii*. Esta infeção fúngica é um elemento perturbador que compromete a capacidade fotossintética e, consequentemente, a eficiência na acumulação de biomassa.

O Inoculante 4 registou a melhor produção na cultura do azevém com uma produção acumulada de 2.971 Kg.MS/ha nos dois cortes. Em vaso, este inoculante voltou-se a destacar com as maiores produções nos três parâmetros avaliados. É pertinente considerar que a produção de azevém foi afetada significativamente pela presença de *Puccinia graminis*, que impõe um severo stress biótico na planta. Este fungo patogénico provoca uma série de disfunções fisiológicas, incluindo a redução da fotossíntese e a translocação de nutrientes, comprometendo a viabilidade e a produtividade da cultura. Adicionalmente, supõe-se que a ausência de vernalização – um processo de indução de florescimento através da exposição prolongada a baixas temperaturas – neste ano agrícola, possa ter afetado a produção de biomassa. A vernalização é essencial para muitas gramíneas, tal como o azevém, visto que promove um crescimento vigoroso e uma produção abundante de biomassa.

Os resultados obtidos na aplicação do Inoculante 4 na aveia, apesar de não haver diferenças significativas no ensaio de campo voltou a ter destaque na produção de biomassa.

No ensaio de campo, o tratamento que apresentou maior produção no tritcale foi o controlo. Contudo, nos experimentos realizados em vaso, o Inoculante 4 foi o que resultou na maior produção.

Em geral, os inoculantes testados mostraram ser eficientes. Os consórcios microbianos tiveram efeitos diretos nas plantas na produção de biomassa aérea e radicular. É de salientar que os resultados obtidos neste trabalho são ainda preliminares, requerendo dar continuidade a este estudo.

7. Bibliografia

- Abreu, D. C. S. D. (2018). *Effect of the inoculation of plant growth promoting bacteria on maize plants to improve their growth under drought stress* (Doctoral dissertation).
- Barradas, A. (2009). *Efecto de la mejora de pastos naturales en cuatro tipos de suelos mediterráneos* (Doctoral dissertation, Universidad de Extremadura).
- Cano, M. A. (2011). Interacción de microorganismos benéficos en plantas: Micorrizas, *Trichoderma* spp. y *Pseudomonas* spp. Una revisión. *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*, 14(2), 15-31.
- Carita, T. (2021). Melhorar e Conservar Pastagens Permanentes-Desafios e Oportunidades para os Trevos Anuais. *Revista Vida Rural*, 76-82.
- Castanheira, N. L., Dourado, A. C., Pais, I., Semedo, J., Scotti-Campos, P., Borges, N., ... & Fareleira, P. (2017). Colonization and beneficial effects on annual ryegrass by mixed inoculation with plant growth promoting bacteria. *Microbiological Research*, 198, 47-55.
- Crespo, D. G. (2006). O Papel das Pastagens Biodiversas Ricas em Leguminosas na Reabilitação da Agricultura Alentejana e na Qualidade dos seus Produtos Tradicionais. *Ruraltec, Universidade de Évora, Évora*.
- Cruz, C. (2023). Otimização do microbioma da semente para obtenção de fenótipos geradores de fertilidade e adaptados às alterações climáticas. Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa.
- Dinkins, R. D., Hancock, J. A., Bickhart, D. M., Sullivan, M. L., & Zhu, H. (2022). Expression and variation of the genes involved in rhizobium nodulation in red clover. *Plants*, 11(21), 2888.
- FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2018). The future of food and agriculture: alternative pathways to 2050. *Rome*, 228.
- FAO, IFAD, UNICEF, WFP and WHO (2020). The state of food security and nutrition in the world 2020: Transforming food systems for affordable healthy diets. *Rome*, FAO
- Freixial, R. M. C., & Barros, J. F. C. (2012). Texto de apoio para as Unidades Curriculares de Sistemas e Tecnologias Agropecuários, Noções Básicas de Agricultura e Tecnologia do Solo e das Culturas. *Departamento de Fitotecnia. Universidade de Évora*.

- Garnett, T., Appleby, M. C., Balmford, A., Bateman, I. J., Benton, T. G., Bloomer, P., ... & Godfray, H. C. J. (2013). Sustainable intensification in agriculture: premises and policies. *Science*, 341(6141), 33-34.
- Kemešytė, V., Statkevičiūtė, G., Norkevičienė, E., & Jaškūnė, K. (2023). Italian Ryegrass as a Forage Crop for the Baltics: Opportunities and Challenges in Light of Climate Change. *Plants*, 12(22), 3841
- KÖHL, Luise; VAN DER HEIJDEN, Marcel GA. (2016). Arbuscular mycorrhizal fungal species differ in their effect on nutrient leaching. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 94, p. 191-199.
- Kumar, A., Rithesh, L., Kumar, V., Raghuvanshi, N., Chaudhary, K., Abhineet, & Pandey, A. K. (2023). *Stenotrophomonas* in diversified cropping systems: friend or foe?. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1214680.
- Lopes, M. J. D. S., Dias-Filho, M. B., & Gurgel, E. S. C. (2021). Successful plant growth-promoting microbes: inoculation methods and abiotic factors. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5, 606454.
- Lucini, L., Colla, G., Moreno, M. B. M., Bernardo, L., Cardarelli, M., Terzi, V., ... & Rouphael, Y. (2019). Inoculation of *Rhizoglyphus irregularis* or *Trichoderma atroviride* differentially modulates metabolite profiling of wheat root exudates. *Phytochemistry*, 157, 158-167.
- Maćik, M., Gryta, A., & Frąc, M. (2020). Biofertilizers in agriculture: An overview on concepts, strategies and effects on soil microorganisms. *Advances in agronomy*, 162, 31-87.
- Martínez, L., Martínez Peniche, R. A., Hernández Iturriaga, M., Arvizu Medrano, S. M., & Pacheco Aguilar, J. R. (2013). Caracterización de rizobacterias aisladas de tomate y su efecto en el crecimiento de tomate y pimiento. *Revista fitotecnica mexicana*, 36(1), 63-69.
- Moreira, N. (2002). *Agronomia das forragens e pastagens*. Vila Real, Portugal: Universidade de Tras-os-Montes e Alto Douro.
- Morel, M. A., Braña, V., & Castro-Sowinski, S. (2012). Legume crops, importance and use of bacterial inoculation to increase production. *Crop plant*, 12, 218-240.
- Muslera Pardo, E. , & Ratera Garcia, C. (1991). *Praderas y forrajes: produccion y aprovechamiento*. Mundi-Prensa.

- Neuweiler, J. E., Maurer, H. P., & Würschum, T. (2020). Long-term trends and genetic architecture of seed characteristics, grain yield and correlated agronomic traits in triticale ($\times$ Triticosecale Wittmack). *Plant breeding*, 139(4), 717-729.
- O'Callaghan, M. (2016). Microbial inoculation of seed for improved crop performance: issues and opportunities. *Applied microbiology and biotechnology*, 100(13), 5729-5746
- Ochoa Carreño, D. C., & Montoya Restrepo, A. (2010). Consorcios microbianos: una metáfora biológica aplicada a la asociatividad empresarial en cadenas productivas agropecuarias. *Revista Facultad de Ciencias Económicas: Investigación y Reflexión*, 18(2), 55-74.
- Rouphael, Y., Lucini, L., Miras-Moreno, B., Colla, G., Bonini, P., Cardarelli, M. (2020). Metabolomic responses of maize shoots and roots elicited by combinatorial seed treatments with microbial and non-microbial biostimulants. *Frontiers in Microbiology*, v. 11, p. 664.
- Ruiz-Valdiviezo, V. M., Hernández-Núñez, E., & Martínez-López (2023). El género *Paenibacillus* y su aplicación como promotor de crecimiento vegetal y biocontrolador de fitopatógenos: Una revisión. *Ciencia y Tecnología ITESCAM Calkiní*;2(1):3-22.
- Santos, J. Q. (2015). Fertilização, Fundamentos agroambientais da utilização dos adubos e corretivos. *Porto, Portugal: Publindústria*.
- Thornton, P. K., Ericksen, P. J., Herrero, M., & Challinor, A. J. (2014). Climate variability and vulnerability to climate change: a review. *Global change biology*, 20(11), 3313-3328
- Unkovich, M. J., Baldock, J., & Peoples, M. B. (2010). Prospects and problems of simple linear models for estimating symbiotic N₂ fixation by crop and pasture legumes. *Plant and Soil*, 329, 75-89.

Anexos

Anexo I

Dados Climáticos

Quadro I.I-Valores de temperatura e precipitação

	set/23		out/23		nov/23		dez/23	
Dias	T. Ar (°C)	P (mm)	T. Ar (°C)	P (mm)	T. Ar (°C)	P (mm)	T. Ar (°C)	P (mm)
1	20,5	0,0	27,5	0,0	13,9	13,0	6,4	3,8
2	18,6	11,0	25,9	0,0	11,8	9,2	7,7	0,2
3	17,5	2,0	25,1	0,0	10,1	0,8	7,8	1,8
4	17,5	0,0	25,6	0,0	12,2	4,2	9,3	9,4
5	19,2	0,0	26,7	0,0	10,2	0,2	8,0	2,4
6	22,0	0,0	28,4	0,0	8,5	0,2	9,9	0,0
7	22,6	0,0	26,9	0,0	9,1	0,2	10,7	11,6
8	21,3	0,0	26,8	0,0	11,1	1,4	10,4	1,8
9	18,4	3,8	27,4	0,0	11,4	3,4	12,8	1,6
10	19,9	1,0	26,5	0,0	11,7	0,0	13,1	0,0
11	18,2	0,0	25,9	0,0	14,5	0,2	12,6	0,2
12	20,2	0,0	25,7	0,0	15,2	1,2	12,8	2,0
13	24,1	0,0	21,1	2,2	15,3	0,2	8,9	0,0
14	25,3	3,8	18,7	3,0	15,3	0,4	8,3	0,0
15	20,4	0,4	17,2	2,2	16,0	0,2	11,2	0,0
16	15,8	26,4	17,4	0,2	16,1	0,2	11,5	0,0
17	15,7	1,6	17,1	24,8	16,3	0,2	10,3	0,0
18	16,9	0,8	15,8	1,8	16,4	0,0	10,0	0,0
19	19,5	0,0	14,8	66,6	17,2	0,4	10,0	0,2
20	16,9	0,0	11,8	1,0	15,2	0,0	10,0	0,0
21	15,7	3,8	12,7	0,0	10,8	0,0	11,0	0,0
22	15,4	0,0	11,5	7,2	10,6	0,0	13,4	0,0
23	19,6	0,0	11,3	1,0	10,7	0,0	12,7	0,2
24	23,6	0,0	11,8	14,0	11,2	0,0	10,0	0,2
25	25,8	0,0	15,5	1,4	10,8	0,0	8,4	0,4
26	25,2	0,0	14,9	5,6	10,8	0,2	7,3	0,2
27	23,4	0,0	12,5	1,0	8,8	0,2	5,6	0,0
28	24,0	0,0	13,5	4,0	12,2	5,0	9,7	0,0
29	27,5	0,0	13,8	11,4	13,7	4,2	9,5	0,0
30	28,7	0,0	11,7	1,0	12,8	94,6	10,0	0,2
31			12,2	0,0			8,9	1,6
Média:	20,6		19,2		12,7		9,9	
Somatório:		54,6		148,4		139,8		37,8

	jan/24		fev/24		mar/24		abr/24		mai/24	
Dias	T. Ar (°C)	P (mm)	T. Ar (°C)	P (mm)	T. Ar (°C)	P (mm)	T. Ar (°C)	P (mm)	T. Ar (°C)	P (mm)
1	8,2	0,2	15,3	0,0	7,3	0,0	8,9	0,0	8,1	0,8
2	10,8	2,4	15,6	0,0	6,8	7,2	10,1	6,8	9,2	0,0
3	12,5	9,8	14,1	0,0	6,6	1,6	12,9	0,0	12,2	0,0
4	10,3	12,6	14,0	0,0	9,1	1,6	15,1	0,0	14,7	0,0
5	5,8	3,8	13,1	0,0	8,7	0,0	17,3	0,0	13,8	4,4
6	6,2	0,2	11,6	0,0	9,8	0,0	15,5	0,0	14,5	0,4
7	7,4	0,2	11,6	0,0	6,6	23,4	13,6	3,8	17,8	0,0
8	6,3	1,0	9,7	9,0	7,1	18,0	10,5	4,2	20,8	0,0
9	7,0	0,6	10,3	15,6	5,8	12,0	10,9	0,0	23,0	0,0
10	7,8	0,2	7,1	1,8	8,0	7,0	16,8	0,0	22,6	0,0
11	7,6	0,2	7,7	20,2	9,2	0,0	20,7	0,0	19,2	0,0
12	8,4	0,0	12,7	12,2	12,5	0,0	21,5	0,0	19,1	0,0
13	11,4	0,6	13,6	1,4	14,0	0,0	22,7	0,0	14,5	0,0
14	12,1	3,8	16,2	0,2	12,1	0,0	23,3	0,0	11,3	0,0
15	14,0	2,0	13,2	2,4	13,0	0,2	22,3	0,0	10,7	0,0
16	12,7	3,4	11,0	0,0	15,7	0,2	21,9	0,0	11,7	3,0
17	11,4	38,6	13,4	0,0	18,5	0,0	20,8	0,0	12,7	1,8
18	11,5	7,4	15,3	0,0	18,1	0,0	19,9	0,0	12,8	0,0
19	8,8	25,0	16,0	0,0	18,1	0,2	18,8	0,0	13,1	0,0
20	7,4	0,0	16,7	0,0	12,1	0,2	17,2	3,0	12,8	0,0
21	8,8	0,0	14,2	0,0	17,1	0,0	18,6	0,2	12,9	0,0
22	10,6	0,2	9,7	3,0	21,0	0,0	17,4	0,0	13,5	0,0
23	14,9	0,2	6,2	3,0	21,6	0,0	14,3	0,0	17,9	0,0
24	18,1	0,0	6,8	0,6	18,8	0,0	16,1	0,0	21,5	0,0
25	17,8	0,2	10,2	5,0	10,5	0,0	12,5	0,0	19,0	0,0
26	19,5	0,0	7,4	9,4	5,0	6,0	10,7	0,0	17,6	0,0
27	17,1	0,0	7,3	0,0	9,3	30,0	9,4	6,4	19,7	0,0
28	12,2	0,0	10,0	0,0	9,4	13,2	9,4	0,0	24,6	0,0
29	14,1	0,2	8,8	0,0	7,2	10,8	11,8	0,0	27,0	0,0
30	13,7	0,4			6,9	8,4	9,5	2,4	28,1	0,0
31	13,4	0,2			7,0	8,0			27,1	0,0
Média:	11,1		11,7		11,4		15,7		16,9	
Somatório:		113,4		83,8		148,0		26,8		10,4

Anexo 2

Trevo da Pérsia - Produção de biomassa aérea e radicular:

- Ensaio de Campo

Espécie	Corte	Data	Tratamento	Trevo da Pérsia (Kg.MS/ha)	Média em Kg.MS/ha de Trevo da Pérsia	Desvio Padrão	Outros (Kg.MS/ha)	Média em Kg.MS/ha de Outros	Desvio Padrão
Trevo da Pérsia	1º Corte	19/03/24	Inoculante 2	1 348	1 012	359,36	986	1 109	565,65
				1 349			1 009		
				1 644			352		
				1 025			1 308		
				1 029			2 281		
				610			1 761		
				794			541		
				846			808		
				465			936		
			Inoculante 4	1 529	1 393	408,03	807	840	534,52
				2 135			529		
				1 434			265		
				1 136			1 517		
				1 354			1 408		
				534			1 623		
				1 211			942		
				1 609			196		
				1 599			271		
			Inoculante 5	1 038	1 203	588,56	614	1 364	1291,89
				1 835			1 644		
				1 417			592		
				824			4 378		
				374			1 914		
				265			2 276		
				1 815			265		
				1 943			92		
				1 314			504		
			Controlo	907	1 185	498,75	392	575	446,26
				1 747			325		
				992			142		
				427			1 555		
				730			902		
				738			990		
				1 663			263		
				1 677			192		
				1 782			416		

Espécie	Corte	Data	Tratamento	Trevo da Pérsia (Kg.MS/ha)	Média em Kg.MS/ha de Trevo da Pérsia	Desvio Padrão	Outros (Kg.MS/ha)	Média em Kg.MS/ha de Outros	Desvio Padrão
Trevo da Pérsia	2º Corte	16/05/24	Inoculante 2	3 891	2 863	1206,18	165	638	568,14
				4 502			624		
				2 833			461		
				3 097			398		
				3 666			0		
				3 849			81		
				1 075			904		
				1 856			1 801		
				1 001			1 310		
			Inoculante 4	1 586	3 252	1365,63	338	313	408,51
				2 241			183		
				1 626			1 415		
				6 048			170		
				3 274			252		
				3 460			13		
				2 902			68		
				3 347			371		
				4 785			9		
			Inoculante 5	5 847	4 682	1412,88	538	414	417,99
				3 025			522		
				6 498			63		
				2 569			1 485		
				3 976			489		
				4 258			153		
				3 695			199		
				6 476			161		
				5 791			112		
			Controlo	4 017	2 771	740,49	60	377	355,60
				3 847			320		
				3 372			55		
				2 275			380		
				2 801			433		
				1 998			815		
				2 121			1 137		
				2 077			103		
				2 432			89		

- Ensaio em vaso

Espécie	Data	Trevo da pérsia	Produção/Planta - Parte Aérea (g.MS)	Média (g.MS)	Desvio Padrão	Produção/Planta - Parte Radicular (g.MS)	Média (g.MS)	Desvio Padrão	Comprimento da Raiz (m)	Média (m)	Desvio Padrão
Trevo da Pérsia	09/05/24	Inoculante 1	59	66	5	6	7	1	0,46	0,50	0,0402
			73			7			0,56		
			63			7			0,47		
			67			8			0,52		
		Inoculante 2	83	77	5	7	7	1	0,56	0,51	0,0384
			69			9			0,46		
			77			7			0,48		
			79			6			0,52		
		Inoculante 3	81	80	6	8	8	1	0,56	0,52	0,0259
			70			10			0,53		
			83			6			0,49		
			85			7			0,51		
		Controlo	59	62	4	4	6	1	0,46	0,49	0,0238
			62			6			0,51		
			58			5			0,48		
			67			7			0,52		

Azevém - Produção de biomassa aérea e radicular:

- Ensaio de Campo

Espécie	Corte	Data	Tratamento	Azevém (Kg.MS/ha)	Média em Kg.MS/ha de Azevém	Desvio Padrão	Outros (Kg.MS/ha)	Média em Kg.MS/ha de Outros	Desvio Padrão
Azevém	1º Corte	19/03/24	Inoculante 2	1 615	1 324	432,36	648	281	159,82
				1 245			293		
				727			153		
				2 260			174		
				1 541			111		
				1 278			282		
				816			414		
				1 338			141		
			Inoculante 4	1 097	1 667	888,04	313	228	206,14
				2 145			94		
				3 609			0		
				1 812			302		
				690			290		
				422			488		
				1 286			634		
				1 478			144		
			Inoculante 5	2 208	1 145	658,68	63	309	359,67
				1 353			37		
				1 158			1 198		
				1 013			113		
				1 448			62		
				1 750			657		
				1 582			230		
				2 287			87		
			Controlo	264	1 282	961,45	246	329	277,39
				236			84		
				569			101		
				2 696			61		
				2 712			35		
				2 265			224		
				1 384			181		
				422			378		
				606			1 033		
				836			324		
				385			335		
				234			386		

Espécie	Corte	Data	Tratamento	Azevém (Kg.MS/ha)	Média em Kg.MS/ha de Azevém	Desvio Padrão	Outros (Kg.MS/ha)	Média em Kg.MS/ha de Outros	Desvio Padrão
Azevém	2º Corte	16/05/24	Inoculante 2	610	1 242	473,11	300	816	566,03
				585			1 909		
				633			1 637		
				1 593			357		
				1 525			905		
				1 690			770		
				1 273			857		
				1 859			283		
				1 406			324		
			Inoculante 4	1 726	1 304	734,43	104	599	494,97
				2 633			0		
				1 528			322		
				442			530		
				306			1 216		
				511			1 231		
				1 459			1 181		
				1 156			804		
				1 972			0		
			Inoculante 5	813	985	548,50	377	682	289,52
				379			1 067		
				825			388		
				1 638			412		
				1 334			506		
				2 094			549		
				472			1 198		
				537			793		
				777			845		
			Controlo	1 448	943	363,54	805	878	860,20
				1 021			6		
				1 193			0		
				1 049			123		
				687			283		
				550			552		
				1 472			2 096		
				624			1 932		
				440			2 102		

- Ensaio em vaso:

Espécie	Data	Azevém	Produção/Planta - Parte Aérea (g.MS)	Média (g.MS)	Desvio Padrão	Produção/Planta - Parte Radicular (g.MS)	Média (g.MS)	Desvio Padrão	Comprimento da Raiz (m)	Média (m)	Desvio Padrão
Azevém	09/05/24	Inoculante 1	44	40	3	26	29	2	0,62	0,59	0,0604
			36			31			0,51		
			41			28			0,56		
			38			29			0,67		
		Inoculante 2	36	43	6	36	30	4	0,64	0,69	0,0320
			45			29			0,73		
			39			26			0,68		
			53			30			0,69		
		Inoculante 3	46	39	6	24	27	4	0,60	0,66	0,0363
			40			22			0,68		
			38			31			0,69		
			30			29			0,68		
		Controlo	30	39	5	29	25	6	0,49	0,56	0,0572
			45			16			0,51		
			40			21			0,63		
			39			32			0,59		

Aveia - Produção de biomassa aérea e radicular:

- Ensaio de campo

Espécie	Corte	Data	Tratamento	Aveia (Kg.MS/ha)	Média em Kg.MS/ha de Aveia	Desvio Padrão	Outros (Kg.MS/ha)	Média em Kg.MS/ha de Outros	Desvio Padrão
Aveia	Corte único	24/04/24	Inoculante 4	8 497	7 793	2169,46	0	0	0
				7 867			0		
				3 950			0		
				8 812			0		
				8 112			0		
				9 749			0		
				10 904			0		
				4 270			0		
				7 976			0		
			Inoculante 5	2 822	6 708	1861,39	0	102	288,81
				6 666			0		
				5 688			0		
				7 356			0		
				8 579			0		
				9 390			0		
				6 679			919		
				5 200			0		
				7 993			0		
			Controlo	10 857	7 378	1488,00	0	144	396,73
				6 498			1 266		
				6 583			32		
				7 695			0		
				7 652			0		
				8 096			0		
				6 367			0		
				7 442			0		
				5 210			0		

- Ensaio em vaso

Espécie	Data	Aveia	Produção/Planta - Parte Aérea (g.MS)	Média (g.MS)	Desvio Padrão	Produção/Planta - Parte Radicular (g.MS)	Média (g.MS)	Desvio Padrão	Comprimento da Raiz (m)	Média (m)	Desvio Padrão
Aveia	09/05/24	Inoculante 4	56	53	2	19	15	3	0,65	0,59	0,0492
			52			11			0,52		
			53			18			0,61		
			51			13			0,56		
		Inoculante 5	46	50	3	12	14	2	0,66	0,58	0,0512
			53			17			0,59		
			48			14			0,56		
			51			11			0,52		
		Controlo	41	48	4	12	13	2	0,57	0,59	0,0364
			51			10			0,54		
			46			15			0,64		
			52			13			0,59		

Triticale - Produção de biomassa aérea e radicular:

- Ensaio de campo

Espécie	Corte	Data	Tratamento	Triticale (Kg.MS/ha)	Média em Kg.MS/ha de Triticale	Desvio Padrão	Outros (Kg.MS/ha)	Média em Kg.MS/ha de Outros	Desvio Padrão
Triticale	Corte único	24/04/24	Inoculante 4	9653	8527	1317,54	0	388	867,97
				10262			0		
				7513			0		
				9116			0		
				8253			0		
				6362			2329		
			Inoculante 5	9888	7581	1469,09	0	70	155,41
				9064			417		
				6329			0		
				7714			0		
				6612			0		
				5877			0		
			Controlo	8854	8715	1652,38	0	0	0
				11749			0		
				9168			0		
				8638			0		
				6372			0		
				7508			0		

- Ensaio em vaso

Espécie	Data	Triticale	Produção/Planta - Parte Aérea (g.MS)	Média (g.MS)	Desvio Padrão	Produção/Planta - Parte Radicular (g.MS)	Média (g.MS)	Desvio Padrão	Comprimento da Raiz (m)	Média (m)	Desvio Padrão
Triticale	09/05/24	Inoculante 4	82	75	5	52	44	5	0,62	0,57	0,0349
			70			40			0,53		
			78			43			0,59		
			71			41			0,55		
			68			38			0,53		
		Inoculante 5	51	60	6	28	33	4	0,47	0,50	0,0224
			58			34			0,51		
			62			31			0,49		
			61			28			0,45		
			47			25			0,38		
		Controlo	63	57	6	18	24	4	0,49	0,44	0,0403
			55			23			0,42		