



AVALIAÇÃO DA FITOTOXICIDADE DE CORRECTIVOS ORGÂNICOS

Nádia Filipa Lagarto Ramos

Dissertação para a obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia do Ambiente

Orientadora: Professora Doutora Ana Cristina Ferreira da Cunha Queda

Júri:

Presidente: Doutora Elizabeth da Costa Neves Fernandes de Almeida Duarte, Professora Catedrática Aposentada do(a) Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa;

Vogais: Doutora Ana Cristina Ferreira da Cunha Queda, Professora Auxiliar do(a) Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa

Doutora Rita do Amaral Fragoso, Professora Auxiliar Convidada do(a) Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa

Agradecimentos

A realização desta dissertação de mestrado assinala a conclusão de uma importante etapa da minha vida que contou com apoios e incentivos cruciais, sem os quais não teria conseguido alcançar este objectivo e aos quais estarei eternamente grata.

À minha orientadora, Professora Doutora Ana Cristina Ferreira da Cunha Queda pela sua orientação, apoio total, compaixão, paciência e por todas as suas palavras de incentivo que me motivaram a dedicar ainda mais a este trabalho.

À Engenheira Marie-Christine Morais pela ajuda em todo o trabalho prático realizado no laboratório e pela grande disponibilidade em esclarecer todas as dúvidas que foram surgindo ao longo destes meses.

Aos meus amigos e colegas, que estiveram sempre do meu lado durante esta fase, Bárbara Coelho, Catarina Cruz, Cátia Martins, Joana Monteiro, Luísa Pereira, Ricardo Mata e Rick Li pelo companheirismo, força e apoio no momentos mais difíceis.

Ao meu Namorado, cúmplice e ouvinte atento, pelo apoio incondicional durante esta árdua caminhada, pelas palavras de encorajamento e orgulho, pelo carinho e sobretudo pela compreensão e paciência.

À minha Mãe e melhor amiga, por ser um modelo de coragem, por chorar e rir comigo, pela preocupação, pelo amor, pela paciência nos momentos de aflição e essencialmente pela amizade que me tornou na pessoa que sou hoje.

Ao meu Pai, que sempre me incentivou a fazer mais e melhor perante os desafios, pelo ensino dos valores mais importantes, por ser um excelente exemplo de disciplina e profissionalismo e por nunca ter duvidado das minhas capacidades.

Ao meu Irmão, que anima sempre o meu dia, pelo apoio incondicional, companhia, amizade, preocupação e paciência.

Por fim, aos meus vários primos, que não menciono os nomes mas sabem quem são, pela amizade e pelos conselhos que me ajudaram nesta fase, em especial ao meu primo Rúben.

A eles dedico este trabalho!

Resumo

Actualmente, os solos de Portugal apresentam uma das piores qualidades a nível Europeu devido à sua carência de matéria orgânica. Uma das alternativas encontradas é a aplicação de correctivos orgânicos, como por exemplo, produtos obtidos através do processo de compostagem de resíduos que apresentam um alto teor em matéria orgânica e nutrientes.

No entanto, a aplicação destes produtos só deve ser feita quando é certo que não apresenta na sua composição qualquer tipo de substância com efeito fitotóxico que possa inibir a germinação e/ou crescimento da semente e/ou planta. Caso contrário, ocorrerá o oposto do que se pretende. Assim, a fitotoxicidade de um correctivo é um parâmetro importante que deve ser sempre avaliado.

O presente trabalho tem como objectivo comparar diferentes métodos de avaliação da fitotoxicidade, que incluem três ensaios de germinação (Zucconi *et al.*, 1981, Tiquia, 1999 e EN-16086-2) e dois ensaios de crescimento (CCME e EN-16086-1), utilizando quatro correctivos orgânicos com origem em materiais iniciais diferentes, através de dois indicadores: o agrião (*Lepidium sativum* L.) e a couve chinesa (*Brassica rapa chinensis* L.).

Os resultados obtidos, em geral, apresentaram valores superiores para os ensaios com a couve chinesa, indicando que esta espécie de indicador tem uma menor sensibilidade a substâncias com efeito fitotóxico comparativamente ao agrião.

O método da norma europeia EN-16086-2 apresentou vários obstáculos, pois refere que os compostos devem apresentar um pH entre 5,5 e 6,5 e uma condutividade eléctrica (CE) inferior a 800 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, caso contrário, é necessário corrigi-los adicionando turfa. No entanto, devido às elevadas CE das amostras para se obter uma mistura com valor de CE dentro do indicado na norma, utilizou-se uma grande quantidade de turfa, que promoveu a diluição das substâncias com efeito fitotóxico presentes nos compostos, e por isso, os resultados obtidos para este método não foram representativos.

Palavras-Chave: Correctivos orgânicos, Fitotoxicidade, Agrião, Couve chinesa, Índice de Germinação/Crescimento

Abstract

Nowadays, the Portuguese soils present one of the worst qualities in all Europe, due to the lack of organic matter. One of the alternatives found is to use organic composts obtained by waste composting with high content of organic matter and nutrients.

However, the application of these products can only be done when it's guaranteed the absence of any phytotoxic substance, which can inhibit seed germination and/or repress plant growth. Otherwise will occur the opposite of what is intended. Therefor the phytotoxicity of an amendment is an important parameter that should always be evaluated.

The main purpose of the present work is to compare different methods of assessing phytotoxicity, which include three germination tests (Zucconi *et al.*,1981, Tiquia,1999 and EN-16086-2) and two growth assays (CCME and EN-16086-1) using for organic improvers from different starting materials, through two indicators: cress (*Lepidium sativum* L.) and chinese cabbage (*Brassica rapa chinensie* L.).

In general, the results were higher for the essays when the cinese cabbage was used, showing that this indicator species has a lower sensitivity to the presence of phytotoxic substances when compared to the cress.

The method in the european standard EN-16086-2 presented several obstacles, since it indicates that the composts must have a pH between 5.5 and 6.5 and an electrical conductivity (CE) lower than $800 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, otherwise, it is necessary to correct them by adding sphagnum peat. However, due to the high EC of the samples, a large amount of sphagnum peat was used, which diluted the phytotoxic substances present in the composts, and therefore the results obtained for this method were not representative.

Keywords: Organic amendments, Phytotoxicity, Cress, Chinese Cabbage, Germination/Growth index

Índice

1.	Introdução e objectivos	1
2.	Revisão bibliográfica	4
2.1.	Definição de compostagem	4
2.2.	Qualidade dos compostos	6
2.2.1	Influência da matéria prima na qualidade do composto	7
2.2.2	Influência do processo de compostagem na qualidade do composto	8
2.2.3	Parâmetros de avaliação da qualidade dos compostos	13
2.3.	Interesse agrícola dos compostos	14
2.4.	Fitotoxicidade	16
2.4.1	Ensaio de germinação	17
2.4.2	Ensaio de crescimento	18
3.	Metodologias e procedimentos experimentais	20
3.1	Compostos e indicadores utilizados	20
3.2	Parâmetros físicos e físico-químicos	21
3.2.1	Teor de humidade	21
3.2.2	pH e condutividade eléctrica	21
3.3	Parâmetros químicos	21
3.3.1	Matéria orgânica	21
3.3.2	Azoto amoniacal e nítrico	21
3.3.3	Azoto total	21
3.3.4	Carbono orgânico total – Método de Tinsley	22
3.4	Parâmetros biológicos	22
3.4.1	Teste de auto-aquecimento	22
3.4.2	AT4	23
3.5	Avaliação da fitotoxicidade	23
3.5.1	Ensaio de germinação	23
3.5.2	Ensaio de crescimento	27
3.6	Análise estatística dos resultado	28
4.	Resultados e discussão	29

4.1	M1 – Método 1 (Zucconi <i>et al.</i> , 1981)	30
4.2	M2 – Método 2 (Tiquia, 1999)	33
4.3	M3.1 – Método 3.1 (EN 16086-2)	36
4.4	M3.2 – Método 3.2 (EN 16086-2)	41
4.5	M4 – Método 4 (CCME)	44
4.6	M5 – Método 5 (EN 16086-1)	46
5.	Conclusão	64
6.	Refrências bibliográficas	66

ANEXOS

Resultados do M1

Resultados do M2

Resultados do M3.1

Resultados do M3.2

Resultados do M4

Resultados do M5

Tabela Resumo

Índice de tabelas

Tabela 1 - Vantagens e desvantagens da compostagem (Oliveira, 2011).....	5
Tabela 2 - Valores máximos admissíveis de microrganismos patogênicos, de sementes e de propágulos de infestantes (DL nº103/2015).....	13
Tabela 3 - Valores máximos admissíveis para os teores «totais» de metais pesados nos compostos por classe em mg.Kg ⁻¹ m.s. (DL nº103/2015)	14
Tabela 4 - Categorias do compostos em função do grau de maturação (DL nº103/2015)	14
Tabela 5 - Caracterização das amostras.....	29
Tabela 6 - Comparação do % IG, obtido através do método 1 das quatro amostras para os diferentes indicadores	31
Tabela 7 - Comparação dos resultados obtidos através do M1 dos dois indicadores.....	32
Tabela 8 - Categorias de inibição de acordo com o índice de germinação (%) (adaptado de Trautmann e Krasny, 1997)	32
Tabela 9 - Categorização dos resultados de IG obtidos para o M1 através dos dois indicadores.....	33
Tabela 10 - Comparação do % IG, obtido através do método 2 das quatro amostras para os diferentes indicadores	34
Tabela 11 - Comparação dos resultados obtidos através do M2 dos dois indicadores.....	35
Tabela 12 - Categorização dos resultados de IG obtidos para o M2 através dos dois indicadores.....	35
Tabela 13 - pH e CE das misturas 50:50 e 25:75 de composto/turfa.....	37
Tabela 14 - Comparação do índice % MLV, obtido através do método 3.1 das quatro amostras e para as misturas 50:50 e 25:75 utilizando os diferentes indicadores.....	39
Tabela 15 - Comparação do índice MLV, obtido através do método 3.1, das quatro amostras e para as misturas 50:50 e 25:75 dos dois indicadores	40
Tabela 16 - Proporções das misturas de composto e turfa e os seus valores de pH e CE...	42
Tabela 17 - Comparação do índice % MLV, obtido através do método 3.2, das quatro amostras para os diferentes indicadores	43
Tabela 18 - Comparação do índice % MLV, obtido através do método 3.2 dos dois indicadores.....	43
Tabela 19 - Comparação do %IC, obtido através do método 4, das quatro amostras para os diferentes indicadores	45
Tabela 20 - Comparação da % IC, obtido através do método 4 dos dois indicadores	45

Tabela 21 - Comparação da % II, obtido através do método 5 para as misturas 50:50 e 25:75 das quatro amostras utilizando os dois indicadores, em separado	48
Tabela 22 - Comparação da % II, obtido através do método 5 para as misturas 50:50 e 25:75 das quatro amostras entre os dois indicadores.....	49
Tabela 23 - Comparação dos resultados obtidos para os vários ensaios de germinação da amostra A para os dois indicadores.....	51
Tabela 24 - Verificação da semelhança entre os resultados dos ensaios de germinação da amostra A para as duas sementes	52
Tabela 25 - Comparação dos resultados obtidos para os vários ensaios de germinação da amostra B para diferentes indicadores	54
Tabela 26 - Verificação da semelhança entre os resultados dos ensaios de germinação da amostra B para as duas sementes	55
Tabela 27 - Comparação dos resultados obtidos para os vários ensaios de germinação da amostra C para os dois indicadores	57
Tabela 28 - Verificação da semelhança entre os resultados dos ensaios de germinação da amostra A para as duas sementes	58
Tabela 29 - Comparação dos resultados obtidos para os vários ensaios de germinação da amostra D para os dois indicadores	60
Tabela 30 - Verificação da semelhança entre os resultados dos ensaios de germinação da amostra D para as duas sementes.....	62

Índice de figuras

Figura 1 - Hierarchy de resíduos de acordo com o DL nº73/2011 de 17 de Junho	1
Figura 2 – Factores que influenciam o processo de compostagem e as características do produto obtido	5
Figura 3 - Evolução da temperatura ao longo do processo da compostagem (Trautmann e Krasny, 1997).....	9
Figura 4 - Evolução do pH ao longo do processo de compostagem (Muslin, 1987)	10
Figura 5 - Esquema explicativo do trabalho realizado.....	20
Figura 6 - Exemplo da disposição das placas na incubadora (Norma Europeia EN-16086-2)	25
Figura 7 - Estado da amostra B após poucas semanas em armazenamento	30
Figura 8 - Boxplot do método 1 para os diferentes compostos na utilização dos dois indicadores.....	31
Figura 9 - Boxplot do método 2 para os diferentes compostos na utilização dos dois indicadores.....	34
Figura 10 - Boxplot do método 3.1 (100) para os diferentes compostos na utilização dos dois indicadores.....	36
Figura 11 - Boxplot do método 3.1 para as misturas 25:75 e 50:50 das quatro amostras na utilização do agrião	38
Figura 12 - Boxplot do método 3.1 para as misturas 25:75 e 50:50 das quatro amostras na utilização da couve chinesa.....	39
Figura 13 - Boxplot do método 3.2 para as quatro misturas na utilização dos dois indicadores	42
Figura 14 - Boxplot do método 4 para os diferentes compostos na utilização dos dois indicadores.....	44
Figura 15 - Boxplot do método 5 para as misturas 25:75 e 50:50 na utilização do agrião	46
Figura 16 - Boxplot do método 5 para os diferentes misturas 25:75 e 50:50 na utilização da couve chinesa	47
Figura 17 - Boxplot da amostra A para os diferentes métodos de germinação na utilização dos dois indicadores.....	50
Figura 18 - Boxplot da amostra B para os diferentes métodos de germinação na utilização dos dois indicadores.....	53
Figura 19 - Boxplot da amostra D para os diferentes métodos de germinação na utilização dos dois indicadores.....	59

Lista de símbolos e abreviaturas utilizados

ANOVA – Análise estatística da variância

CE – condutividade eléctrica

COT – carbono orgânico total

CTC – Capacidade de troca catiónica

DL – Decreto de Lei

IC – Índice de crescimento

IG – Índice de germinação

II – Índice de inibição

m.s. – matéria seca

MO – Matéria orgânica

MLV – Vitalidade de Munoo-Liisa

1. Introdução e objectivos

Com o avanço da tecnologia e com a melhoria das condições de vida, o crescimento populacional tem vindo a progredir a uma grande velocidade, mostrando números bastante expressivos. Actualmente, a população mundial ultrapassa sete biliões de habitantes e as previsões indicam que este número continuará a crescer.

No entanto, para além de desafios económicos e sociais, este crescimento exponencial também acarreta impactes ambientais, pondo em causa o futuro do planeta. Estes impactes ocorrem através de duas formas principais:

- O consumo excessivo de recursos como terra, água, alimentos, solos e combustíveis fósseis, podendo causar o seu esgotamento;
- E a produção exorbitante de resíduos associada às actividades de consumo e de produção de bens.

A produção de resíduos sólidos pode poluir os compartimentos ambientais solo, ar e água, promovendo, não só riscos para o ambiente, mas também para a saúde humana, devido à presença de substâncias tóxicas e poluidoras na sua constituição.

Assim, a gestão eficiente dos resíduos torna-se uma prioridade necessária para diminuir, ou até mesmo eliminar, os seus impactes negativos no ambiente e na saúde humana.

O Decreto-Lei n.º 73/2011, de 17 de Junho, de 19 de Novembro, que transpõe a Directiva n.º 2008/98/CE, do Parlamento Europeu e do Conselho, indica a ordem de prioridades no que se refere às opções de prevenção e gestão de resíduos, dando preferência à prevenção e redução dos resíduos, seguindo-se a reutilização, a reciclagem, valorização e por último, a eliminação através da deposição em aterro, como mostra na figura 1.

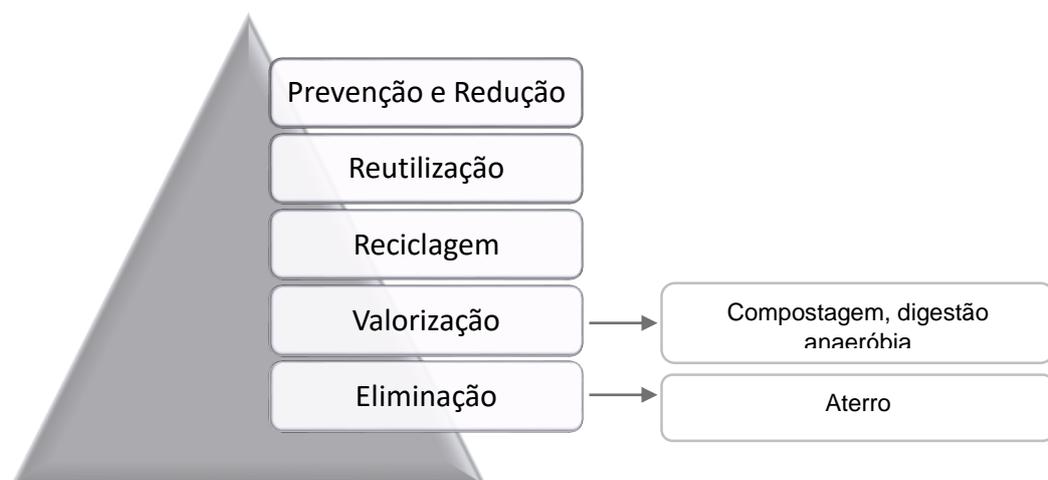


Figura 1 - Hierarchy of waste according to DL nº73/2011 of 17 June

A deposição de resíduos em aterro só deve ocorrer para casos em que não é viável qualquer tipo de valorização, visto que, os aterros são responsáveis por vários impactos negativos para o ambiente e sociedade, como a ocupação de grandes áreas, a imagem negativa a nível paisagístico, a libertação de odores desagradáveis e a produção de lixiviados que podem atingir os solos e o meio aquático circundante (Belo, 2011).

No Decreto-Lei n.º 183/2009, de 10 de Agosto, estabelece-se uma estratégia que fixa o objectivo de se reduzir os resíduos urbanos biodegradáveis destinados a aterro para 35% da quantidade total, em peso, dos resíduos urbanos biodegradáveis produzidos em 1995, até Julho de 2020.

Uma das formas de atingir este objectivo é através da valorização orgânica das fracções biodegradáveis dos resíduos, como a compostagem ou a digestão anaeróbia. A compostagem da porção biodegradável dos resíduos domésticos, municipais e agrícolas pode reduzir o volume de resíduos depositados em aterro e, ainda, fornecer um produto rico em nutrientes orgânicos com a capacidade de melhorar as propriedades do solo, útil para o comércio agrícola e hortícola (Aslam *et al.*, 2007).

A compostagem é um processo biológico de tratamento dos resíduos orgânicos, que converte, através da acção de microrganismos, material orgânico que não está em condições de ser incorporado no solo, em material estabilizado sem infestantes, patogénicos, metais pesados ou moléculas orgânicas que prejudiquem a qualidade do solo. Este material é utilizável na preparação de correctivos orgânicos do solo e de substratos para as culturas. (Mourão, 2007)

Mas antes de qualquer matéria fertilizante, proveniente de resíduos biodegradáveis, ser colocada no mercado, é necessário garantir que cumpre as regras estabelecidas pelo Decreto-Lei n.º 103/2015 de 15 de Junho. O mesmo diploma indica os parâmetros analíticos necessários de realizar ao composto, os vários métodos que podem ser utilizados e ainda os valores máximos admissíveis para certos parâmetros.

No entanto, o parâmetro relativo à fitotoxicidade não é tão esclarecedor, dado que, dos cinco métodos propostos, que incluem ensaios de germinação e crescimento, apenas indicam para expressar os resultados em % de germinação. Além disso, não se estabelece o valor, em % de germinação, a partir do qual, um fertilizante deixa de ser considerado fitotóxico. Isto causa alguma confusão entre os comerciantes, pois gera dúvidas sobre qual o método mais indicado a utilizar, se haverá diferença de resultados entre os métodos, e por fim, qual o valor do índice de germinação e/ou crescimento que indica a ausência de fitotoxicidade no composto?

Com isto, o presente trabalho tem como objectivo comparar diferentes métodos de avaliação da fitotoxicidade, que incluem três ensaios de germinação e dois ensaios de crescimento, utilizando quatro correctivos orgânicos com origem em materiais iniciais diferentes, através de dois indicadores: o agrião (*Lepidium sativum* L.) e a couve chinesa (*Brassica rapa chinensis* L.).

2. Revisão bibliográfica

2.1. Definição de compostagem

Uma das tecnologias mais adequadas e utilizadas actualmente no tratamento de resíduos é a compostagem, que apresenta um processo relativamente simples com baixos custos de produção, do qual se obtém um produto final valioso, com uma massa menor que a inicial, higienizada e sem infestantes (Jiang *et al.*, 2011).

Cunha Queda (1999) define compostagem como um processo controlado de biooxidação de substratos heterogêneos biodegradáveis, resultante da acção dos microrganismos (bactérias, actinomicetas e fungos), durante o qual ocorre a libertação temporária de substâncias fitotóxicas e a transformação da biomassa (mineralização e humificação parciais). No final obtém-se um produto principal estável, higienizado e homogêneo designado de “composto”.

De acordo com Albuquerque *et al.* (2007), a compostagem é um processo biológico que assegura a transformação de materiais orgânicos num produto higienizado e rico em compostos húmicos, suficientemente estável para poder ser armazenado, e cuja aplicação aos solos não produza efeitos adversos para o meio ambiente.

Segundo Suthar e Singh (2011) a compostagem é um processo bioquímico onde diversos grupos de microrganismos degradam materiais orgânicos numa substância estável, humificada e com uma razão C/N baixa. Destrói maior parte dos parasitas (como patogénicos e vírus) e reduz consideravelmente os níveis de hidrocarbonatos, responsáveis pelas emissões de odor. Durante este processo, as fracções orgânicas complexas dos resíduos são convertidas em material mais simples, tornando vários nutrientes disponíveis para as plantas e para populações microbianas.

No Decreto-Lei n.º 103/2015 de 15 de Junho, a compostagem é definida como a degradação biológica aeróbia dos resíduos orgânicos até à sua estabilização, produzindo uma substância húmica, designada por composto, utilizável como corretivo orgânico do solo.

A tabela 1 apresenta as vantagens e as desvantagens deste processo biológico (Oliveira, 2010).

Tabela 1 - Vantagens e desvantagens da compostagem (Oliveira, 2011)

Vantagens	Desvantagens
<ul style="list-style-type: none"> • Redução (cerca de 30%) do volume, da massa e do teor de humidade dos resíduos tratados; • Estabilização química e biológica dos materiais putrescíveis; • Obtenção de produtos com interesse agrícola. 	<ul style="list-style-type: none"> • Uma parte significativa dos RSU não sofre alteração (plásticos, vidro, metais, papel...); • Durante o processo bioxidativo produz-se CO₂, um dos responsáveis pelo efeito de estufa; • O composto pode conter níveis relativamente elevados de metais pesados, contaminantes orgânicos e inertes, o que pode condicionar a sua utilização na agricultura.

É possível perceber que diversos autores apresentam definições variadas do processo de compostagem, no entanto, a maioria está de acordo com os seguintes aspectos, que também estão representados na figura 2:

- É um processo aeróbio;
- Ocorre a mineralização e humificação de matéria orgânica (MO);
- Há a intervenção de microrganismos durante o processo;
- Obtém-se um produto estabilizado, maturado, higienizado, humificado e rico em nutrientes com interesse agrícola.

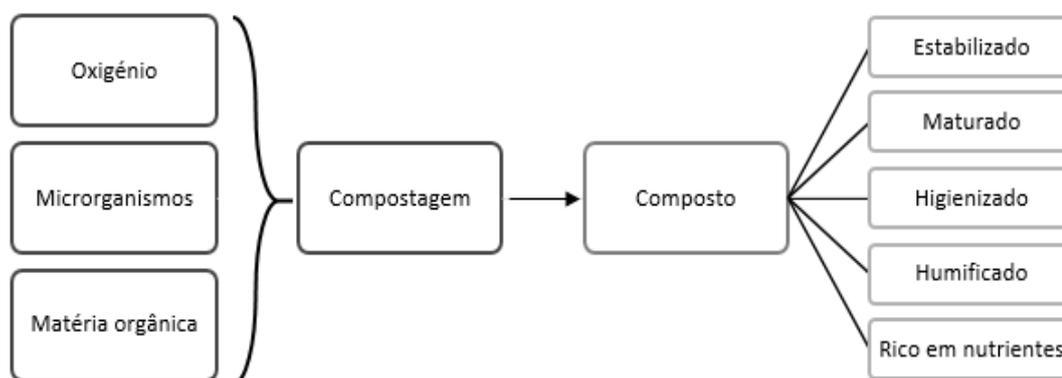


Figura 2 – Factores que influenciam o processo de compostagem e as características do produto obtido

A técnica da compostagem, quando bem conduzida, origina, como produto final, um excelente condicionador do solo, quimicamente estabilizado, livre de microrganismos patogénicos e rico em matéria orgânica (Paiva *et al*, 2012), que quando aplicado ao solo, tem a capacidade de melhorar as suas propriedades físicas, químicas e biológicas.

O Decreto-Lei n.º 103/2015 de 15 de Junho, define composto ou compostado como o produto higienizado e estabilizado, resultante da decomposição da matéria orgânica por

compostagem, cujas características são de molde a beneficiar, direta ou indiretamente, o crescimento das plantas.

O produto obtido da compostagem, ainda pode ser considerado como um correctivo agrícola e/ou um correctivo orgânico. O diploma anterior define, ainda, estes dois conceitos:

- Correctivo agrícola é uma matéria fertilizante com a principal função de melhorar as características físicas, químicas e/ou, biológicas do solo, com vista ao bom desenvolvimento das plantas;
- Correctivo orgânico é um correctivo agrícola de origem vegetal ou vegetal e animal, utilizado principalmente com o objectivo de aumentar o nível de matéria orgânica do solo.

O composto é uma das grandes vantagens do processo de compostagem, devido ao seu interesse agrícola e aos benefícios da sua aplicação ao solo. No entanto, a qualidade deste produto é bastante importante quando utilizado na agricultura. Deverá estar maturado, estabilizado e higienizado, caso contrário, a sua aplicação provocará consequências negativas.

Selim *et al.* (2012) referem que a aplicação de um composto imaturo ao solo estimula a atividade microbiana, reduzindo a concentração de oxigénio e consumindo o azoto disponível no solo, provocando efeitos adversos sobre a germinação das sementes, crescimento e desenvolvimento das plantas. Para além disso, ainda introduzem compostos fitotóxicos, como metais pesados, compostos fenólicos, etileno, amónia, excesso de sais e ácidos orgânicos que podem retardar a germinação das sementes e o crescimento das plantas .

A aplicação de um composto afectado por microrganismos patogénicos, cuja quantidade e diversidade depende da origem e natureza dos resíduos utilizados, irá transmitir doenças às plantas presentes, afectando o seu crescimento e produção (Gonçalves, 2005). Se o composto não higienizado for utilizado como fertilizante de culturas agrícolas também causará danos aos animais que as consumirem, incluindo os humanos.

2.2. Qualidade dos compostos

Para além de ser um tratamento de resíduos, a compostagem também obtém produtos, cuja qualidade final nunca deverá ser esquecida, de forma a evitar o risco de se obter compostos que, quando aplicados ao solo, causarão graves problemas que nem sempre são imediatamente detectáveis (Cunha Queda, 1999).

De acordo com Oliveira (2011), um composto de qualidade deve possuir as seguintes características:

- Ser rico em matéria orgânica para melhorar as propriedades do solo, como estrutura e capacidade de retenção de água, através do aumento das reservas de substâncias húmicas no solo;

- Fornecer às plantas nutrientes primários, como azoto, fósforo e potássio, e microelementos, reduzindo a necessidade do uso de fertilizantes químicos que apresentam um grande potencial poluidor.

Em acréscimo, compostos de boa qualidade não devem conter materiais perigosos para o homem ou para os animais como plásticos, metais ou pedras de dimensão perceptível à vista desarmada. Também não devem estar presentes sementes viáveis de infestantes, organismos patogénicos, como vírus, *Salmonella* e *E. Coli*, em quantidades que causam efeitos nefastos à saúde humana por ingestão, inalação ou contacto com a pele (Brito, 2007).

Estas características que definem um composto de boa qualidade dependem essencialmente de dois factores: da qualidade da matéria-prima utilizada e do processo de compostagem. O produto da compostagem só será rico em matéria orgânica e em nutrientes se a massa original também for. No entanto, mesmo utilizando uma matéria-prima de qualidade, o composto obtido pode não apresentar as propriedades pretendidas devido a uma má dinâmica do processo de compostagem.

Por este motivo, é essencial conhecer as características da massa inicial e controlar os parâmetros físicos, físico-químicos, químicos e biológicos da compostagem de forma a otimizar-se a qualidade do composto.

2.2.1 Influência da matéria prima na qualidade do composto

Compostos provenientes de diferentes resíduos orgânicos, diferem na sua estabilidade e qualidade e estes, por sua vez, dependem da composição dos substratos utilizados no processo de compostagem (Ashrafi *et al.*, 2014).

Segundo Batista e Batista (2007), a composição bioquímica dos vários materiais utilizados na mistura inicial determina a sua susceptibilidade à decomposição microbiana, influenciando o processo da compostagem. Materiais constituídos por hidratos de carbono, lípidos e proteínas, são uma fonte ideal de carbono e energia para os microrganismos, enquanto materiais lenhocelulósicos e com pouca disponibilidade em compostos azotados são degradados muito lentamente.

É comum o uso de misturas de materiais ricos em carbono com outros ricos em azoto, pois ambos são essenciais para os microrganismos. Materiais com carbono são uma fonte de matéria orgânica e energia para o processo, enquanto que os materiais azotados aceleram o processo por serem indispensáveis para o crescimento da biomassa microbiana (Oliveira, 2010).

Para se obter um composto de qualidade, o substrato utilizado não deve conter elementos perigosos que não se degradam durante o processo de compostagem como vidros, plásticos, tintas, óleos ou pedras. Também é de evitar um excesso de gorduras devido ao risco de

formação de ácidos gordos de cadeia curta como o acético, o propiónico e o butírico, que retardam a compostagem e prejudicam o composto (Oliveira *et al.*, 2008)

A existência de metais pesados, pesticidas e excesso de salinidade nas matérias-primas também são responsáveis pela fitotoxicidade dos compostos (Belo, 2011).

Apesar de serem essenciais ao desenvolvimento do processo fermentativo, alguns elementos, como potássio, cálcio, magnésio e sódio, podem afectar a actividade das bactérias metanogénicas quando a sua concentração é demasiado elevado (Gonçalves, 2005).

2.2.2 Influência do processo de compostagem na qualidade do composto

Segundo Cunha Queda (1999), a dinâmica do processo de compostagem depende de factores que afectam, directa ou indirectamente, o metabolismo dos microrganismos, visto que são responsáveis pela decomposição dos resíduos e sua transformação num produto estável e rico em substâncias húmicas. Com isto, é importante proporcionar as condições óptimas para o desenvolvimento dos microrganismos através do controlo e da optimização dos parâmetros operacionais que deverão ser considerados desde logo na etapa de condicionamento dos materiais.

Os principais factores que afectam a decomposição dos resíduos são: a temperatura, o arejamento, a humidade, o pH e a razão C/N (Oliveira, 2011).

Temperatura

A temperatura é apenas uma manifestação da energia em forma de calor que está a ser libertada na oxidação metabólica da matéria orgânica, por parte dos microrganismos. Durante o processo de compostagem predominam diferentes comunidades de microrganismos que podem ser divididos em duas categorias, de acordo com a sua temperatura óptima de crescimento: os mesófilos (15-45 °C) e os termófilos (45-70 °C) (Stoffella e Kahn, 2001).

De acordo com Cunha Queda (1999), a evolução da temperatura durante a compostagem é caracterizada por três fases:

- Fase mesófila inicial
- Fase termófila
- Fase mesófila final (arrefecimento gradual)

A decomposição inicial é feita através de uma população diversificada de bactérias e fungos mesófilos que degradam, em primeiro lugar, os constituintes mais simples. Como consequência da sua actividade, a temperatura do composto pode aumentar aos 45°C. A partir deste valor, os organismos mesófilos e as suas actividades cessam, as suas estruturas vegetativas morrem ou desintegram-se sobrevivendo apenas os microrganismos resistentes ao calor (Batista e Batista, 2007).

Em seguida, os microrganismos mesófilos são substituídos pelos termófilos, iniciando-se a fase termófila. Nesta fase, as altas temperaturas atingidas aceleram a degradação de proteínas, gorduras e moléculas mais complexas como celulosas e hemicelulosas (Trautmann e Krasny, 1997).

Quando se esgotam as substâncias anteriores, a actividade dos microrganismos termófilos cessa e verifica-se um declínio progressivo da temperatura, iniciando-se a fase mesófila final que corresponde ao período de maturação do composto. Sucedem-se os microrganismos mesófilos que sobreviveram às temperaturas da fase anterior ou à acção de organismos invasores. A actividade de microrganismos mesófilos permite o prolongamento do processo de decomposição até se poder obter um produto final de qualidade (Batista e Batista, 2007).

A figura demonstra a evolução da temperatura no processo de compostagem e sintetiza tudo o que foi explicado anteriormente.

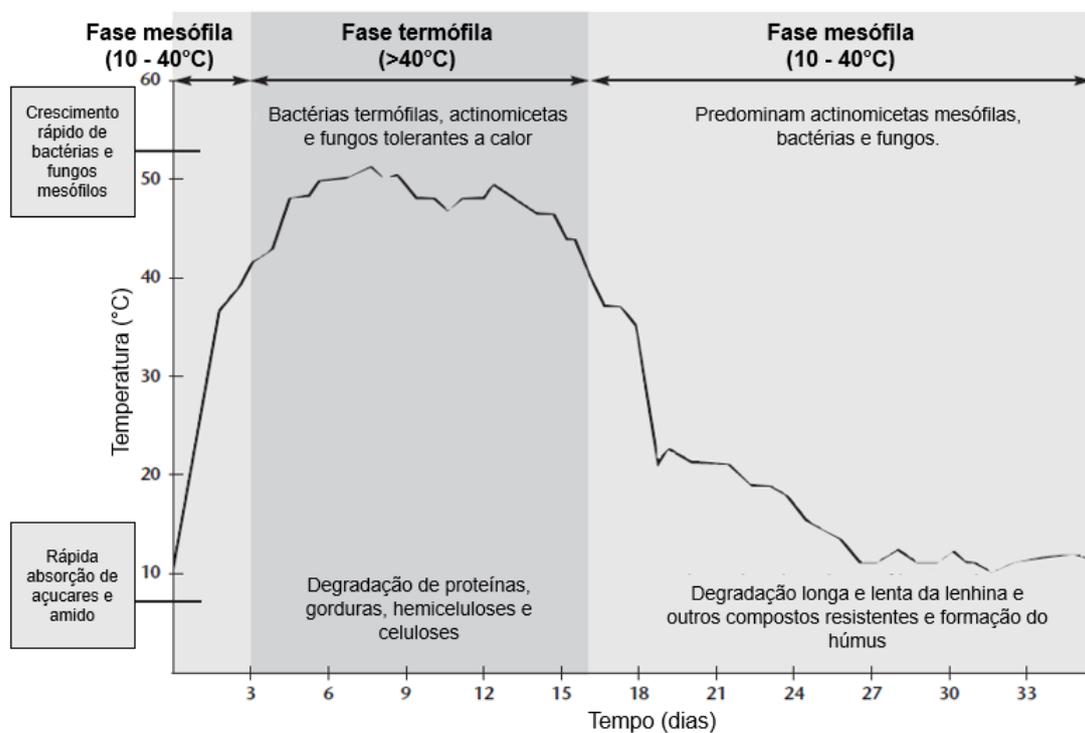


Figura 3 - Evolução da temperatura ao longo do processo da compostagem (Trautmann e Krasny, 1997).

A temperatura influencia a qualidade do composto, pois é um factor fundamental para maximizar a taxa de decomposição e para produzir um produto seguro livre de patógenos. As temperaturas entre 35°C e 60°C são consideradas normais para este processo e permitem um bom *trade-off* entre redução patogénica e a maximização de actividade biológica (Stoffella e Kahn, 2001). Acima de 65 °C são destruídos a maioria dos microrganismos, incluindo os responsáveis pela decomposição da matéria orgânica. As sementes de infestantes perdem a sua viabilidade na presença de temperaturas entre 40°C e 60°C (Brito, 2007).

pH

O processo de compostagem é pouco sensível ao pH dos substratos iniciais visto que há um largo espectro de microrganismos envolvidos. Apesar de os valores óptimos se situarem entre 6,5 e 8, este processo pode ser realizado utilizando biomassas com valores de pH de 5,5 a 9 devido à sua capacidade tampão natural. Independentemente do pH inicial, o substrato será alvo de várias transformações que irão alterar o pH ao longo de todo o processo de compostagem (Cordeiro, 2010).

Muslin (1987), explica todas estas evoluções do pH e dividi-as em quatro fases representadas na figura:

- Fase I: é uma fase de acidificação onde ocorre a produção intensa de CO₂ e ácidos orgânicos devido à degradação da matéria orgânica por parte de microrganismos mesófilos;
- Fase II: dá-se a hidrólise do azoto orgânico, através de microrganismos heterotróficos aminizantes e amonificantes, produzindo azoto amoniacal e, conseqüentemente, amoníaco, provocando o aumento do pH. É uma fase de alcalinização onde predominam microrganismos termófilos;
- Fase III: inicia-se a estabilização do pH. O teor de amoníaco produzido na fase anterior, diminui, quer seja devido à sua volatilização, quer por acção de bactérias nitrificantes que oxidam o amoníaco à forma de nitrito e, posteriormente, à forma de nitrato. O também é utilizados pelos microrganismos para a biosíntese de substâncias húmicas;
- Fase IV: as reacções de maturação e o poder tampão do húmus levam a estabilização do pH na neutralidade.

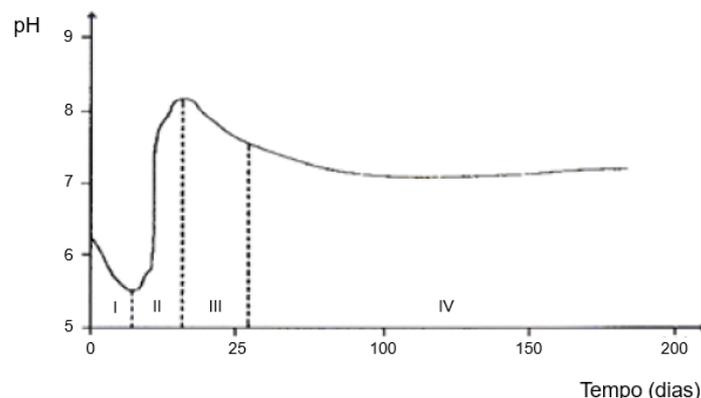


Figura 4 - Evolução do pH ao longo do processo de compostagem (Muslin, 1987)

Os valores de compostos maduros costumam de ser de natureza básica com valores próximos de 8,0, devido à presença de compostos como cálcio e sódio. Isto indica que o

produto da compostagem tem, pelo menos no curto prazo, um certo efeito alcalinizante quando aplicado ao solo, especialmente quando têm baixo poder tampão (Alvarenga *et al.*, 2015).

Humidade

Um teor de humidade inicial de 50-60%, em peso, é considerado um valor óptimo, pois é a quantidade suficiente para manter o crescimento dos microrganismos sem que se sature o meio, permitindo o fluxo de ar. Quando as condições se tornam mais secas que 35%, a actividade bacteriana é inibida pela falta de água, enquanto que níveis acima de 65% tornam a decomposição muito lenta com produção de odores e lixiviação de nutrientes, podendo tornar o meio anaeróbio (Trautmann e Krasny, 1997).

Segundo Batista e Batista (2007), o teor de água varia durante a compostagem por duas razões. A primeira relaciona-se com os microrganismos que produzem água quando decompõem a matéria orgânica, designada por água metabólica, aumentando o teor de humidade do composto. A segunda razão diz respeito às perdas, sob a forma de vapor de água, que ocorrem devido ao conjunto de aumento de temperatura, ventilação e reviramento do composto.

Durante todo o processo de compostagem, a humidade deve ser mantida dentro dos limites óptimos para a actividade biológica, visto que uma excessiva desidratação da biomassa provoca o declínio das reacções microbianas, podendo ser erradamente interpretada como o alcance da estabilização dos materiais, que na verdade estão apenas desidratados e quando re-humificados, a temperatura voltará a aumentar (Cordeiro, 2010).

Verifica-se uma redução da massa dos materiais, que podem perder entre 40 a 80% da massa inicial, sendo a diminuição do teor de humidade a principal causa seguida da libertação de CO₂ causada pela mineralização parcial da matéria orgânica (Cordeiro, 2010).

Oxigénio

O oxigénio é essencial para a respiração e metabolismo dos microrganismos aeróbios e para oxidar várias moléculas orgânicas presentes no material inicial. Os microrganismos oxidam a matéria orgânica para obter energia e nutrientes, consumindo oxigénio e produzindo CO₂, e por isso é importante cumprir as necessidades de oxigénio, caso contrário o processo de compostagem torna-se anaeróbio e produz odores indesejáveis (Trautmann e Krasny, 1997).

O arejamento da massa em compostagem deve ser constante para se evitar alterações das actividades metabólicas dos microrganismos e para que o processo de degradação da matéria orgânica seja mais rápido por via da oxidação. Para além disso, o arejamento é um factor importante para o controlo de outros parâmetros, visto que o oxigénio é essencial para

os microrganismos aeróbios que, por sua vez, controlam a evolução da temperatura e da humidade (Oliveira, 2011).

Inicialmente, a concentração de oxigénio é cerca de 21% diminuindo para 10% nos primeiros dias de compostagem, devido ao seu consumo por parte dos microrganismos para a degradação do material, enquanto a temperatura aumenta. Subsequentemente, quando a taxa de decomposição diminui, os níveis de oxigénio aumentam gradualmente, conforme as temperaturas diminuem até à temperatura ambiente, retomando ao seu valor inicial de 21% (Stoffella e Kahn, 2001)

Os níveis de oxigénio seguem um padrão oposto ao da temperatura, apresentando o valor mais baixo no pico mais alto da temperatura (fase termófila). Após este pico, a temperatura diminui e o oxigénio aumenta gradualmente consoante a redução da actividade microbiana provocada pela diminuição de matéria orgânica degradável (Grigatti, 2011).

Relação C/N

Segundo Trautmann e Krasny (1997), a razão ideal de carbono-azoto (C/N), dos resíduos para compostagem, é cerca de 30:1. É importante que se tenha uma maior quantidade de carbono do que azoto para fornecer energia suficiente que permitem o metabolismo e a síntese de novas células. Razões C/N menores que 30:1 promovem um crescimento microbiano rápido acelerando a decomposição, no entanto, o azoto em excesso é perdido para a atmosfera em forma de gás de amónia, causando odores desagradáveis, ocorrendo também a perda de alguns nutrientes. Razões C/N maiores que 30:1 não fornecem azoto suficiente para o crescimento óptimo dos microrganismos retardando o processo de degradação.

O carbono tem três funções principais: a) é constituinte do material celular; b) funciona como um electrão dador em metabolismos energéticos (respiração e fermentação); c) funciona como um electrão em reacções metabólicas de energia (fermentação, redução do CO₂ em CH₄). O azoto também apresenta as seguintes funções: a) constituinte de proteínas, ácidos nucleicos, co-enzimas e aminoácidos; b) funciona como electrão dador em reacções metabólicas de certas bactérias; c) quando na forma de nitrito e nitrato, actua como electrão receptor em reacções metabólicas de energia da bactéria da desnitrificação sob condições anaeróbias (Oliveira, 2011).

Com a evolução da compostagem, a razão C/N diminui gradualmente originando um produto final com uma razão próxima de 10-15:1. Esta redução ocorre, pois cada vez que os compostos orgânicos são consumidos por microrganismos, 2/3 do carbono é perdido para a atmosfera como CO₂, enquanto que maior parte do azoto é reciclado em novos microrganismos (Trautmann e Krasny, 1997).

2.2.3 Parâmetros de avaliação da qualidade dos compostos

Não existe um único parâmetro que sozinho possibilite uma avaliação adequada da qualidade dos compostos, sendo necessário a utilização conjunta de diversos parâmetros para a sua correcta avaliação (Cunha Queda, 1999).

Os vários parâmetros físicos, químicos e biológicos que têm sido utilizados para monitorizar a qualidade e a maturidade do composto incluem a razão C/N, $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$, a evolução do CO_2 , pH, CE, a capacidade de troca catiónica, carbono solúvel, teste do auto aquecimento, taxa de consumo de oxigénio e a produção de substâncias húmicas. Outro parâmetro considerado que avalia de forma indirecta mas confiável a maturidade do composto é o índice de germinação que mede a sua fitotoxicidade (Rashad *et al.*, 2010).

No Decreto-Lei n.º 103/2015 de 15 de Junho, o artigo 20º refere que para a avaliação e o controlo da qualidade dos compostos orgânicos é necessário que o produto cumpra os parâmetros analíticos referidos nos anexos I e II do presente diploma. Estes parâmetros analíticos incluem:

- Matéria orgânica - deve conter um teor mínimo de 30%, reportado em matéria seca;
- Humidade – o teor máximo de humidade, expresso em percentagem de massa, permitido é de 40%;
- Granulometria – De um modo geral, 99% do material do correctivo orgânico deve passar por um crivo de malha quadrada de 25 mm;
- pH – O pH da matéria fertilizante deve situar-se entre 5,5 e 9,0;
- Fitotoxicidade – A matéria fertilizante de origem orgânica é considerada não fitotóxica desde que o índice resultao da sua submissão a um dos testes de fitotoxicidade do anexo V do mesmo diploma revele ausência de fitotoxicidade;
- Microrganismos, sementes e propágulos de infestantes – os compostos não podem exceder os valores máximos de microrganismos patogénicos, de sementes e de propágulos infestantes indicados na tabela 2;

Tabela 2 - Valores máximos admissíveis de microrganismos patogénicos, de sementes e de propágulos de infestantes (DL nº103/2015)

Microrganismos patogénicos	Valores máximos admissíveis
<i>Salmonella</i> spp.	Ausente em 25 g de matéria fertilizante
<i>Escherichia coli</i>	<1000 células/g de matéria fertilizante
Sementes e propágulos de infestantes	3 unidades activas/Litro

- Metais pesados – as matérias fertilizantes não podem ultrapassar, de acordo com a classe correspondente, o conteúdo de metais pesados indicados na tabela 3;

Tabela 3 - Valores máximos admissíveis para os teores «totais» de metais pesados nos compostos por classe em mg.Kg⁻¹ m.s. (DL n°103/2015)

Parâmetro	Matéria Fertilizante			
	Classe I	Classe II	Classe II A	Classe III
Cádmio	0,7	1,5	3	5,0
Chumbo	100	150	300	500
Cobre	100	200	400	600
Crómio	100	150	300	400
Mercúrio	0,7	1,5	3	5,0
Níquel	50	100	200	200
Zinco	200	500	1000	1500

- Grau de maturação – utilização do teste de auto-aquecimento, onde se consideram três categorias diferentes em função do grau de maturação, representado na tabela 4.

Tabela 4 - Categorias do compostos em função do grau de maturação (DL n°103/2015)

Temperaturas atingidas no teste de autoaquecimento em vasos Dewar (T°C)	Grau de Maturação	Categoria
T < 40	IV e V	Maturada
40 < T < 50	III	Semimaturada
T > 50	I e II	Fresca

2.3. Interesse agrícola dos compostos

As condições climáticas e orográficas de Portugal juntamente com práticas culturais desajustadas, conduziram ao empobrecimento dos solos agrícolas em matéria orgânica, tornando-se urgente recorrer a medidas que contrariem esta tendência, como por exemplo,

através do aproveitamento de resíduos orgânicos com características agrícolas interessantes (Gonçalves, 2005).

Dos países do Sul da Europa, Portugal é o que apresenta a maior percentagem de solos com má qualidade (66%) e ainda o que possui maior números de solos com riscos de erosão elevados (68%). Estes processos de erosão e desertificação tendem a piorar em solos pobres em matéria orgânica, como é o caso de maior parte dos solos em Portugal (Oliveira, 2010).

A matéria orgânica funciona como uma fonte de alimentos para fauna e a flora do solo, agindo como um reservatório de nutrientes como o azoto, fósforo e enxofre. Para além disso, tem capacidade para absorver uma quantidade de água cerca de seis vezes superior ao seu peso, constituindo um factor vital para a vegetação em solos naturalmente secos e arenosos. Solos ricos em matéria orgânica, têm uma melhor estrutura que permite um aumento da infiltração da água e a redução da vulnerabilidade à compactação, erosão e desertificação. É por estes motivos que a MO é o principal factor da fertilidade do solo (Comunidades Europeias, 2009).

Uma das formas de melhorar a qualidade dos solos portugueses é através do acréscimo de correctivos orgânicos. São muitos os autores que apontam os diversos benefícios da aplicação de produtos da compostagem ao solo, para além disso, reduzem a necessidade de aplicar adubos minerais. Teodoro *et al.* (2015) ainda referem que a compostagem é importante nos sistemas de produção agrícola devido à sua capacidade de integrar actividades, otimizando a reciclagem da matéria orgânica disponível.

A aplicação de compostos orgânicos ao solo pode provocar alterações nos seus atributos químicos, físicos e biológicos, melhorando a sua qualidade, no entanto os seus efeitos devem ser periodicamente monitorizados (Oliveira *et al.*, 2013).

Martínez-Blanco *et al.* (2013) afirmam que o aumento do teor de matéria orgânica no solo pode ser conseguido através da aplicação de compostos orgânicos, melhorando toda a sua estrutura através do aumento da agregação e da estabilidade do solo. Consequentemente, a impermeabilização da superfície é impedida, a infiltração da água é melhorada aumentando a capacidade de retenção de água, e ainda se reduz o escoamento superficial e a erosão do solo. Outros potenciais benefícios consistem na melhoria da actividade biológica, numa maior disponibilidade de nutrientes para as plantas e no aumento da qualidade das culturas.

D'Hose *et al.* (2014), estudaram os efeitos da aplicação no solo de compostos provenientes de resíduos de uma exploração agrícola, comparando duas parcelas agrícolas, com cultura de batata: a primeira com a adição do composto referido e a segunda sem qualquer alteração. Os autores notaram que, em média, durante um período de dois anos, os rendimentos da batata foram significativamente superiores nas parcelas com composto do que nas parcelas não alteradas. Para além disso, os seus resultados demonstraram que a contínua aplicação deste composto ao solo foi responsável por diversas melhorias:

- Aumentou o teor de carbono orgânico no solo, o azoto total, o potássio extraível e o pH, resultando num potencial aumento da disponibilidade de nutrientes para as plantas;
- Reduziu a densidade do solo e aumentou a estabilidade dos seus agregados, melhorando significativamente a sua fertilidade física;
- E ainda influenciou positivamente a biologia do solo, pois a quantidade de anelídeos, biomassa microbiana e nematoídes bacteriófagos aumentou enquanto que os fitonematoídes foram suprimidos.

Martínez-Blanco *et al* (2013) também estudaram a influência da aplicação dos compostos no solo na presença da cultura da alface, utilizando cinco compostos de origens diferentes. Notaram que, de forma geral, os vários compostos estudados, propocionaram um aumento de produção da matéria seca da alface e da matéria orgânica no solo. Verificaram, também, que dois dos cinco compostos estudados, melhoram as características químicas do solo como o pH, a CTC, a saturação de bases e ainda reduziram a acidez potencial.

Donn *et al.* (2014) observaram que a adição de composto ao solo aumentou, de uma forma geral, a concentração de nutrientes disponíveis, o carbono total, o carbono orgânico dissolvido e o teor de água disponível para a planta melhorando, conseqüentemente, o crescimento das plantas e a força das suas raízes.

E ainda, Filho e Machado (2013) demonstraram no seu estudo que a aplicação do composto orgânico proveniente de resíduos da poda, horta, jardim e cozinha, beneficiou o solo e as culturas em causa (mostarda, espinafre, rúcula e coentros) que apresentaram um maior desenvolvimento, tanto em altura como em número de folhas, em relação às culturas sem correctivo.

No entanto é necessário garantir que se utiliza um composto de boa, pois a aplicação de compostos não maturados e/ou estabilizados, pode causar danos às plantas devido à presença de substâncias tóxicas como metais pesados, ácidos e excesso de sais e azoto. Estas substâncias podem-se acumular nos tecidos das plantas causando a redução do seu crescimento e desenvolvimento e o amarelecimento das folhas. Estes são sintomas de um composto fitotóxico (Ataíde *et al.*, 2011).

2.4. Fitotoxicidade

A fitotoxicidade é definida por Aslam *et al.* (2007) como a intoxicação de plantas vivas por substâncias presentes ou produzidas no meio de crescimento, que são absorvidas ou acumuladas no tecido da planta.

O termo fitotoxicidade está normalmente associado ao fenómeno de acumulação de substâncias potencialmente nocivas, em quantidades excessivas, nos tecidos das plantas que

podem afectar o seu crescimento e desenvolvimento (Beckett e Davis, 1977; Davis *et al.*, 1977).

A presença de substâncias tóxicas no composto depende tanto da dinâmica do processo de compostagem com da qualidade das matérias-primas utilizadas.

A toxicidade geralmente tende a aumentar na fase inicial da compostagem, devido à máxima multiplicação de microrganismos e à intensa biodegradação dos materiais facilmente decomponíveis, que libertam metabolitos tóxicos. Após a metabolização de substâncias tóxicas, a fitotoxicidade decresce e desaparece completamente no final do processo. Isto indica que o produto obtido é estável e maduro (Batista e Batista, 2007).

Durante a degradação da matéria orgânica são libertadas diversos componentes tóxicos como o amoníaco, ácido acético, fenóis e ácidos gordos de baixo peso molecular. A presença destas substâncias no composto indica a sua imaturidade (Jakubus, 2012)

No entanto, a fitotoxicidade de um composto não depende apenas da eficiência do processo, mas também da presença de substâncias tóxicas na matéria-prima como metais pesados, pesticidas ou excesso de salinidade (Belo, 2011).

Segunda Cunha Queda (1999), como a fitotoxicidade é um parâmetro que varia ao longo do processo de compostagem e a sua ausência indica que o composto está estabilizado e maturado, a sua determinação no produto final é fundamental para avaliar a potencialidade da utilização do correctivo na agricultura sem a ocorrência de efeitos negativos tanto na germinação de sementes como no crescimento e desenvolvimento das plantas.

Actualmente não há concordância universal relativamente ao método mais indicado para avaliar a fitotoxicidade de um composto, em parte, devido à diversidade de factores que a podem determinar. Entre os diversos métodos propostos na literatura, os preferidos são os ensaios com plantas que empregam uma variedade de espécies, substratos e procedimentos. Apesar destes métodos permitirem avaliar os efeitos provocados por diversos factores, simultaneamente, não possibilita a identificação dos contaminantes específicos que causam a toxicidade observada (Belo, 2011). Ataíde *et al.* (2011), ainda indica que as grandes vantagens dos ensaios biológicos é o facto de serem processos rápidos e de baixo custo.

Aslam *et al.* (2007) também referem que os ensaios de planta variam muito quer seja na sua metodologia (por extração ou contacto directo), nas espécies de sementes a utilizar ou até mesmo nos métodos de avaliação (germinação de sementes, comprimento radicular ou peso) e nem sempre são consistentes ou suficientemente sensíveis.

Os bioensaios mais utilizados para avaliar a fitotoxicidade de um produto final da compostagem são os ensaios de germinação e os de crescimento.

2.4.1 Ensaios de germinação

Os testes de germinação têm sido os mais utilizados na avaliação da fitotoxicidade. Há diversos autores que defendem que estes são bastante simples, rápidos fiáveis e reprodutíveis para avaliar o efeito causado pelas substâncias tóxicas presentes nos compostos, enquanto que outros autores, discordam referindo que estes métodos exigem um trabalho moroso e têm uma capacidade limitada para determinar a maturidade dos compostos (Belo, 2011).

Selim *et al.* (2012), indica que o índice de germinação é a melhor forma de testar a fitotoxicidade dos produtos finais da compostagem pois os resultados obtidos são bastante fiáveis e directos. Para além disso são amplamente utilizados para avaliar a salinidade, agentes patogénicos, substâncias tóxicas e algumas propriedades físicas e químicas do composto.

Zucconi *et al.* (1981) sugere que o índice de germinação (IG), baseado no número de sementes germinadas e no crescimento inicial das raízes, que utiliza um extrato aquoso do composto, em função de um branco de controlo, tem provado ser um dos parâmetros mais sensíveis para avaliar a fitotoxicidade do composto, permitindo avaliar o seu grau de maturação.

Este índice tem comprovado ser capaz de indicar tanto os teores de toxicidade baixos, que afecta o crescimento das raízes, como os elevados que afectam a germinação das sementes. No entanto, devido ao seu grau de incerteza é aconselhável utilizar outros testes em conjunto (Belo, 2011).

No entanto, os resultados obtidos através do IG têm de ser interpretados com cuidado pois são afectados pela espécie de semente utilizada e pela origem do composto (Selim *et al.*, 2012).

Zucconi e De Bertoldi (1987) indicam que o índice de germinação, que combina a germinação das sementes e o comprimento radicular de cada semente de *Lepidium sativum* L. deve ser superior a 60%, em relação ao controlo com água destilada, para que o composto seja considerado não tóxico e maturado.

2.4.2 Ensaio de crescimento

Os bioensaios com plantas têm sido muito utilizados no âmbito da avaliação da fitotoxicidade e empregam uma variedade de espécies, substratos e procedimentos. Consistem na análise do crescimento vegetal num vaso, utilizando como substrato uma mistura do composto com solo artificial, onde se mede a massa da biomassa seca das plantas no final do teste (Belo, 2011).

Suthar e Singh (2011) defendem que o crescimento das plantas é um parâmetro mais sensível do que a germinação de sementes em extractos aquosos do composto. Isto porque, Kapustka (1997) relata que o ensaio de germinação das sementes é relativamente insensível a muitas substâncias tóxicas devido a dois factores: a) as sementes não conseguem absorver

diversos produtos químicos; b) a planta embrionária tira as suas necessidades nutricionais internamente, a partir dos materiais armazenados e é efectivamente isolada do ambiente.

Cheung *et al.* (1989) relataram que as sementes de cereais, leguminosas e de turbéculos, contêm uma grande reserva de nutrientes e que a sensibilidade a substâncias tóxicas, de cada espécie de planta, depende das suas quantidades de reserva.

Por outro lado, o decorrer dos ensaios de crescimento prevêm a exposição na fase de desenvolvimento da planta e proporcionam uma melhor aproximação das condições de campo do que os ensaios de germinação (Suthar e Singh, 2011). Kapustka (1997) avaliou a fitotoxicidade de um composto e observou que o crescimento da planta foi mais sensível do que a germinação das sementes.

De acordo com CCME (1996), o índice de crescimento das plantas, utilizando um mistura de composto com solo artificial, não deve ser inferior a 50% em comparação à testemunha para ensaios de *Lepidium sativum* L. e *Raphanus sativus* L..

3. Metodologias e procedimentos experimentais

3.1 Compostos e indicadores utilizados

As amostras de composto utilizadas para a realização deste trabalho consistiram em quatro correctivos orgânicos produzidos a partir de materiais iniciais diferentes:

- **Amostra A** – produzido a partir de resíduos orgânicos não perigosos provenientes de de uma operadora de gestão de resíduos. Os resíduos utilizados não são fixos, pois variam consoante os resíduos das empresas a gerir;
- **Amostra B** – proveniente de uma mistura de resíduos sólidos urbanos e resíduos verdes;
- **Amostra C** – obtido através da co-compostagem de lamas de ETAR com casca de pinheiro moída ou serrim de pinho;
- **Amostra D** – produzidos a partir de resíduos orgânicos recolhidos selectivamente.

Os indicadores utilizados nos vários ensaios de germinação e de crescimento foram o agrião (*Lepidium sativum* L.) e a couve chinesa (*Brassica rapa chinensis* L.). A figura resume o o trabalho realizado. Os diferentes métodos serão apresentados em detalhe no ponto 3.5.

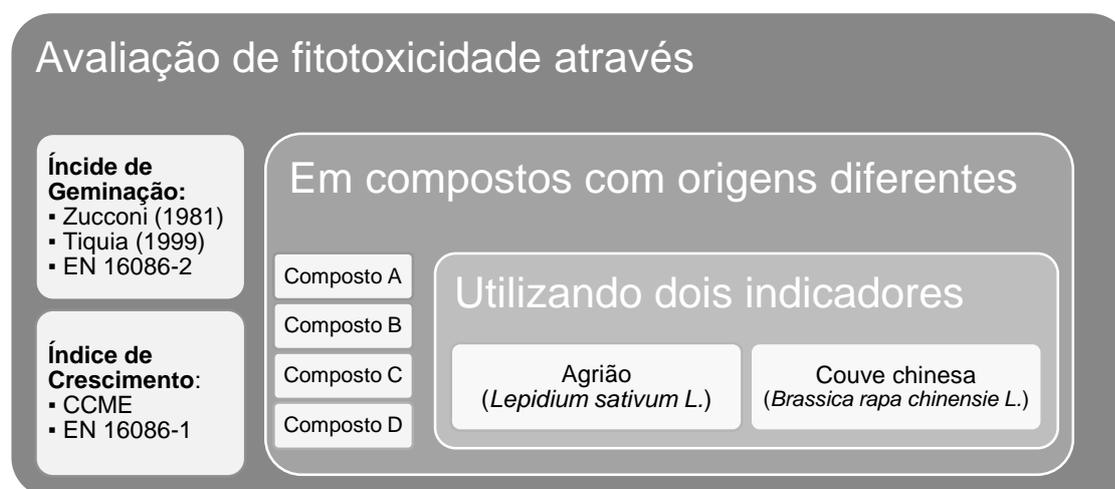


Figura 5 - Esquema explicativo do trabalho realizado

Para a caracterização destes correctivos orgânicos, procedeu-se à avaliação de vários parâmetros físicos e físico-químicos (teor de humidade, pH e condutividade eléctrica), químicos (azoto amoniacal e nítrico, azoto total e de kjeldahl, matéria orgânica e carbono orgânico total) e biológicos (teste do auto-aquecimento e AT4).

Também foi feita a avaliação da fitotoxicidade de cada amostra através de ensaios de germinação e crescimento e ainda a análise estatística dos resultados obtidos.

3.2 Parâmetros físicos e físico-químicos

3.2.1 Teor de humidade

O teor de humidade da amostra fresca foi determinado por gravimetria, utilizando-se três réplicas, através da secagem de cerca de 50 g de amostra numa estufa a 104°C durante 24 h. De seguida, a amostra foi arrefecida num excicador até atingir a temperatura ambiente e foi pesada.

Os resultados foram expressos em percentagem ($\text{g } 100\text{g}^{-1}$).

3.2.2 pH e condutividade eléctrica

O pH e a condutividade eléctrica foram determinados a partir de um extracto aquoso obtido através da agitação de um preparado com 60mL de amostra e 300mL de água destilada durante 1 h à temperatura ambiente. Em seguida, o preparado foi filtrado através do papel de filtro Whatman de banda branca.

3.3 Parâmetros químicos

3.3.1 Matéria orgânica

A determinação da matéria orgânica foi feita por gravimetria através da incineração da amostra numa mufla a 500°C durante, pelo menos, 8 horas. Os resultados foram expressos em percentagem ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ de matéria seca).

3.3.2 Azoto amoniacal e nítrico

Para a determinação do azoto amoniacal procedeu-se à destilação em meio alcalino (NaOH) de 50 mL do extracto aquoso obtido para o pH e condutividade eléctrica. Em seguida, para a determinação do azoto nítrico, adicionou-se 25 mL de sulfato ferroso e 5 mL de sulfato de prata e procedeu-se a uma nova destilação.

Ambas as destilações foram recolhidas num erlenmeyer com 50 mL de ácido bórico a 4 % (m/v) e 3 gotas de indicador misto. Por fim, realizou-se uma titulação utilizando ácido clorídrico de concentração conhecida.

Os resultados foram expressos em mg de N-NH_4^+ kg^{-1} de m.s. e em mg de N-NO_3^- kg^{-1} de m.s., respectivamente.

3.3.3 Azoto total

A determinação do azoto total foi feita através do método de Kjeldahk modificado que se baseia na digestão da amostra com ácido sulfúrico/ ácido silícico ($25 \text{ g} \cdot 1000 \text{ mL}^{-1}$) utilizando como catalisador o sulfato de cobre e sulfato de potássio.

A realização deste método difere consoante a concentração de N-NH_4^+ for inferior ou superior a 500 mg L^{-1} .

Para uma concentração inferior a 500 mg L^{-1} , foram pesados cerca de 1 g de amostra, previamente seca e moída, para os tubos Kjeldahl e adicionados 10 mL da solução ácido sulfúrico/ácido salicílico e 1,25 g de tiosulfato de sódio em pó. Os tubos foram deixados a aquecer cuidadosamente na unidade de digestão até se formar espuma. Depois de arrefecido adicionou-se ao tubo 3 g do catalisador (350 g de K_2SO_4 + 400 g de CuSO_4) e procedeu-se novamente ao aquecimento a uma temperatura máxima de $400 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 5 horas até o conteúdo do tubo ficar incolor.

Para uma concentração superior a 500 mg L^{-1} , pesou-se cerca de 3,00 g de amostra fresca para os tubos Kjeldahl, adicionados 25 mL da solução ácido sulfúrico/ácido salicílico e 3,13 g de tiosulfato de sódio em pó.

Após a digestão, quer de uma forma ou de outra, o conteúdo dos tubos Kjeldahl foi transferido para balões volumétricos de 250 mL, completando-se o volume com água destilada. Seguidamente, procedeu-se à destilação de 50 mL do conteúdo do balão volumétrico juntamente com cerca de 30 mL de NaOH a 40% (m/v).

As destilações foram recolhidas num erlenmeyer com 50 mL de ácido bórico a 4 % (m/v) e 3 gotas de indicador misto. Por fim, realizou-se uma titulação utilizando ácido clorídrico de concentração conhecida.

3.3.4 Carbono orgânico total – Método de Tinsley

O carbono orgânico total foi determinado através do método de Tinsley. As amostras foram previamente secas numa estufa a 75°C e moídas a uma granulometria de 2 mm. Em seguida, pesou-se, em triplicado, cerca de 0,015 g de cada amostra seca e moída para um erlenmeyer de colo esmerilado e juntou-se 25 mL de solução extractiva [(19,87 g de $\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ + 200 mL de H_3PO_4 + 400 mL de H_2SO_4)/L].

Os erlenmeyers com tubos de refluxo, foram colocados numa placa de aquecimento, durante duas horas. Depois de arrefecidos, adicionou-se cerca de 200 mL de água destilada e 4 mL de solução indicadora [(0,3 g de difenilamina-sulfonato de bário + 58,7 g de BaCl_2)/L].

Por fim, efectuou-se uma titulação com a solução de sal de Mohr 0,4 N [(156,86 g de $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ + 20 mL de H_2SO_4)/L]. Para o ensaio em branco, o procedimento foi o mesmo mas utilizou-se apenas a solução extrativa.

Os resultados foram expressos em percentagem de m. s..

3.4 Parâmetros biológicos

3.4.1 Teste de auto-aquecimento

Para a realização do teste de auto-aquecimento, as amostras com o teor de humidade inferior a 45%, foram corrigidas para atingirem este valor. Em seguida, as amostras foram introduzidas em vasos *Dewar* com uma sonda de temperatura no seu interior, durante cerca de 10 dias.

3.4.2 AT4

Para a realização do teste respirométrico as amostras, que necessitavam, foram corrigidas para um teor de humidade de 45%. Em seguida, pesou-se cerca de 20 g de amostra para um frasco *Scohtt* de 2 L e introduziu-se um dispositivo para colocar o absorvente de CO₂ e um controlador *Sensomat Control* que permite fazer as leituras dos resultados num sensor electrónico de pressão por infravermelho da variação da pressão no frasco.

Após quatro dias, é feita a leitura e os resultados são apresentados em mg O₂ g⁻¹ m.s.

3.5 Avaliação da fitotoxicidade

Antes de um composto ser aplicado ao solo, é fundamental avaliar, não só as suas propriedades químicas e físicas, como também o seu grau de maturação e fitotoxicidade, de forma a evitar quaisquer impactes ambientais.

Para a avaliação da fitotoxicidade dos compostos realizou-se ensaios de germinação e de crescimento utilizando dois indicadores, o agrião (*Lepidium sativum* L.) e a couve chinesa (*Brassica chinesis* L.). Os métodos utilizados para os diferentes testes biológicos foram os seguintes:

- Para os ensaios de germinação utilizou-se dois métodos que utilizam extratos aquosos sugeridos por dois autores diferentes, Zucconi *et al.* (1981) e Tiquia (1999). O terceiro método é realizado através do contacto directo das sementes com o composto e aparece descrito na norma europeia EN 16086-2.

- Para os ensaios de crescimento utilizou-se dois métodos diferentes que propõem uma mistura dos compostos com um solo artificial. O primeiro é um índice de crescimento sugerido por CCME e o segundo está descrito na norma europeia EN 16086-1.

3.5.1 Ensaios de germinação

M1 – Método 1 (Zucconi *et al.*, 1981)

Inicialmente procedeu-se à correcção do teor de humidade das amostras a 60%, à excepção da amostra C que foi corrigida a 70%. Seguidamente, as amostras repousaram à temperatura ambiente durante 30 minutos, findo o qual se procedeu à extracção da fracção solúvel em água, sob a pressão de 250 atm durante 15 minutos, em prensa hidráulica.

Os extractos obtidos foram esterilizados por filtração com membranas *Nalgene* de porosidade 0,2 µm, e em seguida, diluídos a 30% com água destilada esterilizada, à excepção da amostra 17, que foi diluída a 10%.

Os ensaios de germinação foram realizados em placas de Petri contendo uma folha de papel de filtro S&S banda azul com 1 mL dos extractos diluídos preparados. Foram realizadas 10 placas para cada amostra, em triplicado, cada uma com 7 sementes.

Também foram preparadas 15 placas testemunha com uma folha de papel de filtro S&S banda azul e 1 mL de água destilada esterilizada.

M2 – Método 2 (Tiquia, 1999)

As amostras foram misturadas com água destilada numa proporção de 1:10 p/v (100 g matéria seca/1000mL de água) e colocadas a agitar durante uma hora. Em seguida, procedeu-se a uma centrifugação da mistura agitada durante 20 minutos a 3500 rpm, procedendo-se, por último, a uma filtração com papel de filtro de banda azul.

Os ensaios de germinação foram realizados em placas de Petri contendo uma folha de papel de filtro S&S banda azul com 1 mL dos extractos filtrados. Foram realizadas 10 placas para cada amostra, em triplicado, cada uma com 7 sementes.

Também foram preparadas 15 placas testemunha com uma folha de papel de filtro S&S banda azul e 1 mL de água destilada.

Depois de se obter os extractos, o restante procedimento é igual para ambos os métodos (M1 e M2). As placas preparadas com os extractos das amostras e com as 7 sementes, foram incubadas durante 24 horas no escuro a 27 °C.

Após a incubação, contabilizou-se o número de sementes germinadas em cada placa e ainda o comprimento radicular, em mm, de cada semente germinada. A percentagem do índice de germinação (%IG) foi calculada através da seguinte expressão:

$$\%IG = \frac{MNSG(a) \times MCR(a)}{MNSG(t) \times MCR(t)} \times 100$$

Em que:

MNSG = média do número de sementes germinadas

MCR= média do comprimento das radículas

(a) = ensaio com a amostra

(t) = ensaio com a testemunha

M3 – Método 3 (EN 16086-2)

As amostras foram inicialmente crivadas a 20 mm e humidificadas até ao ponto óptimo através do teste do punho. Este teste consiste em pressionar a amostra com o punho, se escorrer água, a amostra está muito húmida, se a amostra se desfizer quando a mão está aberta, a amostra está muito seca. Sabe-se que está no ponto óptimo quando se pressiona a amostra e se forma um agregado que só se desfaz sobre uma leve pressão.

Preencheu-se completamente as placas quadradas (20x20 cm) com as amostras humedecidas, em triplicado, e alisou-se a superfície sem compressão. Semeou-se 10 sementes em cada placa, uniformemente espaçadas numa linha a 10-20 mm do topo da placa, como mostra na figura 6. Adicionou-se uma gota de água destilada a cada semente para garantir um bom contacto entre a semente e a amostra. Incubou-se as placas, com as suas respectivas tampas, colocadas a 70°-80° da horizontal com a extremidade com as sementes voltada para cima, durante 72 horas no escuro a 25 ± 5 °C. Após a incubação, contabilizou-se o número de sementes germinadas em cada placa e ainda o comprimento radicular, em mm, de cada semente germinada.

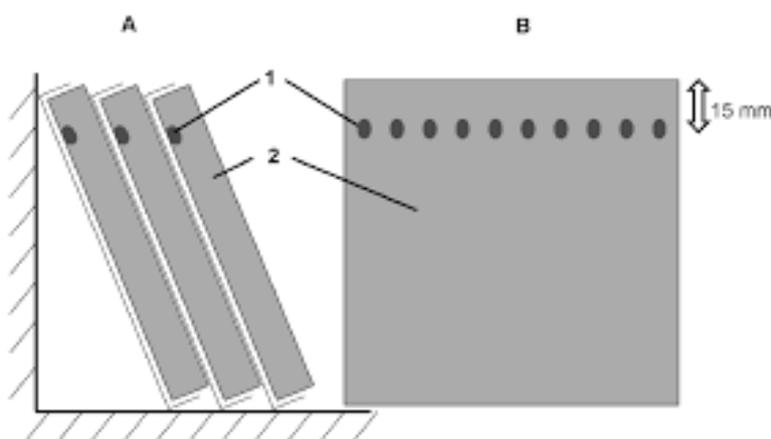


Figura 6 - Exemplo da disposição das placas na incubadora (Norma Europeia EN-16086-2)

Para as placas testemunhas, foi necessário uma preparação prévia da turfa. Inicialmente, crivou-se a turfa a 10 mm e, em seguida, realizou-se três ensaios de calagem com quantidades de calcário dolomítico diferentes por litro de turfa: 8 g/L, 16 g/L e 24 g/L. Preparou-se três tabuleiros com oito litros de turfa crivada, cada um, e adicionou-se as respectivas quantidades de calcário dolomítico juntamente com cerca de dois litros de água destilada. Após 11 dias de repouso, procedeu-se à fertilização da turfa de forma a que o seu teor de azoto fosse no mínimo de 225 mg N L⁻¹. Também se fertilizou oito litros de turfa sem correcção de pH.

Assim obteve-se as seguintes testemunhas:

- Turfa 0 – turfa fertilizada mas sem qualquer correcção de pH
- Turfa 8 – turfa fertilizada com 8 g de calcário dolomítico por litro
- Turfa 16 – turfa fertilizada com 16 g de calcário dolomítico por litro

- Turfa 24 – turfa fertilizada com 24 g de calcário dolomítico por litro

Preparou-se as placas, em triplicado, com as quatro diferentes turfas. Todas estas testemunhas foram utilizadas para se compreender qual a quantidade ideal de calcário dolomítico a usar para se obter os melhores resultados.

Segundo a norma europeia EN-16086-2, para um correctivo orgânico ser certificado, este método pode ser realizado através do uso directo dos compostos sem qualquer correcção. No entanto também se efectuou ensaios com os compostos corrigidos onde, de acordo com o mesmo documento, as amostras deveriam apresentar um pH entre 5,5 e 6,5 e uma CE inferior a 800 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$. Para cumprir estes requisitos, efectuou-se o mesmo ensaio utilizando misturas das amostras com a turfa 0 em proporções 25:75 e 50:50 em volume de composto e turfa. Utilizou-se todas as turfas anteriores como branco.

Contudo, estas misturas mesmo assim não satisfaziam os requisitos apresentados na norma devido à elevada CE, assim foi necessário calcular a proporção adequada de cada composto com a turfa. Para estas misturas foi necessário utilizar turfa calada, neste caso, turfa 24, pois observava-se que a turfa 0 diminuía significativamente o pH. Com isto, as proporções utilizadas para os compostos A, B, C e D foram de 10:90, 5,5:94,5, 64:36 e 12:88, volume/volume, respectivamente. Para este ensaio utilizou-se como testemunha, apenas a turfa 24.

Assim denomina-se de:

- M3.1 (100) ao método EN-16086-2 que utiliza o composto directo sem qualquer correcção
- M3.1 (50:50) ao mesmo método que utiliza uma mistura do composto com turfa 0 numa proporção de 50% de composto e 50% de turfa em volume;
- M3.1 (25:75) ao mesmo método que utiliza uma mistura do composto com turfa 0 numa proporção de 25% de composto e 75% de turfa em volume;
- M3.2 método que utiliza turfa 24 para as misturas, com proporções específicas para cada composto.

Para a avaliação deste método utiliza-se o índice de vitalidade Munoo-Liisa (%) (MLV) que consiste na seguinte expressão:

$$MLV (\%) = \left(\frac{(TG_{s1} \cdot CR_{s1}) + (TG_{s2} \cdot CR_{s2}) + (TG_{s3} \cdot CR_{s3})}{3 \cdot (TG_t \cdot CR_t)} \right)$$

Em que:

TG = Taxa de germinação em cada placa

CR= Comprimento das radículas em cada placa

(s1) = Primeira placa

(s2) = Segunda placa

(s3) = Terceira placa

(t) = Ensaio com a testemunha

Este índice MLV (%) é semelhante ao IG(%) descrito anteriormente, a única diferença consiste na utilização dos dados das três réplicas num só cálculo enquanto que a expressão do IG (%) utiliza a média dos resultados.

3.5.2 Ensaio de crescimento

M4 – Método 4 (CCME)

Para o teste de crescimento efectuou-se uma mistura de cada composto a avaliar com um solo artificial, nas proporções de 1/3 (em volume) de composto e 2/3 (em volume) de solo artificial, o qual foi preparado com turfa (1/3 em volume), perlite (1/3 em volume) e areia (1/3 em volume). Utilizaram-se caixas de plástico com a capacidade de 1 litro e perfuração na base, tendo sido preparadas 3 caixas com a mistura da amostra e solo artificial, simultaneamente foram preparadas 3 caixas com solo artificial, as quais constituem as testemunhas.

Todas as caixas foram semadas com 16 sementes e foram mantidas durante todo o ensaio a 80% da respectiva capacidade de campo, a qual foi previamente avaliada. As caixas foram colocadas numa câmara de vegetação, onde se simula a luz do dia através de lâmpadas de halogénio de 52 Watt de potência, com 13 horas de luz/dia e a temperatura do ar foi mantida entre os 20°C e os 25 °C. O ensaio decorreu durante 14 dias contados após a germinação de 50% das sementes nas caixas testemunha.

No final dos 14 dias foi colhida a parte aérea das plantas e avaliado o seu peso fresco do material vegetal de cada caixa. Seguidamente procedeu-se à sua lavagem com água destilada e posteriormente procedeu-se à secagem do material vegetal em estufa a 50 °C. Após a secagem, avaliou-se o peso do material seco.

Segundo Jodice (1989), a percentagem de índice de crescimento (%IC) foi calculada da seguinte forma:

$$\% IC = \frac{PS(a)}{PS(t)} \times 100$$

Em que:

PS = Peso seco

(a) = ensaio com a amostra

(t) = ensaio com a testemunha

M5 – Método 5 (EN-16086-1)

Inicialmente as amostras foram crivadas a 20 mm e, em seguida, foram misturadas com turfa com uma proporção em volume/volume de 25:75 e 50:50. Adicionou-se uma solução fertilizante, rica em nutrientes, às misturas de amostras que necessitavam.

Foi necessário corrigir o pH da amostra C e por isso, realizou-se mais duas misturas iguais às anteriores mas utilizando a turfa 24, já referida anteriormente, originando a amostra C*. Para as testemunhas utilizou-se as turfas referidas no ensaio de germinação EN-16086-2 (M3).

Preencheu-se três vasos para cada mistura até ao topo e alisou-se e comprimiu-se a superfície até que esta se encontra-se a 5-10 mm do topo. Semeou-se 20 sementes em cada vaso, igualmente distribuídas, e borrifou-se com água destilada as misturas nos vasos.

Os vasos foram colocados numa câmara de vegetação onde se simula a luz do dia através de lâmpadas de halogénio de 52 Watt de potência, com 13 horas de luz/dia a uma temperatura entre 18°C e 30°C, com constante rega.

Após cinco dias, contabilizou-se o número de sementes germinadas em cada vaso. O ensaio terminou quando a quinta verdadeira folha é claramente visível em 50% dos vasos testemunhas. De seguida, foi colhida a parte aérea das plantas e avaliado o seu peso fresco do material vegetal de cada vaso. Seguidamente procedeu-se à sua lavagem com água destilada e posteriormente procedeu-se à secagem do material vegetal em estufa a 50 °C. Após a secagem, avaliou-se o peso do material seco.

Para a avaliação deste método não se utiliza um índice de crescimento, mas sim o índice do crescimento inibido pelo composto, em cada vaso, que é obtido através da expressão:

$$ICI (\%) = \frac{PP_t - PP_a}{PPm_t} \times 100$$

Em que:

PP = Peso da planta, por vaso

PPM = Peso médio das plantas

(a) = ensaio com a amostra

(t) = ensaio com a testemunha

3.6 Análise estatística dos resultados

A análise estatística dos resultados obtidos foi realizada através de uma análise de variância através da ANOVA, utilizando $\alpha = 0,05$, com o software *Statistix* (versão 7.0) para Windows. Utilizou-se o teste de Tukey para a separação de médias ao mesmo nível de significância.

4. Resultados e discussão

Como foi referido anteriormente, para a realização do presente trabalho, utilizaram-se quatro compostos provenientes de materiais iniciais diferentes. Mas antes de se proceder à avaliação da sua fitotoxicidade, é fundamental efectuar a caracterização física, físico-química, química e biológica. Com isto, na tabela 5 apresenta-se a caracterização dos correctivos orgânicos referidos, onde é possível observar as suas diferentes características.

Tabela 5 - Caracterização das amostras

Parâmetros	A	B	C	D
Humidade %	16,27	22,70	52,40	18,47
M.O. %	31,66	44,91	84,02	53,50
pH	8,40	7,76	5,82	8,42
CE mS.cm ⁻¹	3,02	4,66	0,91	3,65
COT %	16,14	13,80	34,87	11,41
Azoto total g.100g ⁻¹ de m.s	1,89	2,27	2,48	2,75
N-NH₄⁺ mg.kg ⁻¹ m.s.	1197,76	1365,21	1941,59	1678,37
N-NO₃⁻ mg.kg ⁻¹ m.s.	96,07	163,82	743,63	196,09
AT4 mg O ₂ .g ⁻¹ m.s.	10,38	18,58	8,90	14,94
Teste				
Auto-aquecimento °C (temperatura máxima atingida)	24,00	55,90	23,90	29,60
Categoria	Maturada	Fresca	Maturada	Maturada

A amostra C destaca-se devido à sua elevada percentagem de teor de humidade, matéria orgânica e carbono orgânico e ao seu reduzidos valores de pH e condutividade eléctrica (CE), quando comparados com os restantes compostos.

Também é necessário destacar que a temperatura máxima atingida no teste de auto-aquecimento do composto B foi de 55,9 °C, sendo categorizado como um composto fresco por ainda não estar maturado. O seu resultado no teste AT4 indica que ocorreu consumo de oxigénio causado pela presença de microrganismos. A figura 7 mostra a aparência do

composto C, após umas semanas em armazenamento, onde é possível observar umas manchas brancas, apenas à superfícies do composto, causadas pela actividade biológica.

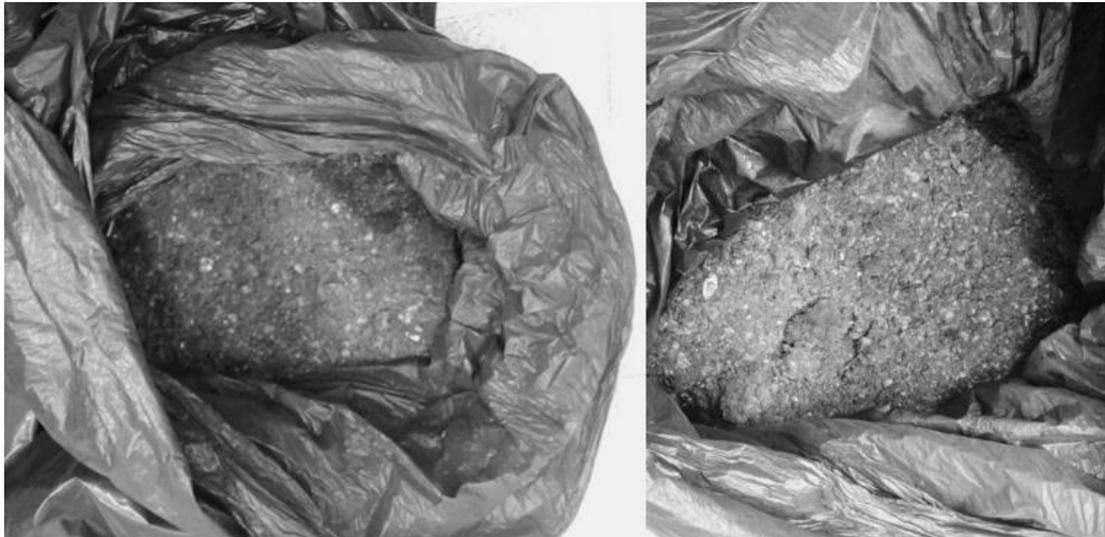


Figura 7 - Estado da amostra B após poucas semanas em armazenamento

De acordo com os valores estabelecidos pelo Decreto-Lei nº103/2015, no Anexo II, as matérias fertilizantes devem conter um teor mínimo de 30% de MO, um teor máximo de 40% de humidade e um pH entre 5,5 e 9,0. Todos os compostos cumprem estes requisitos à excepção do teor de humidade do composto C que apresenta valor de 52,4%, superior ao que está presente no diploma referido.

4.1 M1 – Método 1 (Zucconi *et al.*, 1981)

No gráfico 1 estão representados a média dos índices de germinação e a variação dos resultados obtidos para o método de Zucconi *et al.* (1981) para cada correctivo orgânico utilizando os dois indicadores diferentes. É possível observar que se obteve índices de germinação superiores na utilização da couve chinesa, à excepção do composto C, que apresenta um resultado maior na utilização do agrião.

Para além disso, também se observa que a amostra B é a que apresenta um menor desvio padrão para os dois indicadores, ou seja, a dispersão dos valores obtidos, em relação à média é baixa. Ao contrário da amostra C que contém o maior desvio padrão, também relativo aos dois indicadores.

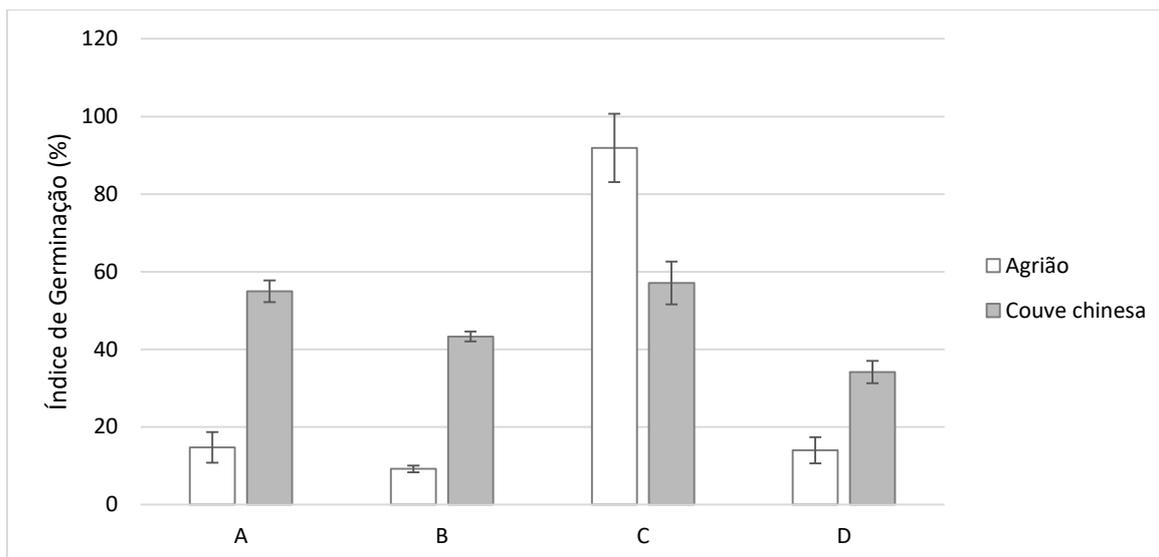


Figura 8 - Boxplot do método 1 para os diferentes compostos na utilização dos dois indicadores

Na tabela 6, estão apresentados os resultados obtidos para o IG após 24 horas de germinação das sementes *Lepidium sativum* L. e *Brassica rapa chinensis* L., utilizando um extrato aquoso obtido através do método M1, onde se compara os IG (%) das quatro amostras para a mesma espécie de semente indicadora.

Tabela 6 - Comparação do % IG, obtido através do método 1 das quatro amostras para os diferentes indicadores

Indicador	IG (%)			
	A	B	C	D
Agrião	14,75 a*	9,20 a	91,90 b	14,02 a
Couve Chinesa	54,99 a	43,30 b	57,10 a	34,13 c

*As médias assinaladas com a mesma letra para a mesma espécie indicadora, não apresentam diferenças significativas entre si para $\alpha=0,05$

Através da tabela 6 é possível observar que os resultados do IG, utilizando o agrião, não diferem significativamente ($\alpha=0,05$) para as amostras A, B e D, apenas a amostra C difere apresentando um valor bastante superior aos restantes. Para a couve chinesa, as únicas amostras que não diferem significativamente entre si são a A e a C que apresentam valores próximos de 55% e 57%, respectivamente.

Ao comparar todos os resultados do método 1 do agrião e da couve chinesa através da tabela 7, observa-se uma diferença significativa entre os resultados obtidos para os dois indicadores ($\alpha=0,05$), tornando os da couve chinesa mais próximos entre si e com diferenças menores, comparativamente aos valores apresentados na tabela 6.

Tabela 7 - Comparação dos resultados obtidos através do M1 dos dois indicadores

	Agrião				Couve chinesa			
	A	B	C	D	A	B	C	D
IG (%)	14,75 a*	9,20 a	91,90 b	14,02 a	54,99 cd	43,30 de	57,10 c	34,13 e

*As médias assinaladas com a mesma letra para o mesmo IG (%), não apresentam diferenças significativas entre si para $\alpha=0,05$

A amostra A apresenta um IG de 14,8% na utilização do agrião mas na utilização da couve chinesa este índice aumenta 40%, o mesmo acontece para as amostra B e D onde os seus IG aumentam 34% e 20%, respectivamente. Apesar de contrariar a tendência das restantes amostras, o composto C também apresenta diferenças significativas de um indicador para outro, diminuindo quase 35% na utilização da couve chinesa.

Como dito anteriormente, o valor de referência para considerar um composto ausente de fitotoxicidade, para este método, é de 60% na utilização de *Lepidium sativum* L.. Portanto, de acordo com este valor, apenas a amostra C seria considerada não fitotóxica. Se esta referência fosse igualmente utilizada para a *Brassica rappa chinensie* L., todos os compostos seriam considerados fitotóxicos.

Trautmann e Krasny (1997), sugeriram uma forma de categorizar os índices de germinação, calculados através das médias de sementes germinadas e dos comprimentos das radículas, para a espécie de agrião *Lepidium sativum* L.. Estas categorias, que estão apresentadas na tabela 8, indicam se ocorreu algum efeito inibitório na germinação das sementes e no crescimento das radículas por parte da aplicação do composto.

Tabela 8 - Categorias de inibição de acordo com o índice de germinação (%) (adaptado de Trautmann e Krasny, 1997)

IG (%)	Categorias
100-80	Sem ocorrência de inibição
80-60	Inibição suave
60-40	Inibição forte
<40	Inibição severa

A tabela 9 categoriza, de acordo com o que está apresentado na tabela 8, os resultados obtidos para o método 1 para as diferentes amostras e para os dois indicadores. Apesar destas categorias serem referentes para a espécie do agrião, serão também utilizadas para a

couve chinesa, de forma a que seja possível comparar as diferentes respostas fornecidas pelas duas espécies.

Como é possível observar através da tabela 9, apenas a amostra D manteve a categoria “inibição severa” na utilização dos dois indicadores, todos os outros se alteraram. As amostras A e B apresentaram uma “inibição severa” na utilização do agrião mas com a couve chinesa a sua categoria é “inibição forte”. A mudança mais notória, ocorreu com a amostra C que não apresentou ocorrência de inibição na utilização do agrião, no entanto demonstrou uma “inibição forte” com a couve chinesa.

Assim é possível observar que as respostas dadas pelos diferentes indicadores foram bastante diferentes para o método 1.

Tabela 9 - Categorização dos resultados de IG obtidos para o M1 através dos dois indicadores

Amostras	Categoria	
	Agrião	Couve chinesa
A	Inibição severa	Inibição forte
B	Inibição severa	Inibição forte
C	Sem ocorrência de inibição	Inibição forte
D	Inibição severa	Inibição severa

4.2M2 – Método 2 (Tiquia, 1999)

No gráfico 2 estão representados a média dos índices de germinação e a variação dos resultados obtidos para o método de Tiquia (1999) para cada correctivo orgânico utilizando os dois indicadores diferentes.

É possível observar que o índice de germinação, de todos os compostos, aumentou na utilização da couve chinesa, apesar de não ter sido tão significativo como o método anterior. O maior aumento foi apenas de 25%. Observa-se também um maior desvio padrão para os resultados obtidos através da utilização do agrião, chegando a amostra D a atingir um valor de 12,4.

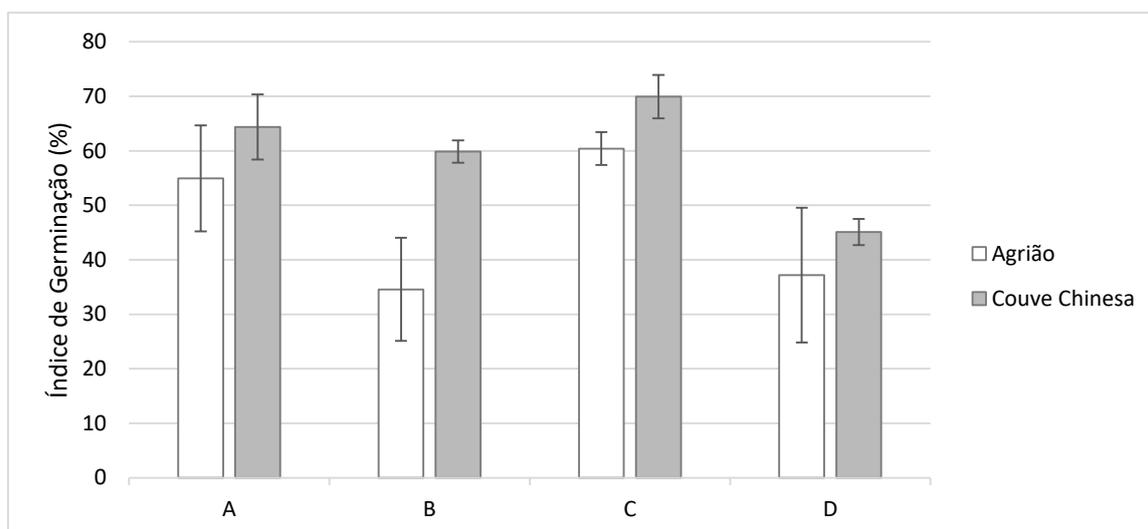


Figura 9 - Boxplot do método 2 para os diferentes compostos na utilização dos dois indicadores

Na tabela 10, estão apresentados os resultados obtidos para o IG após 24 horas de germinação das sementes *Lepidium sativum* L. e *Brassica rapa chinensis* L., em separado, utilizando um extrato aquoso obtido através do método M2.

Tabela 10 - Comparação do % IG, obtido através do método 2 das quatro amostras para os diferentes indicadores

Indicador	IG (%)			
	A	B	C	D
Agrião	54,96 ab*	34,56 b	60,41 a	37,17 ab
Couve Chinesa	64,38 a	59,88 a	69,94 a	45,08 b

* As médias assinaladas com a mesma letra para a mesma espécie indicadora, não apresentam diferenças significativas entre si para $\alpha=0,05$

Na utilização do agrião, consegue-se perceber que as amostras não diferem significativamente, à excepção das amostras B e C que diferem entre si ($\alpha=0,05$). As amostras B e D, apesar de apresentarem um IG mais baixo que as restantes, não são consideradas significativamente diferentes das outras devido aos seus resultados mais dispersos que antigem valores semelhantes aos que foram obtidos para os compostos A e C. Relativamente à couve chinesa, apenas a amostra D difere significativamente ($\alpha=0,05$), todas as outras são semelhantes.

Ao comparar todos os resultados do método 2, para o agrião e couve chinesa, através da tabela 11, observa-se uma semelhança significativa entre o resultados obtidos para os dois indicadores ($\alpha=0,05$). Os resultados são semelhantes entre os diferentes compostos e

também entre os dois indicadores. A amostra que mais difere é a B, com o agrião, no entanto, mesmo assim ainda apresenta resultados semelhantes às amostras D dos dois indicadores.

Tabela 11 - Comparação dos resultados obtidos através do M2 dos dois indicadores

	Agrião				Couve chinesa			
	A	B	C	D	A	B	C	D
IG (%)	54,96 abc*	34,56 d	60,41 ab	37,17 cd	64,38 ab	59,88 ab	69,94 a	45,08 bcd

*As médias assinaladas com a mesma letra para o mesmo IG (%), não apresentam diferenças significativas entre si para $\alpha=0,05$

Neste método foi possível encontrar semelhanças significativas entre os dois indicadores para a mesma amostra, ou seja, os compostos A, C e D apresentam resultados semelhantes ($\alpha=0,05$) para ambas as espécies indicadoras. Apenas a amostra B diferiu de um indicador para outro, apresentando uma diferença de 25% entre as médias obtidas.

A tabela 12 categoriza, de acordo com o que está apresentado na tabela 8, os resultados obtidos para o método 2 para as diferentes amostras e para os dois indicadores.

Tabela 12 - Categorização dos resultados de IG obtidos para o M2 através dos dois indicadores

Amostras	Categoria	
	Agrião	Couve chinesa
A	Inibição forte	Inibição suave
B	Inibição severa	Inibição forte
C	Inibição suave	Inibição suave
D	Inibição severa	Inibição forte

Como é possível observar através da tabela 12, apenas a amostra C manteve a categoria “inibição suave” na utilização dos dois indicadores, as restantes encontram-se em categorias diferentes para as duas espécies de sementes. Estes compostos (A,B e D) apresentam uma menor inibição da germinação das sementes e do crescimento das radículas, quando é utilizado a couve chinesa. As amostras B e D apresentaram uma “inibição severa” na utilização do agrião mas com a couve chinesa a sua categoria aumenta para “inibição forte”. O mesmo acontece com a amostra A que apresenta “inibição forte” para o agrião e “inibição suave” para a couve chinesa.

Estas diferenças de categoria não são tão notórias como as diferenças que ocorreram para o método anterior (M1), no entanto, continua-se a observar melhores resultados na utilização

da couve chinesa do que para o agrião, o que provavelmente indica que a *Brassica rapa chinensis* L. é menos sensível às substâncias fitotóxicas do que o *Lepidium sativum* L..

4.3 M3.1 – Método 3.1 (EN 16086-2)

Para a realização do método sugerido na norma europeia EN 16086-2, utiliza-se os correctivos orgânicos em contacto directo com a semente, contudo, pode ser preciso uma preparação prévia. Se a CE da amostra for superior a $0,8 \text{ mS.cm}^{-1}$, é necessário efectuar-se uma diluição com uma quantidade suficiente de turfa até que a CE não exceda este valor. O pH deve estar, idealmente, entre 5,5 e 6,5, caso o valor seja inferior deve-se realizar uma calagem da amostra.

Apesar destes critérios, efectuou-se, em primeiro lugar, um ensaio utilizando os compostos em contacto directo com as sementes, sem se proceder a qualquer tipo de correcção, sendo denominado de M3.1 (100). O gráfico 3 apresenta as médias dos índices de vitalidade Munoo-Liisa (%) e a variação dos resultados obtidos para este método. O ensaio em branco utilizado como testemunha foi a turfa 24, visto que foi a que obteve melhores resultados.

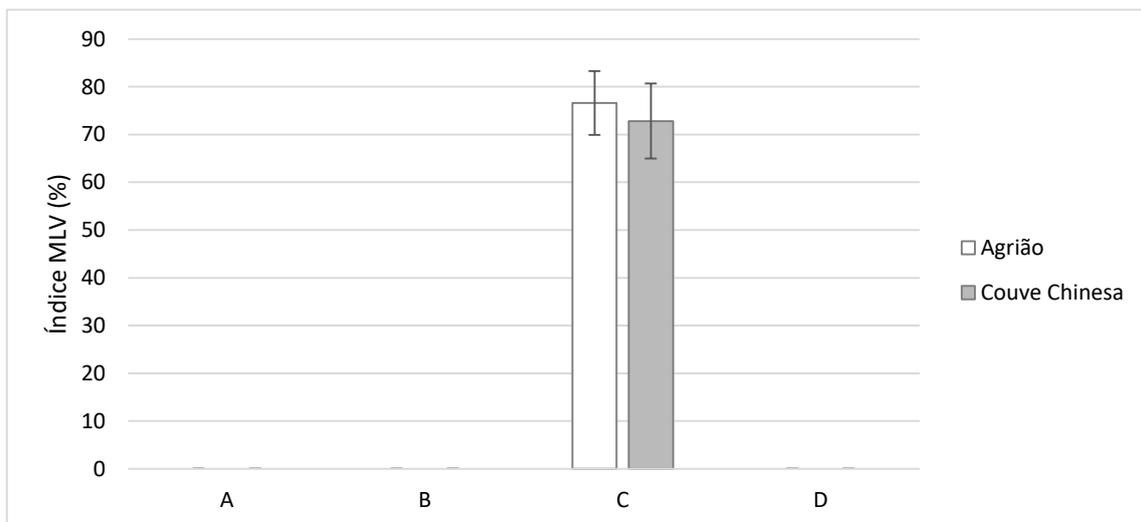


Figura 10 - Boxplot do método 3.1 (100) para os diferentes compostos na utilização dos dois indicadores

Como era de esperar, não ocorreu a germinação das sementes em três compostos, apenas na amostra C as sementes conseguiram germinar e as radículas e os caules crescer. Isto deve-se ao facto de esta amostra ser a que mais se aproxima dos valores referidos anteriormente, apresentando um pH de 5,8 e uma CE de $0,91 \text{ mS.cm}^{-1}$. Os resultados do composto C, são significativamente semelhantes na utilização das duas espécies de sementes ($\alpha=0,05$).

Para tentar melhorar os resultados, procedeu-se a uma experiência utilizando as misturas referentes ao ensaio de crescimento do método referido na norma europeia EN-16086-1, que também foi realizada neste trabalho. Estas misturas consistem em adicionar turfa aos

compostos numa proporção 50:50 e 25:75 em volume de composto/turfa, reduzindo o pH e a condutividade elétrica das amostras.

Como já foi referido anteriormente, foi necessário proceder-se à calagem das misturas da amostra C, devido ao seu reduzido valor de pH, originando a amostra C*. Para além disso, também se realizou a fertilização das turfas e das misturas que necessitavam de forma a que o seu teor de azoto fosse no mínimo de 225 mg N L⁻¹.

A tabela 9 apresenta o pH e a condutividade elétrica das várias misturas e das várias turfas utilizadas. Como é possível observar, tanto o pH como a condutividade elétrica das misturas diminuíram comparativamente às amostras não corrigidas, no entanto, as misturas dos compostos A, B e D ainda apresentam uma condutividade elétrica superior à apresentada na norma europeia.

Tabela 13 - pH e CE das misturas 50:50 e 25:75 de composto/turfa

Amostra		pH	CE ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)
Turfa 0		4,6	83,4
Turfa 8		4,9	108,2
Turfa 16		5,6	189,7
Turfa 24		5,9	255,3
A	25:75	5,7	856
	50:50	7,2	1527,7
B	25:75	4,3	1421,7
	50:50	5,2	2393,3
C	25:75	3,7	419,3
	50:50	3,6	667,3
C*	25:75	5,3	490,7
	50:50	4,9	661,0
D	25:75	5,0	1041,7
	50:50	6,3	2076,7

No gráfico 4 estão representados a média dos índices de vitalidade Munoo-Liisa (%) e a variação dos resultados obtidos para o método M 3.1 utilizando as misturas 50:50 e 25:75 para o indicador agrião. O ensaio em branco utilizado como testemunha foi a turfa 24, visto que foi a que obteve melhores resultados.

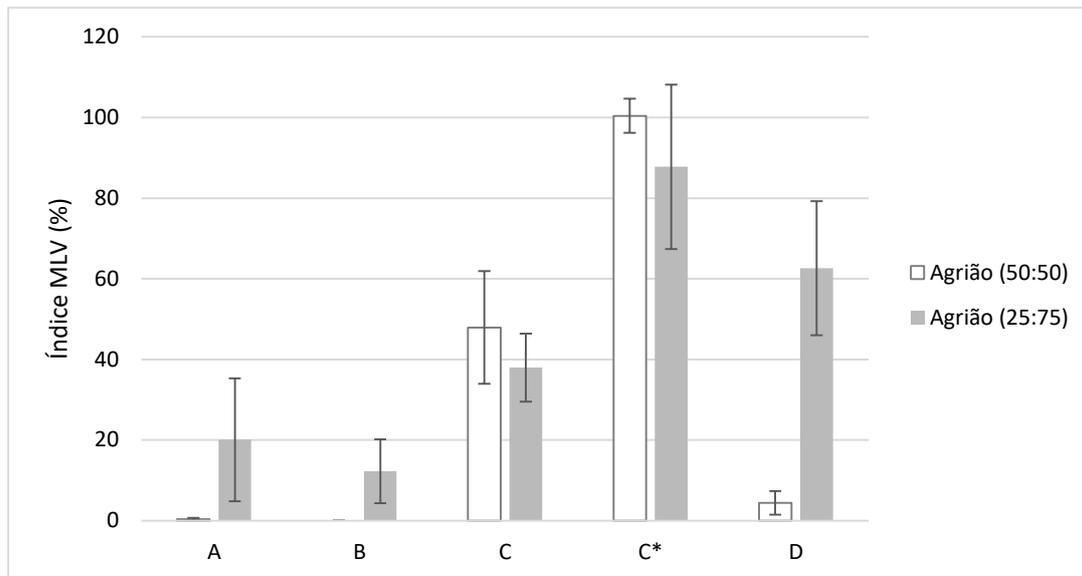


Figura 11 - Boxplot do método 3.1 para as misturas 25:75 e 50:50 das quatro amostras na utilização do agrião

É notório a diferença dos resultados obtidos entre as misturas. O índice MLV (%) é superior para as amostras A, B e D quando se usa apenas 25% de composto, e para o C e C* quando se usa 50% da amostra. Isto significa que a amostra C apresenta maiores benefícios quando é aplicada em maiores quantidades, provavelmente devido às suas características físicas, físicas e químicas e químicas, como o elevado teor de MO e COT.

Os baixos índices de vitalidade Munoo-Liisa (%) na utilização da 50% das amostras A, B e D, são causados pela elevada condutividade elétrica. Apesar de se ter procedido à mistura dos compostos com a turfa, estas proporções ainda não são suficientes para cumprir os critérios descritos na norma EN-16086-2, à exceção da amostra C* 25:75 e A 25:75.

A amostra A (25:75) apresenta um valor pH e CE dentro dos limites referidos, no entanto o seu índice MLV (%) é relativamente baixo (20%), isto indica que este composto é fitotóxico.

Podemos observar que se obteve melhores resultados para amostras com CE mais reduzido, independentemente do seu pH, como é o caso da amostra C, do que para amostras com CE elevada, como é o caso das amostras A, B e D. Isto significa que a germinação das sementes de agrião e o crescimento das suas raízes são mais influenciadas pelos valores de condutividade elétrica do que do pH.

O gráfico 5 apresenta a média dos índices de vitalidade Munoo-Liisa (%) e a variação dos resultados obtidos para o método M 3.1 utilizando as misturas 50:50 e 25:75 para o indicador couve chinesa. O ensaio em branco utilizado como testemunha foi a turfa 8, visto que foi a que obteve melhores resultados.

Mais uma vez, observa-se as mesmas tendências que se observou anteriormente: índices superiores na utilização da couve chinesa e melhores resultados nas proporções 25:75 para

as amostras A, B e D e índices MLV (%) superiores para as amostras C e C* na presença de 50% de composto.

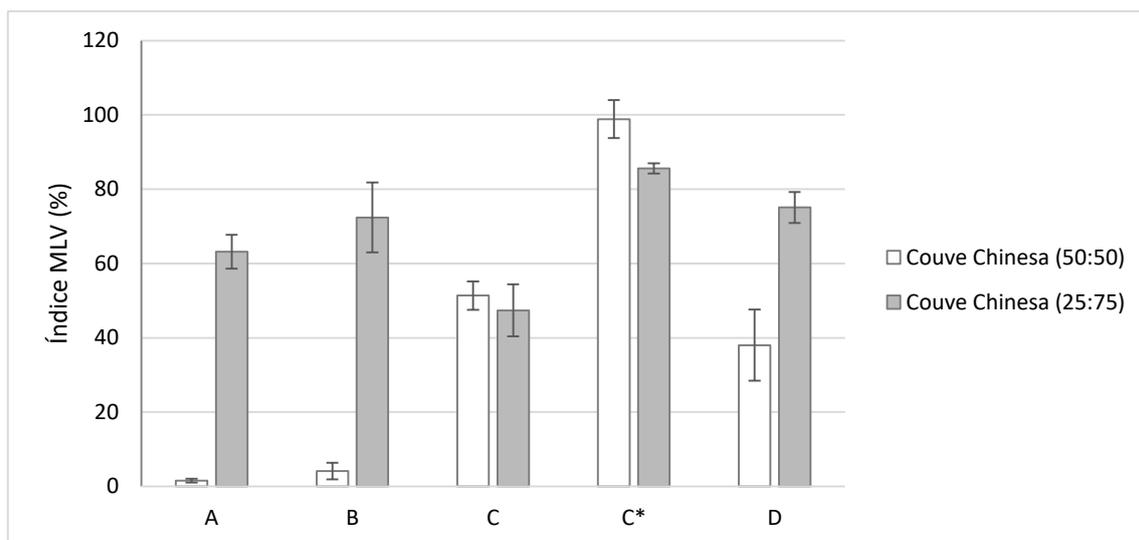


Figura 12 - Boxplot do método 3.1 para as misturas 25:75 e 50:50 das quatro amostras na utilização da couve chinesa

O facto de se observar índices de vitalidade Munoo-Liisa (%) superiores na utilização da *Brassica rapa chinensie* L., contribui para a suspeita de que esta espécie de semente é menos sensível às substâncias fitotóxicas do que o *Lepidium sativum* L..

Na tabela 14, estão apresentados os resultados obtidos para o índice MLV (%) após 72 horas de germinação das sementes *Lepidium sativum* L. e *Brassica rapa chinensie* L. em contacto directo com as misturas das amostras com turfa nas proporções 50:50 e 25:75.

Tabela 14 - Comparação do índice % MLV, obtido através do método 3.1 das quatro amostras e para as misturas 50:50 e 25:75 utilizando os diferentes indicadores

	MLV (%)				
	A	B	C	C*	D
Agrião (50:50)	0,35 a *	0,00 a	47,92 b	100,4 c	4,41 a
Agrião (25:75)	20,05 a	12,23 a	37,94 ab	87,77 c	62,61 bc
Couve chinesa (50:50)	1,55 a	4,13 a	51,36 b	98,86 c	38,01 b
Couve chinesa (25:75)	63,13 ab	72,37 bc	47,36 a	85,62 c	75,09 bc

*As médias assinaladas com a mesma letra para a mesma semente indicadora, não apresentam diferenças significativas entre si para $\alpha=0,05$

Para o ensaio realizado através do agrião com a mistura 50:50, as únicas amostras semelhantes entre si são a A, B e D, ($\alpha=0,05$), pois encontram-se próximo de zero, enquanto

que a amostra C* apresenta um valor de 100,4%, ou seja, o uso do correctivo orgânico C corrigido, teve um efeito ligeiramente melhor na germinação das sementes e no crescimento das radículas do que a turfa com pH corrigido.

Quando se diminui a quantidade de composto para 25%, com o agrião, os resultados melhoram alterando-se tornando as amostras A, B e C significativamente semelhantes entre si ($\alpha=0,05$) por serem as amostras com os menores índices de MLV (%). Os índices da amostra D aumenta apresentando um valor que o torna semelhante às amostras C e C*.

Para os ensaios com a couve chinesa com 50% de composto, em volume, mais uma vez as amostras A e B não diferem significativamente entre si ($\alpha=0,05$) por apresentarem valores tão baixos, destacando-se novamente a amostra C* que apresenta um valor quase de 100% sendo diferente de todas as outras amostras. Com a diminuição da quantidade de correctivos orgânicos, os índices de vitalidade de Munoo-Liisa (%) aumentam, de forma significativa, para as amostras A e B tornando os resultados praticamente semelhantes entre si ($\alpha=0,05$).~

Tirando conclusões a partir desta tabela poderia-se afirmar que a amostra C* não é fitotóxica, ou seja, o correctivo orgânico C não apresenta fitotoxicidade desde que o seu pH seja corrigido, isto devido aos altos valores que se obteve para os dois indicadores e para as duas misturas. Relativamente aos restantes compostos, é difícil afirmar se são fitotóxicos ou não, visto que os seus valores variam de indicador para indicador e de mistura para mistura, mas se as amostras apresentam índices de MLV (%) baixos na presença de 50% de composto, talvez não seja adequada a sua aplicação ao solo.

Ao comparar todos os resultados do método 3.1 do agrião e da couve chinesa para as diferentes misturas através da tabela 15, observa-se uma maior semelhança entre os resultados obtidos para a mistura 25:75 ($\alpha=0,05$).

Tabela 15 - Comparação do índice MLV, obtido através do método 3.1, das quatro amostras e para as misturas 50:50 e 25:75 dos dois indicadores

	Agrião					Couve chinesa				
	A	B	C	C*	D	A	B	C	C*	D
(50:50)	0,35 a*	0,00 a	47,92 b	100,4 c	4,41 a	1,55 a	4,13 a	51,36 b	98,86 c	38,01 b
(25:75)	20,05 ab	12,23 b	37,94 abc	87,77 d	62,61 cde	63,13 cde	72,37 de	47,36 ace	85,62 d	75,09 de

*As médias assinaladas com a mesma letra para a mesma mistura, não apresentam diferenças significativas entre si para $\alpha=0,05$

É possível observar que para as misturas 25:75, entre os dois indicadores, os resultados apresentam maiores semelhanças entre si, apesar de se destacar os menores valores na

utilização do agrião. Para as misturas 50:50, há uma maior distribuição dos resultados sendo que as amostras A e B são semelhantes entre si e entre os dois indicadores, pois apresentam valores extremamente baixos ($\alpha=0,05$) e as amostras C e C* também são semelhantes quando se utilizam os diferentes indicadores. Apenas a amostra D, difere significativamente entre sementes.

Isto significa que, na utilização de 50% de composto destaca-se mais facilmente as amostras de má, média e boa qualidade. entre si, enquanto que na utilização de 25%, as amostras de menor qualidade podem apresentar resultados enganosos que levam à sobrevalorização da sua qualidade.

4.4 M3.2 – Método 3.2 (EN 16086-2)

A realização dos ensaios anteriores, com as amostras sem correcção e com as misturas 50:50 e 25:75, foram experimentos para observar a resposta das duas sementes tanto quando em contacto directo com o composto como quando se utiliza as misturas utilizadas no ensaio de crescimento para o método descrito na norma europeia EN 16086-1 que também se realiza neste trabalho.

A norma EN 16086-2, como já foi referido anteriormente, indica que as amostras devem apresentar a CE inferior a $0,8 \text{ mS.cm}^{-1}$ e o pH deve estar, idealmente, entre 5,5 e 6,5. Dos ensaios anteriores, eram poucas as amostras que cumpriam estes valores, principalmente devido à elevada condutividade eléctrica dos compostos.

Com isto, efectuou-se o cálculo da quantidade de turfa 0 a adicionar aos compostos tendo como referência o valor da CE ($0,8 \text{ mS.cm}^{-1}$). Após a realização das misturas, observou-se que o pH era demasiado baixo, apresentando valores próximos de 3, o que levou a que se refizesse os cálculos utilizando turfa 24. As proporções utilizadas para cada mistura e os seus respectivos valores de pH e CE estão apresentados na tabela 16.

Como é possível observar a partir da tabela 16, todas as misturas cumprem o limite de CE e pH estabelecido na norma europeia, à excepção da amostra C, que apresenta um pH inferior a 5,5.

A amostra C apresenta um valor de pH baixo devido à proporção de amostra utilizada, pois como é possível observar, de todas as misturas, a C é a que tem uma maior quantidade de composto, mas ao contrário dos outros compostos, este é o que apresenta um pH menor e quando misturado com a turfa, a mistura tende a apresentar um pH ainda mais baixo. O mesmo aconteceu nas misturas 50:50 e 25:75.

Tabela 16 - Proporções das misturas de composto e turfa e os seus valores de pH e CE

Amostras	Proporção ($V_{amostra}/V_{turfa\ 24}$)	pH	CE ($\mu S.cm^{-1}$)
Turfa 24		5,1	270
A	10:90	6,5	637,3
B	5,5:94,5	5,2	558,7
C	64:36	3,8	714,3
D	12:88	5,6	679,7

Como já foi referido anteriormente, a germinação das sementes e o crescimento das suas radículas, é mais influenciado pela CE do que pelo pH e por isso não se efectuou mais nenhuma correcção e procedeu-se à realização do ensaio com estas misturas.

O gráfico 6 apresenta a média dos índices de vitalidade Munoo-Liisa (%) e a variação dos resultados obtidos para o método M 3.2 utilizando as proporções apresentadas na tabela 16 para os dois indicadores. Como testemunha foi utilizada apenas a turfa 24.

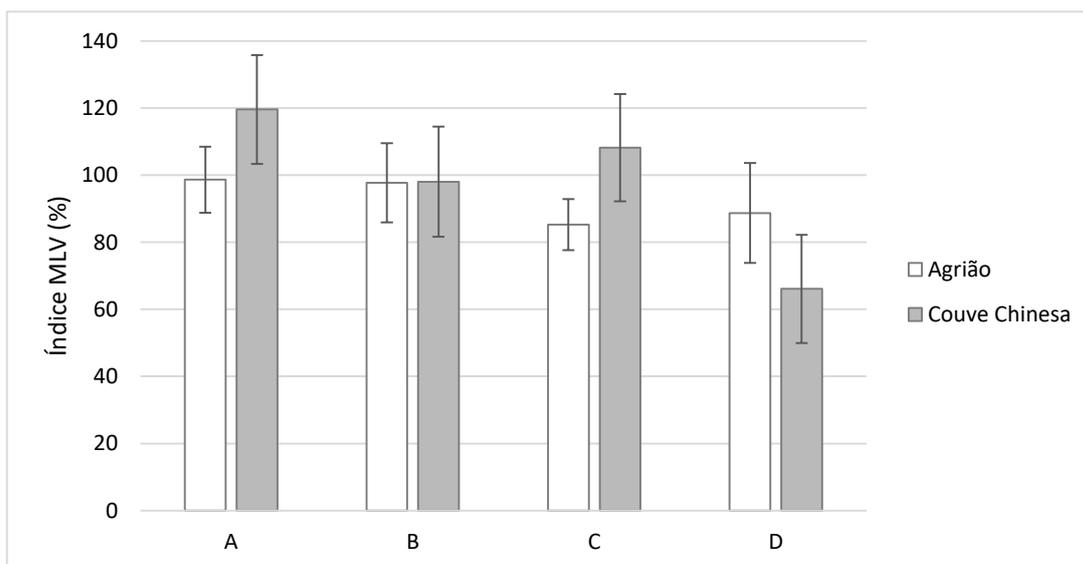


Figura 13 - Boxplot do método 3.2 para as quatro misturas na utilização dos dois indicadores

A partir do gráfico 6 é possível observar que os resultados obtidos apresentam valores superiores aos dos ensaios anteriores. Mais uma vez, os valores dos índices de vitalidade de Munoo-Liisa são superiores na utilização da couve chinesa à excepção da amostra D que diminui cerca de 22% de um indicador para o outro. As amostras A e C, apresentam um índice MVL (%) cerca de 21% e 23%, respectivamente, superior na utilização da couve chinesa comparativamente ao agrião.

Através da tabela 17, é possível perceber que os resultados obtidos para o ensaio do agrião, foram significativamente semelhantes entre todos os compostos ($\alpha=0,05$), apresentando índices de MVL superiores a 80%. Portanto de acordo com este método utilizando a semente *Lepidium sativum* L., todas as amostras são fitotxicamente semelhantes.

Para o ensaio com a couve chinesa, também é possível observar que todas as amostras apresentam resultados semelhantes entre si à exceção da mistura D que difere significativamente da mistura A ($\alpha=0,05$).

Tabela 17 - Comparação do índice % MLV, obtido através do método 3.2, das quatro amostras para os diferentes indicadores

	MLV (%)			
	A	B	C	D
Agrião	98,65 a*	97,69 a	85,23 a	88,71 a
Couve chinesa	119,56 a	98,03 ab	108,17 ab	66,08 b

*As médias assinaladas com a mesma letra para a mesma semente indicadora, não apresentam diferenças significativas entre si para $\alpha=0,05$

Através da tabela 18 é possível perceber que os resultados obtidos para as diferentes misturas entre os dois indicadores em estudo são todos idênticos entre si, apenas a mistura D difere das misturas A e C no ensaio com a couve chinesa ($\alpha=0,05$).

Esta tabela indica que a utilização de qualquer um dos indicadores, para este método, apresentará resultados semelhantes, visto que os índices de vitalidade de Munoo-Liisa (%) de cada amostra são similares para as duas sementes.

Tabela 18 - Comparação do índice % MLV, obtido através do método 3.2 dos dois indicadores

	Agrião				Couve chinesa			
	A	B	C	D	A	B	C	D
MLV (%)	98,65	97,69	85,23	88,71	119,56	98,03	108,17	66,08
	ab*	ab	ab	ab	a	ab	a	b

*As médias assinaladas com a mesma letra para o mesmo MLV (%), não apresentam diferenças significativas entre si para $\alpha=0,05$

Os índices MLV (%) obtidos foram bastante razoáveis para todas as misturas utilizando o método 3.2. e se fossem utilizados como referência para avaliação da fitotoxicidade seria seguro dizer que os compostos não são fitotóxicos.

No entanto, a semelhança destes elevados resultados muito provavelmente não descreve os níveis de fitotoxicidade reais, visto que a quantidade de amostra nas misturas é tão reduzida que deixa de ser significativa. A única amostra que pode ser considerada neste método é a C visto que a proporção de composto é superior à da turfa. Todas as outras apresentam proporções não significativas.

Talvez não seja o mais indicado corrigir a CE dos compostos para a realização deste ensaio, isto porque, um elevado teor de sais também é um factor que contribui para a fitotoxicidade dos correctivos orgânicos. Portanto, a sua correcção só iria demonstrar resultados enganosos visto que se está a diluir a “fitotoxicidade” do composto.

4.5M4 – Método 4 (CCME)

No gráfico 6 apresentam-se as médias dos índices de crescimento e a variação dos resultados obtidos para o método CCME de cada correctivo orgânico utilizando as duas espécies de sementes diferentes. Este índice consiste na comparação do peso fresco e do peso seco das plantas que cresceram numa mistura de solo artificial com o correctivo orgânico em causa.

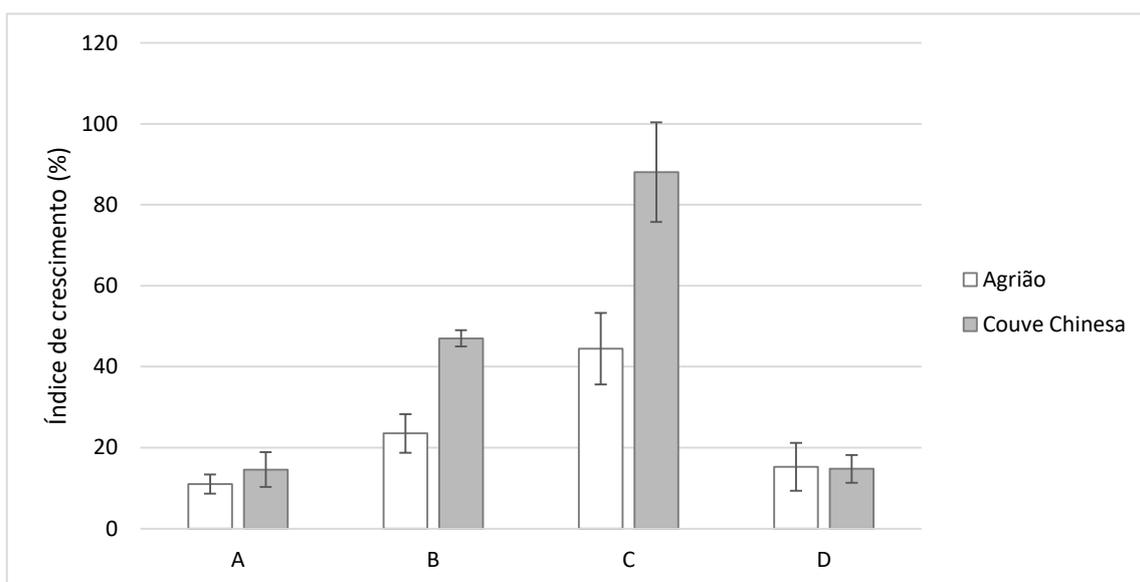


Figura 14 - Boxplot do método 4 para os diferentes compostos na utilização dos dois indicadores

Mais uma vez verifica-se que o índice de crescimento é superior quando se utilizou a couve chinesa, tal como aconteceu com ensaios de germinação anteriores, apenas a amostra D diminuiu ligeiramente, não sendo significativo.

Apesar de a amostra A ter apresentado um resultado menor com a utilização do agrião, esta diferença também não foi significativa, pois com o agrião obteve-se um IC (%) de 11% e com a couve chinesa obteve-se cerca de 15%. Não é uma diferença tão óbvia como aquela que ocorre com as amostras B e C, onde os seus valores particularmente duplicam na utilização

da *Brassica rapa chinensie* L.. Isto pode ser devido à maior sensibilidade do agrião, onde a presença de certas substâncias pode ser indiferente para o crescimento da couve chinesa mas não para o crescimento e desenvolvimento do agrião.

Para além das diferenças do IC (%) entre os dois indicadores, também é possível observar que a amplitude, ou seja, o desvio padrão para cada amostra, é superior no ensaio de crescimento do agrião.

A partir da tabela 19 é possível observar que, para o ensaio do agrião, os índices de crescimento dos compostos A e B são idênticos aos IC da amostra D ($\alpha=0,05$), destacando-se a amostra C por ser diferente dos restantes compostos.

Relativamente à couve chinesa, as amostras A e D são idênticas, apresentando um valor de 14%, e os resultados dos compostos B e C divergem significativamente de todos ($\alpha=0,05$).

Tabela 19 - Comparação do %IC, obtido através do método 4, das quatro amostras para os diferentes indicadores

	IC (%)			
	A	B	C	D
Agrião	11,02 a*	23,53 b	44,47 c	15,27 ab
Couve chinesa	14,59 a	47,00 b	88,06 c	14,77 a

*As médias assinaladas com a mesma letra para a mesma semente indicadora, não apresentam diferenças significativas entre si para $\alpha=0,05$

Observando a tabela 20, é possível perceber que apenas os resultados das amostras A e D foram semelhantes para os dois indicadores, enquanto que os índices de crescimento das amostras B e D variam significativamente de uma espécie de semente para outra ($\alpha=0,05$).

A amostra B, no ensaio com o agrião, apresenta um IC de 23,53%, que aumenta o dobro quando é utilizado a couve chinesa. O mesmo acontece para a amostra C que apresenta um resultado de 44,47% para o agrião, aumentando 43,59% na utilização da couve chinesa. Estas diferenças significativas reforçam a hipótese de espécie *Brassica rapa chinensie* L. ser mais tolerante a substâncias fitotóxicas do que a *Lepidium sativum* L..

Tabela 20 - Comparação da % IC, obtido através do método 4 dos dois indicadores

	Agrião				Couve chinesa			
	A	B	C	D	A	B	C	D
IC (%)	11,02 a*	23,53 a	44,47 b	15,27 a	14,59 a	47,00 b	88,06 c	14,77 a

*As médias assinaladas com a mesma letra para o mesmo IC (%), não apresentam diferenças significativas entre si para $\alpha=0,05$

Como dito anteriormente, o valor de referência para considerar um composto ausente de fitotoxicidade para este método é de 50% na utilização de *Lepidium sativum* L.. Portanto, de acordo com este valor, todos os compostos são considerados fitotóxicos. Se esta referência fosse igualmente utilizada para a *Brassica rappa chinensie* L., apenas o composto C não seria considerado fitotóxico.

4.6 M5 – Método 5 (EN 16086-1)

Para a realização do método proposto pela norma europeia EN 16086-1, utilizaram-se as misturas, já referidas anteriormente, com uma proporção de 50:50 e 25:75 em volume de amostra/turfa com as características apresentadas na tabela 9.

Segundo a norma europeia, os resultados deste método são apresentados como índice de inibição. Quanto maior for o valor, menor o crescimento da planta, ou seja, maior a inibição do crescimento da planta provocado pelo correctivo orgânico. Caso o valor seja negativo, significa que não ocorreu a inibição mas sim um incentivo do crescimento da planta, indicando que o composto aplicado melhorou o seu crescimento.

No gráfico 8 apresentam-se as médias dos índices de inibição e a variação dos resultados obtidos para o ensaio realizado através do método da norma europeia EN 16086-1 para as duas misturas (50:50 e 25:75) de cada correctivo orgânico utilizando o agrião. O ensaio em branco utilizado como testemunha foi a turfa 8, visto que foi a que obteve melhores resultados.

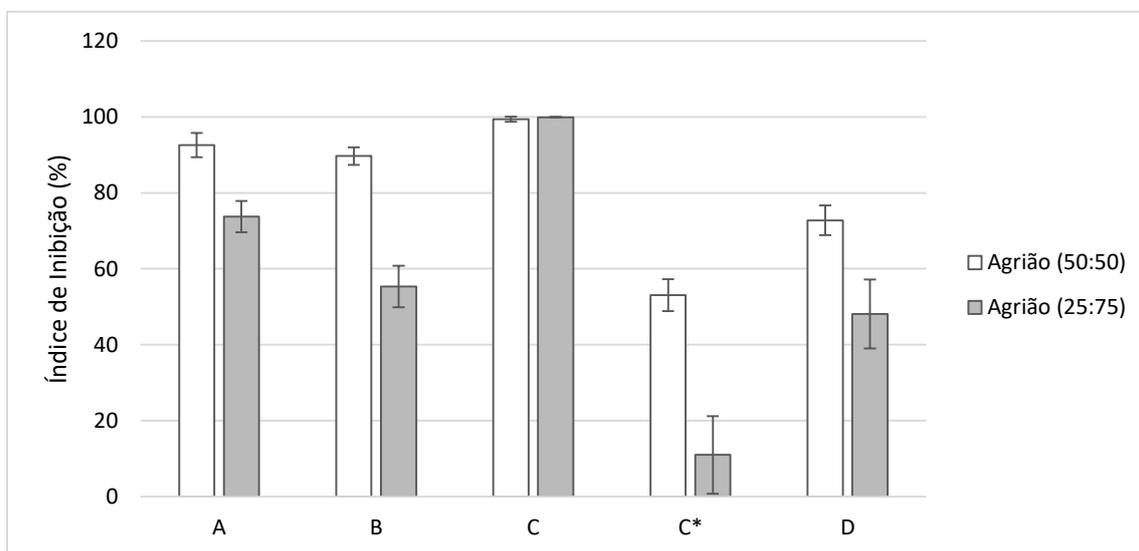


Figura 15 - Boxplot do método 5 para as misturas 25:75 e 50:50 na utilização do agrião

Como é possível observar não houve nenhum índice de inibição negativo, o que significa que as plantas que se encontravam na presença dos compostos não apresentaram um crescimento maior que o branco 8. O índice de inibição aumentou na utilização da mistura 50:50, à excepção da amostra C que não sofreu alterações significativas. Portanto, quando

as sementes se encontram num meio com uma maior quantidade de composto há uma maior inibição do seu crescimento.

No gráfico 9 apresentam-se as médias dos índices de inibição de crescimento e a variação dos resultados obtidos para o método da norma europeia EN 16086-1 para as misturas de cada correctivo orgânico utilizando a couve chinesa. O ensaio em branco utilizado como testemunha foi a turfa 16, visto que foi a que obteve melhores resultados.

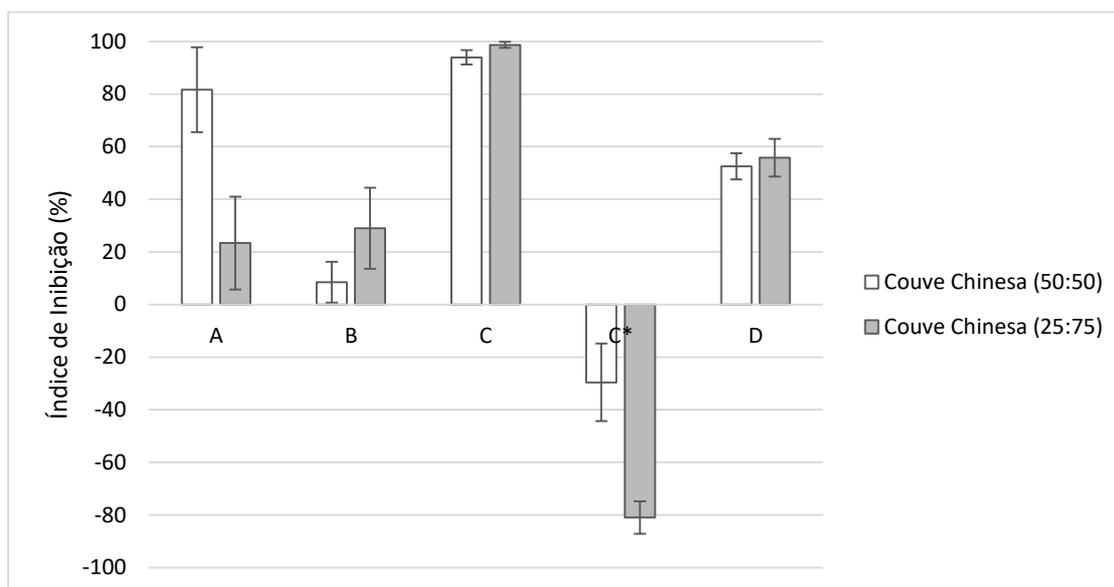


Figura 16 - Boxplot do método 5 para os diferentes misturas 25:75 e 50:50 na utilização da couve chinesa

Como é possível observar no gráfico 9, apenas uma amostra, para as duas misturas, não apresentou um índice de inibição positivo, ou seja, C* foi a única amostra que realmente melhorou o crescimento das plantas ao contrário das restantes que foram responsáveis pela sua inibição.

O índice de inibição aumentou para as amostras A e C* nas misturas com 50% de composto, o que indica que o aumento da quantidade destes composto diminui o crescimento das plantas. No entanto, é importante notar que apesar de o II ter diminuído para a amostra C* na mistura 50:50, ainda assim é a única que melhora o crescimento das plantas comparativamente às outras amostras.

Para as amostras C e D não ocorreram mudanças significativas, ocorrendo a mesma inibição do crescimento das plantas nas duas misturas. A amostra B foi a única que apresentou um menor índice de inibição com o aumento da quantidade de composto presente no meio.

Mais uma vez, ocorreu uma maior inibição na utilização das sementes de agrião, devido à possibilidade de a couve chinesa não ser tão sensível como o agrião às substâncias fitotóxicas, como já foi referido anteriormente.

Na tabela 21, estão apresentados os resultados dos índices de inibição das misturas 50:50 e 25:75 dos quatro compostos utilizando as sementes *Lepidium sativum* L. e *Brassica rapa chinensis* L..

Tabela 21 - Comparação da % II, obtido através do método 5 para as misturas 50:50 e 25:75 das quatro amostras utilizando os dois indicadores, em separado

	Índice de Inibição (%)				
	A	B	C	C*	D
Agrião (50:50)	92,57 ab*	89,70 b	99,38 a	53,04 c	72,77 d
Agrião (25:75)	73,77 a	55,32 b	99,91 c	11,00 d	48,08 b
Couve chinesa (50:50)	81,66 a	8,43 b	93,96 a	-29,60 c	52,54 d
Couve chinesa (25:75)	23,38 a	28,96 ab	98,69 c	-80,93 d	55,80 b

*As médias assinaladas com a mesma letra para a mesma semente indicadora, não apresentam diferenças significativas entre si para $\alpha=0,05$

Como é possível observar através da tabela 21, os resultados são maioritariamente distintos, para a mesma mistura e espécie de semente, à excepção de algumas amostras. Para o ensaio do agrião utilizando a mistura 50:50, a amostra A é a única que apresenta semelhanças significativas com as amostras B e C ($\alpha=0,05$), apresentando um II (%) de 92,6% o que indica que houve uma grande inibição do crescimento das plantas.

Relativamente à mistura 25:75, apenas as amostras B e D é que são idênticas, com um índice de inibição de 89,7% e 72,8%, respectivamente ($\alpha=0,05$). No entanto a amostra que apresenta a maior inibição é a C com um índice perto de 100%.

No ensaio da mistura 50:50 para a couve chinesa também apenas duas amostras são semelhantes entre si, a A e a C, ($\alpha=0,05$) devido aos seu elevados índices de inibição que as tornam, para este ensaio, as amostras que mais inibiram o crescimento das plantas. Destacase a amostra C* por ter sido a única que não inibiu o crescimento das plantas, pelo o contrário, incentivou o seu crescimento.

Para o ensaio das misturas 25:75 como a couve chinesa, os índices de inibição da amostra B são idênticos aos resultados das amostras A e D ($\alpha=0,05$). As amostras C e C* destacam-se por diferentes motivos, a primeira por ter sido a amostra onde se deu a maior inibição do crescimento das plantas e a segunda por ter sido a única que estimulou o crescimento das plantas.

Como é possível perceber, a causa das diferenças entre as amostras C e C* é apenas provocada pelo pH. Apesar de as plantas serem mais influenciadas por uma elevada CE do que um baixo pH, é notório que isto só acontece até um certo ponto, pois um pH cerca de 3,8 inibe o crescimento praticamente total das plantas enquanto que um pH de 5 já permite que o correctivo orgânico melhore o crescimento, apesar de ser inferior ao que é descrito no norma europeia EN-16086-1.

Ao comparar todos os resultados do método 5 do agrião e da couve chinesa para as diferentes misturas através da tabela 22, é possível observar diferenças significativas de certas amostras de um indicador para o outro.

Tabela 22 - Comparação da % II, obtido através do método 5 para as misturas 50:50 e 25:75 das quatro amostras entre os dois indicadores

	Agrião					Couve chinesa				
	A	B	C	C*	D	A	B	C	C*	D
(50:50)	92,57 ab	89,70 ab	99,38 a	53,04 c	72,77 bc	81,66 ab	8,43 d	93,96 ab	-29,60 e	52,54 c
(25:75)	73,77 ab	55,32 bc	99,91 a	11,00 d	48,08 bce	23,38 de	28,96 cde	98,69 a	-80,93 f	55,80 bc

*As médias assinaladas com a mesma letra para a mesma mistura, não apresentam diferenças significativas entre si para $\alpha=0,05$

Para a mistura 50:50, as amostras A, C e D apresentam resultados idênticos de um indicador para o outro ($\alpha=0,05$) mostrando que a espécie de semente não interferiu nos resultados para estas amostras. No entanto as amostras B e C* apresentam resultados bastante diferentes de um indicador para a outro, que são menores na utilização da couve chinesa.

Na mistura 25:75, apenas as amostras C e D apresentam semelhanças significativas de um indicador para o outro ($\alpha=0,05$). As restantes amostras exibem resultados distintos, destacando-se a amostra C* que nos ensaios com o agrião inibe o crescimento destas plantas e com a couve chinesa melhora o seu crescimento.

A amostra C demonstrou resultados semelhantes para as duas misturas e para os dois indicadores simplesmente porque as plantas que estavam em contacto com este composto pouco ou nada cresceram devido ao seu baixo pH. No entanto a amostra D mostrou, para ambas as misturas, que, qualquer que seja a espécie de semente, o índice de inibição obtido é semelhante.

Após a comparação de método a método, entre os dois indicadores, é necessário comparar os vários resultados obtidos, através dos diferentes métodos, para cada amostra de forma a averiguar se os valores são idênticos entre si.

Apenas se realizará uma comparação entre os ensaios de germinação, pois a forma de calcular os índices de germinação e de vitalidade de Munoo-Liisa, são bastante semelhantes e por isso comparáveis. O mesmo já não é possível realizar entre o índice de crescimento e o índice de inibição.

Amostra A

As médias dos resultados dos ensaios de germinação, utilizando os dois indicadores, para a amostra A estão representadas no gráfico 10. Os métodos apresentados são: Zucconi *et al.* (1981) (M1), Tiquia (1999) (M2) e o apresentado na norma EN-16086-2 com 100% (M3.1 (100)), 50% (M3.1 (50:50)) e 25% (M3.1 (25:75)) de composto e ainda utilizando as proporções ideais para cada amostra (M3.2).

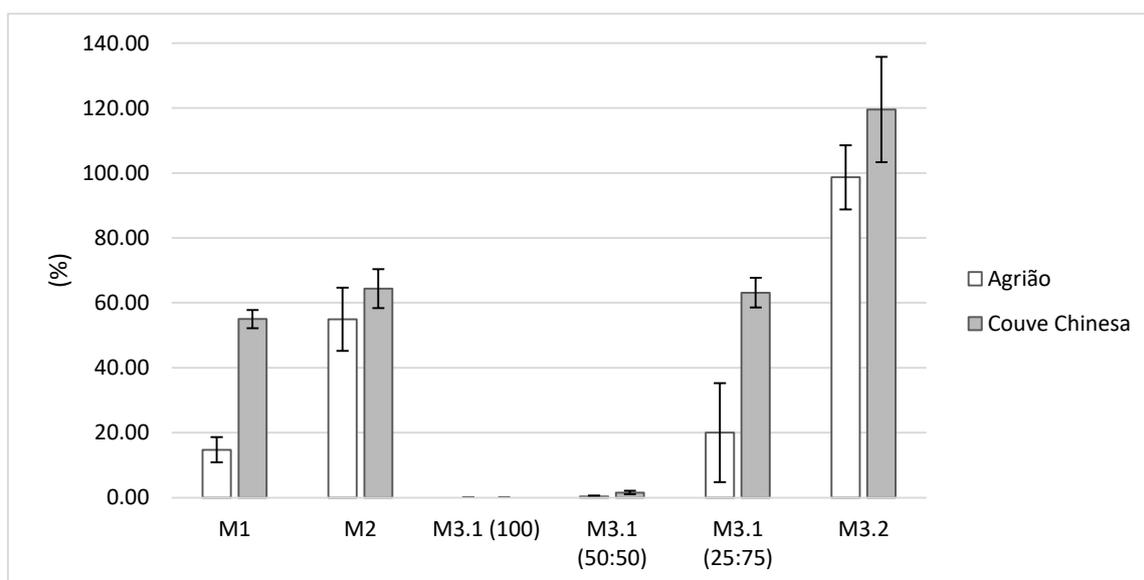


Figura 17 - Boxplot da amostra A para os diferentes métodos de germinação na utilização dos dois indicadores

É notório que os resultados de todos os métodos realizados são menores com a utilização do agrião do que com a couve chinesa. Apresenta-se uma maior diferença para os métodos M1, com um índice de germinação de 14,75% para o agrião e cerca de 55% para a couve chinesa e M3.2 (25:75) com um índice de 20,05% com o agrião e 63,13% para a couve chinesa. Estas diferenças são muito significativas deixando a dúvida se as sementes *Lepidium sativum* L. sobrevalorizam o nível de fitotoxicidade ou se é a semente da *Brassica rappa chinensie* L. que desvaloriza a fitotoxicidade dos compostos devido à sua maior resistência.

Tanto o método 3.1 (100) como 3.1 (50:50), apresentam resultados bastante baixos, próximos de zero, para ambas as duas sementes. Isto devido à alta condutividade elétrica do

composto A que, mesmo quando diluído com 50% de turfa, impede e/ou dificulta a germinação das sementes e o crescimento das suas radículas.

Para os dois indicadores, é possível observar que através do método M3.2, onde as sementes estiveram em contacto directo com uma mistura de 90% de turfa 24 e 10% de composto, obteve-se os melhores resultados. Devido à elevada quantidade de turfa, estes índices elevados eram esperados, pois a quantidade de composto na mistura provavelmente não é suficiente para uma adequada avaliação da sua fitotoxicidade.

Na tabela 23 estão apresentados os resultados dos ensaios de germinação dos dois indicadores para a amostra A. É possível observar que os índices dos métodos M1, M3.1 (100), M3.1 (50:50) e M3.1 (25:75) são idênticos entre si quando se utiliza o agrião ($\alpha=0,05$), apresentando valores que variam de 0% a 20%. Para o mesmo indicador, os resultados dos métodos M2 e M3.2 são completamente diferentes de todos os outros e entre si, pois têm um índice de 54,96% e 98,65%, respectivamente.

Relativamente aos ensaios da couve chinesa, observa-se uma grande semelhança entre os resultados dos métodos Zucconi *et al.* (1981), Tiquia (1999) e EN-16086 de mistura 25:75 com índices de 54,99%, 64,38% e 63,13% respectivamente ($\alpha=0,05$), o que significa que existe uma concordância entre estes três métodos sobre o nível de fitotoxicidade da amostra A. Destaca-se o método 3.2, mais uma vez, devido aos seus resultados altos que diferem significativamente de todos os outros ($\alpha=0,05$).

Tabela 23 - Comparação dos resultados obtidos para os vários ensaios de germinação da amostra A para os dois indicadores

	%					
	M1	M2	M3.1 (100)	M3.1 (50:50)	M3.1 (25:75)	M3.2
Agrião	14,75 a*	54,96 b	0,00 a	0,35 a	20,05 a	98,65 c
Couve chinesa	54,99 a	64,38 a	0,00 b	1,55 b	63,13 a	119,56 c

*As médias assinaladas com a mesma letra para a mesma semente indicadora, não apresentam diferenças significativas entre si para $\alpha=0,05$

De forma a perceber como os resultados variam entre os dois indicadores para os vários métodos, realizou-se a tabela 24, onde os resultados que se encontram nas mesmas colunas são significativamente semelhantes entre si ($\alpha=0,05$).

Tabela 24 - Verificação da semelhança entre os resultados dos ensaios de germinação da amostra A para as duas sementes

Indicador	Métodos	Índices (%)		
		a	b	c
Agrião	M1			14,75*
Couve chinesa			54,99	
Agrião	M2		54,96	
Couve chinesa			64,38	
Agrião	M3.1 (100)			0,00
Couve chinesa				0,00
Agrião	M3.1 (50:50)			0,35
Couve chinesa				1,55
Agrião	M3.1 (25:75)			20,05
Couve chinesa			63,13	
Agrião	M3.2	98,65		
Couve chinesa		119,56		

*As médias assinaladas nas mesmas colunas, não apresentam diferenças significativas entre si para $\alpha=0,05$

De acordo com a tabela 24 podemos destacar quatro métodos que apresentam resultados idênticos utilizando ambas as sementes. O método M2 apresenta resultados similares utilizando tanto o agrião como a couve chinesa, com uma diferença média de 10% entre os dois índices. Isto significa que, para esta amostra, este ensaio de germinação mostrou-se coerente independentemente da espécie de semente utilizada.

O mesmo se sucedeu para os métodos M3.1 100 e 50:50 que têm valores próximos de zero, tanto para o agrião como para a couve chinesa, e por isso, para esta amostra, estes dois ensaios mostraram que, independentemente da semente utilizada, a avaliação da fitotoxicidade é semelhante.

Para o método M3.2 obteve-se índices bastante elevados, 98,7% para o agrião e 119,6% para a couve chinesa, devido à reduzida quantidade de correctivo orgânico presente na mistura que deixa de ser significativa para a avaliação da fitotoxicidade da amostra, como já foi explicado anteriormente.

Já para os métodos M1 e M3.1 25:75, ocorreu uma grande diferença de uma semente para a outra, sendo os ensaios com o agrião aqueles com os menores índices. Verificaram-se

diferenças bastante significativas de 40% e 43 % para o método 1 e o método M3.1 25:75, respectivamente.

Através dos divergentes resultados apresentados na tabela 24, é difícil tirar uma conclusão sobre a fitotoxicidade desta amostra, por isso o ensaio M1 utilizando *Lepidium sativum* L., foi utilizado como referência, onde o correctivo orgânico não é fitotóxico quando o seu índice de germinação é superior a 60%.

De acordo com esta referência, esta amostra é considerada fitotóxica pois apresenta um índice de 14,75% para o respectivo método e indicador. Utilizando a mesma referência para a couve chinesa, a amostra continuaria a ser considerada fitotóxica mas por pouco. E se fosse ainda uma referência do método 2, os resultados do agrião eram considerados fitotóxicos mas com a couve chinesa não, no entanto os resultados entre os dois indicadores não diferiram significativamente ($\alpha=0,05$).

Estas observações levam à conclusão que as referências do método 1 não podem ser utilizadas para o método 2, apesar de serem realizadas de formas semelhantes, e muito menos para os restantes métodos que, apesar de apresentarem resultados semelhantes ao M1, são realizados de formas completamente diferentes.

Amostra B

As médias dos resultados dos ensaios de germinação, dos métodos M1, M2, M3.1 (100), M3.1 (50:50), M3.1 (25:75) e M3.2, utilizando os dois indicadores, para a amostra B estão representadas no gráfico 11. É notório, mais uma vez, que os métodos realizados com o agrião apresentaram índices menores dos que os na utilização da couve chinesa.

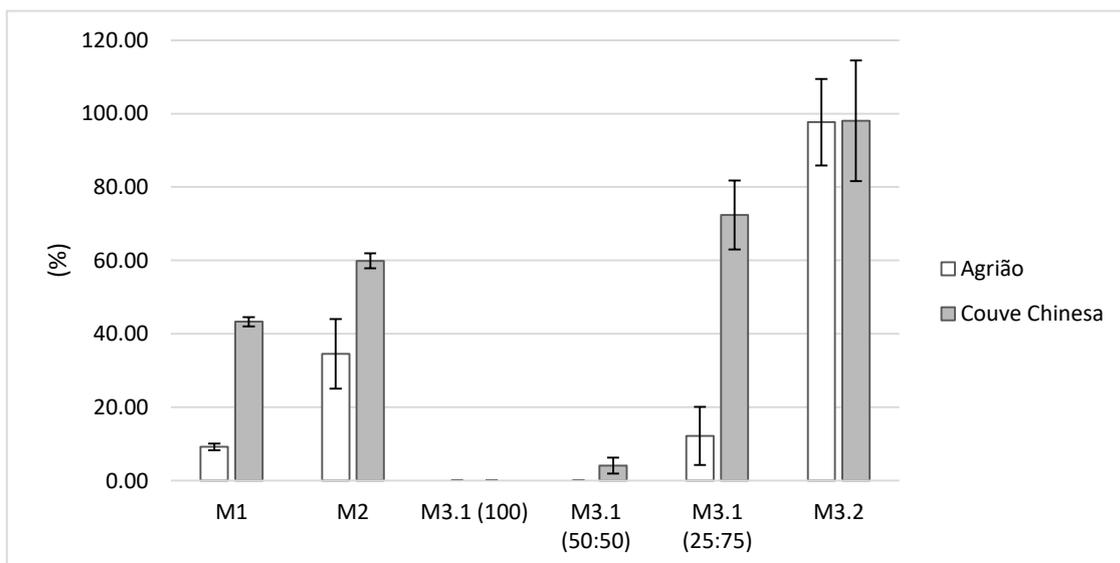


Figura 18 - Boxplot da amostra B para os diferentes métodos de germinação na utilização dos dois indicadores

Apresenta-se uma maior diferença para os métodos M1, que tem um índice de germinação de 9,20% para o agrião e cerca de 43% para a couve chinesa, e M3.1 (25:75) com um índice MLV (%) de 12,23% com o agrião e 72,37% para a couve chinesa.

O método M3.2 destaca-se novamente pelos valores bastantes elevados quando comparados aos dos restantes métodos. A proporção utilizada para esta amostra foi de 5,5% do composto B e 94,5% de turfa 24, sendo ainda menor do que para a amostra anterior. Mais uma vez, esta mistura não tem uma quantidade de amostra suficiente para que se realize um adequada avaliação da fitotoxicidade deste composto.

Na tabela 25 estão apresentados os resultados dos ensaios de germinação dos dois indicadores para a amostra B, onde se consegue observar, mais uma vez, resultados superiores para os ensaios que utilizam couve chinesa do que agrião.

É possível observar que os índices dos métodos M1, M3.1 (100), M3.1 (50:50) e M3.1 (25:75) são idênticos entre si quando se utiliza o agrião ($\alpha=0,05$), apresentando valores que variam de 0% a 12%. Para o mesmo indicador, os resultados dos métodos M2 e M3.2 são completamente diferentes de todos os outros e entre si, pois têm um índice de 34,56% e 97,69%, respectivamente.

Relativamente aos ensaios da couve chinesa, observa-se uma grande semelhança entre os resultados dos métodos EN-16086 100 e de mistura 50:50 com índices próximos de zero ($\alpha=0,05$). Para além disso o método M2 apresenta um valor idêntico aos obtidos para os métodos M1 e M3.1 25:75. Destaca-se o método 3.2, novamente, devido aos seus resultados altos, para ambas as sementes, que diferem significativamente de todos os outros ($\alpha=0,05$).

Tabela 25 - Comparação dos resultados obtidos para os vários ensaios de germinação da amostra B para diferentes indicadores

	%					
	M1	M2	M3.1 (100)	M3.1 (50:50)	M3.1 (25:75)	M3.2
Agrião	9,20 a*	34,56 b	0,00 a	0,00 a	12,23 a	97,69 c
Couve chinesa	43,30 a	59,88 ab	0,00 c	4,13 c	72,37 b	98,03 d

*As médias assinaladas com a mesma letra para a mesma semente indicadora, não apresentam diferenças significativas entre si para $\alpha=0,05$

De forma a perceber como os resultados variam entre os dois indicadores para os vários métodos, realizou-se a tabela 26, onde os resultados que se encontram nas mesmas colunas são significativamente semelhantes entre si ($\alpha=0,05$).

De acordo com a tabela 26 é possível observar que apenas três métodos apresentam resultados idênticos utilizando ambas as sementes. O método M3.1 100 e 50:50 apresentam resultados similares utilizando tanto o agrião como a couve chinesa, pois os índices variam de 0% a 4% devido à alta CE do composto que dificultou a germinação das sementes e o crescimento das radículas.

Para o método M3.2 obteve-se índices bastante elevados, 97,7% para o agrião e 98% para a couve chinesa, devido à reduzida quantidade de correctivo orgânico presente na mistura que deixa de ser significativa para a avaliação da fitotoxicidade da amostra, como já foi explicado anteriormente.

Já para os métodos M1, M2 e M3.1 25:75, ocorreu uma grande diferença de uma semente para a outra, sendo os ensaios com a couve chinesa aqueles com melhores índices. Verificaram-se diferenças bastante significativas de 34%, 25 % e 60% para o método 1, método 2 e o método M3.1 25:75, respectivamente.

Tabela 26 - Verificação da semelhança entre os resultados dos ensaios de germinação da amostra B para as duas sementes

Indicador	Métodos	Índices (%)				
		a	b	c	d	e
Agrião	M1					9,20*
Couve chinesa				43,30		
Agrião	M2				34,56	
Couve chinesa			59,88			
Agrião	M3.1 (100)					0,00
Couve chinesa						0,00
Agrião	M3.1 (50:50)					0,00
Couve chinesa						4,13
Agrião	M3.1 (25:75)					12,23
Couve chinesa				72,37		
Agrião	M3.2	97,69				
Couve chinesa		98,03				

*As médias assinaladas na mesma coluna, não apresentam diferenças significativas entre si para $\alpha=0,05$

Através dos divergentes resultados apresentados na tabela 26, é difícil tirar uma conclusão sobre a fitotoxicidade desta amostra, por isso o ensaio M1 utilizando *Lepidium sativum* L., foi utilizado como referência, onde o correctivo orgânico não é fitotóxico quando o seu índice de germinação é superior a 60%.

De acordo com esta referência, esta amostra é considerada fitotóxica devido ao seu índice de 9,2% para o respectivo método e indicador. Utilizando a mesma referência para a couve chinesa, a amostra continuaria a ser considerada fitotóxica, visto que apresenta um IG de 43%. Se ainda fosse utilizada para o método 2, seriam considerados também fitotóxicos para os dois indicadores apesar não apresentarem resultados semelhantes.

Para esta amostra obteve-se resultados menos coerentes e semelhantes entre si, apenas o M3.1 100 e 50:50 e o M3.2 foram semelhantes de uma semente para a outro, no entanto a credibilidade destes resultados é bastante duvidosa, os dois primeiros devido à elevada CE no meio, e o último devido à pouca quantidade de composto na mistura utilizada para o ensaio.

O problema actual consiste em optar por um método que seja correcto e exacto. A partir destes variados resultados torna-se difícil escolher o método ou até o indicador que melhor se adequa ao composto em utilização.

Amostra C

As médias dos resultados dos ensaios de germinação, utilizando os dois indicadores, para a amostra C estão representadas no gráfico 12. Também está no gráfico a amostra C* que foi utilizada nos métodos 3.1 50:50 e 5:75 devido ao baixo pH do composto C que teve de ser corrigido para estes ensaios, através de uma calagem.

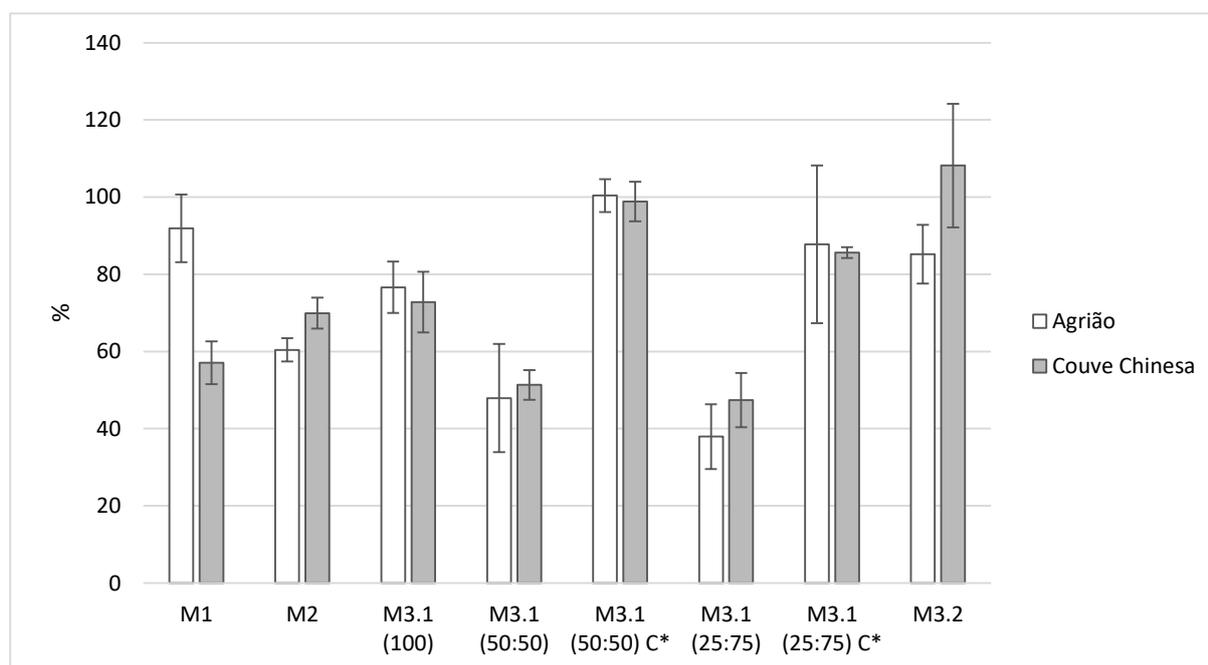


Gráfico 1 - Boxplot da amostra C para os diferentes métodos de germinação na utilização dos dois indicadores

Diferentemente das amostra anteriores, nem todos os resultados destes métodos são maiores na utilização da couve chinesa, como é o caso do método M1, M3.1 (100), M3.1 (50:50) para C* e M3.1 (25:75) para C*. Também não há uma grande variação dos resultados

entre os indicadores, o que mais difere é no método M1 que possui um IG (%) de 91,9% para o agrião e 57,1% para a couve chinesa.

Como é possível observar, a amostra C foi a única que obteve resultados diferentes de zero para o método EN-16086-2 onde se utilizou a amostra em contacto directo com as sementes sem qualquer correcção. Estes resultados também são semelhantes para os dois indicadores e ambos superiores a 70%.

A amostra C*, como já foi referido, equivale à amostra C mas com o seu pH corrigido. Foi utilizada para os métodos M3.1 (50:50) e (25:75), onde realmente se observa um aumento dos índices de vitalidade Munoo-Liisa. O que significa que um pH de 3,7 dificulta a germinação das sementes e o crescimento das suas radículas.

Na tabela 27 estão apresentados os resultados dos ensaios de germinação dos dois indicadores para a amostra C. É possível observar bastantes semelhanças entre os resultados para ambas as sementes.

Tabela 27 - Comparação dos resultados obtidos para os vários ensaios de germinação da amostra C para os dois indicadores

	%							
	M1	M2	M3.1 (100)	M3.1 (50:50)	M3.1 (50:50) C*	M3.1 (25:75)	M3.1 (25:75) C*	M3.2
Agrião	91,9 a*	60,4 bcd	76,6 abc	47,9 cd	100,4 a	37,9 d	87,8 ab	85,2 ab
Couve chinesa	57,1 abc	69,9 bcd	72,8 cd	51,4 ab	98,9 ef	47,4 a	85,6 de	108,2 f

*As médias assinaladas com a mesma letra para a mesma semente indicadora, não apresentam diferenças significativas entre si para $\alpha=0,05$

Nos ensaios com o agrião, os métodos M2 e M3.1 (100) são os que apresentam mais semelhanças com todos os outros resultados ($\alpha=0,05$) por terem um valor “intermédio” de todos os resultados. Os métodos M3.1 (50:50) e (25:75) são os que apresentam os menores índices, devido ao valor baixo de pH do meio, com valores de 47,9% e 37,9, respectivamente. Os maiores valores obtidos foram de 85,2%, 87,8% e 91,9% que correspondem aos métodos M3.2, M3.1 (257:0) para a amostra C* e M1.

Para os ensaios com a couve chinesa, os resultados do método 1 deixam de ser dos melhores e diminuem para 57% onde apresenta bastantes semelhanças com outros resultados, tornando-se num valor “intermédio”. Destacam-se os métodos M3.1 (50:50) da

amostra C* e o M3.2 devido aos seus elevados índices com valores de 98,9% e 108,2%, respectivamente.

Para esta amostra, o método 3.2 utilizou uma mistura com proporção de 64% de correctivo orgânico e 36% de turfa 24, obtendo resultados satisfatórios que avaliam de forma adequada a fitotoxicidade do composto em causa, pois já foi utilizada uma quantidade representativa de amostra.

De forma a perceber como os resultados variam entre os dois indicadores para os vários métodos, realizou-se a tabela 24, onde os resultados que se encontram nas mesmas colunas são significativamente semelhantes entre si ($\alpha=0,05$).

Tabela 28 - Verificação da semelhança entre os resultados dos ensaios de germinação da amostra A para as duas sementes

Indicador	Métodos	Índices (%)						
		a	b	c	d	e	f	g
Agrião	M1	91,9*						
Couve chinesa						57,1		
Agrião	M2				60,4			
Couve chinesa				69,9				
Agrião	M3.1		76,6					
Couve chinesa	(100)		72,8					
Agrião	M3.1						47,9	
Couve chinesa	(50:50)					51,4		
Agrião	C* M3.1	100,4						
Couve chinesa	(50:50)	98,9						
Agrião	M3.1						37,9	
Couve chinesa	(25:75)					47,4		
Agrião	C* M3.1	87,8						
Couve chinesa	(25:75)	85,6						
Agrião	M3.2	85,2						
Couve chinesa		108,2						

*As médias assinaladas na mesma coluna, não apresentam diferenças significativas entre si para $\alpha=0,05$

De acordo com a tabela 28, apenas o método de Zucconi *et al.* (1981) não apresenta semelhanças entre os resultados obtidos para os dois indicadores, apresentando índices bastante diferentes com 91,9% para o agrião e 57,1% para a couve chinesa.

Todos os outros métodos apresentam resultados significativamente semelhantes entre os dois indicadores, o que significa que, independentemente da semente utilizada, a avaliação da fitotoxicidade será semelhante, para cada método, pois entre os vários métodos ainda se observa vários valores de índices, sendo o mais alto 108% e o mais baixo 37,9%.

Através dos divergentes resultados apresentados na tabela 28, é difícil tirar uma conclusão sobre a fitotoxicidade desta amostra, por isso o ensaio M1 utilizando *Lepidium sativum* L., foi utilizado como referência, onde o correctivo orgânico não é fitotóxico quando o seu índice de germinação é superior a 60%.

De acordo com esta referência, esta amostra não é fitotóxica pois apresenta um índice de 91,9% para o respectivo método e indicador. Utilizando a mesma referência para a couve chinesa, a amostra seria pois apresenta um IG de 57,1%. E se fosse ainda uma referência do método 2, os resultados de ambos os indicadores não eram fitotóxicos. Portanto, talvez seja seguro afirmar que esta amostra não é fitotóxica, pois os resultados mais baixos foram obtidos no método EN-16086-2 onde a mistura com a turfa reduzia demasiado o pH afectando a germinação das sementes e o crescimento das suas radículas.

Amostra D

As médias dos resultados dos ensaios de germinação, utilizando os dois indicadores, para a amostra A estão representadas no gráfico 13. Os métodos apresentados são: Zucconi *et al.* (1981) (M1), Tiquia (1999) (M2) e o apresentado na norma EN-16086-2 com 100% (M3.1 (100)), 50% (M3.1 (50:50)) e 25% (M3.1 (25:75)) de composto e ainda utilizando as proporções ideais para cada amostra (M3.2).

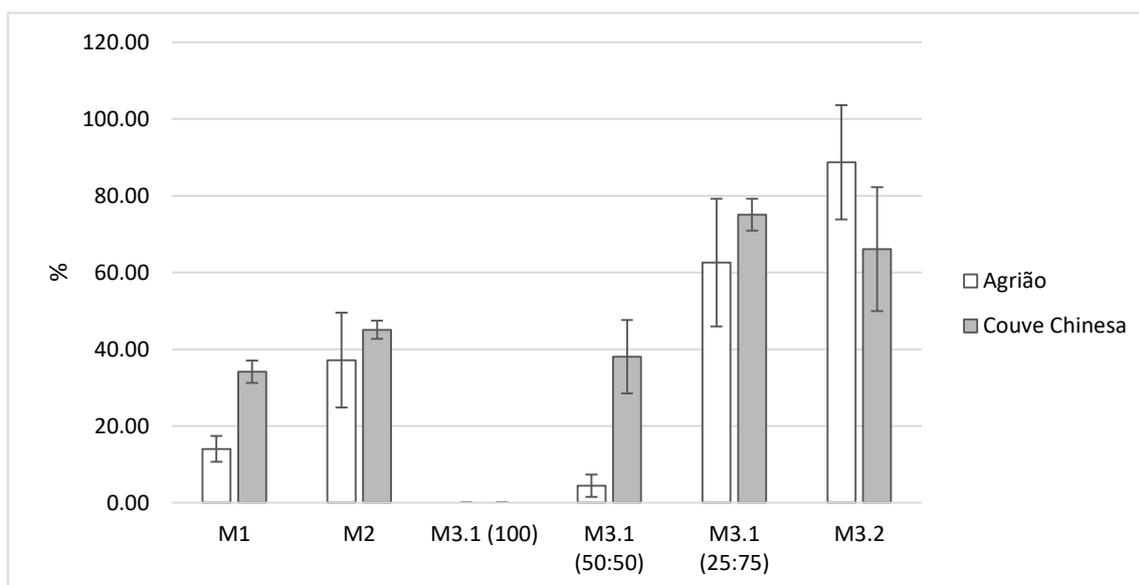


Figura 19 - Boxplot da amostra D para os diferentes métodos de germinação na utilização dos dois indicadores

Observa-se resultados superiores para os ensaios que utilizaram a couve chinesa à excepção do método 3.2 que apresenta um índice MLV médio de 88,71% para o ensaio com o agrião e 66,08% para a couve chinesa.

Apresenta-se uma maior diferença para os métodos M1, com um índice de germinação de 14,02% para o agrião e cerca de 34% para a couve chinesa e M3.1 (50:50) com um índice de 4,41% com o agrião e 38,01% para a couve chinesa. Estas diferenças são muito significativas deixando a dúvida se as sementes *Lepidium sativum* L. sobrevalorizam o nível de fitotoxicidade ou se é a semente da *Brassica rappa chinensie* L. que desvaloriza a fitotoxicidade dos compostos devido à sua maior resistência.

Os resultados do método 3.1 (100) são bastante baixos, 0%, para ambas as sementes, devido à alta condutividade elétrica do composto D que, quando em contacto directo com as sementes, impediu a sua germinação e o crescimento das suas radículas.

O método M3.2, onde as sementes estiveram em contacto directo com uma mistura de 88% de turfa 24 e 12% de composto, obteve-se o índice mais elevado no ensaio com o agrião. Para a couve chinesa, este valor diminui, em média, 22%, apresentando um índice de 66,08%.

Na tabela 29 estão apresentados os resultados dos ensaios de germinação dos dois indicadores para a amostra A. É possível observar que os índices dos métodos M1, M3.1 (100) e M3.1 (50:50) são idênticos entre si quando se utiliza o agrião ($\alpha=0,05$), devido aos baixos resultados, apresentando valores que variam de 0% a 14%. Para o mesmo indicador, ainda se destaca o índice mais elevado que foi obtido através do método M3.2 com um valor de 88,71% que apresenta semelhanças com os resultados do ensaio efectuada através do método M3.1 (25:75).

Tabela 29 - Comparação dos resultados obtidos para os vários ensaios de germinação da amostra D para os dois indicadores

	%					
	M1	M2	M3.1 (100)	M3.1 (50:50)	M3.1 (25:75)	M3.2
Agrião	14,02 ab*	37,17 bc	0,00 a	4,41 a	62,61 cd	88,71 d
Couve chinesa	34,13 a	45,08 ab	0,00 c	38,01 a	75,09 d	66,08 db

*As médias assinaladas com a mesma letra para a mesma semente indicadora, não apresentam diferenças significativas entre si para $\alpha=0,05$

Relativamente aos ensaios da couve chinesa, observa-se uma grande semelhança entre os resultados dos métodos Zucconi *et al.* (1981), Tiquia (1999) e EN-16086 de mistura 50:50 com índices de 34,13%, 45,08% e 38,01% respectivamente ($\alpha=0,05$), o que significa que existe uma concordância entre estes três métodos sobre o nível de fitotoxicidade da amostra D.

Para esta amostra, utilizando a couve chinesa, o índice mais elevado foi obtido através do método M3.1 (25:75), com um valor de 75,09% que é semelhante ao valor obtido através do método 3.2, de 66,08% ($\alpha=0,05$).

De forma a perceber como os resultados variam entre os dois indicadores para os vários métodos, realizou-se a tabela 30, onde os resultados que se encontram nas mesmas colunas são significativamente semelhantes entre si ($\alpha=0,05$).

De acordo com a tabela 30 é possível perceber que apenas os ensaios efectuados através do método M3.1 (50:50) não obtiveram resultados semelhantes entre as duas sementes apresentando uma diferença média de 34% .

Os métodos M1, M2, M3.1 (100), M3.1 (25:75) e M3.2 apresentam resultados similares utilizando tanto o agrião como a couve chinesa, com uma diferença média cerca de 10%, 8%, 12% e 22%, respectivamente, entre os dois índices. Isto significa que, para esta amostra, estes ensaios de germinação mostraram-se coerentes, levando a uma avaliação semelhante da fitotoxicidade, independentemente da espécie de semente utilizada.

Através dos diferentes resultados apresentados na tabela 30, é difícil tirar uma conclusão sobre a fitotoxicidade desta amostra, por isso o ensaio M1 utilizando *Lepidium sativum* L., foi utilizado como referência, onde o correctivo orgânico não é fitotóxico quando o seu índice de germinação é superior a 60%.

De acordo com esta referência, esta amostra é considerada fitotóxica pois apresenta um índice de 14,02% para o respectivo método e indicador. Utilizando a mesma referência para a couve chinesa, a amostra continuaria a ser considerada fitotóxica por apresentar um índice de germinação de 34%. E se fosse ainda uma referência do método 2, a amostra também era considerada fitotóxica ($\alpha=0,05$).

Tabela 30 - Verificação da semelhança entre os resultados dos ensaios de germinação da amostra D para as duas sementes

Indicador	Métodos	Índices (%)					
		a	b	c	d	e	f
Agrião	M1					14,02*	
Couve chinesa					34,13		
Agrião	M2			37,17			
Couve chinesa			45,08				
Agrião	M3.1 (100)						0,00
Couve chinesa							0,00
Agrião	M3.1 (50:50)						4,41
Couve chinesa				38,01			
Agrião	M3.1 (25:75)	62,61					
Couve chinesa		75,09					
Agrião	M3.2	88,71					
Couve chinesa		66,08					

*As médias assinaladas na mesma coluna, não apresentam diferenças significativas entre si para $\alpha=0,05$

Para todas as amostras, verificou-se que os métodos 3.1 (100) e 3.2 apresentaram sempre resultados semelhantes entre os dois indicadores, o que era esperado, visto que para o método M3.1 (100), os índices de vitalidade de Munoo-Liisa foram praticamente todos de 0%, à excepção da amostra C, devido à elevada CE dos compostos e o método M 3.2 não foi representativo para maior parte das amostras, pois criou-se um “meio perfeito” que não avaliou a fitotoxicidade provocada pela CE, à excepção, mais uma vez da amostra C.

As correções necessárias de efectuar para se realizar o método EN-16086-2 talvez não sejam as mais adequadas. Ao efectuar-se este ensaio com o composto sem correcção, aqueles que apresentam uma elevada CE não apresentaram resultados mas se forem realizadas as correcções, os resultados não serão credíveis devido à pouca quantidade de amostra presente nas misturas que não é representativa. No entanto, este método resultou para a amostra C, ou seja, a única que se pode afirmar, a partir dos vários métodos, que não é fitotóxica e que apresenta valores de pH e CE ideais de acordo a norma europeia. Isto significa, que este método apenas apresenta resultados aceitáveis para correctivos orgânicos que, sem correcção, cumprem esses valores de pH e CE.

Os métodos M1 e M2, que são bastante semelhantes, verificou-se que o método 2 apenas não apresentou resultados semelhantes entre as duas espécies indicadoras para uma amostra, ao contrário do método 1 que só apresentou resultados idênticos entre os dois indicadores para uma amostra. Para além disso, comparando estes dois métodos, utilizando o agrião, os índices de germinação foram diferentes para três das quatro amostras totais, enquanto que, para a couve chinesa, estes métodos apresentaram sempre resultados semelhantes.

Portanto isto indica que, a couve chinesa, apresenta resultados mais homogêneos, independentemente de qual destes dois métodos de soluções extractivas se utiliza. Poderá estar relacionado com a sua maior resistência a certas substâncias comparativamente ao agrião.

5. Conclusão

O principal objectivo deste trabalho focou-se na avaliação da fitotoxicidade de quatro correctivos orgânicos produzidos a partir de matérias-primas diferentes através de cinco métodos diferentes que avaliam o índice de germinação, o índice de vitalidade Munoo-Liisa, o índice de crescimento e o índice de inibição utilizando o agrião (*Lepidium sativum* L.) e a couve chinesa (*Brassica rapa chinensie* L.) como indicadores. Neste âmbito foram avaliados os referidos correctivos através do método de Zucconi *et al.* (1981), Tiquia (1999), EN 16086-1 (utilizando várias misturas), CCME e EN 16086-2.

Em geral, os resultados apresentados foram superiores na utilização da couve chinesa, deixando claro que esta espécie é mais tolerante à presença de substâncias com efeito fitotóxico do que o agrião. No entanto, as diferenças entre estes dois indicadores são tão significativas que despertam a dúvida se as sementes do agrião sobrevalorizam o nível de fitotoxicidade, ou se é a semente da couve chinesa que desvaloriza a fitotoxicidade dos compostos devido à sua maior tolerância.

Comparando os resultados dos ensaios de germinação, é possível que os resultados dos métodos M1 e M2 utilizando a espécie indicadora couve chinesa e os dos métodos M1 e M3.1 (100) utilizando o agrião apresentam valores significativamente semelhantes ($\alpha=0,05$) entre si para todas as amostras. Ambos os métodos M1 e M2 são realizados através de extratos aquosos, portanto a semelhança entre os seus resultados era esperada, apesar de só ter ocorrido para os ensaios com a espécie indicadora *Brassica rapa chinensie* L.. Já os métodos M1 e M3.1 (100) são efectuados de forma completamente diferentes, visto que no segundo as amostras estão em contacto directo com as sementes.

É, interessante observar que uma das poucas vezes em que o agrião apresentou resultados superiores aos da couve chinesa foi para a amostra C no método 1, com 91,9 %, destacando-se significativamente de todos os outros compostos. No ensaio realizado com este mesmo método mas utilizando a couve chinesa como indicador, a amostra C apresenta resultados semelhantes aos outros compostos. Aliás, para a couve chinesa, ambos os ensaios que se baseiam em extratos aquosos, os resultados são muito próximos entre as diferentes amostras. Isto pode indicar que a semente *Brassica rapa chinensie* L. perde a sua capacidade de avaliar adequadamente a fitotoxicidade de um composto através de extratos aquosos.

Por outro lado, os ensaios dos métodos M1, utilizando o agrião, e M3.1 (100), apenas mostraram bons resultados para a amostra C, a única em que é seguro dizer que não é fitotóxica, enquanto todos os outros compostos apresentam valores muito semelhantes entre si. Isto significa que os ensaios realizados através destes métodos, irão destacar apenas um composto não fitotóxico e de boa qualidade enquanto que compostos de qualidade “média”, que até poderão não ser fitotóxicos, serão classificados como fitotóxicos.

Relativamente ao método M3, é possível perceber que é indicado apenas para os correctivos orgânicos que apresentam uma condutividade elétrica próxima de $0,8 \text{ mS}\cdot\text{cm}^{-1}$, caso contrário, se os correctivos apresentarem uma CE elevada, será necessário proceder à sua correcção através da adição de turfa que irá diluir as substâncias com efeito fitotóxico presentes nas amostras até ao ponto de a sua avaliação deixar de ser representativa, visto que o excesso de sais (que equivale a uma CE elevada) também é um factor de fitotoxicidade. Para complementar este método, seria interessante realizar estudos de forma a perceber qual é a proporção de composto/turfa mínima para considerar a mistura representativa.

No ensaio de crescimento no método M4, é possível observar, mais uma vez, índices de crescimento superiores na utilização da couve chinesa, onde se destaca a amostra C com o melhor resultado e as amostras A e D, com os piores. Na utilização do agrião, os resultados diminuem em metade para as amostras B e C. O mesmo acontece para o método M5, onde os índices de inibição são menores utilizando a couve chinesa.

De acordo com a norma europeia EN-16086-1, o ensaio deve ser obrigatoriamente realizado com a mistura 50:50, podendo ser realizadas outras misturas para complementar o estudo, como foi o caso. Ao efectuar as duas misturas foi possível perceber qual das amostras apresenta melhores resultados com o aumento da sua quantidade como é o caso da amostras C* para ambos os indicadores.

Para trabalho futuro será interessante definir quais os valores para os diferentes índices e indicadores que constituirão os valor limite para a ausência de fitotoxicidade.

6. Refrências bibliográficas

Albuquerque, J. A., González, J., Tortosa, G., Baddi, G. A., Cegarra, J. (2009). *Evaluation of “alperujo” composting based on organic matter degradation, humification and compost quality*. Biodegradation, 20(2), 257–270.

Alvarenga, P., Mourinha, C., Farto, M., Santos, T., Palma, P., Sengo, J., Cunha-Queda, C. (2015). *Sewage sludge, compost and other representative organic wastes as agricultural soil amendments: Benefits versus limiting factors*. Waste Management, 40(276), 44–52.

Ashrafi, R., Rahman, M. M., Jahiruddin, M., Mian, M. H. (2014). *Quality assessment of compost prepared from spent mushroom substrate*. Progressive Agriculture, 1–8.

Aslam, D. N., Horwath, W., VanderGheynst, J. S. (2008). *Comparison of several maturity indicators for estimating phytotoxicity in compost-amended soil*. Waste Management, 28(11), 2070–2076.

Ataíde, L. M. S., Lopes, S. R., Rosa, C. S., Simões, D. A., Tavares, K. G. (2011). *Avaliação da fitotoxicidade de compostos orgânicos a partir de ensaios biológicos envolvendo sementes de tomate*. Scientia Plena, 7(8), 1–12.

Batista, J.G.F., Batista, E.R.B. (2007) *Compostagem – Utilização em horticultura*. Universidade dos Açores, Angra do Heroísmo, Açores, 252 pp.

Beckett, P.H.T., Davis, R.D. (1977). *Upper critical levels of toxic elements in plants*. New Phytol., 79: 95-106 (cit. por Cunha Queda, 1999).

Belo, S. (2011). *Avaliação de fitotoxicidade através de *Lepidium sativum* no âmbito de processos de compostagem*. Dissertação de Mestrado em Engenharia do Ambiente na Especialidade de Tecnologia e Gestão do Ambiente, Faculdade de Ciências e Tecnologia – Universidade de Coimbra, Coimbra

Brito, L. M. (2007). *Fertilidade do solo, compostagem e fertilização*. Manual de Horticultura No Modo de Produção Biológico, 53–86.

CCME (Canadian Council of the Ministers of the Environment) (1996). *Guidelines for compost Quality*. Minister of Public Works and Government Services of Canada, Cat. N° EN108-3/1-106E

Cheung, Y.H., Wong, M.H., Tam, N.F.Y. (1989) *Root and shoot elongation as an assessment of heavy metal toxicity and Zn equivalent value of edible crops*. *Hydrobiologia* 188:377–383 (cit. por Suthar e Singh, 2011)

Comunidades Europeias (2009). *Perda de matéria orgânica*. In *Agricultura sustentável e conservação dos solos*.

Cordeiro, N. M. (2010). *Compostagem de resíduos verdes e avaliação da qualidade dos compostos obtidos – caso de estudo da Algar S.A.* Dissertação de Mestrado em Engenharia do Ambiente – Tecnologias Ambientais, Instituto Superior de Agronomia , UTL, Lisboa

Cunha Queda, A.C.F. (1999). *Dinâmica do azoto durante a compostagem de materiais biológicos putrescíveis*. Dissertação de doutoramento em Engenharia Agro-Industrial, ISA, UTL, Lisboa.

D’Hose, T., Cougnon, M., De Vlieghe, A., Vandecasteele, B., Viaene, N., Cornelis, W., Reheul, D. (2014). *The positive relationship between soil quality and crop production: A case study on the effect of farm compost application*. *Applied Soil Ecology*, 75, 189–198.

Davis, R.D., Beckett, P.H.T., Wollan, E. (1977). *Critical levels of twenty potentially toxic elements in young spring barley*. *Plant Soil*, 49: 395-408 (cit. por Cunha Queda, 1999).

Decreto-Lei n.º 103/2015 de 15 de Junho. *Diário da República*, N.º 114/2015- 1ª série, Ministério da Economia.

Decreto-Lei n.º 183/2009 de 10 de Agosto. *Diário da República*, N.º 153/2009- 1ª série, Ministério do Ambiente, do Ordenamento do Território e do Desenvolvimento Regional.

Decreto-Lei n.º 73/2011 de 17 de Junho. *Diário da República*, N.º 116/2011- 1ª série, Ministério do Ambiente e do Ordenamento do Território.

Donn, S., Wheatley, R. E., McKenzie, B. M., Loades, K. W., Hallett, P. D. (2014). *Improved soil fertility from compost amendment increases root growth and reinforcement of surface soil on slopes*. *Ecological Engineering*, 71, 458–465.

Filho, E. L. B., Machado, E. C., (2013). *Avaliação microbiana do solo e dos aspectos morfológicos de hortaliças após a adição de adubos orgânicos em hortas*. *Scientia*, 8–15.

Gonçalves, M.S. (2005). *Gestão de resíduos orgânicos*. Sociedade Portuguesa de Inovação, Porto.

Grigatti, M., Cavani, L., Ciavatta, C. (2011). *The evaluation of stability during the composting of different starting materials: Comparison of chemical and biological parameters*. Chemosphere, 83(1), 41–48.

Jakubus, M. (2012). *Phytotoxicity and speciation of copper and nickel in composted sewage sludge*. Journal of Elementology, (1/2012), 43–56.

Jiang, T., Schuchardt, F., Li, G., Guo, R., Zhao, Y. (2011). *Effect of C/N ratio, aeration rate and moisture content on ammonia and greenhouse gas emission during the composting*. Journal of Environmental Sciences, 23(10), 1754–1760.

Jodice, R. (1989). *Parametri chimici e biologici per la valutazione della qualità del compost*. In: Proceedings of the Compost Production and Use – International Symposium. S. Michelle all'Adige, 10-23 June: 363-384

Kapustka, L. A. (1997) *Selection of phytotoxicity tests for use in ecological risk assessments*. (cit. por Suthar e Singh, 2011)

Martínez-Blanco, J., Lazcano, C., Christensen, T. H., Muñoz, P., Rieradevall, J., Møller, J., Boldrin, A. (2013). *Compost benefits for agriculture evaluated by life cycle assessment. A review*. Agronomy for Sustainable Development, 33(4), 721–732.

Mourão, I. M. (2007). *Manual de horticultura no modo de produção biológica*. Escola Superior Agrária de Ponte de Lima – IPVC. Ponte de Lima

Mustin, M. (1987). *Le compost Gestion de la matière organique*. Édition François Dubusc, 954 pp (cit. por Cunha Queda, 1999).

Oliveira, C. R. (2011). *Avaliação da qualidade de compostos de borras de café na produção de plantas aromáticas*. Dissertação de Mestrado em Engenharia do Ambiente, Instituto Superior de Agronomia, UTL, Lisboa.

Oliveira, E., Sartori, R., Garcez, T. (2008). *Compostagem*. Trabalho de Disciplina Matéria Orgânica do Solo. Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – Universidade de São Paulo, São Paulo

Oliveira, L. B. De, Accioly, A. M. A., Santos, C. L. R., Flores, R. A., Barbosa, F. S. (2014). *Características químicas do solo e produção de biomassa de alface adubada com compostos orgânicos*. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental 157–164.

Oliveira, R. V. (2010). *Testes de Maturação Aplicados a Matrizes Bioestabilizadas*. Dissertação de Mestrado em Engenharia do Ambiente, Instituto Superior de Agronomia, UTL, Lisboa.

Paiva, E.C.R., Matos, A.T., Barros, R.T., Costa, T.D.R. (2013). *Análise Comparativa Da Adequação Da Relação C / N E Do Índice Ct / Cot Como Parâmetros Da Evolução Da Compostagem*. IV Congresso Brasileiro de Gestão Ambiental, 1–6.

Rashad, F. M., Saleh, W. D., Moselhy, M. A. (2010). *Bioconversion of rice straw and certain agro-industrial wastes to amendments for organic farming systems: 1. Composting, quality, stability and maturity indices*. Bioresource Technology, 101, 5952-5960

Selim, S. M., Zayed, M. S., Atta, H. M. (2012). *Evaluation os phytotoxicity of compost during composting process*. Nature and Science, 2012;10(2), 10(2), 69–77.

Stoffella, P. J., Kahn, B. A. (2001) *Compost utilization in horticultural cropping systems*. Lewis Publishers, Boca Raton, Florida.

Suthar, S., Singh, D. (2012). *Phytotoxicity of composted herbal pharmaceutical industry wastes*. Environmental Science and Pollution Research, 19(7), 3054–3059.

Teodoro, M. S., José, F., Lacerda, M. N., Melisa, L. (2015). *Efeito do uso de diferentes compostos na produção de tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill) em cultivo orgânico*. Nota Científica, VOL. 10. , Nº 4 , p. 16 -20

Tiquia, S.M. (1999). *Evaluating phytotoxicity of pig manure from the pig-on-litter system*. Proceedings of the International Compost Symposium, Volume II. Ed. Warman, P.R., Taylor, B.R. Canada. 625-647

Trautmann, N., Krasny, M. (1997). *Composting in the Classroom*. Scientific Inquiry for High School Students. Ed. Cornell University.

Zucconi F., Pera A., Forte M., De Bertoldi M. (1981) *Evaluating toxicity of immature compost*. BioCycle 22(2):54–57

Zucconi, F., De Bertoldi, M. (1987). *Compost specifications for the production and characterization of compost from municipal solid waste*. In: compost: production, quality and use. Ed. De Bertoldi, M., Ferranti, M.P., L'Hermite, P., Zucconi, F., Elsevier Applied Science Publishers Ltd., Essex: 30-50

ANEXOS

M1 – Método 1 (Zucconi *et al.*)

Resultados do método M1

	A			B		
	Resultados	Média	Desvio padrão	Resultados	Média	Desvio padrão
Agrião	11,69 13,39 19,16	14,75	3,92	8,75 8,64 10,23	9,20	0,89
Couve chinesa	52,13 57,75 55,10	54,99	2,81	44,69 42,97 42,22	43,30	1,27
	C			D		
Agrião	83,66 90,87 101,16	91,90	8,80	10,31 14,89 16,87	14,02	3,36
Couve chinesa	52,39 63,20 55,72	57,10	5,53	36,49 34,99 30,90	34,13	2,89

M2 – Método 2 (Tiquia, 1999)

Resultados do método M2

	A			B		
	Resultados	Média	Desvio padrão	Resultados	Média	Desvio padrão
Agrião	45,08 64,53 55,27	54,96	9,73	38,63 23,75 41,30	34,56	9,46
Couve chinesa	69,57 65,73 57,83	64,38	5,99	59,63 62,06 57,97	59,88	2,06
	C			D		
Agrião	56,98 62,64 61,61	60,41	3,02	51,26 28,07 32,18	37,17	12,38
Couve chinesa	66,30 74,21 69,31	69,94	3,99	44,91 42,77 47,56	45,08	2,40

M3.1 – Método 3.1 (100) (EN 16086-2)

Resultados do método M3.1 (100)

	A			B		
	Resultados	Média	Desvio padrão	Resultados	Média	Desvio padrão
Agrião	0,00 0,00 0,00	0,00	0,00	0,00 0,00 0,00	0,00	0,00
Couve chinesa	0,00 0,00 0,00	0,00	0,00	0,00 0,00 0,00	0,00	0,00
	C			D		
Agrião	84,32 72,68 72,85	76,62	6,67	0,00 0,00 0,00	0,00	0,00
Couve chinesa	64,27 79,76 74,43	72,82	7,87	0,00 0,00 0,00	0,00	0,00

M3.1 – Método 3.1 (50:50 e 25:75) (EN 16086-2)

Resultados do método M3.1 para as misturas 50:50 e 25:75

		Agrião			Couve chinesa		
		Resultados	Média	Desvio padrão	Resultados	Média	Desvio padrão
A	25:75	22,86 3,61 33,68	20,05	15,23	67,45 58,36 63,59	63,13	4,56
	50:50	0,60 0,45 0,00	0,35	0,31	1,25 1,25 2,16	1,55	0,52
B	25:75	8,27 21,35 7,07	12,23	7,92	78,58 61,54 76,99	72,37	9,41
	50:50	0,00 0,00 0,00	0,00	0,00	5,56 5,22 1,59	4,13	2,20
C	25:75	44,36 41,05 28,42	37,94	8,41	42,24 55,41 44,51	47,39	7,04
	50:50	63,61 36,69 43,46	47,92	14,00	54,84 47,24 52,01	51,36	3,84
D	25:75	76,69 66,92 44,21	62,61	16,66	70,83 79,20 75,25	75,09	4,18
	50:50	1,05 5,86 6,32	4,41	2,92	45,29 41,57 27,17	38,01	9,57
C*	25:75	77,44 74,59 111,28	87,77	20,41	84,71 84,94 87,21	85,62	1,38
	50:50	95,64 101,80 103,76	100,40	4,24	100,61 93,11 102,88	98,86	5,11

M3.2 – Método 3.2 (CCME)

	A			B		
	Resultados	Média	Desvio padrão	Resultados	Média	Desvio padrão
Agrião	87,58 101,96 106,41	98,65	9,84	85,49 109,02 98,56	97,69	11,79
Couve chinesa	118,85 103,73 136,09	119,56	16,19	79,08 107,06 107,96	98,03	16,42
	C			D		
Agrião	93,07 77,91 84,71	85,23	7,60	79,22 105,88 81,05	88,71	14,90
Couve chinesa	104,94 94,05 125,50	108,17	15,97	84,38 59,88 53,98	66,08	16,12

M4 – Método 4(CCME)

Resultados do método M4

	A			B		
	Resultados	Média	Desvio padrão	Resultados	Média	Desvio padrão
Agrião	9,92 14,32 10,97 8,87	11,02	2,36	27,19 27,59 17,60 21,74	23,53	4,77
Couve chinesa	9,26 15,79 13,74 19,56	14,59	4,29	46,71 47,96 44,32 49,01	47,00	2,02
	C			D		
Agrião	45,78 41,58 34,68 55,83	44,47	8,85	6,63 19,57 18,33 16,55	15,27	5,89
Couve chinesa	91,07 76,45 80,64 104,09	88,06	12,33	14,91 12,94 11,69 19,52	14,77	3,44

M5 – Método 5 (EN 16086-1)

Resultados do método M5

		Agrião			Couve chinesa		
		Resultados	Média	Desvio padrão	Resultados	Média	Desvio padrão
A	25:75	76,85 75,38 69,08	73,77	4,13	39,13 26,74 4,27	23,38	17,67
	50:50	90,50 91,00 96,20	92,57	3,16	69,81 75,18 100,00	81,66	16,11
B	25:75	49,10 59,49 57,37	55,32	5,49	46,73 20,52 19,62	28,96	15,40
	50:50	90,43 91,55 87,12	89,70	2,30	0,53 8,72 16,04	8,43	7,76
C	25:75	99,90 99,91 99,93	99,91	0,02	98,36 97,72 100,00	98,69	1,18
	50:50	100,00 99,44 98,71	99,38	0,65	94,31 91,08 96,48	93,96	2,72
D	25:75	58,52 43,59 42,12	48,08	9,07	55,38 48,80 63,21	55,80	7,21
	50:50	74,35 68,28 75,67	72,77	3,94	58,24 49,13 50,25	52,54	4,97
C*	25:75	22,33 8,15 2,51	11,00	10,21	-73,80 -83,97 -85,01	-80,93	6,19
	50:50	56,22 48,27 54,64	53,04	4,21	-45,87 -25,72 -17,20	-29,60	14,72

Quadro resumo

Composto		IG (%)						IC (%)	II (%)		
		M1	M2	M3.1	M3.1 (25:75)	M3.1 (50:50)	M3.	M4	M5 (25:75)	M5 (50:50)	
Agrião	A	Média	14,75	54,96	0	20,05	0,35	98,65	11,02	73,77	92,57
		Desvio Padrão	3,92	9,73	0	15,23	0,31	9,84	2,36	4,13	3,16
	B	Média	9,2	34,56	0	12,23	0	97,69	23,53	55,32	89,70
		Desvio Padrão	0,89	9,46	0	7,92	0	11,79	4,77	5,49	2,30
	C	Média	91,9	60,41	76,62	37,94	47,92	85,23	44,47	99,91	99,38
		Desvio Padrão	8,8	3,02	6,67	8,41	14	7,60	8,85	0,01	0,65
	D	Média	14,02	37,17	0	62,61	4,41	88,71	15,27	48,08	72,77
		Desvio Padrão	3,36	12,38	0	16,66	2,92	14,90	5,89	9,08	3,94
	C*	Média				87,77	100,4			11,00	53,04
		Desvio Padrão				20,41	4,24			10,21	4,21
Couve chinesa	A	Média	54,99	64,38	0	63,13	1,55	119,56	14,59	23,38	81,66
		Desvio Padrão	2,81	5,99	0	4,56	0,52	16,19	4,29	17,67	16,11
	B	Média	43,3	59,88	0	72,37	4,13	98,03	47	28,96	8,43
		Desvio Padrão	1,27	2,06	0	9,41	2,2	16,42	2,02	15,40	7,76
	C	Média	57,1	69,94	72,82	47,39	51,36	108,17	88,06	98,69	93,96
		Desvio Padrão	5,53	3,99	7,87	7,04	3,84	15,97	12,33	1,18	2,72
	D	Média	34,13	45,08	0	75,09	38,01	66,08	14,77	55,80	52,54
		Desvio Padrão	2,89	2,4	0	4,18	9,57	16,12	3,44	6,19	14,72
	C*	Média				85,62	98,86			-80,93	-29,60
		Desvio Padrão				1,38	5,11			7,21	4,97