

## **Capítulo 3 – Material e Métodos**

### **3.1. Modalidades em estudo e local do ensaio**

O ensaio decorreu entre Fevereiro e Maio de 2009 no Horto do Campus de Gambelas na Universidade do Algarve. As modalidades em estudo consistiram em diferentes misturas de dois substratos: um substrato orgânico comercial (mistura de turfas de crescimento) e um vermicomposto produzido através de estrume de ovino, nas seguintes proporções: 100% de vermicomposto (modalidade V 100); 75% de vermicomposto mais 25% de turfa (modalidade VO 75-25), 50% de vermicomposto mais 50% de turfa (modalidade VO 50-50), 25% de vermicomposto mais 75% de turfa (modalidade VO 25-75) e 100% de turfa (O 100). As cinco modalidades foram repetidas para ambas as culturas: *Lactuca sativa* e *Thymus zygis*.

Os parâmetros determinados nos substratos das diferentes modalidades foram os seguintes: matéria orgânica total (MO), matéria mineral (MM), percentagem de humidade (H) e de matéria seca (MS), densidade aparente seca ( $dap_s$ ) e densidade real (dr), capacidade de arejamento (CA), água facilmente utilizável (AFU), água dificilmente utilizável (ADU), água de reserva (AR), espaço poroso total (EPT), pH e condutividade eléctrica (CE). Estes parâmetros foram determinados em três fases distintas: antes da instalação das culturas (Novembro de 2008), após o transplante (Março e Abril de 2009) e no final das culturas (Maio de 2009). Durante o período do ensaio foi possível efectuar duas campanhas para a cultura da alface utilizando os mesmos substratos.

### **3.2. Substratos**

#### **3.2.1. Matéria orgânica (MO) e matéria mineral (MM)**

A percentagem de matéria mineral determinou-se através de gravimetria indirecta (via seca) através de calcinação em mufla a 560 °C durante 3 h. Os cálculos foram determinados através das seguintes expressões:

$$M.M.(%) = \frac{c - a}{b - a} \quad (1)$$

$$M.O.(%) = 100 - M.M \quad (2)$$

Sendo:

a (g) = Peso do copo de porcelana depois de pré-calcinado:

b (g) = Somatório do peso inicial da amostra moída e do copo de porcelana pré-calcinado;

c (g) = Somatório do peso final da amostra moída e do copo de porcelana pré-calcinado.

### **3.2.2. Percentagem de humidade (H) e de matéria seca (MS)**

Os teores de humidade e de matéria seca foram determinados através do método proposto por Martinez (1992). Pesou-se uma quantidade de material correspondente a aproximadamente 40 a 50 g de matéria seca e secou-se na estufa a 105 °C, até se atingir peso constante.

Os resultados foram determinados através das seguintes fórmulas:

$$H(\%) = \frac{(B - C)}{(B - A)} \times 100 \quad (3)$$

$$MS = 100 - H(\%) \quad (4)$$

Sendo:

A (g) = Peso do recipiente onde se colocou a amostra a secar

B (g) = Peso inicial da amostra

C (g) = Peso final da amostra

### **3.2.3. Densidade real (dr) e densidade aparente (dap)**

Tratando-se de materiais essencialmente orgânicos, determinou-se a densidade real a partir dos teores em matéria orgânica e de cinzas (matéria mineral) obtidos por calcinação. Utilizou-se 1,50 para o valor de densidade real da fracção orgânica e 2,65 para a fracção mineral (Martinez, 1992).

A densidade real foi calculada pela seguinte fórmula:

$$dr = \frac{100}{\frac{M.O.}{1,45} + \frac{M.M.}{2,65}} \quad (5)$$

Sendo:

dr: densidade real

MO: percentagem de matéria orgânica do material (= 100 - % cinzas)

MM: percentagem de matéria mineral do material (= % de cinzas)

Para determinação da densidade aparente (dap) utilizou-se uma adaptação do método de De Boodt *et al.* (1974), que consistiu em determinar directamente o teor de humidade e o peso seco do material, utilizando-se dois cilindros de alumínio sujeitos à tensão de 10 cm de coluna de água durante 48 horas.

Separou-se posteriormente o material do cilindro inferior, sendo pesado e colocado a secar a 105°C.

Relacionando o volume do cilindro e o peso fresco do material do cilindro obteve-se a densidade aparente “húmida” ( $d_{ap_h}$ ). Com a relação entre o volume do cilindro e o peso seco a 105 °C obteve-se a densidade aparente “seca” ( $d_{ap_s}$ ).

#### **3.2.4. Espaço poroso total (EPT)**

Este parâmetro foi calculado a partir dos valores da densidade aparente, referida ao material seco ( $d_{ap_s}$ ), e da densidade real ( $d_r$ ), através da equação:

$$EPT = \left(1 - \frac{d_{ap_s}}{d_r}\right) \times 100 \quad (6)$$

#### **3.2.5. Relações ar – água**

Nas relações ar - água determinou-se: a capacidade de arejamento (CA), a água facilmente utilizável (AFU), a água de reserva (AR) e a água dificilmente utilizável (ADU). Para determinação destes parâmetros seguiu-se o método de De Boodt *et al.* (1974). Este método baseia-se na determinação do teor de água retida pelo material, a tensões relevantes para os substratos, originados por uma coluna de água, de altura regulável, até 10 kPa (aproximadamente 100 cm de coluna de água), permitindo a determinação das seguintes características:

##### Capacidade de arejamento (CA):

Calculado pela diferença em percentagem de volume, entre o espaço poroso total e o teor de água à tensão de 1 kPa.

Água facilmente utilizável (AFU):

Calculado a partir da percentagem de volume de água libertada pelo substrato quando a tensão aumenta de 1 para 5 kPa.

Água de reserva (AR):

Calculando a percentagem de volume de água libertada pelo substrato quando a tensão aumenta de 5 para 10 kPa.

Água dificilmente utilizável (ADU):

Corresponde à percentagem em volume de água retida à tensão igual ou superior a 10 kPa.

### **3.2.6. pH e condutividade eléctrica (CE)**

Os valores de pH e condutividade eléctrica foram determinados em 3 datas para cada uma das modalidades, no início do ensaio, no final da 1.<sup>a</sup> campanha de alface (56 dias após a transplantação) e no final da 2.<sup>a</sup> campanha de alface (47 dias após o transplante).

Para a determinação do pH preparou-se um extracto aquoso 1:2 (v/v), a partir de 100 mL da amostra, medidos à pressão de 10 g cm<sup>-2</sup>, e 200 mL de água destilada.

Agitou-se com uma vareta de vidro durante 20 minutos deixando-se repousar durante uma hora, procedendo-se, sem agitar, à leitura do pH num potenciómetro.

A condutividade eléctrica (CE) mediu-se, num condutivímetro através de uma solução obtida do mesmo modo ou na mesma que a utilizada para determinação do pH, após filtração com papel de filtro. Os valores foram expressos em mScm<sup>-1</sup>.

### **3.3. Material vegetal: *Lactuca sativa***

#### **3.3.1. Instalação da cultura**

Foi adquirida uma placa de sementeira com alfaces tipo “Batavia” com 3 semanas de germinação tendo sido posteriormente instaladas em cada uma das modalidades num total de 50 vasos com 10 repetições por modalidade em vasos de 2 L (Figura 9). Cada vaso foi regado manualmente e não foi aplicada adubação mineral.

Este procedimento foi repetido para a 2.<sup>a</sup> campanha da cultura. No início da primeira e segunda campanha as plantas apresentavam um peso médio de 2,7 g e 2,6 g respectivamente (n=3).



**Figura 9** – Aspecto de plântulas de *Lactuca sativa* para vasos de 2 L após a transplantação.

#### **3.3.2. Produção**

Em cada modalidade, pesou-se a parte aérea de todas as plantas individualmente. O somatório destes valores permitiu calcular o peso fresco total da modalidade.

### **3.3.3. Eficiência de uso da água de rega**

A eficiência de uso de água de rega para cada uma das modalidades determinou-se através do quociente entre o peso fresco total (g) e o volume total de água de rega (m<sup>3</sup>) gasto no final de cada campanha. Os resultados foram expressos em g peso fresco produzido por m<sup>3</sup> de água aplicado.

### **3.3.4. Percentagem de variação de peso fresco (Pf) entre as duas campanhas**

Para a determinação das percentagens de variação de peso fresco da 1.<sup>a</sup> para a 2.<sup>a</sup> campanha utilizou-se a seguinte fórmula:

$$\text{Percentagem de variação} = \frac{\text{Pf na 2.ª campanha} - \text{Pf na 1.ª campanha}}{\text{Pf na 1.ª campanha}} \times 100 \quad (7)$$

## **3.4. Cultura de *Thymus zygis***

### **3.4.1. Instalação da cultura**

As sementes de *Thymus zygis* foram semeadas em placas de alvéolos, utilizando um substrato de germinação Gramoflor<sup>®</sup> (Figura 10).

75 dias após a germinação as plantas foram instaladas em cada uma das modalidades, num total de 50 vasos com 10 repetições por modalidade em vasos de 2 L.



**Figura 10** – Plantas de *Thymus zygis* germinadas após 9 semanas (Nov. 2008).

### **3.4.2. Parâmetros de crescimento**

#### **3.4.2.1. Comprimento**

Determinou-se o comprimento da parte aérea (h máx) de todas as plantas através da medição com régua graduada do maior caule existente (Figura 11).



**Figura 11** – Planta de *Thymus zygis* da modalidade O 100 após 13 semanas de germinação (Março de 2009).

#### **3.4.2.2. Diâmetro**

Para ter uma noção mais exacta do crescimento da copa, determinou-se o diâmetro da parte aérea (d máx) através da medição com rega graduada dos 3 maiores diâmetros da copa de cada planta sendo medidos no topo da copa paralelamente à superfície do vaso. Calculou-se o valor médio das 3 medições.

#### **3.4.2.3. Volume Radicular**

Para a determinação do volume radicular introduziu-se a raiz de cada planta numa proveta graduada contendo 15 mL de H<sub>2</sub>O destilada. O volume radicular correspondeu à diferença entre o volume de água com a raiz introduzida e o volume de água inicial (mL).

#### **3.4.3. Produção**

No final, todas as plantas foram removidas e pesadas individualmente, tendo sido separadas a parte aérea da parte radicular. A produção total de cada modalidade foi determinada através do somatório da parte aérea de todas as plantas.

#### **3.4.4. Eficiência do uso de água de rega**

A eficiência de uso de água de rega para cada uma das modalidades determinou-se através do quociente entre o peso fresco total da parte aérea (g) e o volume total de água de rega (m<sup>3</sup>). Os resultados foram expressos em g de peso fresco produzido por L de água aplicado.

#### **3.4.5. Composição em óleos essenciais**

Os óleos essenciais foram isolados a partir da parte aérea total por hidrodestilação e analisados por cromatografia gás-líquido no laboratório do CDCTPV.

O rendimento dos óleos essenciais em cada modalidade determinou-se através do quociente entre o volume de óleo médio produzido em cada modalidade e o peso fresco em g.

### **3.5. Análise energética**

A análise energética envolveu o estudo do balanço e da eficiência energética das culturas de *Lactuca sativa* e *Thymus zygis* transformando os factores de produção e a produtividade das culturas nos respectivos coeficientes energéticos. O balanço energético incluiu as entradas (*inputs*) e saídas (*outputs*) de energia durante os ensaios. Os *inputs* foram definidos como directos - trabalho humano, e indirectos – água de rega, tratamento fitossanitário e nutrientes nos substratos (Miranowsky, 2002).

As saídas de energia foram definidas como *outputs* e foram constituídas pela biomassa de alface produzida nas duas campanhas ou pelo volume de óleos essenciais produzido por *Thymus zygis*.

O balanço energético foi efectuado através da diferença entre a energia produzida e a consumida, em cada cultura por modalidade (Pereira dos Santos *et al.*, 1999).

A eficiência energética foi calculada pelo quociente entre *inputs* e *outputs*, para cada cultura e por modalidade.

#### **3.5.1. Inputs energéticos**

##### **a) Nutrientes nos substratos**

Estimaram-se as quantidades de nutrientes presentes na fracção mineral de cada substrato com base na sua densidade ( $\text{kg m}^{-3}$ ) (Tabela 7).

As quantidades de azoto (N) fósforo ( $\text{P}_2\text{O}_5$ ) e potássio ( $\text{K}_2\text{O}$ ) por kg de vermicomposto foram de: 20,0 g de N, 10,0 g de  $\text{P}_2\text{O}_5$  e 4,0 g de  $\text{K}_2\text{O}$ ; e para o substrato orgânico e  $3,5 \times 10^{-4}$  g de N;  $3,8 \times 10^{-4}$  g de  $\text{P}_2\text{O}_5$  e  $4,8 \times 10^{-4}$  g de  $\text{K}_2\text{O}$  de acordo com o fabricante.

Através da densidade dos respectivos fertilizantes e do volume do vaso (2 L) e das respectivas proporções, foi calculada a quantidade de N, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e K<sub>2</sub>O para cada modalidade.

**TABELA 7** – Densidades (kg m<sup>-3</sup>) em cada substrato.

| Macronutriente                  | Vermicomposto | Turfa |
|---------------------------------|---------------|-------|
| Densidade (kg m <sup>-3</sup> ) | 600           | 500   |

Os *inputs* de nutrientes foram apenas contabilizados na 1.<sup>a</sup> campanha de *Lactuca sativa* e na campanha de *Thymus zygis* uma vez que não foi possível quantificar a quantidade de nutrientes contida nas modalidades disponíveis para a 2.<sup>a</sup> campanha. Utilizaram-se os coeficientes energéticos estabelecidos por Singh *et al.* (1997) para N (60,60 MJ kg<sup>-1</sup>), P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (11,10 MJ kg<sup>-1</sup>) e K<sub>2</sub>O (6,70 MJ kg<sup>-1</sup>) com vista à determinação do equivalente energético contido nas diferentes modalidades.

#### **b) Trabalho Humano**

Durante a 1.<sup>a</sup> campanha de alface foram gastas 3,4 horas em trabalho humano e na 2.<sup>a</sup> campanha 3,07 horas. Para a campanha de alface foi ainda contabilizado o transporte das placas para o Horto. O número de horas de trabalho na cultura de *Thymus* foi de 2,73 horas e incluiu o processo de germinação.

Determinou-se o número de horas de trabalho em cada modalidade através do quociente entre o número de horas de trabalho em cada campanha e o número de modalidades. Adoptou-se o coeficiente energético estabelecido por Singh *et al.* (1997) para 1 hora de trabalho humano em energia, expressa em 1,96 MJ h<sup>-1</sup>.

**c) Tratamento Fitossanitário**

Foram aplicados  $2,0 \text{ g L}^{-1}$  de um fungicida preventivo na cultura da alface uma única vez, para o total das 5 modalidades. Considerou-se o valor de  $51,5 \text{ MJ kg}^{-1}$  de substância activa (Melman *et al.*, 1994, In Biewinga e Bijl, 1996).

**d) Água de rega**

Durante a 1.<sup>a</sup> campanha de *Lactuca sativa* foram gastos em todos os vasos  $0,115 \text{ m}^3$ . Nos ensaios de *Thymus zygis* foram gastos  $0,253 \text{ m}^3$ .

Por cada modalidade foram gastos  $0,023 \text{ m}^3$  de água de rega. Adoptou-se o coeficiente energético estabelecido por Singh *et al.*, 1997, em  $0,63 \text{ MJ m}^{-3}$  de água de rega.

**3.5.2. Outputs energéticos**

Na *Lactuca sativa* foram utilizados os valores obtidos nas duas campanhas. Utilizou-se o coeficiente de  $75,6 \text{ kJ}$  para  $100 \text{ g}$  de peso fresco (Almeida, 2006). Em relação ao *Thymus zygis* foram utilizados os coeficientes estabelecidos por *Organic Partners, Milverton, Somerset, England TA4 INF*, (2007) em  $1159,2 \text{ kJ}$  por  $100 \text{ mL}$  de óleos extraídos.

**3.5.3. Balanço energético**

Determinou-se o balanço energético para as duas campanhas de *Lactuca sativa* e para a campanha de *Thymus zygis* para todas as modalidades através da diferença entre o somatório dos *outputs* e o somatório dos *inputs* (Klimeková e Lehocká, 2005) de acordo com a seguinte expressão:

$$\text{Balanço Energético} = \sum \text{Energia Outputs} - \sum \text{Inputs} \quad (8)$$

#### **3.5.4. Eficiência energética**

Determinou-se a eficiência energética para as duas campanhas de *Lactuca sativa* e para a campanha de *Thymus zygis* para todas as modalidades através do quociente entre o somatório dos *inputs* e o somatório dos *outputs* (Klimeková e Lehocká, 2005) de acordo com a seguinte expressão:

$$\text{Eficiência Energética} = \frac{\sum \text{Energia Outputs}}{\sum \text{Energia Inputs}} \quad (9)$$

#### **3.6. Delineamento experimental e tratamento estatístico**

Em ambas as culturas foram utilizadas 10 plantas (repetições) por modalidade num total de 50 vasos em ensaio. Os vasos foram colocados em bancada elevada num desenho experimental completamente casualizado.

Para os vários parâmetros estudados a comparação entre modalidades foi avaliada com base numa análise de variância simples. A comparação das médias foi efectuada pelo teste de Duncan para um nível de significância de 95%. Toda a análise estatística foi efectuada com o programa SPSS v. 16.0.