



# BIOFERTILIZAÇÃO E BIOCONTROLO EM MONTADO – MEDIDAS DE ADAPTAÇÃO ÀS ALTERAÇÕES CLIMÁTICAS

As bactérias fixadoras de azoto (rizóbios), através da sua associação com raízes de leguminosas, apresentam um grande potencial para que a **Fixação Biológica do Azoto** se realize, permitindo desta forma otimizar o rendimento das pastagens. Ao mesmo tempo, podem ter um uso promissor como **Biocontrolo** de agentes patogénicos, contribuindo para a redução da vulnerabilidade do Montado às alterações climáticas.

## Introdução

As alterações climáticas configuram um conjunto de mudanças que podem provocar fenómenos meteorológicos drásticos e cada vez mais frequentes. É essencial desenvolvermos formas de combate a este problema global, pois prevê-se uma intensificação destes impactos nos próximos anos.

A região Mediterrânica é das zonas mais sensíveis a este fenómeno, sendo Portugal, pela sua localização, potencialmente muito afetado por este fenómeno. Neste contexto, os ecossistemas mediterrânicos, onde se inclui o Montado, foram identificados como dos mais suscetíveis às alterações climáticas, marcados pelo aumento das temperaturas, diminuição da precipitação e alterações no seu padrão de distribuição e pela maior frequência de eventos climáticos extremos. Estas tendências climáticas aumentarão o risco de erosão e podem vir a aumentar significativamente a desertificação, o que implicará diversas mudanças na vegetação, solos, disponibilidade de água e clima local e, conseqüentemente, o aumento das condições de *stress* ambiental na biologia do solo, com a redução da sobrevivência e diversidade dos microrganismos do solo, bem como a intensificação do impacto de pragas e doenças.

O Montado, sistema agro-silvo-pastoril associado à exploração de sobreiros e azinheiras, é a principal ocupação florestal em Portugal, representando cerca de 1/3 da floresta, isto é, aproximadamente 1 milhão de hectares. Mais concretamente, o sobreiro apresenta cerca de 719,9 mil hectares e a azinheira aproximadamente 349,4 mil hectares de área florestal (IFN6).

Nestes ecossistemas, o sobcoberto é um fator determinante para a sua sustentabilidade e rentabilidade, onde as pastagens naturais ou introduzidas, à base de leguminosas, desempenham um papel predominante aumentando a fertilidade do solo. O sucesso de uma pastagem depende do clima, do tipo de solo e de boas práticas. Assim, ao utilizarmos espécies já existentes no local, e por isso bem adaptadas, podemos preservar a biodiversidade e também melhorar essas mesmas espécies, inoculando as sementes das leguminosas com bactérias autóctones altamente eficazes na fixação de azoto, ou seja, recorrendo-se

---

Márcia de Castro Silva, Helena Machado, Isabel Videira e Castro

Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária



Instituto Nacional de  
Investigação Agrária e  
Veterinária, I.P.

à utilização de biofertilizantes (Soares *et al.*, 2016). As pastagens, além de leguminosas, contêm ainda gramíneas que podem formar igualmente associações com outras bactérias do solo, as quais podem desempenhar também outras funções relevantes como promotoras do crescimento das plantas.

Os benefícios ambientais destas pastagens verificam-se ao nível dos solos, da biodiversidade e da paisagem e podem representar um contributo decisivo no combate às alterações climáticas pela sua grande capacidade de realizar o sequestro de carbono (reduzindo as emissões de gases com efeito de estufa para a atmosfera), a regulação do ciclo da água, a prevenção da erosão, e possuírem também uma elevada biodiversidade, como já referido.

Por outro lado, a mortalidade registada no Montado, nas últimas décadas, tem sido atribuída a fatores de pressão por parte do Homem, inadequadas práticas culturais, pragas e doenças, sendo estas agravadas pelas alterações climáticas. Entre as doenças que afetam o sobreiro e a azinheira, destaca-se a Fitóftora, que afeta mais de 5000 espécies de plantas, resultando em grandes perdas económicas. Esta doença tem sido referida como uma das principais responsáveis pelo declínio do Montado. Desta forma, tem-se verificado uma diminuição da qualidade da cortiça, ficando a regeneração natural comprometida e a redução dos povoamentos acentuada.

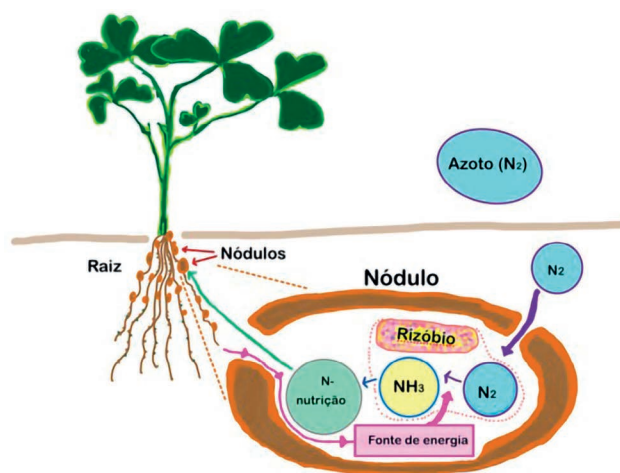
Em suma, as alterações climáticas têm tido um grande impacto no declínio do Montado, com grandes repercussões na degradação do solo e do seu sobcoberto, especialmente reduzindo a fertilidade do solo. Por exemplo, problemas como a seca extrema e o excesso de água (*stress hídrico*) estão intimamente ligados aos problemas causados por *Phytophthora*.

O projeto LIFE MontadoAdapt surge como um impulso à adaptação dos Montados e tem como principal objetivo a mitigação das consequências das alterações climáticas e a melhoria da sustentabilidade do ponto de vista económico, social e ambiental. No âmbito da utilização de bioindicadores de qualidade e fertilidade do solo, tem sido avaliada a dimensão da população natural rizobiana do solo em várias áreas de Montado, bem como o seu contri-

buto no aumento da fixação biológica de azoto. Estas avaliações irão contribuir para o delineamento e validação das medidas de adaptação relacionadas com a instalação de pastagens tendo em vista a sustentabilidade ecológica e económica do Montado. As bactérias autóctones isoladas e posteriormente selecionadas servirão para serem utilizadas como biofertilizantes, isto é, inoculantes contendo bactérias fixadoras de azoto, das leguminosas usadas em pastagens, e ainda como antagonistas de agentes fitopatogénicos, como *Phytophthora cinnamomi*.

### As bactérias fixadoras de azoto vs. pastagens melhoradas

Os microrganismos do solo são essenciais para a manutenção das suas funções. Entre estes microrganismos encontram-se as bactérias fixadoras de azoto (conhecidas por rizóbios) que, quando em simbiose com plantas leguminosas, formam nódulos nas suas raízes e têm a capacidade de converter o azoto atmosférico ( $N_2$ ) em amónia ( $NH_3$ ), proporcionando assim que a planta alcance a independência em azoto para o seu crescimento. Este processo, mediado pelas simbioses “rizóbios/leguminosas” e designado por Fixação Biológica do Azoto (Figura 1),



**Figura 1** – Processo de Fixação Biológica do Azoto. As bactérias fixadoras de azoto, genericamente designadas por rizóbios, estabelecem simbioses com plantas leguminosas, convertendo o azoto atmosférico ( $N_2$ ) em amónia ( $NH_3$ ) que fica disponível para as plantas.



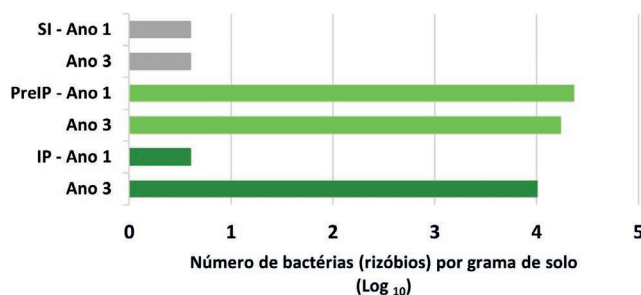
**Figura 2** – Avaliação da população rizobiana natural usando o trevo subterrâneo como planta hospedeira. Para cada amostra de solo (a) foram inoculadas sementes de trevo pré-germinadas (b) com várias diluições (c). As plantas cresceram durante 8 semanas em câmara com ambiente controlado (temperatura e luz) (d). No final avaliou-se a presença/ausência de nódulos em cada planta (e) e posterior isolamento das bactérias dos nódulos em meios de cultura específicos.

pode introduzir gratuitamente no solo, quantidades apreciáveis de azoto atmosférico (entre 1 e 33 kg de azoto/ha/ano em pastagens naturais a 100 ou mais em pastagens melhoradas/introduzidas) de uma forma ambientalmente não poluente (Ferreira e Castro, 2011). Daí o papel importante que estas bactérias dos nódulos radiculares poderão ter na sustentabilidade/recuperação dos ecossistemas Montado, principalmente em solos pouco resilientes e de baixa fertilidade, através da instalação de pastagens semeadas biodiversas ricas em leguminosas (Crespo, 2006). Desta forma, estas práticas podem beneficiar a fertilidade do solo, contribuindo também para a redução da sua erosão. Por isso, estas simbioses desempenham um papel tão relevante, aumentando e melhorando a qualidade do solo e são consideradas de primordial importância ambiental, ecológica, agronómica e socioeconómica. A dimensão da população rizobiana, além de ser utilizada como bioindicador da qualidade e ferti-

lidade do solo, poderá também fornecer informações valiosas sobre o estabelecimento ou manutenção das pastagens nessas áreas.

Nesse sentido, foram avaliadas, laboratorialmente, as populações de bactérias fixadoras de azoto (Figura 2) em vários locais do Alentejo, em Portugal, e da Estremadura e Andaluzia, em Espanha, no início (Ano 1) e na parte final (Ano 3) do projeto e após a instalação de pastagens biodiversas em algumas parcelas de estudo (Figura 3).

Os resultados obtidos nas parcelas onde não foi feita qualquer intervenção, no local SI, mostraram populações nativas de rizóbios muito baixas (Figura 3). Nos locais onde já estava instalada uma pastagem antes do Ano 1 (PreIP), os valores obtidos para a população rizobiana foram sempre elevados, isto é, acima de  $10^4$  bactérias/g de solo. Estes valores são reveladores de uma população de rizóbios que estará a contribuir para a fertilidade dos solos do Montado pelo fornecimento de azoto às plantas e



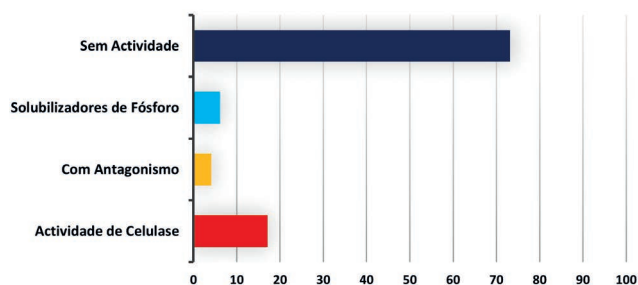
**Figura 3** – Dimensão da população de rizóbios em diferentes parcelas de estudo em Montado. (SI) Sem intervenção; (PreIP) Instalação de pastagem antes do Ano 1 e (IP) Instalação de pastagem no Ano 3.

também ao solo. No local onde se fez a instalação de pastagem no Ano 3 (IP), os valores obtidos no Ano 1 foram muito baixos, mas após a instalação da pastagem verificou-se um aumento relevante, de  $10^4$  bactérias/g de solo, no Ano 3. Estes resultados demonstram a importância da introdução de pastagens biodiversas à base de leguminosas para o enriquecimento do solo nestas bactérias, valiosas para a fertilidade do solo e para a sustentabilidade do Montado.

### Outras atividades promotoras do crescimento das plantas

Além da fixação de azoto, os rizóbios/bactérias dos nódulos radiculares, poderão igualmente promover diretamente o crescimento das plantas através da solubilização de minerais como o fósforo (Castro *et al.*, 2019). A maior parte do fósforo no solo está indisponível para as plantas, mas algumas bactérias conseguem solubilizar o fosfato e transformar os fosfatos minerais insolúveis em formas solúveis, aumentando assim a sua disponibilidade para as plantas. Também alguns rizóbios poderão atuar como agentes de biocontrolo inibindo o crescimento de agentes patogénicos, como é o caso da *Phytophthora* e promovendo assim indiretamente o crescimento das plantas (Silva *et al.*, 2017).

De igual modo, as bactérias que mostrem possuir atividades enzimáticas *in vitro*, como a celulase, poderão ter um importante papel no Montado no controlo/diminuição da disseminação e crescimento do agente fitopatogénico *Phytophthora cin-*



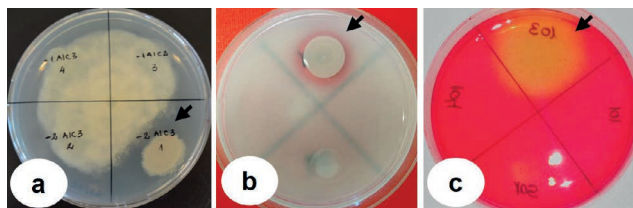
**Figura 4** – Outras atividades promotoras do crescimento de plantas (em %) exibidas pelas bactérias isoladas dos nódulos radiculares de trevo subterrâneo.

*namomi*, pois as suas paredes celulares são constituídas principalmente por celulose.

Assim, as bactérias isoladas dos nódulos radiculares de plantas de trevo subterrâneo, inoculadas com solos do Alentejo, foram avaliadas laboratorialmente quanto à solubilização do fósforo, antagonismo contra *Phytophthora cinnamomi* e atividade de celulase (Figura 4).

Embora a maioria das bactérias testadas (73%) não tivesse qualquer atividade, verificou-se a existência de bactérias solubilizadoras de fósforo, ainda que numa percentagem baixa. Estas bactérias poderão vir a ser incluídas em consórcios bacterianos juntamente com os rizóbios com maior capacidade de fixação de azoto (biofertilizantes) para serem inoculados nas sementes, contribuindo assim para a melhoria da fertilidade dos solos e crescimento das plantas.

Por outro lado, o número de bactérias que apresentaram antagonismo contra *Phytophthora* (Figura 5)



**Figura 5** – Ensaios *in vitro* com bactérias isoladas dos nódulos radiculares para avaliação de atividades relacionadas com: (a) antagonismo contra *Phytophthora cinnamomi*; (b) solubilização de fósforo e (c) celulase. As setas indicam a presença de atividade.

foi também muito baixo (apenas 4%), mas foi complementado com um número um pouco superior de bactérias com atividade de celulase. Algumas destas bactérias com estas atividades poderão vir a ser incluídas em consórcios bacterianos, como agentes de biocontrolo, para inoculação de sementes ou aplicação junto das raízes das árvores, criando assim condições que ajudem as árvores a superar a progressão da doença. Desta forma, estas bactérias irão igualmente contribuir para a sustentabilidade do Montado.

### Considerações finais

A saúde dos solos do Montado é a chave para a sua sustentabilidade, tendo aqui as pastagens melhoradas um papel fundamental. Uma estratégia essencial para aumentar a produtividade das leguminosas em pastagens passa pela utilização de biofertilizantes de alta qualidade, contendo bactérias fixadoras de azoto e eventualmente também bactérias solubilizadoras de fósforo no sentido de se maximizar a produção destas pastagens. Também a inclusão de bactérias, com atividade antagonista contra *Phytophthora* e com atividade de celulase, em consórcios bacterianos, a serem utilizados durante o estabelecimento de pastagens permanentes semeadas biodiversas, poderá ter um papel importante na recuperação de Montados afetados por esta doença. 🍷

### Agradecimentos

Trabalho suportado pelo projeto Life Montado & Climate – A Need to Adapt – 15 CCA/PT/000043.



**LIFE MONTADO-ADAPT**  
MONTADO & CLIMATE. A NEED TO ADAPT

### Bibliografia

- Castro, I.V.; Silva, M.; Fernandez, C.; Colavolpe, B.; Machado, H. (2019) The Potential of Nitrogen-Fixing Bacteria in the Sustainability of Agro-Forestry Ecosystems. In Zúñiga-Dávila, D.; González-Andrés, F.; Ormeño-Orrillo, E. (Eds). *Microbial Probiotics for Agricultural Systems. Sustainability in Plant and Crop Protection*, 5:71–82. Springer.
- Crespo, D. (2006) The role of pasture improvement on the rehabilitation of the montado/dehesa system and in developing its traditional products. In J.M.C.R. Ribeiro, A.E.M. Horta, C. Mosconi (Eds), *Animal products from the Mediterranean area*, 185–197. Wageningen-The Netherlands Academic Publishers.
- Ferreira, E.; Castro, I.V. (2011). *Fundamentos y Aplicaciones agroambientales de las interacciones beneficiosas plantas-microorganismos*, 403–416. Sociedad Española de Fijación de Nitrógeno, Spain.
- Silva, M.; Colavolpe, B.; Machado, H.; Costa, A.; Ruiz, O.; Castro, I.V. (2017) Screening of antagonistic soil bacteria to control *Phytophthora cinnamomi* in montado. 2.º Simpósio SCAP; 8.º Congresso da SPF e 11.º Encontro Nacional de Pl. S5 P69 p164, Santarém.
- Soares, R.; Arcos, E.; Ferreira, E.; Castro, I.V. (2016). Microbial inoculants with autochthonous bacteria for biodiverse legume pastures in Portuguese agro-forestry ecosystems. In González-Andrés, F.; James, E. (Eds) *Biological Nitrogen Fixation and Beneficial Plant-Microbe Interaction*, 15:171–182. Springer.