



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE TECNOLOGIA E GEOCIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIAS ENERGÉTICAS E
NUCLEARES

**Biofertilizantes de nanopartículas carbonáceas: efeitos sobre a nutrição e
fixação biológica de nitrogênio em leguminosas utilizadas como adubos
verdes**

LUCAS HUMBERTO BARBOSA NEVES

Orientadora: Ana Dolores Santiago de Freitas

Coorientadora: Jéssica Rafaella de S. Oliveira

Recife, PE

julho de 2025

LUCAS HUMBERTO BARBOSA NEVES

**BIOFERTILIZANTES DE NANOPARTÍCULAS CARBONÁCEAS:
EFEITOS SOBRE A NUTRIÇÃO E FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE
NITROGÊNIO EM LEGUMINOSAS UTILIZADAS COMO ADUBOS
VERDES**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares para obtenção do título de Mestre em Tecnologias Energéticas e Nucleares, Área de Concentração: Aplicações de Radioisótopos na Agricultura e Meio Ambiente, Linha de pesquisa: Ciclagem Biogeoquímica em Ecossistemas Terrestres.

Orientadora: Ana Dolores Santiago de Freitas

Coorientadora: Jéssica Rafaella de S. Oliveira

Recife, PE

julho, 2025

. Catalogação de Publicação na Fonte. UFPE - Biblioteca Central

Neves, Lucas Humberto Barbosa.

Biofertilizantes de nanopartículas carbonáceas: efeitos sobre a nutrição e fixação biológica de nitrogênio em leguminosas utilizadas como adubos verdes / Lucas Humberto Barbosa Neves. - Recife, 2025.

41f.: il.

Dissertação (Mestrado)- Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Tecnologia e Geociências, Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares, 2025.

Orientação: Ana Dolores Santiago de Freitas.

Coorientação: Jéssica Rafaella de Sousa Oliveira.

1. Crotalária; 2. Fava; 3. Amendoim forrageiro; 4. Simbiose; 5. Isótopos estáveis. I. Freitas, Ana Dolores Santiago de. II. Oliveira, Jéssica Rafaella de Sousa. III. Título.

UFPE-Biblioteca Central

**BIOFERTILIZANTES DE NANOPARTÍCULAS CARBONÁCEAS: EFEITOS SOBRE
A NUTRIÇÃO E FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO EM LEGUMINOSAS
UTILIZADAS COMO ADUBOS VERDES**

Lucas Humberto Barbosa Neves

APROVADA EM: 31/07/2025

ORIENTADORA: Profa. Dra. Ana Dolores Santiago de Freitas

CO-ORIENTADORA: Profa. Dra. Jéssica Rafaella de Sousa Oliveira

COMISSÃO EXAMINADORA:

Prof. Dr. Everardo Valadares de Sá Barreto Sampaio – DEN/UFPE

Profa. Dra. Edilândia Farias Dantas – DEN/UFPE

Profa. Dra. Juscélia da Silva Ferreira – DEN/UFPE

Visto e permitida a impressão

Coordenador (a) do PROTEN/DEN/UFPE

Epígrafe: “Se antes eu dizia que esse trabalho definia meu valor, hoje eu digo que esse trabalho é apenas uma das formas de expressar minha curiosidade, minha busca, minha força. Mas ele não me define.” Lucas Humberto

Agradecimento

Minha primeira e mais profunda gratidão é a **Deus**. Pai de amor e misericórdia, que me deu fôlego de vida e me sustentou pela fé em cada um dos dias desta longa jornada. Foi a Tua força que me levantou nos momentos de cansaço, e a Tua sabedoria que clareou minha mente diante das incertezas. Sem Ti, nada disso seria possível. A Ti, toda a minha gratidão.

Logo após Deus, dedico esta vitória à minha rocha, minha maior inspiração, minha mãe, **Acácia Barbosa da Paz**. Mãe, seu amor incondicional, seus sacrifícios silenciosos e suas orações foram o alicerce sobre o qual construí cada passo deste sonho. Sua força é meu exemplo e sua bênção, meu porto seguro. Obrigado por absolutamente tudo.

Aos meus **irmãos em Cristo**, que caminharam ao meu lado em fé. Agradeço por cada oração, pela comunhão e pelo fortalecimento espiritual que me manteve firme no propósito que Deus traçou para mim.

À minha orientadora, **Profa. Dra. Ana Dolores Santiago de Freitas**, minha sincera e imensa gratidão. Agradeço por sua orientação segura, pela paciência e pelo apoio dedicado ao longo de todo este projeto. Sua confiança no meu trabalho e seu rigor científico foram fundamentais para minha formação como pesquisador e para a boa condução desta pesquisa.

À minha coorientadora, **Profa. Dra. Jéssica Rafaella de Sousa Oliveira**, minha sincera gratidão. Agradeço por sua atenção, pela prontidão em ajudar e pelas discussões construtivas que trouxeram novas perspectivas e segurança para a pesquisa. Sua contribuição foi de imenso valor para o resultado final deste trabalho.

Expresso meu profundo respeito e agradecimento ao **Prof. Dr. Everardo Valadares de Sá Barreto Sampaio**. Sua orientação, seus questionamentos perspicazes e seu vasto conhecimento foram um farol que iluminou muitas das minhas decisões e análises, contribuindo de forma inestimável para a qualidade desta dissertação.

Um agradecimento especial à **Profa. Dra. Edilândia Farias Dantas**, por seu valioso suporte com os cálculos e a análise estatística, que foram cruciais para a interpretação dos resultados.

Aos competentes **técnicos e analistas** do **CENA** e do **IF-Sertão**, meu muito obrigado. O rigor técnico e a precisão do trabalho de vocês foram fundamentais para que os dados desta pesquisa pudessem ser gerados com confiança.

A todos os **professores** do Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares (**PPGTEN**), que com seus ensinamentos construíram a base de conhecimento que me permitiu avançar.

Aos meus **amigos e colegas de laboratório**, companheiros desta caminhada. Agradeço pela parceria, pela troca de ideias, pelo auxílio nos experimentos e, claro, por cada momento de descontração, que eram pausas necessárias para renovar as energias e tornar a rotina mais leve.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (**CAPES**), pelo fomento à pesquisa através da bolsa de estudos, sem a qual a dedicação exclusiva a este projeto não teria sido possível.

Esta dissertação é a materialização de um sonho que não construí sozinho. Cada um de vocês foi parte essencial desta conquista. **Graças ao que vocês são, eu pude ser quem eu tanto sonhei ser.**

Meu eterno muito obrigado.

RESUMO

A busca por insumos que aumentem a sustentabilidade agrícola, como a combinação de adubação verde e nanofertilizantes, é uma alternativa à alta dependência de fertilizantes convencionais. Nesse contexto, foram avaliados os efeitos de quatro nanofertilizantes à base de nanopartículas carbonáceas sobre a nutrição e a fixação biológica de nitrogênio (FBN) em três leguminosas utilizadas como adubo verde: *Crotalaria juncea*, *Phaseolus lunatus* e *Arachis pintoi*. Os nanofertilizantes (Arbolina, B50, 5050 e 703020) foram desenvolvidos pela UnB em parceria com a empresa Krilltech. As leguminosas foram cultivadas em vasos, sendo analisados: biomassa seca total, biomassa específica dos nódulos, teor de nutrientes, razões isotópicas de $\delta^{15}\text{N}$, percentual de nitrogênio derivado do ar, quantidade de nitrogênio fixado e características dos nódulos. *P. lunatus* foi a leguminosa mais produtiva, gerando mais biomassa e acumulando mais N que as demais espécies. Por sua vez, *C. juncea* destacou-se ao responder positivamente à aplicação de Arbolina, que dobrou sua produção de biomassa em comparação ao controle. Por outro lado, as aplicações de Arbolina e de 5050 levaram a menores produções de biomassas radiculares que o controle e menores concentrações de Fe. As concentrações de outros elementos (N, P, Ca, Mg, Zn, Mn), em geral, não diferiram com os tratamentos. As relações C/N em torno de 20 são adequadas para adubos verdes e não tiveram grandes influências dos tratamentos. Todas as leguminosas tiveram altas proporções de N fixado (mínimo de 77%), sem influência dos nanofertilizantes. *C. juncea* teve as maiores biomassas específicas de nódulos. O uso de *P. lunatus* como adubo verde é altamente recomendável e os nanofertilizantes Arbolina e 5050 alternativas promissoras, especialmente quando associados à *C. juncea*.

Palavras-chave: crotalária, fava, amendoim forrageiro, simbiose, isótopos estáveis.

ABSTRACT

The search for inputs that increase agricultural sustainability, such as the combination of green manure and nanofertilizers, is an alternative to the high dependency on conventional fertilizers. In this context, the effects of four carbonaceous nanoparticle-based nanofertilizers on nutrition and biological nitrogen fixation (BNF) were evaluated in three legumes used as green manure: *Crotalaria juncea*, *Phaseolus lunatus*, and *Arachis pinto*i. The nanofertilizers (Arbolina, B50, 5050, and 703020) were developed by the University of Brasília (UnB) in partnership with the company Krilltech. The legumes were cultivated in pots, and the following parameters were analysed: total dry biomass, specific nodule biomass, nutrient content, isotopic ratios of $\delta^{15}\text{N}$, percentage of nitrogen derived from the atmosphere, amount of fixed nitrogen, and nodule characteristics. *P. lunatus* was the most productive legume, generating more biomass and accumulating more N than the other species. In turn, *C. juncea* stood out by responding positively to the application of Arbolina, which doubled its biomass production compared to the control. On the other hand, the applications of Arbolina and 5050 led to lower root biomass than the control and lower Fe concentrations. The concentrations of other elements (N, P, Ca, Mg, Zn, Mn) generally did not differ among treatments. C/N ratios around 20 are suitable for green manure and were not greatly influenced by the treatments. All legumes showed high proportions of fixed N (minimum of 77%), with no influence from the nanofertilizers. *C. juncea* had the highest specific nodule biomass. The use of *P. lunatus* as green manure is highly recommended, and the nanofertilizers Arbolina and 5050 are promising alternatives, especially when associated with *C. juncea*.

Keywords: *Crotalaria*, Lima bean, Forage peanut, Symbiosis, Stable isotopes

Lista de Abreviaturas e Siglas

Sigla	Significado
--------------	--------------------

FBN	Fixação biológica de nitrogênio
%N _{da}	Percentual de nitrogênio derivado do ar
C/N	Relação carbono/nitrogênio
N	Nitrogênio
C	Carbono
P	Fósforo
K	Potássio
Ca	Cálcio
Mg	Magnésio
Fe	Ferro
Mn	Manganês
Zn	Zinco
$\delta^{15}\text{N}$	Razão isotópica do isótopo de nitrogênio-15
UNB	Universidade Nacional de Brasília
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco

Índice de Ilustração

Figura 1: Experimento montado na casa de vegetação do Departamento de Energia Nuclear da Universidade Federal de Pernambuco (DEN-UFPE), em Recife, PE.	21
Figura 2 - Nódulos de <i>Phaseolus lunatus</i> L. (sem escala) em plantas cultivadas em vasos com Espodossolo, em casa de vegetação, em Recife, PE.	34
Figura 3 - Raíz lavada de <i>Phaseolus lunatus</i> L. (sem escala) de plantas cultivadas em vasos com Espodossolo, em casa de vegetação, em Recife, PE.	34
Figura 4 - Raíz de <i>Arachis pinto</i> i Krapov. & W.C. Gregory. (sem escala) em plantas cultivadas em vasos com Espodossolo, em casa de vegetação, em Recife, PE.	35
Figura 5 - Pequenos nódulos, porém numerosos de <i>Arachis pinto</i> i Krapov. & W.C. Gregory. (sem escala) de plantas cultivadas em vasos com Espodossolo, em casa de vegetação, em Recife, PE.	35
Figura 6 - Raízes de <i>Crotalaria juncea</i> L. com presença de nódulos (sem escala) de plantas cultivadas em vasos com Espodossolo, em casa de vegetação, em Recife, PE.	36
Figura 7 - Nódulos de <i>Crotalaria juncea</i> L. (sem escala) de plantas cultivadas em vasos com Espodossolo, em casa de vegetação, em Recife, PE.	36

Índices de Tabelas

Tabela 1 - Atributos do Espodossolo coletado na camada de 0 – 0,2 m, na Estação Experimental de Itapirema, Goiana, PE, utilizado no experimento em casa de vegetação.....	23
Tabela 2 - Biomassa (g vaso ⁻¹) da parte aérea de espécies de leguminosas cultivadas em casa de vegetação sem (0) ou com quatro nanofertilizantes, em Recife, PE.	26
Tabela 3 - Biomassa extrapolada para um hectare (Kg ha ⁻¹) da parte aérea de espécies de leguminosas cultivadas em casa de vegetação sem (0) ou com quatro nanofertilizantes, em Recife, PE.	26
Tabela 4- Biomassa (g vaso ⁻¹) das raízes de espécies de leguminosas cultivadas em casa de vegetação sem (0) ou com quatro nanofertilizantes, em Recife, PE.	27
Tabela 5 – Concentrações de nitrogênio (g Kg ⁻¹ de MS) na parte aérea de espécies de leguminosas cultivadas em casa de vegetação sem (0) ou com quatro nanofertilizantes, em Recife, PE.	27
Tabela 6 – Concentrações de fósforo (g Kg ⁻¹ de MS) na parte aérea de espécies de leguminosas cultivadas em casa de vegetação sem (0) ou com quatro nanofertilizantes, em Recife, PE.	28
Tabela 7 - Concentrações de potássio (g Kg ⁻¹ de MS) na parte aérea de espécies de leguminosas cultivadas em casa de vegetação sem (0) ou com quatro nanofertilizantes, em Recife, PE.	28
Tabela 8 – Concentrações de cálcio (g Kg ⁻¹ de MS) na parte aérea de espécies de leguminosas cultivadas em casa de vegetação sem (0) ou com quatro nanofertilizantes, em Recife, PE.	28
Tabela 9 – Concentrações de magnésio (g Kg ⁻¹ de MS) na parte aérea de espécies de leguminosas cultivadas em casa de vegetação sem (0) ou com quatro nanofertilizantes, em Recife, PE.	29
Tabela 10 - Concentrações de zinco (mg Kg ⁻¹ de MS) na parte aérea de espécies de leguminosas cultivadas em casa de vegetação sem (0) ou com quatro nanofertilizantes, em Recife, PE.	29
Tabela 11 – Concentrações de manganês (mg Kg ⁻¹ de MS) na parte aérea de espécies de leguminosas cultivadas em casa de vegetação sem (0) ou com quatro nanofertilizantes, em Recife, PE.	29
Tabela 12 – Concentrações de ferro (mg Kg ⁻¹ de MS) na parte aérea de espécies de leguminosas cultivadas em casa de vegetação sem (0) ou com quatro nanofertilizantes, em Recife, PE.	30
Tabela 13 – Quantidades de N, extrapoladas para 1 ha (Kg ha ⁻¹), na parte aérea de espécies de leguminosas cultivadas em casa de vegetação sem (0) ou com quatro nanofertilizantes, em Recife, PE.	31
Tabela 14 – Relação C/N na parte aérea de espécies de leguminosas cultivadas em casa de vegetação sem (0) ou com quatro nanofertilizantes, em Recife, PE.	31
Tabela 15 – Sinal isotópico de N na parte aérea de espécies de leguminosas e de espécie de referência (não fixadora de N) cultivadas em casa de vegetação sem (0) ou com quatro nanofertilizantes, em Recife, PE.....	32

Tabela 16 – Proporção de N nas plantas derivado da fixação simbiótica de N (%N _{dda}) cultivadas em casa de vegetação sem (0) ou com quatro nanofertilizantes, em Recife, PE.	32
Tabela 17 - Quantidades de N nas plantas derivado da fixação simbiótica extrapoladas para 1 ha na parte aérea de espécies de leguminosas cultivadas em casa de vegetação sem (0) ou com quatro nanofertilizantes, em Recife, PE.	33
Tabela 18 – Biomassa específica de nódulos (mg nódulo ⁻¹) nas raízes de espécies de leguminosas cultivadas em casa de vegetação sem (0) ou com quatro nanofertilizantes, em Recife, PE.	33

Sumário

1.	Introdução	14
1.1	Objetivo geral	15
2.	Revisão de Literatura	16
2.1	Uso de fertilizantes tradicionais.....	16
2.2	Adubação verde	17
2.3	Fixação biológica de nitrogênio (FBN)	17
2.4	Nanofertilizantes	19
3.	Metodologia.....	21
3.1	Local e delineamento	21
3.2	Os nanofertilizantes.....	22
3.3	Plantio, condução e colheita	22
3.4	Análises das plantas	24
3.5	Cálculos de produções e análises estatísticas	25
4.	Resultados e Discussão.....	26
4.1	Biomassa da parte aérea e das raízes.....	26
4.2	Concentrações de nutrientes na parte aérea	27
4.3	Conteúdo de N e relação C/N nas plantas	31
4.4	Fixação biológica de nitrogênio.....	32
4.5	Biomassa específica e características dos nódulos	33
5.	Conclusões	37
	Referências	38

1. Introdução

Estima-se que a demanda mundial por alimento cresça em 50% até 2050 (FAO, 2017). O Brasil contribui com uma proporção significativa do suprimento desta demanda, mas a produção depende do uso intensivo de fertilizantes (ANDA, 2019). A produção nacional de fertilizantes é relativamente baixa e cerca de 70% do consumo nacional de fertilizantes são importados, levando à procura por novas fontes de nutrientes para as culturas brasileiras (ANDA, 2019). Também têm sido buscadas alternativas de manejo agrícola para aumentar a produtividade de forma sustentável, o que Davis et al. (2016) chamaram de “intensificação sustentável”.

As práticas agroecológicas chegaram para minimizar os impactos ambientais e manter a produtividade sem depreciar o crescimento e o desenvolvimento vegetal (BRITO et al., 2017; SILVA et al., 2017). Dentre essas práticas está a adubação verde, que consiste em utilizar espécies vegetais em rotação, sucessão ou consorciação com outras culturas comerciais, com o objetivo de melhorar, manter e recuperar as propriedades do solo (CARDOSO et al. 2014).

As espécies de leguminosas são as mais utilizadas na adubação verde porque incorporam grandes quantidades de nitrogênio no solo no processo de fixação biológica de N (FBN) em simbiose com bactérias diazotróficas (BARRADAS, 2010; FONTANETTI et al., 2006; OLIVEIRA, 2014). Além disso, promovem o aumento da atividade biológica do solo (PADOVAN et al. 2013), acumulam e mineralizam altas quantidades de NPK no solo, gerando matéria orgânica com uma boa relação C/N (LEITE, 2022), e contribuem para a infiltração de água e difusão de gases (BENNIE, 1996), melhorando a fertilidade e a produtividade do solo (PAULA et al., 2015).

Certificar cientificamente a eficácia e eficiência das fontes alternativas de nutrientes para as culturas é uma necessidade do mercado mundial de cultivo orgânico que carece de mais normas padronizadas (PEIXOTO et al., 2008). Enquanto a agricultura orgânica é voltada para substituir insumos utilizados na agricultura convencional, a agricultura de base ecológica está pautada em processos ecológico-sustentáveis e procura intensificar as funções naturais livres do ecossistema (AMBROSANO et al., 2014). Diversas propostas têm sido lançadas quanto a inovações tecnológicas e, entre elas, estão os bioestimulantes de crescimento vegetal, que têm se mostrado promissores no aumento das produtividades agrícolas (ROUPHAEL; COLLA, 2020). Os nanofertilizantes e nanobioestimulantes são outras inovações que surgiram com o progresso da nanotecnologia e que se tornaram uma solução aos desafios mundiais (AN et al., 2021) encarados pela agricultura (GIRALDO et al., 2019). Esses produtos nanotecnológicos são chamados, de forma genérica, de C-dots ou pontos de carbono, em tradução literal. Os C-dots são pequenas partículas de carbono com dimensões menores que 10 nm (USMAN, 2020; DONG, 2015; CANELLAS, 2014). Elas possuem uma estrutura composta principalmente por carbono e hidrogênio, sendo seu núcleo formado por uma região de carbono altamente ordenada, chamada de domínio poliaromático, e uma borda de carbono desordenada. O núcleo contém átomos de carbono hibridizados em sp² (estrutura grafitica), enquanto as bordas contêm carbonos com hibridização sp² e sp³ (FARIA, 2021).

Há uma discussão na comunidade científica se os C-dots são biofertilizantes ou bioestimulantes. Butruille (2021) fez uma rigorosa análise da definição de bioestimulante e verificou que a definição dos C-dots foi-se aperfeiçoando ao longo dos anos, tendo até algumas diferenças por continentes ou regiões do mundo. Segundo Faria (2021), os C-dots-N agem como nanofertilizantes e bioestimulantes, podendo carrear nutrientes, ser o fertilizante de fato, interagir bem com as proteínas das plantas, sendo potencializador de fotossíntese (quando o produto transforma a luz solar prejudicial à planta em luz azul), garantindo mais resistência ao estresse hídrico, ou seja, melhorando o metabolismo da planta sem causar prejuízo ambiental.

Os efeitos que podem ser obtidos pela aplicação dos C-dots em plantas, segundo Kang et. al. (2019), são: promoção da germinação de sementes; promoção do alongamento da raiz; aumento da absorção dos nutrientes iônicos; melhoramento da atividade de enzimas (aumento em 42% da atividade da proteína RuBisCO); afrouxamento da estrutura do DNA e impacto nas expressões gênicas; aumento da resistência a doenças de plantas; melhoramento da fixação de carbono; facilitação da metabolização rápida pelas plantas de forma semelhante aos hormônios; fonte de CO₂, que pode ser posteriormente convertido em carboidratos através do ciclo de Calvin de fotossíntese.

Dessa forma, o objetivo deste trabalho é testar, combinadamente, a utilização de quatro biofertilizantes de nanopartículas carbonáceas e três espécies de leguminosas recomendadas para adubação verde, verificando se há interação nos efeitos sobre a produtividade das plantas, suas capacidades de fixação biológica de N e suas absorções de outros nutrientes do solo, incluindo macro e micronutrientes.

1.1 Objetivo geral

Avaliar os efeitos de quatro nanofertilizantes / nanoestimulantes carbonáceos (Arbolina, B50, 5050 e 703020) sobre a produção de biomassa, a fixação biológica de nitrogênio e as absorções de macro e micronutrientes do solo em três espécies de leguminosas com potencial de uso como adubação verde: *Crotalaria juncea* L., *Phaseolus lunatus* L. e *Arachis pintoi* Krapov. & W.C. Gregory.

2. Revisão de Literatura

2.1 Uso de fertilizantes tradicionais

De acordo com a Pesquisa Setorial - ANDA, em 2021 o setor agrícola brasileiro consumiu 46 milhões de toneladas de fertilizantes, sendo que 85% foram importados. A maior parte desse consumo, representando 73%, foi destinada à adubação das três principais culturas do país: soja, milho e cana-de-açúcar. Com base nas perspectivas de aumento da área cultivada dessas culturas para atender à demanda aquecida do mercado global, espera-se que a demanda por fertilizantes continue a crescer no Brasil.

O Governo Federal lançou o Plano Nacional de Fertilizantes, que tem como objetivo reduzir a dependência dos produtores rurais brasileiros em relação aos fertilizantes importados. Esse plano serve como uma referência para o setor até 2050 (Portal de Notícia do Governo, 2022). A meta estabelecida pelo Plano Nacional de Fertilizantes é diminuir a dependência das importações de fertilizantes dos atuais 85% para 45% até 2050, mesmo diante de uma projeção de duplicação da demanda por fertilizantes nesse período.

No Brasil, o principal nutriente utilizado pelos produtores é o potássio (38%), seguido pelo fósforo (33%) e pelo nitrogênio (29%), sendo os fertilizantes majoritariamente importados de países como Rússia, China, Canadá, Marrocos e Bielorrússia (ANDA, 2022). Segundo a Conab (2022), os fertilizantes representam entre 30% e 40% dos custos variáveis na produção de culturas como soja, milho e trigo. No entanto, esse percentual pode variar dependendo da região produtora e do produto analisado. Isso indica que os fertilizantes têm um impacto significativo nos gastos totais dos agricultores nessas culturas.

Os fertilizantes nitrogenados industrializados apresentam como principais vantagens a disponibilidade imediata para as plantas e o custo energético de absorção pela planta, inferior ao custo do N obtido pelo processo biológico. Porém, apresentam desvantagens importantes, como gasto energético elevado necessário para a síntese química de amônia; gasto com tecnologia e mão de obra envolvidas na indústria; gasto com transporte até o campo e com a aplicação do fertilizante; baixa eficiência de utilização pelas plantas (raramente mais do que 50% do fertilizante aplicado é aproveitado, sendo perdido por desnitrificação, nitrificação e lixiviação); poluição de lagos e rios e emissão de gases de efeito estufa (LIMA FILHO et al., 2023, p. 329, adaptado de HUNGRIA et al., 1994).

Os fertilizantes tradicionais tornar-se-ão escassos e o desgaste ambiental de sua produção e uso tornar-se-ão mais amplos. Um exemplo de produção que causa desgaste ambiental são os fertilizantes nitrogenados que são fabricados em indústrias usando gás natural ou nafta, que são combustíveis fósseis conhecidos por contribuir para o aquecimento global (BBC, 2022). Diante deste panorama, são necessárias pesquisas que objetivem diminuir a necessidade de fertilizantes tradicionais ou sua substituição por fontes alternativas em larga escala. Algumas práticas promissoras são os sistemas agroflorestais, o plantio direto, a utilização do processo de fixação biológica de nitrogênio (FBN) e os nanofertilizantes.

2.2 Adubação verde

A adubação verde tem como principal objetivo contribuir para o aumento da fertilidade dos solos e, conseqüentemente, aumentar a produtividade agrícola. Nesse sentido, as leguminosas são amplamente utilizadas devido à sua capacidade de fornecer nitrogênio adicional. Isso ocorre devido ao alto teor de compostos orgânicos nitrogenados em sua biomassa e à capacidade de fixação simbiótica de nitrogênio (FBN) do ar por bactérias do grupo dos rizóbios. Essas bactérias formam nódulos nos sistemas radiculares das leguminosas, que são bem ramificados e têm a capacidade de se desenvolver em profundidade (LIMA FILHO et al., 2023).

Com base no conhecimento mais detalhado das plantas utilizadas e de sua capacidade de adaptação regional, os adubos verdes também desempenham um papel na recuperação da fertilidade dos solos tropicais em diversos sistemas de produção. Isso ocorre por meio da produção de biomassa vegetal e do ciclo de nutrientes no perfil do solo, além de outras finalidades, como a conservação do solo e a preservação da qualidade ambiental (LIMA FILHO et al., 2023).

Uma das principais finalidades da adubação verde é produzir biomassa com teores elevados de nutrientes, especialmente nitrogênio, mas também fósforo, potássio, cálcio e micronutrientes. Há um grande interesse em disponibilizar esses elementos para o sistema agrícola e, portanto, para as espécies de maior valor econômico cultivadas em sequência, em rotação ou simultaneamente, por meio de sistemas consorciados, intercalados ou em faixas (LIMA FILHO et al., 2023).

2.3 Fixação biológica de nitrogênio (FBN)

A fixação biológica do nitrogênio (FBN) é um processo vital para a nutrição das plantas, realizado por microrganismos que possuem a enzima nitrogenase funcional. Esta enzima converte o nitrogênio atmosférico em uma forma utilizável pelas plantas, fornecendo-lhes uma fonte essencial deste elemento. A FBN desempenha um papel fundamental na natureza, sendo a principal via de incorporação de nitrogênio na biosfera. Depois da fotossíntese, é o processo biológico mais importante para as plantas e desempenha um papel crucial para a vida na Terra (LIMA FILHO et al., 2023). É essencial manter o equilíbrio na fertilidade do solo e a disponibilidade de nitrogênio durante a decomposição da matéria orgânica. Na fitomassa das leguminosas, a concentração de N é maior que na maioria das outras plantas, expressa pela relação C:N, com valor médio de 20. (LIMA FILHO et al., 2023).

A simbiose entre leguminosas e rizóbios é resultado de uma interação bioquímica altamente específica e coordenada, que depende da compatibilidade entre a planta hospedeira e as estirpes bacterianas disponíveis no solo. O processo tem início com a exsudação de flavonoides pela raiz da planta, os quais ativam genes nod nos rizóbios compatíveis, levando à produção de fatores Nod. Estes, por sua vez, são reconhecidos pela planta e induzem a formação de fios de infecção — estruturas especializadas pelos quais as bactérias penetram na raiz, a partir dos pelos radiculares. Ao atingirem o córtex, as bactérias induzem a formação dos nódulos, onde se diferenciam em bacteroides fixadores de nitrogênio (OLDROYD & DOWNIE, 2008; HIRSCH, 1992). A simbiose é, portanto, guiada por sinais moleculares

recíprocos, mas o controle final da entrada e desenvolvimento do nódulo pertence à planta, que seleciona os rizóbios mais compatíveis e eficientes, com base em mecanismos de reconhecimento e recompensa simbiótica (KINKEMA et al., 2006; OLDROYD, 2013).

A FBN nas leguminosas permite produzir um excedente desse nutriente, dispensando a adubação nitrogenada. Estudos mostram que de 12% a 40% do nitrogênio fixado pode ser aproveitado por outras culturas, dependendo do tipo de solo (DANTAS et al., 2019; LIMA FILHO et al., 2023). Para uma nodulação adequada, é necessário corrigir o solo e fornecer nutrientes essenciais. A inoculação das sementes pode ser recomendada no primeiro ano de cultivo, mas em cultivos sucessivos pode não ser necessária devido à presença de estirpes nativas de rizóbios no solo. No entanto, em algumas situações, a inoculação pode não resultar em aumentos significativos na FBN. É importante destacar que deficiências de nitrogênio podem surgir quando as leguminosas são cultivadas fora do período ideal. Em áreas previamente cultivadas com leguminosas, observa-se nodulação abundante em plantas de *Cajanus cajan* L. Millsp. (guandu) e de *Crotalaria juncea*, garantindo um suprimento adequado de nitrogênio em qualquer época de semeadura. O *Dolichos lablab*, por sua vez, apresenta uma capacidade inferior de fixação de nitrogênio que outras leguminosas, especialmente quando semeado tardiamente no outono (LIMA FILHO et al., 2023).

Ambrosano et al. (2009) conduziram um experimento em vasos de casa de vegetação e determinaram valores médios de aproveitamento de nitrogênio na parte aérea de plantas de milho após o cultivo da *Stizolobium aterrimum* Piper & Tracy (mucuna preta) e da *C. juncea*. Os resultados revelaram um aproveitamento médio de 45,1% de nitrogênio após o cultivo da mucuna preta e 37,8% após o cultivo da *C. juncea*. Essas medições foram realizadas em Latossolo Vermelho-Escuro e Argissolo Vermelho-Amarelo, sendo o último tipo de solo responsável por um maior aproveitamento de nitrogênio. Perin et al. (2006) observaram que, após o cultivo exclusivo da *C. juncea*, aproximadamente 15% do nitrogênio fixado foi recuperado em grãos de *Zea mays* L. (milho). Em relação aos resíduos da *C. juncea*, cerca de 50% dos aproximadamente 170 kg ha⁻¹ de nitrogênio presentes foram liberados para o ambiente em um período de 15 dias.

A utilização do processo de FBN pelos agricultores apresenta como vantagens o menor custo para o agricultor, quando comparado ao uso de fertilizantes químicos; a diminuição dos problemas ambientais e a manutenção da fertilidade do solo. Algumas desvantagens são a possibilidade de crescimento mais lento de plantas dependentes da FBN, pois precisam enviar fotoassimilados para o metabolismo das bactérias; diferenças na eficiência entre estirpes de bactérias, genótipos de plantas e nos tipos de associações bactérias-genótipos quanto à capacidade de FBN; maior suscetibilidade das plantas aos estresses ambientais (LIMA FILHO et al., 2023, p. 329, adaptado de HUNGRIA et al., 1994; PACHECO, 2014; DANTAS, 2022).

A fixação de N no processo simbiótico das leguminosas tem sido estimada por várias técnicas, sendo uma das mais importantes a técnica isotópica, baseada na abundância natural do nitrogênio (¹⁵N). O ¹⁵N é um isótopo estável do nitrogênio e sua abundância natural varia entre diferentes fontes de nitrogênio, como o atmosférico e o do solo. A metodologia da abundância natural do ¹⁵N baseia-se na comparação entre a abundância de ¹⁵N de uma espécie fixadora de nitrogênio, que obtém nitrogênio do

ar em adição às fontes de nitrogênio do solo, e a abundância de uma espécie referência não fixadora, que conta apenas com o nitrogênio derivado do solo (SHEARER; KOHL, 1986)

2.4 Nanofertilizantes

Os nanofertilizantes são insumos agrícolas que contêm nutrientes essenciais para as plantas em escala nanométrica, ou seja, entre 1 e 100 nanômetros. Eles podem aumentar a eficiência dos sistemas produtivos, reduzir os custos de produção e diminuir os impactos ambientais causados pelo uso excessivo de fertilizantes convencionais (FARIA, 2021). No Brasil, os nanofertilizantes são regulamentados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), que estabelece as regras sobre definições, exigências, especificações, garantias, registro, embalagem e rotulagem dos fertilizantes orgânicos e dos biofertilizantes.

A nanotecnologia C-dot é uma técnica que utiliza pontos quânticos de carbono (C-dots) como fonte de carbono para as plantas. Os C-dots são nanopartículas fluorescentes de carbono que podem ser produzidas a partir de diversas matérias-primas orgânicas, como açúcares, polímeros ou biomassa. Eles têm propriedades ópticas, eletrônicas e mecânicas que podem ser moduladas pela variação do tamanho, da forma e da composição química. Além disso, eles podem ser funcionalizados com outros elementos ou moléculas para aumentar sua interação com as plantas ou com outros organismos (FARIA, 2021).

A nanotecnologia C-dots-N é uma variação da nanotecnologia C-dot que utiliza pontos quânticos de carbono dopados com nitrogênio (C-dots-N) como fonte de carbono e nitrogênio para as plantas. Os C-dots-N podem ser produzidos a partir de fontes orgânicas ricas em nitrogênio, como ureia, melanina ou aminoácidos. Eles apresentam maior fluorescência e maior estabilidade do que os C-dots sem nitrogênio (FARIA, 2021).

Um exemplo de nanofertilizante baseado na nanotecnologia C-dots-N é o produto Arbolina, desenvolvido pela Embrapa Agroenergia em parceria com a Universidade de Brasília. A Arbolina é um biofertilizante à base de nanopartículas de carbono obtidas a partir da pirólise hidrotermal da biomassa lignocelulósica. Ele contém cerca de 10% de nitrogênio em sua composição e pode ser aplicado via foliar ou radicular nas culturas agrícolas. Experimento de FARIA (2021) mostrou que os melhores resultados foram pela aplicação via substrato. A Arbolina tem como finalidade aumentar a produtividade e a qualidade das plantas, além de reduzir o estresse hídrico e salino. Ela pode favorecer o metabolismo da planta e converte os raios nocivos do sol em luz azul que é favorável ao desenvolvimento da planta. Ela também tem potencial para atuar como nanobioestimulante, pois pode induzir respostas fisiológicas benéficas nas plantas (FARIA, 2021).

As características do produto Arbolina são: forma física de fluido, cor marrom escuro, odor característico, pH 6,5 a 7,5, densidade de $1,05 \text{ g ml}^{-1}$, teor de carbono orgânico de 30%, teor de nitrogênio total de 10%, teor de umidade de 60%, solubilidade total em água, estabilidade de 24 meses. A capacidade de oferta do produto Arbolina depende da disponibilidade da matéria-prima (biomassa lignocelulósica) e da escala de produção do processo de pirólise hidrotermal. Com

uma estrutura (fábrica) de 50 m², é possível produzir 200 mil litros de arbolina por mês – volume suficiente para 100 mil hectares de lavoura (FARIA, 2021).

Os resultados do trabalho de Faria (2021) sobre C-dots-N mostraram que esse tipo de nanomaterial apresenta alta eficiência na absorção e na translocação dos nutrientes pelas plantas, além de promover o aumento da biomassa, da fotossíntese e da resistência ao estresse abiótico. Em testes realizados com diferentes culturas (milho, soja, trigo, alface e tomate), o C-dots-N aumentou a produtividade em até 25% em relação ao controle sem fertilização. Além disso, o C-dots-N não apresentou toxicidade para as plantas ou para o ambiente, sendo considerado um nanofertilizante seguro e sustentável.

3. Metodologia

3.1 Local e delineamento

Um experimento foi conduzido em vasos (Figura 1), na casa de vegetação do Departamento de Energia Nuclear da Universidade Federal de Pernambuco (DEN-UFPE), seguindo um esquema fatorial 3 x 5, com delineamento em blocos casualizados, com quatro repetições. Os fatores foram as três espécies de leguminosas (*Crotalaria juncea*, *Phaseolus lunatus* e *Arachis pinto*) e quatro tipos de nanofertilizantes (Arbolina, B50, 5050 e 703020) e, mais um tratamento controle absoluto, sem aplicação de qualquer um dos biofertilizantes. Adicionalmente, foram plantados cinco vasos com *Helianthus annuus* L. (girassol), com os cinco tratamentos de nanofertilizantes e mais o controle, para servir como planta de referência nos cálculos da fixação simbiótica de N.



Figura 1: Experimento montado na casa de vegetação do Departamento de Energia Nuclear da Universidade Federal de Pernambuco (DEN-UFPE), em Recife, PE.

3.2 Os nanofertilizantes

Arbolina é o nome comercial do bioestimulante desenvolvido pela UnB (BUTRUILLE, 2021), constituído de um material sólido de cor escura, quebradiço e solúvel em água, que se enquadra na classificação de fertilizante organomineral classe A (BRASIL, 2009). Porém, como é um sólido muito higroscópico é vendido em forma de uma solução aquosa concentrada de 400 gramas de C-dots-N por litro. Os demais biofertilizantes utilizados foram desenvolvidos e cedidos pela empresa Krilltech, estando ainda em fase de patente, sendo nomeados temporariamente de: B50, 5050 e 703020. O B50 é comercialmente conhecido como Krillgrowth e é composto por 50% de arbolina e 50% de borolina, tendo além de C pequenas quantidades de nitrogênio e boro. Foi lançado para uso exclusivo na cultura da cana de açúcar, tendo ação nas invertases. O 5050 é comercialmente conhecido como Krillbloom e é composto por 50% de arbolina e 50% de fosfolina, possuindo, além do C, pequenas quantidades de nitrogênio e fósforo. É indutor de floração e vai ser indicado para a cultura do algodão e para a fruticultura. O 702010 é composto por 70% de arbolina, 20%, de fosfolina e 10% de borolina, tendo, além de carbono, pequenas quantidades de nitrogênio, fósforo, boro, magnésio e zinco.

3.3 Plantio, condução e colheita

Os vasos eram de polietileno com 14 cm de diâmetro superior, 9 cm de diâmetro inferior e 12 cm de profundidade, com capacidade máxima de 1,25 litros, sendo cada um preenchido com 1,5 Kg de solo. Os vasos eram perfurados no fundo para drenagem da água de irrigação e o fundo revestido com Perfex para evitar que o solo pudesse ser perdido por lixiviação, uma vez que a textura do Espodossolo usado no experimento é arenosa. Amostras do Espodossolo, situado na Estação Experimental do IPA de Goiana, PE, foram coletadas da camada superficial (0 a 20 cm), secas ao ar, passadas em peneiras de 2 mm e, em seguida, subamostradas para determinação dos atributos químicos e físicos (Tabela 1), de acordo com metodologias sugeridas em Embrapa (2017): pH em água (proporção solo: água de 1: 2,5); sódio (Na^+), potássio (K^+) e fósforo (P) foram extraídos com solução Mehlich-1 e dosados por fotometria de emissão de chama (Na^+ e K^+) e colorimetria (P); cálcio (Ca^{2+}), magnésio (Mg^{2+}) e alumínio (Al^{3+}) foram extraídos com KCl 1 mol L⁻¹ e dosados por titulometria; a acidez potencial (H+Al) foi determinada com extração com acetato de cálcio 0,5 mol L⁻¹ e dosada por titulometria. As proporções de areia, silte e argila foram determinadas pelo método da pipeta; a densidade do solo (Ds), pelo método da proveta; e a densidade de partículas (Dp), pelo método do balão volumétrico. Para o experimento não foi realizada a correção de adubação, sendo conduzido com a fertilidade natural do solo.

Tabela 1 - Atributos do Espodossolo coletado na camada de 0 – 0,2 m, na Estação Experimental de Itapirema, Goiana, PE, utilizado no experimento em casa de vegetação.

P	pH	Ca	Mg	Na	K	Al	H	S	CTC	V	m
mg/dm ³	(H ₂ O)			cmolc/dm ³				cmolc/dm ³		%	
4	4,5	0,35	0,65	0,02	0,03	0,9	5,45	1,1	7,4	14	46

DENSIDADE (g/cm ³)		composição granulométrica (%)				argila natural (%)	grau floculação (%)	classe textural	umidade residual (%)
Dap	Dr	areia grossa	areia fina	silte	argila				
1,48	2,59	59	31	2	8	0	100	A	1,5

Sementes das espécies foram pré-germinadas em câmara úmida artesanal e, após sete dias de incubação, duas plântulas foram transplantadas para cada vaso, de acordo com os tratamentos. As plantas foram cultivadas por 66 dias. Durante este período, foram feitas três aplicações dos nanofertilizantes, na forma de soluções aquosas, sendo a primeira dividida em duas doses de 50 ml cada, nos dias 25 e 26 depois do plantio, a segunda, de 100 ml, 30 dias depois do plantio e a terceira, também de 100 ml, 52 dias depois do plantio. No período foram feitas 45 irrigações manuais com 100 ml cada, além das três que corresponderam à aplicação dos tratamentos com os nanofertilizantes. No tratamento controle, essas três irrigações, além das outras, foram feitas apenas com água.

As soluções aquosas dos biofertilizantes vieram da diluição dos concentrados de 400 g do biofertilizante por litro, passando para soluções de 0,320 g por litro, tendo sido colocados 0,8 ml do concentrado em 0,9998 L de água. Foram aplicados de cada vez, para cada vaso, 100 ml das soluções com as concentrações de 320 mg·L⁻¹. As aplicações substituíam as regas do dia. O volume, a concentração e o espaçamento em dias de aplicação da dose utilizada foram adaptados a partir de BUTRUILLE, (2021). A aplicação no solo foi considerada melhor que a aplicação via foliar, de acordo com BUTRUILLE, (2021), LEMOS, (2021) e FARIA (2021).

A colheita foi feita 66 dias depois do plantio. As plantas foram cortadas rente ao solo, fazendo-se depois a separação meticulosa das raízes do solo e o destaque dos nódulos das raízes para posterior contagem, pesagem e armazenamento em sílica gel até atingirem peso constante. As partes aéreas e suas respectivas raízes foram colocadas separadamente em sacos de papel, pesadas (peso fresco) e secas em estufa com circulação de ar forçada a 65°C por 72 horas (ou até atingirem peso constante). Após a secagem, as amostras foram pesadas novamente para determinar o peso seco. A biomassa específica dos nódulos (mg nódulo⁻¹) foi calculada dividindo-se a biomassa seca total de todos os nódulos pelo número de nódulos de cada bloco. Após pesagem, as amostras das plantas foram moídas e alíquotas foram retiradas para as análises químicas de macro e micronutrientes e a composição isotópica.

3.4 Análises das plantas

Alíquotas foram encaminhadas ao Laboratório de Solo do IF-Sertão, em Petrolina, PE, para análises químicas de macro e micronutrientes, e ao Laboratório de Ecologia Isotópica do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA) para determinação dos teores de C total (%), N total (%) e ^{15}N , por espectrometria de massa. No Laboratório de Solo, a digestão das amostras foi feita com uma mistura de H_2SO_4 concentrado e H_2O_2 (Thomas et al., 1967), conforme descrito por Teixeira et al. (2017). Os nutrientes foram quantificados usando espectrofotômetro UV (P), fotometria de chama (K) e absorção atômica (Ca, Mg, Cu, Zn, Fe e Mn), segundo a Embrapa (1999).

Para determinação das concentrações de C, N e seus isótopos no CENA, as amostras foram colocadas em cápsulas e inseridas em um espectrômetro de massa Thermo Quest-Finnigan Delta Plus (Finnigan-MAT; CA, USA), com interface com um Analisador Elementar (Carlo Erba model 1110; Milan, Italy). As razões isotópicas foram determinadas em relação aos padrões internacionais. Materiais de referência (atropina, extrato de levedura e padrão de solo no. 502 – 308 LECO Corporation) foram incluídos em todas as corridas analíticas. A abundância natural do ^{15}N foi expressa em unidades de δ (‰), que representa o desvio, em relação aos padrões, das razões entre as massas de ^{15}N e ^{14}N , segundo a equação:

$$\delta = (\text{Ramostra} / \text{Rpadrão} - 1) \times 1000$$

Em que: Ramostra e Rpadrão são as razões $^{15}\text{N}:^{14}\text{N}$ da amostra e do padrão, sendo o N_2 atmosférico o padrão de N.

Estimativas da FBN foram realizadas quando as diferenças entre as médias dos sinais de $\delta^{15}\text{N}$ das leguminosas e das plantas referências foram estatisticamente significativas ($p \leq 0,05$), conforme prática descrita por FREITAS (2012), DANTAS (2022) e OLIVEIRA (2021), em estudos baseados na metodologia original de SHEARER e KOHL (1986). Então, foi estimado o percentual de nitrogênio derivado do ar (%N_{dda}), utilizando o método da abundância natural do ^{15}N (SHEARER; KOHL, 1986) por meio da equação:

$$\% \text{N}_{\text{dda}} = 100 * [(\delta^{15}\text{N}(\text{referência}) - \delta^{15}\text{N}(\text{fixadora})) / \delta^{15}\text{N}(\text{referência}) - B]$$

Em que $\delta^{15}\text{N}(\text{referência})$ é o valor médio dos $\delta^{15}\text{N}$ das plantas referência de cada bloco, $\delta^{15}\text{N}(\text{fixadora})$ é o valor médio de $\delta^{15}\text{N}$ de cada leguminosa, e B é o valor $\delta^{15}\text{N}$ característico da parte aérea de plantas fixadoras cultivadas na ausência de nitrogênio mineral. Os valores de B utilizados foram os seguintes: para *C. juncea*, $B = -1,08\text{‰}$ (UNKOVICH, 2008); para *P. lunatus*, $B = -1,2\text{‰}$, conforme OKITO et al. (2004) e GUIMARÃES et al. (2008), e para *A. pintoi*, $B = -1,08\text{‰}$ (UNKOVICH, 2008).

3.5 Cálculos de produções e análises estatísticas

Os conteúdos de N e C em cada leguminosa foram determinados multiplicando as concentrações dos elementos pela biomassa correspondente. A quantidade de N fixado na parte aérea das plantas foi estimada multiplicando o valor de %Ndda pelo conteúdo de N de cada planta leguminosa. As produções por vaso das biomassas e das quantidades de N fixado foram extrapoladas para 1 ha considerando-se a área ocupada pela superfície do solo em cada vaso (de 153,94 cm² para 10000 m², ou seja, 6,5 x 10⁵ vezes maior).

Os vasos utilizados no experimento tinham formato troncocônico, com diâmetro superior de 14 cm e inferior de 9 cm. Foi adotado como referência o raio da superfície do vaso, já que no hectare também se considera a superfície do solo. Considerando o raio como tendo 0,07 m, a área do vaso teria:

$$A = \pi \times r^2 = 3,1416 \times (0,07)^2 \approx 0,0154 \text{ m}^2 \text{ ou } 153,94 \text{ cm}^2$$

Sendo assim cada vaso representava aproximadamente 0,0154 m². Para converter o valor de massa seca (em g vaso⁻¹) para kg ha⁻¹, utilizou-se a seguinte equação:

$$\text{kg ha}^{-1} = (\text{g vaso}^{-1} \div 1000) \times (10.000 \div 0,0154)$$

A constante de conversão resultante é igual a 649,350.

Os dados de biomassas das plantas e dos nódulos, concentrações e conteúdos de nutrientes, relação C/N, %Ndda e N fixado foram submetidos à análise de variância considerando-se o delineamento fatorial de 3 x 5, correspondendo às três espécies de leguminosas e aos cinco tratamentos dos quatro nanofertilizantes e mais o controle, com quatro repetições. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. Os dados de sinais isotópicos de N das leguminosas foram comparados um a um com os do girassol (planta de referência) pelo teste de t simples depois de normalizados, tomando-se o menor valor como igual a 1.

4. Resultados e Discussão

4.1 Biomassa da parte aérea e das raízes

O *P. lunatus* produziu mais biomassa na parte aérea que as outras duas espécies de leguminosas (Tabela 2). A *C. juncea* foi a única espécie a responder positivamente aos nanofertilizantes, com maior produção quando recebeu Arbolina que recebendo b50, 702010 ou sem nanofertilizante (Controle), mas não diferindo de 5050 (Tabela 2). A produção de *C. juncea* com arbolina foi o dobro da produção no tratamento controle. Nas outras duas espécies, as biomassas não diferiram com as aplicações ou não dos diferentes nanofertilizantes.

Tabela 2 - Biomassa (g vaso⁻¹) da parte aérea de espécies de leguminosas cultivadas em casa de vegetação sem (0) ou com quatro nanofertilizantes, em Recife, PE.

Espécie	Nanofertilizante											
	0		Arbolina		b50		5050		702010		Média Geral	
<i>Crotalaria juncea</i>	2,31	bB	5,70	aA	3,25	aB	4,13	aAB	2,38	bB	3,55	b
<i>Phaseolus lunatus</i>	5,44	aA	5,06	aA	4,92	aA	5,26	aA	6,81	aA	5,50	a
<i>Arachis pintoi</i>	3,55	abA	3,78	aA	3,13	aA	3,88	aA	3,35	bA	3,54	b
Média Geral	3,77	A	4,84	A	3,76	A	4,42	A	4,18	A		

Médias seguidas de letras iguais, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem significativamente.

Extrapolando a biomassa média de *P. lunatus* para 1 ha, levando em conta a área do vaso, seria de 3,57 Mg ha⁻¹, enquanto as médias de *C. juncea* e de *A. pintoi* seriam de 2,31 e 2,30 Mg ha⁻¹, respectivamente (Tabela 3).

Tabela 3 - Biomassa extrapolada para um hectare (Kg ha⁻¹) da parte aérea de espécies de leguminosas cultivadas em casa de vegetação sem (0) ou com quatro nanofertilizantes, em Recife, PE.

Espécie	Nanofertilizante					
	0	Arbolina	b50	5050	702010	Média Geral
<i>Crotalaria juncea</i>	1503 bB	3702 aA	2108 aB	2682 aAB	1546 bB	2308 b
<i>Phaseolus lunatus</i>	3530 aA	3284 aA	3193 aA	3414 aA	4422 aA	3569 a
<i>Arachis pintoi</i>	2304 abA	2032 aA	2032 aA	2518 aA	2174 bA	2296 b
Média Geral	2445 A	3146 A	2444 A	2872 A	2714 A	

Médias seguidas de letras iguais, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem significativamente.

Em geral, as biomassas das raízes das três espécies não diferiram significativamente com qualquer dos nanofertilizantes, mas foram maiores no tratamento controle que com a aplicação de arbolina e de 5050, não diferindo com a aplicação de b50 e 702010 (Tabela 4). Portanto, parece que a arbolina inibe o crescimento radicular, seja por algum efeito metabólico ou por interferir com a absorção de nutrientes. Esta inibição do crescimento radicular, contudo, diverge do que é frequentemente reportado na literatura sobre C-dots, que são geralmente associados à promoção do alongamento da raiz (KANG et al., 2019). Uma hipótese para explicar esta divergência é uma relação de compromisso na alocação de recursos: o estímulo bioestimulante da Arbolina pode ter sido tão intenso na parte aérea que a planta realocou a maior parte de sua energia para o crescimento de folhas e caules, em detrimento do investimento no sistema radicular.

Tabela 4- Biomassa (g vaso⁻¹) das raízes de espécies de leguminosas cultivadas em casa de vegetação sem (0) ou com quatro nanofertilizantes, em Recife, PE.

Espécie	Nanofertilizante										
	0		Arbolina		b50		5050		702010		Média Geral
<i>Crotalaria juncea</i>	3,01	aA	1,88	aA	3,07	aA	1,37	aA	3,54	aA	2,57 a
<i>Phaseolus lunatus</i>	2,98	aA	2,43	aA	2,80	aA	2,06	aA	2,75	aA	3,57 a
<i>Arachis pintoi</i>	2,23	aA	2,18	aA	1,80	aA	1,93	aA	1,86	aA	4,57 a
Média Geral	2,74	A	2,16	B	2,56	AB	1,79	B	2,72	AB	

Médias seguidas de letras iguais, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem significativamente.

4.2 Concentrações de nutrientes na parte aérea

As concentrações de N (Tabela 5), P (Tabela 6), K (Tabela 7) Ca (Tabela 8), Mg (Tabela 9), Zn (Tabela 10) e Mn (Tabela 11) na parte aérea das plantas não diferiram significativamente quando receberam os diferentes nanofertilizantes ou quando não receberam nenhum (controle ou 0).

Tabela 5 – Concentrações de nitrogênio (g Kg⁻¹ de MS) na parte aérea de espécies de leguminosas cultivadas em casa de vegetação sem (0) ou com quatro nanofertilizantes, em Recife, PE.

Espécie	Nanofertilizante											
	0		Arbolina		b50		5050		702010		Média Geral	
<i>Crotalaria juncea</i>	23,87	aA	22,96	aA	22,72	aA	25,27	aA	24,29	aA	23,82	a
<i>Phaseolus lunatus</i>	24,50	aA	26,18	aA	23,56	aA	22,19	aA	25,45	aA	24,37	a
<i>Arachis pintoi</i>	26,36	aA	24,78	aA	25,48	aA	27,16	aA	26,74	aA	26,10	a
Média Geral	24,91	A	24,64	A	23,92	A	24,87	A	25,49	A		

Médias seguidas de letras iguais, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem significativamente.

Tabela 6 – Concentrações de fósforo (g Kg^{-1} de MS) na parte aérea de espécies de leguminosas cultivadas em casa de vegetação sem (0) ou com quatro nanofertilizantes, em Recife, PE.

Espécie	Nanofertilizante											
	0		Arbolina		b50		5050		702010		Média Geral	
<i>Crotalaria juncea</i>	1,95	aA	1,86	aA	2,10	aA	2,14	aA	1,92	aA	1,99	a
<i>Phaseolus lunatus</i>	2,34	aA	2,22	aA	1,91	aA	2,07	aA	2,10	aA	2,13	a
<i>Arachis pintoi</i>	2,11	aA	1,96	aA	2,29	aA	2,30	aA	2,34	aA	2,20	a
Média Geral	2,13	A	2,01	A	2,10	A	2,17	A	2,12	A		

Médias seguidas de letras iguais, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem significativamente.

Tabela 7 - Concentrações de potássio (g Kg^{-1} de MS) na parte aérea de espécies de leguminosas cultivadas em casa de vegetação sem (0) ou com quatro nanofertilizantes, em Recife, PE.

Espécie	Nanofertilizante											
	0		Arbolina		b50		5050		702010		Média Geral	
<i>Crotalaria juncea</i>	3,46	aA	3,68	aA	3,10	aA	3,15	aA	2,81	aA	3,24	b
<i>Phaseolus lunatus</i>	3,66	aA	4,98	aA	3,70	aA	3,78	aA	3,74	aA	3,97	a
<i>Arachis pintoi</i>	2,96	aA	2,86	aA	2,95	aA	3,28	aA	2,74	aA	2,96	b
Média Geral	3,36	A	3,84	A	3,25	A	3,40	A	3,10	A		

Médias seguidas de letras iguais, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem significativamente.

Tabela 8 – Concentrações de cálcio (g Kg^{-1} de MS) na parte aérea de espécies de leguminosas cultivadas em casa de vegetação sem (0) ou com quatro nanofertilizantes, em Recife, PE.

Espécie	Nanofertilizante											
	0		Arbolina		b50		5050		702010		Média Geral	
<i>Crotalaria juncea</i>	3,79	aA	3,19	aA	3,43	aA	3,61	aA	3,52	aA	3,51	a
<i>Phaseolus lunatus</i>	3,01	aA	2,88	aA	3,22	aA	2,83	aA	2,94	aA	2,98	b
<i>Arachis pintoi</i>	3,57	aA	3,18	aA	3,23	aA	3,44	aA	3,52	aA	3,39	a
Média Geral	3,46	A	3,08	A	3,29	A	3,29	A	3,33	A		

Médias seguidas de letras iguais, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem significativamente.

Tabela 9 – Concentrações de magnésio (g Kg^{-1} de MS) na parte aérea de espécies de leguminosas cultivadas em casa de vegetação sem (0) ou com quatro nanofertilizantes, em Recife, PE.

Espécie	Nanofertilizante											
	0		Arbolina		b50		5050		702010		Média Geral	
<i>Crotalaria juncea</i>	6,24	aA	5,73	aA	5,78	aA	6,14	aA	5,63	aA	5,90	b
<i>Phaseolus lunatus</i>	4,47	aA	4,58	aA	4,55	aA	4,71	aA	4,26	aA	4,51	c
<i>Arachis pintoi</i>	7,81	aA	7,37	aA	7,92	aA	8,63	aA	8,33	aA	8,01	a
Média Geral	6,17	A	5,89	A	6,08	A	6,49	A	6,07	A		

Médias seguidas de letras iguais, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem significativamente.

Tabela 10 - Concentrações de zinco (mg Kg^{-1} de MS) na parte aérea de espécies de leguminosas cultivadas em casa de vegetação sem (0) ou com quatro nanofertilizantes, em Recife, PE.

Espécie	Nanofertilizante											
	0		Arbolina		b50		5050		702010		Média Geral	
<i>Crotalaria juncea</i>	90,30	aA	75,05	aA	75,20	aA	76,65	aA	74,50	aA	78,34	a
<i>Phaseolus lunatus</i>	51,90	aA	51,75	aA	52,70	aA	48,40	aA	49,85	aA	50,92	c
<i>Arachis pintoi</i>	59,70	aA	54,65	aA	53,15	aA	62,00	aA	55,27	aA	56,95	b
Média Geral	67,30	A	60,48	A	60,35	A	62,35	A	59,87	A		

Médias seguidas de letras iguais, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem significativamente.

Tabela 11 – Concentrações de manganês (mg Kg^{-1} de MS) na parte aérea de espécies de leguminosas cultivadas em casa de vegetação sem (0) ou com quatro nanofertilizantes, em Recife, PE.

Espécie	Nanofertilizante											
	0		Arbolina		b50		5050		702010		Médias Gerais	
<i>Crotalaria juncea</i>	115,2	aA	94,45	aA	110,7	aA	117,35	aA	109,75	aA	109,49	a
<i>Phaseolus lunatus</i>	66,2	bA	70,55	aA	75	aA	86,2	aA	79,55	aA	75,50	b
<i>Arachis pintoi</i>	109,75	aA	99,2	aA	112,35	aA	122,9	aA	116	aA	112,04	a
Média Geral	97,05	A	88,07	A	99,35	A	108,82	A	101,77	A		

Médias seguidas de letras iguais, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem significativamente.

Por outro lado, as concentrações de Fe (Tabela 12) no tratamento controle foram maiores de que com a aplicação de Arbolina e 5050, não diferindo de b50 e 702010. Assim, as pequenas quantidades de P no nanofertilizante 5050 e de P, Mg e Zn no 702010 não influenciaram as concentrações nas plantas. Por outro lado, as aplicações de arbolina e de 5050 parecem ter inibido a absorção de Fe. Essa inibição pode ser uma consequência direta da redução da biomassa radicular observada (Tabela 4), uma vez que a capacidade de uma planta de absorver nutrientes está diretamente correlacionada com a área de superfície e a saúde de seu sistema radicular. Este resultado contrasta com a expectativa geral de que os C-dots poderiam aumentar a absorção de nutrientes iônicos, como mencionado por Kang et al. (2019).

Comparando as leguminosas, também não houve diferenças significativas quanto a N, P e Fe, mas *P. lunatus* tendeu a separar-se das outras duas espécies, ora com maior K (Tabela 7) ora com menores concentrações de Ca, Mg, Zn e Mn. No caso do Mg, a maior concentração ocorreu em *A. pintoii* e no caso do Zn em *C. juncea*. A menor concentração de Mn em *P. lunatus* ocorreu unicamente no tratamento controle.

Tabela 12 – Concentrações de ferro (mg Kg⁻¹ de MS) na parte aérea de espécies de leguminosas cultivadas em casa de vegetação sem (0) ou com quatro nanofertilizantes, em Recife, PE.

Espécie	Nanofertilizante											
	0		Arbolina		b50		5050		702010		Médias Gerais	
<i>Crotalaria juncea</i>	358,45	aA	181,25	aA	193,35	aA	172,70	aA	246,90	aA	230,53	a
<i>Phaseolus lunatus</i>	215,60	aA	186,05	aA	224,15	aA	172,15	aA	187,60	aA	197,11	a
<i>Arachis pintoii</i>	198,00	aA	150,25	aA	216,65	aA	184,45	aA	163,87	aA	182,64	a
Média Geral	257,35	A	172,52	B	211,38	AB	176,43	B	199,46	AB		

Médias seguidas de letras iguais, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem significativamente.

4.3 Conteúdo de N e relação C/N nas plantas

As quantidades de N na parte aérea das plantas (Tabela 13) foram maiores em *P. lunatus* que nas outras duas espécies, como um reflexo principalmente das maiores biomassas produzidas (Tabela 2). Não houve diferenças significativas quanto à aplicação do nanofertilizantes.

Tabela 13 – Quantidades de N, extrapoladas para 1 ha (Kg ha^{-1}), na parte aérea de espécies de leguminosas cultivadas em casa de vegetação sem (0) ou com quatro nanofertilizantes, em Recife, PE.

Espécie	Nanofertilizante											
	0		Arbolina		b50		5050		702010		Média Geral	
<i>Crotalaria juncea</i>	27,39	aA	49,20	aA	41,75	aA	68,54	aA	36,06	aA	44,59	b
<i>Phaseolus lunatus</i>	70,29	aA	71,40	aA	54,13	aA	61,72	aA	96,37	aA	70,78	a
<i>Arachis pintoi</i>	50,84	aA	51,84	aA	47,88	aA	57,23	aA	49,56	aA	51,47	b
Média Geral	49,51	A	57,48	A	47,92	A	62,50	A	60,67	A		

Médias seguidas de letras iguais, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem significativamente.

Embora as concentrações de N nos tecidos não tenham apresentado diferenças significativas entre as espécies (Tabela 5), a maior capacidade de crescimento vegetativo do *P. lunatus* permitiu que ele, consequentemente, imobilizasse uma quantidade total de N superior em sua estrutura vegetal. Este resultado reforça que a produtividade da biomassa é um fator determinante para o potencial de aporte de nitrogênio de uma espécie utilizada como adubo verde.

As relações C/N foram maiores no tratamento controle e com aplicação de Arbolina e menores com 5050 e 702010, principalmente por causa do alto valor em *C. juncea* recebendo Arbolina (Tabela 14). Nas demais espécies, não houve diferenças significativas quanto à aplicação dos nanofertilizantes. Segundo Lima Filho et al. (2023), a fitomassa de leguminosas apresenta, em média, uma relação C/N de aproximadamente 20, valor que também foi observado nos resultados deste experimento, reforçando a adequação das espécies para a produção de adubo verde de qualidade.

Tabela 14 – Relação C/N na parte aérea de espécies de leguminosas cultivadas em casa de vegetação sem (0) ou com quatro nanofertilizantes, em Recife, PE.

Espécie	Nanofertilizante											
	0		Arbolina		b50		5050		702010		Média Geral	
<i>Crotalaria juncea</i>	21,42	aB	30,17	aA	19,54	aBC	14,65	aC	16,48	aBC	20,45	a
<i>Phaseolus lunatus</i>	20,94	aA	17,93	bA	21,27	aA	18,61	aA	18,02	aA	19,35	ab
<i>Arachis pintoi</i>	18,16	aA	17,74	bA	16,80	aA	17,73	aA	18,79	aA	17,84	b
Média Geral	20,17	AB	21,95	A	19,20	AB	16,20	B	17,76	B		

Médias seguidas de letras iguais, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem significativamente.

4.4 Fixação biológica de nitrogênio

Os sinais isotópicos de ^{15}N na parte aérea das leguminosas (Tabela 15) foram significativamente inferiores aos da espécie referência, indicando fixação biológica de N. Entre as leguminosas não houve diferenças significativas.

Tabela 15 – Sinal isotópico de N na parte aérea de espécies de leguminosas e de espécie de referência (não fixadora de N) cultivadas em casa de vegetação sem (0) ou com quatro nanofertilizantes, em Recife, PE.

Espécie	$\delta^{15}\text{N}$
<i>Crotalaria juncea</i>	-0,71 b
<i>Phaseolus lunatus</i>	-1,62 b
<i>Arachis pintoi</i>	-0,20 b
<i>Helianthus annuus</i>	2,79 a

Médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente.

As proporções de N nas plantas derivadas da atmosfera através da simbiose com as bactérias fixadoras foram altas em todas as três espécies de leguminosas (Tabela 16), com um mínimo de 77% em *A. pintoi*. Os nanofertilizantes não alteraram essas proporções em cada espécie.

Tabela 16 – Proporção de N nas plantas derivado da fixação simbiótica de N (%Ndda) cultivadas em casa de vegetação sem (0) ou com quatro nanofertilizantes, em Recife, PE.

Espécie	Nanofertilizante									
	0		Arbolina		b50		5050		702010	Média Geral
<i>Crotalaria juncea</i>	90,43	aA	86,14	aA	89,74	aA	90,05	aA	96,35	aA 90,54 b
<i>Phaseolus lunatus</i>	100,00	aA	100,00	aA	100,00	aA	100,00	aA	100,00	aA 100,00 a
<i>Arachis pintoi</i>	84,18	aA	76,25	aA	77,94	aA	75,39	aA	72,25	aA 77,20 c
Média Geral	97,62	A	91,11	A	92,45	A	90,20	A	92,28	A

Médias seguidas de letras iguais, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem significativamente.

Por causa das altas proporções de N fixado nas plantas (%Ndda) e das altas quantidades de N nas plantas, quando extrapoladas para 1 ha, as quantidades de N fixado também foram altas (Tabela 17). Essas quantidades significariam aportes relevantes ao solo caso as espécies fossem usadas como adubo verde. Os nanofertilizantes não tiveram influência nestas quantidades, seja positiva, como alteradores de metabolismo, seja negativa, por conta da aplicação do N presente nas suas composições.

Tabela 17 - Quantidades de N nas plantas derivado da fixação simbiótica extrapoladas para 1 ha na parte aérea de espécies de leguminosas cultivadas em casa de vegetação sem (0) ou com quatro nanofertilizantes, em Recife, PE.

Espécie	Nanofertilizante											
	0		Arbolina		b50		5050		702010		Média Geral	
<i>Crotalaria juncea</i>	24,36	aA	42,63	aA	37,69	aA	61,64	aA	34,74	aA	40,21	b
<i>Phaseolus lunatus</i>	82,46	aA	80,42	aA	59,22	aA	66,42	aA	104,40	aA	78,58	a
<i>Arachis pintoi</i>	43,56	aA	39,49	aA	37,64	aA	43,35	aA	35,05	aA	39,82	b
Média Geral	50,13	A	54,18	A	44,85	A	57,14	A	58,06	A		

Médias seguidas de letras iguais, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem significativamente.

4.5 Biomassa específica e características dos nódulos

A biomassa específica dos nódulos foi maior em *C. juncea* que nas outras espécies recebendo quase todos os nanofertilizantes, mas mais notadamente quando recebeu 5050 (Tabela 18). Nas outras espécies, não houve diferenças significativas com a aplicação dos diferentes nanofertilizantes. Embora este nanofertilizante 5050 tenha estimulado o crescimento dos nódulos, resultando na maior biomassa específica observada, este ganho estrutural não se traduziu em um aumento funcional na aquisição de N atmosférico (Tabela 17). Este fenômeno sugere uma dissociação entre o estímulo ao crescimento do tecido vegetal e a eficiência da simbiose. A literatura descreve a relação leguminosa-rizóbio como um processo guiado por sinais moleculares recíprocos, onde a planta, em teoria, seleciona e recompensa os simbiontes mais eficientes (KINKEMA et al., 2006; OLDROYD, 2013). É possível que os componentes do 5050 possam ter interferido neste delicado mecanismo, promovendo o crescimento do tecido do nódulo sem uma contrapartida no aumento da atividade da nitrogenase. Este achado reforça a importância de não utilizar a biomassa nodular, por si só, como um indicador direto da eficiência da FBN.

Tabela 18 – Biomassa específica de nódulos (mg nódulo⁻¹) nas raízes de espécies de leguminosas cultivadas em casa de vegetação sem (0) ou com quatro nanofertilizantes, em Recife, PE.

Espécie	Nanofertilizante											
	0		Arbolina		b50		5050		702010		Média Geral	
<i>Crotalaria juncea</i>	4,96	aB	3,96	aB	4,15	aB	9,60	aA	2,78	aB	5,09	a
<i>Phaseolus lunatus</i>	1,21	bA	1,84	abA	1,42	abA	2,57	bA	1,56	aA	1,72	b
<i>Arachis pintoi</i>	0,62	bA	0,56	bA	0,68	bA	0,61	bA	0,73	aA	0,64	b
Média Geral	2,26	B	2,12	B	2,08	B	4,26	A	1,69	B		

Médias seguidas de letras iguais, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem significativamente.

Os nódulos de *P. lunatus* são esféricos e graúdos (Figuras 2 e 3). Eles encontram-se presentes ao longo de toda a raiz e predominantemente na parte fasciculada da raiz.



Figura 2 - Nódulos de Phaseolus lunatus L. (sem escala) em plantas cultivadas em vasos com Espodossolo, em casa de vegetação, em Recife, PE.



Figura 3 - Raiz lavada de Phaseolus lunatus L. (sem escala) de plantas cultivadas em vasos com Espodossolo, em casa de vegetação, em Recife, PE.

Os nódulos da *A. pinto* são esféricos, pequenos e numerosos em relação aos de *P. lunatus* e estão predominantemente na parte pivotante da raiz (Figuras 4 e 5).



Figura 4 - Raiz de *Arachis pinto* Krapov. & W.C. Gregory. (sem escala) em plantas cultivadas em vasos com Espodossolo, em casa de vegetação, em Recife, PE.



Figura 5 - Pequenos nódulos, porém numerosos de *Arachis pinto* Krapov. & W.C. Gregory. (sem escala) de plantas cultivadas em vasos com Espodossolo, em casa de vegetação, em Recife, PE.

Os nódulos da *C. juncea* estão em quantidade reduzida em relação às outras duas espécies. Porém, têm um tamanho maior devido a sua forma de crescimento ramificado, assemelhando-se a raízes de gengibre (Figuras 6 e 7).



Figura 6 - Raízes de *Crotalaria juncea* L. com presença de nódulos (sem escala) de plantas cultivadas em vasos com Espodossolo, em casa de vegetação, em Recife, PE.



Figura 7 - Nódulos de *Crotalaria juncea* L. (sem escala) de plantas cultivadas em vasos com Espodossolo, em casa de vegetação, em Recife, PE.

5. Conclusões

- *Phaseolus lunatus* teve a maior produção de biomassa e acumulação de N, além de alta eficiência simbiótica no processo de fixação biológica de nitrogênio, independentemente do uso dos biofertilizantes. Isso reforça seu potencial agrônomo como adubo verde eficaz em sistemas de produção sustentáveis.
- A Arbolina promoveu maior produção de biomassa aérea em *Crotalaria juncea*, mas, por outro lado, tanto ela quanto o 5050 resultaram em menores biomassas de raízes que o tratamento controle.
- Todas as três espécies de leguminosa tiveram altas proporções de N fixado, com um mínimo de 77% de N derivado da atmosfera. *Phaseolus lunatus* e *Arachis pintoii* apresentaram relações C/N consistentes e adequadas para uso como adubos verdes, em torno de 20. A *Crotalaria juncea*, por sua vez, demonstrou que essa relação pode ser significativamente influenciada pelos nanofertilizantes, apresentando desde valores mais baixos (14,65) até mais elevados (30,17).
- *Crotalaria juncea* teve as maiores biomassas específicas de nódulos, especialmente quando recebeu aplicação de 5050, porém isso não elevou o incremento de nitrogênio derivado da atmosfera.

Referências

AMBROSANO, E. J.; TRIVELIN, P. C. O.; CANTARELLA, H.; AMBROSANO, G. M. B.; SCHAMMASS, E. A.; MURAOKA, T.; GUIRADO, N.; ROSSI, F. Nitrogen supply to corn from sunn hemp and velvet bean green manures. *Scientia Agricola*, v. 66, n. 3, p. 386-394, May/June 2009.

AMBROSANO, E. J. et al. Adubação verde na agricultura orgânica. In: FILHO, O. F. L. et al. (Eds.). *Adubação Verde e plantas de cobertura no Brasil: fundamentos e prática*. Brasília: Embrapa, 2014. V. 2, cap. 15, p. 45-80.

AN, J. et al. Application of nanotechnology in agriculture: Focus on nanofertilizers and nanobio-stimulants. *Journal of Nanobiotechnology*, v. 19, p. 430, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12951-021-01176-w>.

ANDA – Associação Nacional para Difusão de Adubos. Setor de Fertilizantes-Anuário Estatístico de 2018, 1ª ed.; Associação Nacional para Difusão de Adubos (ANDA): São Paulo, Brasil, 2019.

ASSOCIAÇÃO NACIONAL PARA DIFUSÃO DE ADUBOS (ANDA). Plano Nacional de Fertilizantes 2050. Brasília: Governo Federal, 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/planalto/pt-br/assuntos/assuntos-estrategicos/documentos/planos/plano-nacional-fertilizantes>. Acesso em: 21 maio 2025.

BARRADAS, C. A. A. Uso da adubação verde. Niterói: Programa rio rural, 2010. 10p. Manual Técnico, 25

BENNIE, A. T. P. Growth and mechanical impedance. In: WAISEL, Y.; ESHEL, A.; KAFKAFI, U. (ed.). *Plant roots*. 2. Ed. New York: Marcel Dekker, 1996. P. 453-470.

BRASIL. Instrução Normativa 61, de 8 de julho de 2020. 2020. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento/Secretaria de Defesa Agropecuária. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/fertilizantes/legislacao/in-61-de-8-7-2020-organicos-e-biofertilizantes-dou-15-7-20.pdf#:~:text=INSTRU%C3%87%C3%83O%20NORMATIVA%20No%2061%2C%20DE%2008%20DE%20JULHO,fertilizantes%20org%C3%A2nicos%20e%20dos%20biofertilizantes%2C%20destinados%20%C3%A0%20agricultura>. Acesso em: 20 de março de 2023.

BREMNER, J.M.; MULVANEY, C.S. Nitrogen total. In: Page, A.L. (ed.) *Methods of soil analysis*. Part 2. Madison: American Society of Agronomy, p.595-624, 1982.

BRITO, M. F.; TSUJIGUSHI, B. P.; ROCHA, D. P.; SILVA, R. F. Reciclagem de nutrientes de adubos verdes e produtividade de milho cultivado em sucessão em agroecossistema de transição agroecológica. *Acta Iguazu, Cascavel*, v. 6, n. 3, p. 11-21, 2017. DOI: <https://doi.org/10.48075/actaiguazu.v6i3.17669>.

BUTRUILLE, N.-M. S. Influência do método de aplicação e concentrações de arbolina na produtividade, fisiologia e qualidade de frutos de morangueiro. 2021. 77 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2021.

CANELLAS LP, OLIVARES FL. Physiological responses to humic substances as plant growth promoter. *Chem Biol Technol Agric*. 2014;1(1):1–11. Doi:10.1186/2196-5641-1-3.

CARDOSO, R. A.; BENTO, A. S.; MORESKI, H. M.; GASPAROTTO, F. Influência da adubação verde nas propriedades físicas e biológicas do solo e na produtividade da cultura de soja. *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde, Londrina*, v. 35, n. 2, p. 51-60, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0367.2014v35n2p51>.

DANTAS, E. F. et al. Fixação biológica, transferência e balanço de nitrogênio em pomar de maracujá (*Passiflora edulis* Sims) consorciado com diferentes culturas de adubação verde. *Australian Journal of Crop Science*, [S.l.], v. 13, n. 3, p. 465–471, 2019. DOI: 10.21475/ajcs.19.13.03.p1559.

DANTAS, E. F. *Simbiose entre algaroba e rizóbios naturalmente estabelecidos em solos de Pernambuco: potencial de aporte de nitrogênio*. 2022. Tese (Doutorado em Tecnologias Energéticas e Nucleares) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2022.

DAVIS, K. F.; GEPHART, J. A.; EMERY, K. A.; LEACH, A. M.; GALLOWAY, J. N.; D'ODORICO, P. Meeting future food demand with current agricultural resources. *Global Environmental Change*, vol. 39, p. 125–132, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.gloenvcha.2016.05.004>.

DONG Y, WAN L, CAI J, FANG Q, CHI Y, CHEN G. Natural carbon-based dots from humic substances. *Sci Rep*. 2015; 5:1–8. Doi:10.1038/srep10037

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. Brasília: Embrapa Solos/Embrapa Informática Agropecuária/Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 1999. 370p.

FAO. The Future of Food and Agriculture. [S. l.: s. n.], 2017. Available at: <http://www.fao.org/3/i6583e/i6583e.pdf>. Accessed on: 31 March 2023.

FARIA, R. G. Construção de um protótipo microfluídico e escalonamento de processos para a síntese em fluxo de nanomateriais carbonáceos usando reator tubular tipo PFR para aplicação na agricultura como nanofertilizante e/ou nanobioestimulante. 2021. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade de Brasília, Brasília, 2021.

FONTANÉTTI, A.; CARVALHO, G. J.; GOMES, L. A. A.; ALMEIDA, K.; MORAES, S. R. G.; TEIXEIRA, C. M. Adubação verde na produção orgânica de alface americana e repolho. *Horticultura Brasileira*, v.24, p.146-150, 2006. <https://doi.org/10.1590/S0102-05362006000200004>

GIRALDO, J. P., WU, H., NEWKIRK, G. M., & KRUSS, S. Nanobiotechnology approaches for engineering smart plant sensors. *Nature nanotechnology*, v. 14, n. 6, p. 541-553, 2019.

GUIMARÃES, G. P. et al. Fixação biológica de nitrogênio em feijão-caupi e feijão-comum utilizando o ^{15}N em sistema agroecológico. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 32, n. 1, p. 17–25, 2008.

HIRSCH, A. M. (1992). Developmental biology of legume nodulation. *New Phytologist*, 122(2), 211–237.

KANG Z, LEE ST. Carbon dots: Advances in nanocarbon applications. *Nanoscale*. 2019;11(41):19214–19224. Doi:10.1039/c9nr05647e

KINKEMA, M., SCOTT, P. T., & GOLDSBROUGH, P. B. (2006). Nod factor signaling genes and their role in nitrogen-fixing symbiosis. *Journal of Plant Growth Regulation*, 25(2), 130–144.

LEITE, M. H. S.; COUTO, E. G.; BLESCH, J. M. Interações entre adubação verde e fosfato de rocha na ciclagem de nutrientes do solo em propriedades familiares. *Revista Caatinga*, Mossoró, v. 35, n. 1, p. 14-25, jan. -mar. 2022.

LEMO, J. C. L. J. Concentrações de arbolina no desenvolvimento de alface (*Lactuca sativa* L.) Baby. 2021. 28 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) – Universidade de Brasília, Brasília, 2021.

LIMA FILHO, O. F. et al. (org.). Adubação verde e plantas de cobertura no Brasil: fundamentos e prática. 2. ed. rev. e atual. Brasília, DF: Embrapa, 2023. v. 1. Fundamentos e Prática.

LINHARES, P. C. F.; MENDONÇA, J. D. J.; MARACAJÁ, P. B.; PEREIRA, M.F. S.; PAZ, A. E. S. Cultivo de coentro sob efeito residual de diferentes doses de jirirana. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, v.6, p.109-114, 2011.

OKITO, A. et al. Nutrient accumulation in legume cover crops and their residue decomposition rate. *Scientia Agricola*, v. 61, n. 2, p. 193–200, 2004.

OLDROYD, G. E., & DOWNIE, J. A. (2008). Coordinating nodule morphogenesis with rhizobial infection in legumes. *Annual Review of Plant Biology*, 59, 519–546.

OLDROYD, G. E. (2013). Speak, friend, and enter: signaling systems that promote beneficial symbiotic associations in plants. *Nature Reviews Microbiology*, 11(4), 252–263.

OLIVEIRA, L. E. Z. Plantas de cobertura: Características, benefícios e utilização. 2014. 62 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, 2014. Disponível em: https://bdm.unb.br/bitstream/10483/10471/1/2014_LuizEduardoZancanarodeOliveira.pdf. Acesso em: 26 mar. 2023.

PACHECO, R. S. Fixação biológica de nitrogênio em cultivares de feijoeiro estimada pela abundância natural de ^{15}N . 2014. Tese (Doutorado em Agronomia – Ciência do Solo) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.

PADOVAN, M. P.; MOTTA, I. S.; CARNEIRO, L. F.; MOITINHO, M. R.; SALOMÃO, G. B.; RECALDE, K. M. G. Pré-cultivo de adubos verdes ao milho em agroecossistema submetido a manejo ecológico no Cone Sul de Mato Grosso do Sul. Revista Brasileira de Agroecologia, Pelotas, v. 8, n. 3, p. 3-11, 2013. Disponível em: <https://revistas.abaagroecologia.org.br/index.php/rbagroecologia/article/view/10385>. Acesso em: 21 March. 2023.

PAULA, P. D.; CAMPELLO, E. F. C.; GUERRA, J. G. M.; SANTOS, G. A.; RESENDE, A. S. Decomposição das podas das leguminosas arbóreas *Gliricidia sepium* e *Acacia angustissima* em um sistema agroflorestal. Ciência Florestal, Santa Maria, v. 25, n. 3, p. 791-800, 2015. DOI: <https://doi.org/10.5902/1980509819696>.

PEIXOTO, R. T. G. et al. Cenários e Ações na Pesquisa Federal em Agricultura Orgânica no Brasil. Rio de Janeiro: Embrapa Agrobiologia, 2008. 44 p. (Documentos, 257).

PERIN, A.; SANTOS, R. H. S.; URQUIAGA, S. S.; CECON, R.; GUERRA, J. G. M.; FREITAS, G. B. de. Sunnhemp and millet as green manure for tropical maize production. Scientia Agrícola, v. 63, n. 5, p. 453-459, Sept./Oct. 2006.

ROUPHAEL, Y.; COLLA, G. Editorial: Biostimulants in Agriculture. Frontiers in Plant Science, vol. 11, p. 40, 2020. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00040>.

SHEARER, G.; KOHL, D. H. (1986). Fixação de N_2 em ambientes de campo: estimativas baseadas na abundância natural de ^{15}N . Jornal Australiano de Fisiologia Vegetal, 13(6), 699-756.

SHEARER, G.; KOHL, D. H. Estimates of N_2 fixation in ecosystems: the need and basis of the ^{15}N abundance method. In: RUNDEL, P. W.; EHLERINGER, J. R.; NAGY, K. A. (Ed.). Stable isotopes in ecological research. New York: Springer-Verlag, 1989. p. 342-347.

THOMAS, R.L.; SHEARD, R.W.; MOYER, J.R. Comparison of conventional and automated procedures for nitrogen, phosphorus and potassium analysis of plant material using a single digest. Agronomy journal, 59:240-243, 1967.

UNKOVICH, M. Measuring plant-associated nitrogen fixation in agricultural systems. Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR), 2008. 80 p. (ACIAR Monograph No. 136).

USMAN M, FAROOQ M, WAKEEL A, et al. Nanotechnology in agriculture: Current status, challenges and future opportunities. Sci Total Environ. 2020; 721:137778. Doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.137778.