

COLOCAÇÃO NO MERCADO DE MATÉRIAS FERTILIZANTES NÃO HARMONIZADAS

Orientações para a realização de ensaios de eficácia para efeitos de registo de matérias fertilizantes já incluídas no grupo 5. Corretivos orgânicos

(conforme o n.º 11 do artigo 19.º do Decreto-Lei n.º 103/2015, de 15 de junho)

Preâmbulo

A atual legislação relativa à colocação no mercado das matérias fertilizantes não harmonizadas - Decreto-Lei n.º 103/2015, de 15 de junho - impõe, no número 1 do seu artigo 19.º, a demonstração da segurança e da eficácia agronómica das matérias fertilizantes, bem como da sua adequação aos solos nacionais, sempre que está em causa um pedido de registo de matérias fertilizantes pertencentes a uma das denominações tipo já prevista no grupo 5. Corretivos orgânicos, do Anexo I da referida legislação, através da realização de ensaios de eficácia.

Nessas circunstâncias, a demonstração da sua segurança e eficácia, bem como a adequação aos solos nacionais, poderão ser demonstradas através da realização de ensaios em vasos, aplicando-se as presentes orientações.

O pedido de declaração, que atesta a segurança e eficácia dessas matérias fertilizantes, deverá ser formalizado de acordo com um conjunto de requisitos estabelecidos no artigo 19.º do Decreto-Lei n.º 103/2015, de 15 de junho, designadamente:

- A Comunicação prévia ao Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P. (INIAV) da realização do ensaio, através de **formulário próprio**, obrigatoriamente acompanhado de um **termo de responsabilidade** quanto à conformidade dos ensaios de eficácia com as presentes orientações sobre os métodos de ensaio;

Atenção: Segundo a alínea b) do n.º 1 do artigo 31.º do DL n.º 103/2015, a inobservância da apresentação da comunicação prévia ao INIAV, relativa à realização de ensaios de eficácia e a emissão de um termo de responsabilidade que não corresponda à verdade, constitui uma contraordenação punível com coima de 1.000€ a 2.000€, tratando-se de pessoa singular, e de 10.000€ a 25.000€, tratando-se de pessoa coletiva.

- Os resultados dos ensaios realizados devem ser submetidos à apreciação do INIAV, através do envio de um **relatório completo e organizado**, segundo o estipulado nas presentes orientações, acompanhado de um **formulário para pedido de declaração**.

Todos os documentos supracitados estão disponíveis no *site* do INIAV em: <http://www.iniaiv.pt/menu-lateral-geral/colocacao-no-mercado-de-materias-fertilizantes>

Os ensaios de eficácia que decorram em Portugal terão de ser realizados por uma entidade reconhecida para o efeito, que conste da **lista de entidades autorizadas** disponível no *site* do INIAV.

O presente documento pretende estabelecer orientações relativas aos procedimentos necessários à demonstração adequada da segurança, eficácia agronómica e adequação aos solos nacionais dessas matérias fertilizantes, fornecendo informações gerais em relação ao delineamento, condução, análise e apresentação de resultados, caso os ensaios se realizem em vasos.

Nota: Caso optem pela realização de ensaios de campo deverão seguir as orientações sobre os métodos de ensaios de eficácia para efeitos de aditamento de novos tipos de matérias fertilizantes.

Fases do desenvolvimento dos Ensaios de eficácia em vasos

À semelhança do que se verifica com os ensaios de campo, todo o processo de demonstração e quantificação da eficácia de uma matéria fertilizante, através da realização de ensaios em vasos, pressupõe a execução de várias etapas a desenvolver de acordo com a seguinte ordem cronológica:

1ª Fase - Elaboração do protocolo de ensaio

A realização de um ensaio de eficácia pressupõe, sempre, a elaboração de um protocolo do ensaio, no qual conste:

- a) Título descritivo com identificação clara da matéria fertilizante a que diz respeito;
- b) Identificação da entidade e do responsável pelo ensaio;
- c) Objetivos do ensaio e efeitos principal e secundários a estudar;
- d) Critérios de eficácia considerados e os parâmetros a avaliar;
- e) Localização do ensaio e condições experimentais;
- f) A(s) cultura(s) e/ou cultivar(es) a utilizar no ensaio;
- g) O tipo de solo utilizado no ensaio;
- h) O delineamento experimental;
- i) Os tratamentos ou modalidades experimentais em estudo;
- j) O número de repetições;
- k) A unidade experimental: dimensão e/ou volume dos vasos e peso de terra;
- l) Os métodos de análise laboratorial.

• Definição de eficácia da matéria fertilizante

Pode definir-se *eficácia da matéria fertilizante* como a sua capacidade, quando aplicada em determinadas condições edafoclimáticas a um sistema de produção específico, de assegurar ou melhorar a nutrição das culturas e ou de melhorar ou manter, a curto, médio ou longo prazo, o estado de fertilidade do solo garantindo, assim, condições que assegurem ou melhorem, em quantidade e qualidade, a produção vegetal, salvaguardando a qualidade dos recursos naturais e a segurança dos produtos obtidos.

- **Critérios de eficácia e parâmetros a avaliar**

A eficácia da matéria fertilizante deve ser demonstrada através da descrição do *efeito principal* resultante da sua aplicação nas condições de emprego previstas, identificando a ou as substâncias ativas responsáveis pelo efeito reivindicado. Do mesmo modo, devem ser identificados, caracterizados e explicados os seus *efeitos secundários*.

A demonstração e a quantificação destes efeitos serão fundamentadas, essencialmente, nos resultados dos ensaios de eficácia, obtidos a partir da aplicação de métodos de análise estatística adequados.

Um ensaio de eficácia deve demonstrar os efeitos imputados ao produto (descritos no rótulo) e esclarecer questões relativas à sua aplicação (doses, culturas, condições de aplicação, épocas, etc.).

Podem ser considerados, entre outros, os seguintes **critérios de eficácia**:

- Critérios de eficácia que permitam demonstrar que a nutrição das culturas é assegurada ou melhorada, através da aplicação da matéria fertilizante:
 - Aumento da produtividade da cultura (p.ex. matéria seca, grão, consoante o tipo de cultura);
 - Melhoria do equilíbrio nutricional da cultura, avaliado através de indicadores apropriados (p.ex. mudança da situação de insuficiência relativa a determinado nutriente para a situação de suficiência);
 - Melhoria da qualidade dos produtos, avaliada através de indicadores de qualidade ou do seu teor em determinados constituintes benéficos para a alimentação humana ou animal.
- Critérios de eficácia que permitam demonstrar a manutenção ou melhoria do estado de fertilidade do solo:
 - Incluem todas as propriedades físicas, químicas ou biológicas do solo avaliadas através de parâmetros físicos, químicos ou biológicos adequados consoante a matéria fertilizante em avaliação.

- **Localização e Condições experimentais**

Os ensaios em vasos, para avaliação da eficácia de matérias fertilizantes já incluídas nas denominações tipo do grupo 5, do Anexo I do Decreto-Lei nº 103/2015, de 15 de junho, devem ser preferencialmente realizados em Portugal, embora seja reconhecida a validade dos ensaios de eficácia realizados noutros países, desde que realizados de acordo com as presentes orientações. Os relatórios de ensaio deverão ser redigidos em Português.

Deverá ser indicada a localização da infraestrutura onde decorreu o ensaio em termos de concelho, freguesia e local indicando, de preferência, as coordenadas geográficas.

Os ensaios em vasos terão de ser efetuados em infraestruturas adequadas para o efeito, em ambiente condicionado, de modo a garantir condições ambientais idênticas para todos os vasos durante o período em que decorrer o ensaio.

Resultados adicionais, de ensaios de menor escala devidamente executados em alvéolos ou em condições de laboratório (ex. ensaios de emergência), poderão complementar os resultados obtidos em vasos.

- ***Culturas teste***

Nos ensaios de eficácia deverão ser utilizadas as culturas ou grupos de culturas para as quais a matéria fertilizante será indicada no rótulo da respetiva embalagem (ex: hortícolas, fruteiras, arvenses, silvícolas, ornamentais). No entanto, no caso das matérias fertilizantes pertencentes a um dos tipos do grupo 5 do anexo I, a sua segurança e eficácia poderão ser demonstradas utilizando outras culturas teste que sejam mais sensíveis e de crescimento rápido.

Consoante a época em que decorrer o ensaio, assim deve ser escolhida a planta teste, de modo a que o seu ciclo cultural esteja adaptado às condições de luz e temperatura prevalentes durante o período experimental.

- ***Tipo de Solo***

As macro-amostras de terra a utilizar nos ensaios em vasos devem ser representativas de solos nacionais e possuir as características adequadas ao efeito que se pretende demonstrar - tratando-se de um corretivo orgânico, deverão ser utilizadas macroamostras de solos pobres em matéria orgânica e em nutrientes e com fraco poder tampão.

Salvo raras exceções, a matéria fertilizante constitui um complemento dos nutrientes e ou constituintes já presentes no solo. A sua eficácia é, pois, altamente dependente das características iniciais do solo que a recebe, como sejam a textura, o teor de matéria orgânica, o pH e a disponibilidade de nutrientes, pelo que é essencial a apresentação das mesmas, através de relatórios de análise laboratorial.

- ***Delineamento experimental***

O delineamento experimental é o processo de planear um ensaio ou experiência, incluindo a sua instalação, de modo a que seja possível obter dados que possam ser analisados, usando as metodologias estatísticas apropriadas, que conduzam a resultados válidos e a conclusões objetivas. Deverá permitir a obtenção de efeitos significativos, a um determinado nível de probabilidade, da matéria fertilizante sobre a cultura ou determinada(s) característica(s) do solo e/ou da planta.

Os delineamentos experimentais mais vulgares nos ensaios em vaso são os blocos completos casualizados e a casualização completa das modalidades experimentais, dado que são realizados em condições controladas, tanto no que se refere à homogeneidade das unidades experimentais (vasos), como das condições ambientais.

- ***Tratamentos ou Modalidades experimentais***

Os tratamentos ou modalidades experimentais devem ser cuidadosamente estabelecidos, de modo a irem ao encontro dos objetivos previamente definidos para o ensaio, demonstrando o efeito principal da matéria fertilizante, bem como os efeitos secundários referidos.

De modo a que o ensaio seja estatisticamente válido, todos os tratamentos experimentais devem ser comparados com, pelo menos, um tratamento testemunha: (a) uma testemunha sem aplicação da matéria fertilizante e, se necessário, (b) uma modalidade que receba uma matéria fertilizante do mesmo tipo já legalmente comercializada em Portugal e que atue como referência (controlo positivo). Esta referência deverá estar bem identificada, recomendando-se a inclusão do rótulo comercial do produto no relatório. O(s) tratamento(s) testemunha deve(m) ser sujeito(s) a todas as ações que forem uniformemente aplicadas em todo o ensaio, com exceção da adição da matéria fertilizante em teste.

É necessário ter em consideração que os ensaios de eficácia devem demonstrar que o produto que se deseja registar, e que tem uma determinada composição, tem efeitos específicos sobre, pelo menos, um grupo de culturas, quando se emprega sob determinadas condições (doses, época, modo de aplicação) e que são as que figuram no rótulo.

De um modo geral, será desejável a existência de modalidades experimentais com doses de aplicação da matéria fertilizante em quantidades crescentes, de preferência em série geométrica (ex. 1, 2, 4, 8, 16), em que uma das modalidades coincida com o equivalente à dose máxima permitida pelo Anexo II do Decreto-Lei nº 103/2015, de 15 de junho, consoante a sua classe de qualidade e outra que seja superior a esta.

A fim de evitar erros e troca de dados experimentais, todas as modalidades experimentais, o modo de aplicação da matéria fertilizante a ensaiar e as doses de aplicação devem ser bem identificados.

- ***Número de repetições***

A repetição é a atribuição da mesma modalidade experimental a várias unidades experimentais (vasos). O objetivo da sua realização é estimar o valor do erro experimental que, por sua vez, é essencial para avaliar a significância estatística ou estimar intervalos de confiança, a determinado nível de confiança, para o efeito em estudo.

Para que se possa realizar uma correta análise estatística dos dados experimentais obtidos, o número de graus de liberdade (g.l.) do erro experimental deve ser suficientemente elevado, geralmente nunca inferior a 12. Os g.l. do erro podem ser aumentados com o número de repetições ou com o número de modalidades experimentais.

No Quadro 1 apresenta-se o número de graus de liberdade do erro experimental a considerar, consoante o número de repetições e modalidades experimentais.

Quadro 1 - Número de graus de liberdade do erro experimental a considerar, consoante o número de repetições e modalidades experimentais

Modalidades experimentais	Repetições					
	3	4	5	6	7	8
3	4	6	8	10	12	14
4	6	9	12	15	18	21
5	8	12	16	20	24	28
6	10	15	20	25	30	35
7	12	18	24	30	36	42
8	14	21	28	35	42	49

- **Unidade experimental**

Unidade experimental é a unidade física que recebe cada uma das modalidades experimentais e na qual se avalia o efeito da mesma. Nos ensaios em vasos coincide com o próprio vaso.

Consoante a planta teste, a necessidade de efetuar uma rotação de culturas, as características do produto a ensaiar, ou a quantidade de terra disponível, assim se deverá adaptar o volume dos vasos a utilizar no ensaio. A título meramente indicativo, poder-se-ão considerar os seguintes volumes: 1,5 litros, 3 litros e 7 litros, cuja utilização depende das condições do ensaio. Recomenda-se como volume mínimo dos vasos a usar nos ensaios, os de 1,0 litros.

De referir que os vasos devem ser de material quimicamente inerte, a fim de evitar contaminações suscetíveis de aumentar o erro experimental.

2ª Fase - Instalação e acompanhamento do ensaio

- **Instalação**

O **período de incubação**, ou seja, o tempo que medeia entre a aplicação do corretivo ao solo e a sementeira ou plantação da planta teste, depende do estado de maturação da matéria fertilizante a ensaiar. Tratando-se, por exemplo, de um composto maturado, o seu espalhamento e incorporação podem ser efetuados num período inferior a 3 semanas, antes da sementeira ou plantação da planta teste. No caso de o composto ser fresco ou semi-maturado, esse período deve ser alargado a pelo menos de 4 e 3 semanas, respetivamente.

O número de plantas a utilizar por vaso depende do volume deste, que deve ser adaptado à cultura a ensaiar, e da planta considerada. Geralmente, semeia-se ou planta-se mais do que uma planta em cada vaso, realizando posteriormente um desbaste, escolhendo-se a(s) que se apresentar(em) em melhores condições.

A instalação das modalidades experimentais deve ser sujeita a um processo de casualização, à semelhança do que seria de considerar caso o ensaio se realizasse no campo.

- **Acompanhamento do ensaio**

Deve ser elaborado um esquema do ensaio, com os blocos e a disposição das modalidades experimentais devidamente assinaladas, onde serão registadas eventuais anomalias ou

acidentes observados durante a realização do ensaio (ex. presença de uma praga ou doença em parte do ensaio).

O acompanhamento do ensaio, incluindo as operações culturais e a realização e registo de observações, devem ser efetuados de forma a manter o erro experimental tão baixo quanto possível. Assim, as operações culturais necessárias à condução da cultura devem ser efetuadas dentro de cada bloco, passando ao seguinte apenas quando o anterior estiver completo.

Todas as operações culturais, designadamente a fertilização efetuada para além da matéria fertilizante em estudo, regas e tratamentos fitossanitários efetuados, entre outros, devem ser realizadas de igual modo em todos os vasos, incluindo a testemunha, e devem ser registadas.

Dado tratar-se de um dispositivo experimental conduzido em ambiente controlado, convém proceder à rotação periódica dos vasos, de modo a que todos fiquem, tanto quanto possível, sujeitos às mesmas condições ambientais médias.

Durante o período de tempo em que decorrer o ensaio, devem ser efetuadas regas com água desionizada, de forma a manter os vasos a 60-70% da capacidade de campo.

3ª Fase - Colheita de amostras no dispositivo experimental para análise

- ***Que amostras devem ser colhidas?***

Amostras de matérias fertilizantes

A matéria fertilizante em estudo deve ser sujeita a análise laboratorial antes da instalação do ensaio, o mesmo se verificando, caso exista, com a matéria fertilizante do mesmo tipo, legalmente comercializada em Portugal, que atue como referência.

Amostras de terra

Antes do enchimento dos vasos, deverá ser colhida uma amostra representativa da macro-amostra de terra, a ser utilizada no ensaio, que deverá ser sujeita a uma análise inicial, a fim de a caracterizar e definir a fertilização de base a efetuar aos vasos, para que a planta teste não fique sujeita a qualquer limitação de carácter nutricional que possa mascarar os efeitos que se pretendem demonstrar.

No final do ensaio, deverá ser colhida, em cada vaso, uma amostra de terra representativa. Para tal torna-se necessário retirar a totalidade da terra do vaso, separar as raízes e, após mistura cuidadosa de todo o material terroso, colher a amostra de terra para análise com cerca de 500g.

Amostras de material vegetal

Deverão ser colhidas amostras de cada vaso, separadamente. Dependendo da planta teste utilizada, as amostras de material vegetal colhidas em cada vaso correspondem, geralmente, à totalidade da biomassa produzida.

4ª Fase - Quantificação dos efeitos imputados ao produto

A análise da produção e da qualidade da cultura deverá ser sempre feita de modo quantitativo e não apenas por observação visual. No caso de se tratar de uma variável não quantificável (ex. diferentes colorações) deverá ser previamente estabelecida uma escala que permita a sua classificação.

A demonstração dos efeitos imputados ao produto só ficará completa com o conhecimento das alterações provocadas em determinadas características do solo e da planta, apenas possível com a análise e comparação dos resultados analíticos obtidos em laboratório.

A análise das amostras deverá ser realizada em laboratórios que cumpram o disposto no Decreto-Lei nº 103/2015, de 15 de junho.

- **Que análises realizar?**

A resposta a esta questão está intimamente relacionada com a natureza da matéria fertilizante e com os efeitos que se pretendem demonstrar.

No caso dos corretivos orgânicos, deverão ser consideradas as determinações analíticas constantes dos quadros 2 (macroamostra de terra), 3 (terra de cada vaso) e 4 (material vegetal)

Quadro 2 – Exemplos de determinações analíticas a realizar na macroamostra de terra

Parâmetros físico-químicos	
• pH	• Carbonatos
• Condutividade elétrica	• Fe, Mn, Zn, Cu, B extraíveis
• Matéria orgânica	• Cu, Zn, Cd, Pb, Cr, Ni e Hg totais
• P, K e Mg extraíveis	• Necessidade de cal (se necessário)
• Complexo de troca (SBT, CTC, GSB)	• Análise granulométrica
• Al de troca	• Massa volúmica aparente

Quadro 3 – Exemplos de determinações analíticas a realizar nas amostras de terra colhidas em cada vaso no final do ensaio

Parâmetros físico-químicos	
• pH	• Complexo de troca (SBT, CTC, GSB)
• Condutividade elétrica	• Al de troca
• Matéria orgânica	• Fe, Mn, Zn, Cu, B extraíveis
• P, K e Mg extraíveis	• Cu, Zn, Cd, Pb, Cr, Ni e Hg totais

Quadro 4 – Exemplos de determinações analíticas a realizar no material vegetal

Parâmetros		
• azoto	• ferro	• cádmio
• fósforo	• manganês	• chumbo
• potássio	• zinco	• crómio
• cálcio	• cobre	• mercúrio
• magnésio	• boro	• níquel
• enxofre		

As determinações analíticas presentes nos quadros anteriores não são exaustivas e devem ser adequadas ao objetivo pretendido.

Note-se que, no caso de se pretender demonstrar o efeito da matéria fertilizante sobre um parâmetro específico, quer no solo quer nas plantas, este terá de ser obrigatoriamente contemplado na análise.

Embora desejável, não se considera obrigatória a análise dos metais pesados no material vegetal, caso a matéria fertilizante seja um corretivo orgânico de classe I, incluído no grupo 5 Decreto-Lei nº 103/2015, de 15 de junho.

5ª Fase – Análise estatística dos dados experimentais

Os dados obtidos no ensaio, a partir dos quais se deseje demonstrar a eficácia da matéria fertilizante em causa, terão de ser submetidos a uma análise estatística que, embora de simples aplicação, permita a comparação entre modalidades experimentais e a conclusão se existem ou não diferenças significativas, a um determinado nível de probabilidade, entre elas. A análise de variância (ANOVA) é, com raras exceções, o método estatístico mais apropriado para este efeito.

Deverá ser utilizado um nível de significância estatística mínimo de 5%. O método estatístico a utilizar depende, em primeiro lugar, do delineamento experimental considerado e do tipo de variável a analisar. Se a variável for quantitativa, deve ser usado um teste paramétrico (ex. análise de variância e análise de regressão).

Testes de comparação de médias devem ser também utilizados para determinar quais os tratamentos experimentais que diferem entre si de forma significativa.

6ª Fase – Elaboração do Relatório do ensaio de eficácia

O relatório a apresentar ao INIAV deve ser completo e organizado, redigido em português, devendo incluir toda a informação considerada relevante para o fim em vista e apresentar as seguintes características:

1. Ter um título descritivo com identificação clara e precisa do ensaio e da matéria fertilizante a que diz respeito;
2. Identificar a entidade e o técnico responsável pela realização do ensaio e pela elaboração do relatório;

3. Apresentar uma nota introdutória onde conste:
 - a) A identificação da matéria fertilizante que está a ser testada, incluindo a apresentação das matérias-primas constituintes e a respetiva percentagem em massa, bem como um resumo do processo de fabrico;
 - b) A identificação clara dos efeitos principal e secundário(s) que se pretendem demonstrar;
 - c) Os critérios de eficácia considerados para o efeito;
 - d) O local onde foi realizado o ensaio e uma breve descrição da infraestrutura onde ele decorreu;
 - e) As variáveis experimentais avaliadas quer no solo quer no material vegetal;
4. Descrever o protocolo de ensaio, onde conste:
 - a) O delineamento experimental estabelecido e o esquema no local do ensaio;
 - b) As modalidades experimentais consideradas;
 - c) O número de repetições;
 - d) O volume dos vasos utilizados;
 - e) A planta teste utilizada, identificada pela espécie e, se possível, a cultivar;
 - f) As características da macroamostra de terra utilizada;
 - g) Os procedimentos para preparação dos vasos, incluindo o número de plantas por vaso, o tempo de incubação da matéria fertilizante e a fertilização de base efetuada;
 - h) Outras informações relativas às restantes operações realizadas, designadamente regas e tratamentos fitossanitários efetuados, bem como referência a qualquer acidente ocorrido e ao seu efeito sobre as modalidades experimentais.
5. Indicar os métodos utilizados na colheita de amostras, na sua análise laboratorial e na análise estatística;
6. Incluir os resultados obtidos, nomeadamente:
 - a) Os resultados da análise estatística relevantes para a demonstração da eficácia da matéria fertilizante, apresentados da forma que se considerar mais adequada;
 - b) Uma análise/discussão agronómica dos resultados obtidos;
7. Apresentar as conclusões do ensaio realizado, fundamentadas nos resultados previstos no ponto anterior;
8. Se o ensaio não foi conduzido em Portugal, as conclusões devem, ainda, demonstrar a sua validade no que diz respeito à sua adequação aos solos nacionais.
9. Anexar:
 - a) Os dados experimentais obtidos sem qualquer tratamento estatístico;



- b) O(s) relatório(s) de análise laboratorial da matéria fertilizante em causa que incluam os parâmetros de análise obrigatória previstos no Decreto-Lei nº 103/2015, de 15 de junho, no seu Anexo V;
- c) O projeto de rótulo que deverá conter todas as informações estabelecidas no anexo VI do Decreto-Lei n.º 103/2015.