



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

**PRODUTIVIDADE E QUALIDADE MICROBIOLÓGICA
DE ALFACE SOB DIFERENTES FONTES DE
ADUBOS ORGÂNICOS**

INGERGLEICE MACHADO DE OLIVEIRA ABREU

MESTRADO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS

BRASÍLIA/DF
FEVEREIRO/2008

1- INTRODUÇÃO

A alface é uma das hortaliças folhosas mais consumidas no Brasil e no mundo, na forma *in natura*, em saladas e em pratos de restaurantes *fast food*. Sua produção tem grande valor social, pois emprega muita mão-de-obra no cultivo.

O consumo de produtos provenientes da agricultura orgânica tem crescido no mundo inteiro, principalmente pela necessidade de preservação ambiental e também pelo aumento da demanda da sociedade por alimentos mais saudáveis e cujos sistemas de cultivo sejam menos prejudiciais ao meio ambiente.

A constante busca por alimentos saudáveis proporcionou mudanças nos sistemas de produção de hortaliças, das conhecidas “convencionais” para aquelas de produção orgânica e similares, objetivando a redução e o não uso de produtos químicos, principalmente defensivos agrícolas, que tem levado à contaminação de produtores, de consumidores e do meio ambiente, causando consideráveis danos sociais e econômicos ao país.

De acordo com SOUZA & RESENDE (2003), os alimentos orgânicos apresentam uma composição muito mais diversificada e rica em minerais, fitohormônios, aminoácidos e proteínas, que proporcionam uma nutrição mais adequada para o corpo humano. Além disso, possuem maiores teores de carboidratos e matéria seca, assim que no consumo de um produto orgânico, o consumidor estará ingerindo um percentual a mais de “alimento real”, uma vez que 100g de um produto orgânico fresco contêm menos água que um produto convencional produzido com adubo químico.

As contaminações não ocorrem apenas nos alimentos produzidos no sistema convencional com produtos químicos. Existem outros agentes contaminantes que causam problemas à saúde, como os microorganismos, que provocam doenças veiculadas pelos alimentos.

Os microorganismos representam riscos à saúde, chegam ao alimento por inúmeras vias, sempre refletem condições precárias de higiene durante a produção, o processamento, a distribuição ou no manuseio em nível doméstico (FRANCO & LANDGRAF, 2003).

As doenças transmitidas por alimentos são provavelmente o problema de saúde pública mais evidente no mundo contemporâneo, devido à emergência de

novos microrganismos patogênicos e ao desenvolvimento de novos produtos alimentícios (LANDGRAF, 2002).

Portanto quando a produção de alimentos está em foco, deve-se observar as fontes de inóculos independente do sistema de cultivo de onde o alimento é proveniente.

2- REVISÃO BIBLIOGRAFICA

2.1- CULTURA DA ALFACE

A alface (*Lactuca sativa* L., *cichoraceae*) é a hortaliça folhosa mais consumida no país (SANTOS *et al.*, 2001). Os hábitos alimentares da população mostram que a alface, ao lado do tomate, é uma das hortaliças mais presentes na mesa do brasileiro e a de mais fácil aquisição (AGRIANUAL, 1998). É uma das espécies mais antigas, sendo citada desde 4500 a.C, como planta medicinal, e a partir de 2500 a.C., como hortaliça. As plantas apresentam folhas, principalmente as externas, de coloração verde-escura, e que podem conter até 30 vezes mais pró-vitamina A que as folhas internas (FILGUEIRA, 2003).

Pertence à família Asteraceae, tribo Cichoriceae é uma planta herbácea, muito delicada, com caule diminuto, não ramificado, ao qual se prendem as folhas. Estas são muito grandes, lisas ou crespas, fechando-se ou não na forma de uma cabeça. Sua coloração varia do verde-amarelado até o verde escuro, sendo que algumas cultivares apresenta as margens arroxeadas. As raízes são do tipo pivotante, podendo atingir até 60cm de profundidade, porém apresentam ramificações delicadas, finas e curtas, explorando apenas os primeiros 25cm de solo (FILGUEIRA, 1982). SANTIAGO (1990) e BÜCHELE & SILVA (1992) relatam que a maior concentração do sistema radicular da alface encontra-se entre 0 e 20cm. Esta faixa de exploração das raízes tem grande importância quando se faz uso da adubação e da irrigação.

Originária de clima temperado, a sua adaptação em regiões de temperatura elevada tem gerado obstáculos ao seu crescimento e desenvolvimento, impedindo que a cultura expresse todo o seu potencial genético. Nestas condições, ocorre redução do ciclo da cultura que compromete sua produção, devido à aceleração do metabolismo da planta e, conseqüentemente, a antecipação da fase reprodutiva (MAKISHIMA, 1992; SETÚBAL & SILVA, 1992).

Segundo VIDIGAL *et al* (1995), a alface é a cultivada em quase todas as regiões do globo terrestre. No Brasil, é consumida mais frequentemente em saladas e sanduíches, na forma de folhas destacadas. É uma hortaliça de alta perecibilidade e de baixa resistência ao transporte, sendo por isto cultivada próximo aos grandes centros consumidores.

A alface é componente básico de saladas, tanto em nível doméstico quanto comercial. Em algumas centrais de distribuição, o conjunto das espécies de alface representa quase 50% de todas as folhosas que são comercializadas e, dentre essas, a cressa corresponde a quase 40% do total (MORETTI & MATTOS, 2006).

É uma importante hortaliça e compõe parcela na dieta da população brasileira, tanto pelo sabor e qualidade nutritiva quanto pelo baixo custo (COMETTI *et al.*, 2004). Apresenta elevado teor de pró-vitamina A nas folhas verdes, alcançando até 4.000 UI/100g (FILGUEIRA, 2003). São espécies ricas em sais de cálcio e de ferro e apresentam quantidades razoáveis das vitaminas B1, B2, B6, C e a pró-vitamina A. Possuem baixo valor em calorias, sendo aconselhável nas dietas por ser de fácil digestão (KATAYAMA, 1993; SHIZUTO, 1983).

Em 350g de alface (uma planta, aproximadamente) encontram-se 56 Kcal; 95,8% de água; 2,3% de hidratos de carbono; 1,2% de proteínas; 0,2% de gordura; 0,5% de sais minerais (potássio - 13,3 mg, fósforo - 147 mg, cálcio -133 mg, sódio, magnésio e ferro – 3,85 mg). Contém ainda pró-vitamina A – 245 UI, vitaminas do complexo B (B₁ – 0,3mg e B₂ – 0,66mg) e C - 35,0 mg. As folhas externas contém 30 vezes mais próvitamina A do que as internas (FILGUEIRA, 2003).

A alface também é utilizada na forma de suco para combater a insônia, possuindo propriedades diurética, depurativa, calmante, mineralizante, vitaminizante, desintoxicante, além de contribuir no combate às palpitações do coração e à prisão de ventre, devido ao seu alto teor de celulose (GOTO *et al.*, 1997; PIMENTEL, 1985).

No Brasil são plantados seis grupos de cultivares de alface: grupo Americana com folhas que formam uma cabeça, semelhante ao repolho, com os bordos das folhas crespas (ex.: cultivares Tainá e Lucy Brown); Repolhuda-Manteiga, semelhante ao anterior, mas com os bordos das folhas lisas (ex.: cultivares Elisa e Aurélia); grupo Solta-Lisa que são alfaces que não formam cabeça e possuem os bordos das folhas lisas (ex.: cultivares Regina e Uberlândia); Solta-Cressa que são alfaces semelhantes ao grupo anterior, mas possuem os bordos das folhas crespas (ex.: cultivares Vera e Verônica). O último grupo foi o que mais cresceu no Brasil, correspondendo hoje a 70% do mercado. Existe, ainda, o grupo Mimososa, alfaces com folhas bem recortadas (ex.: cultivar Salad Bowl) e o grupo Romana, sendo estes dois últimos com menor importância econômica (FILGUEIRA, 2003).

A maior produção da alface ocorre entre os meses de abril e dezembro, o que contribui para a redução dos preços praticados. Entre os meses de janeiro e março, sobretudo devido à incidência de chuvas, há redução na oferta e conseqüente aumento de preço do produto (MORETTI & MATTOS, 2006).

O solo ideal para o cultivo dessa hortaliça é o areno-argiloso, rico em matéria orgânica e com boa disponibilidade de nutrientes. Para maior produtividade, é necessário o uso de insumos que melhorem as condições físicas, químicas e biológicas do solo (VIDIGAL *et al.*, 1995).

No Brasil, aproximadamente 30 mil hectares são cultivados com alface, sendo responsáveis pela geração de 60 mil empregos diretos (MAKISHIMA, 1992; SETÚBAL & SILVA, 1992).

Normalmente, é produzida em cinturões verdes, próximos aos grandes centros consumidores, dada à alta perecibilidade do produto no período de pós-colheita, resultado do alto teor de água e grande área foliar (SANTOS *et al.*, 2001; VIDIGAL *et al.*, 1995). Nos locais de produção, é exigida, além da qualidade, quantidade e, principalmente, regularidade de oferta do produto para atender o mercado consumidor durante o ano todo (BEZERRA NETO *et al.*, 2005).

A alface é consumida na forma de saladas cruas e sanduíches, sendo as regiões Sul e Sudeste as maiores consumidoras (LOPES *et al.*, 2005). A cultura vem ocupando importante parcela do mercado nacional de hortaliças e vem adquirindo importância econômica crescente no país (RESENDE *et al.*, 2005; BEZERRA NETO *et al.*, 2005; LOPES *et al.*, 2005).

A qualidade da alface, seja nutricional ou sanitária, deve ser mantida em todos os seguimentos, desde a produção até a comercialização, pois o produto deve chegar à mesa do consumidor com excelentes características organolépticas de tal forma a obter uma boa aceitação (PÔRTO, 2006).

2.2- PRODUÇÃO ORGÂNICA

Nas últimas décadas, a alimentação tem sido motivo de preocupação em todos os países (KOUBA, 2002; FRAZIER, 1976). Um grande desafio é adequar a produção de alimentos à demanda crescente da população mundial, já que existem milhões de indivíduos famintos nos países subdesenvolvidos.

A saúde humana está relacionada com a alimentação, estilo de vida, ambiente, atividades físicas, entre outros fatores. No entanto, somente uma alimentação variada é capaz de fornecer todos os princípios nutricionais necessários à manutenção da saúde e para o bom desenvolvimento físico, psíquico e social (FILGUEIRA, 2003; IRALA & FERNANDEZ, 2001).

A alimentação é fonte de vitalidade e prazer, mas também pode causar danos à saúde, caso não sejam respeitadas determinadas regras e cuidados. Estudos conduzidos por pesquisadores da Faculdade de Engenharia de Alimentos e o Instituto de Biologia da Unicamp têm investigado os benefícios e riscos proporcionados ao organismo por determinados alimentos e nutrientes. O objetivo não é apenas evitar contaminações e doenças, mas também em combatê-las de maneira mais eficaz (ALVES FILHO, 2003).

O modelo de produção fundamentado no uso intensivo de insumo mais conhecido como tendo sido resultado da “revolução verde” ou do sistema “convencional”. Apesar de ter cumprido sua função em termos de avanços tecnológicos e produtividade à época, atualmente vem sendo questionado em relação aos impactos negativos à saúde dos produtores, consumidores e aos danos meio ambiente (ORMOND *et al.*, 2002).

As altas produtividades obtidas com o uso intensivo de capital, de fertilizantes inorgânicos e de agrotóxicos têm sido questionadas não só por suas contradições econômicas e ecológicas, mas também por desprezar aspectos qualitativos importantes da produção vegetal (SANTOS *et al.*, 1994; SANTOS, 1993).

Nos últimos anos, há registro de uma grande incidência de doenças, e até mesmo a morte de pessoas, causadas pela ingestão de alimentos *in natura*, contaminados por resíduos de pesticidas químicos (BORGES, 2000). No ser humano, os agrotóxicos modificam o DNA, atacam o sistema imunológico, geram mutagenicidade, como consequência disso provoca câncer e/ou teratogênese. Concomitantemente, bloqueiam a absorção de nutrientes, debilitam os organismos, aumentam o stress e alteram o comportamento (PINHEIRO, 1998).

Atualmente, a preocupação com o ambiente e com a qualidade de vida têm difundido amplamente as correntes de agricultura alternativa, dentre elas, a agricultura orgânica. Esse sistema de produção tem crescido continuamente, em função de uma demanda cada vez maior por produtos livres de contaminantes químicos. O Brasil ocupa a 13ª posição mundial quanto à área destinada à

agricultura orgânica certificada, como mais de 275 mil hectares. Dentre os alimentos produzidos, destacam as olerícolas para o mercado interno (TRIVELLATO & FREITAS, 2003).

O mercado de produtos orgânicos vem crescendo no Brasil e no mundo a uma taxa de até 50% ao ano. Neste contexto, o cultivo de hortaliças com adubos orgânicos tem aumentado nos últimos anos, graças, principalmente, aos elevados custos dos adubos minerais e aos efeitos benéficos da matéria orgânica em solos intensamente cultivados com métodos convencionais (RODRIGUES, 1990; ASANO, 1984).

Segundo VILELA *et al* (2006), na escolha do produto orgânico, uma parte dos consumidores consideram que a qualidade é característica determinante e a aparência é importante para a maioria (57%). De forma geral, todos os consumidores revelaram que a preferência deles pelos orgânicos se deve ao fato desses alimentos serem cultivados sem agrotóxicos. A busca por alimento mais saudável é entre outros o fator que mais estimula o consumo de produtos orgânicos.

Parece haver um consenso no imaginário popular, uma idéia deste ser um produto saudável e sem risco à saúde de quem os consome (inócuo), aliado ao apelo do *marketing* (SILVA, 2005). Esta análise torna-se preocupante por ser este um produto consumido cru e sem tratamento térmico em sua cadeia produtiva.

O teor nutricional e toxicológico dos alimentos provenientes da agricultura orgânica, entre eles a alface, têm se mostrado superiores aos convencionais. Todavia, é um campo pouco explorado pelas pesquisas científicas para os alimentos orgânicos. Torna-se evidente a necessidade de prevenir substâncias químicas e microrganismos potenciais perigosos à saúde (SILVA, 2005).

No entanto, será que só os alimentos produzidos no sistema convencional apresentam índices de riscos à saúde dos consumidores? É importante ressaltar, que resíduos de produtos químicos não são os únicos perigos à saúde da população, mas são os mais valorizados pela mídia. Deve-se ficar atento ao que os microrganismos veiculados por alimentos, principalmente as bactérias, podem acarretar danos ao bom funcionamento do corpo humano.

2.2.1- Adubação Orgânica

O cultivo de hortaliças com adubos orgânicos tem aumentado, principalmente graças aos elevados custos dos adubos minerais e aos efeitos benéficos que a matéria orgânica tem proporcionado em solos intensamente cultivados com métodos convencionais (ASANO, 1984; RODRIGUES, 1990).

A matéria orgânica atua diretamente na biologia do solo, constitui uma fonte de energia e de nutrientes para os organismos que participam de seu ciclo biológico. Assim, a presença de matéria orgânica aumenta a população de minhocas, besouros, fungos benéficos, bactérias benéficas e vários outros organismos úteis, que estão livres no solo. Aumenta, também, a população de organismos úteis que vivem associados às raízes das plantas, como as bactérias fixadoras de nitrogênio e as micorrizas, que são fungos capazes de aumentar a absorção de minerais do solo (SOUZA & RESENDE, 2003).

A adubação orgânica compreende o uso de resíduos orgânicos de origem animal, vegetal, agroindustrial e outros, com a finalidade de aumentar a produtividade das culturas (RIBEIRO *et al.*, 1999).

Quando adicionada ao solo na forma de adubos orgânicos, de acordo com o grau de decomposição dos resíduos, pode ter efeito imediato no solo, ou efeito residual, por meio de um processo mais lento de decomposição e liberação de nutrientes (SANTOS *et al.*, 2001; VIDIGAL *et al.*, 1995). Além de incrementar a produtividade, também proporciona a obtenção de plantas com características qualitativas distintas das cultivadas exclusivamente com adubos minerais (SANTOS *et al.*, 1994). Em trabalhos realizados com alface foram observados incrementos na produção e nos teores de nutrientes nas plantas, após a aplicação de adubos orgânicos (RODRIGUES, 1990).

A matéria orgânica tem grande vantagem, já que possui efeito imediato e ainda residual pelo processo lento de mineralização, quando são disponibilizados mais nutrientes (VIDIGAL *et al.*, 1995).

Deste modo, LOPES (1994) destaca os seguintes benefícios relacionados à incorporação de matéria orgânica: elevação da capacidade de troca de cátions (CTC); retenção de água; redução dos efeitos fitotóxicos de agroquímicos; melhoria da estrutura do solo e favorecimento do controle biológico pelo incremento da população microbiana antagonista.

O sistema orgânico da alface, além de apresentar ótimos resultados de ordem produtiva e nutricional (YURI *et al.*, 2004; SANTOS *et al.*, 2001) oferece resultados relevantes no que diz respeito a minimizar o acúmulo de nitrato por essa hortaliça (COMETTI *et al.*, 2004; MIYAZAWA *et al.*, 1997), constituindo-se atualmente em uma área bastante promissora para a realização de novos estudos científicos.

A alface geralmente apresenta boa resposta à adubação orgânica, no entanto, ela varia de acordo com a cultivar e com a fonte de adubo utilizada (FONTANÉTTI *et al.*, 2006). RICCI *et al.* (1995), ao estudar composto orgânico (tradicional) e vermicomposto na produção de alface, verificaram que a adubação com composto e vermicomposto proporcionou teores de fósforo, cálcio, magnésio e enxofre similares à testemunha com adubação mineral.

A adição de matéria orgânica no solo favorece inúmeros processos microbiológicos relacionados com mineralização e liberação de nutrientes para as plantas, fixação de nitrogênio (simbiótica e não simbiótica), decomposição de resíduos orgânicos e a melhoria das qualidades físicas do solo, tais como desenvolvimento da estrutura e estabilidade dos agregados, o que resulta em benefícios no crescimento e desenvolvimento das plantas (BENTO, 1997).

A mineralização da fração do nitrogênio presente nos adubos orgânicos depende da temperatura, da umidade, práticas de cultivo, e do teor de matéria orgânica do solo. O manejo dessas variáveis torna possível, ainda que difícil, o controle da liberação de nitrogênio às plantas (MALAVOLTA *et al.*, 2002; KIEHL, 1985).

Os adubos orgânicos contêm vários nutrientes minerais, especialmente nitrogênio, fósforo e potássio, e embora sua concentração seja considerada baixa, deve-se levar em conta, também, o efeito condicionador que exercem sobre o solo (FORNASIERI FILHO, 1992).

A matéria orgânica ativa os processos microbianos do solo (SILVA & SIQUEIRA, 1997), fomentando, simultaneamente, uma melhoria na sua estrutura, aeração e capacidade de retenção de água. Atua ainda como reguladora da temperatura do solo, retarda e reduz a fixação do fósforo mineral e fornece produtos da decomposição orgânica que favorecem o desenvolvimento da planta (FORNASIERI FILHO, 1992).

A matéria orgânica é importante fonte de fósforo para as plantas, contendo geralmente 15 a 80 % do fósforo total encontrado no solo. Esta quantidade de

fósforo orgânico decresce no perfil do solo com a profundidade, sendo que pequena quantidade é encontrada além de 90cm (KIEHL, 1985). Aos restos orgânicos (animais e vegetais) a serem decompostos pelo processo de compostagem, o fósforo fica solubilizado pela ação dos ácidos orgânicos formados durante a fermentação e, também, pelo ataque dos microrganismos. Além disso, o húmus que vai se formando protege o fósforo solubilizado, evitando sua fixação (SOUZA & RESENDE, 2003).

A aplicação de fertilizantes orgânicos aumenta direta e indiretamente a disponibilidade de fósforo no solo. Indiretamente, solubilizando o fosfato mineral formando complexo humo-fosfato e revestindo os sesquióxidos de ferro e alumínio pelo húmus, evitando fixação do fósforo solúvel (KIEHL, 1985).

É reconhecida a importância e a necessidade da adubação orgânica em hortaliças, principalmente nas folhosas visando compensar as perdas de nutrientes ocorridas durante seu cultivo (KIMOTO, 1993). BULLUCK *et al* (2002) afirmam que compostos orgânicos usados como melhoradores alternativos da fertilidade do solo podem proporcionar incremento da matéria orgânica e atividade biológica do solo. A adubação orgânica presta-se à reciclagem de resíduos rurais, o que possibilita maior autonomia dos produtores em face do comércio de insumos e apresenta grande efeito residual (VIDIGAL *et al.*, 1995; SMITH & HADLEY, 1989).

O interesse pela utilização de adubos orgânicos no cultivo de plantas vem aumentando devido à possibilidade desses insumos fornecerem nutrientes, ativarem interações benéficas com microrganismos, atuarem em propriedades físicas do solo, assim diminui a densidade aparente, melhoram a estrutura dos agregados, aumentam a capacidade de infiltração de água e aeração e viabiliza a possibilidade de penetração radicular. A fitotoxidez do alumínio e manganês se reduzem devido à complexação com a fração húmica e ao aumento do pH. Ao agir conjuntamente, esses e inúmeros outros efeitos podem aumentar a produtividade de plantas e diminuir custos de adubação (RODRIGUES & SUMIOKA, 2003).

2.2.1.1- Cama-de-frango

Segundo NICOULAUD *et al* (1990), cama-de-frango na dose de 10 t.ha⁻¹ proporciona rendimentos de alface maiores que a aplicação de 75, 300 e 75 kg.ha⁻¹

de N, P₂O₅ e K₂O, respectivamente. Porém, é importante ter em mente que altas doses de cama-de-frango também podem proporcionar grande acúmulo de nitrato.

O uso de esterco de aviário pode elevar excessivamente os níveis de cálcio e magnésio. Entretanto, deve-se lembrar que a clássica relação 3:1 não é uma recomendação estática e que concentrações elevadas de potássio decrescem a absorção de cálcio e magnésio (SOUZA & RESENDE, 2003).

A adubação em cobertura com cama-de-frango promoveu aumentos significativos, na produção do repolho de forma que reflete em melhorias na fitomassa total da parte aérea fresca, no peso da cabeça, produtividade e teores de nitrogênio, fósforo e potássio, cálcio e magnésio das folhas em experimento realizado por OLIVEIRA *et al* (2003) instalado no SIPA (Sistema Integrado de Pesquisa em Produção Agroecológica) em Seropédica-RJ.

Para a cultura do tomate, foram observadas melhorias no peso médio dos frutos, número de frutos por planta e produção comercial em função da adubação com diferentes tipos e doses de materiais orgânicos (MELLO & VITTI, 2002).

Isso evidencia que dependendo da quantidade utilizada, a cama-de-frango poderá substituir total ou parcialmente a aplicação de adubo fosfatado. A capacidade da cama-de-frango em promover o crescimento das plantas e elevar os teores de fósforo no solo tem sido demonstrada em vários trabalhos. Entre eles há de OLIVEIRA *et al* (2004), em que a aplicação desse adubo na proporção de 10% do volume do solo proporcionou um teor de 143mg de fósforo dissolvido no solo depois de cultivado com plantas de milho em vaso com volume de 2,6L.

Por não produzirem urina, as aves, eliminando-a junto com as fezes, produzem esterco mais rico em nitrogênio que o de ruminantes ou suínos. O esterco proveniente de frangos e galinhas, de criações intensivas e alimentadas com ração, é rico em nutrientes, especialmente nitrogênio e fósforo, mas pobre em celulose. Por isso, sua decomposição é mais rápida, liberando em poucos dias a maior parte dos nutrientes. Essa liberação rápida gera conseqüências importantes para o manejo do esterco. Ao ser deixado para curtir, as perdas de nitrogênio para o ar podem ser muito grandes (SOUZA & RESENDE, 2003).

O efeito do esterco de ave é muito parecido ao da uréia porque têm efeito rápido, sendo, porém os que mais rápido desaparecem (SOUZA & RESENDE, 2003).

Em trabalho, realizado na Fazenda Água Limpa - Universidade de Brasília, foi observada resposta de produtividade da alface superior com cama-de-frango, refletindo a composição química do adubo, com destaque para os teores de nitrogênio, ferro, manganês, zinco e matéria orgânica, quando comparado aos resultados observados com esterco bovino, adubo químico e húmus de minhoca (PIRES & JUNQUEIRA, 2001).

Os mesmos autores verificaram também, através de análise foliar, que as plantas adubadas com cama-de-frango apresentaram teores superiores de nitrogênio e fósforo comparadas aos outros tratamentos, com exceção do químico, que apresentou valor de nitrogênio superior ao observado em plantas adubadas com 2kg.m^{-2} de cama de frango. Porém, com relação aos outros nutrientes, foram observados, de uma maneira geral, valores de macro e micronutrientes superiores nas plantas do tratamento com Húmus de minhoca, comparados aos demais tratamentos.

ALMEIDA (1991), ao avaliar as culturas de alface e cenoura, adubadas com esterco de galinha, esterco bovino e vermicomposto de esterco bovino (todos adicionando 240kg de nitrogênio total por hectare), verificou que o esterco de galinha foi o adubo que proporcionou maior biomassa microbiana no solo. A maior produção de alface foi também obtida com esterco de galinha, seguida pelo de bovino e por último o vermicomposto. O autor verificou ainda um maior acréscimo na produção, por unidade de nitrogênio absorvido, com os adubos orgânicos do que com uréia.

2.2.1.2 - Húmus de Minhoca

Quando os resíduos animais e vegetais são incorporados ao solo ou sofrem o processo de compostagem, numerosos microorganismos como bactérias, fungos, actinomicetos, além de vermes e insetos, que passam a atacar esses materiais. Alguns componentes da matéria orgânica são utilizados pelos microorganismos para a formação de seus tecidos, outros são volatilizados e outros são transformados biologicamente em uma substância escura, uniforme, com consistência amanteigada e aspecto de massa amorfa, rica em partículas coloidais, proporcionando a esse novo material formado propriedades físico-químicas inteiramente diferentes da

matéria-prima original. A essa substância dá-se a denominação de Húmus (KIEHL, 1985).

A parte húmica da matéria orgânica age principalmente sobre as propriedades físicas e físico-químicas do solo, não sendo considerada a principal fonte de nutrientes para as plantas. A fração não húmus está em decomposição e é a principal fornecedora de nutrientes (KIEHL, 1985).

Experimentos mostram que o húmus estimula a alimentação mineral das plantas, o desenvolvimento radicular, diversos processos metabólicos, atividade respiratória, crescimento celular e a formação de flores em certas plantas (SOUZA & RESENDE, 2003).

A utilização de húmus de minhoca, ou vermicompostagem, é uma opção muito interessante para a agroindústria, pois permite o enriquecimento da matéria orgânica disponível, por meio do aumento na disponibilização de nutrientes, de forma economicamente viável e ambientalmente sustentável (BAKKER, 1994). Este adubo é, em média, 70% mais rico em nutrientes que os húmus convencionais. É rico em microrganismos, pH neutro, alta retenção de água e mineralização lenta (AQUINO *et al.*, 1992; LONGO, 1987).

2.2.1.3 - Esterco Bovino

A composição do esterco bovino depende da alimentação dos animais. Naquela realizada exclusivamente a pasto, o conteúdo de nitrogênio do esterco é menor do que naquela onde ocorre suplementação com concentrados. Como referência média, pode-se considerar que, do total ingerido, cerca de 70% é excretado pela urina e 10 a 15% pelas fezes (SOUZA & RESENDE, 2003).

Quando o esterco provém de pastos, na sua composição entram apenas fezes, porque a urina fica na terra. Quando provém de animais confinados, a palha presente na cama (piso) retém parte da urina. Recomenda-se de 5 a 6 kg de palha seca por dia para reter totalmente a urina produzida por uma vaca adulta estabulada. O esterco oriundo de pastos pode ser usado cru, curtido ou em forma de composto (SOUZA & RESENDE, 2003).

VIDIGAL *et al* (1995) relatam aumento no peso da alface, na uniformidade do “stand” e nos teores de fósforo e potássio nas plantas com a utilização de 50 t/ha de esterco de curral. Nos teores de cálcio e nitrogênio não houve diferença, mas os

teores de magnésio foram menores. Ao comparar níveis equivalentes de adubo mineral e esterco de curral, os autores observaram que a aplicação de esterco aumentou o tamanho das plantas e o conteúdo de matéria seca, além de seus teores de cálcio, magnésio e boro.

De acordo com NICOULAUD *et al* (1990), foram verificados aumentos lineares no peso de cabeças de alface quando submetidos a uma dosagem de até $10,8\text{kg.m}^{-2}$ de esterco de curral, além do esterco proporcionar incremento nos teores de nitrogênio e fósforo nas plantas.

Segundo PIRES (2003), avaliando o impacto da fertilização orgânica e química na produtividade, acúmulo de nutriente e nitrato em alface produzida no DF, entre os tratamentos com esterco bovino, o que se mostrou mais produtivo foi com 6kg.m^{-2} ($33,65\text{ t.ha}^{-1}$), enquanto a máxima produtividade alcançada com a adubação química foi de ($28,00\text{t.ha}^{-1}$).

2.2.1.4- Composto Orgânico

A legislação brasileira, de acordo com o Decreto 86.955 de 18/02/82, denomina o composto orgânico como fertilizante composto, e o define como fertilizante obtido por processo bioquímico, natural ou controlado, com mistura de resíduos de origem vegetal ou animal (BRASIL, 1982).

A compostagem é um processo biológico, sendo necessário criar as condições corretas para o crescimento de seres vivos, em particular, satisfazendo os seus requisitos nutricionais. Dos muitos elementos necessários à decomposição microbológica, o carbono (C) e o nitrogênio (N) são os mais importantes (SOUZA & RESENDE, 2003).

O uso de composto orgânico permite melhorar a fertilidade, é um de ser excelente condicionador de solo, aprimora as características físicas, químicas e biológicas, como retenção de água, agregação, porosidade, aumento da fertilidade e aumento da vida microbiana do solo. Entretanto, o valor fertilizante do composto depende do material utilizado como matéria prima (MIYASAKA *et al.*, 1997).

Os nutrientes minerais podem influenciar os níveis de alguns compostos orgânicos nas plantas devido à influência que exercem sobre os processos bioquímicos ou fisiológicos, como a atividade fotossintética e a taxa de translocação de fotoassimilados (FERREIRA *et al.*, 2006).

Em trabalho realizado por SANTOS *et al* (2001) que teve como objetivo avaliar o efeito residual do composto orgânico sobre o crescimento e a produção da alface, em Viçosa-MG, constato-se maiores produções com doses crescentes de composto orgânico que podem ser atribuídas à melhoria das características químicas e físico-químicas do solo.

2.2.2 - Adubação Química

Os macronutrientes fósforo e nitrogênio são aqueles que proporcionam maiores respostas em produtividade, embora as plantas também sejam exigentes em cálcio e enxofre. O nutriente que mais favorece a formação da cabeça é o fósforo que também influencia na precocidade da colheita, na produtividade e na obtenção do tipo comercial desejável. Entretanto, os macronutrientes potássio e nitrogênio são aqueles retirados em maior quantidade do solo (FILGUEIRA, 2003).

De modo geral, as hortaliças são sensíveis à deficiência de micronutrientes. A fertilidade natural do solo não atende às exigências das plantas, devendo a adubação fornecer os micronutrientes necessários (FILGUEIRA, 2003).

Nota-se que todos os nutrientes são importantes para o bom desenvolvimento das plantas, porém alguns são mais exigidos. Segundo ZAMBON (1982), a alface absorve, em maior quantidade, nutrientes como o potássio, o nitrogênio, o cálcio e o fósforo, não se pode desprezar, entretanto, a importância dos demais. Apesar de absorver quantidades relativamente pequenas de nutrientes, comparada a outras culturas, devido ao seu ciclo curto, a alface pode ser considerada como exigente em nutrientes, principalmente na fase final do ciclo (KATAYAMA, 1993).

O uso dos nutrientes minerais é essencial para a planta se desenvolver e produzir. De acordo com GARCIA *et al* (1982) e MOTA (1999), o potássio seria o elemento mineral mais exigido pela alface e proporcionaria os seguintes benefícios: aumento da resistência ao ataque de pragas e doenças; maior conversão do nitrogênio em proteínas, aumentando a biomassa; ativação de diversos processos enzimáticos; maior translocação de carboidratos; promoção da eficiência no uso da água, devido ao controle da abertura e fechamento dos estômatos.

FURLANI (1997) apresentou o acúmulo de matéria seca e de nutrientes em plantas de alface americana cv. Lorca: matéria seca (27900g/1000plantas), N (1126g/1000plantas), P (163g/1000plantas), K (1623g/1000plantas), Ca (276

g/1000plantas), Mg (69g/1000plantas), B (825mg/1000plantas), Cu (133 mg/1000plantas), Fe (5447mg/1000plantas), Mn (2580mg/1000plantas), Zn (1246mg/1000plantas).

O conhecimento da quantidade de nutrientes acumulada na planta, em cada estágio de desenvolvimento, fornece informações relevantes que podem auxiliar no programa de adubação das culturas. É necessário ter consciência, no entanto, que as curvas de absorção refletem o que a planta necessita, e não o que deveria ser aplicado, uma vez que a eficiência de aproveitamento dos nutrientes é variável segundo as condições climáticas, o tipo de solo, o sistema de irrigação, o sistema de manejo, entre outros fatores. De modo mais efetivo, essas curvas auxiliam no programa de adubação, principalmente na quantidade dos nutrientes que devem ser aplicados nos distintos estádios fisiológicos da cultura (VILLAS BOAS, 2001).

2.2.2.1 - Nitrogênio

O nitrogênio, além de ser constituinte de inúmeras vitaminas, auxilia a planta a produzir, a usar os carboidratos e a aumentar diretamente o teor de proteína ao fornecimento de potássio, pode prolongar o ciclo e também favorecer a ocorrência de certas pragas (SILVA Jr, 1991).

Por se tratar de uma hortaliça folhosa, a alface responde muito bem à adubação nitrogenada, proporcionando maiores rendimentos, produção mais uniforme e de maior valor comercial (FILGUEIRA, 2003).

O nitrogênio é, normalmente, o elemento mineral encontrado em maior quantidade na matéria seca, apresentando teores que, dependendo da espécie, do estágio de desenvolvimento e órgão da planta, varia de 2 a 5% (MARSCHNER, 1995; MALAVOLTA, 1981).

Para FILGUEIRA (2003), nitrogênio é o nutriente mais exigido pelas hortaliças. Seu fornecimento via adubação funciona como complementação à capacidade de suprimento dos solos, a partir da mineralização da matéria orgânica, geralmente baixa em relação à necessidade das plantas (MALAVOLTA, 1990).

As hortaliças, especialmente folhosas, como é a alface, apresentam alta necessidade de nutrientes, especialmente de nitrogênio, porque seu ciclo de cultivo é curto, têm rápido crescimento vegetativo e alta produtividade (FRAGA, 1983).

O nitrogênio é absorvido e exportado em grande quantidade nas colheitas. A absorção do nitrogênio ocorre principalmente na forma de nitrato (NO_3^-) ou de amônia (NH_4^+), sendo a primeira forma a mais freqüente (SOUSA & LOBATO, 2004).

A alface tem particularidades como a eficiência de utilização do nitrogênio sempre menor que 50% e aproveitamento de aproximadamente 80% do N-Total extraído nas últimas quatro semanas do ciclo (CASTRO & FERRAZ Jr, 1998), por isso o interesse em se utilizar fertilizantes de liberação lenta. Assim, a matéria orgânica tem grande vantagem, já que possui um efeito imediato e ainda residual pelo processo lento de mineralização, quando são disponibilizados mais nutrientes (VIDIGAL *et al.*, 1995).

Além dos efeitos benéficos conhecidos da adubação nitrogenada, este tipo de adubação provoca alterações na quantidade e qualidade do nitrogênio presente na planta, aumentando os níveis de nitrogênio solúvel, particularmente aminoácidos livres, facilmente assimiláveis por diversas espécies de insetos. A quantidade e a qualidade dos compostos solúveis de nitrogênio produzidos dependem da fonte utilizada, fato este que pode provocar maior ou menor resistência da planta a pragas. Assim, a utilização de adubos amoniacais, quando comparada aos nítricos, leva a um maior acúmulo de nitrogênio solúvel na planta, aumentando sua sensibilidade (BORTOLLI & MAIA, 1994).

2.2.2.2 - Potássio

As hortaliças são exigentes em potássio disponível no solo, sendo esse o primeiro macronutriente em ordem de extração, para a maioria delas. O potássio favorece a formação e transformação de carboidratos e o uso eficiente da água pela planta, equilibra a aplicação de nitrogênio e melhora a qualidade do produto e consequentemente, o valor de mercado (FILGUEIRA, 2003).

Quando o solo apresenta um elevado teor de potássio, sua assimilação pela planta pode ser quatro vezes maior que a absorção de fósforo, e igual ou maior que a absorção de nitrogênio. Se este nutriente estiver em grande quantidade disponível no solo as plantas tem tendência em absorvê-lo em excesso, além de suas necessidades, o que é definido como consumo de luxo (PADILHA, 1998).

O potássio, segundo FAQUIM (1994), é de maneira geral o segundo nutriente mais exigido pelas culturas depois do nitrogênio. Entre as várias funções que exerce

nas plantas, citam-se: melhor eficiência de uso da água, em consequência do controle da abertura e do fechamento dos estômatos, maior translocação de carboidratos produzidos nas folhas para os outros órgãos das plantas, maior eficiência enzimática e melhoria da qualidade comercial da planta (MALAVOLTA *et al.*, 1997).

Também foi verificado que o potássio aumenta a resistência natural da parte aérea das hortaliças às doenças fúngicas, pois torna os tecidos mais fibrosos e resistentes, inclusive ao acamamento e, principalmente, contrabalanceando o efeito contrário causado pelo excesso de nitrogênio. Entretanto, o excesso de potássio desequilibra a nutrição das hortaliças e dificulta a absorção de cálcio e magnésio (FAQUIM, 1994; FILGUEIRA, 1982). Segundo CHABOUSSOU (1987), o potássio é um elemento essencial ao desenvolvimento e metabolismo das plantas, pois tem participação ativa em processos importantes como os de biossíntese, tais como fosforilação e síntese de ATP, ativação dos aminoácidos livres e com sua utilização apropriada na síntese de proteínas. A carência deste elemento determina um acúmulo de aminoácidos nos locais de origem e problemas gerais na estruturação das proteínas.

2.2.2.3 - Fósforo

De uma forma geral, as quantidades de fósforo exigidas pela cultura são baixas, principalmente quando comparadas com a de nitrogênio e potássio. Além de afetar o desenvolvimento da planta, o fósforo pode interferir no equilíbrio nutricional da cultura. A deficiência de fósforo em alface provoca atraso no crescimento das plantas e má formação das cabeças (KATAYAMA, 1993).

A alface pode ser considerada como bastante exigente em fósforo, principalmente na fase final de seu ciclo. A deficiência deste elemento reduz em muito o crescimento da planta, ocasiona má formação da cabeça, coloração verde opaca das folhas velhas, podendo mostrar tonalidades vermelho-bronze ou púrpura nas folhas jovens (KATAYAMA, 1993).

Em solos ácidos e com baixos teores de fósforo, este nutriente limita a produtividade das culturas. A fixação do fósforo, muitas vezes, pode ser diminuída pelo aumento do pH do solo. Resultados de vários experimentos mostram que se o

pH for mantido entre 6,0 e 7,0, ocorre melhor absorção de fósforo pelas culturas (MALAVOLTA, 1989).

2.2.2.4 - Cálcio

A principal função do cálcio na planta é manter a integridade da parede celular e o seu fornecimento inadequado é caracterizado pelo surgimento de necrose, principalmente, nas extremidades das folhas em desenvolvimento. Na cultura da alface a deficiência de cálcio constitui-se em um dos principais problemas, pois é responsável pelo distúrbio fisiológico “queima dos bordos” (COLLIER & TIBBITTS, 1982). Mesmo quando este nutriente encontra-se em níveis adequados no solo ou solução nutritiva o problema pode aparecer (GRANGEIRO *et al.*, 2006).

Na planta, o cálcio move-se com a água, sendo sua translocação e seu teor nos tecidos sujeitos à taxa de transpiração. Uma vez depositado, não apresenta redistribuição para outras partes da planta, sendo acumulado principalmente em tecidos com transpiração mais intensa. Nos órgãos que apresentam dificuldade para transpirar, como as folhas novas e internas da alface, o transporte do cálcio é dependente das condições ambientais que favoreçam o desenvolvimento da pressão radicular. Fatores que inibem o desenvolvimento da pressão radicular como seca, vento e alta salinidade promovem aparecimento de “queima dos bordos” (COLLIER & TIBBITTS, 1982).

2.3 - CONTAMINAÇÕES MICROBIOLÓGICAS

A busca por uma alimentação mais saudável vem aumentando o risco de transmissão de doenças veiculadas por estes alimentos, em função das condições em que o produto é exposto durante o período de produção e distribuição (MADDEN, 1992).

Ressalta-se que muitas hortas brasileiras não só são irrigadas com água contaminada por pesticidas e material fecal, mas também com dejetos humanos (OLIVEIRA, 1992). Por isso, o consumo de hortaliças cruas é um importante meio de transmissão de doenças infecciosas e parasitárias na população (TAKAYANAGUI *et al.*, 2000).

A maioria das pesquisas nesta área tem sido desenvolvida para mostrar o tempo de sobrevivência de agentes patogênicos nos dejetos animais, o modo de disseminação no campo, assim como os tratamentos utilizados para diminuir ou eliminar completamente esses agentes. Segundo KOUBA (2002) certos agentes patogênicos, como vírus da hepatite A, possuem uma resistência térmica mais alta que outros microorganismos.

As frutas e hortaliças apresentam microbiota natural que provém do ambiente, sendo influenciada pela estrutura da planta, técnicas de cultivo, transporte e armazenamento (PACHECO *et al.*, 2002; ROSA & CARVALHO, 2000), o que favorece a contaminação.

As doenças veiculadas por alimentos são resultantes, predominantemente, do ciclo de contaminação fecal/oral e seu controle tem recebido atenção cada vez maior em todo o mundo (KAFFERSTEIN & ABDUSSALAM, 1999). No Brasil, não obstante a relevância e atualidade do problema, são poucos os trabalhos avaliando a qualidade das hortaliças consumidas pela população (TAKAYANAGUI *et al.*, 2000).

A incidência das doenças transmitidas por alimentos vem aumentando, de forma considerável, devido às mudanças no estilo de vida da população, que tem dedicado um menor tempo ao preparo de suas refeições, preferindo consumir alimentos já prontos; ao modismo, preferência por alimentos crus ou minimamente processados com características próximas às do “*in natura*” e ao aumento da população de grupos considerados de risco, formados, principalmente, por idosos e indivíduos imunocomprometidos (LANDGRAF, 2002).

Estes microorganismos aderem à mucosa do intestino humano e proliferam, colonizando-o. Em seguida, pode ocorrer invasão da mucosa e a penetração nos tecidos, ou ainda, a produção de toxinas que alteram o funcionamento das células do trato gastrointestinal. Entre as bactérias invasivas, destacam-se *Salmonella* e *Escherichia coli*. A última, por ser uma enterobactéria, uma vez detectada no alimento, indica que esse alimento tem uma contaminação microbiana de origem fecal e, portanto, está em condições higiênicas insatisfatórias (FRANCO & LANDGRAF, 2003).

À medida que a promoção e a garantia da segurança alimentar vêm sendo incorporadas aos planos estratégicos dos governos, estudos sobre condições higiênicas e práticas de manipulação e preparo de alimentos vêm sendo conduzidos em todo o mundo e também no Brasil. Dentre eles, cabe destacar a preocupação

com a qualidade sanitária de alimentos comercializados e consumidos em espaços coletivos, inclusive naqueles educacionais, o que tem sido objeto de diferentes pesquisas (YOUN, 2003; DAMASCENO *et al.*, 2002; PALÚ *et al.*, 2002; ALMEIDA, 1994).

A contaminação da hortaliça é um fator limitante para sua comercialização. Condições sanitárias desfavoráveis nas áreas rurais e urbanas favorecem essa contaminação, transformando os vegetais em veículos de transmissão de patógenos. Desse modo, pode-se afirmar que a contaminação pode ocorrer desde o plantio até o processamento, e também na comercialização e consumo (RODRIGUES, 2007).

A contaminação pode ocorrer na horta, resultante da utilização de água de irrigação ou adubos inadequados, na colheita, no transporte, na manipulação nos pontos de venda. As sucessivas manipulações aumentam as chances de contaminação. A frequência significativamente mais baixa de contaminação nas hortas em relação aos demais pontos de venda pode ser justificada por constituir o ponto inicial da cadeia (TAKAYANAGUI *et al.*, 2000).

De acordo com TAKAYANAGUI *et al.* (2000), em Ribeirão Preto, SP, hortas produtoras de hortaliças apresentaram uma elevada concentração de coliformes fecais, presença de *Salmonella* sp e de vários enteroparasitas (*Ascaris* sp; Ancylostomídeos, *Strongyloides* sp, *Hymenolepis nana* e *Giardia* sp). No ano seguinte, após ter sido regularizada as condições sanitárias desses locais, analisaram-se hortaliças provenientes dessas hortas, as quais eram comercializadas em estabelecimentos fixos e ambulantes de Ribeirão Preto. Estas análises demonstraram irregularidades tais como elevada concentração de coliformes fecais, presença de *Salmonella* sp e enteroparasitas (TAKAYANAGUI *et al.*, 2000), indicando uma provável contaminação desses vegetais durante o transporte e/ou manipulação dos mesmos nos locais de venda.

Muitas das infecções alimentares podem ser evitadas com a orientação do manipulador sobre a higiene pessoal, higiene com os utensílios usados no preparo do alimento (SILVA Jr, 1992).

A falta de cuidados higiênicos durante a produção e/ou manipulação de frutas e hortaliças amplia os riscos de contaminação por *Salmonella spp* e *Listeria monocytogenes*, microorganismos causadores de doenças que podem levar à morte (ALVES FILHO, 2003).

Microorganismos indicadores são segundo FRANCO & LANDGRAF (2003), grupo ou espécies de microrganismos que, quando presentes em um alimento, podem fornecer informações sobre a ocorrência de contaminação de origem fecal, sobre a provável presença de patógenos ou sobre a deterioração potencial do alimento, além de poderem indicar condições sanitárias inadequadas durante o processamento, produção e armazenamento.

Os microorganismos patogênicos podem chegar até o alimento por inúmeras vias, sempre refletindo condições precárias de higiene (FRANCO & LANDGRAF, 2003). Além da fase de produção, a contaminação pode ser oriunda do solo contaminado, por fezes de animais (domésticos ou silvestres), ração animal, pele de animais, ar e pó, armazenamento, processamento, distribuição ou manuseio em nível doméstico. Porém, qual dessas vias é a principal causadora de contaminação? Até o momento, registros mostram que os maiores índices de contaminação nas hortaliças seriam resultados de contaminação cruzada (BEUCHAT, 1996).

Segundo TAKAYANAGUI *et al* (2000), as sucessivas manipulações aumentam as chances de contaminação. No entanto, a contaminação na horta é frequentemente inferior quando comparada ao observado nos demais segmentos da cadeia produtiva.

Mudanças nos hábitos alimentares e no manuseio dos alimentos refletem-se nos surtos relatados de infecção pela *Salmonella* entérica. O padrão de pequenos surtos classicamente associados a alimentos feitos em casa e ingeridos em pequenas festas está sendo substituído por surtos que podem atingir um país inteiro por causa do resultado da produção e preparação comercial dos alimentos. Alguns exemplos disso são os surtos associados ao consumo de sorvete em todos os EUA (HENNESSY *et al.*, 1996).

Considerando a elevada frequência de contaminação fecal e o potencial de risco por doenças veiculadas pelos alimentos é necessário o fortalecimento do sistema de vigilância sanitária para fiscalização de alimentos oferecidos à população, de acordo com KAFERSTEIN & ABDUSSALAM (1999).

2.3.1- Enterobactérias (*Salmonella sp. e coliformes* a 45 °C)

Freqüentemente estão presentes em fezes de animais bactérias do grupo coliformes fecais, dentre elas, as principais são *Escherichia coli* e *Salmonella sp.*, as

quais podem provocar surtos de toxinfecção alimentar quando atingem quantidades elevadas nos alimentos (SILVA, 1995). A capacidade desses microrganismos de causarem infecções está diretamente relacionada a virulência, carga parasitária ingerida, inalada ou absorvida, e fatores como idade, estado nutricional, condições imunológicas e outras patologias associadas (PACHECO *et al.*, 2002).

As enterobactérias são um grupo de bactérias classicamente utilizadas para determinar as contaminações causadas por fezes, pois são encontradas no intestino e em regiões extra-intestinais. Algumas destas bactérias podem causar patogenias ao homem. São considerados os agentes patogênicos mais comuns e podem causar doenças como febre tifóide e cólera. Os coliformes a 45°C podem causar doenças diarréias agudas, especialmente em crianças, infecções nas vias urinárias, entre outras doenças. A *Salmonella sp.* pode, em casos extremos, ser fatal (SIQUEIRA, 1995).

2.3.1.1. - *Escherichia Coli*

A infecção intestinal por *Escherichia coli* caracteriza-se por originar um quadro agudo de diarréia, de intensidade variável, geralmente acompanhada de febre e cólicas abdominais (PELCZAR *et al.*, 1996).

A *Escherichia coli* enterotoxigênica (ETEC) é geralmente mais associada à “diarréia do viajante” do que às doenças alimentares nos Estados Unidos. Os sintomas de ETEC são similares aos da cólera: diarréia aquosa, desidratação, possivelmente choque, e algumas vezes vômito. O período de incubação varia de 8 a 44 horas, com média de 26 horas e a duração da doença é curta, aproximadamente 24 a 30 horas. Produz uma ou mais toxinas que vão agir no intestino delgado induzindo a liberação de fluido. Não ocorre invasão nem dano à camada epitelial do intestino delgado, apenas ocorrem colonização e produção de bactérias.

O microorganismo coloniza a superfície epitelial do intestino delgado e produzem toxinas. Conter o plasmídio codificante para a produção de três fatores é necessário para que ETEC cause diarréia em um hospedeiro. Primeiro, o microorganismo deve ser toxigênico, ou seja, deve ter uma ou duas toxinas. Segundo, o hospedeiro deve ingerir um número suficiente de células a fim de que ocorra a doença. E finalmente, o microorganismo deve estar em contato com a

mucosa do intestino delgado. Isto é alcançado através de fatores de colonização (DOYLE *et al.*, 1990).

Escherichia coli são bacilos Gram negativos, facultativos anaeróbicos da família das Enterobacteriaceae, podem ser patogênicas e causar danos levando a diferentes quadros clínicos como a diarreia (PELCZAR *et al.*, 1996).

A *E. coli* enteroagregativa (EAEC) forma um padrão agregativo de adesão, quando se associam às células intestinais. São bastante freqüentes nas fezes de crianças sadias e com diarreia aguda. No entanto, trabalhos têm mostrado uma associação das EAEC com diarreia de duração de 7 a 14 dias (DOYLE *et al.*, 1990).

E. coli pode crescer muito bem em meios contendo um único composto orgânico, tal como um açúcar mais íons inorgânicos, de forma rápida (24-48 horas para crescimento) (PELCZAR *et al.*, 1996).

E. coli O157: H7 pertence a um grupo de cepas patogênicas de *E. coli*, conhecidas como enterohemorrágicas (EHEC) ou produtoras de verotoxina (VTEC). Essas linhagens caracterizam-se pela produção de uma toxina chamada de verotoxina (VT) ou “shigalike” toxina (ST), similar à produzida pela bactéria *Shigella dysenteriae* tipo I (WEAGANT *et al.*, 1995). A VT provoca uma doença chamada colite hemorrágica que, em casos mais graves, resulta em um quadro conhecido como síndrome urêmica hemolítica (HUS). As cepas EHEC podem pertencer a diferentes grupos sorológicos somáticos, mas a maioria das linhagens associadas à HUS são do sorotipo O157: H7 (WILLSHAW *et al.*, 1994). A forma mais grave de doença é a resultante da infecção pelo sorotipo O157:H7 (BOROWSKI, *et al.*, 2002).

E. coli é o mais importante indicador de contaminação fecal, embora possa ser introduzida nos alimentos a partir de fontes não fecais (SILVA *et al.*, 1995). Bactérias que pertencem ao grupo coliforme têm como habitat o trato intestinal do homem e de outros animais (PARDI *et al.*, 1995).

O trato-intestinal de ruminantes, particularmente bovinos e ovinos, parece ser o principal reservatório das cepas enterohemorrágicas de *E. coli* O157:H7 e *E. coli* O157:NM. Já foram incriminados em surtos, dentre outros alimentos, em leite cru, carne bovina mal cozida e outros produtos à base de carne (rosbifes, hambúrgueres e salsichas tipo “hot-dog”), frutas e vegetais (alface, melão, suco de maçã e diversos tipos de saladas) e maionese industrializada (BEUCHAT, 1996).

A legislação em relação a alimentos foi originalmente introduzida em muitos países com o objetivo de prevenir a venda de produtos fraudulentos e de verificar

desvio nos padrões para composição e peso. Somente em tempos mais recentes a legislação sofreu expansão e incluiu considerações de saúde pública, tais como aquelas referentes à transmissão de bactérias nocivas em alimentos (PEREIRA, 2005).

Padrões e regulamentos têm sido desenvolvidos para assegurar que o alimento recebido pelo consumidor seja saudável, seguro e apresente a qualidade especificada na lei (PELCZAR *et al*, 1996).

No Brasil, a Resolução RDC nº. 12, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde (ANVISA), de 2 de Janeiro de 2001, estabelece os padrões microbiológicos sanitários para alimentos destinados ao consumo humano e determina 10^2 NMP/g como máxima contagem de coliformes fecais para tomate, alface, cheiro-verde e repolho (TABELA 01).

TABELA 01 - Níveis aceitáveis de coliformes fecais a 45°C e *Samonella* em amostras indicativas de hortaliças, legumes e similares. RDC nº 12, 02/01/01, Anvisa.

| GRUPO DE ALIMENTOS | MICROORGANISMO | TOLERÂNCIA PARA AMOSTRA INDICATIVA |
|---|--------------------------|------------------------------------|
| Hortaliças, legumes e similares | | |
| Frescas, "in natura", preparadas (descascadas ou selecionadas ou fracionadas) sanificadas, refrigeradas ou congeladas, para o consumo direto, com exceção de cogumelos. | Coliformes a 45°C | 10^2 |
| | <i>Salmonella sp/25g</i> | Ausente |

A contaminação pode ocorrer na área de cultivo por meio da utilização de água de má qualidade, pela utilização de adubos inadequados, na colheita, no transporte ou por manipulação incorreta do produto nas gôndolas dos supermercados. Dessa forma, é imprescindível um controle rigoroso dos processos e das etapas de produção visando redução da contaminação dos produtos para o consumidor.

2.3.1.2 - *Salmonella sp.*

A *Salmonella* pode causar sérios danos à saúde do homem, pode ser amplamente encontrada na natureza. São enterobactérias e vivem no trato

gastrointestinal de animais domésticos e selvagens; a única exceção é a *Salmonella typhi*, que é um patógeno exclusivamente humano. A *Salmonella* entérica é uma das espécies mais comuns, com no mínimo 2.324 sorotipos identificados (SSSP, 2003).

O gênero *Salmonella* pertence à família Enterobacteriaceae, sendo anaeróbios facultativos, com produção de gás a partir de glicose (exceto *S. typhi*) e capazes de utilizar o citrato como única fonte de carbono. A maioria é móvel, pela presença de flagelos, exceção feita à *S. pullorum* e à *S. gallinarum* que são imóveis (FRANCO & LANDGRAF, 2003).

A taxonomia do gênero *Salmonella* é baseada na composição de seus antígenos de superfície, que são os antígenos somáticos (O), os flagelares (H) e os capsulares (Vi). Os antígenos H são de natureza protéica. Os antígenos O e Vi são termorresistentes, não são destruídos pelo aquecimento a 100° C por 2 horas e os antígenos H são termolábeis (FRANCO & LANDGRAF, 2003).

As salmonelas se multiplicam em temperaturas entre 7°C e 49,5°C, sendo 37°C a temperatura ótima para desenvolvimento, na qual em 4 horas, o alimento contaminado pode transformar-se em alimento infectante. Abaixo de 7°C, para a maioria dos sorotipos, não há multiplicação (GERMANO & GERMENO, 2003).

Dados internacionais apontam a *Salmonella* como o principal agente de surtos nos EUA. Naquele país, entre os anos de 1993 a 1997, foram contabilizados 32.610 casos, com 13 mortes (ALVES FILHO, 2003).

Os seres humanos, geralmente, contraem a infecção por *Salmonella paratyphi* entérica ao ingerirem produtos de origem animal contaminados. Os alimentos mais associados a surtos de *Salmonella* entérica são aves e ovos e estes podem ser contaminados na cloaca da galinha ou por infecção transovariana. O risco não está associado a ovos sujos, pois eles aparentemente limpos podem transmitir a infecção pela *Salmonella* se ingeridos crus ou mal cozidos. A *Salmonella* entérica também está associada à carne de aves, principalmente quando cozida e resfriada e ingerida fria, ou depois de ser reaquecida. Nesses casos, baixas contagens bacterianas podem aumentar, exponencialmente, em pouco tempo (CAETANO *et al.*, 2004).

Os sinais e sintomas da infecção por *Salmonella* entérica aparecem 12 a 36 horas após a ingestão do alimento contaminado. O sintoma mais comum é diarreia, embora algumas pessoas possam apresentar náusea, vômitos, dor abdominal ou cefaléia, seja como sintomas isolados ou em todas as combinações possíveis. Às

vezes, a infecção é percebida retrospectivamente, quando o paciente com poucos sintomas ou quase nenhum desenvolve artrite duas semanas mais tarde (CAETANO *et al.*, 2004).

2.4 - CONTAMINAÇÕES DA ÁGUA

A água é essencial para a vida, porém muitas vezes atua como veículo de doenças ao homem, o que torna primordial a avaliação de sua qualidade microbiológica antes de ser utilizada (ISAAC-MÁRQUEZ *et al.*, 1994), tanto para fins de irrigação como para dessedentação ou recreação.

Geralmente, a água utilizada na irrigação é proveniente de rios, córregos, lagos ou poços adjacentes às hortas, sendo raramente encontrada a utilização de água de abastecimento público, devido principalmente ao seu alto custo, uma vez que a demanda exigida para este propósito é bastante elevada. Portanto, a água destinada a irrigação é transportada através de bombas ou canais desde o rio e riacho até as hortas, sem qualquer tratamento prévio (OLIVEIRA & GERMANO, 1992), podendo vir a ser uma fonte potencial de enteropatógenos para o vegetal que será irrigado.

As águas destinadas à irrigação são fontes originais de contaminação quando comportam grande quantidade de microrganismos como coliformes de origem fecal, aeromonas, salmonelas, parasitas intestinais e outros. Conseqüentemente, alimentos que estão em contato direto com águas contaminadas e são consumidos crus constituem fontes prováveis desses microrganismos e merecem especial atenção, principalmente nos países em desenvolvimento, onde o estado nutricional da população é precário, interferindo diretamente nas condições imunológicas dos indivíduos. Crianças, imunodeprimidos e debilitados são considerados grupos suscetíveis, favorecendo o aparecimento dessas enfermidades (PACHECO *et al.*, 2002).

No meio rural, o risco de ocorrência de surtos de doenças veiculadas pela água é alto, principalmente em função da possibilidade de contaminação bacteriana de águas que muitas vezes são captadas em poços, inadequadamente vedados e próximos de fontes de contaminação, como fossas e áreas de pastagem ocupadas por animais (SKUTEL *et al.*, 1990).

Em estudo realizado no Canadá, foi possível o isolamento de *Escherichia coli* 0157: H7 das fezes de uma criança com diarreia sanguinolenta e na água do poço da área onde ela residia. Além disso, a mesma bactéria foi isolada nas fezes de 63% dos bovinos da fazenda (ERCOLE *et al.*, 2003). Segundo KOUBA (2003), o dejetivo bovino depositado no solo representa risco de contaminação das fontes de água, uma vez que esses animais são reservatórios de diversos patógenos que afetam humanos.

3 - OBJETIVOS GERAIS

Avaliar a produtividade e a qualidade microbiológica de alface cultivada sob adubação orgânica e química.

3.1- OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar a produtividade e composição de macro e micronutrientes em alface produzida sob fertilização orgânica e química.

Identificar e quantificar a presença de *Escherichia coli* e *Salmonella sp.* em alface submetida à fertilização química e orgânica de diferentes fontes.

4- MATERIAL E MÉTODOS

4.1- ÁREAS EXPERIMENTAIS

O experimento foi conduzido na Fazenda Água Limpa - UnB, Brasília – DF, localizada a 16° de latitude Sul e 48° de longitude Oeste e 1.100m de altitude. O solo do local é classificado como Latossolo Vermelho-Amarelo, textura argilosa, fase cerrado, com boa drenagem e baixa fertilidade natural. O clima da região é AW.

O experimento foi conduzido no período de novembro de 2006 a fevereiro de 2007, utilizando-se a cultivar de alface Vera. O experimento foi irrigado por uso do sistema de irrigação por aspersão convencional. Foram coletadas amostras do solo na profundidade de 0 a 20cm para análise de sua composição química, antes da instalação do experimento, e, também, após a colheita da alface, em cada tratamento.

4.2 - DELINEAMENTOS EXPERIMENTAIS

O delineamento experimental utilizado foi de blocos ao acaso, com seis tratamentos, em cinco repetições. Os tratamentos foram: T1 - Testemunha (sem adubação); T2 adubação química - 37,5g.m⁻² de N, 175g.m⁻² de P₂O₅ e 16,25g/m² de K (conforme análise do solo); T3 – Esterco de galinha (1,5kg.m⁻²); T4 - Esterco Bovino (3,0kg.m⁻²); T5 - Húmus de Minhoca (2,0kg.m⁻²) e T6 - Composto Orgânico (3,0kg.m⁻²).

A adubação de cobertura para o tratamento químico foi realizada aos quinze dias (7,5g.m⁻² de N e 3,2g.m⁻² de K), aos trinta dias (5,62g.m⁻² de N e 2,5g.m⁻² de K) e aos quarenta dias após o transplântio (5,62g.m⁻² de N e 2,5g.m⁻² de K).

A adubação orgânica de cobertura foi dividida em três partes: 34% no plantio e os outros 66% na cobertura aos quinze dias e trinta dias após o plantio – Esterco de galinha (0,5kg.m⁻²); Esterco Bovino (1,0kg.m⁻²); Húmus de Minhoca (0,66kg.m⁻²) e no caso das parcelas com composto orgânico utilizou-se Bokashi (0,3kg.m⁻²) na cobertura.

O bokashi e o substrato orgânico foram obtidos na EMBRAPA HORTALIÇAS (2007), tendo sido o composto formado por Barchiaria, Napier, cama de matriz e termofosfato.

4.3 - CARACTERIZAÇÃO E CONDUÇÃO DA CULTURA

O solo foi arado a 20cm de profundidade e em seguida foram demarcados os canteiros. Cada parcela era composta de dois canteiros de 4m de comprimento totalizando 8m². No dia 20/12/2006 foi realizada a distribuição da adubação de base nas parcelas.

As mudas foram produzidas em casa-de-vegetação e transplantadas para os canteiros após 30 dias da sementeira.

O transplante das mudas ocorreu em duas linhas longitudinais em dois canteiros, no dia 22 de dezembro de 2006, quando apresentavam cinco folhas e 6cm de altura, em espaçamento de 0,25 x 0,30cm, totalizando 64 plantas por parcela/repetição (FIGURA 01).

Após o transplante, irrigou-se toda a área durante sete dias até o completo pagamento das mudas. Passado esse período, o sistema de irrigação foi acionado apenas em dias alternados e não chuvosos.



FIGURA 01- Transplante das mudas.

A adubação de cobertura foi realizada aos quinze, trinta e quarenta dias após o transplante com exceção dos tratamentos com adubos orgânicos. Onde não foi realizada a cobertura aos quarenta dias, considerando que a liberação de nutrientes seria mais lenta e os benefícios não seriam observados naquele ciclo da cultura (FIGURA 02).



FIGURA 02 – Cultura após segunda cobertura.

Durante a condução do experimento, não houve necessidade de realizar o controle de pragas e doenças. No entanto, foi realizada limpeza da área através de capinas.

A colheita foi realizada no dia 14/02/2007, com a retirada de 10 pés de alface por parcela, as plantas foram cortadas rente ao solo e pesadas para obtenção do peso médio da matéria fresca (FIGURA 03).



FIGURA 03 – Dia da colheita

Na colheita, foram retiradas amostras para determinação da contaminação microbiológica e matéria seca em cada tratamento, em cada parcela, as mãos e instrumentos de corte utilizados eram lavados com água e sabão para evitar contaminação.

4.4- ANÁLISES DE MATÉRIA SECA

Para a análise de matéria seca foi utilizado o processo direto a fim da determinação da água presente nas amostras baseado na secagem das mesmas em estufa, à temperatura de 70°C durante 72 horas (SILVA, 1998).

Foram amostradas 10 plantas por parcela para obtenção de matéria seca. Após a coleta o material vegetal foi lavado sob jato de água da torneira para a retirada de terra ou poeira. Em seguida foram secas sob papel toalha, e posteriormente, colocadas em sacos de papel e secos em estufa de circulação fechada de ar, a 70°C, até atingirem peso constante. A matéria seca foi levada ao laboratório para análise foliar e determinação de macro e micronutrientes.

A determinação de matéria seca (MS) é o ponto de partida da análise dos alimentos e de grande importância, uma vez que a preservação do alimento pode depender do teor da umidade presente. Além disso, quando se compara o valor nutritivo de dois ou mais alimentos, têm que ser levado em consideração os respectivos teores de matéria seca. Por outro lado, se o desejado é comparar o resultado de análises realizadas em diferentes épocas, locais ou regiões, sempre faz-se essa comparação em base da matéria seca, isto é, como se o alimento contivesse 100% de matéria seca (SILVA, 1998).

A água contida nos alimentos encontra-se sob as seguintes formas: livres, de estrutura e de constituição. A água livre é a que não se encontra ligada a nenhuma estrutura molecular dentro da célula, isto é, encontra-se em estado livre e é relativamente fácil de ser eliminada. Constitui a maior fração de água existente nos alimentos. As demais formas de águas existentes, apesar da importância, sob o aspecto físico-químico, não apresentam valores no aspecto prático, pelos baixos teores presentes (SILVA, 1998).

4.5- ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Para avaliação da possível contaminação microbiológica, foram coletadas amostras do solo da área experimental, dos adubos orgânicos, da água utilizada para irrigação e da alface colhida. O material foi analisado no Laboratório de Microbiologia dos Alimentos, UnB – FAV, e os resultados comparados aos limites estabelecidos na legislação brasileira em cada caso.

Para análise estatística, no caso das amostras dos tratamentos de adubação, consideraram-se amostras de alface contaminadas = 1 e não contaminadas = 0.

4.5.1- Preparação das amostras para análise microbiológica

As amostras de alface de todos os tratamentos de adubação, adubos orgânicos, solos e da água de irrigação, foram levadas para avaliação de coliforme fecais a 45°C e *Salmonella*, no Laboratório de Microbiologia de Alimentos da FAV - UnB.

Quarenta e sete amostras foram avaliadas, tendo sido cinco amostras de alface para cada tipo de tratamento, cinco amostras de adubo/composto, cinco amostras de água e sete amostras de solo.

Na condução dos testes foram utilizados os meios de cultura para contagem de coliformes fecais. Foi utilizado, também, o teste presuntivo LST (Lauril Sulfato Triptose), caldo *Escherichia coli* (EC) e os caldos de Rapaport, TSI e Macconkey para avaliação de *Salmonella*.

Para a identificação de coliformes fecais a 45°C, grupo de bactérias capaz de fermentar a lactose com a produção de gás quando incubadas à temperatura de 45°C, utilizou-se o método do Número Mais Provável (NMP) descrito por SILVA *et al* (1997), conforme detalhes apresentados a seguir.

4.5.1.1- Análise da água

A coleta das cinco amostras de água utilizada na irrigação foi feita no dia 14/02/2007 no turno da manhã e foram coletadas em frascos estéreis de vidro, de boca larga, cor âmbar, de 200mL de capacidade. Com todos os cuidados de assepsia, removeu-se a tampa do frasco, e com uma das mãos segurou-se o mesmo pela base, que rapidamente foi mergulhado com a boca para baixo a aproximadamente 20cm de profundidade da superfície da água evitando a introdução de contaminantes superficiais. Inclinou-se o frasco para retirada do ar e enchimento total do mesmo. O tempo decorrido entre a coleta e o início das análises foi inferior a 2 horas.

4.5.1.2- Análise do solo e dos adubos orgânicos

Para avaliar a contaminação microbiológica no solo, foram retiradas amostras antes do plantio e após a retirada da alface, na colheita. Após a colheita, o solo de todos os tratamentos foi amostrado para avaliação.

Antes do plantio, os adubos orgânicos foram amostrados para avaliação da contaminação microbiológica.

Os resultados obtidos foram comparados ao estabelecido na norma da APHA (1995), que estabelece o limite de 1000 UFC por grama de material, para coliformes fecais e, para *Salmonella*, ausência.

4.5.1.3- Incubação das amostras nos meios para análise de coliformes a 45°C

Coliformes fecais foram determinados pelo método do NMP, pela técnica dos tubos múltiplos, que consta de duas fases distintas: a fase do teste presuntivo, no qual se busca detectar a presença de microorganismos fermentadores de lactose, e a fase de confirmação.

Através da determinação do NMP, o número de células viáveis é obtido por meio de três diluições decimais sucessivas e transferência de alíquotas determinadas (também decimais, como 10 e 1,0 mL) de cada diluição em séries de tubos.

Os intervalos de confiança 95% constantes das tabelas de NMP oferecem a informação de que, em pelo menos 95% das vezes, há a chance da concentração real do microrganismo alvo estar incluído no intervalo de confiança calculado para cada arranjo de tubos positivos.

Para iniciar a preparação das análises mediou-se 90ml de água Peptonada Tamponada Estéril, em cada saquinho de *stomacher* contendo 10g da amostra coletada (alface, solo, adubos orgânicos e 10ml de água de irrigação). Cada amostra foi submetida ao *stomacher* para homogeneizar a mistura, posteriormente incubada a 37°C por 24 horas com a finalidade de obter o teste presuntivo, obtendo-se assim a diluição 10^{-1} . Foi transferido desta diluição, 1mL para o tubo contendo 9mL de água peptonada 0,1%, sendo esta a diluição 10^{-2} . Desta última também foi transferido 1mL

para o tubo contendo 9mL de água peptonada 0,1%, sendo este a diluição 10^{-3} . Essa solução foi utilizada como ponto de partida para os testes de Coliformes a 45°C e *Salmonella*.

Logo após ter agitado o tubo de água peptonada (10^{-3}) de cada diluição passou-se 1mL para séries de três trincas de três tubos contendo o meio de cultura Caldo Lauril Sulfato Triptose – LST, tubos de Durhan invertidos para verificar a fermentação, sendo incubados à 37°C, por 48 horas, e observada posteriormente a produção de ácido e gás. Já os tubos que deram negativos, foram descartados.

Os tubos de Durhan que continham gás e coloração turva foram considerados positivos para coliformes fecais. Em seguida foi realizada a transferência de uma gota de cada tubo positivo com alça de platina para os tubos contendo o meio de cultura caldo *E. coli* (EC).

Foi realizada a incubação a 45,5°C por 48 horas. Após a incubação verificou-se o arranjo do número de tubos positivos das três diluições em NMP/g ou ml da substância.

4.5.1.4 - Metodologia para *Salmonella*

Para detecção da *Salmonella* também foi utilizada metodologia descrita por SILVA *et al.* (1997). Foram retirados de cada amostra de alface, solo, adubos orgânicos 10g e 10ml da água e foram adicionados a 90ml de Água Peptonada Tamponada (H₂O) e homogeneizadas para incubação em estufa à 37° C por 24 horas.

A partir desta diluição inicial, foram executadas diluições decimais seriadas onde se retirou 1ml dessa solução que foi colocada em tubos de ensaio. Esses tubos continham 9ml de caldo Rappaport, o qual foi homogeneizado em agitador tipo *vórtex*, por 1 minuto, e incubado à 42°C por 24 horas.

Após as 24 horas, foi coletada 1 gota do enriquecimento e estriou-se com alça de platina em placas de *Hektoen*, meio seletivo, as quais foram incubadas invertidas à 37°C por 24 horas.

A gelose *Hektoen* é um meio de isolamento seletivo e de diferenciação recomendado para a detecção das espécies de *Salmonella* e *Shigella*. Os microrganismos que fermentam um ou os três açúcares contidos no meio formam

colônias verdes ou verde-azuladas. Os microrganismos que produzem H₂S formam colônias com centro negro. As placas que apresentaram características de *Salmonella* foram passadas para a etapa dos testes bioquímicos e as que não apresentaram foram descartadas.

Cumprida a etapa anterior, observou-se a presença de colônias típicas de *Salmonella*. Essas colônias são caracterizadas pela coloração clara, secas, pastosas e isoladas nas placas.

Retirou-se com o auxílio de alça as possíveis colônias típicas de *Salmonella* das placas e as introduziu em tubos de ensaio contendo Agar Tríplice ferro (TSI). Esse procedimento foi feito estriando-se na rampa do tubo de Agar Tríplice Ferro (TSI) as colônias, em seguida, incubaram-se os tubos por 24 horas a 35°C.

A confirmação da presença de *Salmonella* foi observada da seguinte forma: a superfície inclinada (rampa) apresenta coloração vermelha devido a não fermentação da lactose e da sacarose; o ápice do meio se torna amarelo pela fermentação da dextrose; e a produção ou não de H₂S (enegrecimento de certa parte do meio) e gás.

Apenas três amostras foram passadas para o meio MacConkey, pois apresentaram suspeita de contaminação por *Salmonella*. Nesse teste, tem-se a confirmação ou não de contaminação.

4.6- SISTEMAS INTEGRADO DE DIAGNOSE E RECOMENDAÇÃO – DRIS

Este método, preconizado por BEAUFILS (1973), baseia-se no cálculo de índices para cada nutriente, levando em conta sua relação com os demais macro e micronutrientes. Há comparação de pares de nutrientes encontrados na amostra analisada com razões médias normalizadas, que são estabelecidas a partir de determinada população de referência. Estas relações entre elementos também variam com a idade da planta e suas fases de crescimento e reprodução.

Através do DRIS, é conhecida a ordem de limitação dos nutrientes de determinada lavoura. Serve como avaliação do estado nutricional, mas não calcula a quantidade de nutrientes que deve ser adicionada, indicando apenas a ordem de limitação causada por carência ou excesso de determinados nutrientes.

Os índices podem ter valores negativos, indicando deficiência do elemento em relação aos demais positivos indicam excesso do elemento. Porém, quanto mais

próximo de zero, mais próxima estará a planta do equilíbrio nutricional para o elemento em estudo. Com isto, tem-se a classificação dos elementos em ordem de importância para a produção e a indicação da intensidade de exigência de determinado elemento para a planta (RIBEIRO *et al.*, 1999).

A quantidade de nutriente exigida por uma cultura é função de seus teores no material vegetal e do total de matéria seca produzida. Portanto, esta exigência varia muito em função da espécie e de sua capacidade produtiva. Normalmente tal exigência, de forma geral, decresce na seguinte ordem: macronutrientes: N > K > Ca > Mg > P = S; micronutrientes: Fe > Mn > Zn > B > Cu > Mo. No entanto, na produção de frutos e grãos, nem sempre esta seqüência é seguida (FAQUIM, 1994).

4.7- ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Duncan, ao nível de 5% de probabilidade.

Foi realizada análise de correlação entre todas as variáveis avaliadas. A interpretação foi realizada com base na significância de seus coeficientes. Na classificação de intensidade da correlação para $p \leq 0,01$, considerou-se muito forte ($r \pm 0,91$ a $\pm 1,00$), forte ($r \pm 0,71$ a $\pm 0,90$), média ($r \pm 0,51$ a $\pm 0,70$) e fraca ($r \pm 0,31$ a $\pm 0,50$), conforme GUERRA & LIVERA (1999).

5- RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1- PRODUÇÃO DE MATÉRIA FRESCA E MATÉRIA SECA

Verificou-se que a produção de matéria fresca foi maior no tratamento com esterco de galinha (TABELA 02) diferindo estatisticamente da produção observada nos demais tratamentos. Resultados semelhantes foram obtidos por PIRES (2002), onde as plantas de alface adubadas com cama de frango obtiveram peso médio superior comparado aqueles obtidos com esterco bovino e adubo químico.

Foi verificado também que as plantas da parcela testemunha apresentaram teores elevados de alguns nutrientes, embora a produção de matéria fresca tenha sido de apenas 32g. Como a planta se desenvolveu pouco e seu acúmulo de água foi menor, observou-se maior concentração de nutrientes bem como de matéria seca nessas mesmas plantas (TABELA 02).

TABELA 02- Matéria fresca e matéria seca de alface cv. Vera em função da adubação. UnB – FAV, 2007

| TRATAMENTOS* | MATÉRIA FRESCA (g)** | MATÉRIA SECA (%)** |
|--------------------|----------------------|--------------------|
| Testemunha | 32,32 a | 5,33a |
| Esterco bovino | 91,14 a | 4,63a |
| Húmus de minhoca | 167,26b | 4,86a |
| Químico | 233,11b | 4,81a |
| Composto orgânico | 350,49c | 3,70b |
| Esterco de galinha | 542,95d | 4,58a |
| CV (%) | 21,51 | 13,89 |

*T1 - Testemunha (sem adubação); T2 (Químico) - 37,5 g/m² de N, 175 g/m² de P₂O₅ e 16,25 g/m² de K, conforme análise do solo; T3 – Esterco de galinha (1,5 kg/m²); T4 - Esterco Bovino (3,0 kg/m²); T5 - Húmus de Minhoca (2,0 kg/m²); T 6 - Composto Orgânico (3,0 kg/m²). ** Média de 50 plantas.

O esterco de galinha apresentou maior concentração de nitrogênio (TABELA 03), nutriente indispensável ao desenvolvimento da planta (MALAVOLTA, 1989). Segundo TURAZI *et al* (2006), como o nitrogênio é responsável pela expansão das células, plantas maiores e mais pesadas apresentaram maiores teores desses nutriente.

O maior teor de sódio foi observado nas plantas provenientes das parcelas adubadas com composto orgânico (TABELA 03). Foi observada correlação positiva

e significativa entre matéria fresca e teor de sódio (TABELA 04). Verificou-se também que esse teor não diferiu estatisticamente daquele observado nas plantas das parcelas adubadas com esterco de galinha. Ambos os tratamentos (esterco de galinha e composto orgânico) apresentaram as maiores produções de matéria fresca, 543 e 350g por pé de alface, respectivamente.

TABELA 03- Teores de macro e micronutrientes presentes na cultura da Alface cv.Vera cultivada sob adubação química orgânica. UnB – FAV, 2007.

| TRATAMENTOS | N | P | K | Ca | Mg | S | B | Cu | Fe | Mn | Zn | Na |
|---------------------------|--------|-------|--------|---------|-------|--------|---------|---------|----------|--------|---------|----------|
| ESTERCO DE GALINHA | 41,44a | 3,78a | 69,6bc | 13,60bc | 3,68a | 3,32b | 16,62ab | 14,18c | 5490,8b | 34,80b | 121,0b | 1432,8a |
| ESTERCO BOVINO | 31,52b | 2,10b | 70,6bc | 14,00bc | 3,80a | 3,76ab | 16,20ab | 16,04ab | 6115,2ab | 32,08b | 141,2ab | 1188,00b |
| QUÍMICO | 38,56a | 1,68b | 63,2c | 14,60b | 3,92a | 3,62ab | 18,24ab | 14,46bc | 7308,2ab | 91,06a | 128,6ab | 1068,8b |
| COMPOSTO | 32,50b | 3,14a | 80,8a | 12,40c | 3,64a | 3,24b | 17,10ab | 17,52a | 5714,4ab | 30,32b | 114,6b | 1417,2a |
| HÚMUS DE MINHOCA | 31,10b | 2,14b | 69,6bc | 12,66c | 3,64a | 3,24b | 12,70b | 14,76bc | 8475,0a | 31,22b | 104,6b | 1176,2b |
| TESTEMUNHA | 25,32c | 1,48b | 74,4ab | 16,38a | 3,90a | 3,86a | 19,80a | 13,52c | 6899,4ab | 35,08b | 159,2a | 1127,20b |
| CV (%) | 10,88 | 27,99 | 9,01 | 9,61 | 6,06 | 10,54 | 26,82 | 8,51 | 29,76 | 36,82 | 20,80 | 7,66 |

Valores seguidos pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Duncan, ao nível de 5% de probabilidade.

Foi verificado alto teor de manganês nas plantas provenientes das parcelas com adubo químico. O manganês em excesso é tóxico para as plantas (MALAVOLTA, 1989), o que pode explicar em parte o fato da produção de matéria fresca ter sido intermediária (233g), visto que, com exceção do sódio, todos os demais nutrientes se encontravam em níveis que não diferenciaram estatisticamente daqueles observados nas plantas adubadas com esterco de galinha, onde foi observada maior produção de matéria fresca. Deve-se considerar também o fato de o teor de sódio encontrado nas parcelas com adubo químico ter sido menor e estatisticamente diferente daquele observado nas plantas adubadas com esterco de galinha.

Observando-se a correlação entre matéria fresca e os teores nutricionais (TABELA 04), verificou-se que a matéria fresca apresentou dependência significativa dos teores de nitrogênio e sódio, ou seja, quanto maiores foram esses teores, maior a produção de matéria fresca.

Não foi observada diferença estatística significativa entre os tratamentos para matéria seca, embora com exceção do tratamento com composto orgânico, cujo teor foi menor. Isto pode ter ocorrido em função do teor de potássio nas plantas provenientes deste tratamento. Verificou-se uma correlação negativa entre matéria seca e potássio (-0,48) (TABELA 04), que pode ter influenciado negativamente no acúmulo de matéria seca nas plantas deste tratamento.

As plantas provenientes do tratamento de composto orgânico também apresentaram alto teor de fósforo e potássio, superior aos observados nos demais tratamentos com exceção do esterco de galinha, proporcionando as condições para obtenção da segunda maior produção de matéria fresca. O nitrogênio e o fósforo são os elementos que mais comumente limitam a produção por estarem em menor proporção no solo. Segundo MALAVOLTA (1989), o efeito do potássio nas plantas só pode se manifestar plenamente quando forem satisfeitas as necessidades de nitrogênio e fósforo.

Por apresentar uma alta relação C/N, o nitrogênio e outros nutrientes presentes em cama de galinha e esterco bovino são liberados gradativamente, contribuindo para aumentos crescentes na produtividade de alface (PORTO *et al*, 1999). O mesmo autor constatou que a aplicação de doses crescentes de

cama de galinha e esterco bovino proporcionou aumento na produção de matéria fresca de alface.

TABELA 04- Matriz de correlação simples entre Matéria Fresca (MF), Matéria seca (MS), contaminação por coliformes a 45°C - Fecais (CONT), macro e micronutrientes para alface, cv. Vera. UnB – FAV, 2007.

| | MF | MS | CONT | N | P | K | Ca | Mg | S | B | Cu | Fe | Mn | Zn | Na |
|------|------|-------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| MF | 1,00 | -0,34 | 0,28 | 0,60 | 0,47 | 0,10 | -0,35 | -0,21 | -0,34 | -0,10 | 0,16 | -0,26 | -0,02 | -0,25 | 0,67 |
| MS | | 1,00 | 0,08 | -0,31 | -0,03 | -0,48 | 0,32 | 0,15 | 0,13 | -0,03 | -0,34 | 0,09 | 0,01 | 0,22 | -0,55 |
| CONT | | | 1,00 | 0,20 | 0,14 | -0,02 | -0,03 | 0,02 | -0,01 | 0,00 | -0,17 | -0,34 | 0,11 | 0,22 | 0,01 |
| N | | | | 1,00 | 0,30 | -0,31 | -0,19 | -0,17 | -0,33 | -0,04 | -0,06 | -0,14 | 0,29 | -0,35 | 0,28 |
| P | | | | | 1,00 | 0,13 | -0,38 | -0,18 | -0,17 | -0,09 | 0,34 | -0,24 | -0,26 | -0,04 | 0,58 |
| K | | | | | | 1,00 | -0,06 | 0,05 | 0,11 | -0,07 | 0,25 | -0,18 | -0,32 | 0,05 | 0,64 |
| Ca | | | | | | | 1,00 | 0,47 | 0,24 | 0,20 | -0,50 | -0,29 | 0,18 | 0,17 | -0,16 |
| Mg | | | | | | | | 1,00 | 0,61 | 0,23 | -0,23 | 0,03 | 0,02 | 0,43 | -0,18 |
| S | | | | | | | | | 1,00 | 0,40 | 0,05 | 0,34 | 0,15 | 0,67 | -0,28 |
| B | | | | | | | | | | 1,00 | 0,04 | 0,20 | 0,18 | 0,31 | -0,10 |
| Cu | | | | | | | | | | | 1,00 | -0,01 | -0,11 | 0,15 | 0,23 |
| Fe | | | | | | | | | | | | 1,00 | 0,10 | -0,02 | -0,43 |
| Mn | | | | | | | | | | | | | 1,00 | 0,06 | -0,31 |
| Zn | | | | | | | | | | | | | | 1,00 | -0,22 |
| Na | | | | | | | | | | | | | | | 1,00 |

Com exceção das parcelas com adubo químico, em todos os demais tratamentos a absorção de potássio pela planta de alface foi maior do que dos demais nutrientes. Resultados semelhantes foram obtidos por TURAZI *et al* (2006) ao testar as seguintes adubações: 1,5kg.m⁻² de cama-de-frango; adubação com 3,0kg.m⁻² de esterco bovino; adubação mineral padrão; adubação mineral padrão acrescida de 1,5kg.m⁻² de cama-de-frango e adubação mineral padrão acrescida de 3,0kg.m⁻² de esterco bovino. Dentre esses tratamentos, os que proporcionaram maior absorção de potássio pelas plantas foram aqueles adubados organicamente.

O adubo químico apresentou produção intermediária, não diferindo estatisticamente da produção observada no tratamento com húmus de minhoca, que foi menor. O húmus apresentou alto teor de potássio, superior ao observado no esterco bovino, e nos caso dos demais nutrientes, os teores foram similares aos observados no esterco bovino. O tratamento adubado com húmus de minhoca apresentou quantidade superior de matéria orgânica

comparado aos demais tratamentos, isso porque de modo geral, as minhocas apresentam ação sobre os processos de humificação (contribuem na fragmentação dos resíduos vegetais e incorporação), bem como elementos totais, trocáveis e assimiláveis (cálcio, potássio, magnésio e fósforo tornando-os mais abundantes) (WOLINSK MIKLOS, 1997). Além de o húmus possuir a propriedade de incrementar a microporosidade do solo, aumentando a aeração e retenção de água, observou-se maior produção de matéria fresca nas parcelas adubadas com húmus comparadas às parcelas com esterco bovino.

As plantas provenientes das parcelas com esterco bovino apresentaram o nitrogênio como segundo nutriente com maior limitação para a produção. Sua composição depende da alimentação dos animais (SOUZA & RESENDE, 2003).

Como o nitrogênio é essencial para o alongamento celular e desenvolvimento das plantas observou-se baixa produção de matéria fresca neste tratamento.

Verificou-se que o fósforo e nitrogênio (TABELA 05) foram os nutrientes mais limitantes para a produção de matéria fresca nas parcelas do tratamento testemunha (sem adubação), esterco bovino e húmus de minhoca, o que contribuiu para a baixa produção de matéria fresca nestes tratamentos.

Considerando todos os tratamentos, o fósforo foi o nutriente mais limitante na produção de matéria fresca (TABELA 05), com 66,7% de ocorrência, seguido de zinco, nitrogênio e manganês, todos na mesma porcentagem de 6,6% e potássio, cálcio, enxofre e boro com 3,3%. Por ser um nutriente essencial para todos os seres vivos, uma opção para ampliar a reciclagem e a eficiência de uso do fósforo pelas plantas é aumentar o teor de matéria orgânica no solo. Esse componente pode melhorar a eficiência de uso do fósforo (SOUSA *et al.*, 1997).

TABELA 05- Ordem de limitação dos nutrientes para produção de Alface cv. Vera, conduzida sob diferentes fontes de adubos orgânicos e adubo químico (DRIS). UnB - FAV, 2007.

| TRATAMENTOS | ORDEM DE LIMITAÇÃO |
|--------------------|--------------------------|
| Testemunha | P>Cu>N>K>B>Mn>Zn>S>Mg>Ca |
| | P>N>Cu>K>B>Mn>S>Zn>Mg>Ca |
| | P>N>Cu>K>Mn>Mg>Zn>Ca>S>B |
| | P>N>Cu>K>Mn>B>S>Zn>Mg>Ca |
| | P>Cu>N>K>Mn>B>Zn>S>Mg>Ca |
| Adubação química | P>K>Cu>S>Mg>N>B>Zn>Ca>Mn |
| | P>K>Cu>Zn>S>N>Mg>B>Ca>Mn |
| | P>Cu>K>N>B>Zn>S>Mg>Mn>Ca |
| | P>K>Cu>Mg=N>S>Zn>B>Ca>Mn |
| | P>Cu>K>N>S>Zn>B>Mg>Ca>Mn |
| Esterco de galinha | K>Zn>S>Mg>Cu>Ca>P>B>Mn>N |
| | S>Zn>Cu>Mg>K>Ca>B>P>N>Mn |
| | Zn>S>Cu>B>Mn>Mg>K>Ca>P>N |
| | B>Mn>N>Ca>Mg>K=S>Cu>P>Zn |
| | N>Ca>K>P=Mn>Cu>Mg>Zn>S>B |
| Esterco bovino | P>N=Cu>K>B>Mg>S>Zn>Mn>Ca |
| | P>N>Cu>K>Mn>B>Mg>Ca>S>Zn |
| | P>N>Cu>Mn>K>B>Mg>Ca>Zn>S |
| | P>N>Cu>K>Mn>B>S>Mg>Zn>Ca |
| | P>N>Cu>K>Mn>B>Zn>S>Mg>Ca |
| Húmus de minhoca | P>Cu>B>K>N>Zn>S>Mg>Ca>Mn |
| | P>N>K>Cu>Mn>Ca>Mg>S>B>Zn |
| | P>Cu>N>K>Mn>B>Zn>S>Mg>Ca |
| | P>N>K>Cu>Zn>Mg>Ca>S>Mn>B |
| | P>Cu>N>K>B>Zn>Mn=S>Mg>Ca |
| Composto orgânico | Zn>S>B>Mn>Mg>Cu>N>Ca>P>K |
| | N>Ca=Mn>B>Mg>P>K>S>Cu>Zn |
| | Mn>Ca>Zn>Mg>S=B>N>K>P=Cu |
| | Ca>Mn>N>Mg>B>S>Zn>P>K>Cu |
| | Mn>Zn>Ca=Mg>S>N>K>Cu>P>B |

O composto orgânico apresentou maior equilíbrio entre os nutrientes de sua composição que os demais adubos (TABELA 06), visto que os valores de nitrogênio, fósforo e potássio se aproximaram dos teores recomendados por RIBEIRO *et al* (1999) que considera que o composto orgânico deve ter a seguinte constituição: matéria orgânica - MO (31%), N (1,4%) , P (1,4%) e K (0,8%); esterco de galinha: MO (50%); N (3,0%); P (3,0%) e K (2,0%) e para o esterco bovino MO (57%); N (1,7%); P (0,9%) e K (1,2%). O esterco de galinha também apresentou teores próximos aos recomendados pelo mesmo autor. A

diferença maior está no fato de o teor de potássio estar abaixo do recomendado. Porém, como este adubo apresenta altos teores de nitrogênio, a resposta da cultura foi superior à observada nas plantas adubadas com composto.

PIRES (2003), em experimento realizado em Brasília-DF, também observou que o fósforo foi o nutriente com maior limitação para a produção de alface, em quase todos os tratamentos, com exceção dos tratamentos com composto orgânico e esterco de galinha, possivelmente devido ao pH mais baixo destes adubos (5,8). Resultados de vários experimentos mostram que se o pH for mantido entre 6,0 e 7,0, ocorre melhor absorção de fósforo pelas culturas (MALAVOLTA, 1989).

O magnésio, o enxofre, o boro e o zinco tiveram correlação negativa com nitrogênio, fósforo e potássio, onde os índices de correlação com magnésio foram: $r = -0,74$, $-0,87$, e $-0,46$; com enxofre ($r = -0,78$, $-0,76$ e $-0,34$); com boro ($r = -0,40$, $-0,79$ e $-0,65$) e com zinco ($r = -0,74$, $-0,76$ e $-0,37$). O zinco também apresentou correlação negativa com o cobre, de $r = -0,66$.

TABELA 06- Composição química dos adubos orgânicos utilizados no cultivo de alface cv. Vera. UnB – FAV, 2007

| ADUBOS | ESTERCO DE GALINHA | | ESTERCO BOVINO | | HÚMUS DE MINHOCA | | BOKASHI | | COMPOSTO EMBRAPA | |
|--------------------------------|--------------------|------------|-----------------|------------|------------------|------------|-----------------|------------|------------------|------------|
| | Umidade natural | Base seca | Umidade natural | Base seca | Umidade natural | Base seca | Umidade natural | Base seca | Umidade natural | Base seca |
| Parâmetros | % | % | % | % | % | % | % | % | % | % |
| Ph em CaCl ₂ 0,01 M | 9,0 | 9,0 | 7,3 | 7,3 | 7,3 | 7,3 | 8,1 | 8,1 | 8,6 | 8,6 |
| Umidade a 65°C | 21,5 | X | 39,3 | X | 49,1 | x | 54,7 | X | 61,5 | X |
| Umidade a 110°C | 0,64 | X | 0,1 | X | 0,46 | X | 2,6 | X | 8,79 | X |
| M.O | 24,4 | 31,1 | 16,3 | 26,9 | 21,2 | 41,7 | 17,9 | 39,5 | 21,6 | 56,2 |
| N | 1,46 | 3,22 | 0,52 | 1,14 | 0,53 | 1,18 | 0,73 | 1,62 | 1,13 | 2,5 |
| P total | 1,02 | 2,26 | 0,73 | 1,61 | 0,36 | 0,80 | 0,77 | 1,71 | 0,95 | 2,1 |
| K | 1,36 | 3,00 | 0,38 | 0,83 | 0,40 | 0,88 | 0,71 | 1,56 | 1,27 | 2,58 |
| Ca | 7,74 | 17,1 | 2,81 | 6,20 | 0,72 | 1,60 | 2,22 | 4,90 | 2,08 | 4,6 |
| Mg | 0,40 | 0,89 | 0,59 | 1,30 | 0,17 | 0,37 | 0,54 | 1,20 | 0,54 | 1,20 |
| S | 0,31 | 0,69 | 0,30 | 0,67 | 0,35 | 0,77 | 0,19 | 0,42 | 0,29 | 0,63 |
| Unidade | ppm | ppm | ppm | ppm | ppm | ppm | ppm | ppm | ppm | ppm |
| B | 16,5 | 36,5 | 7,24 | 16,0 | 2,63 | 5,82 | 10,1 | 22,4 | 24,6 | 54,4 |
| Cu | 31,5 | 69,6 | 67,8 | 150 | 26,9 | 59,5 | 63,3 | 140 | 249 | 551 |
| Fe | 123 | 272 | 147 | 325 | 343 | 759 | 139 | 307 | 74,2 | 164 |
| Mn | 264 | 583 | 146 | 322 | 75,7 | 167 | 166 | 367 | 293 | 647 |
| Zn | 286 | 631 | 119 | 263 | 71,0 | 157 | 128 | 284 | 393 | 868 |

Fonte: Laboratório de Análise de Solo, Soloquímica, Brasília -DF

Com exceção da testemunha que apenas extraiu os nutrientes que já havia no solo para produção de alface, todos os tratamentos melhoraram as condições dos nutrientes no solo (TABELA 07).

Após adição dos adubos ao solo, observou-se um incremento na concentração de todos os macronutrientes. Com exceção do adubo químico, todos os demais adubos promoveram aumento do pH. No caso do esterco de galinha, este aumento foi significativo, de 5,8 para 7,1. Isso pode vir a reduzir a disponibilidade de micronutrientes como o zinco, manganês, cobre e ferro, conforme SOUSA & LOBATO (2004). No entanto, os teores de cálcio, potássio e também de matéria orgânica foram alterados positivamente pela adição de esterco de galinha, embora o tratamento que apresentasse maior concentração de matéria orgânica tenha sido o esterco bovino, por possuir maior quantidade de celulose em sua composição.

TABELA 07- Análise de fertilidade do solo antes e depois do plantio da cultura de alface cv. Vera. UnB - FAV, 2007.

| SOLO | pH em água | Ca + Mg | Ca | Mg | K | Na | Al | H+Al | CTC | MO | V | P | B | Cu | Fe | Mn | Zn | S |
|------|------------|---------|----------------------|-----|------|------|-----|------|------|------|--------------------|------|------|------|------|------|------|------|
| | vol/vol | | cmol/dm ³ | | | | | | g/Kg | % | mg/dm ³ | | | | | | | |
| 1 | 5,8 | 3,3 | 1,9 | 1,4 | 0,14 | 0,02 | 0,1 | 4,0 | 7,46 | 29,8 | 46 | 5,5 | - | - | - | - | - | - |
| 2 | 5,9 | 3,5 | 2,5 | 1 | 0,14 | 0,30 | 0,1 | 4,6 | 8,3 | 42,0 | 44 | 0,6 | 0,25 | 1,19 | 45,2 | 16,4 | 2,37 | 14,7 |
| 3 | 5,1 | 3,3 | 2,5 | 0,8 | 0,31 | 0,04 | 0,1 | 5,8 | 9,5 | 48,8 | 39 | 1 | 0,34 | 1,22 | 47,3 | 17,8 | 2,77 | 20,5 |
| 4 | 7,1 | 7,9 | 6,8 | 1,1 | 0,46 | 0,15 | 0,0 | 2,7 | 11,2 | 49,4 | 76 | 4 | 0,35 | 1,18 | 41,1 | 32,1 | 13,3 | 16,6 |
| 5 | 6,3 | 4,5 | 3,2 | 1,3 | 0,27 | 0,06 | 0,0 | 4,0 | 8,8 | 51,8 | 55 | 16 | 0,42 | 1,47 | 61,7 | 19,7 | 4,08 | 13,4 |
| 6 | 6,2 | 3,7 | 2,7 | 1 | 0,29 | 0,04 | 0,0 | 4,3 | 8,3 | 50,2 | 48 | 4,5 | 0,41 | 1,3 | 49 | 18,8 | 3,91 | 9,2 |
| 7 | 6,6 | 5,2 | 3,6 | 1,6 | 0,5 | 0,11 | 0,0 | 4,0 | 9,8 | 42,5 | 59 | 15,6 | 0,4 | 1,79 | 65,4 | 25,1 | 12,3 | 16,6 |

*Solo 1- solo inicial, Solo 2-solo sem adubação, Solo 3- adubação química, Solo 4 – adubação com esterco de galinha, Solo 5-adubação com Esterco bovino, Solo 6- adubação com húmus de minhoca e Solo 7-adubação com composto orgânico.

Fonte: Laboratório de Análise do Solo, Soloquímica, Brasília - DF.

O composto orgânico também enriqueceu o solo, pois além de aumentar o pH, os teores de cálcio, magnésio, fósforo e de vários micronutrientes se apresentaram superiores aos observados nos demais tratamentos com destaque para o cobre, ferro, manganês e zinco. Em sua composição, o composto orgânico apresenta uma proporção de 45 carrinhos de capim (carrinho de mão), 20 carrinhos de cama de matriz de aviário e 14kg de termofosfato, promovendo um incremento nos teores de fósforo e potássio. Conforme MALAVOLTA (1989), os elementos mais exigidos para o crescimento das plantas são nitrogênio, fósforo e potássio, resultando em valores superiores de matéria fresca. Desta forma, justifica-se a observação de maior produção de matéria fresca com esterco de galinha e composto, pois são os dois adubos que mais enriqueceram o solo, considerando os nutrientes de forma globalizada. Além disso, ambos os adubos proporcionaram pH na faixa ideal para o desenvolvimento da cultura de alface que está entre 5,5 e 6,5, conforme FILGUEIRA (2003).

5.2 - CONTAMINAÇÕES MICROBIOLÓGICAS

Após ter realizado o plaqueamento no meio seletivo para o desenvolvimento de colônias de *Salmonella*, apenas três amostras mostraram-se com características típicas de contaminação, colônias com aparência transparente, verde-azuladas, com ou sem centro preto: alface adubada com esterco bovino, amostra do adubo húmus de minhoca e amostra do esterco bovino.

Essas três amostras foram submetidas ao teste Macconkey para confirmação. No entanto, em nenhuma delas cresceu colônia característica de *Salmonella*. Ou seja, não foi confirmada a contaminação por esse microorganismo em nenhuma amostra. Assim sendo, não foi observada contaminação da alface por *Salmonella* proveniente de qualquer tratamento de adubação, bem como de qualquer fonte de adubo orgânico.

CHRISTÓVAO (1958) relatou a contaminação por *Salmonella* em alfaces comercializadas no Estado de São Paulo. No final da década de 70, o problema já estava instalado, uma vez que estudos apontaram alta contaminação fecal em 54% das amostras de hortaliças analisadas, especialmente alface, coletadas no Estado de São Paulo. Atualmente, produtos como tomate, alface, salsinha, couve e sucos de frutas de laranja e de maçã são as espécies mais incriminadas em surtos de

toxinfecção alimentar em nível mundial, especialmente, por terem sido incriminadas como fonte de patógenos de significância em saúde pública como *Escherichia coli* O 157: H7, *Salmonella* sp., *Listeria* sp. e *Shigella* sp., bem como de agentes causais da hepatite A e parasitas. A lavagem das hortaliças é a prática mais comum para se obter um produto mais seguro. É de primordial importância, no entanto, que essa água tenha, antes de tudo, boa qualidade.

Ao avaliar a qualidade microbiológica de hortaliças e frutas minimamente processadas comercializadas em Fortaleza-CE, BRUNO *et al* (2005) verificou presença de *Salmonella* sp. em 66,6% das amostras de hortaliças/tubérculos e 26% de frutas, sugerindo a adoção de Boas Práticas de Fabricação durante o processamento mínimo para garantir a segurança microbiológica dos produtos.

RODRIGUES (2007) constatou que de 30 amostras de alface analisadas em Brasília-DF, três amostras de alface comuns e duas amostras de alface hidropônica e orgânica, apresentaram presença de *Salmonella* sp., fato que indica a falta de cuidados no processo.

Neste trabalho não foi observada diferença estatística significativa entre os tratamentos de adubação para contaminação por coliformes a 45°C (Tabela 08).

TABELA 08- Contaminação por Coliformes a 45°C em alface cv. Vera cultivada sob adubação química e orgânica. UnB – FAV, 2007.

| TRATAMENTOS* | CONTAMINAÇÃO** |
|--------------------|----------------|
| Esterco de galinha | 0,20a |
| Esterco bovino | 0,20a |
| Químico | 0,00a |
| Composto orgânico | 0,00a |
| Húmus de minhoca | 0,00a |
| Testemunha | 0,40a |
| CV (%) | 25,5 |

*Para análise estatística: 1 – Amostra contaminação; 0 – Amostra não contaminada. **5 repetições. Valores seguidos pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Duncan, ao nível 5% de probabilidade.

No entanto, OLIVEIRA *et al* (2004) pesquisando as condições microbiológicas e parasitológicas de alfaces comercializadas em Salvador, BA, segundo diferentes sistemas de cultivo (hidropônico, orgânico e tradicional), constataram que as alfaces

provenientes do cultivo orgânico apresentaram o maior grau de contaminação por enteropatógenos, seguidas daquelas provenientes do cultivo tradicional e hidropônico.

Resultados esses semelhantes ao de RODRIGUES (2007), que também verificou contaminação microbiológica em alface e couve comercializadas no varejo de Brasília. Constatou-se que 100% das amostras testadas de alface orgânica, comum e hidropônica tiveram níveis de contaminação acima do aceitável pela RDC nº12 - ANVISA.

PAULA *et al* (2003), ao analisar a contaminação microbiológica e parasitologia em alface de restaurantes *self-service* em Niterói-RJ, detectou níveis de coliformes fecais acima do limite tolerável pela legislação vigente em todas as amostras.

Neste trabalho foi observada contaminação por coliformes a 45°C em plantas de alface provenientes dos tratamentos adubados com esterco de galinha e esterco bovino, com 20% das amostras contaminadas, e na parcela testemunha (sem adubação), com 40% de contaminação (TABELA 09).

TABELA 09- Contaminação da alface cv. Vera por *Salmonella* sp. e Coliformes a 45° C (Fecais) em função da adubação química e orgânica. UnB - FAV, 2007

| Tratamentos | Combinação de Tubos + | NMP/g | Intervalo de confiança (95%) | | <i>Salmonella</i> sp | Condição |
|--------------------|-----------------------|-------|------------------------------|--------|----------------------|------------|
| | | | Mínimo | Máximo | | |
| Testemunha | 1-1-0 | 7,0 | 1 | 2,3 | Ausente | Adequado |
| Testemunha | 3-0-0 | 23 | 4 | 120 | Ausente | Adequado |
| Testemunha | 1-0-0 | 4 | <0,5 | 20 | Ausente | Adequado |
| Testemunha | 3-3-3 | ≥2400 | >150 | >4800 | Ausente | Inadequado |
| Testemunha | 3-3-2 | 1100 | 150 | 4800 | Ausente | Inadequado |
| Químico | 0-0-0 | <3 | <0,5 | <9 | Ausente | Adequado |
| Químico | 3-1-1 | 75 | 14 | 230 | Ausente | Adequado |
| Químico | 0-0-0 | <3 | <0,5 | <9 | Ausente | Adequado |
| Químico | 3-1-0 | 43 | 7 | 210 | Ausente | Adequado |
| Químico | 2-1-1 | 20 | 7 | 89 | Ausente | Adequado |
| Esterco de galinha | 0-0-0 | <3 | <0,5 | <9 | Ausente | Adequado |
| Esterco de galinha | 3-3-0 | 240 | 36 | 1.300 | Ausente | Inadequado |
| Esterco de galinha | 3-0-0 | 23 | 4 | 120 | Ausente | Adequado |
| Esterco de galinha | 3-2-0 | 93 | 15 | 380 | Ausente | Adequado |
| Esterco de galinha | 3-1-0 | 43 | 7 | 210 | Ausente | Adequado |
| Esterco bovino | 0-0-0 | <3 | <0,5 | <9 | Ausente | Adequado |
| Esterco bovino | 0-0-0 | <3 | <0,5 | <9 | Ausente | Adequado |
| Esterco bovino | 3-3-1 | 460 | 71 | 2400 | Ausente | Inadequado |
| Esterco bovino | 0-0-0 | <3 | <0,5 | <9 | Ausente | Adequado |
| Esterco bovino | 0-0-0 | <3 | <0,5 | <9 | Ausente | Adequado |
| Humus de minhoca | 2-0-0 | 9 | 1 | 36 | Ausente | Adequado |
| Humus de minhoca | 1-1-0 | 7 | 1 | 2,3 | Ausente | Adequado |
| Humus de minhoca | 0-0-0 | <3 | <0,5 | <9 | Ausente | Adequado |
| Humus de minhoca | 0-0-0 | <3 | <0,5 | <9 | Ausente | Adequado |
| Humus de minhoca | 0-0-0 | <3 | <0,5 | <9 | Ausente | Adequado |
| Humus de minhoca | 0-0-0 | <3 | <0,5 | <9 | Ausente | Adequado |
| Composto Orgânico | 0-0-0 | <3 | <0,5 | <9 | Ausente | Adequado |
| Composto Orgânico | 2-3-0 | - | - | - | Ausente | Adequado |
| Composto Orgânico | 0-0-0 | <3 | <0,5 | <9 | Ausente | Adequado |
| Composto Orgânico | 3-1-0 | 43 | 7 | 210 | Ausente | Adequado |
| Composto Orgânico | 0-0-0 | <3 | <0,5 | <9 | Ausente | Adequado |

Em trabalho realizado por SILVA (2005), foi analisada a conformidade da qualidade microbiológica de alface orgânica certificada e produzida no Distrito Federal e constatou-se que 97% das amostras apresentaram a presença de coliformes fecais acima do permitido pela legislação. No entanto, não observou presenças de *Salmonella* nas amostras analisadas.

Foi observado que as amostras retiradas dos adubos orgânicos e do solo não apresentaram contaminação por coliformes fecais a 45°C (TABELAS 10 e 11), conforme APHA (1995).

TABELA 10- Contaminação microbiológica em amostras de solo da área experimental. UnB- FAV, 2007.

| Amostras* | Combinação de tubos + | NMP/g | Intervalo de confiança (95%) | | Salmonella sp | Condição |
|-----------|-----------------------|-------|------------------------------|--------|---------------|----------|
| | | | Mínimo | Máximo | | |
| Solo 1 | 0-0-0 | <3 | <0,5 | <9 | Ausente | Adequado |
| Solo 2 | 0-0-0 | <3 | <0,5 | <9 | Ausente | Adequado |
| Solo 3 | 0-0-0 | <3 | <0,5 | <9 | Ausente | Adequado |
| Solo 4 | 0-0-0 | <3 | <0,5 | <9 | Ausente | Adequado |
| Solo 5 | 0-0-0 | <3 | <0,5 | <9 | Ausente | Adequado |
| Solo 6 | 0-0-0 | <3 | <0,5 | <9 | Ausente | Adequado |
| Solo 7 | 0-0-0 | <3 | <0,5 | <9 | Ausente | Adequado |

*Solo 1- solo inicial, Solo 2-solo sem adubação, Solo 3- adubação química, Solo 4 – adubação com esterco de galinha, Solo 5-adubação com Esterco bovino, Solo 6- adubação com húmus de minhoca e Solo 7-adubação com composto orgânico

As plantas provenientes das parcelas adubadas com húmus de minhoca, composto orgânico e adubo químico não apresentaram contaminação. No entanto, observou-se contaminação nas plantas do tratamento testemunha. No caso do composto orgânico, a compostagem possui capacidade de reduzir a contaminação através da elevação da temperatura no processo de mineralização (fermentação).

TABELA 11- Contaminação microbiológica em amostras de adubos orgânicos utilizados na área experimental. UnB - FAL, 2007.

| Amostras | Combinação de tubos + | NMP/g | Intervalo de confiança (95%) | | Salmonella sp | Condição |
|--------------------|-----------------------|-------|------------------------------|--------|---------------|----------|
| | | | Mínimo | Máximo | | |
| Bokashi | 0-0-0 | <3 | <0,5 | <9 | Ausente | Adequado |
| Esterco de galinha | 0-0-0 | <3 | <0,5 | <9 | Ausente | Adequado |
| Esterco bovino | 0-0-0 | <3 | <0,5 | <9 | Ausente | Adequado |
| Húmus de minhoca | 0-0-0 | <3 | <0,5 | <9 | Ausente | Adequado |
| Composto orgânico | 0-0-0 | <3 | <0,5 | <9 | Ausente | Adequado |

Contatou-se que 100% das amostras de água de irrigação utilizadas no experimento estavam contaminadas por coliformes a 45°C (TABELA 12), visto que a norma do CONAMA nº20 (1986) estabelece o limite de tolerância zero para coliformes fecais em água de irrigação de hortaliças consumidas cruas.

TABELA 12- Contaminação microbiológica em amostras da água de irrigação utilizada na área experimental. UnB - FAV, 2007.

| Amostras | Combinação de tubos + | NMP/ml | Intervalo de confiança (95%) | | <i>Salmonella sp</i> | Condição |
|----------|-----------------------|--------|------------------------------|--------|----------------------|------------|
| | | | Mínimo | Máximo | | |
| 1 | 3-1-0 | 0,43 | 0,07 | 2,10 | Ausente | Inadequada |
| 2 | 3-1-0 | 0,43 | 0,07 | 2,10 | Ausente | Inadequada |
| 3 | 3-0-0 | 0,23 | 0,04 | 1,20 | Ausente | Inadequada |
| 4 | 3-1-0 | 0,43 | 0,07 | 2,10 | Ausente | Inadequada |
| 5 | 3-1-0 | 0,43 | 0,07 | 2,10 | Ausente | Inadequada |

Alguns estudos no Brasil têm identificado hortaliças com alto grau de contaminação por coliformes fecais transmitidos pela água de irrigação (GUIMARÃES *et al.*, 2003).

Em Lavras - MG, as análises microbiológicas realizadas identificaram que quase a totalidade dos mananciais investigados apresentava contaminação por coliformes fecais (ROCHA *et al.*, 2002). Também foi constatada a presença acentuada desse grupo de bactérias nas águas de poços de duas regiões do Rio de Janeiro (FREITAS *et al.*, 2001).

TAKAYANAGUI *et al* (2000) apresentou resultados nos quais a fonte de contaminação foi determinada. Os autores analisaram 129 hortas cultivadas no interior do Estado de São Paulo e observaram que 17% delas apresentaram alta contaminação, proveniente de água de irrigação por coliformes fecais as hortaliças alface, almeirão e agrião.

Neste trabalho, como os adubos orgânicos fornecidos às plantas, bem como o solo não apresentaram contaminação, a água de irrigação foi possivelmente o principal veículo de contaminação da alface.

Os resultados encontrados são similares aos observados por SOUTO (2005), onde a água de irrigação foi o foco de contaminação das hortaliças amostradas, essas apresentaram elevado percentual de contaminação microbiológica, com índices de coliformes fecais inaceitáveis pela legislação vigente, visto que norma do CONAMA nº20 (1986) estabelece o limite de tolerância zero pra coliformes fecais em água de irrigação de hortaliças consumidas cruas (BRASIL, 1986).

Deste modo em termos de saúde pública, verificou-se que 13,3% da alface colhida no experimento seriam condenadas para consumo humano em função da contaminação por coliformes fecais.

6 - CONCLUSÃO

6.1- ADUBAÇÃO E PRODUÇÃO DA ALFACE

A adição dos adubos orgânicos ao solo proporcionou melhorias nas condições físicas e químicas, aumentando os teores de macro e micronutrientes e propiciando as condições para obtenção de maiores produtividades.

Vale ressaltar a importância do papel desempenhado pelo esterco de galinha e pelo composto orgânico no enriquecimento do solo e no aumento da produção de matéria fresca resultado da constituição mais rica em nitrogênio, fósforo e potássio.

O húmus de minhoca, bem como o esterco bovino, por apresentarem deficiências nutricionais, em especial baixo teor de nitrogênio e fósforo, deverão ser utilizados juntamente ao adubo químico, que também apresenta limitações, quando o objetivo for obtenção de maiores produtividades.

6.2- CONTAMINAÇÕES MICROBIOLÓGICAS DA ALFACE

Em trabalhos realizados em Brasília-DF, nos últimos cinco anos, tem sido verificada alta contaminação de hortaliças, inclusive alface, por microrganismos patogênicos como *Samonella sp* e coliformes fecais, conforme mencionado na revisão de literatura.

Como os materiais analisados nos artigos citados no trabalho foram provenientes de diferentes sistemas de cultivo, inclusive orgânico, procurou-se avaliar aqui a qualidade microbiológica desse tipo de adubo e a possível contaminação da alface em função do seu uso, por *Salmonella sp* e coliformes a 45°C.

Como não foi constatada contaminação do solo e dos adubos orgânicos por esses microrganismos, mas foi verificada contaminação da água e de alface, conclui-se que existe um forte indicio de ser a água a principal fonte de contaminação do produto agrícola na área de produção.

Como a alface é usualmente consumida crua, em saladas ou sanduíches e considerando os possíveis prejuízos que o produto contaminado poderá causar à saúde, recomenda-se higienização e sanitização com cloro e posterior enxágüe em água livre de contaminantes.

Para o produtor rural recomenda-se análise periódica da água de irrigação e o tratamento da água utilizada na lavagem da alface antes de sua embalagem e, ainda, acondicionamento em local refrigerado.

7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIANUAL 98. **Anuário estatístico da agricultura brasileira**. São Paulo: FNP Consultoria & Comércio, 1998. 481p.

ALMEIDA R.C.C. **Análise de perigos e pontos críticos de controle no processamento de produtos cárneos para alimentação institucional** [tese]. Campinas: Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas; 1994.

ALMEIDA, D.L.de. **Contribuição da adubação orgânica para a fertilidade do solo. Rio de Janeiro**. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. 1991.192p.

ALVES FILHO, M. **Pesquisas investigam riscos e benefícios de alimentos e nutrientes**. Jornal da Unicamp. Ed. 211 - 5 a 11 de maio de 2003. 6-7p.

APHA - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION AGENCY – COMMITTEE ON MICROBIOLOGICAL METHODS FOR FOOD. **Compendium of methods for microbiological examination of foods**. 3ed. Washington Carl Vanderzant, Don F Splittstoesser.3. ed. 1995.1219p.

AQUINO, A.M; ALMEIDA, D.L; SILVA, V.F. **Utilização de minhocas na estabilização de resíduos orgânicos: vermicompostagem**. Rio de Janeiro: Embrapa/CNPBS. 12 p. (Comunicado Técnico, 8).1992.

ASANO, J. **Effect of organic manures on quality of vegetables**. Japan Agricultural Research Quarterly, Ibaraki, v. 18, n. 1, p. 31-36, 1984.

BAKKER, A.P. **Efeito do húmus de minhoca e da inoculação do fungo micorrízico arbuscular *Glomus macrocarpum* Tul. & Tul. sobre o desenvolvimento de mudas de cajueiro anão-precoce (*Anacardium occidentale* L.)** . Fortaleza: Universidade Federal do Ceará (Tese). 1994. 60p

BENTO, M.M. **Fontes de matéria orgânica na composição de substratos para a produção de mudas micorrizadas de maracujazeiro**. 59p. (Dissertação de Mestrado) – ESALQ, Piracicaba, 1997.

BEZERRA NETO, F; ROCHA, R.H.C; ROCHA, R.C.C; NEGREIROS, M.Z; LEITÃO, M.M.V.B.R; NUNES, G.H.S; ESPÍNOLA SOBRINHO, J; QUEIROGA, R.C.L.F. **Sombreamento para produção de mudas de alface em alta temperatura e ampla luminosidade**. Horticultura Brasileira, Brasília-DF, v. 23, n. 1, p. 133-137, 2005.

BEUCHAT, L.R. **Pathogenic microorganisms associated with fresh produce.** Journal of Food Protection, v.59, n.2, p.204-216, 1996.

BEAUFILS, E.R. **Diagnosis and Recommendation Integrated System (DRIS): a general scheme for experimentation and calibration based on principles developed from research in plant nutrition.** University of Natal, Pietermaritzburg, 1973. 132p. (Soil Science Bulletin nº1).

BORGES, M. **A segurança alimentar e a sustentabilidade do agroecossistema. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa).** Rio Grande do Sul, 2000. Artigo.

BOROWSKI, S.M; BARCELLOS, D.E.S.N; HAGEMANN, A; CHIMINAZZO, C; RAZIA, L.E; COUTINHO, T.A. **Avaliação do uso da vacinação para a prevenção da doença do edema em suínos.** Acta Scientiae Veterinariae. 30: 167-172, setembro, 2002.

BORTOLLI, S.A; MAIA, I.G. **Influência da aplicação de fertilizantes na ocorrência de pragas.** In: SÁ, M.E; BUZZETTI, S. **Importância da adubação na qualidade dos produtos agrícolas.** São Paulo: Ícone, 1994.p. 53-63.

BRASIL-MINISTÉRIO DA SAÚDE. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, ANVISA. **Resolução nº12, de 02 janeiro de 2001.** Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos em alimentos. Disponível:< www.anvisa.org.br>. Consultado em 16/12/2007.

BRASIL-MMA/CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. **Resolução nº20 de 18 de junho de 1986.** In: **Legislação de conservação da natureza.** 4. ed. São Paulo: FBCN/ CESP.1986. 720p.

BRASIL-MAPA. **Decreto 86955 de 12/02/82.** Disponível:< www.lei.adv.br>. Consultado em 15/12/2007.

BRUNO, L.M; QUEIROZ de, A.A.M; ANDRADE de, A.P.C; VASCONCELOS de, N.M; BORGES, M de. F. **Avaliação microbiológica de hortaliças e frutas minimamente processadas comercializadas em Fortaleza.** B.CEPPA, Curitiba, v. 23, n.1, p. 75-84, jan/jun. 2005.

BÜCHELE, F.A; SILVA, J.A. da. **Manual prático de irrigação por aspersão em sistemas convencionais.** Florianópolis: EPAGRI, 1992. 81p. (Boletim Técnico, nº58).

BULLUCK, L.R; BROSIUS, M.G; EVANYLO, K; RISTAINO, J.B. **Organic and synthetic fertility amendments influence soil microbial, physical and**

chemical properties on organic and conventional farms. Applied Soil Ecology, Amsterdam, v.19, n.2, p.147-160, 2002.

CASTRO, S.R.P; FERRAZ, Jr. A.S.L. **Teores de nitrato nas folhas e produção de alface cultivada com diferentes fontes de nitrogênio.** Horticultura Brasileira, v.16. nº1, 1998.

CAETANO, V.C; SALTINI, D.A.; PASTERNAK, J. **Surto de salmonelose por *Salmonella enterica* em profissionais de saúde, causado por alimentos consumidos em uma festa de ano novo realizada dentro da Unidade de Terapia Intensiva .** Einstein. 2004; 2 (1):33-5p.

CHABOUSSOU, F. **Plantas doentes pelo uso de agrotóxicos (a teoria da trofobiose).** Porto Alegre: L&PM. 1987. 256p.

CHRISTÓVAO, D.A. **Contaminação da alface (*Lactuca sativa* L) por microrganismos de origem fecal.** Tese para catedrático de Microbiologia e Imunologia Aplicada da Faculdade de Higiene e Saúde Pública da Universidade de São Paulo (USP). São Paulo, 1958.

COLLIER, G.F; TIBITTS, T.W. **Tipburn of lettuce.** Horticultural Reviews 4: 49-65. 1982.

COMETTI N, N: MATIAS, G.C.S; ZONTA, E.; MARY, W; FERNANDES, M,S. **Composto nitrogenado e açúcares solúveis em tecidos de alface orgânica, hidropônica e convencional.** Horticultura Brasileira, 22: 748-753. 2004.

DAMASCENO K.S.F.S.C, ALVES M.A, FREIRE I.M.G, TÔRRES G.F, AMBRÓSIO C.L.B, GUERRA N.B. **Condições higiênico-sanitárias de "self-services" do entorno da UFPE e das saladas cruas por elas servidas.** Hig Alim. 16(102/103):74-8p. 2002

DOYLE, P.M.; CLIVER, D.O. ***Escherichia coli*,** CLIVER, D.O Ed. Foodborne Diseases London: Academy Press, p. 209-215. 1990

EMBRAPA HORTALIÇA. **Composto orgânico: Aprenda como se faz.** Brasília: CDTORG/CNPq.2007. 5p. (Folheto).

ERCOLE, C; GALLO, M.D; MOSIELLO, L; BACELLA, S; LEPIDI, A. ***Escherichia coli* detection in vegetable food by a potentiometric biosensor.** Sens. Actuators B, v.91, 163- 168p. 2003.

FAQUIM, V. **Nutrição mineral de plantas.** Apostila do curso de especialização - Pós-Graduação "Lato Sensu" Solos e Meio Ambiente. Lavras:FAEPE, 1994. 118-25.p.

FERREIRA, M.M.M; FERREIRA, G.B; FONTES, P.C.R; DANTAS, J.P. **Qualidade do tomate em função de doses de nitrogênio e da adubação orgânica em duas estações.** Horticultura Brasileira 24: 141-145p. 2006.

FILGUEIRA F.A.R. **Novo Manual de Olericultura: Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças.** 2ª ed. Viçosa: UFV. 412p. 2003.

FILGUEIRA, F.A.R. **Manual de Olericultura: Cultura e comercialização de hortaliças.** 2ed. São Paulo: E. Ceres. v.2. 357p. 1982.

FONTANÉTTI, A; CARVALHO, G.J; GOMES, L.A.A; ALMEIDA, K; MORAES, S.R.G; TEIXEIRA, C.M. **Adubação verde na produção de orgânica de alface americana e repolho.** Horticultura Brasileira 24: 146-150.p. 2006.

FORNASIERI FILHO, D. **A cultura do milho.** Funep, Jaboticabal, São Paulo. 273 p. 1992.

FRAGA, A.C. **Recomendações de adubação para brássicas.** In: HEREDIA, M.C.V. et al. "coord". Seminários de Olericultura. Viçosa: UFV, v.7, p.102-114, 1983.

FRANCO, B.D.G.M; LANDGRAF, M. **Microbiologia de alimentos.** São Paulo: Editora Atheneu, 2003.182 p.

FRAZIER, N.C. **Microbiologia de los alimentos.** Zaragoza: Acribia, 1976. 512p.

FREITAS, M.B; BRILHANTE, O; ALMEIDA, L.M. **Importância da análise de água para a saúde pública em duas regiões do estado do Rio de Janeiro: enfoque para coliformes fecais, nitrato e alumínio.** Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro, v.17, n.3, p.651-660, 2001.

FURLANI, P.R. **Introduções para o cultivo de hortaliças de folhas pela técnica de hidroponia – NFT.** Campinas: Instituto Agrônomo. 1997. 30p. (Boletim Técnico 168).

GARCIA, L.L.C; HAAG, H.P; MINAMI, K; **Nutrição mineral de hortaliça .XLIX. Concentração e acúmulo de macronutrientes em alface (*Lactuca sativa* L.) cv. Brasil 48 e Clause's Aurélia.** Anais da Escola Superior "Luiz de Queiroz", Piracicaba, v.39, p.485-504, 1982.

GERMANO, P.M.L; GERMANO, M.I.S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos.** São Paulo; Varela. 655p. 2003.

GOTO, R.; IOZI, R.N.; CAÑIZARES, K.A.L.; STRIPARI, P. C. **Novas técnicas, melhor qualidade.** Agrianual, 1997.

GRANGEIRO, L.C; COSTA, K.R; MEDEIROS, M.A; SALVAIANO, A.M; NEGREIROS, M.Z; BEZERRA NETO, F; OLIVEIRA, S.L. **Acúmulo de nutrientes por três cultivares de alface cultivadas em condições de Semi-Árido**. Horticultura Brasileira 24: 190-94p. 2006.

GUERRA, N.B; LIVERA, A.V.S. **Correlação entre o perfil sensorial e determinação físicas e químicas do abacaxi cv. Perola**. Revista Brasileira de Fruticultura, Cruz das Almas- BA. v.21, n-1, p.32-35, abril, 1999.

GUIMARAES, A.M; ALVES, E.G.L; FIGUEIREDO, H.C.P; COSTA, G.M; RODRIGUES, L.S. **Freqüência de enteroparasitas em amostra de alface (*Lactuca sativa*) comercializada em Lavras, Minas Gerais**. Rev. Soc. Bras. Med. Trop., v.36, n.5, p.621-623, 2003.

HENNESSY, T.W; HEDBERG, C.W; SLUTSKER L; WHITE, K.E; BESSER-WIECK, J.M; MOEN M.E; ET AL. **A national outbreak of Salmonella enteritis infections from ice cream**. N Engl J Med. 1996; 334(20): 1281-6p.

IRALA, C.H & FERNANDEZ, P.M. **Horta. Manual para escolas - A escola promovendo habito alimentares saudáveis**. Universidade de Brasília. Brasília, 2001, 21p.

ISSAC-MARQUEZ, A.P.; LEZAMA-DAVILA, C.M; KU-PECH, R.P; TAMAY-SEGOVIA, P. **Calidad sanitaria de los suministros de água para consumo humano em Campeche**. Salud Publica, Cidade de México, v.36, n.6, p.55-61, 1994.

KAFERSTEIN, F; ABDUSSALAM, M. **Food safety in the 21 st century**. Bulletin of the World Health Organization, n. 77, p.347 – 351. 1999.

KATAYAMA, M. **Nutrição e adubação de alface, chicória e almeirão**. In: **SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO E ADUBAÇÃO DE HORTALIÇAS. 1990, Jaboticabal. Anais. Piracicaba: POTAFOS, 1993. Cap.4, p.141-148.**

KIEHL, E.J. **Fertilizantes orgânicos**. Piracicaba: Agronômica Ceres, 492p. 1985.

KIMOTO, T. **Nutrição e Adubação de repolho, couve-flor e brócoli**. In: **NUTRIÇÃO E ADUBAÇÃO DE HORTALIÇAS. Anais. Jaboticabal, UNESP. 1993. p.49-178.**

KOUBA, M. **Quality of organic animal products**. Livestock Production Science, França, v.80, n.1/2, p.33-40, 2003.

KOUBA, M. **Qualité dès produits biologiques d'origine animale**. INRA Productions Animales. 15(3), 161-169.p. jul.2002

LANDGRAF, M. **Fundamentos e perspectivas da irradiação de alimentos visando ao aumento de sua segurança e qualidade microbiológica.** São Paulo, 2002. Tese de Livre-Docência- Faculdade de Ciência Farmacêuticas- Universidade de São Paulo.

LOPES, A.S. **Manejo: aspectos químicos.** PEREIRA, V. P.; FERREIRA, M. E.; CRUZ, M. P., (Eds.) **Solos altamente suscetíveis à erosão.** Jaboticabal, UNESP/SBCS, 1994, p.79-111.

LOPES, J.C; RIBEIRO, L. G.; ARAÚJO, M. G.; BERALDO, M. R. B. S. **Produção de alface com doses de lodo de esgoto.** Horticultura Brasileira, Brasília, v. 23, n. 1, p. 143-147, 2005.

LONGO, A.D.. **Minhoca: de fertilizadora do solo a fonte alimentar.** São Paulo: Ícone. 1987.79p.

MADDEN, J.M. **Microbial pathogens in fresh produce: the regulatory perspective.** Journal of Food. Protection, Ames, 55 nº10, p.821-823, 1992.

MALAVOLTA, E; GOMES, F.P; ALCARDE. J.C. **Adubos e Adubações.** São Paulo: Nobel, 2002. 200 p.

MALAVOLTA, E; VITTI, G.C; OLIVEIRA, S. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações.** 2.ed. Piracicaba: POTAFÓS, 1997. 319 p.

MALAVOLTA, E. **Pesquisa com nitrogênio no Brasil – passado, presente e perspectivas.** In: **SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE NITROGÊNIO EM PLANTAS**, 1. Anais... Itaguaí, Sociedade Brasileira de Fisiologia Vegetal. 1990. p. 89-177.

MALAVOLTA, E. **ABC da adubação.** 5. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1989. 292 p.

MALAVOLTA, E. **Manual de química agrícola: adubos e adubação.** 3. ed. São Paulo: Ceres, 1981.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants.** London: Academic Press, 1995.

MAKISHIMA, N. **Cultivo de hortaliças.** Brasília: CNPH. 26p. 1992.

MELLO, S.C.; VITTI, G.C. **Influência de materiais orgânicos no desenvolvimento do tomateiro e nas características químicas do solo em ambiente protegido.** Horticultura Brasileira, Brasília, v. 20, n. 3, p. 452-458, 2002.

MIYASAKA, S; NAKAMURA, Y; OKAMOTO, I.I. **Agricultura natural**. 2. ed. Cuiabá: SEBRAE/MT, 1997. 73 p. (Coleção agroindústria).

MOTA, J. H. **Efeito do potássio através da fertirrigação na produção da alface americana em cultivo protegido**. Lavras – MG.UFLA. 46p. 1999. Dissertação de Mestrado.

MORETTI, C.L; MATTOS, L.M. **Processamento mínimo de alface crespa**. Comunicado técnico 36. Embrapa. ISSN 1414-9850 Dezembro, 2006 Brasília, DF.

NICOULAUD, B.A.L; MEURER, E.J; ANGHINONI, I. **Rendimento e absorção de nutrientes por alface em função de calagem e adubação mineral e orgânica em solo “areia quartzosa hidromorfica”**. Horticultura Brasileira, 8 (2): 6-9, 1990.

OLIVEIRA C.A; GERMANO P.M. **Estudo da ocorrência de enteroparasitas em hortaliças comercializadas na região metropolitana de São Paulo, SP, Brasil**. I- Pesquisa de helmintos. Revista de Saúde Pública 26. p.283-289, 1992.

OLIVEIRA, R.F. de; TEXEIRA, L.B; GERMANO, U.L.C. **Composto orgânico de lixo e adubos orgânicos tradicionais a produção de matéria seca de milho e na fertilidade do solo**. Belém, PA: Embrapa Amazônia Ocidental. 2004. 18p. (Embrapa Amazônia Ocidental. Boletim de Pesquisa e desenvolvimento, 27).

OLIVEIRA; F.L; RIBAS; R.G.T; JUNQUEIRA; R.M; PADOVAN; M.P; GUERRA; J.G.M; ALMEIDA, D.L; RIBEIRO, R.L.D. **Uso do pré-cultivo de *Crotalaria juncea* e de doses crescentes de “cama” de aviário na produção do repolho sob manejo orgânico**. Agronomia, Seropédica, v. 37, n. 2, p. 60-66, 2003.

OLIVEIRA, T.W.S; SANTANA, L.R.R; CARVALHO, R.D.S; LEITE, C.C; ALCÂNTARA, L.M. **Qualidade física, microbiológica e parasitológica de alfaces (*Lactuca sativa*) comercializadas na cidade de Salvador-BA, segundo diferentes sistemas de cultivo**. Salvador: UFBA, 2004.

ORMOND, J.G.P; de PAULA, S.R.L; FAVERET. F.P; ROCHA, L.T.M. **Agricultura Orgânica: passado e futuro**. BNDS. Setorial, Rio de Janeiro, mar. 2002.

PACHECO, M.A.S.R; FONSECA, Y.S.K; DIAS, H.G.G; CANDIDO, V.L.P; GOMES, A.H.S; ARMELIN, I.M; BERNARDES, R. **Condições higiênico-sanitária de verduras e legumes comercializados no CEAGESP de Sorocaba-SP**. Higiene Alimentar. V.16, n.101, p.50-55, out. 2002.

PADILHA, W.A. **Curso internacional de fertirrigacion en cultivos protegidos.** Quito: Ecuador, 1998. 120p.

PALÚ, A.P; TIBANA, A; TEIXEIRA, L.M; MIGUEL M.A.L; PYRRHO A.S; LOPES, H.R. **Avaliação microbiológica de frutas e hortaliças frescas, servidas em restaurantes self-service privados, da Universidade Federal do Rio de Janeiro.** Hig Alim. 2002; 16(100).p.67-74.

PARDI, M.C.; SANTOS, I.F; SOUZA, E.R.; PARDI, H.S. **Ciência, higiene e tecnologia da carne: Riscos microbiológicos da carne, Goiânia: UFG, 1995.** v.1, p.294-308.

PAULA, P; RODRIGUES, P.S.dos S; TÓRTORA, J.C.de O; UCHÔA, C.M.A; FARAGE, S. **Contaminação microbiológica e parasitológica em alface (*Lactuca sativa*) de restaurantes self-service, de Niteroi-RJ.** (Comunicação) Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 36 (4): 535-537, jul-ago, 2003.

PELCZAR, M; REID, R; CHAN, E.C.S. Microbiologia, São Paulo, SP. McGraw-Hill do Brasil. Vol, 2, 1996.

PERREIRA, J.E. **Análise da presença de *Escherichia coli* em alfaces consumidas em poços de Caldas-MG.** UNIFEOB. Monografia. 2005. 45p.

PERRENOUD, S. **Potassium and plant health.** Bern: International Potash Institute, 1977. 218p.

PINHEIRO, S. **Cartilha dos agrotóxicos.** Fundação Juquira Candirú, Porto Alegre, 1998. 66p.

PIMENTEL, A.A.M.; **Olericultura no trópico úmido: hortaliça na Amazônia.** São Paulo: E. Ceres, 1985. 322p.

PIRES, J.F. **Impacto da Fertilização Química e Orgânica na Produtividade em Alguns Aspectos Qualitativos de Alface e Repolho Produzidos no Distrito Federal.** Brasília, 2003, 147p. Dissertação de Mestrado.

PIRES, J.F; JUNQUEIRA, A.M.R. **Impacto da adubação orgânica na produtividade e qualidade das hortaliças.** In: 41º CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 2001 (CDROOM).

PORTO, M.L. **Produção, estado nutricional e acúmulo de nitrato em plantas de alface submetidas à adubação nitrogenada e orgânica.** Areia: PPGA/CCA/UFPB, 2006. 65f: il. Dissertação de Mestrado.

PORTO, V.C.N; NEGREIROS, M.Z de; NETO, F.B; NOGUEIRA, I.C.C. **Fontes e doses de matéria orgânica na produção de alface.** Caatinga, Mossoró-RN, 12(1/2):7-11, dez. 1999

RESENDE, G.M.; YURI, J.E; MOTA, J.H; RODRIGUES JÚNIOR, J.C; SOUZA, R.J; CARVALHO, J.G. **Produção de alface americana em função de doses e épocas de aplicação de Supra Potássio®.** Horticultura Brasileira, Brasília, v. 23, n. 2, p. 174-178, 2005.

RIBEIRO, A.C; GUIMARÃES, P.T.G; V.ALVAREZ, V.H. **Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas gerais – 5ª Aproximação.** Viçosa-MG, 1999. 359p.

RICCI, M.S.F; CASALI, V.W; CARDOSO, A.A; RUIZ, H.A. **Teores de nutrientes em duas cultivares de alface adubadas com composto orgânico.** Pesquisa Agropecuária Brasileira 30: p.1035-1039. 1995.

ROCHA, C. M.B.M; RODRIGUES, L.S; COSTA, C.C; OLIVEIRA, P.R; SILVA, I.J; DE JESUS, E.F; GOMES, E. **Avaliação da relação entre os tipos de mananciais e a qualidade de água utilizada na zona rural do município de Lavras-MG.** In: CONGRESSO BRASILEIRO DE EPIDEMIOLOGIA, 5., 2002, Curitiba. Resumos... Curitiba: SBE, 2002. 458p.

RODRIGUES, C. da S. **Contaminação microbiológica em alface e couve comercializadas no varejo de Brasília-DF.** 29p. Monografia Graduação. Jul/2007.

RODRIGUES, E.T. **Efeitos das adubações orgânica e mineral sobre o acúmulo de nutrientes e sobre o crescimento da alface (*Lactuca sativa* L.).** Viçosa, MG: UFV, 1990. 60 p. Dissertação de Mestrado.

RODRIGUES, E.T; SUMIOKA, A.T. **Produção de cará em função de fontes orgânicas de adubação.** Ciênc. agrotec., Lavras. V.27, n.4, p.822-828, jul./ago., 2003

ROSA, O.O; CARVALHO, E.P. **Características microbiológicas de frutos e hortaliças minimamente processados.** Boletim da SBCTA. V.34, n.2, p.84-92, jul/dez.2000.

SANTIAGO, J.P. **Água na dose certa.** Guia rural. v.4, n.3, p.56-58, mar.1990.

SANTOS, R.H.S. **Crescimento, produção e qualidade de alface (*Lactuca sativa*) cultivada com composto orgânico.** Viçosa, MG: UFV, 1993. 114 p. Dissertação de Mestrado.

SANTOS, R.H; SILVA, F; CASALI, V. W. D; CONDE, A. R. **Efeito residual da adubação com composto orgânico sobre o crescimento e produção de alface.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 36, n. 11, p. 1395- 1398, nov. 2001.

SANTOS, R.H.S; CASALI, V.W.D; CONDÉ, A.R; MIRANDA, L.C.G. de. **Qualidade de alface cultivada com composto orgânico.** Horticultura Brasileira, Brasília, v.12, n.1, p.29-32, 1994.

SECRETARIA DA SAÚDE DO ESTADO DE SÃO PAULO (SSSP). Centro de Vigilância Epidemiológica. **Instituto Adolfo Lutz e Manual das doenças transmitidas por alimentos e águas.** São Paulo. Centro de Vigilância Epidemiológica: 2003.

SETÚBAL, J.W; SILVA, A.M.R. **Avaliação do comportamento de alface de verão em condições de calor no município de Teresina PI.** Horticultura Brasileira 10:m 69, (Resumo 127). 1992.

SHIZUTO, M. **Horticultura.** 2.ed. Campinas: Instituto Campineiro de Ensino Agrícola, 1983.321p.

SILVA, V. de P.B.V. da. **Análise da Conformação de Qualidade da Alface Orgânica Certificada produzida no Distrito Federal.** DM. Universidade de Brasília/FAV. Brasília – DF. Jul. 2005. p. 164

SILVA, D.J. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos.** 2.ed.Viçosa: UFV, 165 p. 1998.

SILVA, E. A. **Manual de controle higiênico–sanitário em alimentos.** São Paulo: Livraria Varela, 1995. 397p.

SILVA JUNIOR, E. A. **Manual de controle higiênico sanitário em alimentos.** 3 ed. Varela, São Paulo, 1992.

SILVA JUNIOR, A. **Efeito da adubação mineral e orgânica em repolho. Agropecuária Catarinense.** V.4.n., p. 53-56, 1991.

SILVA, N & JUNQUEIRA, V.C.A. **Métodos de análise microbiológica de alimentos.** Campinas: ITAL, 1995. 228p.

SILVA, N da; JUNQUEIRA, V.C.A; SILVEIRA, N.I. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos.** São Paulo: Varela, 1997. 295 p.

SILVA JÚNIOR, J.P da; SIQUEIRA, J.O. **Aplicação de formononetina sintética ao solo como estimulante da formação de micorriza no milho e na soja.** Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal, 9 (1): p. 35-41. 1997.

SIQUEIRA, R.S. **Manual de microbiologia de alimentos.** Brasília: EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Tecnologia Agroindustrial de Alimentos (Rio de Janeiro) Brasília: EMBRAPA-SPI, Rio de Janeiro, EMBRAPA-CTM. 1995. 159p.

SKUTEL, T.A.; GREENBERG, E.R.; DAIN, B.J.; REED, F.C.; JACOBS, N.J. **A longitudinal study of rainfall and coliform contamination in small community drinking water supplies.** Environ Sci Technol, v.24, n.57, p.1-5, 1990.

SMITH, S.R.; HADLEY, P. **A comparison of organic and inorganic nitrogen fertilizers: their nitrate-N and ammonium-N release characteristics and effects on the growth response of lettuce (*Lactuca sativa* L. cv. Fortune).** Plant and Soil, v.115, n.1, p. 135-144, 1989.

SOUTO, R.A. de. **Avaliação Sanitária da Água de Irrigação e de Alfaces (*Lactuca sativa* L.) produzidas no município de Lagoa Seca, Paraíba.** Universidade Federal da Paraíba. Dissertação de Mestrado. 70 p. abril.2005.

SOUSA, D. M.G. de; LOBATO, E. **Cerrado: Correção do solo e adubação.** 2 ed. Brasília, DF. Embrapa ;informações Tecnológica, 2004. 416p.

SOUSA, D.M.G. de; VILELA, L.; REIN, T.A; LOBATO, E. **Eficiência da adubação fosfatada em dois sistemas de cultivo em um latossolo de Cerrado.** In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 26., 1997, Rio de Janeiro. Informação, globalização, uso do solo. Rio de Janeiro: SBCS, 1997. 1 CD-ROM.

SOUZA, J.L. de; RESENDE, P. **Manual de Horticultura Orgânica.** Viçosa: Aprenda Fácil, 2003. 564p: Il. ISBN; 85-88216-38-8.

TAKAYANAGUI, O.M; FEBRÔNIO, L.H.P; BERGAMINI, A.M; OKINO, M.H.T; SILVA, A.M.C.C; SANTIAGO, R.; CAPUANO, D.M; OLIVEIRA, M.A; TAKAYANAGUI, A.M.M. **Fiscalização de hortas produtoras de verduras do município de Ribeirão Preto, SP.** Revista de Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Ribeirão Preto, v. 33, n.2, p.169-174, 2000.

TRIVELLATO, M.D; FREITAS, G.B. **Panorama da Agricultura Orgânica.** In: STRINGUETA, P.C; MUNIZ, J.N. Alimentos orgânicos: Produção tecnologia e certificação. Viçosa: UFV. P9-35.2003.

TURAZI, C.M.V; JUNQUEIRA, A.M.R; OLIVEIRA, S.A; BORGIO, L.A. **Acúmulo de nitrato em alface em função da adubação, horário de colheita e tempo de armazenamento.** *Horticultura brasileira*, 24: p.65-70. 2006

VIDIGAL, S.M; RIBEIRO, A.C; CASALI, V.W.D; FONTES, L.E.F. **Resposta da alface (*Lactuca sativa* L.) ao efeito residual da adubação orgânica: I. Ensaio de campo.** *Revista Ceres*, Viçosa, v. 42, n. 239, p. 80-88, 1995.

VILELA, N.J; RESENDE, F.V. de; FILHO, E.G.; SAMINÊZ, T.C; VALLES, J.C.V; JUNQUEIRA, L.P. **Perfil dos consumidores de produtos orgânicos no Distrito Federal.** Comunicado técnico 40. Embrapa. ISSN 1414-9850 Dezembro, 2006, Brasília, DF

VILLAS BÔAS, R.L. **Doses de nitrogênio para pimentão aplicadas de forma convencional e através da fertirrigação.** Botucatu: Universidade Estadual Paulista. 123p. (Tese livre docência). 2001.

YURI, J E; RESENDE, G.M; RODRIGUES JÚNIOR, J.C; MOTA, J.H; SOUZA, R.J. **Efeito de composto orgânico sobre a produção e características comerciais de alface americana.** *Horticultura Brasileira*, Brasília, v.22, n.1, p. 127-130, 2004.

YOUN, S; SNEED, J. **Implementation of HACCP and prerequisite programs in school foodservice.** *J Am Diet Assoc.* 2003; 103(1):55-60. [[Medline](#)]

ZAMBON, F.R.A. **Nutrição mineral da alface (*Lactuca sativa* L.).** In: MULLER, J.J.V.; CASALI, V.W.D. (eds.) *Seminários de Olericultura*, 2.ed. 1982. 2.v.,p.316-348.

WEAGANT, S.D; BRYANT, J.L; JINNEMAN, K.G. **An improved rapid technique for isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from foods.** *Journal of Food Protection*, v.58, n.1, p.7- 12, 1995.

WOLINSK MIKLÓS, A.A. **Conceito ecológico do solo: o papel da biodiversidade na organização e dinâmica da cobertura pedológica.** *Agricultura Biodinâmica*, Botucatu, v.14, N.78, p.11-16, 1997.

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

**PRODUTIVIDADE E QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE ALFACE SOB
DIFERENTES FONTES DE ADUBOS ORGÂNICOS**

INGERGLEICE MACHADO DE OLIVEIRA ABREU

ORIENTADORA: ANA MARIA RESENDE JUNQUEIRA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

PUBLICAÇÃO: 278/2008

BRASÍLIA/DF
FEVEREIRO/2008

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**PRODUTIVIDADE E QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE ALFACE
SOB DIFERENTES FONTES DE ADUBOS ORGÂNICOS**

INGERGLEICE MACHADO DE OLIVEIRA ABREU

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SUBMETIDA À FACULDADE DE AGRONOMIA
E MEDICINA VETERINÁRIA DA UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA, COMO PARTE
DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM
CIÊNCIAS AGRÁRIAS NA ÁREA DE CONCENTRAÇÃO DE DISCIPLINAS DE
PRODUÇÃO VEGETAL.**

APROVADA POR:

**ANA MARIA RESENDE JUNQUEIRA, PhD (UnB-FAV)
(ORIENTADORA) CPF: 340.665.511-49 E-mail: anamaria@unb.br**

**JEAN KLEBER DE ABREU MATTOS, Dr (UnB-FAV)
(EXAMINADOR INTERNO) CPF: 002.288.181-62 E-mail: kleber@unb.br**

**WILMA MARIA COELHO ARAÚJO, Dra (UnB-FS)
(EXAMINADORA EXTERNA) CPF: 167.158.024-91
E-mail: wilma.araujo@terra.com.br**

BRASÍLIA/DF, 25 DE FEVEREIRO DE 2008

FICHA CATALOGRÁFICA

Abreu, Ingergleice Machado de Oliveira

Produtividade e qualidade microbiológica de alface sob diferentes fontes de adubos orgânicos / Ingergleice Machado de Oliveira Abreu; orientação de Ana Maria Resende Junqueira – Brasília, 2008

69p.: il.

Dissertação de Mestrado (M) - Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2008.

1. *Lactuca sativa* L. 2. Adubação orgânica. 3. Produção. 4. Contaminação. 5. Coliformes fecais. I. Junqueira, A.M.R. II. Título: PhD

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ABREU, I. M. de O. **Produtividade e qualidade microbiológica de alface sob diferentes fontes de adubos orgânicos**. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2008, 69p. Dissertação de Mestrado.

CESSÃO DE DIREITOS

NOME DA AUTORA: Ingergleice Machado de Oliveira Abreu

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO: Produtividade e qualidade microbiológica de alface sob diferentes fontes de fontes adubos orgânicos.

GRAU: Mestre ANO: 2008

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta dissertação de mestrado e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva-se a outros direitos de publicação e nenhuma parte desta dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor.

Ingergleice Machado de Oliveira Abreu
CPF: 721.306.601-34
Quadra 17 casa 20 Setor Leste – Gama
Cep. 72.450-170 Brasília /DF – Brasil
(61) 33850067- ingermo@gmail.com

Dedico esta obra aos meus pais, *Edson Antônio de Oliveira* e *Dalila Ruth Machado de Oliveira*, por tudo que eles representam para mim, pelo amor incondicional e bons exemplos prestados durante toda a minha vida, e ao meu irmão *Rudson Machado de Oliveira*, pelo apoio durante todos os momentos da execução deste trabalho.

Ao meu esposo *Eduardo Henrique de Abreu Filho*, pela inesgotável fonte de carinho e paciência nos momentos mais difíceis.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela sua infinita misericórdia e amor, por me dar força e encorajamento para vencer todos os obstáculos por mais difíceis que eles pareçam.

Aos meus pais, irmão, esposo e aos meus sogros por serem meu porto seguro e pelo apoio nos momentos mais difíceis dessa caminhada.

À Orientadora Ana Maria Resende Junqueira, pela imensurável atenção e dedicação, estímulo e compreensão em todo o desenvolvimento deste trabalho, e pela confiança depositada em minha pessoa.

Ao professor José Ricardo Peixoto pela valiosa contribuição no presente trabalho.

Ao professor Jean Kleber de Abreu Mattos, por ter contribuído muito para meu crescimento profissional.

Ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos – FAV, em especial à professora Ângela Patrícia e à técnica de laboratório Nara Rúbia, por terem me recebido e me auxiliado no processamento das amostras.

Aos funcionários da Fazenda Água Limpa - FAL, Manuel Teixeira de Araújo, José Ramos de Jesus, pelos serviços prestados e, em especial, ao Israel Chavier de Oliveira e Ester, pelo constante auxílio e apoio.

A todos que diretamente ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho e para a minha formação profissional, através de elogios e, ou, críticas que serviram de incentivo para superar todos os desafios e obstáculos encontrados.

ÍNDICE

| CONTEÚDO | PÁGINA |
|---|--------|
| 1-INTRODUÇÃO | 1 |
| 2-REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 3 |
| 2.1-CULTURA DA ALFACE | 3 |
| 2.2-PRODUÇÃO ORGÂNICA | 5 |
| 2.2.1-Adubação Orgânica | 8 |
| 2.2.1.1- Cama-de-frango | 10 |
| 2.2.1.2-Húmus de Minhoca | 12 |
| 2.2.1.3-Esterco Bovino | 13 |
| 2.2.1.4-Composto Orgânico | 14 |
| 2.2.2-Adubação Química | 15 |
| 2.2.3-Nitrogênio | 16 |
| 2.2.4-Potássio | 17 |
| 2.2.5-Fósforo | 18 |
| 2.2.6-Cálcio | 19 |
| 2.3-CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA | 19 |
| 2.3.1-Enterobactéria (<i>Salmonella Sp.</i> e Coliformes à 45°C) | 22 |
| 2.3.1.1- <i>Escherichia Coli</i> | 23 |
| 2.3.1.2- <i>Salmonella sp</i> | 25 |
| 2.4-CONTAMINAÇÃO DA ÁGUA | 27 |
| 3-OBJETIVO GERAL | 29 |
| 3.1-OBJETIVOS ESPECIFICOS | 29 |
| 4-MATERIAL E MÉTODOS | 30 |
| 4.1-ÁREA EXPERIMENTAL | 30 |
| 4.2-DELINEAMENTO EXPERIMENTAL | 30 |
| 4.3-CARACTERIZAÇÃO E CONDUÇÃO DA CULTURA | 31 |
| 4.4-ANÁLISE DE MATÉRIA SECA | 33 |
| 4.5-ANÁLISE MICROBIOLÓGICA | 33 |
| 4.5.1-Preparação das amostras para análise microbiológica | 34 |

| | |
|---|----|
| 4.5.1.1- Análise da água | 34 |
| 4.5.1.2- Análise do solo e dos adubos orgânicos | 35 |
| 4.5.1.3- Incubação das amostras nos meios para análise de coliformes a 45°C | 35 |
| 4.5.1.4- Metodologia para <i>Salmonella</i> | 36 |
| 4.6-SISTEMA INTEGRADO DE DIAGNOSE E RECOMENDAÇÃO – DRIS | 37 |
| 4.7-ANÁLISE ESTATÍSTICA | 38 |
| 5-RESULTADOS E DISCUSSÃO | 39 |
| 5.1-PRODUÇÃO DE MATÉRIA FRESCA E MATÉRIA SECA | 39 |
| 5.2-CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA | 50 |
| 6-CONCLUSÃO | 56 |
| 6.1-ADUBAÇÃO E PRODUÇÃO DA ALFACE | 56 |
| 6.2-CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA DA ALFACE | 56 |
| 7-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 58 |

ÍNDICE DE TABELAS

| | |
|---|----|
| TABELA 01- Níveis aceitáveis de coliformes fecais à 45°C e <i>Salmonella</i> em amostras indicativas de hortaliças, legumes e similares. RDC nº 12, 02/01/01, Anvisa | 25 |
| TABELA 02- Matéria fresca e matéria seca de alface cv. Vera em função da adubação. UnB - FAV, 2007 | 39 |
| TABELA 03- Teores de macro e micronutrientes presentes na cultura da Alface cv. Vera cultivada sob adubação química orgânica. UnB - FAV, 2007. | 41 |
| TABELA 04- Matriz de correlação simples entre Matéria Fresca (MF), Matéria seca (MS), contaminação por coliformes a 45°C - Fecais (CONT), macro e micronutrientes para alface, cv. Vera. UnB - FAV, 2007 | 43 |
| TABELA 05- Ordem de limitação dos nutrientes para produção de alface cv. Vera, conduzida sob diferentes fontes de adubos orgânicos e adubo químico (DRIS). UnB - FAV, 2007 | 45 |
| TABELA 06- Composição química dos adubos orgânicos utilizados no cultivo de alface cv. Vera. UnB - FAV, 2007 | 47 |
| TABELA 07- Análise de fertilidade do solo antes e depois do plantio da cultura de alface cv. Vera. UnB - FAV, 2007 | 49 |
| TABELA 08- Contaminação por Coliformes a 45°C em alface cv. Vera cultivada sob adubação química e orgânica. UnB - FAV, 2007 | 51 |
| TABELA 09- Contaminação da alface cv. Vera por <i>Salmonella</i> sp. e Coliformes a 45° C (Fecais) em função da adubação química e orgânica. UnB - FAV, 2007 | 53 |
| TABELA 10- Contaminação microbiológica em amostras de solo da área experimental. UnB- FAV, 2007 | 54 |
| TABELA 11- Contaminação microbiológica em amostras de adubos orgânicos utilizados na área experimental. UnB - FAL, 2007 | 54 |
| TABELA 12- Contaminação microbiológica em amostras da água de irrigação utilizada na área experimental. UnB - FAV, 2007 | 55 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| FIGURA 01- Tansplatio das mudas | 31 |
| FIGURA 02- Cultura após a segunda cobertura | 32 |
| FIGURA 03- Dia da colheita | 32 |

PRODUTIVIDADE E QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE ALFACE SOB DIFERENTES FONTES DE ADUBOS ORGÂNICOS

Resumo

A contaminação de hortaliças por microorganismos patogênicos é uma realidade. Nos EUA e Europa, as hortaliças, juntamente com alguns sucos de fruta, tem sido responsáveis por graves problemas de intoxicação alimentar. Os adubos orgânicos têm sido responsabilizados por algumas contaminações de hortaliças observadas no Brasil. O objetivo deste trabalho foi avaliar a produtividade e a contaminação de alface por *Salmonella sp* e coliformes a 45° C, cultivada sob adubação orgânica. O delineamento experimental foi de blocos ao acaso, com seis tratamentos, em cinco repetições. Os tratamentos foram: 1- Testemunha (sem adubação); T2- Adubação química; T3- Esterco de galinha; T4- Esterco bovino; T5- Húmus de minhoca e T6- Composto orgânico. As variáveis analisadas foram matéria fresca, matéria seca, macro e micronutrientes e contaminação microbiológica. Foi observada maior obtenção de matéria fresca nas parcelas adubadas com esterco de galinha (543g) que diferiu estatisticamente da produção observada nos demais tratamentos. Não foi observada diferença estatística significativa entre tratamentos para matéria seca, com exceção da parcela com composto orgânico que apresentou o menor valor (3,7%). Não foi observada contaminação do solo e nem dos adubos orgânicos por esses microorganismos. Porém, foi observada contaminação da água de irrigação e da alface por coliformes fecais. Assim sendo, existem fortes indícios de que a água de irrigação seja o principal veículo de contaminação.

Palavras-chave: *Lactuca sativa* L; adubação orgânica; produção; contaminação, coliformes fecais.

YIELD AND MICROBIOLOGICAL QUALITY OF LETTUCE GROWN UNDER DIFFERENT SOURCES OF ORGANIC MANURE

Abstract

Vegetable contamination by lethal microorganisms is a reality. In the UEA and Europe, vegetable crops and some fruit juices are responsible for serious food borne diseases. Organic manure has been cited as responsible for vegetable contamination in Brazil. The aim of this research was to evaluate yield and lettuce contamination by *Salmonella sp* and coliforms at 45° C, grown under organic fertilization. Experimental design was randomized blocks with 6 treatments in five replicates. The treatments were: 1- Control (no fertilization); T2- Chemical fertilization; T3- Chicken manure; T4- Cattle manure; T5- Worm manure and T6- Organic compost. Fresh weight, dry matter percentage, macro and micronutrients and microbiological contamination were recorded. The highest lettuce weight was observed in the parcels fertilized with chicken manure (543g). It was statistically different from the weights observed in the other treatments. It was not observed an statistical difference among treatments for dry matter percentage, with the exception of the value observed at the organic compost treatment, which was the lowest (3,7%). Soil and organic manure samples were not contaminated by *Salmonella sp* and fecal coliforms. Nevertheless, irrigation water and lettuce samples were contaminated by fecal coliforms. There is strong evidence that irrigation water was the main source of lettuce contamination.

Keywords: *Lactuca sativa* L; organic manure; yield; contamination, fecal coliforms.