

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPIRITO SANTO
CENTRO DE CIENCIAS HUMANAS E NATURAIS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL

NAIR HILDELGARD SOARES DOS SANTOS

**Potencial bioestimulante do extrato de microalgas na germinação e crescimento de
culturas agrícolas**

VITÓRIA-ES

2022

NAIR HILDELGARD SOARES DOS SANTOS

**Potencial bioestimulante do extrato de microalgas na germinação e crescimento de
culturas agrícolas**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de Doutora em Biologia Vegetal.

Área de concentração: Fisiologia Vegetal.

Orientadora: Prof. Dr^a. Valéria de Oliveira Fernandes

Co-orientador: Prof. Dr. Levi Pompermayer Machado

VITÓRIA-ES

2022

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

H642p Hildelgard Soares dos Santos, Nair, 1991-
Potencial bioestimulante do extrato de microalgas na germinação e crescimento de culturas agrícolas. : Microalgas como bioestimulantes / Nair Hildelgard Soares dos Santos. - 2022.
132 f. : il.

Orientadora: Valéria de Oliveira Fernandes.
Coorientador: Levi Pompermayer Machado.
Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) - Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Humanas e Naturais.

1. agricultura sustentável. 2. algas. 3. desempenho germinativo. 4. produtividade. 5. produção orgânica. 6. sementes. I. de Oliveira Fernandes, Valéria. II. Pompermayer Machado, Levi. III. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Humanas e Naturais. IV. Título.

CDU: 57

Nair Hildelgard Soares dos Santos

Potencial bioestimulante do extrato de microalgas na germinação e crescimento de culturas agrícolas

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Centro de Ciências Humanas e Naturais, da Universidade Federal do Espírito Santo como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Doutora em Biologia Vegetal na área de concentração Fisiologia Vegetal.

Aprovada em 05 de outubro de 2022.

Comissão Examinadora:

Dr^a. Valéria de Oliveira Fernandes - UFES
Orientadora e Presidente da Comissão

Dr. Levi Pompermayer Machado - UNESP
Co-orientador

Dr^a. Viviana Borges Corte -UFES
Examinadora Interna

Dr. Stéfano Zorzal de Almeida - UFES
Examinador Interno

Dr^a. Fernanda Brêda Alves - SEDU/ES
Examinadora Externa

Dr. Jean Carlos Vencioneck Dutra - SEDU/ES
Examinador Externo



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

PROTOCOLO DE ASSINATURA



O documento acima foi assinado digitalmente com senha eletrônica através do Protocolo Web, conforme Portaria UFES nº 1.269 de 30/08/2018, por VALERIA DE OLIVEIRA FERNANDES - SIAPE 2206666 Departamento de Ciências Biológicas - DCB/CCHN Em 21/10/2022 às 22:49

Para verificar as assinaturas e visualizar o documento original acesse o link:
<https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/589348?tipoArquivo=O>



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

PROTOCOLO DE ASSINATURA



O documento acima foi assinado digitalmente com senha eletrônica através do Protocolo Web, conforme Portaria UFES nº 1.269 de 30/08/2018, por
STEFANO ZORZAL DE ALMEIDA - SIAPE 1099750
Departamento de Oceanografia e Ecologia - DOE/CCHN
Em 23/10/2022 às 10:14

Para verificar as assinaturas e visualizar o documento original acesse o link:
<https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/589432?tipoArquivo=O>



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

PROTOCOLO DE ASSINATURA



O documento acima foi assinado digitalmente com senha eletrônica através do Protocolo Web, conforme Portaria UFES nº 1.269 de 30/08/2018, por
VIVIANA BORGES CORTE - SIAPE 2699666
Departamento de Ciências Biológicas - DCB/CCHN
Em 24/10/2022 às 13:26

Para verificar as assinaturas e visualizar o documento original acesse o link:
<https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/589974?tipoArquivo=O>



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

PROTOCOLO DE ASSINATURA



O documento acima foi assinado digitalmente com senha eletrônica através do Protocolo Web, conforme Portaria UFES nº 1.269 de 30/08/2018, por
GERALDO ROGERIO FAUSTINI CUZZUOL - SIAPE 1173398
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal
Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal - PPGCBV/CCHN
Em 24/10/2022 às 15:23

Para verificar as assinaturas e visualizar o documento original acesse o link:
<https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/590153?tipoArquivo=O>

Esta tese é dedicada a todos pesquisadores que continuam resistindo ao desmonte da educação brasileira, produzindo pesquisa de qualidade apesar do desprestígio da ciência neste momento. “Apesar de hoje eles cortarem as flores, não podem impedir o retorno da primavera.”

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida e saúde para seguir em frente e nunca me deixar desanimar, quando eu mesma achava que não seria capaz.

À Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) e ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal (PPGBV), pelo espaço físico e todo conhecimento adquirido permitindo a elaboração desta pesquisa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa.

À minha família por todo incentivo e apoio durante esses anos, em especial a minha mãe que sempre acreditou em mim, sempre me estimulando durante a jornada acadêmica. Obrigada por ser minha base, fonte de inspiração, meu exemplo e por me apoiar em todas as decisões, te amo mãe!

À minha orientadora Prof.^a Dr.^a Valéria de Oliveira Fernandes, pelos anos de orientação, por aceitar me orientar e ter confiado a mim esse trabalho sem nem me conhecer. Obrigada por abrir as portas do LATEAC e me receber de braços abertos. Sou grata por todos os ensinamentos, conselhos e toda paciência para cessar minhas dúvidas. É claro não poderia esquecer dos agradáveis e inúmeros cafés da tarde em sua sala, muito obrigada por tudo!

Ao meu coorientador Prof. Dr. Levi Pompermayer Machado, por confiar mais este trabalho a mim e aceitar todas sugestões durante o desenvolvimento deste estudo. Obrigada pela dedicação e paciência nos momentos de incertezas, por sempre trazer novidades e auxiliar na compreensão de alguns métodos transformando em algo simples, sempre com muita leveza. Muito obrigada pela prestatividade e pela disponibilidade durante todo esse período, seu incentivo foi fundamental para que pudesse chegar até aqui, devo muito a você.

Aos membros da banca, Dr^a Viviana Borges Corte, Dr^a Fernanda Brêda Alves, Dr. Stéfano Zorzal de Almeida e Dr. Jean Carlos Vencioneck Dutra, por aceitarem a compor a banca examinadora, avaliar e contribuir para o aprimoramento deste estudo.

Ao meu noivo Jadson por todo apoio e incentivo ao longo desses anos. Muito obrigada pelos conselhos e pela companhia sempre que precisei, mas principalmente por se dispor a me acompanhar ao laboratório todos os finais de semana, mesmo abdicando de parte do seu descanso em prol das minhas necessidades. Obrigada por toda dedicação, amizade, carinho e amor dedicados a mim. Amo você!

À tia Dema pelo incentivo, por sempre me encorajar nos momentos cruciais da minha vida, por todo amor dedicado, pela generosidade, amizade e por muitas vezes acreditar mais em mim que eu mesma.

Aos meus irmãos, por todo estímulo, pelo companheirismo, amizade, amor e sempre acreditarem em mim. Obrigada por sempre se fazerem presentes em minha vida.

Agradeço as minhas primas Tarciana e Ingrid, pela amizade, conselhos, amor, companheirismo e por vibrarem comigo a cada conquista.

Aos integrantes do LATEAC por tornar esse período alegre e divertido, em especial Fred, Fernanda, Ana “Carla”, Brener, Fabrício e Mayara. Vocês me auxiliaram a fazer desse processo mais leve e descontraído, muito obrigada pela amizade e paciência em sanar minhas dúvidas sempre que precisei. Todos os momentos que compartilhamos juntos foram fundamentais para suportar a tensão de estar no doutorado. Obrigada por cada gargalhada, café da tarde no laboratório, cervejinhas na rua da Lama, fins de semana no Mistura’s.

Ao Fred, por ser meu parceiro durante todo o doutorado, pela paciência em ensinar passo a passo de cada metodologia (mesmo quando tinha que repetir, rsrs), o pouco que sei de cultivo de microalgas devo a você. Obrigada pela disponibilidade, por me socorrer todas as vezes que eu me desesperava, por compartilhar

toda sabedoria e pela amizade. Agradeço principalmente pela coragem de ficar comigo na botânica até às 10 da noite.

À Ana Carl... ops Ana Clara, minha eterna IC. Posso dizer que aprendi mais com você do que o contrário, muito obrigada por me auxiliar durante todo o processo inicial do cultivo, por ser companhia durante esse período, compartilhando lavagem de vidrarias, contagem de sementes, cálculos de meios de cultura. Por toda diversão que sua jovialidade trouxe pra mim, agradeço.

À Fernanda pela amizade, por cada conselho sempre que precisei. Muito obrigada por proporcionar momentos divertidos e pela sensatez em todas situações.

Aos amigos de longa data que sempre me incentivaram, proporcionaram momentos de descontração, foram compreensivos em vários momentos em me ausentei devido aos experimentos, em especial Gean Zanetti, Juliana Penha, Karen Otoni, Lívia Cuquetto, Jacqueline Almeida, Thais Sciarretta, Gabrielly Rossin, Grazielle Clarino, Emanuelle Cata Preta, Cléber Covre, Natanny.

Ao professor Dr. Cláudio José Barbedo por me receber no Núcleo de Pesquisas em Sementes – Instituto de Botânica de São Paulo, por apresentar o fantástico mundo das sementes e dedicar parte do seu tempo para ensinar técnicas em análises de sementes, sempre muito disponível e prestativo. Agradeço também à suas alunas por me acompanharem durante o período que estive em São Paulo e me auxiliarem em todas as análises e interpretação de dados, em especial, Márcia, Isabela, Camila e Aline.

Ao professor Dr. Orivaldo Arf pelo apoio no delineamento experimental e execução do experimento de crescimento na Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira – UNESP, por ceder o laboratório, realizar análises e auxiliar na interpretação dos dados.

Ao professor Elvis Pantaleao por ceder o Laboratório de Solos/Meio Ambiente do IFES – Campus Santa Teresa para realização de análises.

À Débora Aviz pelo auxílio nas análises, pelo empréstimo de equipamentos e ceder o laboratório para realização de parte do estudo.

À turma 2018/1 e amigos da botânica pela amizade e companheirismo ao longo desses anos, principalmente quando o desespero era maior, em especial Rosiane, Juliana, Basílio, Vinicius, Angélica e pessoal do herbário pelos vários cafés compartilhados.

Ao corpo docente da Universidade Federal do Espírito Santo pelo conhecimento adquirido ao longo desses anos, em especial à professora Dr^a Diógina Barata, minha primeira orientadora, que me apresentou o mundo da ficologia.

Por fim, mas não menos importante não posso deixar de agradecer a todos os gestores públicos que por meio da implantação de políticas públicas democratizaram o acesso ao ensino superior no Brasil e através destas, mudaram a vida de tantos brasileiros que, assim como eu, foram os primeiros de suas famílias a alcançarem a pós-graduação.

A todos vocês, com os melhores pensamentos, o meu mais sincero e nobre agradecimento.

RESUMO

Atualmente a pressão demográfica global sobre a produção agrícola exige abordagens novas e sustentáveis para satisfazer a crescente demanda por biomassa vegetal destinada à alimentação humana, alimentação animal e produção de energia. Por isso, tem sido observado crescente interesse em substâncias bioestimulantes naturais na agricultura devido ao desafio de equilibrar o desenvolvimento tecnológico com a conservação ambiental. As microalgas apresentam diversas aplicações biotecnológicas, dentre essas como bioestimulantes. Na agricultura moderna, as microalgas são uma opção ecologicamente correta para substituir os fertilizantes químicos, pois podem ser usadas como bioestimulantes, modificadores de solo e aditivos alimentares. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da aplicação dos extratos de microalgas na germinação e crescimento das culturas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), milho (*Zea mays* L.) e mamão (*Carica papaya* L.). Foi possível evidenciar que extratos aquosos obtidos a partir de microalgas apresentaram potencial bioestimulante de crescimento, considerando que todas sementes utilizadas neste trabalho apresentaram respostas germinativas positiva. Destaca-se que a maioria das sementes obtiveram maiores valores de germinação, tempo médio, bons índices de velocidade, e melhor desempenho inicial quando submetidas aos extratos das espécies do gênero *Chlorella*, principalmente nas concentrações 1,0 g/L e 1,5 g/L. Já para o experimento de crescimento, o extrato de *Scenedesmus acuminatus* demonstrou eficácia na estimulação do crescimento de plantas de feijão, considerando que plantas submetidas a este extrato obtiveram maior rendimento de grãos por planta e maior número de vagens. Desta forma, pode-se afirmar que o bioestimulante, quando aplicado via foliar, é capaz de promover carreamento de fotoassimilados para as sementes, os quais resultariam em maior acúmulo de massa nas sementes. Também pode-se atribuir o efeito positivo do extrato de *S. acuminatus* no rendimento e produtividade da cultura de feijão à disponibilização de micronutrientes presentes nesta microalga. É necessário destacar que para avaliar a ação dos extratos produzidos a partir de algas, deve-se considerar a cultura agrícola a ser testada, e concentrações. Pois as sementes podem apresentar uma fisiologia diferente e isso influencia no mecanismo de ação dos extratos, consequentemente apresentar respostas diferentes das obtidas neste estudo. A partir resultados pode-se atribuir a importância das microalgas no setor agrícola, por seu potencial para o desenvolvimento de novos produtos bioestimulantes do crescimento de plantas.

Palavras-chave: Agricultura sustentável, algas, desempenho germinativo, produtividade, sementes.

ABSTRACT

Currently the global demographic pressure on agricultural production requires new and sustainable approaches to meet the growing demand for plant biomass for human feed, animal feed and energy production. Therefore, there has been growing interest in natural biostimulant substances in agriculture due to the challenge of balancing technological development with environmental conservation. Microalgae have several biotechnological applications, including biostimulants. In modern agriculture, microalgae are an ecologically correct option to replace chemical fertilizers, as they can be used as biostimulants, soil modifiers and food additives. The objective of this work was to evaluate the effects of the application of microalgae extracts on the germination and growth of bean (*Phaseolus vulgaris* L.), corn (*Zea mays* L.) and papaya (*Carica papaya* L.) crops. It was possible to evidence that aqueous extracts obtained from microalgae presented biostimulating growth potential, considering that all seeds used in this study showed positive germ responses. It is noteworthy that most seeds obtained higher germination values, mean time, good speed indices, and better initial performance when submitted to extracts of species of the genus *Chlorella*, mainly at concentrations 1.0 g/L and 1.5 g/L. For the growth experiment, *Scenedesmus acuminatus* extract showed efficacy in stimulating the growth of bean plants, considering that plants submitted to this extract obtained higher grain yield per plant and higher number of pods. Thus, it can be affirmed that the biostimulant, when applied by foliar, is capable of promoting the transport of photoassimilates for the seeds, which would result in greater accumulation of mass in the seeds. It is also possible to attribute the positive effect of *S. acuminatus* extract on the yield and productivity of the bean crop to the availability of micronutrients present in this microalgae. It is necessary to highlight that to evaluate the action of extracts produced from algae, one should consider the agricultural crop to be tested, and concentrations. Because the seeds may present a different physiology and this influences the mechanism of action of the extracts, consequently presenting different responses from those obtained in this study. From the results it is possible to attribute the importance of microalgae in the agricultural sector, for its potential for the development of new biostimulating products of plant growth.

Keywords: Sustainable agriculture, algae, germination performance, productivity, seeds.

LISTA DE FIGURAS

INTRODUÇÃO GERAL

Figura 1: Fluxograma demonstrando as fases de realização do estudo.....23

METODOLOGIA GERAL

Figura 1: Disposição dos erlenmeyers durante o experimento na sala de cultivo.....25

Figura 2: Sementes utilizadas no estudo, sendo A: mamão; B: feijão e C: milho.....31

Figura 3: Aspecto geral das plantas de feijão em campo.....35

CAPÍTULO 1 – CULTIVO DE MICROALGAS PARA PRODUÇÃO DE BIOESTIMULANTES: CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA E CRESCIMENTO.

Figura 1: Curva de crescimento das 4 espécies de microalgas cultivadas.....52

Figura 2: Concentração de carboidratos totais hidrossolúveis (mg/g MS) na biomassa das espécies cultivadas.....54

Figura 3: Concentração de proteínas totais solúveis (mg/g MS) na biomassa final das espécies cultivadas.....54

Figura 4: Concentração de clorofila “a”, nos dias 07, 14 e 21 de cultivo, representados por C1, C2 e C3, respectivamente.....55

Figura 5: Concentração de carotenoides, nos dias 07, 14 e 21 de cultivo, representados por C1, C2 e C3, respectivamente.....55

CAPÍTULO 2 - EFEITO DO EXTRATO DE MICROALGAS NA GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO INICIAL DE TRÊS ESPÉCIES VEGETAIS.

Figura 1: Sementes distribuídas em rolos de papel Germitest®, sendo A: milho; B: feijão e C: mamão.....67

Figura 2: Porcentagem de germinação de sementes de feijão submetidas a diferentes extratos e concentrações e controle positivo e negativo. Barras representam o desvio padrão da média (n=25).....69

Figura 3: Biomassa de plântulas de feijão com aplicação de diferentes concentrações do extrato de *C. vulgaris*.....71

Figura 4: Porcentagem de germinação de sementes de mamão submetidas a diferentes extratos e concentrações e controle positivo e negativo. Barras representam o desvio padrão da média (n=25).....	72
Figura 5: Plântulas de mamão submetidas ao extrato de <i>C. vulgaris</i> . Da esquerda para direita: controle negativo, controle positivo, extrato na concentração 0,5 g/L; extrato na concentração 1,0 g/L; extrato na concentração 1,5 g/L e extrato na concentração 2,5 g/L.....	73
Figura 6: Plântulas de mamão submetidas ao extrato de <i>C. pyrenoidosa</i> . Da esquerda para direita: controle negativo, controle positivo, extrato na concentração 0,5 g/L; extrato na concentração 1,0 g/L; extrato na concentração 1,5 g/L e extrato na concentração 2,5 g/L.....	74
Figura 7: Biomassa de plântulas de mamão com aplicação de diferentes concentrações do extrato de <i>C. vulgaris</i>	75
Figura 8: Biomassa de plântulas de mamão com aplicação de diferentes concentrações do extrato de <i>C. pyrenoidosa</i>	75
Figura 9: Porcentagem de germinação de sementes de milho submetidas a diferentes extratos e concentrações e controle positivo e negativo. Barras representam o desvio padrão da média (n=25).....	76
Figura 10: Biomassa de plântulas de milho com aplicação de diferentes concentrações do extrato de <i>C. vulgaris</i>	78

CAPÍTULO 4 - EFEITO DO EXTRATO DE ALGAS NO DESEMPENHO GERMINATIVO E CRESCIMENTO RADICULAR EM SEMENTES DE FEIJÃO BRS ESTILO EM RESPOSTA A DIFERENTES MÉTODOS DE APLICAÇÃO

Figura 1: Porcentagem de germinação de sementes de feijão BRS Estilo (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) submetidas a diferentes tratamentos com extratos de algas e controle. Barras representam o desvio padrão da média.....	116
Figura 2: Plântulas resultantes dos diferentes métodos de aplicação dos extratos das algas, embebição (T1) e 48 horas (T2), respectivamente. a. controle (água); b. extrato de <i>Ascophyllum nodosum</i> (L.) Le Jol.; c. extrato de <i>Scenedesmus acuminatus</i> (Lagerh.) Chodat.....	119

LISTA DE TABELAS

METODOLOGIA GERAL

Tabela 1: Composição das soluções estoque do meio BBM (Bold Basal Medium).....25

CAPÍTULO 1 – CULTIVO DE MICROALGAS PARA PRODUÇÃO DE BIOESTIMULANTES: CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA E CRESCIMENTO

Tabela 1: Parâmetros cinéticos de crescimento.....53

Tabela 2: Variação e produtividade (P) em biomassa (MS) dos cultivos durante 21 dias.....53

CAPÍTULO 2 - EFEITO DO EXTRATO DE MICROALGAS NA GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO INICIAL DE TRÊS ESPÉCIES VEGETAIS

Tabela 1: Valores médios do índice de velocidade de emergência (IVG) e tempo médio de germinação (TMG em dias) das sementes de feijão.....70

Tabela 2: Valores médios de altura da plântula (cm), comprimento da radícula (cm) e biomassa fresca (g) de plântulas de feijão.....71

Tabela 3: Valores médios do índice de velocidade de emergência (IVG) e tempo médio de germinação (TMG em dias) das sementes de mamão.....73

Tabela 4: Valores médios de altura da plântula (cm), comprimento da radícula (cm) e biomassa fresca (g) de plântulas de mamão.....74

Tabela 5: Valores médios do índice de velocidade de emergência (IVG) e tempo médio de germinação (TMG em dias) das sementes de milho.....77

Tabela 6: Valores médios de altura da plântula (cm), comprimento da radícula (cm) e biomassa fresca (g) de plântulas de milho.....78

Tabela 7: Características físico-químicas dos extratos de *Scenedesmus acuminatus*, *Scenedesmus obliquus*, *Chlorella pyrenoidosa* e *Chlorella vulgaris*, além do controle positivo (à base a macroalga *Ascophyllum nodosum*) e da água.....79

Tabela 8: Composição de macronutrientes e micronutrientes na biomassa algal de *S. acuminatus*, *S. obliquus*, *C. vulgaris* e *C. pyrenoidosa*.....79

Tabela 9: Teor de água (expresso em porcentagem) e potencial hídrico das sementes.....80

CAPÍTULO 3 - EFEITO DO EXTRATO DE MICROALGA *SCENEDESMUS ACUMINATUS* NO CRESCIMENTO E PRODUTIVIDADE DA CULTURA DE FEIJÃO CARIOCA IAC 1850

Tabela 1: Valores médios dos componentes de produção: grãos por planta, número de vagens e plantas por hectare.....98

Tabela 2: Valores médios de produtividades dos grãos em kg/ha.....100

Tabela 3: Composição de macronutrientes e micronutrientes na biomassa algal de *S. acuminatus*.....101

CAPÍTULO 4 - EFEITO DO EXTRATO DE ALGAS NO DESEMPENHO GERMINATIVO E CRESCIMENTO RADICULAR EM SEMENTES DE FEIJÃO BRS ESTILO EM RESPOSTA A DIFERENTES MÉTODOS DE APLICAÇÃO

Tabela 1: Características físico-químicas dos extratos de *Scenedesmus acuminatus* (Lagerh.) Chodat, *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jol. e da água.....116

Tabela 2: Valores médios do índice de velocidade de emergência (IVG), tempo médio de germinação (TMG em dias) e crescimento radicular (CR em cm) das sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). Médias (n= 25) seguidas de letras iguais na coluna não diferem estatisticamente entre si, para o parâmetro avaliado em resposta aos tratamentos de aplicação dos extratos (T1 e T2), pelo teste de Tukey com significância de 1%.....117

Tabela 3: Teor de carboidratos totais, proteínas solúveis em água nos extratos aquosos de *Scenedesmus acuminatus* (Lagerh.) Chodat e *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jol. Valores para as concentrações utilizadas neste trabalho (n=3).....118

APRESENTAÇÃO

Esta tese está subdividida em: Introdução Geral, Metodologia Geral, Capítulo I, Capítulo II, Capítulo III, Capítulo IV e Considerações finais. O trabalho está estruturado em forma de artigos com o objetivo de facilitar a submissão em periódicos científicos específicos.

A Introdução Geral apresenta a definição e utilização de bioestimulantes naturais e sua ação sobre germinação e crescimento de cultura agrícolas. Além disso, é demonstrada a importância das microalgas, bem como sua alta produtividade de biomassa, além de seus compostos bioativos e, a partir disso, possíveis aplicações biotecnológicas, dentre essas como bioestimulante de plantas. Justificando-se como uma alternativa para a agricultura orgânica, que vem crescendo atualmente.

No Capítulo I foi realizado o experimento de cultivo de quatro espécies de microalgas, objetivando maior obtenção de biomassa, para que possa ser posteriormente utilizada para produção de extratos e caracterização bioquímica.

No Capítulo II foi realizado o experimento de germinação com o uso dos extratos produzidos, verificando como estes influenciam a germinação e desenvolvimento inicial de três espécies vegetais de interesse econômico, obtendo dados de biomassa seca, comprimento de parte aérea e radícula das plântulas.

No Capítulo III foi realizado um experimento projetado em campo, a partir do plantio de uma cultura de feijão, com extrato da espécie *Scenedesmus acuminatus*, avaliando o rendimento e produtividade desta cultura, a partir de componentes de produção e produtividade dos grãos.

No Capítulo IV a partir do conhecimento prévio da melhor concentração do extrato de *Scenedesmus acuminatus*, porém objetivando testar métodos diferentes de aplicação, foi realizado experimento de germinação, avaliando porcentagem de germinação e crescimento radicular e, a partir deste, foi possível definir para a espécie de feijão BRS Estilo, o melhor método de aplicação dos extratos algais nas sementes.

As Considerações Finais abordam a comprovada eficácia dos extratos de microalgas como bioestimulantes vegetais, sugerem a melhor concentração a ser aplicada em sementes, além de destacar a importância de se analisar as características específicas de cada cultura a ser testada.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	16
OBJETIVO GERAL.....	23
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	23
METODOLOGIA GERAL.....	24
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	36
CAPÍTULO 1 – CULTIVO DE MICROALGAS PARA PRODUÇÃO DE BIOESTIMULANTES: CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA E CRESCIMENTO.....	49
CAPÍTULO 2 - EFEITO DO EXTRATO DE MICROALGAS NA GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO INICIAL DE TRÊS ESPÉCIES VEGETAIS.....	64
CAPÍTULO 3 - EFEITO DO EXTRATO DE MICROALGA <i>SCENEDESMUS ACUMINATUS</i> NO CRESCIMENTO E PRODUTIVIDADE DA CULTURA DE FEIJÃO CARIOCA IAC 1850.....	93
CAPÍTULO 4 - EFEITO DO EXTRATO DE ALGAS NO DESEMPENHO GERMINATIVO E CRESCIMENTO RADICULAR EM SEMENTES DE FEIJÃO BRS ESTILO EM RESPOSTA A DIFERENTES MÉTODOS DE APLICAÇÃO.....	110
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	127

1. INTRODUÇÃO GERAL

1.1. Bioestimulantes naturais

A expansão populacional vêm gerando crescente demanda por alimentos, conseqüentemente houve intensificação da agricultura e, por sua vez, maior utilização de agroquímicos (GODFRAY, et al., 2010). Apesar do aumento da produtividade nas últimas décadas, esse processo causou prejuízos globais e impactos no meio ambiente (MULLER et al., 2017). Estima-se que a população em rápido crescimento exigirá um aumento de 60% na produção agrícola nos próximos 30 anos, o que irá agravar ainda mais essa situação (FAO, 2018).

Nos últimos anos tem sido observado crescente interesse em substâncias bioestimulantes naturais na agricultura (CRAIGIE, 2011), devido ao desafio de equilibrar o desenvolvimento tecnológico com a conservação ambiental (MÓGOR et al., 2018).

Os bioestimulantes incluem compostos diferentes de fertilizantes, capazes de promover o crescimento das plantas quando aplicados em doses baixas (ZHANG; SCHMIDT, 1997), sendo utilizados como uma alternativa à suplementação de nutrientes em hortaliças, podendo ser aplicados via solo, sistemas de irrigação ou pulverização foliar dos vegetais. Diversos bioestimulantes são utilizados regionalmente, preparados com resíduos animais, vegetais e agroindustriais (SOUZA; RESENDE, 2003). O aumento na utilização é justificado pelo menor custo, composição variada, aumento da produtividade agrícola, minimização da poluição ambiental e principalmente pela concentração de nutrientes existentes em suas formulações (TILMAN, et al. 2002; FOLEY, et al. 2011).

No âmbito legal os biofertilizantes, ou estimulantes, são qualificados como produtos que contém componentes ativos ou agentes biológicos naturais derivados de organismos ou de microrganismos tais como bactérias, fungos e algas (ABDEL-RAOUF, et al. 2012) capazes de atuar, direta ou indiretamente, sobre o todo ou parte das plantas cultivadas, melhorando o desempenho do sistema de produção estimulando o crescimento das plantas, podendo atuar também na química e fertilidade do solo e que seja isento de substâncias proibidas pela regulamentação de orgânicos, de acordo com a Instrução Normativa 64 de 18/12/2008 (MAPA, 2008).

Os bioestimulantes tem potencial de mitigar problemas relacionados às questões ambientais e econômicas e fornecer uma opção renovável para melhorar a qualidade e o rendimento das culturas. São recursos ecologicamente corretos contendo microorganismos, como bactérias, fungos ou algas, que promovem o crescimento e o desenvolvimento das plantas colonizando a rizosfera da planta e permitindo o aumento da absorção de nitrogênio, fósforo, potássio e minerais e, podem ser aplicados em larga escala (POVERO et al., 2016; SHUKLA et al., 2019).

1.2. Algas como bioestimulantes

Algas podem ser agrupadas com base em suas características morfológicas e tamanho, que são referidos como microalgas em nível microscópico e macroalgas em nível macroscópico, que crescem em ambientes aquáticos (RAJKUMAR; TAKRIFF, 2016). Esses organismos possuem a clorofila como seu pigmento fotossintético principal para conversão de energia. As microalgas têm reprodução simples, permitindo rápida proliferação e sobrevivência, até mesmo em diferentes condições ambientais, variando de ambientes de água doce, salina, gelo ou fontes termais (BRENNAN; OWENDE, 2010; TAN et al., 2017).

No ambiente aquático as microalgas desempenham papel fundamental na ciclagem de nutrientes, balanço do pH e na remoção de dióxido de carbono, gerando oxigênio e promovendo melhoria na qualidade da água, por meio da absorção de compostos nitrogenados (PEREZ-GARCIA et al., 2011). Também atuam na remoção de nutrientes, elementos químicos, metais pesados e microorganismos patogênicos presentes em águas residuais, sendo uma tecnologia limpa e sustentável para o tratamento de efluentes (ANSILAGO et al., 2016).

A diversidade de espécies de microalgas oferecem uma vasta gama de cepas para aproveitamento e comercialização (HANNON et al., 2010). O alto crescimento e grande produtividade de biomassa, além da menor necessidade de água e espaço para o crescimento, confere as microalgas vantagem no cultivo em relação as macroalgas e até plantas terrestres, permitindo o máximo de aproveitamento de sua biomassa como matéria-prima para diversos setores (GOH et al., 2019).

O potencial das microalgas tem atraído crescente interesse em pesquisas e áreas industriais devido às suas extensas aplicações, como energias renováveis, produtos farmacêuticos, nutracêuticos, alimentação humana e animal, e também na agricultura (ZUCCARO et al., 2020). O mercado de biomassa de microalgas tem atingido capacidade de cerca de 5000 t/ano de matéria seca e gera um capital de US\$1,25 x 10⁹ por ano (RAJENDRAN et al., 2019). Embora a lucratividade dos processos baseados em microalgas ainda seja questionável (RASLAVIČIUS et al., 2018), a eficiência energética e a produção sustentável equilibrarão os interesses ambientais e comerciais (COELHO et al., 2019). Além disso, o próximo marco regulatório está restringindo o uso de insumos químicos devido à crescente demanda por alimentos orgânicos e consciência ambiental (MZIBRA et al., 2020).

O interesse em cultivar microalgas chama atenção em relação ao valor comercial de produtos extraídos e ampla variedade de aplicações (GULDHE et al., 2017). As microalgas assimilam os nutrientes incorporando-os à sua biomassa, obtendo um produto nutricionalmente rico, podendo ser utilizado como suplemento em diversas áreas (MORIOKA et al., 2014). A produção de biomassa de microalgas pode ser utilizada para obter diferentes tipos de extratos economicamente importantes.

Geralmente durante a fase de crescimento exponencial, o rendimento máximo de biomassa microalgal é alcançado (RONGA et al., 2019).

As algas constituem um grupo que tem apresentado efeitos favoráveis sobre culturas no campo, como bioestimulantes sobre o crescimento, desenvolvimento e, conseqüentemente, aumento nos rendimentos das colheitas (MATYSIAK et al., 2011). A utilização de extratos de algas tem aumentado, principalmente por ser alternativa ao uso excessivo de fertilizantes sintéticos e por ser ecologicamente correta (CRAIGIE, 2011; JAYARAMAN et al., 2011). Neste sentido, torna-se importante o uso de insumos específicos para cultivos orgânicos, como alguns bioestimulantes à base de algas (KUMAR; SAHOO, 2011). De acordo com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA (2016) extratos de algas são considerados aditivos e tem seu uso aprovado em fertilizantes, em geral como estabilizante de formulação.

Hoje em dia a utilização de extratos de algas vem recebendo notoriedade devido ao seu potencial uso em agricultura orgânica e sustentável (ARIOLI et al., 2015). Ao contrário dos agrotóxicos, extratos derivados de algas podem apresentar maior biodegradabilidade sendo, desta forma, menos tóxicos, e poluentes, reduzindo riscos para os seres humanos e animais (RATHORE et al., 2009).

Acredita-se que existe um mercado inexplorado maior para a aplicação de biomassa de microalgas no setor agrícola, com evidências limitadas sobre aplicação de extratos de microalgas em culturas agrícolas (GARCIA-GONZÁLEZ; SOMMERFELD, 2016). Em ambientes agrícolas, microalgas melhoram a fertilidade do solo e contribuem para o crescimento e proteção das plantas, demonstrando ser uma alternativa para reduzir a dependência de fertilizantes químicos e pesticidas (PRASANNA et al., 2015).

Compostos bioativos como proteínas, lipídios, carboidratos e ácidos nucleicos são os principais constituintes de microalgas (DEBIAGI et al., 2017), seus rendimentos são seletivamente dependentes da espécie, a composição de sua biomassa é altamente influenciada por fatores nutricionais, condições de crescimento (OMETTO et al., 2018) e fatores ambientais. Portanto, é fundamental explorar as microalgas e suas potencialidades.

As microalgas são benéficas para ciclagem de nutrientes do solo, melhorando a disponibilidade de nutrientes (KARTHIKEYAN et al., 2007), produzindo substâncias bioativas como fitormônios (GHEDA et al., 2015) e protegendo plantas contra fitopatógenos (ROBERTI et al., 2015). Os fitormônios são pequenas moléculas que funcionam como mensageiros químicos para regular as atividades celulares nas culturas. Além disso, esses compostos são capazes de influenciar processos metabólicos, incluindo fotossíntese, respiração, síntese de ácidos nucleicos e absorção de nutrientes (TARRAF et al., 2015). Fitormônios incluindo auxinas, citocininas, ácido abscísico, etileno e

giberelinas já foram encontrados em extratos de microalgas e a estes também foi atribuído a função de promover o crescimento e desenvolvimento das plantas (STIRK et al., 2013).

Alguns estudos vêm estabelecendo associação entre maior absorção de nutrientes, precocidade germinativa de sementes e de seu estabelecimento, maior acumulação de biomassa, maiores rendimentos de colheita e elevada resistência a estresses bióticos e abióticos, a partir da incorporação de microalgas como biofertilizantes (KAWALEKAR, 2013; HERNÁNDEZ-HERRERA et al. 2013; CARVALHO; CASTRO, 2014; GARCIA-GONZÁLEZ; SOMMERFELD, 2016), indicando que a biomassa das microalgas possui elevada disponibilidade dos principais componentes bioquímicos: carboidratos, proteínas e lipídios e, por isso, apresentam potencial para aplicações como biofertilizantes/bioestimulantes (CHENG, 2017; SOUZA et al., 2018).

Vários trabalhos demonstraram a potencial atividade bioestimulante de extratos de microalgas em uma variedade de culturas (BARONE et al., 2018; DIAS et al., 2016; GARCIA-GONZALEZ; SOMMERFELD, 2016; GUEDES et al., 2018; OANCEA et al., 2013; PLAZA et al., 2018). Bioestimulantes também melhoram a germinação, floração e fruticultura das culturas (GARCIA-GONZALEZ; SOMMERFELD, 2016).

Ao contrário dos fertilizantes químicos convencionais, as microalgas são insumo de carbono orgânico quando aplicadas ao solo (IBRAHEEM, 2007; RENUKA et al., 2018). Este é um aspecto cada vez mais relevante, considerando que o esgotamento do carbono orgânico do solo é um dos principais tipos de degradação em terras agrícolas que leva à diminuição da qualidade e fertilidade do solo (STAVI; LAL, 2015).

1.3. Gêneros *Scenedesmus* e *Chlorella*

1.3.1. Gênero *Scenedesmus*

As espécies do gênero *Scenedesmus* Meyen, pertencem à família Scenedesmaceae, ordem Chlorococcales, classe Chlorophyceae e divisão Chlorophyta (LEE et al., 2009) e são encontradas mais frequentemente em ambientes com maior grau de trofia (eutróficos). Possuem clorofila a e b, xantofilas (luteína e prasinoxantina) e os carotenóides α , β e γ . O produto fotossintético de armazenamento é o amido, que é composto por amilose e amilopectina e, ao contrário de outras algas, é formado dentro do cloroplasto (REYNOLDS, 2006).

São indivíduos coloniais, com forma sempre plana e, em geral, constituída por 2, 4, 8, 16 ou, mais raramente, 32 células dispostas lado a lado, sendo elas elipsóides, ovóides, fusiformes ou lunadas. Este gênero é considerado o mais comum e cosmopolita dos gêneros de algas verdes, além de serem pioneiros na colonização de um ambiente (BICUDO; MENEZES, 2006). Conforme

Baumgartner et al. (2013), *Scenedesmus* é uma microalga de fácil obtenção na natureza e tem sido cultivada para a produção de biomassa para diversos fins e no tratamento de águas residuárias.

Consideradas de fácil cultivo, microalgas do gênero *Scenedesmus* tem despertado crescente interesse na demanda tecnológica limpa e sustentável, sendo direcionada a linhas de pesquisa que desenvolvam metodologias para potencializar seu crescimento e adaptação aos meios nutricionais utilizados (BENEDITO et al., 2019).

As espécies desse gênero possuem potencial bioestimulante e, por isso, tem sido amplamente utilizadas no setor agrícola (NAVARRO et al., 2021; RUPAWALLA et al., 2022). Estudos confirmam a ação de extratos de *Scenedesmus* sobre a expressão de genes ligados a absorção de nutrientes em beterraba (BARONE et al., 2018), promovendo o crescimento de folhas e brotos de *Petunia x hybrida* (PLAZA et al., 2018), aceleração do processo germinativo de tomate (GARCIA-GONZALEZ; SOMMERFELD, 2016) e maior rendimento em grãos de trigo (RENUKA et al., 2017). Sabe-se que de seus extratos já foram extraídos altos teores de etileno (PAN et al., 2019), ácido jasmônico, ácido salicílico e ácido abscísico (PLAZA et al., 2018).

1.3.2. Gênero *Chlorella*

Espécies do gênero *Chlorella* Beyerinck [Beijerinck] pertencem à classe Trebouxiophyceae, também da divisão Chlorophyta. São indivíduos sempre solitários e de vida livre, habitam ambientes tanto aquáticos quanto terrestres e têm sido usadas como organismo modelo em vários estudos. Isso se deve ao seu ciclo de vida simples, que compreende um alto potencial de crescimento, aparato fotossintético e vias metabólicas, além de possuírem um alto teor de proteína (até 70% do peso seco da célula) e serem ricas em minerais, vitaminas e carotenoides (DOUCHA; LÍVANSKÝ, 2012).

A célula é, em geral, esférica, elipsoidal ou ovóide, mas também pode ser reniforme ou um pouco assimétrica. Os representantes desse gênero são habitantes principalmente do plâncton de sistemas de águas lânticas ou pouco lótic, como lagos e reservatórios (GRAHAM; WILCOX, 2000). Este gênero é amplamente utilizado como suplemento alimentar devido ao alto valor nutricional que suas espécies apresentam (DOUCHA et al., 2009).

Tem sido avaliada e comprovada a atividade bioestimulante dos extratos produzidos a partir das espécies desse gênero, na germinação de sementes (EL-NAGGAR et al., 2005), crescimento radicular (BARONE et al., 2018) no incremento da biomassa seca das plantas (KHOLSSI et al., 2019), tolerância a salinidade (ABD EL-BAKY et al., 2010), aumento da fertilidade do solo (MARKS et al., 2019) e melhor funcionamento estomático em plantas cultivadas (LI et al., 2014).

Os extratos de *Chlorella* são ricos em auxinas, giberelinas, citocininas, etileno, ácido abscísico e jasmônico e poliaminas (MCADAM et al., 2016; LU; XU, 2015). Devido à quantidade elevada de

fitormônios, estes autores atribuem a ação positiva dos extratos desta alga na germinação e crescimento de plantas.

1.4. Cultura do feijão

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é um dos componentes básicos da dieta dos brasileiros, constituindo a sua principal fonte de proteína vegetal (POMPEU, 1987). Apresenta grande importância socioeconômica no Brasil, que é o maior produtor mundial dessa leguminosa (IBRAFE, 2020). O grande consumo de feijão no Brasil se deve aos aspectos sociais, econômicos e culturais, consistindo em um dos alimentos básicos dos brasileiros, devido ao seu teor elevado de conteúdo proteico, o que torna seu consumo vantajoso sob o ponto de vista nutricional (COSTA; VIEIRA, 2000; RAMOS JUNIOR et al., 2005).

A produção de feijão é realizada por inúmeros tipos de produtores, em diversas regiões do país, utilizando diferentes níveis tecnológicos. Dentre estes produtores, a agricultura familiar é apontada como a grande responsável pela produção de feijão no país. Devido a isso, com o objetivo de viabilizar a produção desse grão, atualmente estão sendo utilizadas técnicas para aplicação de bioestimulantes naturais na cultura do feijão (SILVA; WANDER, 2013).

1.5. Cultura do mamão

O mamão (*Carica papaya* L.), é uma das frutas tropicais mais cultivadas e consumidas no mundo, é uma excelente fonte de nutrientes, com diversas propriedades funcionais e digestivas, e por isso, bastante recomendada para ser introduzida na dieta humana (VIVAS et al., 2015). O mamoeiro se desenvolve melhor em regiões com temperatura média em torno de 25°C. O crescimento e o desenvolvimento potencial da cultura do mamão são limitados por temperaturas elevadas, acima de 33 °C, mesmo com poucas ocorrências durante o ano (OLIVEIRA et al., 2012).

É amplamente cultivado em quase todo o território brasileiro, sendo a Bahia o maior estado produtor seguido pelo Espírito Santo (IBGE, 2017). Configura-se como um fruto de importância social e econômica para o Brasil, sendo umas das principais culturas no *ranking* de produção e exportação (EMBRAPA, 2018). O Brasil contribui com cerca de 13% da produção mundial, o que equivale a uma produção de aproximadamente 1,6 milhões de toneladas da fruta, ocupando a segunda posição no ranking dos principais países produtores, atrás da Índia, que produz 5,5 milhões de toneladas (44,5%) do mamão consumido no mundo (PÁDUA, 2019).

1.6. Cultura do milho

O milho (*Zea mays* L.), originário da América Central e cultivado em todo o Brasil, se destaca economicamente como importante cultura, utilizada como fonte de alimento, fibras, combustível e rações (NARDINO, 2017). Destaca-se ainda o seu emprego na indústria de alta tecnologia para a produção filmes, embalagens biodegradáveis e biocombustíveis (RANUM et al., 2014; DUARTE et al., 2018). É uma das culturas mais exploradas no mundo, sendo o Brasil o terceiro maior produtor e o segundo maior exportador de milho (PEIXOTO, 2014; COÊLHO, 2021). A cultura se torna cada vez mais importante, porque a demanda por alimentos crescerá 20% nos próximos 10 anos e o Brasil será responsável por atender 40% desta necessidade (RODRIGUES et al., 2018).

O cultivo desta espécie, por ter ampla distribuição geográfica, devido à sua alta variabilidade genética, está sujeita a diversos fatores, tais como: disponibilidade hídrica, fertilidade do solo, densidade de plantas, sistema de cultivo, plantas daninhas, pragas e doenças (BRITO et al., 2013).

Atualmente, a estratégia mais sustentável e comercialmente atrativa para prevenção de perdas econômicas em várias culturas, é o desenvolvimento de variedades resistentes. Plantas geneticamente melhoradas têm sido produzidas em várias espécies de importância agrônômica para serem resistentes a herbicidas, insetos, doenças, etc. (GABRIEL et al., 2017) e, até mesmo utilização de bioestimulantes naturais (ŠIMURA et al., 2018).

Dentre as culturas que podem ser beneficiadas pelo uso de bioestimulantes encontram-se o milho (*Zea mays* L.), o feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) e o mamão (*Carica papaya* L.), que são espécies amplamente utilizadas em testes ecotoxicológicos, por serem internacionalmente padronizadas, são úteis na avaliação da toxicidade, por apresentarem germinação rápida e uniforme, além de expressarem resultados em baixas concentrações de substâncias tóxicas (ISO, 2014; BITENCOURT et al., 2020; GUIMARÃES et al., 2015). Apesar disso, é necessário entender o mecanismo de ação do bioestimulante, identificar a concentração ideal dos extratos algais e melhor forma de aplicação, por isso este estudo foi realizado em etapas que são descritas no fluxograma abaixo (Figura 1).

O interesse por esse estudo surgiu devido à escassez de trabalhos relacionados a utilização de microalgas como bioestimulante no Brasil, principalmente no estado do Espírito Santo, objetivando investigar potenciais aplicações agrícolas de espécies de microalgas verdes representantes dos gêneros *Chlorella* e *Scenedesmus* como bioestimulante e avaliar seus efeitos na germinação de sementes e crescimento de plantas de feijão, mamão e milho.

Etapas do estudo

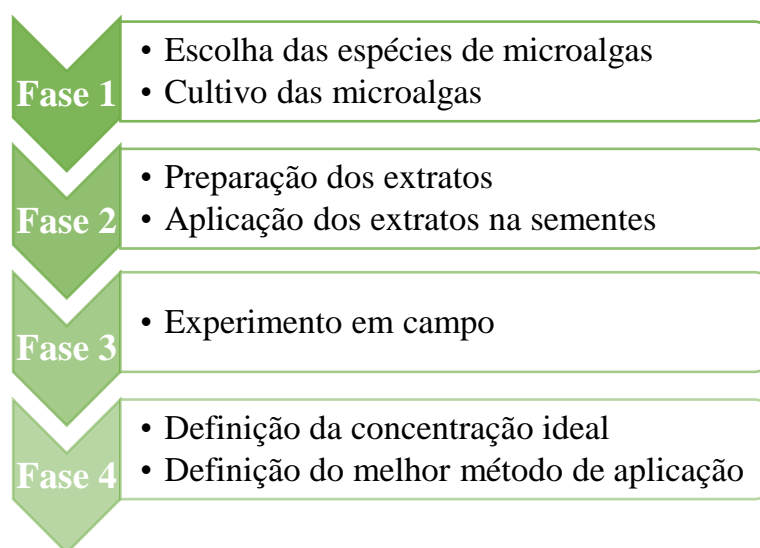


Figura 1: Fases de realização do estudo.

2. OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos da aplicação dos extratos de microalgas na germinação e crescimento das culturas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), milho (*Zea mays* L.) e mamão (*Carica papaya* L.).

2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a atividade bioestimulante dos extratos de microalgas;
- Avaliar o efeito dos extratos algais na germinação das sementes;
- Avaliar o efeito dos extratos algais no crescimento das plantas de feijão;
- Identificar e padronizar as concentrações que promovem maior desenvolvimento das plantas;
- Avaliar a composição química das moléculas presentes nos extratos com potencial bioestimulante no crescimento das plantas;
- Auxiliar no desenvolvimento de tecnologias para o aproveitamento da biomassa de microalgas, com a finalidade de incrementar a produção de culturas agrícolas.

3. METODOLOGIA GERAL

3.1. Cultivo das microalgas

3.1.1. Obtenção das cepas

Foram utilizadas quatro espécies de microalgas: *Scenedesmus acuminatus* (Lagerheim) Chodat (L027B), *Scenedesmus obliquus* (Turpin) Kützing (L012B), *Chlorella vulgaris* Beijerinck (L045B) e *Chlorella pyrenoidosa* H. Chick (L046B). As cepas utilizadas no experimento foram obtidas no banco de cultivo do Laboratório de Taxonomia e Ecologia de Algas Continentais (LATEAC), pertencente ao Departamento de Ciências Biológicas, da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES).

O uso destas espécies se justifica considerando resultados obtidos em pesquisas anteriores que caracterizaram perfis ecofisiológicos, identificando altas taxas de crescimento e alta produtividade de biomassa, sugerindo como espécies potencialmente interessantes para o cultivo objetivando diferentes aplicações biotecnológicas (COSTA, 2018; MILITÃO, 2019), biorremediadoras, bem como a utilização em indústrias alimentícias, além de potencial aplicação na área de biocombustíveis (MARTINS, 2014).

3.1.2. Condições de cultivo

As cepas utilizadas como inóculo para o experimento foram transferidas para erlenmeyers de 5L (Figura 1), contendo 4L do meio de cultura BBM - Bold Basal Medium (Tabela 1) (STEIN, 1975). A utilização deste meio de cultura se justifica devido a composição do mesmo favorecer o crescimento das microalgas dos gêneros *Chlorella* e *Scenedesmus*, por meio dos nutrientes que são disponibilizados, como já foi observado em outros estudos (VIEIRA et al., 2014; ABURAI et al., 2015, MILITÃO, 2022). Os erlenmeyers foram fechados por tampões de gaze com algodão hidrófobo, e mantidos em estufa incubadora (Eletrolab, EL 202/3; Brasil), sob temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, luminosidade com intensidade de aproximadamente $40 \mu\text{mol de fótons m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, fotoperíodo de 12/12h de luz/escuro, pH estabilizado inicialmente para $7,0 \pm 0,05$ e aeração constante de 3,5 L/min de ar. O cultivo foi do tipo batelada, com inóculo inicial de $3,0 \times 10^5 \text{ cel/mL}^{-1}$, com duração de 21 dias.



Figura 1: Disposição dos erlenmeyers durante o experimento na sala de cultivo.

Após esse período, o material foi centrifugado e a biomassa liofilizada (liofilizador SL – 404) para uso na realização das análises bioquímicas. Todas as manipulações dos cultivos foram feitas em câmara de fluxo laminar (Pachane PCR T3, Brasil).

Tabela 1: Composição das soluções estoque do meio BBM (Bold Basal Medium).

	Estoque	Solução estoque	mL/Litro
Solução 1	KH_2PO_4	8.75 g/500mL	10 mL
Solução 2	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1.25 g/500mL	10 mL
Solução 3	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	3.75 g/500mL	10mL
Solução 4	NaNO_3	12.5 g/500mL	10mL
Solução 5	K_2HPO_4	3.75 g/500mL	10mL
Solução 6	NaCl	1.25 g/500mL	10mL
Solução 7	$\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	10 g/L	1mL
Solução 8	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	4.98 g/L	1mL
	H_2SO_4		
Solução 9	Elementos traço	2.86 g	1mL
	H_3BO_3		
	$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1.81 g	
Solução 10	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.222 g	1mL
	$\text{NaMoO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.390 g	
	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.079 g	
Solução 11	$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.0494 g	0.7mL
	H_3BO_3	5.75 g/500mL	

Fonte: STEIN (1975).

3.1.3. Avaliação do crescimento

Para determinar a densidade celular (células/mL⁻¹), a cada 48h, foi realizada leitura da absorbância de alíquotas de 3 mL dos cultivos em comprimento de onda de 570 nm, com o auxílio de espectrofotômetro (Thermo Scientific, Aquamate plus; EUA). O uso da densidade óptica para avaliar o crescimento de microalgas fundamenta-se na obstrução física da luz pelas células.

O comprimento de onda utilizado situa-se numa faixa distante da absorção máxima de luz pelas clorofilas e carotenoides. Portanto, a absorbância registrada foi então pouco influenciada pelos pigmentos fotossintéticos, atribuindo-se, fundamentalmente, à obstrução física da passagem de luz pelas células em suspensão (LOURENÇO, 2006).

3.1.4. Determinação da biomassa seca

Para a quantificação da biomassa celular dos tratamentos foram coletadas alíquotas das culturas para a determinação da massa seca a cada sete dias até o 21º dia. Foram filtrados 30 ml, com auxílio de bomba a vácuo, kitassato e funil de Buchner, em filtros de fibra de vidro (Macherey-Nagel, GF-1 47 mm), previamente secos em estufa a 65°C e pesados. Após a filtragem, os filtros foram mantidos na estufa a 65°C até atingirem peso constante. A determinação da biomassa seca ocorreu através da subtração da massa final pela massa inicial do filtro, dividido pelo volume filtrado, conforme a fórmula descrita abaixo. Os valores estão expressos em mg/L⁻¹ (LOURENÇO, 2006).

$$MS = \frac{(Mf - Mi)}{V}$$

Sendo:

MS = Massa seca;

Mf = Massa final;

Mi = Massa inicial;

V = volume filtrado.

A produtividade (P, mg/ L⁻¹/ dia⁻¹), foi calculada de acordo com a equação proposta por Ho et al., (2013). Conforme descrito abaixo:

$$P = \frac{(Xt - X0)}{(t - t0)}$$

Sendo:

Xt = densidade celular (mg/ L⁻¹) no tempo t (dia);

X0 = densidade celular inicial (mg/ L⁻¹) no tempo inicial t0 (dia).

A partir dos valores de densidade celular foram elaborados os parâmetros da cinética de crescimento; a taxa de crescimento populacional (r), duplicações por dia (k) e o tempo de duplicação (G). os cálculos foram realizados seguindo as fórmulas propostas por Fogg e Take (1987). Como segue:

$$P = \frac{(\ln N2 - \ln N1)}{(T2 - T1)}$$

Sendo:

N1 e N2= número de células nos tempos T1 e T2.

A partir de r, calcula-se o tempo médio de duplicação:

$$G = \frac{0,6931}{r}$$

As duplicações por dia:

$$k = \frac{r}{0,6931}$$

O rendimento máximo (Rmax) foi calculado pela subtração do maior valor de densidade obtido pelo valor inicial inoculado. Como segue:

$$R_{max} = R1 - R0$$

Sendo,

R1 = número máximo de cél/mL⁻¹;

R0 = número inicial de cél/mL⁻¹.

3.1.5. Composição bioquímica da biomassa algal

Quantificação de pigmentos fotossintéticos e determinação de proteínas e carboidratos

As concentrações dos pigmentos clorofila 'a' e carotenoides foram determinadas por meio da espectrofotometria a cada sete dias de intervalo até o final do experimento. Uma alíquota de 30 mL

foi retirada de cada cultura de microalga e filtrada em filtro de fibra de vidro. A extração dos pigmentos ocorreu por meio da maceração dos filtros de fibra de vidro, com o material retido, utilizando acetona 90% como solvente a frio (LOURENÇO, 2006). Em seguida, a solução foi acondicionada em tubos de centrífuga envoltos por papel alumínio e armazenados no refrigerador a 4°C por 24 horas. Após o tempo de incubação, a solução foi centrifugada e o sobrenadante lido em espectrofotômetro (Thermo Scientific, Aquamate plus; EUA) nos comprimentos de onda recomendados para a detecção dos picos de absorção dos pigmentos de interesse.

Para a determinação da concentração de clorofila 'a' foi utilizada a equação proposta por Lorenzen (1967); e a equação desenvolvida por Strickland e Parsons (1968) para determinação da concentração dos carotenoides totais. As análises de clorofila 'a' e carotenoides totais foram realizadas durante o experimento, nos dias 07, 14 e 21 de cultivo.

Fórmulas de quantificação de clorofila 'a' e carotenoide:

$$\text{Clorofila a} = ((11,85*(A_{664 \text{ nm}} - A_{750 \text{ nm}}) - 1,54*(A_{647 \text{ nm}} - A_{750 \text{ nm}}) - 0,08*(A_{630 \text{ nm}} - A_{750 \text{ nm}}))*V_a)/V_f$$
$$\text{Carotenoides} = (7,60*((A_{480 \text{ nm}} - 3,0*A_{750 \text{ nm}}) - 1,49*(A_{510 \text{ nm}} - 2,0*A_{750 \text{ nm}}))* V_a)/V_f$$

Onde:

V_a = volume de acetona em (mL);

V_f = volume de cultura filtrado (mL).

A₄₈₀ = absorbância em 665 nm;

A₅₁₀ = absorbância em 665 nm;

A₆₃₀ = absorbância em 665 nm;

A₆₄₇ = absorbância em 665 nm;

A₆₆₄ = absorbância em 665 nm;

A₇₅₀ = absorbância em 750 nm.

O teor de proteínas totais solúveis foi quantificado a partir da biomassa liofilizada obtida em cada cultivo, de acordo com o método descrito por Lowry et al. (1951), por meio de espectrofotometria. A leitura da absorbância foi realizada no comprimento de onda de 750 nm. A curva padrão foi obtida a partir de albumina sérica bovina.

A extração e a determinação das concentrações dos carboidratos totais foram realizadas seguindo o procedimento descrito por Dubois et al. (1956) por meio do método fenol-sulfúrico. A determinação espectrofotométrica do conteúdo de carboidratos foi realizada no comprimento de onda de 490 nm.

3.2. EXTRATOS

3.2.1. Obtenção dos extratos

O extrato aquoso das microalgas foi obtido por meio da adição da biomassa algal liofilizada à água destilada a 60 °C, durante 45 minutos, seguido de filtração em papel filtro e conservado a 4 °C até o momento das análises (ANISIMOV; CHAIKINA, 2014). Para todas as microalgas, foram preparados extratos em quatro concentrações, sendo: 0,5 g/L, 1,0 g/L, 1,5 g/L e 2,5 g/L. Estas concentrações foram definidas em ensaios prévios. Adicionalmente, as sementes foram submetidas ao controle negativo com água destilada e ao controle positivo com produto comercial a base da macroalga marinha *Ascophyllum nodosum*, cedido pela empresa Acadian Seaplants.

3.2.2. Determinação do pH dos extratos

A determinação do pH foi realizada para verificação da influência deste parâmetro nos extratos utilizados sobre a germinação e crescimento das plantas. De acordo com Santos (1992) além dos macros e micronutrientes necessários na composição dos bioestimulantes que serão absorvidos e assimilados pelas plantas, é necessário que estes apresentem pH entre 7,0 e 8,0. Desta forma, para a determinação do pH das concentrações testadas dos extratos foi utilizado o pHmetro SB90M5 – Symphony.

3.2.3. Avaliação do potencial osmótico dos extratos

Foi realizada a medição do potencial osmótico para verificar a influência desta variável nos extratos utilizados sobre a germinação e crescimento radicular, a fim de garantir que os resultados observados possam ser atribuídos ao efeito bioestimulante. A determinação do potencial osmótico foi realizada com o potenciômetro WP4 modelo C - Decagon, no Laboratório de Solos do IFES - Instituto Federal do Espírito Santo, campus Santa Teresa.

3.2.4. Composição de macro e micronutrientes presentes na biomassa

Foi realizada análise dos teores nutricionais da biomassa algal. A concentração dos macronutrientes e micronutrientes foi obtida seguindo a metodologia descrita por Malavolta et al. (1997).

3.3. Caracterização das sementes

O conhecimento das características básicas das sementes é extremamente importante para a compreensão do processo germinativo. Beltrati (1995) afirma que o estudo dos aspectos morfológicos da germinação, além de contribuir para a propagação das espécies, aborda a classificação da

germinação em relação à posição dos cotilédones, auxiliando na interpretação e padronização dos testes de germinação, contribuindo para o conhecimento morfo-anatômico integral da espécie. A combinação dos caracteres da semente e da plântula pode fornecer subsídios necessários ao reconhecimento das espécies no campo e em amostras de sementes. Desta forma, foram realizados alguns testes para avaliar a viabilidade das sementes utilizadas neste estudo, tais como: teor de água e potencial osmótico das sementes.

3.3.1. Teor de água e potencial osmótico das sementes

A determinação do teor de água inicial das sementes foi realizada a partir do método da estufa, conforme metodologia prescrita nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009), utilizando a estufa, à $105 \pm 3^\circ\text{C}$, por 24 horas, com quatro repetições de 25 sementes, pesadas previamente. Transcorrido o período de secagem, os recipientes contendo as sementes foram retirados da estufa e levados para o dessecador com sílica-gel ativada por 10 minutos, para que então fossem pesadas novamente (peso seco). A utilização do dessecador após a secagem é para promover resfriamento rápido dos recipientes e impedir interferência da umidade do ambiente no peso seco das sementes. Os resultados foram expressos em % b.u. (base úmida). O potencial de água das sementes (5 sementes por repetição) foi medido em potenciômetro WP4 (Decagon Devices, Pullman, EUA). As percentagens de umidade das sementes foram calculadas, conforme a fórmula descrita nas Regras de Análises de Sementes:

$$\% \text{ de umidade (U)} = \frac{\text{PU} - \text{PS}}{\text{PU} - t * 100}$$

Em que:

PU = peso úmido, ou seja, peso inicial da semente;

PS = peso final, peso da semente após a secagem;

t = tara, peso do recipiente.

3.4. EXPERIMENTO DE GERMINAÇÃO

Foram utilizadas sementes de três cultivares: feijão BRS Estilo, mamão Formosa e milho doce Azteca (Figura 2). O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Taxonomia e Ecologia de Algas Continentais (LATEAC-UFES) seguindo um delineamento inteiramente casualizado. As sementes foram distribuídas em rolos de papel Germitest® (25 sementes por rolo), em quatro repetições, totalizando 100 sementes por tratamento. Estas foram mantidas em estufas germinadoras de Demanda Bioquímica de Oxigênio (BOD) sob fotoperíodo de 12 horas (claro/escuro) ajustadas a temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$.



Figura 2: Sementes de utilizadas no estudo, sendo A: mamão; B: feijão e C: milho.

Os extratos das algas foram aplicados na quantidade de 3 mL a cada 48 horas, com um pulverizador de água. Foram determinados períodos diferentes para análise de cada semente, considerando seu tempo de germinação. Desta forma, a colheita foi realizada nos períodos de 10, 15 e 20 dias após a semeadura, do feijão, milho e mamão, respectivamente. Foram avaliadas 100 sementes para cada concentração de extrato obtido, ou seja, quatro concentrações, além do controle negativo e positivo (extrato de *Ascophyllum nodosum*) totalizando 600 sementes por extrato de alga, para cada cultivar.

3.4.1. Análise de germinação de sementes

O critério de germinação adotado foi à emergência de radícula. As características avaliadas foram: porcentagem de germinação (3.4.2), índice de velocidade de germinação (3.4.3), tempo médio de germinação (3.4.4) e vigor das plântulas (comprimento parte aérea x radícula e pesagem da biomassa seca) (3.4.5).

3.4.2. Porcentagem de germinação (%G)

A porcentagem de germinação em testes de laboratório corresponde à porcentagem de plântulas normais obtidas sob as condições e os limites de tempo para cada espécie, devendo apresentar as seguintes estruturas essenciais: sistema radicular, parte aérea e cotilédones. As plântulas normais são aquelas que apresentam potencial para continuar seu desenvolvimento e formar plantas normais, quando desenvolvidas em solo de boa qualidade e sob condições ideais de umidade, temperatura e luz (BRASIL, 2009). A porcentagem de germinação foi calculada de acordo com Fanti e Perez (1998).

$$G\% = \frac{N}{A * 100}$$

Onde:

N = número total de sementes germinadas;

A = número total de sementes colocadas para germinar em cada repetição

3.4.3. Índice de Velocidade de Germinação (IVG)

O Índice Velocidade de Germinação é uma importante variável que expressa a condição fisiológica das sementes, quando se deseja saber qual das espécies estudadas é a mais rápida na germinação e qual delas terá condições de disputar os nutrientes e água disponíveis no solo.

O IVG é calculado a partir da protusão do hipocótilo e pode ser expresso por meio da fórmula sugerida por Maguire (1962), em que é calculado o somatório do número de sementes germinadas a cada dia, dividido pelo número de dias decorridos entre a sementeira e a germinação.

$$IVG = \sum (ni/ti)$$

Em que:

IVG = índice de velocidade de germinação;

ni = número de sementes que germinaram no tempo “i”

ti = tempo, em dias após a instalação do experimento.

3.4.4. Tempo médio de Germinação (TMG)

A germinabilidade informa o número total de sementes germinadas, entretanto, não reflete quanto tempo foi necessário para que as sementes atingissem tal porcentagem de germinação. Para compreender o comportamento germinativo das sementes existem medidas que quantificam a germinação sob o ponto de vista cinético, isto é, informam quanto tempo foi necessário para determinado lote de sementes germinar. Um parâmetro bastante utilizado é o tempo médio de germinação. O tempo necessário para determinada amostra de sementes germinar depende, primariamente, da espécie em estudo e das condições experimentais ou ambientais nas quais as mesmas se encontram (FERREIRA; BORGHETTI, 2004).

Para o cálculo do TMG utilizou-se o número de plântulas normais contabilizadas no intervalo entre cada contagem (ni) e o tempo decorrido entre o início da germinação e a i-ésima contagem (ti) conforme proposto por Labouriau (1983):

$$TMG = \frac{(\sum ni ti)}{\sum ni}$$

Onde:

TMG = tempo médio de germinação;

n_i = número de sementes germinadas por dia;

t_i = tempo de incubação.

3.4.5. Vigor das plântulas

Sua finalidade é fornecer informações complementares às obtidas após a germinação e que possibilitem estimar o potencial de desenvolvimento das plântulas em laboratório, por meio da medição do comprimento da radícula e da parte aérea.

Os parâmetros avaliados foram: altura da plântula (cm), medindo a distância desde a superfície do solo até a extremidade da folha mais expandida da planta, o comprimento da raiz, entre região de transição entre a raiz e caule até a extremidade da raiz principal e massa seca (gramas) (NAKAGAWA, 1999).

3.5. EXPERIMENTO DE CRESCIMENTO

O experimento foi desenvolvido no período de outono-inverno de 2021 em área experimental da Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - UNESP, localizada no município de Selvíria - MS, situada a 20°20' de latitude Sul e 51°24' de longitude Oeste de Greenwich, com elevação aproximada de 335 metros. O solo da área experimental é um latossolo vermelho distrófico típico argiloso (SANTOS et al., 2018).

Segundo a classificação Köppen (1948), o clima é do tipo Aw apresentando temperatura anual máxima de 31 °C e mínima de 19 °C, com precipitação pluvial anual média de 1.313 mm (PORTUGAL *et al.*, 2015).

O delineamento experimental foi o de blocos casualizados com quatro repetições. As parcelas foram constituídas por 7 linhas com 5,0 m de comprimento e espaçadas de 0,45 m entre si. Os tratamentos foram constituídos pelos seguintes tratamentos: T1 – controle; T2 – Extrato aquoso aplicado em V₄₋₃ (terceira folha trifoliada completamente formada); T3 – Extrato aquoso aplicado em R₅ (botões florais formados); T4 - Acadian aplicado em V₄₋₅; T5 – Acadian aplicado em R₅.

Realizou-se a semeadura de feijão em solo preparado com arado escarificador seguido de gradagem leve para nivelamento após a cultura da soja, no dia 12 de abril de 2021, com uso de sementes tratadas com piraclostrobina + tiofanato metílico + fipronil (2 ml kg⁻¹ de sementes), visando o controle de insetos e fungos. A adubação no sulco de semeadura foi constituída de 250 kg ha⁻¹ da formulação N-P-K: 08-28-16.

A emergência das plântulas ocorreu no dia 17 de abril de 2021, 5 dias após a semeadura. O cultivar utilizado foi o IAC 1850, do grupo comercial carioca, que apresenta arquitetura de planta ereta, com hábito de crescimento indeterminado tipo II, adaptado à colheita mecânica direta, apresentando bom potencial produtivo, estabilidade de produção e resistência às principais doenças e ao acamamento.

O fornecimento de água foi realizado por sistema de irrigação do tipo pivô central, com precipitação média de 13 mm e a irrigação realizada com turno de rega de 2 a 3 dias dependendo da fase de desenvolvimento da cultura.

O controle das plantas daninhas foi efetuado com herbicidas pós emergentes sendo aplicado o fomesafen ($0,8 \text{ L ha}^{-1}$ do produto comercial) aos 18 DAE (dias após a emergência) para o controle de plantas daninhas de folhas largas e o fenoxaprope-P-etílico ($0,7 \text{ L ha}^{-1}$ do produto comercial) aos 25 DAE, para o controle de plantas daninhas de folhas estreitas.

A adubação nitrogenada em cobertura foi realizada no estágio V_{4.4}, aos 19 DAE, com aplicação de $60 \text{ kg ha}^{-1} \text{ N}$, utilizando-se como fonte a ureia (45% de N). Posteriormente foi aplicada uma lâmina de irrigação de aproximadamente 13 mm, com o intuito de solubilizar o fertilizante e evitar as perdas de N por volatilização.

As aplicações dos extratos de algas foram realizadas na forma de jato dirigido, com pulverizador manual elétrico de pressão constante e vazão de 200 L ha^{-1} . A primeira aplicação ocorreu em V_{4.3} (extratos de algas) ocorreu no dia 02 de maio de 2021, aos 15 DAE. A segunda aplicação (extrato de algas) por ocasião do estágio R₅, foi realizada em 19 de maio de 2021, aos 32 DAE no período da tarde (entre 14:30 h e 15:30 h) sob boas condições de aplicação.

Durante o período de desenvolvimento das plantas, foi realizado o monitoramento de ocorrência de pragas e doenças e o controle quando necessário foi realizado com produtos recomendados e registrados para a cultura do feijão.

O florescimento pleno das plantas de feijão foi registrado em 23 de maio de 2021 (Figura 3), aos 36 DAE e a colheita do feijão foi efetuada manualmente e individualmente por unidade experimental no dia 07 de julho de 2021, aos 81 DAE, colhendo-se duas linhas centrais de cada parcela. As plantas ficaram expostas ao sol para secar completamente e também foram colhidas separadamente 6 plantas de cada parcela para avaliação dos componentes de produção.



Figura 3: Aspecto geral das plantas de feijão em campo.

Durante a condução do experimento e após sua colheita, realizaram-se as seguintes avaliações:

3.5.1. Componentes de produção

População final de plantas; por ocasião da colheita foi avaliado, em duas linhas, na área útil das parcelas, a contagem do número de plantas e transformado em plantas ha^{-1} . Para determinação do número de vagens por plantas e número de grãos por planta, foram coletadas uma amostra de 6 plantas em cada parcela.

3.5.2. Produtividade de grãos

As plantas da área útil de cada parcela foram arrancadas e deixadas para secagem a pleno sol. Após a secagem, foram submetidas a trilha manual, os grãos pesados e os dados convertidos em kg ha^{-1} (13 % base úmida).

3.6. Análise de dados

Os dados obtidos nas análises do cultivo, germinação das sementes e crescimento das plantas foram submetidos à análise de variância e comparação múltipla teste *pos hoc* de Tukey para testar a significância das diferenças entre as médias dos tratamentos. As diferenças foram consideradas significativas a um nível mínimo de $p < 0,01$, para os dados do cultivo e germinação e, $p < 0,05$ para os dados obtidos no experimento de crescimento. Os dados foram analisados utilizando o software Assistat (Versão 7.7). Foi realizada análise de regressão polinomial, a partir das médias dos valores de biomassa das plântulas, para avaliar as concentrações dos extratos utilizando o software SigmaPlot versão 10.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-BAKY, H. H.; EL-BAZ, F. K.; EL BAROTY, G. S. Enhancing antioxidant availability in wheat grains from plants grown under seawater stress in response to microalgae extract treatments. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 90, n. 2, p. 299–303, 2010.

ANISIMOV, M. M.; CHAIKINA, E. L. Effect of seaweed extracts on the growth of seedling roots of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) seasonal changes in the activity. *International Journal of Current Research and Academic Review*, v. 2, n. 3, p. 19-23, 2014.

ANSILAGO, M.; OTTONELLI, F.; CARVALHO, M. E. Cultivation of microalgae *Pseudokirchneriella subcapitata* in bench scale using medium contaminated with heavy metals. *Engenharia Sanitaria e Ambiental*, v. 21, n. 3, p. 603-608, 2016.

ARIOLI, T.; MATTNER, S. W.; WINBERG, P. C. Applications of seaweed extracts in Australian agriculture: past, present and future. *Journal of Applied Phycology*, v. 27, n. 5, p. 2007–2015, 2015.

BARONE, V.; BAGLIERI, A.; STEVANATO, P.; BROCCANELLO, C.; BERTOLDO, G.; BERTAGGIA, M.; CAGNIN, M.; PIZZEGHELLO, D.; MOLITERNI, V. M. C.; MANDOLINO, G.; FORNASIER, F.; SQUARTINI, A.; NARDI, S.; CONCHERI, G. Root morphological and molecular responses induced by microalgae extracts in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Journal of Applied Phycology*, v. 30, p. 1061–1071, 2018.

BAUMGARTNER, T. R. S.; BURAK, J. A. M.; KOGIKOSKI, M. E.; SEBASTIEN, N. Y.; ARROYO, P. A. Avaliação da produtividade da microalga *Scenedesmus acuminatus* (Lagerheim) Chodat em diferentes meios de cultivo. *Revista Brasileira de Biociências*, v. 11, n. 2, 2013.

BELTRATI, C. M. 1995. Morfologia e anatomia de sementes. *In: CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS, ÁREA DE BIOLOGIA VEGETAL*. Rio Claro: Departamento de Botânica / Instituto de Biociências /UNESP, 98 p.

BENEDITO, V. M.; PORTO, P. S. DA S.; FREITAS, R. R. DE. Modelagem do crescimento de microalgas: Um estudo bibliométrico. *Research, Society and Development*, v. 8, n. 1, p. 1–18, 2019.

BICUDO, C. E. M.; MENEZES, M. 2006. Gêneros de algas de águas continentais do Brasil: chave para identificação e descrições. São Carlos: Rima, 2 ed., 489 p.

BITENCOURT, G. A.; VASO, L. M.; GOMEZ, A. L. C.; SOUZA, T. T.; PRADEBON, B. S.; MONTANHEZ, B. E. Ecotoxicologia de biofertilizante bovino e ovino. Fórum Ambiental da Alta Paulista, v. 16, n. 3, p. 96-107, 2020.

BRASIL. 2009. Regras para análise de sementes. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS. 398 p.

BRENNAN, L.; OWENDE, P. Biofuels from microalgae-A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. Renewable and Sustainable Energy Reviews, v. 14, p. 557–577, 2010.

BRITO, A. H.; VON PINHO, R. G.; PEREIRA, J. L. A. R.; BALESTRE, M. Controle químico da cercosporiose, mancha-branca e dos grãos Ardidos em milho. Revista Ceres, v. 60, n. 5, p. 629-635, 2013.

CARVALHO, M. E. A.; CASTRO, C. P. R. Extratos de algas e suas aplicações na agricultura. ESALQ- Série Produtor Rural, Piracicaba, 2014, 58p.

CHENG, D.; LI, D.; YUAN, Y.; ZHOU, L.; LI, X.; WU, T.; WANG, L.; ZHAO, Q.; WEI, W.; SUN, Y. Improving carbohydrate and starch accumulation in *Chlorella* sp. AE10 by a novel two stage process with cell dilution. Biotechnology for Biofuels, v. 10, n. 75, p. 1-14, 2017.

COELHO, D. F.; TUNDISI, L. L.; CERQUEIRA, K. S.; RODRIGUES, J. R. S.; MAZZOLA, P. G.; TAMBOURGI, E. B.; SOUZA, R. R. Microalgae: Cultivation aspects and bioactive compounds. Brazilian Archives of Biology and Technology, v. 62, p. 1-13, 2019.

COÊLHO, J. D. Milho: produção e mercados. Caderno Setorial ETENE, n. 182, p. 1-11, 2021.

COSTA, A. G. Efeitos de diferentes condições físicas e efluentes agrícolas sobre o cultivo de microalgas da família *Scenedesmaceae* como subsídio à aplicação biotecnológica. Tese de doutorado

– Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2018.

COSTA, J. G. C.; VIEIRA, N. R. A. Qualidade, classificação comercial e manejo pós-colheita. In: YOKOYAMA, L. P.; STONE, L. F. Cultura do feijoeiro no Brasil: característica da produção. Santo Antônio de Goiás: EMBRAPA, 2000.

DEBIAGI, P. E. A.; TRINCHEIRA, M.; FRASSOLDATI, A.; FARAVELLI, T.; VINU, R.; RANZI, E. Algae characterization and multistep pyrolysis mechanism. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, v. 128, p. 423–436, 2017.

DIAS, G.; ROCHA, R.; ARAÚJO, J.; LIMA, J. Growth, yield, and postharvest quality in eggplant produced under different foliar fertilizer (*Spirulina platensis*) treatments. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 37, n. 6, p. 3893–3902, 2016.

DOUCHA, J.; LÍVANSKÝ K.; KOTRBÁČEK, V.; ZACHLEDER, V. Production of *Chlorella* biomass enriched by selenium and its use in animal nutrition: a review. *Applied Microbiology Biotechnology*, v. 83, n. 6, p. 1001-1008, 2009.

DOUCHA, J., LÍVANSKÝ, K. Production of high-density *Chlorella* culture grown in fermenters. *Journal of Applied Phycology*, v. 24, n. 1, p. 35-43, 2012.

DUARTE, J. O.; MATTOSO, M. J.; GARCIA, J. C. Agência Embrapa de Informação Tecnológica. *Árvore do conhecimento: Milho*, Embrapa, 2018. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/milho/arvore/CONTAG01_8_168200511157.html>. Acesso em: 21 de junho de 2022.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method form determination of sugars and related substaces. *Nature*, v. 28, n. 3, p. 350 - 356, 1956.

EL-NAGGAR, A. H.; OSMAN, M. E. H.; EL-SHEEKH, M. M.; GHEDA, S. F. Influence of the aqueous extracts of *Ulva lactuca* and *Chlorella kessleri* on growth and yield of *Vicia faba*. *Archiv fur Hydrobiologie Supplementary - Algological Studies*, v. 116, n. 1, p. 213–229, 2005.

EMBRAPA. Produção Brasileira de mamão em 2017. 2018. Disponível em: < http://www.cnpmf.embrapa.br/Base_de_Dados/index_pdf/dados/brasil/mamao/b1_mamao.pdf >. Acesso em: 09 julho 2021.

FANTI, S. C.; PEREZ, S. C. J. G. A. Efeitos do estresse hídrico, salino e térmico no processo germinativo de sementes de *Adenanthera pavonina* L. Revista Brasileira de Sementes, v. 20, p. 167-177, 1998.

FAO. The future of food and agriculture – Alternative pathways to 2050. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 224 p., 2018.

FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. 2004. Germinação: do básico ao aplicado. 1 ed. Porto Alegre: Editora Artmed, 297p.

FOGG, G. E.; THAKE, B. 1987. Algae cultures and phytoplankton ecology. 3. ed. London. University of Wisconsin Press, 269 p.

FOLEY, J. A.; RAMANKUTT, N.; BRAUMAN, K. A.; CASSIDY, E. S.; GERBER, J. S.; JOHNSTON, M.; MUELLER, N. D.; O'CONNELL, C.; RAY, D. K.; WEST, P. C.; BALZER, C.; BENNET, E. M.; CARPENTER, S. R.; HILL, J.; MONFREDA, C.; POLASKY, S.; ROCKSTRÖM, J.; SHEEHAN, J.; SIEBERT, S.; TILMAN, D.; ZAKS, D. P. M. Solutions for a cultivated planet. Nature, v. 478, p. 337–342, 2011.

GABRIEL, M. F.; URIEL, N.; TEIFOORI, F.; POSTIGO, I.; SUÑÉN, E.; MARTÍNEZ, J. The major *Alternaria alternata* allergen, Alt a 1: A reliable and specific marker of fungal contamination in citrus fruits. International Journal of Food Microbiology, v. 257, n. 18, p. 26-30. 2017.

GARCIA-GONZALEZ, J.; SOMMERFELD, M.; Biofertilizer and biostimulant properties of the microalga *Acutodesmus dimorphus*. Journal of Applied Phycology, v. 28, p. 1051–1061, 2016.

GHEDA, S. F.; AHMED, D. A. Improved soil characteristics and wheat germination as influenced by inoculation of *Nostoc kihlmani* and *Anabaena cylindrica*, Rendiconti Lincei, v. 26, n. 2, p. 121–131, 2015.

GUIMARÃES, I. P.; PAIVA, E. P.; ALMEIDA, J. P. N.; ARRAIS, I. G.; CARDOSO, E. A.; SÁ, F. V. S. Produção de mudas de três acessos de mamoeiro sob doses do bioestimulante Root. *Revista de Ciências Agrárias*, v. 38, n. 3, p. 414-421, 2015.

GODFRAY, J. H. C. BEDDINGTON, R. J, CRUTE, R. I.; HADDAD, L.; LAWRENCE, D.; MUIR, F. J.; PRETTY, J.; ROBINSON, S.; THOMAS, M. S.; TOULMIN, C. Food security: the challenge of feeding 9 billion people. *Science*, v. 327, p. 812–818, 2010.

GOH, B. H. H.; ONG, H. C.; CHEAH, M. Y.; CHEN, W. H.; YU, K. L.; MAHLIA, T. M. I. Sustainability of direct biodiesel synthesis from microalgae biomass: a critical review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 107, p. 59–74, 2019.

GRAHAM, L. E.; WILCOX, L. W. 2000. *Algae*. New Jersey: Prentice Hall, 700p.

GUEDES, W. A.; ARAÚJO, R. H. C. R.; ROCHA, J. L. A.; DE LIMA, J. F.; DIAS, G. A.; DE OLIVEIRA, A. M. F.; DE LIMA, R. F.; OLIVEIRA, L. M. Production of papaya seedlings using *Spirulina platensis* as a biostimulant applied on leaf and root. *Journal of Experimental Agriculture International*, v. 28, n. 1, p. 1–9, 2018.

GULDHE, A.; ANSARI, F.A.; SINGH, P.; BUX, F. Heterotrophic cultivation of microalgae using aquaculture wastewater: A biorefinery concept for biomass production and nutrient remediation. *Ecological Engineering*, v. 99, p. 47-53, 2017.

HANNON, M.; GIMPEL, J.; TRAN, M.; RASALA, B.; MAYFIELD, S. Biofuels from algae: challenges and potential. *Biofuels*, v. 1, p. 763–784, 2010.

HERNÁNDEZ-HERRERA, R. M.; SANTACRUZ-RUVALCABA, F.; RUIZ-LÓPEZ, M. A.; NORRIE, J.; HERNÁNDEZ-CARMONA, G. Effect of liquid seaweed extracts on growth of tomato seedlings (*Solanum lycopersicum* L.). *Journal of Applied Phycology*, v. 26, n. 1, p. 619–628, 2013.

HO, S. H.; HUANG, S. W.; CHEN, C. Y.; HASUNUMA, T.; KONDO, A.; CHANG, J. S. Characterization and optimization of carbohydrate production from an indigenous microalga *Chlorella vulgaris* FSP-E. *Bioresource Technology*, v. 135, p. 157-165, 2013.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção Agrícola Municipal: culturas permanentes. 2017. Disponível online em: < [https:// sidra.ibge.gov.br/tabela/1613](https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1613) >. Acesso em: 12 de junho de 2021.

IBRAFE – Instituto Brasileiro de Feijão e Pulses. O que são pulses? 2020. Disponível em: <https://www.ibrafe.org/o-que-sao-pulses/>. Acesso em: 17 de junho de 2022.

IBRAHEEM, I. B. M. Cyanobacteria as alternative biological conditioners for bioremediation of barren soil, *Egyptian Journal of Phycology*, v. 8, n. 1, p. 99–117, 2007.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO 1269-2: Qualidade do solo - determinação dos efeitos de poluentes na flora terrestre. 2 ed. Rio de Janeiro: ISO, 2014.

JAYARAMAN, J.; NORRIE, J.; PUNJA, Z. K. Commercial extract from the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* reduces fungal diseases in greenhouse cucumber. *Journal of Applied Phycology*, v. 23, p. 353-361, 2011.

KARTHIKEYAN, N.; PRASANNA, R.; NAIN, L.; KAUSHIK, B. D. Evaluating the potential of plant growth promoting cyanobacteria as inoculants for wheat, *European Journal of Soil Biology*, v. 43, n. 1, p. 23–30, 2007.

KAWALEKAR, S. J. Role of biofertilizers and biopesticides for sustainable agriculture. *Journal of Bio Innovation*, v. 2, p. 73–78, 2013.

KHOLSSI, R.; MARKS, E. A. N.; MINÓN, J.; MONTERO, O.; DEBDOUBI, A.; RAD, C. Biofertilizing effect of *Chlorella sorokiniana* suspensions on wheat growth. *Journal of Plant Growth Regulation*, v. 38, p. 644–649, 2019.

KUMAR, G.; SAHOO, D. Effect of seaweed liquid extract on growth and yield of *Triticum aestivum* var. Pusa Gold. *Journal of Applied Phycology*, v. 23, n. 2, p. 251-255, 2011.

LABOURIAU, L. G. 1983. A germinação das sementes. Organização dos Estados Americanos. Programa Regional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. Série de Biologia. 174p.

LEE, A. K.; LEWIS, D. M.; ASHMAN, P. J. Microbial flocculation, a potentially low-cost harvesting technique for marine microalgae for the production of biodiesel. *Journal of Applied Phycology*, v. 21, p. 559–567, 2009.

LI, Y.; XU, S. S.; GAO, J.; PAN, S.; WANG, G. X. *Chlorella triggers* stomatal closure mediated by NADPH oxidase and improves instantaneous water use efficiency in *Vicia faba*. *Plant Signaling and Behavior*, v. 9, n. 6, 2014.

LORENZEN, C. J. Determination of chlorophyll and phaeophytin: spectrophotometric equations. *Limnology and Oceanography*, v. 12, p. 343-346, 1967.

LOURENÇO, S.O. 2006. Cultivo de microalgas marinhas – Princípios e aplicações. São Carlos. Rima, 588 p.

LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, v.193, p.265–275, 1951.

LU, Y.; XU, J. Phytohormones in microalgae: a new opportunity for microalgal biotechnology? *Trends in Plant Science*, v. 20, n. 5, p. 273–282, 2015.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination—aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*, v. 2, n. 2, p. 176-177, 1962.

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

MARKS, E. A. N.; MONTERO, O.; RAD, C. The biostimulating effects of viable microalgal cells applied to a calcareous soil: increases in bacterial biomass, phosphorus scavenging, and precipitation of carbonates. *Science of the Total Environment*, v. 692, p. 784–790, 2019.

MARTINS, G. B. Efeitos da depleção de nitrogênio sobre a biomassa e produção lipídica de três espécies de microalgas fitoplanctônicas. Tese de doutorado – Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2014.

MATYSIAK, K.; KACZMAREK, S.; KRAWCZYK, R. Influence of seaweed extracts and mixture of humic and fulvic acids on germination and growth of *Zea mays* L. *Acta Scientiarum Polonorum*, v. 10, n. 1, p. 33-45, 2011.

MCADAM, S. A. M.; BRODRIBB, T. J.; ROSS, J. J. Shoot-derived abscisic acid promotes root growth. *Plant Cell and Environment*, v. 39, p. 652–659, 2016.

MILITÃO, F. P.; FERNANDES, V. O.; BASTOS, K. V.; MARTINS, A. P.; COLEPICOLO, P.; MACHADO, L. P. Nutritional value changes in response to temperature, microalgae mono and mixed cultures. *Acta Limnologica Brasiliensia*, vol. 31, p. 1-11, 2019.

MORIOKA, L. R. I.; MATOS, A. P.; OLIVO, G.; SANT'ANNA, E. S. Flocculação de *Chlorella* sp. produzida em concentrado de dessalinização e estudo de método de extração de lipídeos intracelulares. *Química Nova*, v. 37, n. 1, p. 44–49, 2014.

MULLER, A.; SCHADER, C.; EL-HAGE SCIALABBA, N.; BRÜGGEMANN, J.; ISENSEE, A.; ERB, K. H.; SMITH, P. KLOCKE, P.; LEIBER, F.; STOLZE, M.; NIGGLI U. Strategies for feeding the world more sustainably with organic agriculture, *Nature Communications*, v. 8, n. 1, p. 1-13, 2017.

MZIBRA, A.; AASFAR, A.; BENHIMA, R.; KHOULOU, M.; BOULIF, R.; DOUIRA, A.; BAMOUH, A.; MEFTAH KADMIRI, I. Biostimulants derived from moroccan seaweeds: seed germination metabolomics and growth promotion of tomato plant. *Journal of Plant Growth Regulation*, p. 1–18, 2020.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados na avaliação das plântulas. In: VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. Testes de vigor em sementes. Jaboticabal: Funep, 1999, 164p.

NARDINO, M.; BARRETA, D.; CARVALHO, I. R.; FOLLMANN, D. N.; FERRARI M.; PELEGRIN, A. J.; SZARESKI, V. J.; KONFLANZ, V. A.; SOUZA, V. Q. Divergência genética entre genótipos de milho (*Zea mays* L.) em ambientes distintos. *Revista de Ciências Agrárias*, v. 40, n. 1, p. 164-174, 2017.

NAVARRO, Q. R.; CORRÊA, D. O.; BEHLING, A.; NOSEDA, M. D.; AMANO, E.; SUZUKI, R. M.; RIBAS, L. L. F. Efficient use of biomass and extract of the microalga *Desmodesmus subspicatus* (Scenedesmaceae) in asymbiotic seed germination and seedling development of the orchid *Cattleya warneri*. *Journal of Applied Phycology*, v. 33, p. 2189-2207, 2021.

OLIVEIRA, A. L. R.; MORAES, S. R. P.; OLIVEIRA, K. P.; MENDANHA, J. S.; RODRIGUES, J. S. Zoneamento edafoclimático da cultura do mamão. *Enciclopédia Biosfera*, v. 8, n. 14, p. 957-965, 2012.

OANCEA, F.; VELEA, S.; FATU, V. Micro-algae based plant biostimulant and its effect on water stressed tomato plants. *Romanian Journal for Plant Protection*, v. 6, p. 104–117, 2013.

OMETTO, F.; STEINHOVDEN, K. B.; KUCI, H.; LUNNBÄCK, J.; BERG, A.; KARLSSON, A.; HANDA, A.; WOLLAN, H.; EJLERTSSON, J. Seasonal variation of elements composition and biomethane in brown macroalgae. *Biomass and Bioenergy*, v. 109, p. 31–38, 2018.

PÁDUA, T. R. P. Plano estratégico para a cultura do mamoeiro: 2017-2021.1 / Cruz das Almas, BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2019. EMBRAPA. Cultivos: Embrapa Mandioca e Fruticultura. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/mandioca-e-fruticultura/cultivos>>. Acesso em 26 de maio de 2021.

PAN, S., JEEVANANDAM, J., DANQUAH, M. K. Benefits of algal extracts in sustainable agriculture, In: *Grand challenges in algae biotechnology*. Springer, Cham, p. 501–534, 2019.

PEIXOTO, C. M. O milho no Brasil, sua importância e evolução. 2014. Disponível em: <<http://www.pioneersementes.com.br/media-center/artigos/165/o-milho-no-brasil-sua-importancia-e-evolucao/>>. Acesso em: 14 de maio de 2022.

PEREZ-GARCIA, O.; ESCALANTE F. M. E.; DE-BASHAN, L. E.; BASHAN, Y. Heterotrophic cultures of microalgae: metabolismo and potential products. *Water Research*, v. 45, n. 1, p. 11-36, 2011.

PLAZA, B. M.; GÓMEZ-SERRANO, C.; ACIÉN-FERNÁNDEZ, F. G.; JIMÉNEZ-BECKER, S. Effect of microalgae hydrolysate foliar application (*Arthrospira platensis* and *Scenedesmus* sp.) on *Petunia x hybrida* growth. *Journal of Applied Phycology*, v. 30, p. 2359–2365, 2018.

PORTUGAL, J. R.; PERES, A. R.; RODRIGUES, R. A. F. Aspectos climáticos no feijoeiro. In: ARF O.; LEMOS L. B.; SORATTO, R. P.; FERRARI, S. (Ed.) Aspectos gerais da cultura do feijão *Phaseolus vulgaris* L. Botucatu: FEPAF, p. 65 75, 2015.

POVERO, G.; MEJIA, J. F.; DI TOMMASO, D.; PIAGGESI, A.; WARRIOR, P. A systematic approach to discover and characterize natural plant biostimulants. *Frontiers in Plant Science*, v. 7, p. 1-9, 2016.

PRASANNA, R.; BABU, S.; BIDYARANI, N.; KUMAR, A.; TRIVENI, S.; MONGA, D.; MUKHERJEE, A. K.; KRANTHI, S.; NARKHEDKAR, N. K.; ADAK, A.; YADAV, K.; NAIN, L.; SAXENA, A. K. Prospecting cyanobacteria-fortified composts as plant growth promoting and biocontrol agents in cotton. *Experimental Agriculture*, v. 51, n. 1, p. 42-65, 2015.

RAJENDRAN K.; BROWNE J. D.; MURPHY J. D. What is the level of incentivisation required for biomethane upgrading technologies with carbon capture and reuse? *Renewable energy*, v. 133, p. 951-963, 2019.

RAJKUMAR, R.; TAKRIFF, M. S. Prospects of algae and their environmental applications in Malaysia: a case study. *J. Bioremediation and Biodegradation*, v. 7, n. 1, p. 1-12, 2016.

RAMOS JUNIOR, E. U.; LEMOS, L. B.; SILVA, T. R. B. Componentes da produção, produtividade de grãos e características tecnológicas de cultivares de feijão. *Bragantia*, v. 64, n. 1, p. 75-82, 2005.

RANUM, P.; PEÑA-ROSAS, J. P.; GARCIA-CASAL, M. N. Global maize production, utilization, and consumption. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 1312, p. 105-112, 2014.

RASLAVIČIUS L.; STRIŪGAS N.; FELNERIS M. New insights into algae factories of the future. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 81, p. 643-54, 2018.

RATHORE, S.S.; CHAUDHARY, D. R.; BORICHA, G. N.; GHOSH, A.; BHATT, B. P.; ZODAPE, S. T.; PATOLIA, J. S. Effect of seaweed extract on the growth, yield and nutrient up take of soy bean (*Glycine max*) under rainfed conditions. *South African Journal of Botany*, v. 75, p. 351-355, 2009.

RENUKA, N.; PRASANNA, R.; SOOD, A.; BANSAL, R.; BIDYARANI, N.; SINGH, R.; SHIVAY, Y. S.; NAIN, L.; AHLUWALIA, A. S. Wastewater grown microalgal biomass as inoculants for improving micronutrient availability in wheat. *Rhizosphere*, v. 3, p. 150–159, 2017.

RENUKA, N.; GULDHE, A.; PRASANNA, R.; SINGH, P.; BUX, F. Microalgae as multi-functional options in modern agriculture: current trends, prospects and challenges. *Biotechnology Advances*, v. 36, p. 1255–1273, 2018.

REYNOLDS, C. S. 2006. *Ecology of Phytoplankton*. Nova York: Cambridge University Press, 1 ed., 535p.

ROBERTI, R.; GALLETTI, S.; BURZI, P. L.; RIGHINI, H.; CETRULLO, S.; PEREZ, C. Induction of defence responses in zucchini (*Cucurbita pepo*) by *Anabaena* sp. water extract. *Biological Control*, v. 82, p. 61–68, 2015.

RODRIGUES, F. J.; BARCAROL, M. A.; ADAMS, C. R.; KLEIN, C.; BERWANGER, A. L. Eficiência agrônômica da cultura do milho sob diferentes fontes de nitrogênio em cobertura. *Uniciências*, v. 22, n. 2, p. 66-70, 2018.

RONGA, D.; BIAZZI, E.; PARATI, K.; CARMINATI, D.; CARMINATI, E.; TAVA, A. Microalgal biostimulants and biofertilisers in crop productions. *Agronomy*, v. 9, n. 4, p. 1-22, 2019.

RUPAWALLA, Z.; SHAW, L.; ROSS, I. L.; SCHMIDT, S.; HANKAMER, B.; WOLF, J. Germination screen for microalgae-generated plant growth biostimulants. *Algal Research*, v. 66, 2022.

SANTOS, A. C. V. 1992. Biofertilizante líquido, o defensivo da natureza. Niterói: EMATER (Agropecuária Fluminense), v. 8, 16p.

SANTOS, H. G.; JACOMINE, P. K. T.; ANJOS, L. H. C.; OLIVEIRA, V. A.; LUMBRERAS, J. F.; COELHO, M. R.; ALMEIDA, J. A.; ARAUJO, J. C. F.; OLIVEIRA, J. B.; CUNHA, T. J. F. Sistema brasileiro de classificação de solos. (5ª ed.). Brasília: Embrapa, 2018.

SHUKLA, P. S.; MANTIN, E. G.; ADIL, M.; BAJPAI, S.; CRITCHLEY, A. T.; PRITHIVIRAJ, B. *Ascophyllum nodosum*-based biostimulants: Sustainable applications in agriculture for the stimulation of plant growth, stress tolerance, and disease management. *Frontiers in Plant Science*, v. 10, p. 1-22, 2019.

SILVA, O. F.; WANDER, A. E. O feijão comum no Brasil: passado, presente e futuro. Santo Antônio de Goiás: EMBRAPA, 2013.

ŠIMURA, J.; ANTONIADI, I.; ŠIROKÁ, J.; TARKOWSKÁ, D.; STRNAD, M.; LJUNG, K.; NOVÁK, O. Plant hormonomics: Multiple phytohormone profiling by targeted metabolomics. *Plant Physiology*, v. 177, n. 2, p. 476–489, 2018.

SOUZA, A. L. B.; SRUR, A. O.; DERNER, B. R.; MENDES, M. F. Technical feasibility of residual biomass of microalgae *Desmodesmus* sp. after supercritical extraction: evaluation of chemical composition. *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial*, Ponta Grossa, v. 12, n. 01, p. 2578-2591, 2018.

SOUZA, J. L.; RESENDE, P. 2003. Manual de horticultura orgânica. Viçosa, Ed. Aprenda Fácil, 564 p.

STAVI, I.; LAL, R. Achieving zero net land degradation: challenges and opportunities. *Journal Arid Environments*, v. 112, p. 44–51, 2015.

STEIN, J. R. 1975. Handbook of phycological methods, culture methods and growth measurements. Cambridge University Press, 448p.

STIRK, W. A.; ÖRDÖG, V.; NOVÁK, O.; ROLÉIK, J.; STRNAD, M.; BÁLINT, P.; STADEN, J. Auxin and cytokinin relationships in 24 microalgal strains. *Journal of Phycology*, v. 49, p. 459–467, 2013.

STRICKLAND, J. D. H.; PARSONS, T. R. A practical handbook of seawater analysis. Bulletin Fisheries Research Board of Canada, v. 167, p. 1-311, 1968.

TAN, X.; UEMURA, Y.; LIM, J. W.; WONG, C. Y.; LEE, K. T. Cultivation of microalgae for biodiesel production: a review on upstream and downstream processing. Chinese Journal of Chemical Engineering, v. 26, n. 1, p. 17–30, 2017.

TARRAF, S. A.; TALAAT, I. M.; EL-SAYED, A. E. K. B.; BALBAA, L. K. Influence of foliar application of algae extract and amino acids mixture on fenugreek plants in sandy and clay soils. Amino Acids, v. 16, p. 19–58, 2015.

TILMAN, D.; CASSMAN, G. K.; MATSON, A. P.; NAYLOR, R.; POLASKY, S. Agricultural sustainability and intensive production practices. Nature, v. 418, p. 671-677, 2002.

VIVAS, M.; SILVEIRA, S. F.; PIO-VIANA, A.; AMARAL-JÚNIOR, A. T.; FERREGUETTI, G. A.; PEREIRA, M. G. Resistance to multiple foliar diseases in papaya genotypes in Brazil. Crop Protection, v. 71, p. 138-143, 2015.

ZUCCARO, G.; YOUSUF, A.; POLLIO, A.; STEYER, J. P. Chapter 2 – Microalgae cultivation systems. In: Yousuf A, editor. Microalgae cultivation for biofuels production. Academic Press, p. 11-29, 2020.

CAPÍTULO 1 - Cultivo de microalgas para produção de bioestimulantes: caracterização bioquímica e crescimento.

Autores: Nair Hildelgard Soares dos Santos^{1*} • Levi Pompermayer Machado² • Valéria de Oliveira Fernandes¹

(1) Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Humanas e Naturais, Departamento de Ciências Biológicas, Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal, CEP 29075-910, Vitória, ES, Brasil.

(2) Universidade Do Estado de São Paulo, Departamento de Engenharia de Pesca, CEP 11900-000, Registro, SP, Brasil.

*Autor para correspondência: nairh13@gmail.com

INTRODUÇÃO

As microalgas são organismos fotossintetizantes, microscópicos, geralmente encontrados em sistemas de água doce e marinhos. São consideradas promissoras para a produção de bioenergia renovável devido ao seu alto teor de lipídios e taxa de crescimento rápido (YOUSUF, 2020).

Estes organismos são capazes de produzir cerca de 50% de todo oxigênio na Terra via fotossíntese, além de apresentarem ampla gama de bioprodutos incluindo polissacarídeos, lipídios, pigmentos, proteínas, vitaminas, compostos bioativos e antioxidantes (KHAN et al., 2018). Sua produção e rendimento são seletivamente dependentes da espécie de alga cultivada (OMETTO et al., 2018).

A produção e incremento de biomassa é altamente influenciada por fatores nutricionais e condições de crescimento, tais como temperatura, salinidade, pH, luz, etc (DEBIAGI et al., 2017; SUPARMANIAM et al., 2019). Desta forma, o potencial das microalgas tem despertado cada vez mais interesse em pesquisas e indústrias devido principalmente à sua aplicação como energia renováveis, produtos farmacêuticos, nutracêuticos, tratamento de águas residuais (ZUCCARO et al., 2020), além da sua recente utilização como bioestimulantes (CHIAIESE et al., 2018).

Em comparação com as culturas convencionais, as microalgas possuem características favoráveis, como capacidade superior de fixação de carbono, maior eficiência fotossintética e produtividade de biomassa, bem como a não exigência de terra arável para o seu crescimento (ARESTA et al., 2019).

O cultivo de microalgas é uma ferramenta essencial para a produção de biomassa, além de, se desejado, prover informações básicas sobre as espécies cultivadas, úteis para o conhecimento de seus ciclos de vida, sua autoecologia e fisiologia (LOURENÇO, 2006).

Apesar dos relevantes esforços de pesquisa e da multiplicidade de aplicações das microalgas, a comercialização de um espectro diversificado de bioprodutos de microalgas é dificultada pelos altos custos associados à produção de biomassa (LIYANAARACHCHI et al., 2021). Assim, torna-se necessário desenvolver estratégias para aprimorar os métodos de cultivo, aumentando o rendimento e reduzindo os custos gerais.

Diante do exposto, o presente estudo tem como objetivo avaliar a composição química e visa contribuir sobre o conhecimento da fisiologia de quatro espécies de microalgas no que diz respeito a avaliação de aumento de biomassa e a sua viabilidade no uso como matéria-prima com fins biotecnológicos, de modo a subsidiar sua utilização como fonte produtora de bioestimulantes para agricultura.

MATERIAIS E MÉTODOS

Quatro espécies de microalgas foram utilizadas no experimento; *Scenedesmus acuminatus* (Lagerheim) Chodat, *Scenedesmus obliquus* (Turpin) Kützing, *Chlorella vulgaris* Beijerinck e *Chlorella pyrenoidosa* H. Chick e foram selecionadas no Banco de Cultivo de Microalgas do Laboratório de Taxonomia e Ecologia de Algas Continentais (LATEAC), da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES). A seleção das espécies foi realizada com base em resultados anteriores quanto ao seu potencial de produção de biomassa e sua ampla gama de aplicações biotecnológicas (SIDDIKI et al., 2022).

O cultivo foi do tipo batelada, com inóculo inicial de $3,0 \times 10^5$ cel/mL⁻¹, com duração de 21 dias. O meio utilizado para o cultivo foi o BBM (STEIN, 1975), com o pH estabilizado inicialmente entre $7 \pm 0,05$. As cepas utilizadas como inóculo para o experimento foram transferidas para erlenmeyers de 5L, contendo 4L do meio de cultura, e mantidos em estufa incubadora sob temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, luminosidade com intensidade de aproximadamente $40 \mu\text{mol}$ de fótons $\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, fotoperíodo de 12/12 h de luz/escuro.

Para determinar a densidade celular (células/mL⁻¹), a cada 48h, foi realizada leitura da absorbância de alíquotas de 3 mL dos cultivos em comprimento de onda de 570 nm (LOURENÇO, 2006) em espectrofotômetro (Thermo Scientific, Aquamate plus; EUA).

Para a quantificação da biomassa celular dos tratamentos foram coletadas alíquotas das culturas para a determinação da massa seca a cada sete dias até o 21º dia. Foram filtrados 30 mL em filtros de fibra de vidro (Macherey-Nagel, GF-1 47 mm), previamente secos em estufa a 65°C e pesados. Após a filtragem, os filtros foram mantidos na estufa a 65°C até atingirem peso constante. A determinação da biomassa seca ocorreu por meio da subtração da massa final pela massa inicial do filtro, dividido pelo volume filtrado. Os valores estão expressos em mg/L^{-1} (LOURENÇO, 2006).

A extração e a determinação das concentrações dos carboidratos totais foram realizadas seguindo o procedimento descrito por Dubois et al. (1956) por meio do método fenol-sulfúrico.

O teor de proteínas totais solúveis foi quantificado a partir da biomassa liofilizada obtida em cada cultivo, de acordo com o método descrito por Lowry et al. (1951).

As concentrações dos pigmentos clorofila “a” e carotenoides foram quantificadas por meio da espectrofotometria a cada sete dias de intervalo até o final do experimento. Foram retiradas uma alíquota de 30 mL de cada cultura de microalga e filtradas. A extração dos pigmentos ocorreu por meio da maceração dos filtros de fibra de vidro, com o material retido, utilizando acetona 90% como solvente a frio (LOURENÇO, 2006). Em seguida, a solução foi armazenada no refrigerador a 4°C por 24 horas e, após o tempo de incubação, foi centrifugada e o sobrenadante lido em

espectrofotômetro nos comprimentos de onda recomendados para a detecção dos picos de absorção dos pigmentos de interesse.

Para a determinação da concentração de clorofila 'a' e carotenoides foram utilizadas as equações propostas por Lorenzen (1967) e Strickland e Parsons (1968), respectivamente. As análises de clorofila 'a' e carotenoides totais foram realizadas durante o experimento, nos dias 07, 14 e 21 de cultivo.

Os dados obtidos nas análises de crescimento, massa seca, pigmentos, proteínas e carboidratos totais solúveis foram submetidos à análise de variância e comparação múltipla teste *pos hoc* de Tukey para testar a significância das diferenças entre as médias dos tratamentos. As diferenças foram consideradas significativas a um nível mínimo de $p < 0,01$. Os dados foram analisados utilizando o software Assistat (Versão 7.7).

RESULTADOS

A Figura 1 apresenta as curvas de crescimento das 4 espécies de microalgas cultivadas.

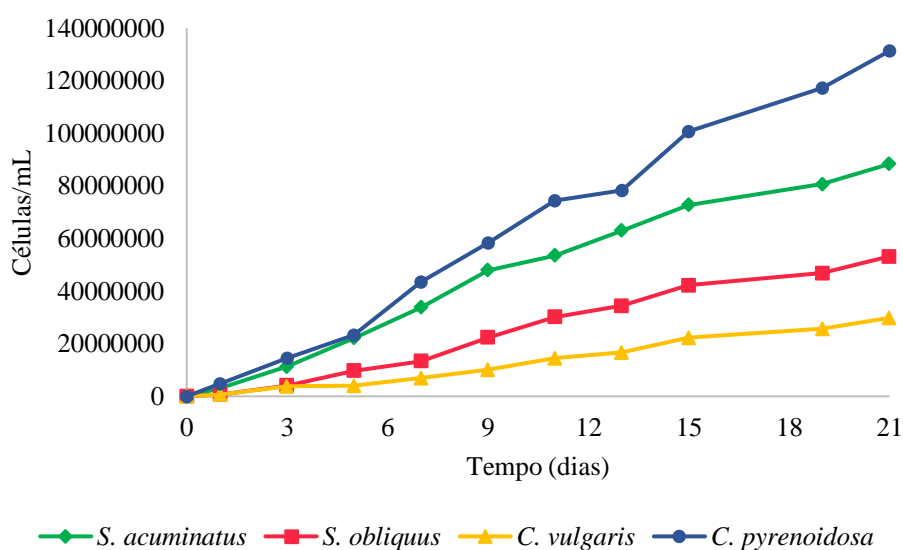


Figura 1: Curva de crescimento das microalgas.

Todas as espécies apresentaram fase de adaptação (lag) curta e se mantiveram na fase exponencial de crescimento (log) até o final dos cultivos. Foi possível observar que as espécies *Chlorella pyrenoidosa* e *Scenedesmus acuminatus* obtiveram densidade celular superior quando comparadas as outras espécies, sendo seus valores máximos registrados no 21º dia de $132,62 \times 10^6$ cél/mL⁻¹ e $90,57 \times 10^6$ cél/mL⁻¹, respectivamente.

Os valores de taxa de crescimento (r), duplicações por dia (k) e tempo de duplicação (G) estão apresentados na Tabela 1. Houve diferença significativa entre os parâmetros cinéticos de crescimento. *C. pyrenoidosa* e *S. acuminatus* apresentaram as maiores taxas de crescimento, mais duplicações por dia e menor tempo de duplicação populacional. Em relação ao rendimento celular, *C. pyrenoidosa* obteve rendimento significativamente superior que as demais espécies.

Tabela 1: Parâmetros cinéticos de crescimento.

Espécies	r (Dia)	k (Dia)	G (Dia)	Rmax (Cél/mL)
<i>S. acuminatus</i>	0.91 ± 0.010 ab	1.31 ± 0.014 ab	0.76 ± 0.008 bc	90.57 x 10 ⁶ ab
<i>S. obliquus</i>	0.89 ± 0.004 b	1.29 ± 0.006 b	0.77 ± 0.004 b	60.92 x 10 ⁶ ab
<i>C. vulgaris</i>	0.86 ± 0.006 c	1.25 ± 0.009 c	0.80 ± 0.006 a	31.39 x 10 ⁶ b
<i>C. pyrenoidosa</i>	0.92 ± 0.026 a	1.34 ± 0.037 a	0.75 ± 0.020 c	132.62 x 10 ⁶ a

(r = taxa de crescimento; k = duplicações por dia; G = Tempo de duplicação; Rmax = rendimento máximo.). Valores seguidos pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey (p < 0,01).

A Tabela 2 demonstra a variação da concentração da massa seca dos cultivos ao longo do tempo. O incremento de biomassa foi significativo em todas as espécies. A microalga *Scenedesmus acuminatus* obteve maior biomassa e produtividade, seguida de *Scenedesmus obliquus*. *Chlorella vulgaris* e *Chlorella pyrenoidosa* obtiveram menores valores para ambos parâmetros e foram significativamente diferentes entre si (p < 0,01).

Tabela 2: Variação e produtividade (P) em biomassa (MS) dos cultivos durante 21 dias.

Espécies	Dia 7 (g.L ⁻¹)	Dia 14 (g.L ⁻¹)	Dia 21 (g.L ⁻¹)	P (mg/L ⁻¹ /dia ⁻¹)
<i>S. acuminatus</i>	0.10 ± 0.02 cde	0.28 ± 0.04 b	0.50 ± 0.07 a	28.21 a
<i>S. obliquus</i>	0.08 ± 0.03 cde	0.22 ± 0.03 b	0.46 ± 0.04 a	26.71 a
<i>C. vulgaris</i>	0.04 ± 0.01 e	0.08 ± 0.02 de	0.14 ± 0.03 cd	7.17 c
<i>C. pyrenoidosa</i>	0.04 ± 0.01 e	0.14 ± 0.04 c	0.23 ± 0.08 b	13.57 b

(P = produtividade, expressa em miligrama por litro; MS = massa seca, expressa em grama por litro). Intervalo de 7 dias entre as coletas. Valores seguidos pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey (p < 0,01).

Carboidratos totais

As maiores concentrações de carboidratos (Figura 2) foram encontradas nas espécies representantes do gênero *Chlorella*. *Chlorella vulgaris* obteve 67,84 mg/g MS e, *Chlorella pyrenoidosa* obteve 63,03 mg/g MS, apresentando diferenças significativas quando comparadas as

espécies de *Scenedesmus acuminatus* com 8,83 mg/g MS e *Scenedesmus obliquus* com 2,98 mg/g MS.

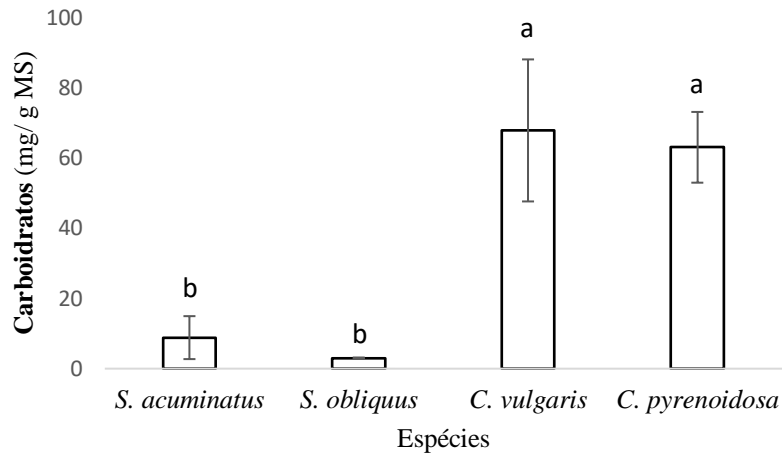


Figura 2: Concentração de carboidratos totais hidrossolúveis (mg/g MS) na biomassa das espécies cultivadas.

Proteínas totais solúveis

O teor de proteínas não apresentou diferença significativa entre o cultivo das espécies (Figura 3). Os valores registrados foram *S. acuminatus* (361 mg/g MS), *C. vulgaris* (339 mg/g MS), *S. obliquus* (311 mg/g MS) e *C. pyrenoidosa* (212 mg/g MS).

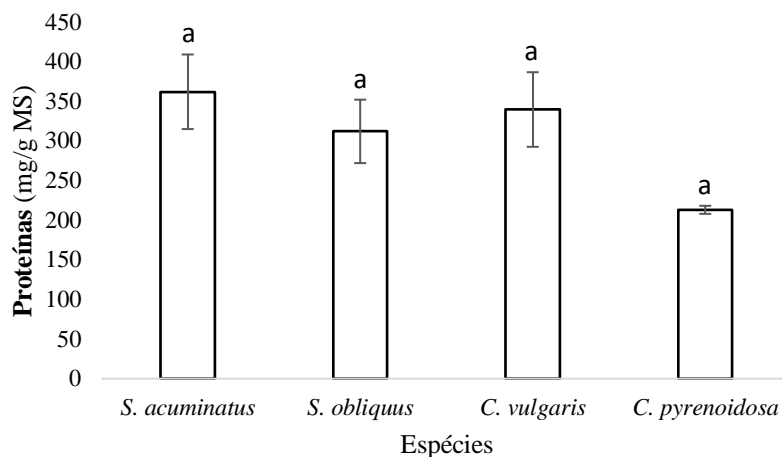


Figura 3: Concentração de proteínas totais solúveis (mg/g MS) na biomassa final das espécies cultivadas.

Clorofila “a” e carotenoides

Os valores das concentrações dos pigmentos cloroplastídicos (clorofila *a* e carotenoides) estão apresentados na Figura 4 (clorofila) e Figura 5 (carotenoides). Os maiores valores de clorofila “a” e carotenoides totais foram registrados na terceira coleta ao final do experimento, com diferença significativa ($p < 0,01$). Desta forma, o tempo de cultivo influenciou de forma significativa o acúmulo de clorofila “a” e carotenoides totais em todas as espécies.

As espécies representantes do gênero *Scenedesmus* obtiveram maior concentração de ambos pigmentos, alcançando concentração máxima no 21º dia, com *S. obliquus* atingindo a concentração máxima de clorofila “a” ($6,47 \mu\text{g}/\text{L}^{-1}$) e *S. acuminatus* ($5,14 \mu\text{g}/\text{L}^{-1}$). *S. obliquus* ($2,34 \mu\text{g}/\text{L}^{-1}$) também obteve maior concentração de carotenoides totais, seguida por *S. acuminatus* ($2,06 \mu\text{g}/\text{L}^{-1}$) e *C. vulgaris* ($1,93 \mu\text{g}/\text{L}^{-1}$).

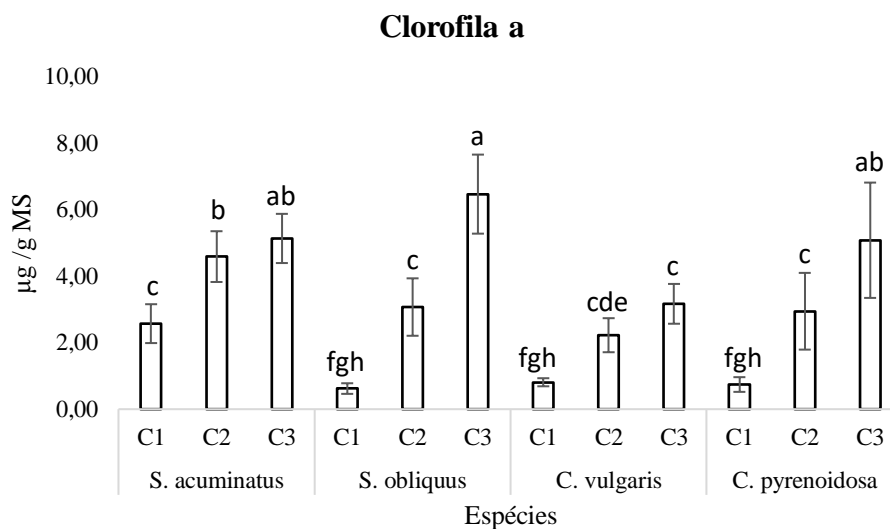


Figura 4: Concentração de clorofila “a”, nos dias 07, 14 e 21 de cultivo, representados por C1, C2 e C3, respectivamente.

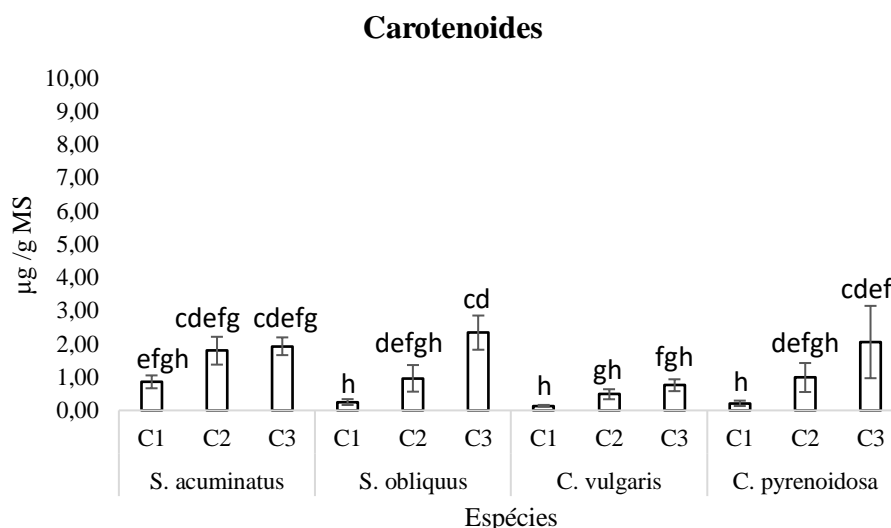


Figura 5: Concentração de carotenoides, nos dias 07, 14 e 21 de cultivo, representados por C1, C2 e C3, respectivamente.

DISCUSSÃO

As microalgas representam um grupo altamente especializado na capacidade de biofixação de CO₂ através de sua atividade fotossintética e por acumular biomassa rápida e eficientemente (SOUZA, 2016). A concentração da biomassa está diretamente relacionada a adaptação destas as condições de cultivo que são submetidas (LEITE et al., 2019), tais como: intensidade da luz, temperatura, pH, disponibilidade de nutrientes e, técnicas de colheita da biomassa (SIDDIKI et al., 2022). Considerando o fornecimento desses requisitos essenciais, as microalgas conseguem maximizar seu crescimento e melhorar a síntese de co-produtos de alto valor agregado como carboidratos, lipídios e proteínas. Desta forma, pode-se afirmar que as condições fornecidas para as microalgas neste estudo foram favoráveis, uma vez que, todas demonstraram aclimatação às condições experimentais que foram submetidas, mantendo um crescimento exponencial durante o período do cultivo, além de atingirem uma alta densidade celular.

A espécie que obteve maior densidade celular foi *C. pyrenoidosa*, seguida de *S. acuminatus*. Araújo et al. (2019) registraram resultados semelhantes em seu estudo, cultivando a mesma espécie, sob condições favoráveis e sem alterações, o que possibilitou um crescimento satisfatório. Chew et al. (2018), também avaliaram o crescimento de *Scenedesmus* sp. e concluíram que espécies representantes deste gênero possuem rápido crescimento e alta capacidade de adaptação às condições de cultivo. Essa facilidade de cultivo e manuseio impulsiona a aplicação industrial desse tipo de microalga em vários setores.

Em relação aos parâmetros cinéticos de crescimento, pode-se afirmar que a espécie *C. pyrenoidosa* foi significativamente superior as outras espécies estudadas, Vieira et al. (2014) atribuíram melhores resultados do crescimento de *Chlorella* sp. a utilização do meio de cultura BBM, mesmo utilizado neste estudo, afirmando que os nutrientes disponíveis na formulação favoreceram o melhor crescimento da microalga. Desta forma, pode-se sugerir que o meio de cultura foi determinante no crescimento desta espécie. Deve-se considerar que a avaliação dos parâmetros cinéticos do crescimento (r , k e G) permite comparar o crescimento de diferentes espécies submetidas a uma mesma condição experimental (LOURENÇO, 2006).

Os resultados obtidos demonstram que durante a fase log de crescimento os cultivos de *C. pyrenoidosa* e *S. acuminatus* aumentaram a densidade celular devido a maior taxa de crescimento, com mais duplicações por dia. Apesar da microalga *S. obliquus* apresentar menor densidade celular, esta espécie apresentou produtividade em biomassa igual a *S. acuminatus*. Militão (2022) obteve resultados semelhantes cultivando as microalgas *Staurastrum hirsutum* e *Hariotina reticulata*, pois ambas obtiveram menor densidade celular, porém apresentaram produtividade em biomassa igual ou superior àquelas registradas em espécies com maior densidade celular. Deve-se destacar que o meio

de cultura utilizado para o cultivo dessas espécies também foi BBM. Segundo (ARKRONRAT et al., 2016) características como o tamanho e a complexidade das formas de reprodução influenciam no crescimento e na produção em biomassa e espécies de tamanho reduzido apresentam crescimento elevado, devido a relação área/volume, a qual facilita a absorção de nutrientes do meio.

Sabe-se que as condições do cultivo influenciam diretamente na síntese bioprodutos e alteração nos teores de proteínas e carboidratos. As espécies representantes do gênero *Chlorella* apresentaram concentrações de carboidratos significativamente superior as espécies do gênero *Scenedesmus*. A espécie *Chlorella vulgaris* foi capaz de produzir alta concentração de carboidratos e este resultado pode estar associado ao alto teor de amido presente no interior das células (POSTMA et al., 2017; ALAVIJEH et al., 2020). Araújo et al. (2019) obtiveram resultados semelhantes no cultivo de *Chlorella pyrenoidosa*. Dragone et al. (2011) afirmam que a concentração de nitrogênio e ferro no meio de cultura influencia diretamente sobre o acúmulo de amido em *Chlorella* sp. A produção de carboidratos por microalgas é devido a fixação de CO₂ durante o processo fotossintético. O teor de carboidratos de microalgas pode ser aumentado pelo uso de várias estratégias de cultivo, como variação da temperatura (MILITÃO et al., 2019), intensidade luminosa (MARKOU; NERANTZIS, 2013), disponibilidade de fósforo (BAIEE, 2016), aumento do teor de cloreto de sódio (FERNANDES et al., 2017), e suplementação de carbono (LOURENÇO, 2006). Devido ao alto teor de carboidratos que as algas são capazes de sintetizar, frequentemente são utilizadas como a principal matéria-prima na agricultura moderna (LEE et al., 2011).

Todas as microalgas obtiveram altas concentrações de proteínas. Desta forma, não houve diferença significativa entre o teor de proteínas obtido nas espécies cultivadas. Esse alto teor está relacionado a disponibilidade de nitrogênio no meio, considerando que esse elemento é essencial para síntese de proteínas (ZUCCARO et al., 2020). Tibbetts et al. (2015) cultivando *Scenedesmus* sp. também registraram alta concentração dessa biomolécula em seu estudo. Segundo Nicolau et al. (2020) na fase exponencial ou log de crescimento das microalgas que ocorre maior produção de proteína e divisão constante, alcançando a taxa de crescimento máxima. Provavelmente esse fator pode ser relacionado as espécies avaliadas neste estudo, considerando que apresentaram em maior parte fase exponencial em seu crescimento.

A concentração de pigmentos, principalmente clorofila “a”, presente na biomassa algal é extremamente importante para avaliação do desenvolvimento das microalgas (LOURENÇO, 2006). Além disso, a análise de conteúdo pigmentar das algas é necessária uma vez que os pigmentos produzidos pelas algas (astaxantina, betacaroteno, luteína) têm aplicação em vários setores, tais como; indústrias de cosméticos, higiene pessoal, nutrição humana e animal e, conseqüentemente, apresentam importância econômica (LIYANAARACHCHI et al., 2021). Embora neste estudo todas

as espécies de microalgas tenham apresentando aumento do teor de pigmentos ao longo do tempo de cultivo, as espécies representantes do gênero *Scenedesmus* alcançaram maior concentração de ambos pigmentos (clorofila “a” e carotenoides). Aburai et al. (2015), encontraram valores semelhantes no conteúdo de clorofila “a”, cerca de $2,9 \mu\text{g}/\text{L}^{-1}$, no cultivo de *Scenedesmus* sp. em meio sintético BBM. Assim, pode-se afirmar que de acordo com o meio de cultura que as microalgas são cultivadas, e se em condições semelhantes, a produção pigmentos tende a não variar muito, o que pode explicar os resultados obtidos neste estudo.

Baixas concentrações de carotenoides também foram registradas no trabalho de Mulders et al. (2014) ao cultivarem a microalga *Chlorella zofingiensis* também em meio sintético BBM, submetidas a intensidades de luz supersaturadas. Goiris et al. (2012), obtiveram teor de $0,71 \mu\text{g}/\text{L}^{-1}$ carotenoides totais em *Chlorella* spp, sob condições estressantes. Os baixos teores de carotenoides registrados nesse estudo, pode ser atribuído ao fato desses pigmentos serem acumulados em condições de estresse como, por exemplo, limitação de nutrientes e excesso de luz (ABURAI et al., 2018; SOUZA et al., 2020), o que não ocorreu nas condições de cultivo.

Diante dos resultados obtidos neste estudo sugere-se que as condições fornecidas as microalgas foram favoráveis e beneficiaram o incremento de biomassa para utilização como fonte produtora de bioestimulantes na agricultura. É necessário conhecer o processo adaptativo das microalgas em condições de cultivo e, isso só é possível a partir do estudo e avaliação das interações entre as variáveis analisadas em cada estudo, destacando a grande importância desses organismos no meio ambiente e no avanço tecnológico. Desta forma, torna-se essencial o desenvolvimento de estudos que objetivam o melhoramento e aprimoramento das tecnologias existentes e forneça subsídio para o desenvolvimento de novas técnicas que viabilize sua produção em larga escala.

CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos neste estudo, foi possível perceber que as microalgas apresentaram resultados significativos, em relação a crescimento e biomassa. O incremento de massa seca ao final do cultivo confirma a resposta positiva das microalgas a condições fornecidas no experimento.

As microalgas do gênero *Chlorella* apresentaram maiores concentrações de carboidratos, embora não tenha sido avaliado neste estudo, provavelmente este dado pode estar associado ao acúmulo de amido presente no interior das células em espécies desse gênero. O alto teor de proteínas pode estar relacionado a disponibilidade de nitrogênio no meio de cultura, considerando que esse elemento é essencial para síntese de proteínas e na fase exponencial ou log de crescimento das

microalgas, ocorre maior produção de proteínas, considerando que as espécies avaliadas apresentaram em maior parte fase exponencial, provavelmente pode ser atribuído a este fator.

O tempo de cultivo influenciou no acúmulo de pigmentos, sendo registradas as maiores concentrações de clorofila 'a' e carotenoides ao final do experimento, principalmente nas espécies do gênero *Scenedesmus*.

De maneira geral, as espécies demonstraram aclimação às condições experimentais que foram submetidas, pois mantiveram um crescimento exponencial durante o período do cultivo, além de atingirem uma alta densidade celular.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABURAI, N.; SUMIDA, D.; ABE, K. Effect of light level and salinity on the composition and accumulation of free and ester-type carotenoids in the aerial microalga *Scenedesmus* sp. (Chlorophyceae). *Algal Research*, v. 8, p. 30 – 36, 2015.

ABURAI, N.; KAZAMA, H.; TSURUOKA, A.; GOTO, M.; ABE, K. Development of a whole-cell-based screening method for a carotenoid assay using aerial microalgae. *Journal of Biotechnology*, v. 268, p. 6–11, 2018.

ALAVIJEH, R. S.; KARIMI, K.; WIJFFELS, R. H.; VAN DEN BERG, C.; EPPINK, M. Combined bead milling and enzymatic hydrolysis for efficient fractionation of lipids, proteins, and carbohydrates of *Chlorella vulgaris* microalgae. *Bioresource Technology*, vol. 309, p. 1-9, 2020.

ARAÚJO, F. O.; GIUDICI, R.; SOUSA, J. J. M. S. Cultivation of the microalgae *Chlorella pyrenoidosa* using the processes of biotechnology. *Electronic Journal Scientific Collection*, vol. 2, p. 1 – 11, 2019.

ARESTA, M.; DIBENEDETTO, A. Beyond fractionation in the utilization of microalgal components. In: *Bioenergy With Carbon Capture Storage*, Elsevier, p. 173–193, 2019.

ARKRONRAT, W; DEEMARK, P; ONIAM, V. Growth performance and proximate composition of mixed cultures of marine microalgae (*Nannochloropsis* sp. & *Tetraselmis* sp.) with monocultures. *Songklanakarin Journal of Science and Technology, Tailândia*, v. 1, n. 38, p. 1-5, 2016.

BAIEE, M. A. Effect of phosphorus concentration and light intensity on protein content of microalga *Chlorella vulgaris*. Mesopotamia Environmental Journal, v. 2, n. 2, p. 75–86, 2016.

CHEW, K. W.; CHIA, S. R.; SHOW, P. L.; YAP, Y. J.; LING, T. C.; CHANG, J. S. Effects of water culture medium, cultivation systems and growth modes for microalgae cultivation: A review. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, v. 91, p. 332-344, 2018.

CHIAIESE, P.; CORRADO, G.; COLLA, G.; KYRIACOU, M. C.; ROUPHAEL, Y. Renewable sources of plant biostimulation: Microalgae as a sustainable means to improve crop performance. Frontiers in Plant Science, v. 871, p. 1–6, 2018.

DEBIAGI, P. E. A.; TRINCHERA, M.; FRASSOLDATI, A.; FARAVELLI, T.; VINU, R.; RANZI, E. Algae characterization and multistep pyrolysis mechanism. Journal of Analytical and Applied Pyrolysis, vol. 128, p. 423-436, 2017.

DRAGONE, G.; FERNANDES, B. D.; ABREU, A. P.; VICENTE, A. A.; TEIXEIRA, J. A. Nutrient limitation as a strategy for increasing starch accumulation in microalgae. Applied Energy, n. 88, p. 3331-3335, 2011.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. Nature, v. 28, n. 3, p. 350 - 356, 1956.

FERNANDES, M. S. M.; FRANÇA, K. B.; ALVES, R. V.; PEARSON, H. W.; LIMA, S. A.; COSTA, T. S.; SILVEIRA, B. Avaliação do crescimento da microalga *Scenedesmus* sp. em diferentes concentrações de NaCl. ENGEVISTA, v. 19, n. 1, p. 185-193, 2017.

GOIRIS, K.; MUYLAERT, K.; FRAEYE, I.; FOUBERT, I.; BRABANTER, J.; DE COOMAN, L. Antioxidant potential of microalgae in relation to their phenolic and carotenoid content. Journal of Applied Phycology, v. 24, n. 6, p. 1477–1486, 2012.

KHAN, M. I.; SHIN, J. H.; KIM, J. D. The promising future of microalgae: current status, challenges, and optimization of a sustainable and renewable industry for biofuels, feed, and other products. Microbial Cell Factories, vol. 17, p. 17-36, 2018.

LEE, S.; OH, Y.; KIM, D.; KWON, D.; LEE, C.; LEE, J. Converting carbohydrates extracted from marine algae into ethanol using various ethanolic *Escherichia coli* strains. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, n. 164, p. 878-888, 2011.

LEITE, L. S.; HOFFMANN, M. T.; DANIEL, L. A. Microalgae cultivation for municipal and piggyery wastewater treatment in Brazil. *Journal of Water Process Engineering*, vol. 31, p. 1-7 2019.

LORENZEN, C. J. Determination of chlorophyll and phaeophytin: spectrophotometric equations. *Limnology and Oceanography*, v. 12, p.343-346, 1967.

LOURENÇO, S.O. 2006. Cultivo de microalgas marinhas – Princípios e aplicações. São Carlos. Rima, 588 p.

LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, v.193, p.265–275, 1951.

LIYANAARACHCHI, V. C.; PREMARATNE, M.; ARIYADASA, T. U.; NIMARSHANA, P. H. V.; MALIK, A. Two-stage cultivation of microalgae for production of high-value compounds and biofuels: A review. *Algal Research*, vol. 57, p. 1-21, 2021.

MARKOU, G.; NERANTZIS, E. Microalgae for high-value compounds and biofuels production: a review with focus on cultivation under stress conditions. *Biotechnology Advances*, v. 31, n. 8, p. 1532–1542, 2013.

MILITÃO, F. P.; FERNANDES, V. O.; BASTOS, K. V.; MARTINS, A. P.; COLEPICOLO, P.; MACHADO, L. P. Nutritional value changes in response to temperature, microalgae mono and mixed cultures. *Acta Limnologica Brasiliensia*, vol. 31, p. 1-11, 2019.

MILITÃO, F. P. Microalgas em sistemas de piscicultura: Aspectos ecofisiológicos e aplicações sustentáveis. Tese de doutorado – Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2022.

MULDERS, K. J.; LAMERS, P. P.; MARTENS, D. E.; WIJFFELS, R. H. Phototrophic pigment production with microalgae: biological constraints and opportunities. *Journal of Phycology*, v. 50, n. 2, p. 229-242, 2014.

SOUZA, R. L. M.; VIANNA, W. K. R.; MOREIRA, M. S. M.; FILHO, A. A. S.; LISBOA, V.; VIDIGAL, R. C. A. B.; CATTER, K. M.; ELOY, H. R. F.; MATIAS, J. F. N. Technological innovations in the cultivation of *Haematococcus pluvialis* microalgae: review. *Sistemas & Gestão*, v. 15, n. 3, p. 223– 234, 2020.

NICOLAU, M. C. M.; Avaliação de antioxidantes no cultivo da microalga *Messastrum gracile* (Reinsch). Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2020.

OMETTO, F.; STEINHOVDEN, K. B.; KUCI, H.; LUNNBÄCK, J.; BERG, A.; KARLSSON, A. Seasonal variation of elements composition and biomethane in brown macroalgae. *Biomass Bioenergy*, vol. 8, p. 109-131, 2018.

POSTMA, P. R.; SUAREZ-GARCIA, E.; SAFI, C.; YONATHAN, K.; OLIVIERI, G.; BARBOSA, M. J.; PPINK, M. H. M. Energy efficient bead milling of microalgae: Effect of bead size on disintegration and release of proteins and carbohydrates. *Bioresource Technology*, vol. 224, p. 670–679, 2017.

SOUZA, L.; SIMIONI, C.; BOUZON, Z. L.; SCHNEIDER, R. C. S.; GRESSLER, P.; MIOTTO, M. C.; RÖRIG, L. R. Morphological and ultrastructural characterization of the acidophilic and lipid-producer strain *Chlamydomonas acidophila* LAFIC-004 (Chlorophyta) under different culture conditions. *Protoplasma*, vol. 254, n. 3, p. 1385–1398, 2016.

SIDDIKI, S. Y. A.; MOFIJUR, M.; KUMAR, P. S.; AHMED, S. F.; INAYAT, A.; KUSUMO, F.; MAHLIA, T. M. I. Microalgae biomass as a sustainable source for biofuel, biochemical and biobased value-added products: An integrated biorefinery concept. *Fuel*, vol. 307, p. 1-31, 2022.

SUPARMANIAM, U.; LAM, M. K.; UEMURA, Y.; LIM, J. W.; LEE, K. T.; SHUIT, S. H. Insights into the microalgae cultivation technology and harvesting process for biofuel production: a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 115, p. 1-23, 2019.

STEIN, J. R. 1975. Handbook of phycological methods, culture methods and growth measurements. Cambridge University Press, 448p.

STRICKLAND, J. D. H.; PARSONS, T. R. A practical handbook of seawater analysis. Bulletin Fisheries Research Board, Canadá, v. 167, p. 1-311, 1968.

TIBBETTS, S. M.; MELANSON, R. J.; PARK, K. C.; BANSKOTA, A. H.; STEFANOVA, R.; MCGINN, P. J. Nutritional evaluation of whole and lipid-extracted biomass of the microalga *Scenedesmus* sp. AMDD isolated in Saskatchewan, Canada for animal feeds: proximate, amino acid, fatty acid, carotenoid and elemental composition. Current Biotechnology, vol. 4, n. 4, p. 530-546, 2015.

VIEIRA, T. Q.; FERREIRA, W. B.; ARAÚJO, H. W. C.; CUNHA, T. H. C. S.; VIDAL, I. C. A.; MELO, D. J. N. Estudo da viabilidade do uso de resíduos líquidos no cultivo da microalga *Chlorella* sp. visando a produção de biocombustíveis. Revista Monografias Ambientais, Santa Maria, v. 13, n. 4, p. 3477- 3490, 2014.

YOUSUF A. Chapter 1 – Fundamentals of microalgae cultivation. In: Yousuf A, editor. Microalgae cultivation for biofuels production. Academic Press, p. 1-9, 2020.

ZUCCARO, G.; YOUSUF, A.; POLLIO, A.; STEYER, J. P. Chapter 2 – Microalgae cultivation systems. In: Yousuf A, editor. Microalgae cultivation for biofuels production. Academic Press, p. 11-29, 2020.

CAPÍTULO 2: Efeito do extrato de microalgas na germinação e crescimento inicial de três espécies vegetais.

Autores: Nair Hildelgard Soares dos Santos^{1*} • Levi Pompermayer Machado² • Valéria de Oliveira Fernandes¹

(1) Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Humanas e Naturais, Departamento de Ciências Biológicas, Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal, CEP 29075-910, Vitória, ES, Brasil.

(2) Universidade Do Estado de São Paulo, Departamento de Engenharia de Pesca, CEP 11900-000, Registro, SP, Brasil.

*Autor para correspondência: nairh13@gmail.com

INTRODUÇÃO

Um dos maiores desafios atuais da humanidade consiste no equilíbrio entre o desenvolvimento de novas tecnologias e a conservação ambiental sem causar a sobre-exploração dos recursos naturais, o que coloca a agricultura no centro dessa discussão (NAVARRO-LÓPEZ et al., 2020; CORRÊA et al., 2021). Essa pressão demográfica global sobre a produção agrícola exige abordagens novas e sustentáveis para satisfazer a crescente demanda por biomassa vegetal destinada à alimentação humana, alimentação animal e produção de energia. A prática agrícola convencional baseou-se predominantemente em insumos não renováveis de fertilizantes e pesticidas (CHIAIESE et al., 2018).

Neste contexto, bioestimulantes vegetais pode desempenhar um papel fundamental na abordagem dos desafios de sustentabilidade porque podem reduzir a dependência de fertilizantes (YAKHIN et al., 2017), sendo considerados ecologicamente corretos. Sua utilização tem por objetivo melhorar qualitativa e quantitativamente a produtividade das culturas, bem como diminuir a poluição e os impactos ambientais associados ao uso de fertilizantes sintéticos (SCAGLIA et al., 2017).

A palavra “bioestimulante” foi aparentemente criada por especialistas em horticultura para descrever substâncias que promovem o crescimento de plantas sem serem nutrientes, melhoradores de solo ou pesticidas (DU JARDIN, 2015). No âmbito legal os bioestimulantes, são qualificados como produtos que contém componentes ativos ou agentes biológicos capazes de atuar, direta ou indiretamente, sobre o todo ou parte das plantas cultivadas, melhorando o desempenho do sistema de produção, e que seja isento de substâncias proibidas pela regulamentação de orgânicos, de acordo com a Instrução Normativa 64 de 18/12/2008 (MAPA, 2008), desde que aplicados em baixas doses, na semente, cultura ou solo, são capazes de regular e melhorar os processos fisiológicos da cultura (ZHANG; SCHMIDT, 1997).

As microalgas apresentam diversas aplicações biotecnológicas (RIZWAN et al., 2018), dentre essas como bioestimulantes. Na agricultura moderna, as microalgas são uma opção ecologicamente correta para substituir os fertilizantes químicos, pois podem ser usadas como bioestimulantes, modificadores de solo e aditivos alimentares (DINESHKUMAR et al., 2019). Os bioestimulantes produzidos a partir de extratos de algas contém moléculas bioativas complexas que apresentam funcionalidades variadas, de acordo com o método de extração e modo de aplicação (SHUKLA et al., 2019).

A aplicação das microalgas como bioestimulante na agricultura é realizada adicionando sua biomassa (seca ou úmida) ou obtendo seus extratos aquosos a serem aplicados (GONZÁLEZ-PÉREZ et al., 2022). Foi comprovado que microalgas apresentam efeitos positivos na germinação, crescimento e desenvolvimento da planta, pois impulsionam a síntese de clorofila e carotenoides, apresentam substâncias promotoras de crescimento, como auxinas, citocininas (GUO et al., 2020),

betaínas, giberelinas, aminoácidos que atuam no crescimento e rendimento das culturas, e polissacarídeos, que melhoram o crescimento da planta como um todo (KAPOREE et al., 2021; GONZÁLEZ-PÉREZ et al., 2022).

A germinação de sementes é um processo crucial, caracterizado por uma série de etapas, ocorrendo normalmente antes da emergência da radícula do tegumento da semente (MARTIN et al., 2009), sendo assim definida como um fenômeno fisiológico evidenciado pela emergência da raiz primária, em que o desenvolvimento subsequente é considerado como pós germinativo (BEWLEY; BLACK, 1994), ou seja, o desenvolvimento do embrião e a emergência da plântula até tornar-se independente das reservas da semente (FERREIRA, 2004; CARVALHO; NAKAGAWA, 2012).

Existem diversos fatores que influenciam no processo de germinação, podendo ser classificados como internos (intrínsecos, como longevidade e viabilidade) e externos, relacionados às condições ambientais, como umidade, temperatura, tipo de substrato, luz e oxigênio (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012). Tais fatores interferem diretamente na porcentagem de sementes germinadas e na velocidade com que este processo ocorre, pois tende a influenciar a velocidade de absorção de água e as reações químicas determinantes no processo germinativo (OLIVEIRA; BARBOSA, 2014). Portanto, a análise da germinação de sementes é base para a propagação de espécies nativas e para o entendimento da regeneração natural em comunidades vegetais (COSMO et al., 2017) e, para as culturas agrícolas, esse método torna-se extremamente importante para compreensão dos seus aspectos fisiológicos e para auxiliar no rendimento e produtividade da cultura.

Já foi constatado anteriormente que extratos de espécies dos gêneros *Chlorella* sp. e *Scenedesmus* sp. podem atuar como bioestimulantes aumentando a capacidade de germinação das sementes e até, modulando a expressão gênica relacionada à aquisição de nutrientes (BARONE et al., 2018; PUGLISI et al., 2020).

É necessário investigar as condições ideais que proporcionem melhor resposta germinativa das sementes, principalmente por se tratar de espécies com grande importância econômica. Desta forma, entender o mecanismo de ação desde a germinação até o estabelecimento das plântulas é indispensável, além de conseguir determinar concentrações do extrato que efetivamente atuam sobre essas respostas.

O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito de extratos de microalgas dos gêneros *Chlorella* e *Scenedesmus*, em diferentes concentrações, na germinação de sementes de feijão BRS Estilo, mamão Formosa e milho doce Azteca.

MATERIAIS E MÉTODOS

As espécies de microalgas utilizadas no experimento foram selecionadas no Banco de Cultivo de Microalgas do Laboratório de Taxonomia e Ecologia de Algas Continentais da Universidade Federal do Espírito Santo. Foram utilizadas as espécies de microalgas; *Scenedesmus acuminatus* (Lagerheim) Chodat, *Scenedesmus obliquus* (Turpin) Kützing, *Chlorella vulgaris* Beijerinck e *Chlorella pyrenoidosa* H. Chick

Os experimentos de cultivo tiveram duração de 21 dias em condições ideais de temperatura, luminosidade e pH, sob temperatura de 25 °C, fotoperíodo de 12/12h (luz/escuro) com iluminância máxima de 40 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e pH de $7 \pm 0,05$.

Os extratos aquosos foram obtidos por meio da aplicação de água destilada a 60 °C, durante 45 minutos. O caldo obtido foi filtrado com auxílio de papel filtro e conservado em refrigerado a 4 °C até o momento das análises (ANISIMOV; CHAIKINA. 2014). Foram avaliados extratos em quatro concentrações, sendo: 0,5 g/L, 1,0 g/L, 1,5 g/L e 2,5 g/L, para todas as microalgas. Além do controle negativo, com água destilada e controle positivo com extrato comercial base da macroalga marinha *Ascophyllum nodosum*.

Foram determinados o potencial osmótico e do pH para verificar a influência destas variáveis nos extratos analisados sobre a germinação e desenvolvimento inicial das plântulas, a fim de garantir que os resultados observados podem ser atribuídos ao efeito bioestimulante. A determinação do potencial osmótico foi realizada com o potenciômetro WP4 modelo C – Decagon. A fim de obter as concentrações de macro e micronutrientes foi realizada a análise de teores nutricionais (MALAVOLTA et al., 1997). Para caracterizar e avaliar a viabilidade das sementes foram realizados os seguintes testes: teor de água e potencial osmótico.

O experimento foi conduzido no Laboratório de Taxonomia e Ecologia de Algas Continentais (LATEAC-UFES) seguindo um delineamento inteiramente casualizado. As sementes foram distribuídas em rolos de papel Germitest® (25 sementes por rolo) (Figura 1), em quatro repetições, totalizando 100 sementes por tratamento. Estas foram mantidas em germinadoras de Demanda Bioquímica de Oxigênio (BOD) sob fotoperíodo de 12 horas (claro/escuro) ajustadas a temperatura de 25 ± 2 °C.

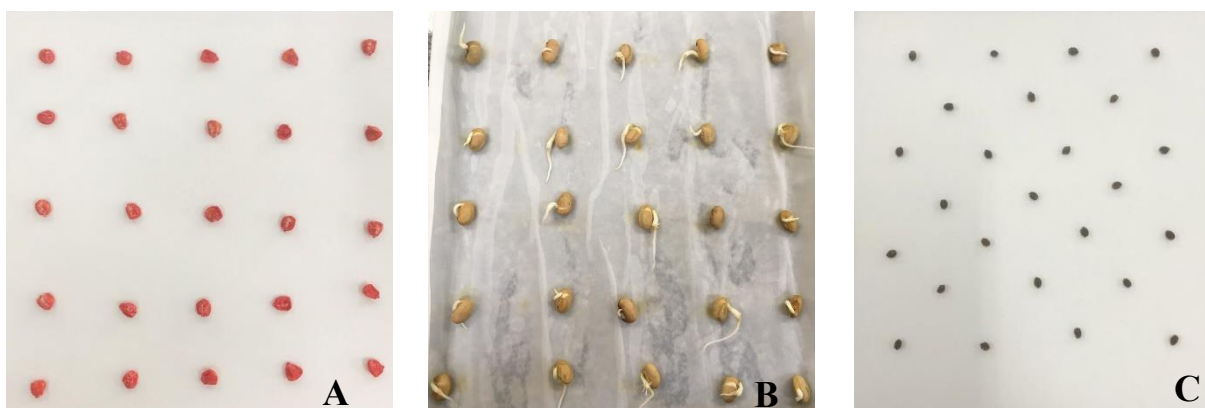


Figura 1: Sementes distribuídas em rolos de papel Germitest®, sendo A: milho; B: feijão e C: mamão.

Os extratos das algas foram aplicados na quantidade de 3 mL a cada 48 horas, com um pulverizador de água. Foram determinados períodos diferentes para coleta de cada semente, considerando seu tempo de germinação. Desta forma, a colheita foi realizada nos períodos de 10, 15 e 20 dias após a semeadura, do feijão, milho e mamão, respectivamente. O experimento de germinação foi conduzido em rolos de papel Germitest®, com quatro repetições, para cada tratamento, totalizando 100 sementes para cada concentração de extrato obtido, ou seja, quatro concentrações, além do controle negativo e positivo totalizando 600 sementes por extrato de alga, para cada cultivar. As sementes foram mantidas em condições ideais em germinadoras de Demanda Bioquímica de Oxigênio (BOD) sob fotoperíodo de 12 horas (claro/escuro) ajustadas a temperatura de 25 ± 2 °C.

Os parâmetros avaliados: porcentagem de germinação (%G), calculada pela fórmula $G = (N/A) \times 100$. Sendo N = total de sementes germinadas; A = total de sementes. Índice de velocidade de germinação (IVG), calculado pela fórmula $IVG = \sum (ni/ti)$, em que: ni = número de sementes que germinaram no tempo “i”; ti = tempo após instalação do teste (Maguire 1962). Tempo médio de germinação (TMG), calculado pela fórmula $TMG = (\sum niti)/\sum ni$, onde: ni = número de sementes germinadas por dia; ti = tempo de incubação (Labouriau 1983) e vigor das plântulas (comprimento parte aérea x radícula e pesagem da biomassa seca). A altura e comprimento de radícula foram determinados com auxílio de paquímetro e expressos em centímetros. A pesagem da biomassa seca foi realizada em balança analítica e expressa em gramas.

Os dados foram submetidos à análise de variância e comparação múltipla teste *pos hoc* de Tukey para testar a significância das diferenças entre as médias dos tratamentos. As diferenças foram consideradas significativas a um nível mínimo de $p < 0,01$, utilizando o software Assistat (Versão 7.7). Considerando os dados obtidos na biomassa seca, foi realizada análise de regressão polinomial, a partir das médias, para avaliar as concentrações dos extratos, sendo selecionado aquele com maior valor do coeficiente de determinação (R^2) (PINHO et al., 2010), utilizando o software SigmaPlot versão 10.

RESULTADOS

Feijão

Os resultados obtidos na germinação das sementes de feijão demonstram que houve diferença significativa entre controle e tratamentos e, entre as diferentes concentrações de extratos testadas (Figura 2). Todos os extratos testados influenciaram na resposta germinativa, e a concentração que obteve melhores resultados de germinação foi 1,5 g/L, variando entre 95 % e 99%. O extrato da microalga *Chlorella vulgaris* foi significativamente superior, obtendo alto índice de germinação em

todas as concentrações. Em todos os extratos testados, as sementes submetidas a concentração 2,5 g/L obtiveram menor germinação.

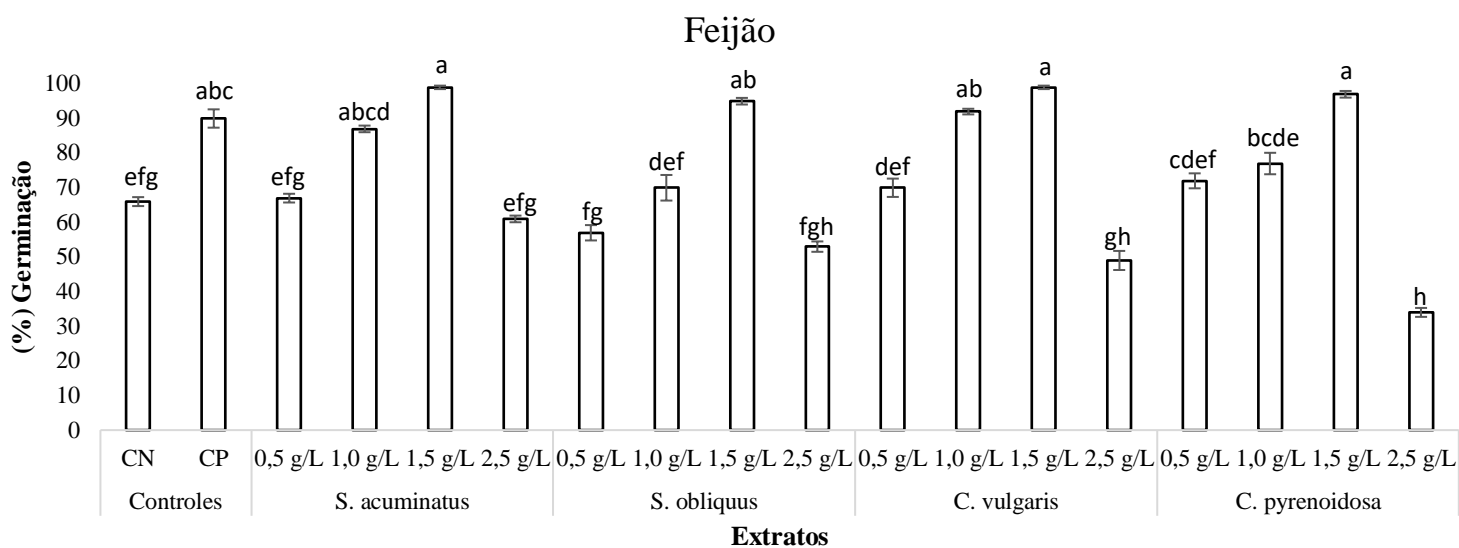


Figura 2: Porcentagem de germinação de sementes de feijão submetidas a diferentes extratos e concentrações e controle positivo e negativo. Barras representam o desvio padrão da média (n=25).

O tempo médio de germinação foi significativamente superior nas sementes submetidas a aplicação do extrato de *S. obliquus* na concentração de 1,5 g/L (Tabela 1), com uma média de 6,69 dias, apesar disso o índice de velocidade de germinação das sementes tratadas com esse extrato em todas as concentrações não apresentou diferença significativa. Foram observados maiores índices de velocidade de germinação nas sementes tratadas com o extrato de *S. acuminatus* variando entre as concentrações de 0,5 g/L a 1,5 g/L. Além disso, as sementes submetidas a aplicação do extrato de *C. vulgaris* na concentração de 1,5 g/L, também apresentaram resultados estatisticamente significativos para este parâmetro.

Tabela 1: Valores médios do índice de velocidade de emergência (IVG) e tempo médio de germinação (TMG em dias) das sementes de feijão.

Extratos	Concentrações	TMG	IVG
<i>S. acuminatus</i>	0,5 g/L	1.240 f	9.094 a
	1,0 g/L	2.675 def	9.857 a
	1,5 g/L	1.624 f	11.008 a
	2,5 g/L	1.758 f	6.578 b
<i>S. obliquus</i>	0,5 g/L	4.431 abcde	3.787 def
	1,0 g/L	5.195 abc	4.286 cdef
	1,5 g/L	6.699 a	5.247 bcd
	2,5 g/L	3.389 bcdef	4.067 def
<i>C. vulgaris</i>	0,5 g/L	3.593 bcdef	5.329 bcd
	1,0 g/L	4.341 abcde	6.277 bc
	1,5 g/L	1.990 ef	10.559 a
	2,5 g/L	4.652 abcd	3.122 ef
<i>C. pyrenoidosa</i>	0,5 g/L	5.430 abc	5.139 bcde
	1,0 g/L	5.386 abc	5.539 bcd
	1,5 g/L	5.587 ab	6.927 b
	2,5 g/L	3.000 cdef	3.013 f
Controle	C. negativo	3.042 cdef	6.696 b
	C. positivo	1.344 f	10.517 a

Médias (n=25) seguidas de letras iguais na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey com significância de 1%.

Considerando o desenvolvimento inicial, as plântulas responderam positivamente à aplicação dos extratos em todos os parâmetros avaliados. Foram registradas maiores alturas das plântulas submetidas ao extrato de *Chlorella pyrenoidosa* nas concentrações de 1,0 g/L e 1,5 g/L, com 16,24 cm e 18,06 cm, respectivamente. O extrato de *Chlorella vulgaris*, na concentração de 1,5 g/L, e o Controle positivo também foram significativamente superior neste parâmetro (Tabela 2). O crescimento radicular obteve maiores valores e foi estatisticamente significativo nas plântulas submetidas ao Controle positivo e no extrato de *C. pyrenoidosa* na concentração 1,5 g/L. Os maiores valores de biomassa foram registrados nas plântulas submetidas ao extrato de *C. vulgaris*, com diferença significativa. As sementes submetidas a concentração de 1,5 g/L do extrato de *C. pyrenoidosa* também foram significativamente superiores em todos parâmetros.

Tabela 2: Valores médios de altura da plântula (cm), comprimento da radícula (cm) e biomassa fresca (g) de plântulas de feijão.

Extratos	Concentrações	Altura (cm)	Radícula (cm)	Biomassa seca (g)
<i>S. acuminatus</i>	0,5 g/L	8.52 ± 0,19 g	8.34 ± 0,51 efg	0.48 ± 0,03 fg
	1,0 g/L	8.33 ± 0,48 g	8.11 ± 0,35 efgh	0.53 ± 0,009 f
	1,5 g/L	12.8 ± 0,13 d	11.60 ± 0,66 cd	0.73 ± 0,02 e
	2,5 g/L	6.03 ± 0,12 i	6.12 ± 0,14 hij	0.35 ± 0,008 h
<i>S. obliquus</i>	0,5 g/L	5.89 ± 0,21 i	6.04 ± 0,20 ij	0.37 ± 0,01 h
	1,0 g/L	7.82 ± 0,16 gh	7.68 ± 0,23 fgghi	0.43 ± 0,01 gh
	1,5 g/L	11.04 ± 0,25 e	11.17 ± 0,37 cd	0.78 ± 0,03 e
	2,5 g/L	4.64 ± 0,14 j	4.91 ± 0,24 j	0.39 ± 0,01 h
<i>C. vulgaris</i>	0,5 g/L	9.76 ± 0,17 f	9.58 ± 0,09 def	1.036 ± 15,3 c
	1,0 g/L	12.58 ± 0,28 d	12.47 ± 0,19 abc	1.104 ± 32,69 c
	1,5 g/L	16.69 ± 0,31 b	12.10 ± 1,46 bc	1.415 ± 27,76 a
	2,5 g/L	9.81 ± 0,21 f	9.98 ± 0,16 de	1.0 ± 0,009 e
<i>C. pyrenoidosa</i>	0,5 g/L	8.10 ± 0,08 g	8.10 ± 0,11 efgh	0.90 ± 0,007 d
	1,0 g/L	16.24 ± 0,31 b	12.12 ± 2,05 bc	0.89 ± 0,007 d
	1,5 g/L	18.06 ± 0,02 a	13.90 ± 0,43 ab	1.308 ± 1,16 b
	2,5 g/L	6.97 ± 0,18 h	7.26 ± 0,27 ghi	0.79 ± 0,008 e
Controle	C. negativo	13.82 ± 1,15 c	12.65 ± 0,85 abc	0.51 ± 0,01 fg
	C. positivo	16.61 ± 0,35 b	14.38 ± 1,64 a	0.74 ± 0,005 e

Médias (n= 25) seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si, para o parâmetro avaliado e em resposta aos tratamentos, pelo teste de Tukey com significância de 1%

Os resultados obtidos indicam que as concentrações dos extratos foram determinantes para resposta germinativa das sementes, principalmente nas sementes submetidas ao extrato de *C. vulgaris* (Figura 3), em que as sementes responderam exponencialmente ao aumento das concentrações até 1,5 g/L e, ao atingir a concentração de 2,5 g/L houve declínio nas respostas germinativas, com coeficiente de determinação r^2 : 0,8291.

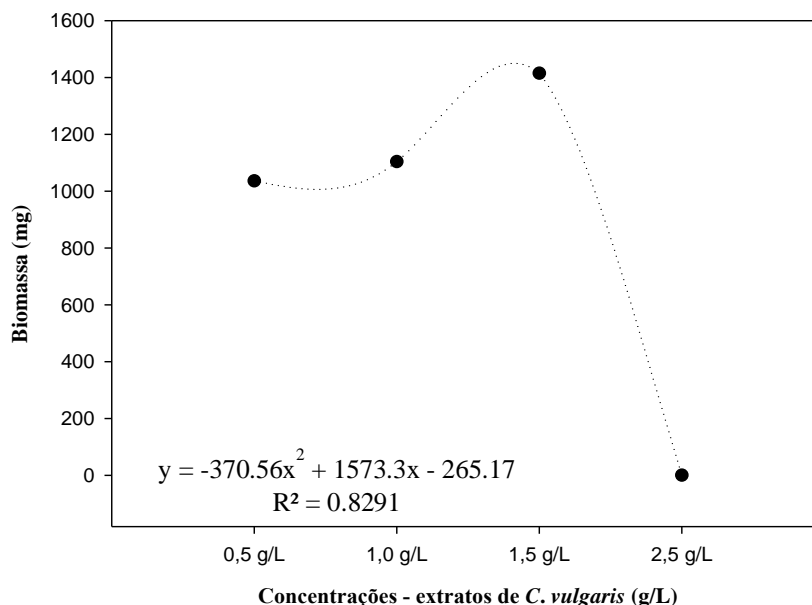


Figura 3: Biomassa de plântulas de feijão com aplicação de diferentes concentrações do extrato de *C. vulgaris*.

Mamão

Os resultados obtidos para o mamão evidenciam que as sementes submetidas aos extratos de *C. vulgaris* e *C. pyrenoidosa* alcançaram maiores porcentagens de germinação e foram significativamente diferentes (Figura 4).

Nestes extratos a concentração que obteve maior porcentagem de germinação foi 1,5 g/L, com 97 % e 96%, respectivamente. As sementes submetidas ao extrato da microalga *S. obliquus* obtiveram uma germinação inferior, não ultrapassando 32%.

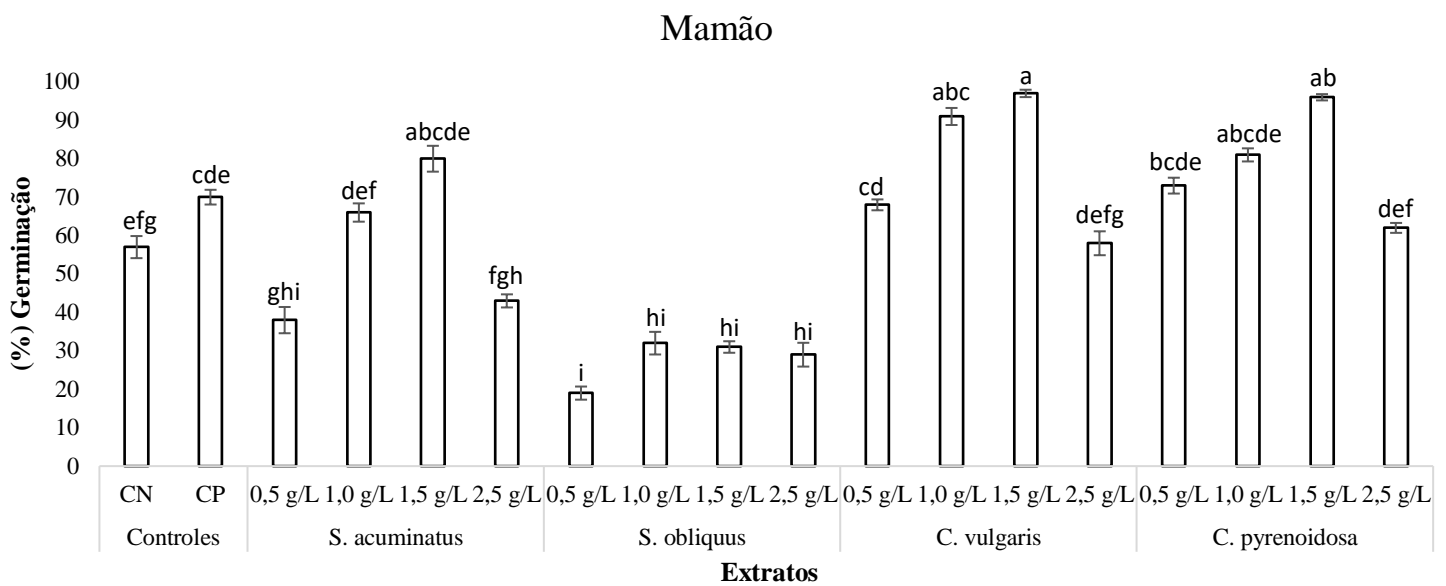


Figura 4: Porcentagem de germinação de sementes de mamão submetidas a diferentes extratos e concentrações e controle positivo e negativo. Barras representam o desvio padrão da média (n=25).

Os maiores valores de tempo médio de germinação foram registrados nas sementes submetidas a aplicação do extrato de *S. obliquus* nas concentrações de 1,5 g/L e 2,5 g/L (Tabela 3), com uma média de 16,63 e 18,49 dias, respectivamente. Já para o índice de velocidade de germinação, as sementes submetidas aos extratos de *C. vulgaris* e *C. pyrenoidosa* apresentaram maiores valores com diferença significativa, na concentração de 1,5 g/L.

Tabela 3: Valores médios do índice de velocidade de emergência (IVG) e tempo médio de germinação (TMG em dias) das sementes de mamão.

Extratos	Concentrações	TMG	IVG
<i>S. acuminatus</i>	0,5 g/L	5.002 efg	0.722 hi
	1,0 g/L	6.966 def	1.308 efg
	1,5 g/L	10.377 c	1.534 cdef
	2,5 g/L	4.039 fg	0.801 ghi
<i>S. obliquus</i>	0,5 g/L	9.754 cd	0.490 i
	1,0 g/L	9.120 cd	0.822 ghi
	1,5 g/L	16.631 a	0.766 ghi
	2,5 g/L	18.496 a	0.751 hi
<i>C. vulgaris</i>	0,5 g/L	4.743 efg	1.498 cdef
	1,0 g/L	6.268 def	1.930 abcdef
	1,5 g/L	14.425 b	2.287 a
	2,5 g/L	7.553 de	1.419 def
<i>C. pyrenoidosa</i>	0,5 g/L	2.106 h	1.716 bcde
	1,0 g/L	13.953 b	1.975 abc
	1,5 g/L	8.876 cde	2.234 ab
	2,5 g/L	6.416 def	1.480 cdef
Controle	C. negativo	7.271 de	1.021 fghi
	C. positivo	8.695 cde	1.227 efgh

Médias (n=25) seguidas de letras iguais na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey com significância de 1%.

Em relação à altura das plântulas, as sementes submetidas aos extratos de *C. vulgaris* (Figura 5) e *C. pyrenoidosa* (Figura 6) alcançaram maiores valores médios nas concentrações 1,0 g/L e 1,5 g/L, variando entre 9,75 dias e 12,20 dias, sendo significativamente diferentes dos outros extratos.



Figura 5: Plântulas de mamão submetidas ao extrato de *C. vulgaris*. Da esquerda para direita: controle negativo, controle positivo, extrato na concentração 0,5 g/L; extrato na concentração 1,0 g/L; extrato na concentração 1,5 g/L e extrato na concentração 2,5 g/L.



Figura 6: Plântulas de mamão submetidas ao extrato de *C. pyrenoidosa*. Da esquerda para direita: controle negativo, controle positivo, extrato na concentração 0,5 g/L; extrato na concentração 1,0 g/L; extrato na concentração 1,5 g/L e extrato na concentração 2,5 g/L.

O crescimento radicular e a biomassa das plântulas também foram significativamente maiores nessas concentrações e mesmos extratos, quando comparados aos outros extratos e tratamentos (Tabela 4).

Tabela 4: Valores médios de altura da plântula (cm), comprimento da radícula (cm) e biomassa fresca (g) de plântulas de mamão.

Extratos	Concentrações	Altura (cm)	Radícula (cm)	Biomassa seca (g)
<i>S. acuminatus</i>	0,5 g/L	6.14 ± 0,38 fg	6.02 ± 0,48 efg	0.33 ± 0,01 e
	1,0 g/L	8.37 ± 0,17 cde	8.34 ± 0,28 bcde	0.35 ± 0,01 e
	1,5 g/L	8.95 ± 0,12 cd	8.94 ± 0,13 bcd	0.45 ± 0,01 d
	2,5 g/L	5.08 ± 0,05 g	4.82 ± 0,09 g	0.15 ± 0,02 g
<i>S. obliquus</i>	0,5 g/L	5.00 ± 1,10 g	5.94 ± 3,90 efg	0.06 ± 0,01 h
	1,0 g/L	6.17 ± 0,80 fg	6.23 ± 0,30 defg	0.22 ± 0,008 f
	1,5 g/L	7.78 ± 0,17 de	7.53 ± 0,57 cdefg	0.16 ± 0,01 fg
	2,5 g/L	5.08 ± 0,18 g	5.30 ± 0,28 fg	0.14 ± 0,03 g
<i>C. vulgaris</i>	0,5 g/L	7.39 ± 0,19 ef	7.62 ± 0,09 cdefg	0.49 ± 0,008 cd
	1,0 g/L	10.87 ± 0,21 ab	10.89 ± 0,28 ab	0.70 ± 0,05 b
	1,5 g/L	12.20 ± 0,13 a	12.44 ± 0,19 a	0.87 ± 0,01 a
	2,5 g/L	6.02 ± 0,26 fg	6.23 ± 0,13 defg	0.37 ± 0,01 e
<i>C. pyrenoidosa</i>	0,5 g/L	8.07 ± 0,02 de	7.88 ± 0,14 cdef	0.74 ± 0,03 b
	1,0 g/L	9.75 ± 0,77 bc	9.73 ± 0,98 abc	0.86 ± 0,02 a
	1,5 g/L	11.19 ± 0,27 ab	11.06 ± 0,13 ab	0.87 ± 0,02 a
	2,5 g/L	7.43 ± 0,32 def	7.34 ± 0,11 cdefg	0.55 ± 0,007 c
Controle	C. negativo	6.05 ± 1,69 fg	5.76 ± 1,04 efg	0.38 ± 0,01 e
	C. positivo	7.40 ± 0,50 ef	7.24 ± 1,98 cdefg	0.49 ± 0,01 cd

Médias (n= 25) seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si, para o parâmetro avaliado e em resposta aos tratamentos, pelo teste de Tukey com significância de 1%

As sementes submetidas ao extrato de *C. vulgaris* (Figura 7) e *C. pyrenoidosa* (Figura 8) demonstraram tendência ao aumento da biomassa de acordo com as concentrações, até atingir a concentração de 1,5 g/L e, ao atingir a concentração de 2,5 g/L apresentou diminuição na biomassa, com coeficientes de determinação r^2 : 0,8687 e r^2 :0,965, respectivamente.

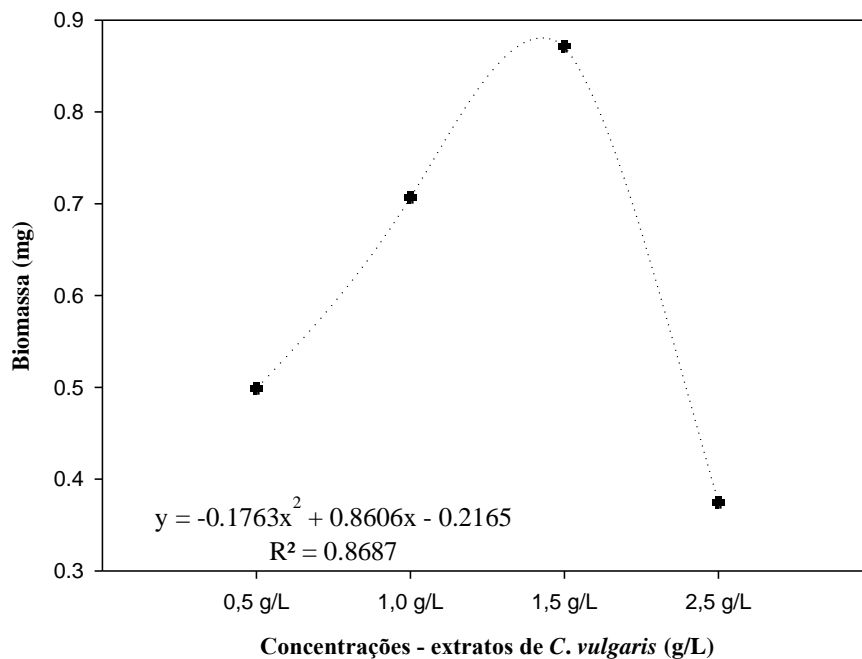


Figura 7: Biomassa de plântulas de mamão com aplicação de diferentes concentrações do extrato de *C. vulgaris*.

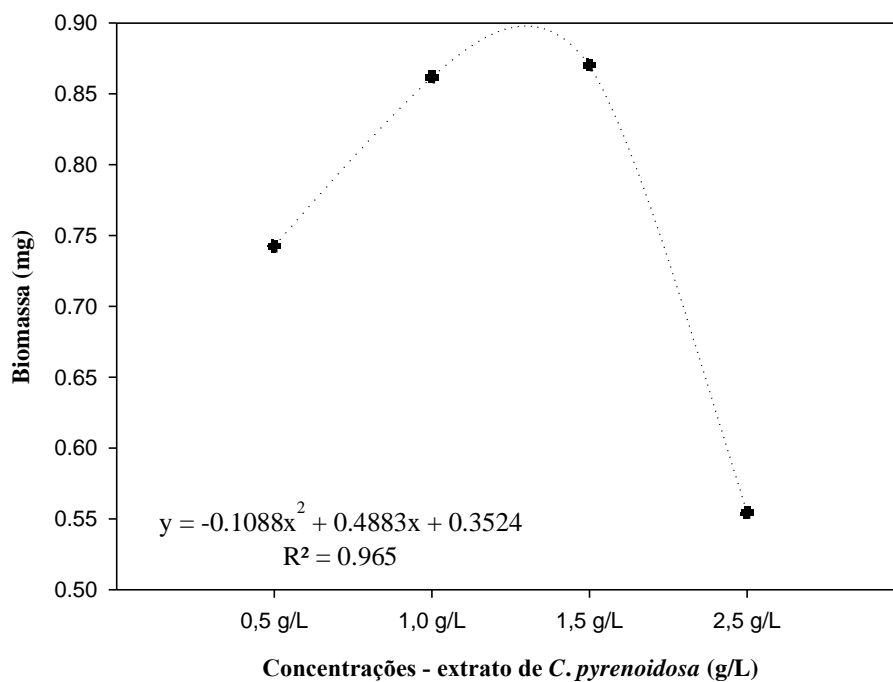


Figura 8: Biomassa de plântulas de mamão com aplicação de diferentes concentrações do extrato de *C. pyrenoidosa*.

Milho

A germinação das sementes de milho obteve alta porcentagem na maioria dos extratos, com exceção das sementes submetidas ao extrato de *S. acuminatus* (Figura 9). As sementes submetidas aos outros extratos obtiveram germinação significativamente superior na concentração de 1,5 g/L, com valores entre 96% e 98%. Além disso, sementes submetidas a concentração de 1,0 g/L do extrato de *S. obliquus* também foram estatisticamente significativas, atingindo 98%.

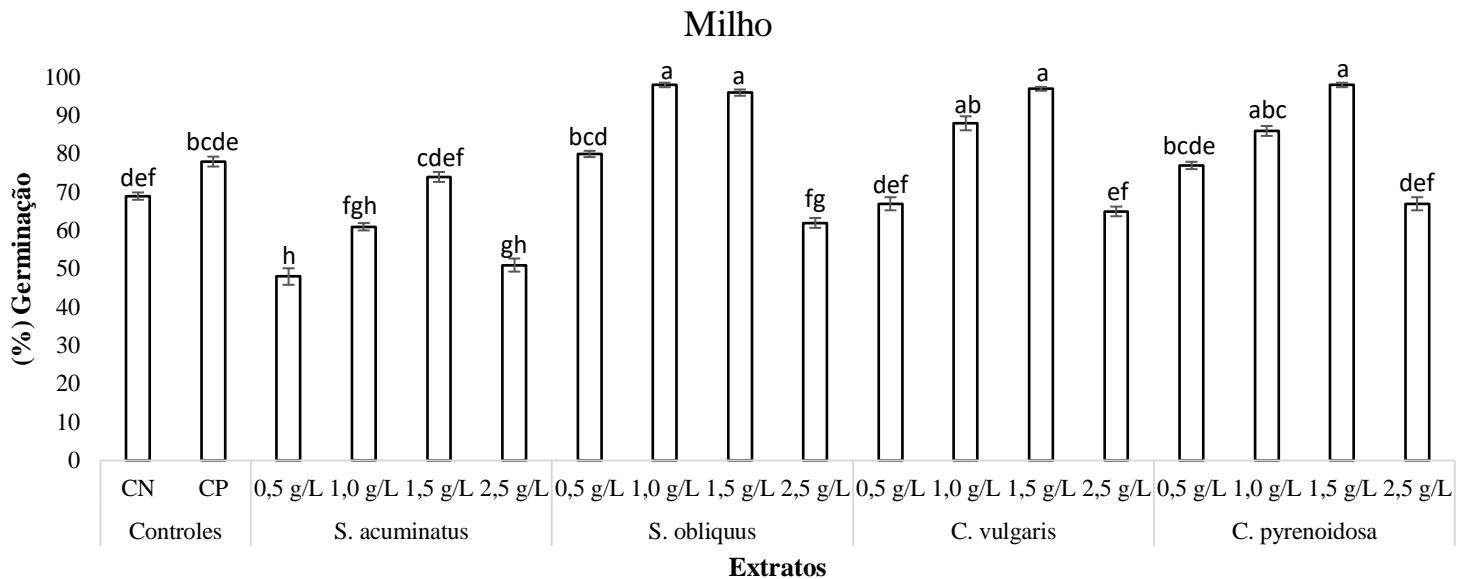


Figura 9: Porcentagem de germinação de sementes de milho submetidas a diferentes extratos e concentrações e controle positivo e negativo. Barras representam o desvio padrão da média (n=25).

As sementes de milho não apresentaram grande variação entre os extratos e concentrações, em relação ao tempo médio de germinação, sendo o maior tempo médio observado nas sementes do Controle negativo, com média de 10,09 dias (Tabela 5). Diferentemente das sementes de feijão e mamão, as sementes submetidas a concentração de 2,5 g/L nos extratos *S. acuminatus* e *C. pyrenoidosa* apresentaram valores significativamente maiores comparados as outras concentrações.

Os maiores índices de velocidade de germinação foram registrados nas sementes submetidas aos extratos de *C. vulgaris* e *C. pyrenoidosa* na concentração de 1,5 g/L, sendo significativamente diferente.

Tabela 5: Valores médios do índice de velocidade de emergência (IVG) e tempo médio de germinação (TMG em dias) das sementes de milho.

Extratos	Concentrações	TMG	IVG
<i>S. acuminatus</i>	0,5 g/L	8.298 b	1.560 j
	1,0 g/L	8.808 ab	1.900 ij
	1,5 g/L	8.373 b	2.459 efgh
	2,5 g/L	9.366 ab	1.479 j
<i>S. obliquus</i>	0,5 g/L	9.150 ab	2.359 efghi
	1,0 g/L	8.266 b	3.267 b
	1,5 g/L	8.480 b	3.127 bc
	2,5 g/L	8.036 b	2.158 ghi
<i>C. vulgaris</i>	0,5 g/L	8.088 b	2.847 bcde
	1,0 g/L	8.755 ab	3.201 bc
	1,5 g/L	8.014 b	3.934 a
	2,5 g/L	8.158 b	2.541 defg
<i>C. pyrenoidosa</i>	0,5 g/L	8.578 b	2.713 cdef
	1,0 g/L	8.530 b	2.988 bcd
	1,5 g/L	8.059 b	3.821 a
	2,5 g/L	8.867 ab	2.262 fghi
Controle	C. negativo	10.090 a	1.964 hij
	C. positivo	8.641 b	2.479 defgh

Médias (n=25) seguidas de letras iguais na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey com significância de 1%.

As plântulas de milho que obtiveram maior altura foram as submetidas aos extratos de *C. vulgaris* e *C. pyrenoidosa*, na concentração de 1,5 g/L, com valores médios de 16,53 dias e 17,62 dias, respectivamente. O maior crescimento radicular foi registrado nas plântulas submetidas com extrato de *C. pyrenoidosa* na concentração de 1,5 g/L, sendo significativamente superior aos outros tratamentos. Maiores valores de biomassa também foram registrados para o mesmo extrato e concentração (Tabela 6).

Tabela 6: Valores médios de altura da plântula (cm), comprimento da radícula (cm) e biomassa fresca (g) de plântulas de milho.

Extratos	Concentrações	Altura (cm)	Radícula (cm)	Biomassa seca (g)
<i>S. acuminatus</i>	0,5 g/L	6.47 ± 0,51 ef	6.82 ± 0,27 gh	0.34 ± 0,01 i
	1,0 g/L	8.12 ± 0,65 d	8.17 ± 0,51 ef	0.45 ± 0,004 gh
	1,5 g/L	13.23 ± 0,20 b	12.79 ± 0,16 b	0.54 ± 0,008 f
	2,5 g/L	6.01 ± 0,37 fg	5.89 ± 0,16 hi	0.14 ± 0,002 j
<i>S. obliquus</i>	0,5 g/L	4.83 ± 0,08 g	4.80 ± 0,12 i	0.75 ± 0,005 d
	1,0 g/L	9.91 ± 0,68 c	9.95 ± 0,23 cd	0.84 ± 0,007 c
	1,5 g/L	12.97 ± 0,30 b	12.51 ± 0,50 b	0.94 ± 0,02 b
	2,5 g/L	5.73 ± 1,26 fg	5.59 ± 0,89 hi	0.44 ± 0,004 h
<i>C. vulgaris</i>	0,5 g/L	6.32 ± 0,27 efg	6.33 ± 0,13 h	0.64 ± 0,006 e
	1,0 g/L	10.58 ± 0,24 c	10.87 ± 0,32 c	0.95 ± 0,004 b
	1,5 g/L	16.53 ± 1,12 a	12.89 ± 1,04 b	0.95 ± 0,05 b
	2,5 g/L	7.79 ± 0,28 de	7.82 ± 0,12 fg	0.45 ± 0,005 h
<i>C. pyrenoidosa</i>	0,5 g/L	10.53 ± 1,14 c	9.42 ± 0,91 de	0.64 ± 0,004 e
	1,0 g/L	12.91 ± 0,30 b	12.79 ± 0,29 b	0.94 ± 0,005 b
	1,5 g/L	17.62 ± 0,20 a	17.47 ± 0,15 a	1.412 ± 1,32 a
	2,5 g/L	10.74 ± 0,37 c	11.19 ± 0,67 c	0.35 ± 0,01 i
Controle	C. negativo	6.07 ± 0,56 fg	6.06 ± 0,48 hi	0.54 ± 0,006 fg
	C. positivo	6.15 ± 0,20 fg	6.04 ± 0,24 hi	0.93 ± 0,01 b

Médias (n= 25) seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si, para o parâmetro avaliado e em resposta aos tratamentos, pelo teste de Tukey com significância de 1%

As sementes submetidas ao extrato de *C. vulgaris* (Figura 10) apresentaram aumento da biomassa até atingir a concentração de 1,5 g/L e, ao atingir a concentração de 2,5 g/L apresentou diminuição, com coeficientes de determinação r^2 : 0,9896.

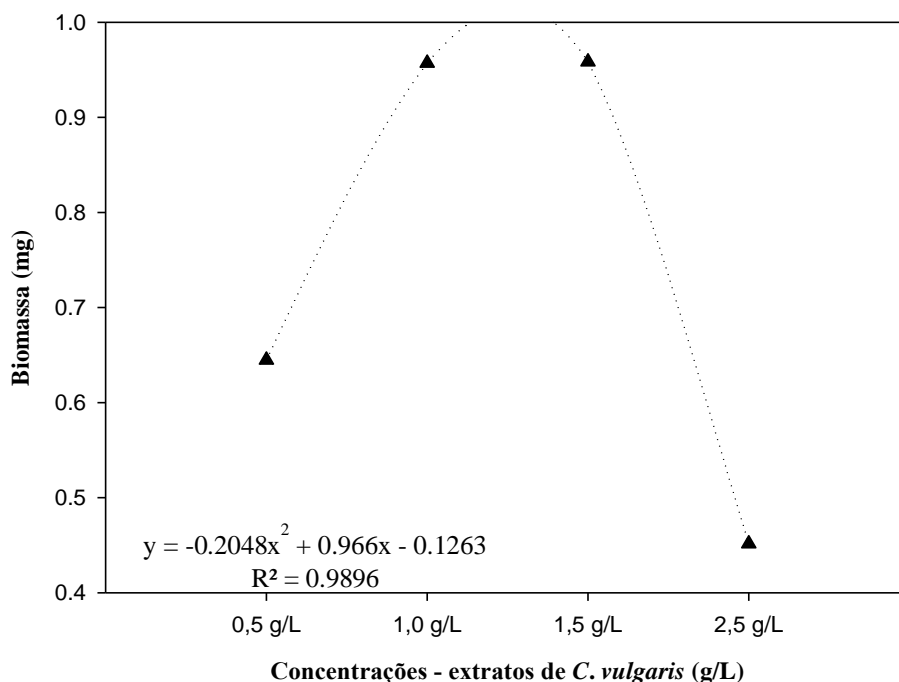


Figura 10: Biomassa de plântulas de milho com aplicação de diferentes concentrações do extrato de *C. vulgaris*.

O maior valor de pH registrado foi de 7,99 no controle e o menor valor 6,45 no extrato de *Scenedesmus acuminatus*. Para o potencial osmótico, o maior valor encontrado foi 0 para o controle e menor valor -0,40 MPa no extrato de *C. vulgaris* (Tabela 7).

Tabela 7: Características físico-químicas dos extratos de *Scenedesmus acuminatus*, *Scenedesmus obliquus*, *Chlorella pyrenoidosa* e *Chlorella vulgaris*, além do controle positivo (à base a macroalga *Ascophyllum nodosum*) e da água.

Extrato	pH	Ψs (MPa)
<i>S. obliquus</i>	6,87	-0,29
<i>S. acuminatus</i>	6,45	-0,31
<i>C. vulgaris</i>	7,11	-0,40
<i>C. pyrenoidosa</i>	7,05	-0,35
Controle positivo	6,88	-0,33
Controle negativo	7,99	0,0

As microalgas representantes do gênero *Chlorella* apresentaram maior teor do macronutriente nitrogênio, e micronutrientes: cobre e ferro. O efeito positivo dos extratos dessas espécies em todas as sementes, provavelmente pode ser relacionado a essa disponibilização de nutrientes nas microalgas (Tabela 8).

Tabela 8: Composição de macronutrientes e micronutrientes na biomassa algal.

Elemento (g/Kg)	N	P	K	Ca	Mg	S	B	Cu	Fe	Mn	Zn
<i>S. acuminatus</i>	43.3	21.6	13	18	5.8	6.3	14.5	32.0	842	348	86
<i>S. obliquus</i>	65.5	17.4	8.1	21	6.5	5.5	6.0	31.0	827	485	69
<i>C. vulgaris</i>	70.0	15.9	3.6	17	4.2	4.5	5.5	46.0	1050	377	77
<i>C. pyrenoidosa</i>	69.9	19.1	11	27	6.2	3.9	5.0	35.0	963	495	64

A semente que apresentou maior teor de água foi o feijão (Tabela 9) e o menor potencial osmótico registrado foi nas sementes de milho com -76,66 Mpa.

Tabela 9: Teor de água (expresso em porcentagem) e potencial hídrico das sementes.

Espécies	Teor de água (%)	(MPa) Ψ_w
Feijão	12.03	-73.97
Mamão	9.71	-66.78
Milho	6.89	-76.66

DISCUSSÃO

Feijão

Por meio dos resultados obtidos neste estudo foi possível perceber que os extratos das microalgas influenciaram diretamente na resposta germinativa de todas as sementes. As sementes submetidas ao extrato da microalga *Chlorella vulgaris* obtiveram maior porcentagem de germinação e, isso pode ser atribuído capacidade dos extratos dessa microalga serem considerados promotores de crescimento vegetal (ARAÚJO et al., 2022), devido a provável presença de fitormônios e disponibilização de nutrientes. Resultados semelhantes foram registrados por Bumandalai e Tserennadmid (2019), onde estudaram o efeito da microalga *Chlorella vulgaris* na germinação de sementes de tomate e pepino. Sabe-se que extratos a base dessa microalga sob diferentes concentrações obtêm efeito significativo no desempenho de germinação de sementes (PUGLISI et al., 2020).

Wylot et al. (2018), testando diferentes concentrações de bioestimulante a base de hormônios, em sementes de feijão, observou que houve incremento na biomassa fresca e seca das raízes, maior porcentagem e velocidade de germinação e crescimento da parte aérea na cultura. Pode-se afirmar que sementes de feijão submetidas a extrato de microalgas tem resposta positiva no processo germinativo (MACHADO et al., 2018), principalmente quando submetidas a concentração de 1,5 g/L (SANTOS et al., 2021).

O tempo médio de germinação não pôde ser considerado determinante na germinação das sementes de feijão, pois de acordo com os valores registrados, este parâmetro não foi afetado pelas concentrações dos extratos. Estudos avaliando germinação de sementes de aroeira (SIQUEIRA et al., 2020) também obtiveram respostas germinativas semelhantes.

Os extratos de *S. acuminatus* promoveram alteração no índice de velocidade de germinação, apresentando um aumento nas concentrações de 0,5 g/L a 1,5 g/L. Santos et al. (2021) obtiveram resultados semelhantes nas sementes de feijão BRS Estilo em resposta a extratos da mesma microalga, favorecendo o aumento da velocidade de germinação.

Mamão

O desenvolvimento inicial das plântulas foi diretamente afetado pelos extratos de *C. vulgaris* e *C. pyrenoidosa*, nos parâmetros altura, crescimento radicular e biomassa. Resultados semelhantes, obtidos por outros autores, confirmam o cultivo dessa espécie como potencial fonte de moléculas para muitas aplicações na agricultura e para a produção de compostos ativos (LIMA et al., 2020; MEDEIROS, 2021).

Esse potencial das espécies representantes do gênero *Chlorella* foram confirmados a partir da resposta germinativa das sementes de mamão, que também obtiveram maior porcentagem de germinação quando submetidas a aplicação destes extratos.

O tempo médio de germinação maior nas sementes submetidas ao extrato de *S. obliquus*. Estes resultados foram confirmados por Paixão et al. (2021) que registraram em seu estudo sementes de mamão com altos valores de TMG, atribuindo a estes resultados as concentrações dos extratos aplicados. Apesar disso, a utilização dessa microalga ainda pode ser considerada importante para a produção de biomassa que é usada na agricultura (GOMES et al., 2019).

O índice de velocidade de germinação e desenvolvimento inicial das plântulas de mamão obtiveram maiores valores nos extratos das espécies *C. vulgaris* e *C. pyrenoidosa*, nas concentrações de 1,0 g/L e 1,5 g/L. Esses resultados concordam com Faheed e Fattah (2008) que avaliando os efeitos de *Chlorella vulgaris* em alface também observaram um aumento de cerca de 186% em características como crescimento e formação de biomassa. Esses resultados podem ser atribuídos ao fato que a biomassa de microalgas, especialmente aquelas pertencentes ao gênero *Chlorella*, produzem fitormônios semelhantes às citocininas, cujo metabolismo influencia diretamente na divisão celular e diferenciação dos tecidos vegetais, bem como desenvolvimento de cloroplastos, prevalência da dominância apical e retardamento da senescência (SHANAN; HIGAZY, 2009).

Milho

As sementes de milho apresentaram bons resultados quando submetidas a aplicação dos diferentes extratos, estes resultados concordam com o trabalho de Santos et al. (2013) que observaram efeito positivo do uso de biostimulantes à base de algas em todas as fases de desenvolvimento inicial, principalmente no crescimento radicular. Isso pode ser relacionado com a capacidade de bioestimulantes estimular o crescimento vegetal, proporcionando aumento da divisão celular e otimizando a absorção de água e de nutrientes minerais, essenciais para a produtividade das culturas (SANTOS et al., 2020). Outros estudos também constataram essa influência positiva dos extratos de microalgas, quando aplicadas via solo aumentaram a capacidade de crescimento radicular, produção de clorofila, incremento na biomassa seca e maior formação de

brotos de feijão e, em outras culturas como beterraba e batata (GARCIA-GONZÁLEZ; SOMMERFELD, 2016; ALOBWEDE et al., 2019).

O tempo médio de germinação das sementes submetidas aos extratos de *S. acuminatus* e *C. pyrenoidosa* na concentração de 2,5 g/L foram superiores aos outros extratos e concentrações. Esses resultados diferem de todos que foram registrados neste estudo e em outros, pois geralmente sementes submetidas a altas concentrações de extratos podem responder negativamente à essa condição, afetando diretamente o tempo médio de germinação e obtendo menor acumulação de biomassa seca de raiz e parte aérea (FORMIGHEIRI et al., 2018), devido a compostos bioativos serem quase sempre tóxicos em altas doses (LHULLIER et al., 2006). Provavelmente as sementes de milho possuem maior resistência a alta concentração dos extratos destas microalgas, o que se torna vantajoso em relação a produtividade da cultura. Desta forma, é de extrema importância o conhecimento das características físicas, químicas, biológicas e toxicológicas dos bioestimulantes, para que os mesmos possam ser utilizados com segurança e não causem impactos negativos no processo germinativo (BARSZCZ et al., 2019).

O índice de velocidade de germinação e desenvolvimento inicial das plântulas de milho obtiveram maiores valores nos extratos das espécies *C. vulgaris* e *C. pyrenoidosa*, na concentração de 1,5 g/L, apresentando respostas germinativas semelhante as sementes de mamão. Sob a influência destes extratos, as sementes de milho obtiveram maior rendimento nos parâmetros altura, crescimento radicular e biomassa. Estes resultados podem ser confirmados por Agwa et al. (2017) que também demonstraram o potencial destas mesmas espécies em culturas de quiabo, onde a aplicação de extrato da alga *Chlorella vulgaris* estimulou as plantas de quiabo a produzirem maior conteúdo proteico, lipídico e concentração de clorofila, além de maior peso e grande número de frutos. Também foi observado no estudo de Garcia – Senin (2013) que o uso de *C. vulgaris* e *C. pyrenoidosa* favoreceram a culturas de tomate, aumentando sua produtividade. Os bioestimulantes favorecem a expressão do potencial genético das plantas mediante alterações nos processos vitais e estruturais, promovem o equilíbrio hormonal e estimulam o desenvolvimento do sistema radicular (SILVA et al., 2008).

A partir dos resultados de pH e potencial osmótico obtidos neste estudo, pode-se sugerir que tais parâmetros não influenciaram na germinação das sementes, uma vez que não houve redução das suas taxas de germinação e a variação dos valores foram baixos segundo estudos de Villela *et al.* (1991). Estes dados concordam com os resultados obtidos por Santos et al. (2021) que também avaliaram a influência das características físico-químicas dos extratos na germinação de sementes.

Alguns estudos afirmam que devido a presença de macro e micronutrientes nos extratos de algas, há estimulação do crescimento e desenvolvimento das plantas (ABREU et al., 2008; GORKA et al., 2018).

O nitrogênio é um macronutriente essencial para o desenvolvimento e produção das plantas produtoras de grãos (SOUZA; FERNANDES, 2006). Sendo um dos principais nutrientes que influencia a qualidade e a produtividade de sementes é o nitrogênio, pois ele apresenta grande importância no metabolismo das plantas, isso porque ele é constituinte de ácidos nucleicos, coenzimas, moléculas de proteína e clorofila, dessa forma interfere diretamente no desenvolvimento das plantas. (KUSANO et al., 2011). Desta forma, as principais funções que o nitrogênio desempenha nas plantas são a de aumentar o teor de proteína e participar dos processos de síntese de clorofila e na fotossíntese. (BIAZUS, 2015).

O cobre é um micronutriente essencial e possui função relacionada ao crescimento das plantas, além de fazer parte estrutural de algumas enzimas (ZORTÉA et al., 2016). Já há estudos que relaciona a importância de nanopartículas de óxido de cobre na promoção de resistência das plantas à fitopatógenos (MARTINS et al., 2012).

Em várias funções nas plantas o ferro é determinante ou integrante de diversos processos, tais como: síntese de proteínas, permeabilidade de membranas, absorção iônica, respiração, síntese de amido e controle hormonal. Também é responsável por auxiliar a fixação de nitrogênio (TEIXEIRA et al., 2005).

O teor de água das sementes influencia diretamente vários aspectos de sua qualidade fisiológica, por isso a sua determinação é fundamental em testes oficiais de qualidade de lotes de sementes. O alto teor de água pode afetar a qualidade da semente não só no período de armazenamento, mas também durante as operações de beneficiamento, dificultando o manejo, e está intimamente ligada ao período ideal de colheita, ao peso das sementes e a suscetibilidade a injúrias por danos mecânicos, danos causados por pragas (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000; SARMENTO et al., 2015).

Segundo Stanwood (1980), o teor de umidade ideal das sementes após secagem devem estar entre 4 e 7%. Avaliando os resultados obtidos na medição de teor de água das sementes e potencial osmótico neste estudo, foi possível observar que para a germinação, a qualidade fisiológica das sementes não foi alterada de acordo com o teor de água que possuem. Outros estudos também obtiveram resultados semelhantes avaliando teor de água em sementes cultivadas (FORTI et al., 2009; GORDIN et al., 2015).

Analisando as respostas germinativas dessas sementes, não se pode atribuir os resultados obtidos a esse fator. Apesar disso, vários autores sugerem que a redução do potencial osmótico do substrato afeta negativamente a germinação das sementes de acordo com a espécie e a concentração da solução utilizada (STEFANELLO et al., 2015; ASKARI et al., 2016; KANDIL et al., 2017).

A presença de altas concentrações de íons na solução é proporcional à redução do potencial hídrico, no qual a água fica osmoticamente retida na solução salina, tornando-se cada vez menos disponível conforme ao aumento da concentração destes sais, o que influencia negativamente na absorção de água pela semente, e conseqüentemente afeta o potencial germinativo e o desenvolvimento das plântulas (RIBEIRO et al., 2001).

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo evidenciam que extratos aquosos obtidos a partir de algas apresentam potencial bioestimulante de crescimento. Os extratos testados promovem efeito positivo na germinação e desenvolvimento inicial das sementes de feijão, mamão e milho. Entretanto, deve-se considerar que cada espécie responde diferente ao tipo de extrato e concentrações testadas.

Todas as sementes obtiveram melhor desempenho germinativo quando submetidas às concentrações de 1,0 g/L e 1,5 g/L. Foi possível perceber que a concentração 2,5 g/L neste estudo pode ser considerada prejudicial ao processo de germinação e desenvolvimento das plântulas, provavelmente apresentou efeito tóxico devido ao estresse causado às sementes pelo acúmulo de solutos durante a aplicação.

As sementes submetidas aos extratos das microalgas do gênero *Chlorella* obtiveram melhores respostas germinativas considerando os parâmetros avaliados; porcentagem de germinação e vigor das plântulas, principalmente na concentração de 1,5 g/L. O efeito positivo desses extratos todas as sementes, provavelmente pode ser relacionado a disponibilização de macro e micronutrientes pelas microalgas.

Deve-se ressaltar que, a resposta das sementes a ação dos extratos ocorre de acordo com a cultura agrícola testada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, G. F.; TALAMINI, V.; STADNIK, M. J. Bioprospecção de macroalgas marinhas e plantas aquáticas para o controle da antracnose do feijoeiro. *Summa Phytopathologica*, v. 34, p. 22-26, 2008.

AGWA, O. K.; OGUGBUE, C. J.; WILLIAMS, E. E; Field Evidence of *Chlorella vulgaris* potentials as a biofertilizer for *Hibiscus esculentus*. *International Journal of Agricultural Research*, v. 12, n. 4, p. 181-189, 2017.

ALOBWEDE, E.; LEAKE, J. R.; PANDHAL, J. Circular economy fertilization: Testing micro and macro algal species as soil improvers and nutrient sources for crop production in greenhouse and field conditions. *Geoderma*, v. 334, p. 113–23, 2019.

ANISIMOV, M. M.; CHAIKINA, E. L. Effect of seaweed extracts on the growth of seedling roots of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) seasonal changes in the activity. *International Journal of Current Research and Academic Review*, v. 2, n. 3, p. 19-23, 2014.

ARAÚJO, B.; MACHADO, W.; MORIOKA, I. R. L.; MURATA, M. M.; MARQUES, S. B. J.; SUGUIMOTO, H. H. Uso de microalgas como bioestimuladoras da germinação de sementes, *Uniciencias*, v. 26, n. 1, p. 58-62, 2022.

ASKARI, H.; KAZEMITABAR, S.K.; ZARRINI, H.N.; SABERI, M.H. Salt tolerance assessment of barley (*Hordeum vulgare* L.) genotypes at germination stage by tolerance indices. *Open Agriculture*, Warsaw, v. 1, n. 1, p. 37-44, 2016.

BARONE, V.; BAGLIERI, A.; STEVANATO, P.; BROCCANELLO, C.; BERTOLDO, G.; BERTAGGIA, M.; CAGNIN, M.; PIZZEGHELLO, D.; MOLITERNI, V.M.C.; MANDOLINO, G. Root morphological and molecular responses induced by microalgae extracts in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Journal Applied Phycology*, n. 30, p. 1061-1071, 2018.

BARSZCZ, L. B.; BELLATO, F. C.; BENASSI, R. F.; MATHEUS, D. R. Avaliação ecotoxicológica de efluentes tratados por alagados construídos. *Engenharia e Sanitária Ambiental*, v. 24, n. 6, p. 1147-1156, 2019.

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. *Seeds: physiology of development and germination*. New York: Plenum Press, 1994. 445p.

BIAZUS, V.; FONTANELI, R. S.; PIRES, J. L. F.; SANTOS, H. P.; FAVERO, D.; TAVARES, A. R.; REBECHI, I. A. Produtividade e valor nutritivo de grãos de cevada superprecoce BRS Aliensa no outono em diferentes doses de nitrogênio e épocas de semeadura. In: *Mostra de Pós-Graduação da Embrapa trigo*. Passo Fundo, 2015.

BUHELDT, A. C.; METZLER, C. R.; CASTIGLIONI, J.L.; DASSOLLER, T. F.; LUBIAN, M. S. Aplicação de bioestimulantes e *Bacillus subtilis* na germinação e desenvolvimento inicial da cultura do milho. *Revista de Agricultura Neotropical*, v. 6, n. 4, p. 69-74, 2019.

BUMANDALAI, O.; TSERENNADMID, R. Effect of *Chlorella vulgaris* as a biofertilizer on germination of tomato and cucumber seeds. *International Journal of Aquatic Biology*, v.7, n.2, p.95-99, 2019.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. 2000. Vigor de sementes. In: *Sementes: ciência, tecnologia e produção*. 4 ed. Jaboticabal: FUNEP, 567 p.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. 2012. *Sementes: ciência, tecnologia e produção*. 5 ed. Jaboticabal: FUNEP, 588p.

CHIAIESE, P.; CORRADO, G.; COLLA, G.; KYRIACOU, M. C.; ROUPHAEL, Y. Renewable sources of plant biostimulation: microalgae as a sustainable means to improve crop performance. *Frontiers in Plant Science*, v. 9, p. 1-6, 2018.

CORRÊA, O. D.; SANTOS, B.; RIBAS, F. L. L.; AMANO, E.; SUZUKI, M. R.; NOSEDA, D. M. Microalgas na agricultura moderna: Utilização do extrato de *Desmodesmus subspicatus* na propagação in vitro da orquídea *Cattleya warneri*. In: SEVERO, A. I.; NASCIMENTO, C. T.; FAGUNDES, B. M., Orgs. *Microalgas: potenciais aplicações e desafios*. Canoas: Mérida Publishers, 2021. 230p.

COSMO, N. L.; GOGOSZ, M. A.; REGO, S. S.; NOGUEIRA, C. A.; KUNIYOSHI, S. Y. morfologia de fruto, semente e plântula, e germinação de sementes de *Myrceugenia euosma* (O. Berg) D. Legrand (Myrtaceae), *Floresta*, v. 47, n. 4, p. 479-488, 2017.

DINESHKUMAR, R.; SUBRAMANIAN, J.; GOPALSAMY, J.; JAYASINGAM, P.; ARUMUGAM, A.; KANNADASAN, S.; SAMPATHKUMAR, P. The impact of using microalgae as biofertilizer in maize (*Zea mays* L.), *Waste Biomass Valorization*, n. 10, p. 1101-1110, 2019.

DU JARDIN, P. Plant Bioestimulants: definition, concept, main categories and regulation. *Scientia Horticulturae*, v. 196, p. 3-14, 2015.

FAHEED, F. A.; FATTAH, Z. A. Effect of *Chlorella vulgaris* as bio-fertilizer on growth parameters and metabolic aspects of lettuce plant. *Journal of Agriculture and Social Sciences*, v. 4, n. 1965, p. 1813–2235, 2008.

FERREIRA, A. G. Interpretação de resultados de germinação. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. Germinação: do básico ao aplicado. Porto Alegre: Artmed, p. 209-222, 2004.

FORMIGHEIRI, B.; BONOME, S. T. L.; BITTENCOURT, H. V. H.; LEITE, K.; REGINATTO, M.; GIOVANETTI, K. L. Alelopatia de *Ambrosia artemisiifolia* na germinação e no crescimento de plântulas de milho e soja. *Revista de Ciências Agrárias*, v. 41, n. 3, p. 729-739, 2018.

FORTI, V. A.; CÍCERO, S. M.; PINTO, T. L. F. Efeitos de potenciais hídricos do substrato e teores de água das sementes na germinação de feijão. *Revista Brasileira de Sementes*, Londrina, v. 31, n. 2, p. 63-70, 2009.

GARCIA-GONZALEZ, J.; SOMMERFELD, M.; Biofertilizer and biostimulant properties of the microalga *Acutodesmus dimorphus*. *Journal of Applied Phycology*, v. 28, p. 1051–1061, 2016.

GARCIA-SENIN S. Microalgae bio-stimulating effect on traditional tomato agriculture. *Botanica Marina*, n. 34, p. 469-473, 2013.

GOMES, L. A. F.; SANTOS, S. A.; SILVA, V. G.; SILVA, S. M.; CORREA, A. M.; GOMES, O. B. Y.; BATISTA, C. M.; ARAÚJO, R. C. H. R. Potencial do uso de nanopartículas de microalgas na produção de romãzeira. *Meio Ambiente (Brasil)*, v. 1, n. 2, p. 31-40, 2019.

GONZÁLEZ-PÉREZ, B. K; RIVAS-CASTILLO, M. A.; VALDEZ-CALDERÓN, A.; GAYOSSO-MORALES, A. M. Microalgae as biostimulants: a new approach in agriculture. *World Journal of Microbiology Biotechnology*, v. 38, n. 4, 2022.

GORDIN, C. R. B.; SCALON, S. P. Q.; MASETTO, T. E. Disponibilidade hídrica do substrato e teor de água da semente na germinação de *Niger*. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, v. 45, n. 3, p. 312-318, 2015.

GÓRKA, B.; KORZENIOWSKA, K.; LIPOK, J.; WIECZOREK, P. P. The Biomass of algae and algal extracts in agricultural production. In: *Algae Biomass: Characteristics and Applications*. Springer: Cham, p.103-114, 2018.

GUO, S.; WANG, P.; WANG, X.; ZOU, M.; LIU, C.; HAO, J. Microalgae as biofertilizer in modern agriculture. In: ALAM, M. A.; XU, J. L.; WANG, Z., Orgs. *Microalgae biotechnology for food, health and high value products*. Singapore: Springer Singapore, 2020. 483 p.

KANDIL, A. A.; SHAREIF, A. E.; GAD, M. A. Effect of salinity on germination and seedling parameters of forage cowpea seed. *Research Journal of Seed Science*, v. 10, n. 1, p. 17-26, 2017.

KAPOREE, R. V.; WOOD, E. E.; LLEWELLYN, C. A. Algae biostimulants: a critical look at microalgal biostimulants for sustainable agricultural practices. *Biotechnology Advances*, v. 49, p. 1-27, 2021.

KUSANO, M.; FUKUSHIMA, A.; REDESTIG, H.; SAITO, K. Metabolomic approaches toward understanding nitrogen metabolism in plants. *Journal of Experimental Botany*, v. 62, n. 4, p. 1439-1453, 2011.

LABOURIAU, L. G. 1983. A germinação das sementes. Organização dos Estados Americanos. Programa Regional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. Série de Biologia. 174p.

LIMA, J. F.; QUEIROZ, A. J. M.; FIGUEIRÊDO, R. M. F.; SOUZA, W. R.; DEBONSI, H. M.; SANTOS, V. F.; DANTAS, A. M. N.; ARAÚJO, R. H. C. R. Utilization of *Chlorella* sp. as biostimulant in the germination of melon seeds (*Cucumis melo* L.). *Journal of Agricultural Studies*, v.8, n.2, p.750-773, 2020.

LHULLIER, C.; HORTA, P. A.; FALKENBERG, M. Avaliação de extratos de macroalgas bênticas do litoral catarinense utilizando o teste de letalidade para *Artemia salina*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 16, p. 158-163, 2006.

MACHADO, L. P.; SANTOS, N. H. S.; BASTOS, K. V.; COSTA, D. M. Biostimulant effect of seaweed extracts applied on beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Cultura Agronômica*, v. 27, p. 101-110, 2018.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination—aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*, v. 2, n. 2, p. 176-177, 1962.

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

MAPA, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 64, 18 dez. 2008. 30 p. Disponível em: <<https://www.legisweb.com.br/legislacao/?id=77558>>. Acesso em: 10 jun. 2022.

MARTIN, R. C.; PLUSKOTA, W. E.; NONOGAKI, H. Seed Germination. In: *Plant Developmental Biology—Biotechnological Perspectives*. Berlin: Springer, 2009. 487p.

MARTINS, F. A.; FERREIRA, F. M. D.; FERREIRA, F. D.; BANDO, E.; NERILO, S. B.; HIROOKA, E. Y.; MACHINSKI, M. Daily intake estimates of fumonisins in corn-based food products in the population of Parana, Brazil. *Food Control*, v. 26, n. 2, p. 614 – 618, 2012.

MEDEIROS, R. C. Uso de microalgas na composição de insumos agrícola. Trabalho de Conclusão de Curso – Curso de Agronomia, Universidade Federal de Campina Grande, Pombal, 2021.

NAVARRO-LÓPEZ, E.; RUÍZ-NIETO, A.; FERREIRA, A.; ACIÉN, F. G.; GOUVEIA, L. Biostimulant Potential of *Scenedesmus obliquus* Grown in Brewery Wastewater. *Molecules*, n. 25, p. 1-16, 2020.

OLIVEIRA, M. K. A.; BARBOSA, A. L. Efeitos da temperatura na germinação de sementes e na formação de plântulas de *Cedrela fissilis*, *Floresta*, v. 44, n. 3, p. 441 - 450, 2014.

PAIXÃO, S. V. M.; GROBÉRIO, C. B. R.; HOFFAY, N. C. A.; CORREA, C. A.; CREMONINI, M. G. Ácido giberélico na germinação de sementes e desenvolvimento inicial de plântulas de mamoeiro. *Agrotropica*, v. 33, n. 2, p. 143-148, 2021.

PINHO, A. S.; BORGES, E. E. L.; PONTES, C. A. Avaliação da viabilidade e vigor de sementes de *Anadenanthera peregrina* (L.) Speg. submetidas ao envelhecimento acelerado e ao osmocondicionamento. *Revista Árvore*, v. 34, n. 3, p. 425-434, 2010.

PUGLISI, I.; BARONE, V.; FRAGALA, F.; STEVANATO, P.; BAGLIERI, A.; VITALE, A. Effect of microalgal extracts from *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus quadricauda* on germination of *Beta vulgaris* seeds. *Plants*, v.9, n.6, p.675-689, 2020.

RIBEIRO, M. C. C.; MARQUES, B. M.; AMARRO FILHO, J. Efeito da salinidade na germinação de sementes de quatro cultivares de girassol (*Helianthus annuus* L.). *Revista Brasileira de Sementes*, v. 23, n. 1, p. 281-284, 2001.

RIZWAN, M.; MUJTABA, G.; MEMON, A. S.; LEE, K.; RASHID, N. Exploring the potential of microalgae for new biotechnology applications and beyond: a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 92, p. 394-404, 2018.

SANTOS, A. C. V. 1992. Biofertilizante líquido, o defensivo da natureza. Niterói: EMATER (Agropecuária Fluminense), v. 8, 16p.

SANTOS, L. T.; VESPUCCI, I. L.; NUNES, M. P. C. Aplicação adicional de bioestimulantes em estágio reprodutivo de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) com intuito de acréscimo na produtividade. *Pubvet*, v. 14, n. 3, p. 1-7, 2020.

SANTOS, N. H. S.; SILVEIRA, A. C. D.; FERNANDES, V. O.; MACHADO L. P. Efeito do extrato de algas no desempenho germinativo e crescimento radicular em sementes de feijão BRS Estilo em resposta a diferentes métodos de aplicação. *Hoehnea*, v. 48, p. 1-8, 2021.

SANTOS, V. M.; MELO, A. V.; CARDOSO, D. P.; GONÇALVES, A. H.; VARANDA, M. A. F.; TAUBINGER, M. Uso de bioestimulantes no crescimento de plantas de *Zea mays* L. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, v. 12, n. 3, p. 307-318, 2013.

SARMENTO, H. G. S.; DAVID, A. M. S. S.; BARBOSA, M. G.; NOBRE, D. A. C.; AMARO, H. T. R. Determinação do teor de água em sementes de milho, feijão e pinhão-mansão por métodos alternativos. *Energia na Agricultura*, v. 30, n. 3, p. 249 – 256, 2015.

SCAGLIA, B.; POGNANI, M.; ADANI, F. The anaerobic digestion process capability to produce biostimulant: the case study of the dissolved organic matter (DOM) vs. auxin-like property. *Science of The Total Environment*, v. 589, p. 36-45, 2017.

SHANAN, N. T.; HIGAZY, A. M. Integrated biofertilization management and cyanobacteria application to improve growth and flower quality of *Matthiola incana*. *Research Journal of Agriculture and Biological Science*, v. 5, n. 6, p.1162- 1168, 2009.

SHUKLA, P. S.; MANTIN, G. E.; ADIL, M.; BAJPAI, S.; CRITCHLEY, T. A., PRITHIVIRAJ, B. *Ascophyllum nodosum*-based biostimulants: Sustainable applications in agriculture for the stimulation of plant growth, stress tolerance, and disease management. *Frontiers in Plant Science*, v. 10, p. 1–22, 2019.

SILVA, T. T. A.; VON PINHO, E. V. R.; CARDOSO, D. L.; FERREIRA, C. A.; ALVIM, P. O.; COSTA, A. A. F. Qualidade fisiológica de sementes de milho na presença de bioestimulantes. *Ciência Agrotecnologia*, v. 32, n. 3, p. 840-846, 2008.

SILVA, T. N. D. Uso de fonte de fósforo com substâncias húmicas no desenvolvimento de feijão cultivado em vasos. Trabalho de Conclusão de Curso – Curso de Agronomia, Fundação Carmelitana Mário Palmério, Monte Carmelo, 2019.

SIQUEIRA, M. C.; TAVARES, A. R.; BARBOSA, J. M.; SANTOS JUNIOR, N. A. Copper stress affect seed germination and seedling establishment of *Schinus terebinthifolia* Raddi. *Hoehnea*, v. 47, 1-6, 2020.

SOUZA, S. R.; FERNANDES, M. S. NITROGÊNIO. IN: FERNANDES, M. S. Nutrição mineral de plantas. Viçosa, p. 215-252, 2006.

STANWOOD, P. C. Tolerance of crop cooling and storage in liquid nitrogen (-196°C). *Journal of Seed Technology*, v. 5, n. 1, p. 26-31, 1980.

STEFANELLO, R., ABBAD, M.A.B., NEVES, L.A.S., VIANA, B.B. Resposta fisiológica de sementes de chia (*Salvia hispanica* – Lamiales: Lamiaceae) ao estresse salino. *Biotemas*, Florianópolis, v. 28, n. 4, p.35-39, 2015.

TEIXEIRA, I. R.; BOREM, A.; ARAÚJO, G. A. A.; ANDRADE, M. J. B. Teores de nutrientes e qualidade fisiológica de sementes de feijão em resposta à adubação foliar com manganês e zinco. *Bragantia*, v. 64, n. 1, p. 83-88, 2005.

VILLELA F. A.; DONI FILHO L.; SEQUEIRA E. L. Tabela de potencial osmótico em função da concentração de polietileno glicol 6000 e da temperatura. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 26, p. 1957-1968, 1991.

WYLOT, E. Avaliação da germinação de feijão submetido a diferentes tratamentos com bioestimulante. Trabalho de Conclusão de Curso – Curso de Agronomia, Universidade Federal da Fronteira Sul, Cerro Largo, 2018.

YAKHIN, O. I.; LUBYANOV, A. A.; YAKHIN, I. A.; BROWN, P. H. Biostimulants in plant science: a global perspective. *Frontiers in Plant Science*, v. 7, p. 1-32, 2017.

ZHANG, X.; SCHMIDT, R. E. The impact of growth regulators on the α -tocopherol status in water-stressed *Poa pratensis*. *International Turfgrass Society Research Journal*, v. 8, p. 1364–2137, 1997.

ZORTÉA, T.; TESTA, M.; SILVA, A. W. L. DA; BARETTA, D. Toxicidade do cobre em função da correção do pH em dois solos naturais – Uma abordagem com plantas e organismos edáficos. *Revista Scientia Agrária*, v. 17, n. 1, p. 1-9, 2016.

CAPÍTULO 3: Efeito do extrato de microalga *Scenedesmus acuminatus* no crescimento e produtividade da cultura de feijão carioca IAC 1850.

Autores: Nair Hildelgard Soares dos Santos^{1*} • Valéria de Oliveira Fernandes¹ • Orivaldo Arf² • Levi Pompermayer Machado³

(1) Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Humanas e Naturais, Departamento de Ciências Biológicas, Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal, CEP 29075-910, Vitória, ES, Brasil.

(2) Universidade Do Estado de São Paulo, Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Sócio-Economia, CEP 15385-000, Ilha Solteira, SP, Brasil.

(3) Universidade Do Estado de São Paulo, Departamento de Engenharia de Pesca, CEP 11900-000, Registro, SP, Brasil.

*Autor para correspondência: nairh13@gmail.com

INTRODUÇÃO

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é um dos alimentos mais consumidos no Brasil, país responsável pela maior produção mundial, (CONAB, 2018), sendo é a principal fonte de proteína vegetal na alimentação humana (MONDO; NASCENTE, 2018).

Os pequenos produtores são responsáveis por 90% dessa produção (EMBRAPA, 2013). O uso de bioestimulantes na cultura de feijão tem sido utilizado em alguns casos, como alternativa para solucionar as diversas dificuldades que os agricultores enfrentam para o aumento de sua produtividade por falta de acesso às tecnologias (RAMOS et al., 2015). Essa utilização é justificada pelo baixo custo dos bioestimulantes, e por ser composto por vários nutrientes, considerados elementos essenciais para as plantas (SOUZA; 1972). Os efeitos nutricionais via fornecimento de macro e micronutrientes indicam que eles atuam como fertilizantes, além de outras funções (DU JARDIN, 2015).

Os bioestimulantes atuam na fisiologia da planta através de diferentes vias, melhorando o crescimento das culturas, rendimentos, qualidade, absorção de nutrientes, tolerância a estresses abióticos e a vida útil dos produtos colhidos (DU JARDIN, 2015; YAKHIN et al., 2017), devido a sua composição conter substâncias naturais que são capazes de melhorar a química e propriedades biológicas, estimulando a produtividade das plantas e restaurando a fertilidade do solo (ABDEL-RAOUF et al., 2012).

O cultivo protegido de determinadas culturas geralmente requer alta quantidades de fertilizantes e pesticidas. Nem sempre é verdade que a alta disponibilidade de nutrientes corresponde a maior qualidade dos produtos. Pelo contrário, a fertilização excessiva e especialmente alto suprimento de nitrogênio, estimula o crescimento vegetativo com maior suscetibilidade para patógenos. Esses produtos podem aumentar a eficiência do uso de nutrientes minerais reduzindo a lixiviação e garantindo uma produção mais sustentável (VERNIERI et al., 2005).

A regulação do crescimento das plantas e o desenvolvimento e alívio dos efeitos negativos dos estresses ambientais durante a ontogênese são fatores importantes na determinação da produtividade de plantas cultivadas (YAKHIN et al., 2017). Além das tradicionais abordagens, os bioestimulantes estão sendo cada vez mais integrados com os sistemas de produção com o objetivo de modificar processos nas plantas para otimizar a produtividade (SHARMA et al., 2014).

O interesse nas aplicações tecnológicas das microalgas tem crescido consideravelmente em todo o mundo. As microalgas são potenciais fontes de novos produtos e representam uma das principais fronteiras tecnológicas e econômicas com real potencial para atender demandas comerciais nas áreas de recursos alimentícios, energia, química, cosmética, farmacêutica e agrícola (ARAÚJO

et al., 2022). Alinhado ao interesse científico, cresce o interesse comercial na produção de biomassa de microalgas devido às suas vantagens em termos de produtos mais eficazes e com custos menores.

Para o desenvolvimento e produtividade de pequenas e grandes culturas hoje são estudadas várias tecnologias que buscam melhorar o desempenho agrícola das culturas. Uma tecnologia que pode melhorar o crescimento das plantas pode ser obtida por meio do uso de microalgas que podem ser benéficas à agricultura (MARAFON & SIMONETT, 2016).

Impactos na germinação de sementes, estabelecimento de plantas e no crescimento e desenvolvimento estão associados a efeitos hormonais, que são vistos como as principais causas da atividade de bioestimulação em plantas cultivadas. Há registros que citocininas, auxinas, ácido abscísico, giberelinas e outras classes de compostos semelhantes a hormônios, como esteróis e poliaminas, tenham sido identificadas em extratos de algas por bioensaios (CRAIGIE, 2011), evidenciando que os efeitos hormonais dos extratos podem agir em larga escala.

Por décadas, microalgas têm sido consideradas agentes benéficos do ponto de vista agrônomo, pois contribuem para melhorar a fertilidade do solo e, portanto, para maiores rendimentos das culturas (SINGH et al., 2016). Entre os benefícios que proporcionam, destacam-se o aumento da porosidade do solo, controle do pH, aumento da disponibilidade de nutrientes. Além do importante papel que desempenham nos ciclos do carbono e nitrogênio, algumas espécies são conhecidas por acumular e excretar fitormônios (MEENA et al., 2017). Sabe-se que a produção de alguns desses fitormônios pode envolver diretamente a ativação de mecanismos de resistência das plantas (JANNIN et al., 2013; ŠIMURA et al., 2018).

Microalgas produzem diferentes compostos biologicamente ativos (hormônios vegetais e substâncias antimicrobianas) responsáveis pela atividade bioestimulante e biopesticida (RANGLOVÁ et al., 2021). Em baixas aplicações, os bioestimulantes à base de algas já demonstraram em inúmeras pesquisas seu potencial em estimular o crescimento das plantas, aumentar o número de flores, frutos e raízes, melhorando a tolerância das plantas à salinidade, à seca e ao calor (BATTACHARYYA et al., 2015).

Atualmente, o uso de microalgas como agentes promotores de crescimento vegetal em culturas como arroz (*Oryza sativa*), trigo (*Triticum*), algodão (*Gossypium*), leguminosas e hortaliças, é considerado uma alternativa ao uso de fertilizantes químicos e defensivos. Uma vez que estes últimos são prejudiciais do ponto de vista ambiental e sanitário (PRASANNA et al., 2015). Devido ao exposto, é necessário encontrar tecnologias alternativas para aumentar a produtividade e uso dos sistemas agrícolas sustentáveis (MÓGOR et al., 2018).

A espécie da microalga *Scenedesmus acuminatus* (Lagerheim) Chodat 1902 têm sido foco de grande interesse devido a sua elevada produtividade lipídica, o que favorece a produção de

biocombustíveis, além disso, tem uma alta produtividade de biomassa (BAUMGARTNER et al., 2013). Devido a esse rendimento considerável de biomassa, pode ser considerada como candidata em potencial para formulação de bioestimulantes para plantas.

Já se tem conhecimento sobre o efeito da aplicação de extratos de microalgas na germinação de sementes (SUPRAJA et al., 2020; VIEGAS et al., 2021) e, principalmente da espécie *S. acuminatus* (SANTOS et al., 2021) e, por isso, torna-se necessário compreender a ação desses extratos no crescimento e produtividade de plantas cultivadas.

O feijoeiro é uma cultura caracterizada como a maior fonte de proteína vegetal na alimentação humana (MONDO; NASCENTE, 2018; CASTRO et al., 2019). Devido a sua extensa utilização, geralmente é cultivado em quase todas as regiões do país, com técnicas mais rudimentares, sob variadas condições ambientais e em diferentes épocas do ano (TAVARES et. al., 2017). Considerando a importância social e econômica do feijão, é de extrema importância que se busque alternativas para proporcionar o aumento da qualidade, produção das sementes, melhor desenvolvimento e facilidade no manejo dessas lavouras.

Em virtude da necessidade de sistemas agrícolas mais sustentáveis, que promovam o aumento da produção agrícola, diversas alternativas de manejo para substituir o modelo convencional adotado atualmente, tem sido estudado, visando aumentar a uniformidade e rapidez da germinação, principalmente, pelos agricultores familiares (BARBOSA, 2018). Nesse contexto, a aplicação de bioestimulantes podem favorecer um o melhor desenvolvimento da cultura de feijão e tornar-se um diferencial no aumento de produtividade.

Já foi observado que a cultura de feijão responde positivamente ao uso de bioestimulantes (PAVEZI et al., 2017), a aplicação destes em plantas de feijão favorece o aumento da produtividade dos grãos, números de vagens, altura das plantas, incremento da massa seca (PERIN et al., 2016; ABREU et al., 2020; MONTEIRO et al., 2021).

O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito do extrato da microalga dos *Scenedesmus acuminatus*, no desenvolvimento de uma cultura de feijão, através dos parâmetros de qualidade do rendimento e produtividade.

MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi realizado entre os meses de abril e maio de 2021 e teve duração de 85 dias. A área de estudo foi a Fazenda Experimental de Ensino, Pesquisa e Extensão da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - UNESP, localizada no município de Selvíria - MS, situada a 20°20' de

latitude Sul e 51°24' de longitude Oeste de Greenwich, com elevação aproximada de 335 metros. O solo da área experimental é um latossolo vermelho distrófico típico argiloso (SANTOS *et al.*, 2018).

Segundo a classificação Köppen (1948), o clima é do tipo Aw apresentando temperatura anual máxima de 31 °C e mínima de 19 °C, com precipitação pluvial anual média de 1.313 mm (PORTUGAL *et al.*, 2015).

O extrato da alga *S. acuminatus* foi utilizado na concentração de 1,5g/L. O cultivar utilizado foi feijão carioca IAC 1850, seguindo delineamento experimental blocos casualizados com quatro repetições. As parcelas foram constituídas por 7 linhas com 5,0 m de comprimento e espaçadas de 0,45 m entre si. Os tratamentos foram constituídos pelos seguintes tratamentos: T1 – controle; T2 – Extrato aquoso aplicado em V₄₋₃ (terceira folha trifoliada completamente formada); T3 – Extrato aquoso aplicado em R₅ (botões florais formados); T4 - Acadian aplicado em V₄₋₅; T5 – Acadian aplicado em R₅.

As aplicações dos extratos de algas foram realizadas na forma de jato dirigido, com pulverizador manual elétrico de pressão constante e vazão de 200 L ha⁻¹. A primeira aplicação ocorreu em V₄₋₃ (extratos de algas) ocorreu no dia 02 de maio de 2021, aos 15 DAE. A segunda aplicação (extrato de algas) por ocasião do estágio R₅, foi realizada em 19 de maio de 2021, aos 32 DAE no período da tarde (entre 14:30 h e 15:30 h) sob boas condições de aplicação.

A emergência das plântulas ocorreu no dia 17 de abril de 2021, 5 dias após a semeadura. O florescimento pleno das plantas de feijão foi registrado em 23 de maio de 2021, aos 36 DAE e a colheita do feijão foi efetuada manualmente e individualmente por unidade experimental no dia 07 de julho de 2021, aos 81 DAE, colhendo-se duas linhas centrais de cada parcela. As plantas ficaram expostas ao sol para secar completamente e também foram colhidas separadamente 6 plantas de cada parcela para avaliação dos componentes de produção.

Durante a condução do experimento e após sua colheita, realizaram-se as seguintes avaliações:

Componentes de produção: população final de plantas; a contagem do número de plantas e transformado em plantas ha⁻¹. Para determinação do número de vagens por plantas e número de grãos por planta, foram coletadas uma amostra de 6 plantas em cada parcela.

Produtividade de grãos: as plantas da área útil de cada parcela foram arrancadas e deixadas para secagem a pleno sol. Após a secagem, foram submetidas a trilha manual, os grãos pesados e os dados convertidos em kg ha⁻¹ (13 % base úmida).

Análise de dados

A partir dos dados obtidos foi realizada comparação múltipla *pos hoc* de Tukey para testar a significância das diferenças entre as médias dos tratamentos, ao nível de significância de 5%, utilizando software Assistat (Versão 7.7).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação aos componentes de produção, não foi possível perceber diferença significativa entre o número de plantas por hectare, diferentemente dos outros parâmetros avaliados. O T2 apresentou diferença significativa no número de grãos, e o número de vagens também foi superior aos demais tratamentos, com uma média de 19,37 vagens por planta (Tabela 1), representando um incremento de 62,23% no número de grãos. Estes dados concordam com os resultados obtidos por Abreu et al. (2020), que perceberam um incremento de 17,5% em grãos na cultura do feijoeiro quando aplicou-se o bioestimulante. Esse fator possivelmente relaciona-se com a atuação de diversos compostos presentes no extrato de algas, que podem estimular o crescimento vegetativo, biossíntese de clorofila e aumentar a taxa fotossintética, que por sua vez afetam a produção de flores e sementes (AHMED; SHALABY, 2012).

Tabela 1: Valores médios dos componentes de produção: grãos por planta, número de vagens e plantas por hectare.

Tratamentos	Grãos p/ planta	Nº de vagens	Plantas/ha
Controle (T1)	60,90 b	13,17 b	154.642 a
T2	98,80 a	19,37 a	183.348 a
T3	49,42 bc	13,25 b	181.496 a
T4	41,72 bc	10,42 bc	163.902 a
T5	50,27 bc	11,30 bc	182.422 a

A ação do bioestimulante na produção de grãos do feijão é atribuída, provavelmente a presença de auxina no sistema radicular das plantas, pois um sistema radicular mais vigoroso possui maior capacidade para absorver água e sais minerais disponíveis na solução do solo, garantindo assim uma rápida alocação de substâncias para os drenos preferenciais das plantas, como os grãos (DOURADO NETO et al., 2014; SANTOS et al., 2021). Este fitormônio afeta o enraizamento ativando a bomba de prótons da membrana plasmática (H^+) (OLIVEIRA et al., 2021) e aumentando

o crescimento das raízes laterais devido à expansão das células radiculares, ajudando assim na absorção de água e nutrientes, proporcionando estabelecimento mais eficaz das plantas (SILVA, 2019).

Outros estudos já constataram que *Scenedesmus sp* foi capaz de produzir diferentes concentrações de auxina, sugerindo que microalgas sejam uma fonte potencial para obtenção desse tipo de fitormônio (PIETRO et al., 2011; BARONE et al., 2018; RONGA et al., 2019). Desta forma, é possível inferir que o bioestimulante, quando aplicado via foliar, é capaz de promover carreamento de fotoassimilados para as sementes, os quais resultariam em maior acúmulo de massa nas sementes.

Para o número de vagens, o T2 foi significativamente superior, com uma média de 19 vagens. Resultados semelhantes foram obtidos por FRASCA et al. (2020) que obtiveram em média 16 vagens, quando aplicou bioestimulantes a base da alga *Ascophyllum nodosum*. Mógor et al., (2008), também observaram que todos os tratamentos contendo extrato da mesma alga, tiveram médias superiores ao controle, contendo de 20 a 18 vagens por planta de feijoeiro. Esses resultados podem ser atribuídos ação dos bioestimulantes na proteção vegetal contra fitopatógenos, promovendo produção de moléculas bioativas, proporcionando então o desenvolvimento das plantas. Já se tem conhecimento sobre a capacidade de microalgas quando aplicadas à plantas, induzirem-na resistência, gerando compostos antimicrobianos que podem restringir ou matar bactérias, fungos e/ou nematoides patogênicos e, portanto, podem ser utilizadas como uma alternativa aos fungicidas químicos e outras classes, que são extremamente nocivos aos organismos e meio ambiente (ARAÚJO et al., 2022; GUO et al., 2020). Além disso, sabe-se que a ação dos bioestimulantes à base de algas em plantas também promovem maior tolerância ao estresse abiótico (BAYONA-MORCILLO et al., 2020).

A produtividade dos grãos apresentou diferença significativa, sendo o T2 o tratamento que obteve maior produtividade com uma média de 2.614 kg/ha (Tabela 2). A aplicação dos extratos nos botões florais formados também apresentou diferença significativa quando comparado ao tratamento controle, alcançando 2.331 kg/ha. Outros estudos verificaram um aumento de até 30% da produtividade de leguminosas quando tratadas com extratos de algas, visto que uma das causas se deve à variabilidade de nutrientes que pode ser disponibilizada para a planta (FUKAMI et al., 2016; GALINDO et al., 2018).

Tabela 2: Valores médios de produtividades dos grãos em kg/ha.

Tratamentos	kg/ha ⁻¹
Controle	2.107,00 b
T2	2.614,25 a
T3	2.331,00 ab
T4	2.238,00 ab
T5	2.080,00 b

O efeito do bioestimulante apresentou interação positiva no que diz respeito a produtividade da cultura. Resultados semelhantes foram obtidos por Alobwede et al. (2019) que utilizando extratos de *Spirulina platensis* e *Chlorella vulgaris* em uma cultura de arroz observaram que os bioestimulantes aumentaram o rendimento do arroz em 20%. A utilização desses produtos proporciona um aumento na produtividade de grãos tanto em aplicação realizada por meio do tratamento de sementes quanto a aplicação foliar (BERTOLIN et al., 2010; BEIGZADEH et al., 2019). Esse aumento da produtividade pode ser explicado pelo aumento da disponibilização de nutrientes e hormônios vegetais provocados pela aplicação do extrato de algas e consequentemente potencialização de atividades metabólicas relacionadas à “relação fonte dreno” para a formação dos grãos (FERNANDES et al., 2022). A aplicação foliar da microalga *Spirulina platensis* em pimenta, em condições de campo, no Egito, proporcionou produtividade semelhante à adubação padrão com NPK (ALY; ESAWY, 2008).

Esse efeito positivo do extrato de *S. acuminatus* no rendimento e produtividade da cultura de feijão, pode ser atribuído a disponibilização de micronutrientes presentes na microalga (Tabela 3). Abreu et al. (2008) afirmam que o extrato de algas possui a propriedade de estimular o crescimento vegetal devido à sua composição rica em macro e micronutrientes. Os micronutrientes encontrados em maior quantidade na composição da biomassa algal foram ferro, manganês e zinco.

Tabela 3: Composição de macronutrientes e micronutrientes na biomassa algal de *S. acuminatus*.

Elemento	(g/Kg)
Nitrogênio	43,3
Fósforo	21,6
Potássio	13,0
Cálcio	18,0
Magnésio	5,8
Enxofre	6,3
Boro	14,5
Cobre	32,0
Ferro	842,0
Manganês	348,0
Zinco	86,0

O ferro é de grande importância na rota metabólica de síntese de cloroplastos, dessa maneira sua escassez promove a redução da taxa fotossintética. Além de atuar na síntese proteica, a deficiência do mesmo inibe o crescimento. (SILVA et al., 2019).

O manganês é o segundo micronutriente mais abundante em solos tropicais, perdendo apenas para o ferro, desempenha papel importante em diversos processos vitais das plantas como fotossíntese, respiração, eliminação de espécies reativas de oxigênio (ROS), sinalização de hormônios entre outros (ALEJANDRO et al., 2020). Este elemento também tem efeito significativo sobre a capacidade e a velocidade de absorção de água através do tegumento, interferindo assim, na quantidade de nutrientes liberados para o meio externo durante a fase de embebição do processo de germinação de sementes (TEIXEIRA et al., 2005).

O zinco é responsável por agir na atividade enzimática e no metabolismo de carboidratos e proteínas. Vale destacar a presença desse elemento na formação da superóxido dismutase, enzima de grande relevância ao mecanismo de defesa antioxidante das plantas. (FELISBERTO, 2018). Lana et al. (2008), ao avaliarem micronutrientes na cultura do feijão, observaram que os maiores índices de produtividade estavam relacionados ao uso do micronutriente zinco, que proporcionou aumento de 41,5% na produtividade do feijoeiro.

Os resultados obtidos neste estudo indicam que bioestimulantes são benéficos quando aplicados a culturas agrícolas e, que na concentração utilizada neste estudo obteve respostas positivas no que diz respeito ao rendimento e produtividade da colheita, nos parâmetros componentes de

produção e produtividade de grãos. Desta forma, pode ser considerado como uma prática sustentável, em substituição a agroquímicos tradicionais, pois atualmente a presença de herbicidas em meio aquático têm se tornado cada vez maior (BRÊDA-ALVES et al., 2021), devido ao seu uso indiscriminado resulta na alteração desse ecossistema. Assim uso de bioestimulantes se torna uma alternativa aplicável à agricultura orgânica e contribui para conservação do ambiente natural.

CONCLUSÃO

O extrato de *Scenedesmus acuminatus* é eficiente na promoção do crescimento e aumento da produtividade da cultura de feijão IAC 1850. A cultura de feijão apresentou aumento nos componentes de produção e produtividade dos grãos, quando a aplicação do extrato ocorre no estágio vegetativo da planta, por meio da aplicação via foliar.

A concentração do extrato utilizada neste estudo foi eficaz para o rendimento e produtividade da colheita desta cultura.

O aumento da produtividade da cultura pode ser explicado pela atuação dos extratos nas atividades metabólicas das plantas e conseqüentemente aumento da disponibilização de nutrientes presentes na microalga, tais como ferro, manganês e zinco que atuam na síntese proteica, fotossíntese e metabolismo de carboidratos, respectivamente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-RAOUF, N.; AL-HOMAIDAN, A. A.; IBRAHEEM, I. B. M. Microalgae and wastewater treatment. Saudi Journal of Biological Sciences, v. 19, n. 3, p. 257–275, 2012.

ABREU, G. F.; TALAMINI, V.; STADNIK, M. J. Bioprospecção de macroalgas marinhas e plantas aquáticas para o controle da antracnose do feijoeiro. Summa Phytopathologica, v. 34, n. 1, p. 78-82, 2008.

ABREU, M. S.; LIMA, S. F.; OLIVEIRA NETO, F. M.; GARCIA, D. H.; TAVEIRA, A. C.; THOMÉ, S. E. N.; QUIRINO, T. S. *Ascophyllum nodosum* e nicotinamida afetam produtividade do feijoeiro comum. Research, Society and Development, v. 9, n. 9, p. 1-16, 2020.

AHMED, Y. M.; SHALABY, E. A. Effect of different seaweed extracts and compost on vegetative growth, yield and fruit quality of cucumber. Journal of Horticultural Science e Ornamental Plants, v. 4, n. 3, p. 235-240, 2012.

ALEJANDRO, S.; HÖLLER, S.; MEIER, B.; PEITER, E. Manganese in plants: from acquisition to subcellular allocation. *Frontiers in Plant Science*, v. 11, p. 1-23, 2020.

ALOBWEDE, E.; LEAKE, J. R.; PANDHAL, J. Circular economy fertilization: Testing micro and macro algal species as soil improvers and nutrient sources for crop production in greenhouse and field conditions. *Geoderma*, v. 334, p. 113–23, 2019.

ALY, M. S.; ESAW, M. A. Evaluation of *Spirulina platensis* as bio stimulator for organic farming systems. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, v. 6, n. 1, p. 1-7, 2008.

ARAÚJO, B.; MACHADO, W.; MORIOKA, I. R. L.; MURATA, M. M.; MARQUES, S. B. J.; SUGUIMOTO, H. H. Uso de microalgas como bioestimuladoras da germinação de sementes, *Uniciencias*, v. 26, n. 1, p. 58-62, 2022.

ARAÚJO, S. B. V.; SILVA, B. M. V.; LIRA, B. E.; CALIXTO, D. C.; SANTANA, S. K. J.; PEREIRA, L. R. E.; SASSI, C. F. C.; CONCEIÇÃO, M. M.; SASSI, R. Metabolites produced by microalgae from northeastern Brazil with potential food industry uses. *Research, Society and Development*, v. 11, n. 6 – 2022.

BARBOSA, S. J. C. Utilização de biofertilizante bovino líquido em cultivo de alface crespa (cv. Vanda). Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Agroecologia e Desenvolvimento Rural, Universidade Federal de São Carlos, 2018.

BATTACHARYYA, D.; BABGOHARI, Z. M.; RATHOR, P.; PRITHIVIRAJ, B. Seaweed extracts as biostimulants in horticulture. *Scientia Horticulturae*, v. 196, p. 39–48, 2015.

BAUMGARTNER, T. R. S.; BURAK, J. A. M.; KOGIKOSKI, M. E.; SEBASTIEN, N. Y.; ARROYO, P. A. Avaliação da produtividade da microalga *Scenedesmus acuminatus* (Lagerheim) Chodat em diferentes meios de cultivo. *Revista Brasileira de Biociências*, v. 11, n. 2, 2013.

BAYONA-MORCILLO, P. J.; PLAZA, B. M.; GÓMEZ-SERRANO, C.; ROJAS, E.; JIMÉNEZ-BECKER, S. Effect of the foliar application of cyanobacterial hydrolysate (*Arthrospira platensis*) on the growth of *Petunia x hybrida* under salinity conditions, *Journal of Applied Phycology*, v. 32, n. 6, p. 4003–4011, 2020.

BARONE, V.; BAGLIEI, A.; STEVANATO, P.; BROCCANELLO, C.; BERTOLDO, G.; BERTAGGIA, M.; CAGNIN, M.; PIZZEGHELLO, D.; MOLITERNI, VMC.; MANDOLINO, G.; FORNASIER, F.; SQUARTINI, A.; NARDI, S.; CONCHERI, G. Root morphological and molecular responses induced by microalgae extracts in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Journal of Applied Phycology*, v. 30, p. 1061-1071, 2018.

BEIGZADEH, S.; MALEKI, A.; HEYDARI, M. M.; KHOURGAMI, A.; RANGIN, A. Ecological and physiological performance of white bean (*Phaseolus vulgaris* L.) affected by algae extract and salicylic acid spraying under water deficit stress. *Applied Ecology and Environmental Research*, v. 17, n. 1, p. 343-355, 2019.

BERTOLIN, D. C.; SÁ, M. E.; ARF, O.; HAGA, K. Y.; ABRANTES, L. F.; NOGUEIRA, D. C. Efeito de bioestimulantes no teor e no rendimento de proteínas de grãos de soja. *Agrarian*, v. 1, n. 2, p. 23-34, 2010.

BRÊDA-ALVES, F.; FERNANDES, V. O.; CHIA, M. Understanding the environmental roles of herbicides on cyanobacteria, cyanotoxins, and cyano HABs. *Aquatic Ecology*, v. 55, p. 347-360, 2021.

CASTRO, E. C.; CRUVINEL, A.; WANDER, A. E. Mercado de cultivares de feijão-comum (*Phaseolus vulgaris*) no Brasil. *IGepec*, v.23, p. 181-198, 2019.

CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. Safra 2018/19 - Sétimo levantamento - Acompanhamento da safra brasileira de grãos. Brasília, v. 6, n. 7, p. 1-69, abr. 2018. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 23 mai. 2022.

CRAIGIE, J. S. Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture. *Journal of Applied Phycology*, v. 23, p. 371–393, 2011.

DOURADO NETO, D.; DARIO, G. J. A.; BARBIERI, A. P. P.; MARTIN, T. N. Ação de bioestimulante no desempenho agrônômico de milho e feijão. *Bioscience Journal*, v. 30, n. 1, p. 371-379, 2014.

DU JARDIN, P. Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Scientia Horticulturae*, v. 196, p. 3–14, 2015.

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Informações Técnicas para o Cultivo do Feijoeiro Comum na Região Nordeste Brasileira 2013-2014. 2013. Disponível em <http://www.cpatc.embrapa.br/publicacoes_2013/doc_181.pdf>. Acesso em: 01 jul 2022.

FELISBERTO, G. Silício na mitigação de estresse por deficiência de zinco em plantas de arroz e soja. Tese de doutorado - Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2018.

FERNANDES, V. S.; FIDELIS, R. R.; FERNANDES, M. S. P.; VELOSO, M. N.; MORAIS, S. H.; JORGE, S. V.; VANDERLEIS, Q. G.; SILVA, A. G. Efeito de doses e épocas de aplicação de extrato de algas em caracteres morfológicos de cultivares de arroz no Tocantins. *Revista Agrarian*, v. 22, n. 2, p. 1-22, 2022.

FRASCA, M. L. L.; NASCENTE, S. A.; LANNA, C. A.; CARVALHO, S. C. M.; COSTA, G. G. Bioestimulantes no crescimento vegetal e desempenho agrônômico do feijão-comum de ciclo super precoce. *Revista Agrarian*, v. 13, n. 47, p. 27-41, 2020.

FUKAMI, J.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S.; HUNGRIA, M. Assessing inoculation methods of maize and wheat with *Azospirillum brasilense*. *Amb Express*, v. 6, n. 1, p. 1-13, 2016.

GALINDO, F. S.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; BUZETTI, S.; RODRIGUES, W. L.; FERNANDES, G. C.; BOLETA, E. H. M.; BARCO NETO, M.; BIAGINI, A. L. C.; BARATELLA, E. B., SOUZA, J. S. Nitrogen rates associated with the inoculation of *Azospirillum brasilense* and application of Si: effects on micronutrients and silicone concentration in irrigated corn. *Open Agriculture*, v. 3, p. 510–523, 2018.

GUO, S.; WANG, P.; WANG, X.; ZOU, M.; LIU, C.; HAO, J. Microalgae as biofertilizer in modern agriculture. In: ALAM, M. A.; XU, J. L.; WANG, Z., Orgs. *Microalgae biotechnology for food, health and high value products*. Singapore: Springer Singapore, 2020. 483 p.

JANNIN, L.; ARKOUN, M.; ETIENNE, P.; LAÎNÉ, P.; GOUX, D.; GARNICA, M.; FUENTES, M.; SAN FRANCISCO, S.; BAIGORRI, R.; CRUZ, F.; HOUDUSSE, F.; GARCIA-MINA, J. M.; YVIN, J. C.; OURRY, A. *Brassica napus* growth is promoted by *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jol. seaweed extract: microarray analysis and physiological characterisation of N, C, and S metabolisms. *Journal of Plant Growth Regulation*, v. 32, p. 31-52, 2013.

LANA, R. M. Q.; PEREIRA, R. P.; LANA, A. M. Q.; FARIA, M. V. de.; Utilização de micronutrientes na cultura do feijoeiro cultivado em sistema plantio direto. *Bioscience Journal*, v. 24, n. 4, p. 58-63, 2008.

LIEBMAN, M.; DAVIS, A. S. Integration of soil, crop and weed management in low-external-input farming systems. *Weed Research*, v. 40, p. 27–47, 2000.

MARAFON, F.; SIMONETTI, A. Formas de aplicação e dosagens do extrato de algas na cultura da soja. Congresso Técnico Científico da Engenharia e da Agronomia CONTECC, 2016.

MEENA, M.; SWAPNIL, P.; ZEHRA, A.; AAMIR, M.; DUBEY, M. K.; GOUTAM, J.; UPADHYAY, R. S. Beneficial microbes for disease suppression and plant growth promotion. In: SINGH, D. P; SINGH, H. B.; PRABHA, R., Orgs. *Plant-Microbe Interactions in Agro-Ecological Perspectives*. Springer Nature: Singapore, 2017. 763p.

MÓGOR, A. F.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D.; MÓGOR, G. Aplicação foliar de extrato de alga, ácido L-glutâmico e cálcio em feijoeiro. *Scientia Agraria*. v. 9, p. 431-437, 2008.

MÓGOR, Á. F.; ÖRDÖG, V.; LIMA, G. P. P.; MOLNÁR, Z.; MÓGOR, G. Biostimulant properties of cyanobacterial hydrolysate related to polyamines. *Journal of Applied Phycology*, v. 30, n. 1, p. 453-460, 2018.

MONDO, V. H. V.; NASCENTE, A. S. Produtividade do feijão-comum afetado por população de plantas. *Revista Agrarian*, v. 11, n. 39, p. 89-94, 2018.

MONTEIRO, S. S.; MONTEIRO, S. S.; SANTOS, D. S.; LIMA, J. F.; COSTA, J. S. A. Biofertilizante como bioestimulante na germinação de feijão de porco. *Revista Verde*, v. 16, n. 1, p. 09-17, 2021.

OLIVEIRA, B. A. S.; ASSIS, A. M.; MACIEJEWSKI, P.; RAMM, A.; FRÖLECH, D. B.; SCHUCH, M. W. Humic substances and indolebutyric acid in the in vitro rooting of 'Woodard' blueberry. *Research, Society and Development*, v. 10, n. 11, p. 1-11, 2021.

PAVEZI, A.; FAVARÃO, S. C. M.; KORTE, K. P. EFEITO DE DIFERENTES BIOESTIMULANTES NA CULTURA DO FEIJOEIRO-COMUM. *Revista Campo Digit@l*, v. 12, n. 1, p. 30-35, 2017.

PERIN, A.; GONÇALVES, E. L.; FERREIRA, A. C.; SALIB, G; RIBEIRO, J. M.; ANDRADE, E; SALIB, N. Uso de promotores de crescimento no tratamento de sementes de feijão carioca. *Revista Global. Science Technology*, Rio Verde, v. 09, p. 98-105, 2016.

PIETRO, R. E.; CORDOBA, N. M.; MONTENEGRO, A. M.; GONZÁLEZ-MARIÑO, G. E. 2011. Production of Indole-3-Acetic Acid in the culture medium of microalga *Scenedesmus obliquus* (UTEX 393). *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 22, n. 12, p. 2355-2361, 2011.

PORTUGAL, J. R.; PERES, A. R.; RODRIGUES, R. A. F. Aspectos climáticos no feijoeiro. In: ARF O.; LEMOS L. B.; SORATTO, R. P.; FERRARI, S. (Ed.) Aspectos gerais da cultura do feijão *Phaseolus vulgaris* L. Botucatu: FEPAF, p. 65 75, 2015.

PRASANNA, R.; CHAUDHARY, V.; GUPTA, V.; BABU, S.; KUMAR, A.; SINGH, R.; SHIVAY, Y. S.; NAIN, L. Cyanobacteria mediated plant growth promotion and bioprotection against *Fusarium* wilt in tomato, *European Journal of Plant Pathology*, v. 136, n. 2, p. 337–353, 2013.

PRASANNA, R.; BABU, S.; BIDYARANI, N.; KUMAR, A.; TRIVENI, S.; MONGA, D.; MUKHERJEE, A. K.; KRANTHI, S.; NARKHEDKAR, N. K.; ADAK, A.; YADAV, K.; NAIN, L.; SAXENA, A. K. Prospecting cyanobacteria-fortified composts as plant growth promoting and biocontrol agents in cotton. *Experimental Agriculture*, v. 51, n. 1, p. 42-65, 2015.

RAMOS, A. R.; BINOTTI, F. F. S.; SILVA, T. R.; SILVA, U. R. Bioestimulante no condicionamento fisiológico e tratamento de sementes de feijão. *Revista Biociências*, v.21, n.1, p. 76-88, 2015.

RANGLOVÁ, K.; LAKATOS, G. E.; MANOEL, J. A. C.; GRIVALSKÝ, T.; ESTRELLA, F. S.; FERNÁNDEZ, F. G. A.; MASOJÍDEK, J. Growth, biostimulant and biopesticide activity of the MACC-1 *Chlorella* strain cultivated outdoors in inorganic medium and wastewater. *Algal Research*, v. 53, p. 1-11, 2021.

RONGA, D.; BIAZZI, E.; PARATI, K.; CARMINATI, D.; CARMINATI, E.; TAVA, A. Microalgal biostimulants and biofertilisers in crop productions. *Agronomy*, v. 9, n. 4, p. 1-22, 2019.

SANTOS, H. G.; JACOMINE, P. K. T.; ANJOS, L. H. C.; OLIVEIRA, V. A.; LUMBRERAS, J. F.; COELHO, M. R.; ALMEIDA, J. A.; ARAUJO, J. C. F.; OLIVEIRA, J. B.; CUNHA, T. J. F. Sistema brasileiro de classificação de solos. (5ª ed.). Brasília: Embrapa, 2018.

SANTOS, N. H. S.; SILVEIRA, A. C. D.; FERNANDES, V. O.; MACHADO L. P. Efeito do extrato de algas no desempenho germinativo e crescimento radicular em sementes de feijão BRS Estilo em resposta a diferentes métodos de aplicação. *Hoehnea*, v. 48, p. 1-8, 2021.

SHARMA, H. S. S.; FLEMING, C.; SELBY, C.; RAO, J. R.; MARTIN, T. Plant biostimulants: a review on the processing of macroalgae and use of extracts for crop management to reduce abiotic and biotic stresses. *Journal of Applied Phycology*, v. 26, n. 1, p. 465–490, 2014.

SILVA, L. J. C. Disponibilidade de macro e micronutrientes durante o processo de compostagem de resíduos orgânicos. Trabalho de Conclusão de Curso – Curso de Engenharia Ambiental, Instituto Federal Goiano, Rio Verde, 2019.

ŠIMURA, J.; ANTONIADI, I.; ŠIROKÁ, J.; TARKOWSKÁ, D.; STRNAD, M.; LJUNG, K.; NOVÁK, O. Plant hormonomics: Multiple phytohormone profiling by targeted metabolomics. *Plant Physiology*, v. 177, n. 2, p. 476–489, 2018.

SINGH, J. S., KUMAR, A., RAI, A. N. Y SINGH, D. P. Cyanobacteria: A precious bio-resource in agriculture, ecosystem, and environmental sustainability. *Frontiers in Microbiology*, v. 7, p. 1-19, 2016.

SOUZA, E.F. O morango e sua padronização: classificação de produtos. *Gleba*, v.16, p.6-8, 1972.

SUPRAJA, K. V.; BEHERA, B.; BALASUBRAMANIAN, P. Efficacy of microalgal extracts as biostimulants through seed treatment and foliar spray for tomato cultivation. *Industrial Crop e Products*, v. 151, p. 1-11, 2020.

TAVARES, T.; SOUSA, S.; SALGADOS, F.; SANTOS, G.; LOPES, M.; FIDELIS, R. Adaptabilidade e estabilidade da produção de grão em feijão comum (*Phaseolus vulgaris*). *Revista de Ciências Agrárias*. v. 40, 2017.

TEIXEIRA, I. R.; BÓREM, A.; ARAÚJO, A. A. G.; ANDRADE, B. J. M. Teores de nutrientes e qualidade fisiológica de sementes de feijão em resposta à adubação foliar com manganês e zinco. *Bragantia*, v. 64, n. 1, p. 83-88, 2005.

VERNIERI, P.; BORGHESI, E.; FERRANTE, A.; MAGNANI, G. Application of biostimulants in floating system for improving rocket quality. *Journal of Food, Agriculture e Environmental*, v. 33, n. 3, p. 86–88, 2005.

VIEGAS, C.; GOUVEIA, L.; GONÇALVES, M. Evaluation of microalgae as bioremediation agent for poultry effluent and biostimulant for germination. *Environmental Technology e Innovation*, v. 24, p. 1-13, 2021.

YAKHIN, O. I.; LUBYANOV, A. A.; YAKHIN, I. A.; BROWN, P. H. Biostimulants in plant science: A global perspective. *Frontiers in Plant Science*, v. 7, p. 1-32, 2017.

CAPÍTULO 4: Efeito do extrato de algas no desempenho germinativo e crescimento radicular em sementes de feijão BRS Estilo em resposta a diferentes métodos de aplicação

Autores: Nair Hildelgard Soares dos Santos^{1*} • Ana Clara Duarte Silveira¹ • Levi Pompermayer Machado² • Valéria de Oliveira Fernandes¹

(1) Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Humanas e Naturais, Departamento de Ciências Biológicas, Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal, CEP 29075-910, Vitória, ES, Brasil.

(2) Universidade Do Estado de São Paulo, Departamento de Engenharia de Pesca, CEP 11900-000, Registro, SP, Brasil.

*Autor para correspondência: nairh13@gmail.com

Artigo Publicado: Hoehnea (ISSN 2236-8906) em 13 de dezembro de 2021.

Disponível em: <https://www.scielo.br/j/hoehnea/a/txxGV4npNXzMVx9CwwcMbyH/>

Normas: https://www.scielo.br/media/files/pagina-secundaria-hoehnea-pt-br_pt-br_pinstruc.htm

RESUMO

O potencial bioestimulante de extratos de algas representam uma oportunidade para ampliar a eficiência na produção de alimentos. As microalgas cultiváveis são candidatas viáveis em função da elevada capacidade de produção. Neste trabalho foi avaliada a composição química e efeito do extrato de microalga *Scenedesmus acuminatus* e produto comercial AMPEP (Acadian Marine Plant Extract Powder) derivado da macroalga *Ascophyllum nodosum* na germinação de sementes de feijão BRS Estilo. Os tratamentos analisaram a metodologia de exposição das sementes aos extratos: embebição por 5 horas (T1) e aplicações a cada 48 horas (T2). Os parâmetros avaliados foram: porcentagem de germinação (PG), índice de velocidade (IVG) e tempo médio de germinação (TMG). Os valores de PG e IVG foram superiores no T2, representando cerca de 50% de rendimento maior que o T1. Em relação a composição química, o extrato de *Scenedesmus acuminatus* obteve maiores teores de proteínas e carboidratos. Dessa forma, *S. acuminatus* é potencial produtora de extratos bioestimulantes, enquanto feijão obteve menor desempenho germinativo quando submetido ao processo de embebição.

Palavras-chave: *Ascophyllum nodosum*, bioestimulante, embebição, germinação, microalgas

ABSTRACT

The biostimulating potential of algae extracts represents an opportunity to increase efficiency in food production. Cultivable microalgae are viable candidates due to the high production capacity. In this work, the chemical composition and effect of the microalgae extract *Scenedesmus acuminatus* and commercial product AMPEP (Acadian Marine Plant Extract Powder) derived from the macroalgae *Ascophyllum nodosum* on the germination of BRS Estilo bean seeds were evaluated. The treatments analyzed the methodology of exposure of seeds to extracts: soaking for 5 hours (T1) and applications every 48 hours (T2). The parameters evaluated were: germination percentage (PG), speed index (IVG) and mean germination time (TMG). The values of PG and IVG were higher in T2, representing about 50% higher yield than T1. In relation to chemical composition, *Scenedesmus acuminatus* extract obtained higher levels of proteins and carbohydrates. Thus, *S. acuminatus* is a potential producer of biostimulant extracts, while beans obtained lower germinative performance when submitted to the soaking process.

Keywords: *Ascophyllum nodosum*, biostimulant, soaking, germination, microalgae

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos tem sido observado crescente interesse em substâncias bioestimulantes naturais na agricultura (Craigie 2011), devido ao desafio de equilibrar o desenvolvimento tecnológico com a conservação ambiental, além da necessidade de melhorar a produtividade e qualidade das culturas e produtos derivados (Mógor *et al.* 2017, Navarro-López *et al.* 2020).

As definições clássicas consideram como bioestimulante qualquer substância de origem natural ou microrganismo capaz de melhorar a eficiência nutricional, a tolerância aos estresses abióticos e/ou a qualidade dos cultivos, independente do seu conteúdo nutricional (Du Jardin 2015). Desta forma, bioestimulantes foram classificados como produtos derivados de material orgânico que, aplicados em baixas doses à semente, colheita ou solo, são capazes de estimular o crescimento e desenvolvimento de várias culturas em condições ideais e estressantes (Yakhin *et al.* 2017).

No âmbito legal, os bioestimulantes são qualificados como produtos que contém componentes ativos ou agentes biológicos capazes de atuar, direta ou indiretamente, sobre o todo ou parte das plantas cultivadas, e que seja isento de substâncias proibidas pela regulamentação de orgânicos, de acordo com a Instrução Normativa 64 de 18/12/2008 (MAPA 2008).

A aplicabilidade das algas à agricultura é conhecida desde que o melhoramento de plantas se tornou uma prática (Craigie 2011). São utilizadas nas formas secas ou de extratos, comercializadas a nível mundial como bioestimulantes e/ou como fertilizantes. No Brasil, assim como os aminoácidos e substâncias húmicas, estes produtos são considerados aditivos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), categorizados no grupo de compostos naturais e, tem seu uso aprovado em fertilizantes (Costa *et al.* 2014).

Atualmente, o interesse no uso de microalgas aumentou devido à sua versatilidade e potencial aplicação em diferentes setores, bem como bioestimulantes (Barone *et al.* 2017). E a utilização de extratos de algas vem ganhando popularidade devido ao seu potencial uso na agricultura orgânica e sustentável (Arioli *et al.* 2015). Na produção agrícola, microalgas contêm altos níveis de macronutrientes e micronutrientes, essenciais no processo de germinação e crescimento de plantas (Ronga *et al.* 2019). Ao contrário dos fertilizantes químicos, extratos derivados de algas podem apresentar maior biodegradabilidade sendo, desta forma, menos tóxicos e poluentes, e reduzindo riscos para o meio ambiente (Rathore *et al.* 2009).

Microalgas apresentam muitas vantagens em seu uso, tais como na remoção de matéria orgânica e demanda química de oxigênio no tratamento de efluentes, desintoxicação biológica e por ter uma composição química rica em proteínas, vitaminas, ácidos graxos poli-insaturados e pigmentos, sua biomassa pode ser utilizada em diversos setores. Com relação à fixação de CO₂, as

microalgas, por seu aparato fotossintético, são capazes de fixar mais CO₂ que cultivos de plantas (Schmitz *et al.* 2012).

O efeito promotor do crescimento vegetal de produtos obtidos de algumas espécies de macroalgas marrons é bem conhecido. Entretanto, estudos da utilização da biomassa de microalgas cultiváveis como matéria prima para esse setor, ainda são escassos e em geral identificados em bioensaios (Mógor *et al.* 2018). O potencial das microalgas ainda é pouco desenvolvido no setor agrícola, bem como existe limitação quanto às evidências dos efeitos de extratos em culturas (García-González & Sommerfeld 2016).

O feijão é considerado a segunda leguminosa mais importante no mundo, e umas das principais fontes alimentares na África, Índia e América Latina (Xu & Chang 2011). O Brasil é um dos maiores produtores mundiais de feijão, que se constitui no alimento proteico básico na dieta do brasileiro. Para atender a essa demanda, o feijão é plantado durante todo o ano, nos mais variados sistemas de cultivo (Cargnin & Albrecht 2010).

A produção de feijão é realizada por diversos tipos de produtores, em diversas regiões do país, utilizando diferentes níveis tecnológicos. Dentre estes produtores, a agricultura familiar é apontada como a grande responsável pela produção de feijão no país, por isso com o objetivo de viabilizar a produção desse grão, atualmente estão sendo utilizadas técnicas para aplicação de bioestimulantes naturais na cultura do feijão (Silva & Wander 2013).

Embora o Brasil esteja entre os países principais produtores de feijão, a produtividade média nacional ainda é considerada baixa. Essa situação pode ser atribuída a alguns fatores, tais como: a alta incidência de doenças e pragas, baixa utilização de sementes certificadas, cultivo em condições climáticas adversas e de deficiências nutricionais (Souza *et al.* 2013). Além da melhoria de práticas culturais, uma alternativa viável do ponto de vista econômico e ambiental encontrada por pesquisadores é o desenvolvimento de cultivares superiores, mais resistentes a estresses bióticos e abióticos, mais produtivas e com melhor qualidade de grãos, além de adaptadas à colheita mecanizada. E com esse propósito foi desenvolvida um tipo de grão comercial, a cultivar carioca BRS Estilo, com destaque para seu alto potencial produtivo, além da resistência a oito patótipos do fungo causador de antracnose e ao mosaico-comum (Cargnin & Albrecht 2010).

A cultivar BRS Estilo é uma variedade de feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) do grupo carioca, desenvolvida pela Embrapa através do cruzamento de outras cinco cultivares, visando produzir cultivares de alto potencial produtivo e mais resistentes à doenças, de modo que possibilitem aos produtores ofertar um produto de melhor qualidade ao consumidor final e atingir melhores rendimentos com a cultura (Silva & Wander 2015).

A germinação das sementes é influenciada por diversos fatores, tais como temperatura, substrato, fotoperíodo e até mesmo a forma de aplicação dos bioestimulantes, seja via solo, sistemas de irrigação ou pulverização (Hong *et al.* 2007). Assim, o conhecimento das condições que proporcionam uma germinação uniforme das sementes, é extremamente útil para fins de semeadura, pois maximiza o crescimento e desenvolvimento das plântulas, resultando em plantas mais vigorosas e produtivas. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos na germinação e crescimento de mudas em resposta a diferentes metodologias de aplicação dos extratos de microalgas cultivadas e produto comercial derivado de macroalga marinha em sementes de feijão BRS Estilo. Adicionalmente foram realizadas análises dos teores de proteínas e carboidratos solúveis totais nos extratos avaliados.

MATERIAIS E MÉTODOS

A espécie de microalga *Scenedesmus acuminatus* utilizada no experimento foi selecionada no banco de cultivo do Laboratório de Taxonomia e Ecologia de Algas Continentais da Universidade Federal do Espírito Santo. A microalga foi cultivada durante 20 dias em condições ideais de temperatura, luminosidade e pH, sob temperatura de 25 °C, fotoperíodo de 12/12h (luz/escuro) com iluminância máxima de 40 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e pH de $7 \pm 0,05$.

Foram avaliados o AMPEP (Acadian Marine Plant Extract Powder), extrato comercial derivado da macroalga *Ascophyllum nodosum* (Linnaeus) Le Jolis e extrato aquoso das microalga *Scenedesmus acuminatus* (Lagerheim) Chodat na concentração de 1,5 g L⁻¹. O extrato aquoso da microalga foi obtido por meio da aplicação de água destilada a 60 °C, durante 45 minutos. Posteriormente, foi filtrado com auxílio de papel filtro e conservado a 4 °C (Anisimov & Chaikina 2014). Foi realizada a medição do potencial osmótico e do pH para verificar a influência destas variáveis nos extratos analisados sobre a germinação e crescimento radicular, a fim de garantir que os resultados observados podem ser atribuídos ao efeito bioestimulante. A determinação do potencial osmótico foi realizada com o potenciômetro WP4 modelo C – Decagon, no Laboratório de Solos do Instituto Federal do Espírito Santo, campus Santa Teresa. Para determinar o pH foi utilizado o pHmetro SB90M5 – Symphony.

As sementes de feijão BRS Estilo foram submetidas a dois tratamentos, sendo: T1 (embebição das sementes por um período de 5 horas nos extratos) e T2 (aplicações diretas dos extratos nas sementes a cada 48 horas), além do controle com água em cada tratamento. O ensaio de germinação foi conduzido em rolos de papel Germitest®, com três repetições de 25 sementes, totalizando 600 sementes. O experimento foi mantido em incubadoras B.O.D, fotoperíodo de 12 h e temperatura de 25 °C, seguindo delineamento inteiramente casualizado. A avaliação foi realizada diariamente durante 8 dias. Os parâmetros avaliados foram: porcentagem de germinação (%G): calculada pela fórmula G

= (N/A) x 100. Sendo N = total de sementes germinadas; A = total de sementes. Índice de velocidade de germinação (IVG): calculado pela fórmula $IVG = \sum (ni/ti)$, em que: ni = número de sementes que germinaram no tempo “i”; ti = tempo após instalação do teste (Maguire 1962). Tempo médio de germinação (TMG): calculado pela fórmula $TMG = (\sum niti)/\sum ni$, onde: ni = número de sementes germinadas por dia; ti = tempo de incubação (Labouriau 1983) e crescimento radicular. O comprimento da radícula (CR) foi determinado com auxílio de paquímetro, na região de transição entre a raiz e caule até a extremidade da raiz principal, expresso em centímetros.

A partir de uma alíquota de 1 mL do extrato (n = 3) foi realizada a extração e quantificação de proteínas solúveis e carboidratos totais presentes nos extratos com base na curva padrão de absorbância em espectrofotômetro de 750 nm e 490 nm respectivamente, em função da concentração de albumina sérica bovina (BSA) e glicose (Lowry *et al.* 1951, Dubois *et al.* 1956). Esses dados posteriormente foram transformados e comparados com as concentrações informadas no rótulo do fabricante do Acadian® Marine Plant Extract.

Os dados foram submetidos à análise de variância e comparação múltipla teste *pos hoc* de Tukey, com nível de significância à 1%. As análises foram realizadas com o software ASSISTAT (Versão 7.6).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As sementes submetidas ao T2 (48 horas) obtiveram maior porcentagem de germinação em todos os extratos testados, sendo significativamente superior ao T1 (embebição) ($p < 0,01\%$). Em ambos os tratamentos o extrato de *Scenedesmus acuminatus* promoveu maior porcentagem de germinação, os valores obtidos foram 50,6% para o T1 e 97,3% para o T2. (Figura 1). Estes resultados indicam efeito positivo dos extratos no processo germinativo, padrão que também foi encontrado no estudo de Dineshkumar *et al.* (2019) que testou sementes de milho (*Zea mays* L.) e cebola (*Allium cepa* L.) submetidas a tratamentos com extrato de *Chlorella vulgaris* onde obtiveram maior rendimento em comparação a fertilizantes químicos sintéticos. Bumandalai & Tserennadmid (2019) também demonstraram que a aplicação de extratos aquosos da mesma microalga aumentou a germinação, melhorando o crescimento e rendimento do tomate (*Solanum Lycopersicum* L) e do pepino (*Cucumis sativus* L.).

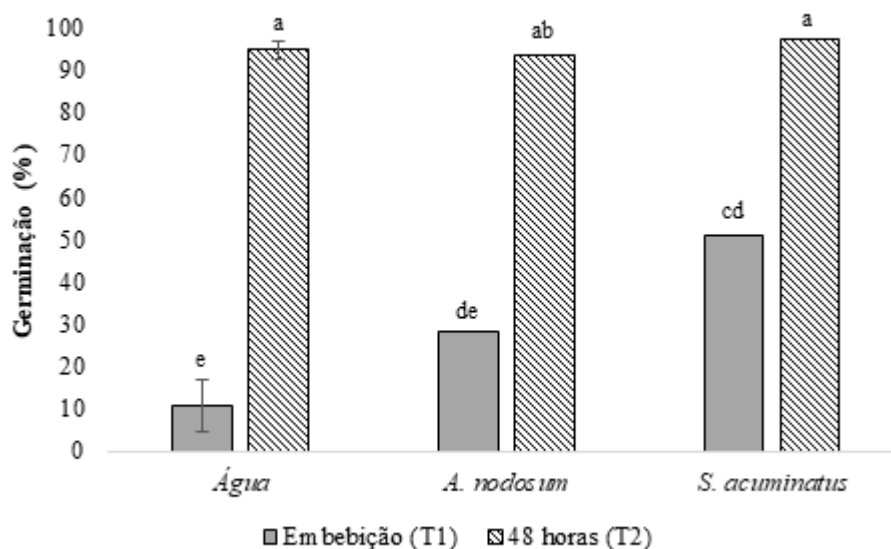


Figura 1. Porcentagem de germinação de sementes de feijão BRS Estilo (*Phaseolus vulgaris*) submetidas a diferentes tratamentos com extratos de algas e controle. Barras representam o desvio padrão da média.

O maior valor de pH registrado foi de 7,99 no controle e o menor valor 6,45 no extrato de *Scenedesmus acuminatus*. Para o potencial osmótico, o maior valor encontrado foi 0 para o controle e menor valor -0,33 no extrato de *Ascophyllum nodosum* (Tabela 1). A partir destes resultados, pode-se sugerir que tais parâmetros não influenciaram na germinação das sementes, uma vez que não houve redução das suas taxas de germinação e a variação dos valores foram baixos segundo estudos de Villela *et al.* (1991).

Extrato	pH	Ψs (MPa)
<i>S. acuminatus</i>	6,45	-0,31
<i>A. nodosum</i>	6,88	-0,33
Água	7,99	0,0

Tabela 1. Características físico-químicas dos extratos e da água.

O T1 influenciou diretamente a ação dos extratos testados, promovendo alterações no índice de velocidade de germinação (Tabela 2), apresentando uma redução dos valores neste tratamento. Os resultados demonstram que houve diferença significativa entre os tratamentos de aplicação dos extratos, sendo maior em T2. Garcia-González & Sommerfeld (2016) obtiveram resultados semelhantes nas sementes de tomate em resposta a extratos da microalga *Acutodesmus dimorphus*,

favorecendo o aumento da velocidade de germinação, aumentando em até 63%, sugerindo que de acordo com o método de aplicação dos extratos o efeito bioestimulante tende a ser melhor.

		Tratamento	IVG	TMG	CR
T1	Embebição	<i>S. acuminatus</i>	3,92143 ^{bc}	6,0409 ^a	8,0863 ^a
		<i>A. nodosum</i>	2,17579 ^{cd}	3,8156 ^a	3,8833 ^b
		Água	0,74524 ^d	2,9333 ^a	1,2000 ^b
T2	48 horas	<i>S. acuminatus</i>	10,8809 ^a	2,3805 ^a	11,5333 ^a
		<i>A. nodosum</i>	11,1388 ^a	2,1457 ^a	13,4902 ^a
		Água	10,3055 ^a	2,4245 ^a	12,3457 ^a

Tabela 2. Valores médios do índice de velocidade de emergência – IVG, tempo médio de germinação – TMG (dias) e crescimento radicular – CR (cm) das sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris*). Médias (n= 25) seguidas de letras iguais na coluna não diferem estatisticamente entre si, para o parâmetro avaliado em resposta aos tratamentos de aplicação dos extratos (T1 e T2), pelo teste de Tukey com significância de 1%.

No tratamento 2 não foi possível observar diferença significativa entre os diferentes extratos. O aumento dos parâmetros avaliados em relação ao T1 provavelmente pode ser atribuído a maior quantidade de água disponível para a semente, considerando que a aplicação dos extratos a cada 48 horas proporciona uma reidratação das sementes. A semente absorve água até o nível em que todos os processos preparatórios ocorrem (Ataíde *et al.* 2016), abrangendo três fases: fase de hidratação dos tecidos, seguida pela fase de ativação do metabolismo e digestão de reservas e, finalmente, fase de germinação, que se caracteriza inicialmente, em muitas espécies, pela protusão da raiz primária. Desta forma, a água atua como o principal estímulo, proporcionando, mediante reações químicas, o enfraquecimento do tegumento, acréscimo no volume do embrião e dos tecidos de reserva, induzindo à translocação e assimilação de nutrientes, com consequente crescimento do eixo embrionário (Guimarães *et al.* 2008). A hidratação das sementes apresenta-se como um método eficiente, capaz de propiciar aumento da porcentagem e velocidade de germinação, favorecendo o desenvolvimento das plântulas (Pinedo & Ferraz 2008).

Pode-se sugerir que o processo de embebição (T1) talvez não seja tão eficaz na promoção da germinação e crescimento, pois já foi relatado em outros trabalhos a diminuição da velocidade de germinação das sementes quando embebidas em extratos vegetais (Lorensi *et al.* 2017, Mendonça Júnior *et al.* 2019), além de considerar o tempo de imersão das sementes (Foelkel *et al.* 2015). Desta forma, o tempo de embebição pode ser um fator determinante no desempenho germinativo, considerando que Botelho & Perez (2001) observaram que o tempo em que a semente fica exposta

ao extrato pode ocasionar um estresse, que por sua vez, diminui a porcentagem e a velocidade de germinação. Isso se mostra uma desvantagem no que diz respeito a produtividade agrícola, pois predispõe a semente e a plântula uma menor resistência a condições ambientais adversas.

O T1 e T2 não afetaram significativamente o tempo médio de germinação (Tabela 2), apesar do T2 obter menor tempo de germinação. Esses resultados concordam com Salma *et al.* (2014) que embora tenha detectado aumento de 5% na porcentagem de germinação, também registrou diminuição no tempo médio da germinação em 1.28 dia em resposta ao extrato de *Sargassum vulgare* em duas cultivares de feijão. Haber *et al.* (2006) também verificaram que sementes de cenoura (*Daucus carota*) não obtiveram resposta significativa no tempo de germinação quando tratadas com extrato de *Ascophyllum nodosum*. Isso ocorre provavelmente devido a interação desses parâmetros, pois segundo Oliveira *et al.* (2009) quanto menor o tempo médio de germinação, maior será o índice de velocidade de germinação e quando associados permitem inferir sobre a qualidade das sementes. Esses parâmetros dependem também da espécie em estudo e das condições experimentais ou ambientais nas quais as mesmas são submetidas. Desta forma, neste estudo pode-se afirmar que o menor tempo e a maior velocidade de germinação das sementes do tratamento 2 estão diretamente relacionados a forma de aplicação do extrato. Considerando que, a germinação rápida é característica de espécies cuja estratégia é se estabelecer o mais rápido possível ou quando oportuno, aproveitando condições ambientais favoráveis ao desenvolvimento do novo indivíduo (Ferreira & Borghetti 2004).

As concentrações de proteínas e carboidratos totais do extrato de *Scenedesmus acuminatus* e *Ascophyllum nodosum* foram expressas em porcentagem, e estão listadas na Tabela 3.

Extrato	Proteínas (%)	Carboidratos (%)
<i>Scenedesmus acuminatus</i>	33,93	8,29
<i>Ascophyllum nodosum</i>	4,0	6,0

Tabela 3. Teor de carboidratos totais, proteínas solúveis em água nos extratos aquosos de *Scenedesmus acuminatus* (Lagerh.) Chodat e *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jol.. Valores para as concentrações utilizadas neste trabalho (n=3).

Os valores de proteínas encontradas no extrato de *S. acuminatus* podem ser relacionados ao melhor desempenho das sementes em resposta a este extrato. Outros trabalhos também relacionaram a concentração de proteínas a respostas positivas das sementes aos extratos algais (Machado *et al.* 2017, Jannin *et al.* 2013, Mattner *et al.* 2013). Machado *et al.* (2018) sugere que a análise da concentração de proteínas pode ser uma ferramenta para seleção de espécies de algas com potencial aplicação na agricultura.

A caracterização bioquímica neste trabalho é de extrema importância, considerando que, microalgas também são organismos que prestam serviços ecossistêmicos, devido a sua capacidade de

retenção e imobilização de alguns compostos presentes em águas residuais, tais como amônia, nitrato, fosfato e oxigênio químico (Nayak *et al.* 2016). E essa disponibilidade de nutrientes exerce influência no crescimento, composição bioquímica e metabolismo primário das microalgas (Lourenço 2006).

Estes resultados demonstram que as microalgas apresentam um potencial de produção de moléculas bioativas, tais como proteínas e carboidratos (Derner *et al.* 2006), capazes de estimular o crescimento das plantas (Mógor *et al.* 2017) e proporcionar maior tolerância a tensões bióticas e abióticas (Ertani *et al.* 2009).

Os extratos promoveram crescimento radicular das plântulas (Figura 2), houve diferença significativa apenas do extrato de *Scenedesmus acuminatus* no T1. Isso ocorreu devido ao crescimento radicular das plântulas submetidas ao extrato de *S. acuminatus* apresentarem um aumento de 29% no comprimento total em relação as plântulas controles. Já no T2 não houve diferença significativa entre os extratos e controle. Este padrão também foi registrado no trabalho de Barone *et al.* (2017) que verificou que extratos líquidos de *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus quadricauda* foram capazes de induzir o desenvolvimento radicular de plantas de beterraba (*Beta vulgaris* L.). Outros estudos também atestaram efeito benéfico dos extratos de algas na estimulação do crescimento de raízes em plântulas de feijão tratadas com extrato de *Osmundaria obtusiloba* (Machado *et al.* 2018) e em tomate, tratadas com extrato de *Aphanothece* sp. e *Chlorella pyrenoidosa*, apresentando um aumento no comprimento das raízes de até 112,65% e 84,8%, respectivamente (Chanda *et al.* 2020).



Figura 2. Plântulas resultantes dos diferentes métodos de aplicação dos extratos das algas, embebição (T1) e 48 horas (T2), respectivamente. A. controle (água); B. extrato de *A. nodosum*; C. extrato de *S. acuminatus*.

O estímulo ao crescimento radicular pode ser atribuído à provável presença de auxinas nos extratos, fitormônio responsável pelo alongamento celular e promoção do crescimento. A capacidade de produção de fitormônios em algas verdes como *Chlorella sp.* e *Scenedesmus sp.* foi descrita em vários estudos (Tarakhovskaya *et al.* 2007, Lu & Xu 2015). *Scenedesmus sp.* foi capaz de produzir diferentes concentrações de auxina, sugerindo que microalgas sejam uma fonte potencial para obtenção desse tipo de fitormônio (Pietro *et al.* 2011). Já foi constatado anteriormente que extratos de algas aplicados em calos de soja (*Glycine max*) provocam incremento no número de raízes emitidas, de forma análoga à aplicação de ácido indolbultúrico (Foelkel *et al.* 2015). A auxina é produzida nos meristemas apicais aéreos, e exigida em baixas concentrações para o crescimento de raízes, altas concentrações inibem seu crescimento (Taiz & Zeiger 2004).

Chanda *et al.* (2019) afirma que os polissacarídeos presentes nas microalgas, são ricos em grupos funcionais com a capacidade de se ligar a alguns microelementos com importante valor nutricional das plantas, melhorando assim a disponibilidade de nutrientes das raízes. Já Mógor *et al.* (2018) atribui o crescimento radicular a bioatividade de aminoácidos presentes na biomassa de *Arthrospira platensis* como responsável pelo aumento do crescimento das raízes de feijão mungo (*Vigna radiata*) em até 27,9% do comprimento total da raiz.

Deve-se ressaltar que, mesmo com a presença de alguns compostos bioativos, as respostas das plantas podem variar, pois dependem tanto do método (tratamento de sementes, pulverização foliar e/ou irrigação), quanto das dosagens e frequências de aplicação (Carvalho & Castro 2014).

Diante da crescente demanda por produtos e serviços, é necessário aliar desenvolvimento econômico com proteção ambiental, desenvolvendo-se novos produtos, novas alternativas de processos e técnicas eficientes na minimização e remediação da poluição, tornando assim, a atividade agrícola menos impactante ao meio ambiente (Gadd *et al.* 2008). Desta forma, a utilização de extratos derivados de algas pode ser considerada uma prática sustentável por ser de origem natural e gerar subprodutos menos nocivos ao meio ambiente.

Este trabalho reafirma a importância do uso de algas na produção agrícola, sendo consideradas promissoras no desenvolvimento de produtos bioestimulantes, especialmente para o tratamento de sementes. Desta forma, compreender os mecanismos de ação indutora na germinação de sementes é uma ferramenta útil no avanço para enfrentar os desafios da agricultura com uma demanda por alimento cada vez maior, além de mudanças climáticas.

Os resultados do presente estudo sugerem que extratos de microalgas apresentam potencial bioestimulante em sementes de feijão BRS Estilo, entretanto, deve-se considerar os métodos de aplicação. Pode-se afirmar que o feijão não obteve uma boa resposta após ser submetido ao processo de embebição, quando comparado ao processo de aplicação dos extratos a cada 48 horas,

apresentando um menor desempenho germinativo. Apesar da embebição ser um método menos eficiente, as sementes deste tratamento obtiveram melhores parâmetros germinativos do que o controle água, sugerindo que mesmo em condição desfavorável há efeito benéfico dos extratos no processo germinativo.

Deve-se destacar que, a ação dos extratos utilizados pode obter diferentes respostas germinativas das sementes de acordo com a cultura agrícola testada. Pesquisas futuras são necessárias para determinar os mecanismos de ação e a composição química refinada dos extratos e sua atuação nas plantas. Desta forma definir o pacote tecnológico para desenvolvimento e aplicação de produtos.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Os autores gostariam de agradecer a Acadian Seaplants Limited, Canada, pela doação da amostra de AMPEP.

Literatura citada

Anisimov, M.M. & Chaikina, E.L. 2014. Effect of seaweed extracts on the growth of seedling roots of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) seasonal changes in the activity. *International Journal of Current Research and Academic Review* 2: 19-23.

Arioli, T., Mattner, S.W. & Winberg, P. C. 2015. Applications of seaweed extracts in Australian agriculture: past, present and future. *Journal of Applied Phycology* 27: 2007–2015.

Ataíde, G.M, Borges, E.E.L., Gonçalves, J.F.C., Guimarães, V.M., Flores, A.V. 2008. Alterações fisiológicas durante a hidratação de sementes de *Dalbergia nigra* ((Vell.) Fr. All. ex Benth.). *Ciência Florestal* 26: 615-625.

Barone, V., Baglieri, A., Stevanato, P., Broccanello, C., Bertoldo, G., Bertaggia, M., Cagnin, M., Pizzeghello, D., Moliterni, V.M.C., Mandolino, G., Fornasier, F., Squartini, A., Nardi, S. & Concheri, G. 2017. Root morphological and molecular responses induced by microalgae extracts in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Journal of Applied Phycology* 30: 1061–1071.

Botelho, B.A. & Perez, S.C.J.G.A. 2001. Estresse hídrico e reguladores de crescimento na germinação de sementes de canafístula. *Scientia Agricola* 58: 43-49.

Bumandalai, O. & Tserennadmid, R. 2019. Effect of *Chlorella vulgaris* as a biofertilizer on germination of tomato and cucumber seeds. *International Journal of Aquatic Biology* 7: 95–99.

Cargnin, A. & Albrecht, J.C. 2010. BRS Estilo: nova cultivar de feijoeiro comum do grupo comercial carioca para o Distrito Federal. Comunicado Técnico-Embrapa Cerrados (nº169). 1 ed. Embrapa, Planaltina.

Carvalho, M.E.A. & Castro, P.R.C. 2014. Extratos de algas e suas aplicações na agricultura. 1 ed. ESALQ, Piracicaba.

Chanda, M., Merghoub, N. & El Aroussi, H. 2019. Microalgae polysaccharides: the new sustainable bioactive products for the development of plant bio-stimulants?. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 35:1-10.

Chanda, M., Benhima, R., Elmernissi, N., Kasmi, Y., Karim, L., Sbabou, L., Youssef, Z. & El Aroussi, H. 2020. Screening of microalgae liquid extracts for their bio stimulant properties on plant growth, nutrient uptake and metabolite profile of *Solanum lycopersicum* L. *Scientific Reports* 10:1-13.

Costa M.A., Nogueira, C.E.C., Alves, H.J., Marra, B.M. & Alab, J.H.C. 2014. O uso de macroalgas marinhas na agricultura. *Acta Iguazu* 3: 69-76.

Craigie, J.S. 2011. Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture. *Journal of Applied Phycology* 23: 371–393.

Derner, R.B., Ohse, S., Villela, M., Carvalho, S.M. & Fett, R. 2006. Microalgas, produtos e aplicações. *Ciência Rural* 36: 1959-1967.

Dineshkumar, R., Rasheeq, A.A., Arumugam, A., Nambi, K. S. N. & Sampathkumar, P. 2019. Marine microalgal extracts on cultivable crops as a considerable bio-fertilizer: A Review. *Indian Journal of Traditional Knowledge* 18: 849-854.

Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. & Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Nature* 28: 350-356.

Du Jardin, P. 2015. Plant Bioestimulants: definition, concept, main categories and regulation. *Scientia Horticulturae* 196: 3-14.

Ertani, A., Cavani, L., Pizzeghello, D., Brandellero, E., Altissimo, A., Ciavatta, C. & Nardi, S. 2009. Biostimulant activity of two protein hydrolyzates in the growth and nitrogen metabolism of maize seedlings. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 172: 237–244.

Ferreira, A.G., Borghetti, F. 2004. *Germinação: do básico ao aplicado*. 1 ed. Editora Artmed, Porto Alegre.

Foelkel, E., Mateus, M.A.F., Mógor, A.F. & Brugnara, E.C. 2015. Bioestimulantes aplicados às sementes e folhas de mudas de maracujazeiro-amarelo. *Cultura Agronômica* 24: 135-148.

Gadd, G. M. 2008. Biosorption: critical review of scientific rationale, environmental importance and significance for pollution treatment. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 84: 13- 28.

Garcia-González, J. & Sommerfeld, M. 2016. Biofertilizer and biostimulant properties of the microalga *Acutodesmus dimorphus*. *Journal of Applied Phycology* 28: 1051– 1061.

Guimarães, M.A.; Dias, D.C.F.S.; Loureiro, M.E. 2008. Hidratação de sementes. *Revista Trópica* 2: 31-39.

Haber, L.L., Moreira, G.C., Tonin, F.B., Goto, R. & Valente, M.C. 2006. Alelopatia do extrato aquoso de *Ascophyllum nodosum* na germinação de cenoura e tomate. *In: Anais do XLVI Congresso Brasileiro de Olericultura, Goiânia*, pp. 2461-2464.

Hong, D. D., Hien, H.M. & Filho, P. N. 2007. Seaweeds from Vietnam used for functional food, medicine and biofertilizer. *Journal of Applied Phycology* 19: 817-826.

Jannin, L., Arkoun, M., Etienne, P., Lâiné, P., Goux, D., Garnica, M., Fuentes, M., San Francisco, S., Baigorri, R., Cruz, F., Houdusse, F., Garcia-Mina, J.M., Yvin, J.C. & Ourry, A. 2013. *Brassica napus* growth is promoted by *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jol. seaweed extract: microarray analysis and

physiological characterisation of N, C, and S metabolisms. *Journal of Plant Growth Regulation* 32: 31–52.

Labouriau, L.G. 1983. A germinação das sementes. Organização dos Estados Americanos. Programa Regional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. Série de Biologia. Monografia 24.

Lourenço, S.O. 2006. Cultivo de microalgas marinhas – Princípios e aplicações. 1 ed. Editora Rima, São Carlos.

Lorensi, C.A., Passamani, B.R., Ponce, M.M. & Ethur, L.Z. 2017. Alelopatia de extratos vegetais na germinação e crescimento inicial do tomateiro. *Enciclopédia Biosfera* 14: 185-195.

Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. & Randall, R.J. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry* 193: 265–275.

Lu, Y., Xu, J. 2015. Phytohormones in microalgae: a new opportunity for microalgal biotechnology? *Trends in Plant Science* 20: 273-282.

Machado, A.R., Graça, C.S., Assis, L.M. & Souza-Soares, L.A. 2017. Uma abordagem sobre caracterização e avaliação do potencial antioxidante de extratos fenólicos de microalgas *Spirulina* sp. LEB-18 e *Chlorella pyrenoidosa*. *Revista de Ciências Agrárias* 40: 264-278.

Machado, L.P., Santos, N.H.S., Bastos, K.V. & Costa, D.M. 2018. Biostimulant effect of seaweed extracts applied on beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Cultura Agrônômica* 27: 101-110.

Maguire, J.D. 1962. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science* 2: 176-177.

Mattner, S.W., Wite, D., Riches, D.A., Porter, I.J. & Arioli, T. 2013. The effect of kelp extract on seedling establishment of broccoli on contrasting soil types in southern Victoria, Australia. *Biological Agriculture e Horticulture* 29: 258–270.

MAPA. 2008. Instrução Normativa nº 64, de 18 de dezembro de 2008, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, Brasília.

Mendonça Júnior, A.F., Rodrigues, A.P.M.S., Sales Júnior, R., Negreiros, A.M.P., Bettini, M.O., Freitas, C.D.M., França, K.R.S. & Gomes, T.R.R. 2019. Seaweed extract *Ascophyllum nodosum* (L.) on the growth of watermelon plants. *Journal of Experimental Agriculture International* 31: 1-12.

Mógor, A.F., Amatucci, J.O., Mógor, G., & Lara, G.B. 2018. Bioactivity of cyanobacterial biomass related to amino acids induces growth and metabolic changes on seedlings and yield gains of organic red beet. *American Journal of Plant Sciences* 9: 966–978.

Mógor, A.F., Ördög, V., Lima, G.P.P., Molnár, Z. & Mógor, G. 2017. Biostimulant properties of cyanobacterial hydrolysate related to polyamines. *Journal of Applied Phycology* 30: 453-460.

Navarro-López, E., Ruíz-Nieto, A., Ferreira, A., Ación, F.G. & Gouveia, L. 2020. Biostimulant Potential of *Scenedesmus obliquus* Grown in Brewery Wastewater. *Molecules* 25: 1-16.

Nayak, M., Karemore, A. & Sen, R. 2016. Performance evaluation of microalgae for concomitant wastewater bioremediation, CO₂ biofixation and lipid biosynthesis for biodiesel application. *Algal Research* 16: 216-223.

Oliveira, A.C.S., Martins, G.N., Silva, R.F. & Vieira, H.D. 2009. Testes de vigor em sementes baseados no desempenho de plântulas. *Revista Científica Internacional* 2: 1-21.

Pietro, R.E., Cordoba, N.M., Montenegro, A.M. & González-Mariño, G.E. 2011. Production of Indole-3-Acetic Acid in the culture medium of microalga *Scenedesmus obliquus* (UTEX 393). *Journal of the Brazilian Chemical Society* 22: 2355-2361.

Pinedo, G.J.V., Ferraz, I.D.K. 2008. Hidrocondicionamento de *Parkia pendula* [Benth ex Walp]: sementes com dormência física de árvore da Amazônia. *Revista Árvore* 32: 39-49.

Rathore, S.S., Chaudhary, D.R., Boricha, G.N., Ghosh, A., Bhatt, B.P., Zodape, S.T. & Patolia, J.S. 2009. Effect of seaweed extract on the growth, yield and nutrient uptake of soybean (*Glycine max*) under rainfed conditions. *South African Journal of Botany* 75: 351-355.

Ronga, D., Biazzi, E., Parati, K., Carminati, D., Carminati, E. & Tava, A. 2019. Microalgal Biostimulants and Biofertilisers in Crop Productions. *Agronomy* 9: 1-22.

- Salma, L., Aymen, E.M., Maher, S., Hassen, A., Chérif, H., Halima, C., Mounir, M. & Mimoun, E. 2014. Effect of seaweed extract of *Sargassum vulgare* on germination behavior of two bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.) under salt stress. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science* 7: 116-120.
- Schmitz, R., Dal Magro, C. & Colla, L.M. 2012. Aplicações ambientais de microalgas. *Revista CIATEC – UPF* 4: 48-60.
- Silva, O.F., Wander, A.E. 2013. O feijão comum no Brasil: passado, presente e futuro. Comunicado Técnico Embrapa Arroz e Feijão (nº287). 1 ed. Embrapa, Santo Antônio de Goiás.
- Silva, O.F.; Wander, A.E. 2015. Viabilidade econômica da cultivar de feijão comum BRS Estilo. *Revista Brasileira de Desenvolvimento Regional* 3: 223-242.
- Souza T.L.P.O., Pereira, H.S., Faria, L.C., Wendland, A., Costa, J.G.C., Abreu, A.F.B., Dias, J.L.C., Magaldi, M.C.S., Souza, N.P., Del Peloso, M.J. & Melo, L.C. 2013. Cultivares de feijão comum da Embrapa e parceiros disponíveis para 2013. Comunicado Técnico Embrapa Arroz e Feijão (nº211). 1 ed. Embrapa, Santo Antônio de Goiás.
- Taiz, L. & Zeiger, E. 2004. *Fisiologia vegetal*. 3 ed. Editora Artmed, São Paulo.
- Tarakhovskaya, E.R.; Maslov, Y.I., Shishova, M.F. 2007. Phytohormones in Algae. *Russian Journal of Plant Physiology* 54: 163–170.
- Villela F.A.; Doni Filho L.; Sequeira E.L. 1991. Tabela de potencial osmótico em função da concentração de polietileno glicol 6000 e da temperatura. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 26: 1957-1968.
- Yakhin, O.I.; Lubyaynov, A.A.; Yakhin, I.A.; Brown, P.H. 2017. Biostimulants in plant science: A global perspective. *Frontiers Plant Science* 7: 1-32.

Xu, B. & Chang, S.K.C. 2011. Reduction of antiproliferative capacities, cell-based antioxidant capacities and phytochemical contents of common beans and soybeans upon thermal processing. Food Chemistry 129: 974-981.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Através dos resultados obtidos foi possível evidenciar que extratos aquosos obtidos a partir de microalgas apresentam potencial bioestimulante de crescimento, considerando que todas sementes utilizadas neste trabalho apresentaram respostas germinativas positiva. Esse desempenho benéfico das sementes foi registrado nos diferentes parâmetros avaliados, concentrações e, extratos das microalgas estudadas. Entretanto, a maioria das sementes obtiveram maiores valores de germinação, tempo médio, bons índices de velocidade, e melhor desempenho inicial quando submetidas aos extratos das espécies do gênero *Chlorella* sp., principalmente nas concentrações consideradas intermediárias (1,0 g/L e 1,5 g/L). Vale destacar que a aplicação de altas concentrações de extratos podem ser prejudicial ao desenvolvimento da planta, inibindo sua germinação e posterior crescimento.

Pode-se sugerir que neste estudo o teor de carboidratos obtidos na biomassa das microalgas do gênero *Chlorella* sp. esteja relacionado a um melhor desempenho germinativo das sementes quando submetidas a estes extratos. Isso devido a sua alta capacidade superior de fixação de carbono, utilizado como substrato para desenvolvimento de plantas.

Sabe-se que algas dos gêneros *Chlorella* sp. atuam como promotoras do crescimento vegetal, estimulando a germinação de sementes e diminuindo seu tempo de germinação, isso provavelmente ocorre por essas microalgas serem capazes de produzir fitohormônios que influenciam diretamente na divisão celular e diferenciação dos tecidos vegetais, fatores envolvidos no crescimento e desenvolvimento de plantas.

É necessário destacar que para avaliar a ação dos extratos produzidos a partir de algas, deve-se considerar a cultura agrícola a ser testada, e concentrações. Pois as sementes podem apresentar uma fisiologia diferente e isso influencia no mecanismo de ação dos extratos, consequentemente apresentar respostas germinativas diferentes das registradas neste estudo.

Algas do gênero *Chlorella* sp. possui grande importância econômica devido a sua utilização na produção de cosméticos, suplemento animal, alimentação humana, produção de biodiesel. A partir dos dados obtidos neste estudo pode-se atribuir importância dessas microalgas também na agricultura. Além disso, essas algas possuem componentes com atividade antimicrobiana e anti herbivoria,

através da clorelina, por exemplo, é capaz de controlar o crescimento bacteriano e fúngico, inibindo o crescimento de fitopatógenos garantindo a produtividade das culturas agrícolas.

Este trabalho demonstra extrema importância pois atualmente tem crescido a conscientização da sociedade com relação às questões ambientais, preocupação com a saúde e qualidade dos alimentos, conseqüentemente ampliou-se a busca por alimentos orgânicos. Considerando que os extratos apresentaram potencial bioestimulante para a germinação, crescimento e desenvolvimento dos sistemas de produção, estes podem ser considerados uma alternativa viável e ecologicamente correta ao uso de agroquímicos na agricultura convencional.

Espera-se os resultados obtidos nesta pesquisa forneça subsídio para utilização de microalgas na agricultura e auxilie no desenvolvimento de novos produtos bioestimulantes.