

**UFRRJ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA E
AMBIENTAL**

DISSERTAÇÃO

**BIOMASSA DE MICROALGAS COMO INSUMO SUSTENTÁVEL NA
AGRICULTURA: AVALIAÇÃO DO POTENCIAL BIOFERTILIZANTE E
BIOESTIMULANTE EM CULTURAS HORTÍCOLAS**

CAMILA DA MOTTA DE CARVALHO

2025



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA E
AMBIENTAL**

**BIOMASSA DE MICROALGAS COMO INSUMO SUSTENTÁVEL NA
AGRICULTURA: AVALIAÇÃO DO POTENCIAL BIOFERTILIZANTE E
BIOESTIMULANTE EM CULTURAS HORTÍCOLAS**

CAMILA DA MOTTA DE CARVALHO

Sob a Orientação do Professor
Dr. Henrique Vieira de Mendonça

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestra em Engenharia Agrícola e Ambiental**, no Curso de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola e Ambiental, Área de Concentração em Meio Ambiente.

Seropédica, RJ
Julho de 2025

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

C331b Carvalho, Camila da Motta de , 1995-
 Biomassa de microalgas como insumo sustentável na
agricultura: avaliação do potencial biofertilizante e
bioestimulante em culturas hortícolas. / Camila da
Motta de Carvalho. - Rio de Janeiro, 2025.
 90 f.

 Orientador: Henrique Vieira de Mendonça.
Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal Rural
do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em
Engenharia Agrícola e Ambiental, 2025.

 1. Adubação orgânica. 2. Rúcula (*Eruca sativa* L.).
3. Tomate (*Solanum lycopersicum* L.). 4. Sementes. 5.
Fitormônios. I. Vieira de Mendonça, Henrique, 1984-,
orient. II Universidade Federal Rural do Rio de
Janeiro. Programa de Pós-Graduação em Engenharia
Agrícola e Ambiental III. Título.

É permitida a cópia parcial ou total desta Dissertação, desde que seja citada a fonte.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 e da Fundação de Apoio à Pesquisa Científica e Tecnológica da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (FAPUR).

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO INSTITUTO DE
TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA E AMBIENTAL

CAMILA DA MOTTA DE CARVALHO

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Engenharia Agrícola e Ambiental**, no Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola e Ambiental, Mecanização, Instrumentação e Automação na Agricultura.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 31/07/2025

Henrique Vieira de Mendonca, D.Sc, UFRRJ (Orientador/Presidente da Banca)

Daniel Fonseca De Carvalho, D.Sc, UFRRJ

JONATHAS BATISTA GONCALVES SILVA, D.Sc, UFJF (Externo ao Programa)

ATA Nº 90ª ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE CAMILA/2025 - PPGEAAMB (12.28.01.00.00.00.40)
(Nº do Documento: 3744)

(Nº do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)

(Assinado digitalmente em 01/08/2025 16:14)
DANIEL FONSECA DE CARVALHO
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DEPTOENG (12.28.01.00.00.00.44)
Matricula: ###245#8

(Assinado digitalmente em 01/08/2025 15:37)
HENRIQUE VIEIRA DE MENDONÇA
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
PPGEAAMB (12.28.01.00.00.00.40)
Matricula: ###331#3

(Assinado digitalmente em 02/08/2025 09:02)
JONATHAS BATISTA GONÇALVES SILVA
ASSINANTE EXTERNO
CPF: ###.###.066-##

(Assinado digitalmente em 01/08/2025 15:57)
CAMILA DA MOTTA DE CARVALHO
DISCENTE
Matricula: 2023#####0

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me conceder força, sabedoria e por estar ao meu lado em todos os momentos. Se hoje concluo mais uma etapa da minha formação, é porque o Senhor abriu portas fechadas (foram várias), sustentou-me com Seu amor e esteve comigo durante toda a jornada.

À minha mãe, Elane Motta, por ser meu exemplo de força e coragem. Obrigada por sempre me incentivar e por ser a pessoa que mais acredita no meu potencial. Não teria conseguido sem o seu suporte e amor!

Aos meus avós, Flávio Motta (*in memoriam*) e Maria José (*in memoriam*), que, mesmo não estando mais presentes fisicamente, continuam vivos em minhas lembranças e em tudo o que sou. Às minhas tias, Dinha e Chirley, e aos meus tios, Átila e Hernandes, por todo carinho.

Ao meu orientador, professor Henrique Vieira, pela oportunidade, orientação e por acreditar no meu potencial ao longo desses anos.

Ao professor Conan Ayade pelo constante apoio, valiosos conselhos e por não medir esforços em me ajudar nos meus experimentos. Todo meu carinho e eterna gratidão!

Ao professor Daniel Carvalho, pelas valiosas contribuições durante a qualificação do projeto e na defesa da dissertação, como também por, assim como seus orientados, sempre abrir as portas de seu laboratório para mim.

Aos professores do PGEEAmb e do curso de Engenharia Agrícola e Ambiental pelos vários ensinamentos e por sempre incentivarem o meu crescimento acadêmico.

Aos meus colegas de turma do PGEEAmb por todas as conversas, expectativas compartilhadas e pelas inúmeras palavras de incentivo ao longo desses dois anos.

Ao GPMI, em especial ao Lucas, Cecília, Ângelo e Cassiano por me auxiliarem em diferentes análises e etapas dos ensaios.

Aos amigos que construí ou amizades que se fortaleceram durante esse período, em especial ao João Célio, Cecília Mattos, Yasmim Queiroz e Thaís Machado, que foram fundamentais em tantos momentos dessa jornada.

Agradeço à UFRRJ por me permitir usufruir de um ensino de qualidade e por todas as experiências que me fizeram evoluir como profissional e como pessoa.

À Agribio, por tornar este projeto possível com a concessão da bolsa de estudos.

Por fim, a todas as pessoas que, de alguma forma, contribuíram para que eu alcançasse mais esta etapa tão significativa, deixo aqui o meu muito obrigada!

RESUMO GERAL

CARVALHO, Camila da Motta de. **Biomassa de microalgas como insumo sustentável na agricultura: avaliação do potencial biofertilizante e bioestimulante em culturas hortícolas.** 2025. 90p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola e Ambiental). Instituto de Tecnologia, Departamento de Engenharia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2025.

A crescente preocupação com os potenciais impactos ambientais negativos decorrentes do uso intensivo de insumos sintéticos na agricultura tem estimulado a busca por alternativas mais sustentáveis. Diante disso, nos últimos anos, as microalgas têm sido consideradas uma alternativa promissora em diversas aplicações na agricultura, destacando-se pelo seu potencial como biofertilizante e bioestimulante. Nesse sentido, o presente estudo, estruturado em dois capítulos, teve como objetivo geral avaliar o potencial da biomassa de microalgas como biofertilizante e bioestimulante em espécies hortícolas. No primeiro capítulo, foi avaliado o uso da biomassa desoleificada de microalgas, um subproduto da produção de biodiesel, como fonte alternativa de nitrogênio na adubação da cultura da rúcula (*Eruca sativa* L). O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com sete tratamentos: T1 – controle (sem adubação nitrogenada), T2 – 100% da dose recomendada de nitrogênio fornecida via ureia e T3 a T7 (biofertilizante microalgal em doses equivalentes a 100%, 150%, 200%, 250% e 300% da dose recomendada de nitrogênio) e cinco repetições. Ao fim do cultivo, foram avaliados os principais parâmetros de crescimento da cultura, além da composição nutricional e mineral da parte aérea da rúcula. Os resultados foram submetidos à análise de variância e, quando significativos, as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de significância. Observou-se que os tratamentos com biofertilizante em doses mais próximas da recomendação de N (T3 e T4) geraram acréscimos no comprimento da parte aérea, área foliar, massa fresca da parte aérea, massa seca da raiz e da parte aérea, com valores semelhantes aos obtidos com adubação nitrogenada convencional. Em contrapartida, doses elevadas do biofertilizante não promoveram ganhos adicionais. A análise nutricional indicou que o biofertilizante aumentou os teores de proteínas, fósforo, cálcio, magnésio e sódio na parte aérea da rúcula, demonstrando o potencial da biomassa desoleificada de microalgas como fonte alternativa de nitrogênio na adubação da cultura da rúcula, quando aplicada em doses adequadas. No segundo capítulo, avaliou-se os potenciais efeitos bioestimulantes da biomassa de microalgas cultivadas em águas residuárias de uma indústria de bioprocessos na germinação e desenvolvimento inicial de sementes de rúcula e tomate (*Solanum lycopersicum* L.). Para isso, sementes das duas culturas foram submetidas a seis tratamentos, três compostos por diferentes frações do cultivo microalgal (biomassa integral, concentrada e sobrenadante), um tratamento apenas com água residuária, outro com um regulador de crescimento de plantas (ácido giberélico), e água destilada como controle. Os ensaios foram conduzidos em câmara de germinação tipo B.O.D, em DIC, com quatro repetições de 25 sementes. Os principais parâmetros de germinação e o crescimento inicial das plântulas foram mensurados. O perfil fitormonal dos tratamentos provenientes da biomassa de microalgas também foi descrito. Observou-se que os tratamentos derivados do cultivo microalgal geraram melhorias no crescimento inicial de plântulas, destacando-se aumentos de até 43% na massa fresca e de até 36% no comprimento radicular do tomate, em relação ao controle. Além disso, microalgas cultivadas em águas residuárias da indústria de bioprocessos foram capazes de produzir fitormônios importantes, demonstrando seu potencial como bioestimulante.

Palavras-chave: *Solanum lycopersicum* L.; *Eruca sativa* L.; adubação orgânica; fitormônios; sementes.

GENERAL ABSTRACT

CARVALHO, Camila da Motta de. **Microalgae biomass as a sustainable input in agriculture: evaluation of biofertilizer and biostimulant potential in horticultural crops.** 2025. 90p. Dissertation (Master Science in Agricultural and Environmental Engineering). Institute of Technology, Engineering Department, Rural Federal University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2025.

The growing concern about the potential negative environmental impacts resulting from the intensive use of synthetic inputs in agriculture has encouraged the search for more sustainable alternatives. In this context, in recent years, microalgae have been considered a promising option for various agricultural applications, standing out for their potential as biofertilizers and biostimulants. Accordingly, the present study, structured in two chapters, aimed to evaluate the potential of microalgal biomass as a biofertilizer and biostimulant in horticultural species. In the first chapter, the use of defatted microalgal biomass, a by-product of biodiesel production, was assessed as an alternative nitrogen source for the fertilization of arugula (*Eruca sativa* L.). The experiment was conducted in a completely randomized design (CRD), with seven treatments: T1 – control (no nitrogen fertilization), T2 – 100% of the recommended nitrogen dose supplied via urea, and T3 to T7 – microalgal biofertilizer at doses equivalent to 100%, 150%, 200%, 250%, and 300% of the recommended nitrogen dose, with five replications. At the end of the cultivation period, the main growth parameters of the crop were evaluated, in addition to the nutritional and mineral composition of the arugula shoot. The results were subjected to analysis of variance, and when significant, means were compared using the Scott- Knott test at the 5% significance level. It was observed that biofertilizer treatments at doses closer to the recommended N level (T3 and T4) promoted increases in shoot length, leaf area, fresh shoot mass, and root and shoot dry mass, with values comparable to those obtained with conventional nitrogen fertilization. In contrast, higher doses of the biofertilizer did not promote additional gains. Nutritional analysis indicated that the biofertilizer increased protein, phosphorus, calcium, magnesium, and sodium contents in the arugula shoot, demonstrating the potential of defatted microalgal biomass as an alternative nitrogen source for arugula fertilization when applied at adequate doses. In the second chapter, the potential biostimulant effects of microalgal biomass cultivated in wastewater from the bioprocessing industry were evaluated on the germination and early development of arugula and tomato (*Solanum lycopersicum* L.) seeds. For this purpose, seeds of both crops were subjected to six treatments: three consisting of different fractions of the microalgal culture (whole biomass, concentrated biomass, and supernatant), one treatment with wastewater only, another with a plant growth regulator (gibberellic acid), and distilled water as the control. The trials were conducted in a B.O.D. germination chamber, in a CRD, with four replications of 25 seeds. The main germination parameters and early seedling growth were measured. The phytohormonal profile of the treatments derived from microalgal biomass was also described. It was observed that treatments derived from the microalgal culture improved early seedling growth, with increases of up to 43% in fresh mass and up to 36% in root length of tomato compared to the control. Moreover, microalgae cultivated in wastewater from the bioprocessing industry were able to produce important phytohormones, demonstrating their potential as biostimulants.

Keywords: *Solanum lycopersicum* L.; *Eruca sativa* L.; organic fertilization; phytohormones; seeds.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Caracterização da biomassa desoleificada de microalgas.	22
Tabela 2. Valores de entrada utilizados no cálculo da dose de aplicação do biofertilizante... ..	23
Tabela 3. Descrição dos tratamentos aplicados.	24
Tabela 4. Caracterização química do solo.	25
Tabela 5. CUC e CUD obtidos para o sistema de irrigação utilizado no cultivo.	28
Tabela 6. Efeitos de fertilizantes microalgais e fertilizante de ureia sobre os teores de proteínas, fibras, cálcio, fósforo, magnésio, sódio e potássio na parte aérea da rúcula (Scott-Knott, $\alpha = 0,05$).	41
Tabela 7. Composição da água residuária utilizada no cultivo da microalga <i>Chlorella vulgaris</i>	56
Tabela 8. Descrição dos tratamentos empregados no experimento.	58
Tabela 9. Perfil de fitohormonal obtido nas diferentes frações após o cultivo da microalga <i>Chlorella vulgaris</i> em água residuária da indústria de bioprocessos.	71

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Biomassa desoleificada de microalgas utilizada como biofertilizante.	21
Figura 2. Emergência e desenvolvimento inicial de plântulas de rúcula em sementeira.	26
Figura 3. Cultivo de rúcula em vasos definitivos com destaque para o sistema de irrigação.	27
Figura 4. Efeitos de fertilizantes microalgais e fertilizante de ureia sobre o comprimento da parte aérea da rúcula (Scott-Knott, $\alpha = 0,05$).	31
Figura 5. Efeitos de fertilizantes microalgais e fertilizante de ureia sobre o diâmetro do caule da rúcula (Scott-Knott, $\alpha = 0,05$).	33
Figura 6. Efeitos de fertilizantes microalgais e fertilizante de ureia sobre a suculência da parte aérea da rúcula (Scott-Knott, $\alpha = 0,05$).	34
Figura 7. Efeitos de fertilizantes microalgais e fertilizante de ureia sobre a massa fresca (A) e massa seca (B) da parte aérea da rúcula (Scott-Knott, $\alpha = 0,05$).	34
Figura 8. Efeitos de fertilizantes microalgais e fertilizante de ureia sobre o conteúdo de clorofila da rúcula (Scott-Knott, $\alpha = 0,05$).	36
Figura 9. Efeitos de fertilizantes microalgais e fertilizante de ureia sobre o número de folhas de rúcula (Scott-Knott, $\alpha = 0,05$).	37
Figura 10. Efeitos de fertilizantes microalgais e fertilizante de ureia sobre a área foliar da rúcula (Scott-Knott, $\alpha = 0,05$).	38
Figura 11. Efeitos de fertilizantes microalgais e fertilizante de ureia sobre a massa fresca (A) e massa seca (B) das raízes da rúcula (Scott-Knott, $\alpha = 0,05$).	39
Figura 12. Efeitos de fertilizantes microalgais e fertilizante de ureia sobre o comprimento das raízes da rúcula (Scott-Knott, $\alpha = 0,05$).	40
Figura 13. Fotobiorreator utilizado no cultivo da microalga <i>Chlorella vulgaris</i> . Fonte: a autora (2025).	57
Figura 14. Biomassa microalgal antes (A) e logo após a centrifugação (B), com a obtenção das frações de concentrado (C) e sobrenadante (D). Fonte: a autora (2025).	59
Figura 15. Montagem do ensaio com sementes de tomate. Fonte: a autora (2025).	60
Figura 16. Sementes de rúcula nas caixas gerbox ao fim do período experimental.	62
Figura 17. PCG e Porcentagem de germinação de sementes de rúcula (A e C) e tomate (B e D) submetidas a diferentes tratamentos (Scott-Knott, $\alpha = 0,05$).	64
Figura 18. TMG e IVG das sementes de rúcula (A e C) e tomate (B e D), submetidas a diferentes tratamentos (Scott-Knott, $\alpha = 0,05$).	66

Figura 19. Plântulas de rúcula aos 7 dias após a semeadura, ao fim do ensaio. Fonte: a autora (2025).	67
Figura 20. CPA e CR de plântulas de rúcula (A e C) e tomate (B e D) submetidas a diferentes tratamentos (Scott-Knott, $\alpha = 0,05$).....	68
Figura 21. MF e MS de plântulas de rúcula (A e C) e tomate (B e D) submetidas a diferentes tratamentos (Scott-Knott, $\alpha = 0,05$).....	70

SUMÁRIO

RESUMO GERAL	7
GENERAL ABSTRACT	8
1 INTRODUÇÃO GERAL	1
2 REVISÃO DE LITERATURA GERAL	2
2.1 Fertilizantes nitrogenados	2
2.2 Microalgas.....	3
2.2.1 Biocombustível de microalgas e biomassa desoleificada de microalgas	4
2.2.2 Uso da biomassa de microalgas como biofertilizante	6
2.2.3 Biomassa de microalgas como bioestimulante	7
2.3 Cultura da rúcula	8
2.4 Cultura do tomate.....	9
REFERÊNCIAS	10
3 CAPÍTULO I	16
3.1 RESUMO	17
3.2 ABSTRACT.....	18
3.3 INTRODUÇÃO.....	19
3.4 OBJETIVOS.....	20
3.4.1 Objetivo geral.....	20
3.4.2 Objetivos específicos	20
3.5 MATERIAL E MÉTODOS.....	20
3.5.1 Descrição da área experimental	21
3.5.2 Descrição do resíduo utilizado como biofertilizante.....	21
3.5.3 Cálculo da dose de aplicação do biofertilizante.....	22
3.5.4 Descrição dos tratamentos e unidades experimentais	23
3.5.5 Coleta, preparo e análise de solo.....	24
3.5.6 Condução do experimento	25
3.5.7 Variáveis analisadas	28
3.5.8 Avaliação da composição nutricional e mineral da parte aérea da rúcula	30
3.5.9 Análise Estatística	30
3.6 RESULTADOS.....	30
3.6.1 Produção de rúcula.....	30
3.6.2 Avaliação da composição nutricional e mineral da parte aérea da rúcula	40

3.7	CONCLUSÕES	44
	REFERÊNCIAS	46
4	CAPÍTULO II	51
4.1	RESUMO	52
4.2	ABSTRACT	53
4.3	INTRODUÇÃO	54
4.4	OBJETIVOS	55
4.4.1	Objetivo geral	55
4.4.2	Objetivos específicos	55
4.5	MATERIAL E MÉTODOS	55
4.5.1	Caracterização da água residuária	56
4.5.2	Condições de cultivo	57
4.5.3	Acompanhamento do crescimento microalgal	57
4.5.4	Descrição dos tratamentos utilizados no teste de germinação e crescimento	58
4.5.5	Preparo dos ensaios	59
4.5.6	Teste de germinação e crescimento	60
4.5.7	Análise estatística	63
4.6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	63
4.6.1	Perfil fitohormonal	70
4.7	CONCLUSÕES	73
	REFERÊNCIAS	74
5	CONCLUSÕES GERAIS	77

1 INTRODUÇÃO GERAL

Nos últimos anos, tem-se observado uma tendência crescente na agricultura sustentável voltada à redução do uso de pesticidas e a priorização no uso de produtos naturais, em substituição aos insumos químicos e minerais, que além de serem recursos limitados, podem causar sérios impactos ambientais, como eutrofização, infertilidade do solo e perda da biodiversidade (CALVO et al., 2014; SHARMA et al., 2014; BULGARI et al., 2015; FERREIRA et al., 2021). Nesse cenário, as microalgas apresentam-se como uma fonte promissora para aplicação na agricultura, podendo atuar tanto como biofertilizante quanto como bioestimulante, com potencial para melhorar a produção agrícola e produzir plantas saudáveis (MICHALAK et al., 2017; SUPRAJA et al., 2020).

As vantagens das microalgas estão associadas ao seu rápido crescimento, à sua alta eficiência fotossintética e à possibilidade de serem cultivadas em diferentes condições (DOLGANYUK et al., 2020). Essa versatilidade confere a esses microrganismos a capacidade de serem cultivadas em águas residuárias ricas em nutrientes (FERNANDES et al., 2020, KALOUDAS et al., 2021; SÁNCHEZ-QUINTERO et al., 2023). Ao serem cultivadas em águas residuárias, as microalgas promovem a remoção de nutrientes, como nitrogênio e fósforo, além de reduzirem a carga orgânica presente em sua constituição (KIM et al., 2016; ROCHA, 2021). Ao fim do cultivo, a biomassa microalgal produzida pode conter fitormônios como auxinas, citocininas, etileno, ácido abscísico (ABA) e giberelinas, viabilizando sua aplicação como bioestimulante (STIRK et al. 2002 ; TARAKHOVSKAYA et al., 2007; SOLOMON et al., 2023). O tratamento de sementes com biomassa de microalgas possui potencial para melhorar o desenvolvimento radicular, a germinação de sementes e a tolerância a estresses bióticos e abióticos (PARMAR et al., 2023).

Outra possível aplicação da biomassa de microalgas refere-se a seu uso como biofertilizante, tendo em vista que sua biomassa é rica em macronutrientes e micronutrientes essenciais ao crescimento e desenvolvimento adequado das culturas agrícolas (DOLGANYUK et al., 2020). Quando aplicadas ao solo ou diretamente às plantas, esses microrganismos podem estimular o crescimento e o desenvolvimento das plantas, incluindo aumentos do comprimento das raízes, do número de folhas e da área foliar, entre outros (TIAN et al., 2022). Essas características as tornam uma alternativa viável ao uso de fertilizantes convencionais.

Considerando os potenciais benefícios do uso de biomassa de microalgas na

agricultura, a presente dissertação foi estruturada em dois capítulos com o objetivo geral de avaliar sua aplicação como biofertilizante e bioestimulante em espécies hortícolas. No primeiro capítulo, intitulado “Aplicação de resíduos da extração de óleo de biomassa de microalgas para cultivo de rúcula”, foi avaliado o uso da biomassa desoleificada de microalgas, um subproduto da produção de biodiesel de microalgas, como fonte alternativa de nitrogênio no cultivo da rúcula.

O segundo capítulo, intitulado “Potencial bioestimulante da biomassa de microalgas em sementes de rúcula e tomate” teve como foco a investigação dos efeitos de diferentes frações obtidas a partir do cultivo de *Chlorella vulgaris* em águas residuárias de uma indústria de bioprocessos sobre a germinação e desenvolvimento inicial de sementes de rúcula e tomate (*Solanum lycopersicum* L.). Além disso, a análise do perfil fitormonal dos tratamentos derivados de microalgas também foi realizada. A partir dos resultados obtidos neste estudo, espera-se contribuir para o aproveitamento do potencial das microalgas na agricultura, bem como para o fortalecimento de práticas agrícolas mais sustentáveis.

2 REVISÃO DE LITERATURA GERAL

2.1 Fertilizantes nitrogenados

O nitrogênio é um macronutriente essencial para o desenvolvimento adequado de culturas agrícolas, apresentando-se como principal constituinte de proteínas, ácidos nucleicos, fosfolípidios, clorofila, hormônios, vitaminas e alcaloides e participando de todos os estágios de crescimento e desenvolvimento das plantas (WANG et al., 2024b). Por atuar diretamente em processos metabólicos essenciais, como a fotossíntese, o fornecimento adequado de nitrogênio é indispensável para alcançar altos rendimentos e qualidade nas culturas agrícolas, sendo amplamente reconhecido como um dos nutrientes mais relevantes na agricultura comercial (QIANG et al., 2023).

A deficiência de nitrogênio afeta o crescimento e o desenvolvimento das plantas, reduz a fotossíntese e a área foliar, além de promover a senescência das plantas e, consequentemente, reduzir a produtividade (VOS et al., 2005; URIBELARREA et al., 2009; CHEN et al., 2015; MU et al., 2016; MU; CHEN, 2021). Nesse contexto, a aplicação de fertilizantes nitrogenados tem se mostrado fundamental para suprir as demandas nutricionais das culturas e garantir os níveis de produtividade para atender à crescente demanda por alimentos.

Devido à alta concentração de N (aproximadamente 46%) e menor preço em relação

aos demais fertilizantes nitrogenados, a ureia tem sido largamente utilizada como principal fonte de nitrogênio na agricultura (CEZAR et al., 2024). Quando aplicada ao solo, ela absorve água e reage com a enzima urease, resultando na formação de carbonato de amônio ((NH₄)₂CO₃), que em seguida se dissocia nos íons amônio (NH₄⁺) e bicarbonato (HCO₃⁻). Posteriormente, o NH₄⁺ pode sofrer uma reação química para formar amônia (NH₃) sob condições alcalinas (pH > 7,5) ou passar por um processo biológico no qual é convertido em nitrato (NO₃⁻) por meio da nitrificação, tornando-se disponível para absorção pelas plantas (MOTASIM et al., 2024).

No entanto, nem todo o nitrogênio aplicado é efetivamente assimilado pelas plantas, pois durante essas transformações ocorrem perdas significativas de nitrogênio. Estima-se que de 20% a 70% do nitrogênio aplicado via fertilizantes seja perdido para o ambiente por meio de vias como as emissões de óxido nitroso (N₂O), óxido nítrico (NO) e amônia (NH₃), assim como pela lixiviação de nitrato (NO₃⁻) (ZHENG et al., 2023). Essas perdas de nitrogênio contribuem significativamente para a degradação ambiental, ao promover a emissão de gases de efeito estufa, ocasionar poluição das águas subterrâneas e a eutrofização das águas superficiais (LINQUIST et al., 2012; COSKUN et al., 2017; DIMKPA et al., 2020).

2.2 Microalgas

As microalgas são microrganismos unicelulares, eucariontes e fotossintéticos que podem ser encontrados em diferentes ambientes aquáticos e terrestres e que se adaptam a diferentes condições ambientais (NICOLETTI, 2016; ROCHA SIMÕES et al., 2019). Embora apresentem dimensões reduzidas, possuem um papel significativo na mitigação das mudanças climáticas, principalmente por meio da fixação de carbono. Esses microrganismos possuem a capacidade de converter dióxido de carbono (CO₂) em bioenergia, apresentando uma eficiência de fixação até 400 vezes superior à das plantas terrestres (SUTHERLAND et al., 2021), o que reforça seu potencial como tecnologia renovável e ambientalmente correta (RINGSMUTH; LANDSBERG; HANKAMER, 2016).

Para seu crescimento e desenvolvimento, as microalgas necessitam, sobretudo, de macronutrientes essenciais, como carbono, nitrogênio e fósforo, bem como de micronutrientes como ferro, zinco, manganês e cobre (MARKOU; VANDAMME; MUYLAERT, 2014; BIGNON, 2023). Elementos como nitrogênio e fósforo são particularmente relevantes por regularem seu metabolismo (YAAKOB et al., 2021; FARIA,

2023).

A capacidade de uma cepa de microalgas em acumular biomassa e produzir compostos biologicamente ativos apresenta-se como um indicador fundamental de sua eficiência. Nesse sentido, seu potencial produtivo pode ser influenciado por diferentes fatores, tais como a composição do meio de cultura, a temperatura, o pH, a fase de crescimento, o método de colheita e a intensidade luminosa (DOLGANYUK et al., 2020).

Estima-se que existam entre 200.000 e 800.000 espécies de microalgas, embora apenas cerca de 35.000 tenham sido descritas na literatura (GUO et al., 2019; ERFIANTI et al., 2023). Essa ampla diversidade taxonômica inclui diferentes classes, destacando-se, entre as principais, as *Chlorophyceae* (algas verdes), *Phaeophyceae* (algas marrons), *Pyrrophyceae* (dinoflagelados), *Chrysophyceae* (algas marrom-douradas), *Bacillariophyceae* (diatomáceas) e *Rhodophyceae* (algas vermelhas) (GORGICH et al., 2021). Dentre as espécies mais estudadas destaca-se *Chlorella vulgaris*, microalga do filo *Chlorophyta* com uso em diferentes aplicações. Sua versatilidade está diretamente ligada à sua composição bioquímica, que inclui proteínas, polissacarídeos, lipídios, ácidos graxos poli-insaturados, vitaminas, pigmentos, ficobiliproteínas e enzimas (DOLGANYUK et al., 2020).

Devido às suas características, o cultivo de microalgas pode ser realizado em efluentes, desempenhando um papel importante na reciclagem de nutrientes e atuando na mitigação de poluentes ambientais (SILAMBARASAN et al., 2021; NUR et al., 2024). Essa tecnologia também se destaca por vantagens como a redução do consumo de água e a possibilidade de bioextração de metais tóxicos (HAMMED et al., 2016; DE MENDONÇA et al., 2018; LÓPEZ-SÁNCHEZ et al., 2022). Além disso, o cultivo de microalgas resulta na produção de biomassa que, por sua vez, pode ser convertida em produtos de valor agregado (LA BELLA et al., 2022; PAULA; CHAGAS; MENDONÇA, 2023). Entre os produtos possíveis de serem obtidos a partir dessa biomassa, destacam-se os de aplicação agrícola, como biofertilizantes e bioestimulantes, além de produtos de interesse energético, como o biodiesel de microalgas.

2.2.1 Biocombustível de microalgas e biomassa desoleificada de microalgas

Nos últimos anos a produção de biodiesel a partir de microalgas tem sido objeto de diferentes pesquisas devido à sua capacidade promissora como fonte renovável de energia (WANG et al., 2024a). Esses microrganismos possuem grande potencial energético devido

à presença de carboidratos, proteínas e lipídios em seu conteúdo, que podem ser transformados em biodiesel e em outros biocombustíveis como bioetanol, biohidrogênio e biometano (MAURYA et al., 2016). A produção de biocombustíveis a partir de microalgas apresenta diversas vantagens, como a possibilidade de fornecerem até 20 vezes mais bio-óleo do que as culturas tradicionais em base de área, além de apresentarem ciclo de colheita curto e alta taxa de crescimento (CHOWDHURY; LOGANATHAN, 2019).

Uma das etapas da produção de biodiesel de microalgas é a extração de lipídeos, no qual uma grande quantidade de biomassa residual é gerada (SILAMBARASAN et al., 2021). De forma geral, essa biomassa é composta por proteínas, carboidratos e uma fração residual de lipídios (KUMAR et al., 2022), apresentando teores elevados de nitrogênio e fosfato (RENUKA et al., 2018; NAYAK et al., 2019; SILAMBARASAN et al., 2021), além de conter diversos macro e micronutrientes (MAURYA et al., 2016). Sua composição pode variar significativamente em função do sistema de cultivo adotado (heterotrófico, autotrófico ou mixotrófico), do tipo de água utilizada (doce ou marinha), da disponibilidade de nitrogênio no meio e dos métodos empregados na colheita e na extração de lipídios (MAURYA et al., 2016).

Nos últimos anos, o aproveitamento da biomassa microalgal desoleificada tem sido objeto de diversas pesquisas. Estudos relatam sua aplicação como catalisador ácido heterogêneo (ROY; MOHANTY, 2021), na produção de bioetanol (FETYAN et al., 2022), em processos de co-pirólise (KUMAR et al., 2022), como suplemento para estimular o crescimento de microalgas (MAURYA et al., 2016), bem como matéria-prima para a produção de bioplásticos (ARORA et al., 2023). Além dessas aplicações, a biomassa desoleificada também se destaca por seu potencial agrônomo como biofertilizante, em virtude do alto teor de nutrientes em sua constituição (NAYAK et al., 2019).

Nesse contexto, Silambarasan et al. (2021) conduziram um experimento visando avaliar o potencial da biomassa desoleificada de microalgas dos gêneros *Chlorella* sp. e *Scenedesmus* sp. como fertilizante orgânico. Os autores testaram diferentes combinações desse biofertilizante com fertilizantes convencionais. Os resultados revelaram que a combinação de fertilizante orgânico à base de microalgas com fertilizante inorgânico proporcionou ganhos no comprimento dos brotos, comprimento da raiz, na biomassa e no rendimento do tomate em relação ao tratamento controle. Nayak et al. (2019) também observaram aumentos na disponibilidade de N, P e K no solo com a aplicação desse biofertilizante.

Dessa forma, a biomassa desoleificada quando aproveitada como biofertilizante pode representar uma estratégia sustentável, ao tornar possível o aproveitamento integral dos resíduos gerado na produção de biodiesel de microalgas, minimizando o descarte de subprodutos. Outra vantagem, está na geração de um produto com valor agregado e com potencial para substituir, total ou parcialmente, os fertilizantes convencionais.

2.2.2 Uso da biomassa de microalgas como biofertilizante

Biofertilizantes são definidos como produtos que contêm microrganismos vivos ou inativos que, de forma individual ou em conjunto, auxiliam na fixação do nitrogênio atmosférico ou na solubilização de nutrientes no solo (DINESHKUMAR et al., 2017). Dentre os diversos organismos utilizados na formulação de biofertilizantes, as microalgas têm se destacado devido ao seu elevado potencial em melhorar a fertilidade do solo e favorecer o crescimento das plantas (GONÇALVES et al., 2023).

Os biofertilizantes à base de microalgas quando aplicados ao solo, podem promover a fixação de nitrogênio e a liberação de macro e micronutrientes, desempenhando um papel importante no aumento da matéria orgânica no solo e na disponibilidade de fosfatos para as plantas (CHATTERJEE et al., 2017). Estudos recentes também demonstram que as microalgas secretam substâncias bioativas que estimulam o crescimento vegetal, como auxinas, citocininas, betainas, aminoácidos, vitaminas, poliaminas (espermina e espermidina) e polissacarídeos, como o β -glucano (GONZÁLEZ-PÉREZ et al., 2021).

As formas de aplicação de microalgas ao solo e às plantas incluem biomassa viva, compostos extraídos com aplicação foliar líquida e biomassa seca como fertilizante de liberação lenta. Nesta última forma, a parede celular das microalgas é degradada por enzimas extracelulares excretadas por microrganismos do solo, de forma gradual e contínua, permitindo a liberação lenta de nutrientes (macro, micronutrientes e oligoelementos) no solo (ŠUNTA et al., 2025).

Diversos benefícios do uso de microalgas no desempenho agrônômico de culturas têm sido descritos na literatura. Em um experimento realizado por Oliveira et al. (2013), a aplicação de duas doses de biofertilizante contendo extrato de microalgas, resultou em índices superiores de produtividade, massa seca e fresca de beterraba (*Beta vulgaris*), quando comparados ao tratamento controle. Resultados semelhantes foram obtidos por Ferreira (2022) ao avaliar os efeitos do emprego de microalgas no desenvolvimento de plantas de melão. O autor verificou que a aplicação de *Chlorella* sp. promoveu um aumento no

crescimento e no acúmulo de biomassa das mudas. Além disso, Dineshkumar et al. (2017), ao empregarem microalgas no cultivo de arroz, obtiveram um aumento de 7–20,9% no rendimento do grão. Em comparação com fertilizantes químicos sintéticos comerciais, os biofertilizantes de microalgas são considerados uma opção mais sustentável, econômica e ecologicamente correta (EL-MOUSTAQIM et al., 2024).

2.2.3 Biomassa de microalgas como bioestimulante

Bioestimulantes são substâncias capazes de promover o crescimento das plantas, atuando na melhoria de sua fisiologia, incluindo o desenvolvimento de raízes e brotos, além de terem a capacidade de aumentar a absorção de nutrientes minerais e a tolerância das plantas a estresses bióticos e abióticos, o que pode contribuir para o aumento da produtividade das culturas (MAZEPA et al., 2021). Diferentemente dos biofertilizantes, que são aplicados em doses mais elevadas, os bioestimulantes são aplicados em baixas concentrações (SÁNCHEZ-QUINTERO et al., 2023).

De acordo com Colla e Rouphael (2020) e Sánchez-Quintero et al. (2023), a aplicação de bioestimulantes pode ser realizada por diferentes vias, como irrigação (como via fertirrigação por gotejamento), pulverização foliar ou tratamento de sementes. Ao serem utilizados no tratamento de sementes, três processos distintos podem ser empregados: preparação das sementes, revestimento e imersão em soluções bioestimulantes (PARMAR et al., 2023).

Entre os diferentes bioestimulantes utilizados no tratamento de sementes, destacam-se os produtos à base de cianobactérias e microalgas, que vêm ganhando destaque como novas fontes de produtos visando uma agricultura mais sustentável (CHABILI et al., 2025). Devido à presença de diferentes reguladores de crescimento vegetal, como auxinas, citocininas, giberelinas, poliaminas, betaína, além de macro e micronutrientes, os efeitos bioestimulantes de extratos de microalgas já foram comprovados em diferentes culturas (ELAKBAWY et al., 2022). Esses compostos, presentes em sua constituição, contribuem para o aumento da eficiência fotossintética, da tolerância a estresses abióticos, como seca ou salinidade, além de estimularem o aumento do vigor das plantas (KHAN et al., 2009; MOLLO et al., 2025).

Recentemente, estudo com a orquídea *Cattleya warneri* demonstrou que tratamentos de sementes com biomassa ou extrato de microalgas aumentaram significativamente a taxa de germinação e o crescimento inicial das plântulas, evidenciando o potencial prático desses

bioestimulantes (NAVARRO et al., 2021). Além disso, os bioestimulantes à base de microalgas também podem aumentar a absorção de nutrientes pelas plantas e melhorar a estrutura e aeração do solo, estimulando o crescimento das raízes (BUMANDALAI; TSERENNADMID, 2019; FERREIRA et al., 2021).

Outras vantagens do uso de microalgas como bioestimulantes estão associadas à sua alta eficiência fotossintética, biodegradabilidade total e nenhuma fitotoxicidade, o que as tornam produtos promissores para a produção de plantas (KIM; CHOJNACKA, 2015; NAVARRO-LÓPEZ et al., 2020).

2.3 Cultura da rúcula

Originária da região do Mediterrâneo, a rúcula (*Eruca sativa* L.) é uma hortaliça folhosa verde, pertencente à família Brassicaceae, que apresenta rápido crescimento vegetativo e alta produtividade por área (OLIVEIRA et al., 2013; SILVA et al., 2020; PALUMBO et al., 2022). Amplamente conhecida e apreciada por seu sabor levemente amargo, essa espécie apresenta ampla adaptação a diferentes condições edafoclimáticas. Seu desenvolvimento é favorecido por temperaturas amenas e por solos arenosos leves, médios pesados, úmidos e secos com pH próximo à neutralidade. Ainda assim, a espécie apresenta tolerância a solos com pH alcalino, podendo ser cultivada com sucesso nesses tipos de solo (STANOJKOVIĆ-SEBIĆ et al., 2024).

Seu ciclo produtivo tem início a partir da emergência das plântulas e se estende até a fase de iniciação floral, que corresponde ao seu período economicamente viável de produção (JARDINA et al., 2017; SILVA et al., 2020). Sob condições adequadas de cultivo, as plantas podem alcançar alturas que variam de 15 a 20 cm (FREITAS et al., 2017).

As cultivares de rúcula mais produzidas no Brasil apresentam características diferentes quanto ao formato de suas folhas, que variam desde bordas lisas até bastante recortadas. Comercialmente, as cultivares que apresentam bordas mais recortadas são conhecidas como “Cultivada”, compreendendo variedades como a Antonella e a Cultivada. Por outro lado, as que apresentam folhas mais lisas e limbo foliar maiores são denominadas Folha Larga, englobando variedades como Apreciatta Folha Larga, Astro, Donatella, Folha Larga e Gigante Folha Larga (ABADE, 2021).

Nos últimos anos, além de seu uso culinário, tem ganhado relevância sua aplicação para fins medicinais, uma vez que suas folhas contêm elevadas concentrações de compostos promotores da saúde, especialmente glucosinolatos e antioxidantes, cujas propriedades

farmacêuticas e anticancerígenas já foram comprovadas (TRAKA, 2016; WILSON et al., 2017; YANG et al., 2021). A espécie também é reconhecida por apresentar elevado teor de vitaminas A e C, além de ácido fólico, e por ser rica em diversos minerais, incluindo cálcio, cobre, ferro, magnésio, fósforo, potássio e zinco (JAMAL et al., 2021).

2.4 Cultura do tomate

Originário da região andina da América do Sul e pertencente à família Solanaceae (KNAPP; PERALTA, 2016), o tomate (*Solanum lycopersicum* L.) é uma das hortaliças mais cultivadas e consumidas em todo o mundo, sendo considerado um vegetal de amplo valor econômico e com papel significativo na garantia da segurança alimentar (SUPRAJA et al., 2020).

Do ponto de vista nutricional, os tomates apresentam concentrações consideráveis de vários nutrientes essenciais, incluindo vitamina C, vitamina A, folato e potássio (BEECHER, 1998; WU; YU; PEHRSSON, 2021). Além disso, seu principal constituinte, o licopeno, atua como antioxidante, podendo contribuir para reduzir o risco de câncer e de doenças cardiovasculares (WAHEED et al., 2020).

No entanto, as plantas de tomate são suscetíveis a diversas doenças, como murcha de fusarium, podridão radicular, verticiliose, murcha bacteriana, entre outras, que afetam diretamente a produtividade e a qualidade dos frutos, podendo inclusive levar à morte da planta (GORME et al., 2017). Além disso, outro desafio encontrado em sua produção está em aliar o uso de espécies adaptadas com a obtenção de sementes de elevada qualidade, capazes de garantir rápida germinação, assim como o desenvolvimento de plantas mais vigorosas e saudáveis (BUFALO et al., 2012; ROMAGNA et al., 2019).

Nesse sentido, o tratamento de sementes é considerado uma das técnicas mais antigas e de baixo custo, capaz de propiciar os melhores êxitos no controle das doenças de plantas disseminadas pelas sementes (PARISI; MEDINA, 2013). Estudos recentes têm demonstrado que o uso de bioestimulantes nesse tipo de tratamento é capaz de acelerar a germinação, além de melhorar o comprimento dos brotos e das raízes de tomate (SUPRAJA et al., 2020). Nesse sentido, Patanè et al. (2024) acrescentam que o uso de bioestimulantes tem sido considerada uma estratégia promissora tanto para melhorar a qualidade nutricional do tomate quanto para mitigar os efeitos causados por estresses ambientais.

REFERÊNCIAS

- ABADE, M. T. R. **Crescimento e desempenho agrônômico de cultivares de rúcula sob pleno sol e sombreamento**. 2021. 101 p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2021.
- ARORA, Y.; SHARMA, S.; SHARMA, V. Microalgae in Bioplastic Production: A Comprehensive Review. **Microalgae in Bioplastic Production: A Comprehensive Review**, v. 48, n. 6, p. 7225–7241, 2023.
- BEECHER, G. R. Nutrient content of tomatoes and tomato products. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 218, n. 2, p. 98-100, 1998.
- BIGNON, L. M. P. **Avaliação da produção de biomassa de microalgas em meios alternativos e sua utilização como bioestimulante vegetal**. 2023. 140 f. Tese (Doutorado em Meio Ambiente) - Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2023.
- BUFALO, Jennifer et al. Períodos de estratificação na germinação de sementes de alface (*Lactuca sativa* L.) sob diferentes condições de luz e temperatura. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 3, p. 931-940, 2012.
- BULGARI, R. et al. Biostimulants and crop responses: a review. **Biological Agriculture & Horticulture**, v. 31, n. 1, p. 1-17, 2015.
- 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.
- CALVO, P.; NELSON, L.; KLOEPPER, J. W. Agricultural uses of plant biostimulants. **Plant and soil**, v. 383, n. 1, p. 3-41, 2014.
- CEZAR, J. V. de C. et al. Iodine-Enriched Urea Reduces Volatilization and Improves Nitrogen Uptake in Maize Plants. **Nitrogen**, v. 5, n. 4, p. 891–902, 2024.
- CHABILI, A. et al. Germination screen of eco-extracts from soil cyanobacteria and microalgae for their biostimulant effects on wheat seeds emergence and vigor. **Algal Research**, v. 89, p. 104087.
- CHATTERJEE, A. et al. Role of Algae as a Biofertilizer. In: RASTOGI, R. P.; MADAMWAR, D.; PANDEY, A. (Eds.). **Algal green chemistry: recent progress in biotechnology**. Amsterdam: Elsevier, 2017. p. 189-200.
- CHEN, Keru et al. Plant biomass and nitrogen partitioning changes between silking and maturity in newer versus older maize hybrids. **Field Crops Research**, v. 183, p. 315-328, 2015.
- COLLA, G.; ROUPHAEL, Y. Microalgae: new source of plant biostimulants. **Agronomy**, v. 10, n. 9, p. 1240, 2020.
- COSKUN, D. et al. Nitrogen transformations in modern agriculture and the role of biological nitrification inhibition. **Nature plants**, v. 3, n. 6, p. 1-10, 2017.
- DE MENDONÇA, H. V. Microalgae-mediated bioremediation and valorization of cattle wastewater previously digested in a hybrid anaerobic reactor using a photobioreactor:

comparison between batch and continuous operation. **Science of the Total Environment**, v. 633, p. 1–11, 2018.

DIMKPA, C. O. et al. Development of fertilizers for enhanced nitrogen use efficiency – Trends and perspectives. **Science of The Total Environment**, v. 731, p. 139113, 2020.

DINESHKUMAR, R. et al. Microalgae as Bio-fertilizers for Rice Growth and Seed Yield Productivity. **Waste and Biomass Valorization**, v. 9, n. 5, p. 793–800, 2017.

DOLGANYUK, V. et al. Microalgae: A Promising Source of Valuable Bioproducts. **Biomolecules**, v. 10, n. 8, p. 1153, 2020.

ELAKBAWY, W. M.; SHANAB, S. M. M.; SHALABY, E. A. Enhancement of plant growth regulators production from microalgae cultivated in treated sewage wastewater (TSW). **BMC Plant Biology**, v. 22, n. 1, p. 377, 2022.

EL-MOUSTAQIM, K. et al. et al. New strategy for the advancement of modern agriculture through the use of microalgae as biofertilizers. **Euro-Mediterranean Journal for Environmental Integration**, 2024.

ERFIANTI, T. et al. Nitrogen sources affect the growth of local strain *Euglena* sp. isolated from Dieng Peatland, Central Java, Indonesia, and their potential as bio-avtur. **IOP conference series**, v. 1151, n. 1, p. 012059–012059, 2023.

FARIA, L. **Estudo fisiológico de *Chlorella sorokiniana* e *Chlorolobion lunulatum* sob diferentes condições de cultivos em escala laboratorial e ampliada (200 L)**. 2023. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2023.

FERNANDES, F. et al. Valorising nutrient-rich digestate: Dilution, settlement and membrane filtration processing for optimisation as a waste-based media for microalgal cultivation. **Waste Management**, v. 118, p. 197-208, 2020.

FERREIRA, A. et al. Biostimulant and biopesticide potential of microalgae growing in piggery wastewater. **Environmental Advances**, v. 4, p. 100062, 2021.

FERREIRA, A. P. N. **Efeito bioestimulante da biomassa de *Chlorella* sp. e seu potencial na produção de mudas de Meloeiro**. 2022. 77 f. Dissertação (Mestrado em Horticultura Tropical) - Programa de Pós-Graduação em Horticultura Tropical, Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar, Universidade Federal de Campina Grande, Pombal, Paraíba, Brasil, 2022.

FETYAN, N. A. et al. Bioethanol production from defatted biomass of *Nannochloropsis oculata* microalgae grown under mixotrophic conditions. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 29, n. 2, p. 2588–2597, 2022.

FREITAS, E. M. DE et al. Arugula production as a function of irrigation depths and potassium fertilization. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 21, n. 3, p. 197–202, 2017.

GONÇALVES, J. et al. Microalgae as Biofertilizers: A Sustainable Way to Improve Soil Fertility and Plant Growth. **Sustainability**, v. 15, n. 16, p. 12413, 2023.

GORGICH, M. et al. Composition, cultivation and potential applications of *Chlorella zofingiensis* – A comprehensive review. **Algal Research**, v. 60, p. 102508, 2021.

GORME, A. L. et al. Growth and yield of tomato (*Solanum lycopersicum*) as influenced by different soil organic amendments and types of cultivation. **Annals of Tropical Research**, p. 116–128, 2017.

GUO, W. et al. Three-dimensional numerical simulation of light penetration in an optimized flow field composed of microalgae cells, carbon dioxide bubbles and culture medium. **Bioresource Technology**, v. 292, p. 121979, 2019.

HAMMED, A. M. et al. Growth regime and environmental remediation of microalgae. **ALGAE**, v. 31, n. 3, p. 189–204, 2016.

JAMAL, J. et al. Monitoring rocket (*Eruca sativa*) growth parameters using the Internet of Things under supplemental LEDs lighting. **Sensing and Bio-Sensing Research**, v. 34, p. 100450, 2021.

JARDINA, L. L. et al. Productive performance and quality of arugula cultivars in semi-hydroponic system. **Rev Agric Neotrop**, v. 4, n. 1, p. 78-82, 2017.

KALOUDAS, D.; PAVLOVA, N.; PENCHOVSKY, R. Phycoremediation of wastewater by microalgae: a review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 19, n. 4, p. 2905-2920, 2021.

KHAN, W. et al. Seaweed Extracts as Biostimulants of Plant Growth and Development. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 28, n. 4, p. 386–399, 2009.

KIM, H.-C. et al. Evaluating integrated strategies for robust treatment of high saline piggery wastewater. **Water research**, v. 89, p. 222–231, 2016.

KIM, S.K.; CHOJNACKA, K. **Marine Algae Extracts: Processes, Products, and Applications**; Wiley-VCH: Weinheim, Germany, 2015

KNAPP, S.; PERALTA, I. E. The Tomato (*Solanum lycopersicum* L., Solanaceae) and Its Botanical Relatives. **Compendium of Plant Genomes**, p. 7–21, 2016.

KUMAR, A. et al. Co-pyrolysis of de-oiled microalgal biomass residue and waste tires: Deeper insights from thermal kinetics, behaviors, drivers, bio-oils, bio-chars, and in-situ evolved gases analyses. **Chemical Engineering Journal**, v. 446, p. 137160–137160, 2022.

LA BELLA, E. et al. Foliar Spray Application of *Chlorella vulgaris* Extract: Effect on the Growth of Lettuce Seedlings. **Agronomy**, v. 11, n. 2, p. 308, 2021.

LINQUIST, B. A. et al. Fertilizer management practices and greenhouse gas emissions from rice systems: a quantitative review and analysis. **Field Crops Research**, v. 135, p. 10-21, 2012.

LÓPEZ-SÁNCHEZ, A. et al. Microalgae-based livestock wastewater treatment (MbWT) as a circular bioeconomy approach: Enhancement of biomass productivity, pollutant removal and high-value compound production. **Journal of Environmental Management**, v. 308, p. 114612, 2022.

MARKOU, G.; VANDAMME, D.; MUYLAERT, K. Microalgal and cyanobacterial cultivation: The supply of nutrients. **Water Research**, v. 65, p. 186–202, 2014.

MAURYA, R. et al. Applications of de-oiled microalgal biomass towards development of sustainable biorefinery. **Bioresource Technology**, v. 214, p. 787–796, 2016.

- MAURYA, R. et al. Lipid Extracted Microalgal Biomass Residue as a Fertilizer Substitute for *Zea mays* L. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, 2016.
- MAZEPA, Ester et al. Plant growth biostimulant activity of the green microalga *Desmodium subspicatus*. **Algal Research**, v. 59, p. 102434–102434, 2021.
- MICHALAK, I.; CHOJNACKA, K.; SAEID, A. Plant growth biostimulants, dietary feed supplements and cosmetics formulated with supercritical CO₂ algal extracts. **Molecules**, v. 22, n. 1, p. 66, 2017.
- MOLLO, L. et al. Enhanced growth and photosynthetic efficiency in wild rocket (*Diplotaxis tenuifolia* L.) following multi-species microalgal biostimulant application. **Plant Science**, v. 359, p. 112643, 2025.
- MOTASIM, A.M. et al. Urea application in soil: processes, losses, and alternatives - a review. **Discover Agriculture**, v. 2, n. 1, 2024.
- MU, X. et al. Within-leaf nitrogen allocation in adaptation to low nitrogen supply in maize during grain-filling stage. **Frontiers in plant science**, v. 7, p. 699, 2016.
- MU, X.; CHEN, Y. The physiological response of photosynthesis to nitrogen deficiency. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 158, p. 76–82, 2021.
- NAVARRO, Q. R. et al. Efficient use of biomass and extract of the microalga *Desmodium subspicatus* (Scenedesmaceae) in asymbiotic seed germination and seedling development of the orchid *Cattleya warneri*. **Journal of Applied Phycology**, v. 33, n. 4, p. 2189–2207, 2021.
- NAYAK, M.; SWAIN, D. K.; SEN, R. Strategic valorization of de-oiled microalgal biomass waste as biofertilizer for sustainable and improved agriculture of rice (*Oryza sativa* L.) crop. **Science of The Total Environment**, v. 682, p. 475–484, 2019.
- NICOLETTI, M. Microalgae Nutraceuticals. *Foods*, v. 5, n. 54, p. 1–13, 2016.
- NUR, M. M. A. et al. Innovative strategies for utilizing microalgae as dual-purpose biofertilizers and phycoremediators in agroecosystems. **Biotechnology Reports**, v. 45, p. e00870, 2024.
- OLIVEIRA, J.; MÓGOR, G.; MÓGOR, A. Produtividade de beterraba em função da aplicação foliar de biofertilizante. **Cadernos de Agroecologia**, v. 8, p. 1-4, 2013.
- PALUMBO, M. et al. Non-destructive and contactless estimation of chlorophyll and ammonia contents in packaged fresh-cut rocket leaves by a Computer Vision System. **Postharvest Biology and Technology**, v. 189, p. 111910, 2022.
- PARISI, J. J. D.; MEDINA, P. F. **Tratamento de sementes**. Instituto Agrônômico de Campinas, p. 26-30, 2013.
- PARMAR, P. et al. Microalgae as next generation plant growth additives: Functions, applications, challenges and circular bioeconomy based solutions. **Frontiers in Plant Science**, v. 14, 2023.
- PATANÈ, C. et al. A study on the effect of biostimulant application on yield and quality of tomato under long-lasting water stress conditions. **Heliyon**, v. 11, n. 1, p. e41187, 2024.

PAULA, S. F. DE A. DE; CHAGAS, B. M. E. DAS; MENDONÇA, R. A. Utilização de microalgas para o tratamento de efluentes e produção de biocombustível: uma revisão. **Revista Meio Ambiente e Sustentabilidade**, v. 12, n. 25, p. 64–93, 2023.

QIANG, B. et al. Effect of nitrogen application levels on photosynthetic nitrogen distribution and use efficiency in soybean seedling leaves. **Journal of Plant Physiology**, v. 287, p. 154051–154051, 2023.

RENUKA, N. et al. Microalgae as multi-functional options in modern agriculture: current trends, prospects and challenges. **Biotechnology Advances**, v. 36, n. 4, p. 1255–1273, 2018.

RINGSMUTH, A. K.; LANDSBERG, M. J.; HANKAMER, B. Can photosynthesis enable a global transition from fossil fuels to solar fuels, to mitigate climate change and fuel-supply limitations? **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 62, p. 134–163, 2016.

ROCHA SIMÕES, P. et al. Avaliação da atividade antibacteriana do óleo da microalga *Chlorella minutissima* como alternativa para o tratamento de dermatite atópica. **Brazilian Journal of Development**, v. 5, n. 11, p. 24893–24914, 2019.

ROCHA, G. A. C. da. **Ficorremediação de compostos orgânicos e inorgânicos por três espécies de microalgas em água mineral**. 2021. 70 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) - Faculdade de Engenharia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2021.

ROMAGNA, I. S. et al. Bioestimulantes em sementes de olerícolas submetidos a testes de germinação e vigor. **Scientia Plena**, v. 15, n. 10, 2019.

ROY, M.; MOHANTY, K. Valorization of de-oiled microalgal biomass as a carbon-based heterogeneous catalyst for a sustainable biodiesel production. **Bioresource Technology**, v. 337, p. 125424, 2021.

SÁNCHEZ-QUINTERO, A.; FERNANDES, S. C. M.; BEIGBEDER, J. B. Overview of microalgae and cyanobacteria-based biostimulants produced from wastewater and CO₂ streams towards sustainable agriculture: A review. **Microbiological Research**, v. 277, p. 127505, 2023.

SHARMA, H. S. S. et al. 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.

SILAMBARASAN, S. et al. Removal of nutrients from domestic wastewater by microalgae coupled to lipid augmentation for biodiesel production and influence of deoiled algal biomass as biofertilizer for *Solanum lycopersicum* cultivation. **Chemosphere**, v. 268, p. 129323, 2021.

SILVA, A. V. L. da et al. Productive performance and quality of arugula (*Eruca sativa*) under different doses of cassava wastewater containing potassium source. **Australian Journal of Crop Science**, v. 14, n. 6, p. 985-990, 2020.

SOLOMON, W. et al. Potential benefit of microalgae and their interaction with bacteria to sustainable crop production. **Plant Growth Regulation**, 2023.

STANOJKOVIĆ-SEBIĆ, A. et al. Response of Arugula to Integrated Use of Biological, Inorganic, and Organic Fertilization. **Microorganisms**, v. 12, n. 7, p. 1334, 2024.

STIRK, W. A. et al. Cytokinin-and auxin-like activity in Cyanophyta and microalgae. **Journal of Applied phycology**, v. 14, n. 3, p. 215-221, 2002.

ŠUNTA, U. et al. et al. Impact of microalgal biomass and microplastics on the sorption behaviour of pesticides in soil: a comparative study. **Environmental Sciences Europe**, v. 37, n. 1, 2025.

SUPRAJA, K. V.; BEHERA, B.; BALASUBRAMANIAN, P. Efficacy of microalgal extracts as biostimulants through seed treatment and foliar spray for tomato cultivation. **Industrial crops and products**, v. 151, p. 112453, 2020.

SUTHERLAND, D. L. et al. How microalgal biotechnology can assist with the UN Sustainable Development Goals for natural resource management. **Current Research in Environmental Sustainability**, v. 3, p. 100050, 2021.

TARAKHOVSKAYA, E. R.; MASLOV, Y. I.; SHISHOVA, M. F. Phytohormones in algae. **Russian Journal of Plant Physiology**, v. 54, n. 2, p. 163-170, 2007.

TRAKA, M.H. Health Benefits of Glucosinolates. **Advances in Botanical Research**, v. 80, p. 247-279, 2016.

URIBELARREA, M.; CRAFTS-BRANDNER, S. J.; BELOW, F. E. Physiological N response of field-grown maize hybrids (*Zea mays* L.) with divergent yield potential and grain protein concentration. **Plant and soil**, v. 316, n. 1, p. 151-160, 2009.

VOS, J. P. E. L.; VAN DER PUTTEN, P. E. L.; BIRCH, C. J. Effect of nitrogen supply on leaf appearance, leaf growth, leaf nitrogen economy and photosynthetic capacity in maize (*Zea mays* L.). **Field Crops Research**, v. 93, n. 1, p. 64-73, 2005.

WAHEED, Kinza et al. Tomato. In: **Medicinal Plants of South Asia**. Elsevier, 2020. p. 631-644.

WANG, M. et al. Microalgae biofuels: illuminating the path to a sustainable future amidst challenges and opportunities. **Biotechnology for Biofuels and Bioproducts**, v. 17, n. 1, 2024a.

WANG, Q. et al. The Utilization and Roles of Nitrogen in Plants. **Forests**, v. 15, n. 7, p. 1191–1191, 2024b.

WU, X.; YU, L.; PEHRSSON, P. R. Are Processed Tomato Products as Nutritious as Fresh Tomatoes? Scoping Review on the Effects of Industrial Processing on Nutrients and Bioactive Compounds in Tomatoes. **Advances in Nutrition**, v. 13, n. 1, 2021.

YAAKOB, M. A. et al. Influence of Nitrogen and Phosphorus on Microalgal Growth, Biomass, Lipid, and Fatty Acid Production: An Overview. **Cells**, v. 10, n. 2, p. 393, 2021.

YANG, T. et al. Photosynthesis, Biomass Production, Nutritional Quality, and Flavor-Related Phytochemical Properties of Hydroponic-Grown Arugula (*Eruca sativa* Mill.) “Standard” under Different Electrical Conductivities of Nutrient Solution. **Agronomy**, v. 11, n. 7, p. 1340, 2021.

ZHENG, J. et al. Drip fertigation sustains crop productivity while mitigating reactive nitrogen losses in Chinese agricultural systems: Evidence from a meta-analysis. **Science of The Total Environment**, v. 886, p. 163804–163804, 2023.

3 CAPÍTULO I
APLICAÇÃO DE RESÍDUOS DA EXTRAÇÃO DE ÓLEO DE BIOMASSA DE
MICROALGAS PARA CULTIVO DE RÚCULA

3.1 RESUMO

Nos últimos anos, as microalgas tem sido considerada uma estratégia sustentável e promissora para a produção de biodiesel. No entanto, essa produção tem como subproduto uma quantidade significativa de biomassa residual. Diante da busca pela adoção de práticas agrícolas mais sustentáveis e a necessidade de reduzir a dependência de fertilizantes convencionais, o aproveitamento dessa biomassa residual ou biomassa desoleificada como biofertilizante tem sido considerada uma opção relevante para a agricultura. Nesse contexto, buscou-se com o presente trabalho avaliar o uso da biomassa desoleificada de microalgas como uma opção ao uso de fertilizantes convencionais para a produção de rúcula cv. Gigante Folha Larga. Para isso, sete diferentes tratamentos foram aplicados: T1 – controle (sem adubação nitrogenada), T2 – 100% da dose recomendada de nitrogênio fornecida via ureia e T3 a T7 – biofertilizante em doses equivalentes a 100%, 150%, 200%, 250% e 300% da dose recomendada de nitrogênio, aplicados sete dias antes do transplântio (DAT), em uma única aplicação. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições para cada tratamento. O cultivo foi realizado em vasos de 0,8 L, preenchidos com material de solo e dispostos sobre bancada metálica coberta com sombrite (50%) e plástico agrícola. Aos 28 DAT foi realizada a colheita e os seguintes parâmetros morfológicos foram avaliados: comprimento da parte aérea (CPA), diâmetro do caule (DC), suculência da parte aérea (SCPA), massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da parte aérea (MSPA), clorofila total, número de folhas (NF), área foliar (AF), massa fresca da raiz (MFR), massa seca da raiz (MSR) e comprimento de raiz (CR), além da composição nutricional e mineral da parte aérea da rúcula. Os resultados foram submetidos à análise de variância e, quando significativos, as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de significância. Como resultado, observou-se que as plantas de rúcula cultivadas com biofertilizante em doses de até 150% da dose recomendada de N (T3 e T4) apresentaram aumentos significativos no CPA, SCPA, MF, MS, AF e MSR, em relação ao tratamento controle, com valores semelhantes aos obtidos com adubação nitrogenada convencional. Doses superiores de biofertilizante (T4–T7) não promoveram ganhos adicionais para esses parâmetros. O DC, clorofila total, NF, MFR e CR não diferiram com adubação nitrogenada via ureia ou biofertilizante. Aumentos nos teores de proteínas, fósforo, cálcio e magnésio da parte aérea da rúcula também foram verificados. Contudo, observou-se um aumento na concentração de sódio com a aplicação de doses mais elevadas de biofertilizante, reforçando a necessidade de monitorar sua aplicação. Conclui-se que, ao serem aplicados em doses adequadas, o biofertilizante de biomassa desoleificada pode ser uma alternativa viável visando a substituição de fertilizantes convencionais no cultivo de rúcula, contribuindo para uma agricultura mais sustentável.

Palavras-chave: adubação nitrogenada; *Chlorella* sp.; adubação orgânica; *Eruca sativa* L..

3.2 ABSTRACT

In recent years, microalgae have been considered a sustainable and promising strategy for biodiesel production. However, this process generates a significant amount of residual biomass as a by-product. In light of the pursuit of more sustainable agricultural practices and the need to reduce dependence on conventional fertilizers, the use of this residual biomass, or defatted biomass, as a biofertilizer has been regarded as a relevant option for agriculture. In this context, the present study aimed to evaluate the use of defatted microalgal biomass as an alternative to conventional fertilizers in the production of arugula cv. Gigante Folha Larga. For this purpose, seven different treatments were applied: T1 – control (no nitrogen fertilization), T2 – 100% of the recommended nitrogen dose supplied via urea, and T3 to T7 – biofertilizer at doses equivalent to 100%, 150%, 200%, 250%, and 300% of the recommended nitrogen dose, applied seven days before transplanting (DAT) in a single application. The experiment was conducted in a completely randomized design, with five replications per treatment. Cultivation was carried out in 0.8 L pots filled with soil material and placed on a metal bench covered with 50% shade cloth and agricultural plastic. At 28 DAT, harvest was performed and the following morphological parameters were evaluated: shoot length (SL), stem diameter (SD), shoot succulence (SS), shoot fresh mass (SFM), shoot dry mass (SDM), total chlorophyll, number of leaves (NL), leaf area (LA), root fresh mass (RFM), root dry mass (RDM), and root length (RL), as well as the nutritional and mineral composition of the arugula shoot. Results were subjected to analysis of variance and, when significant, means were compared using the Scott-Knott test at the 5% significance level. As a result, it was observed that arugula plants cultivated with biofertilizer at doses up to 150% of the recommended N (T3 and T4) showed significant increases in SL, SS, SFM, SDM, LA, and RDM compared to the control treatment, with values similar to those obtained with conventional nitrogen fertilization. Higher doses of biofertilizer (T4–T7) did not provide additional gains for these parameters. SD, total chlorophyll, NL, RFM, and RL did not differ between urea and biofertilizer fertilization. Increases in protein, phosphorus, calcium, and magnesium contents in the arugula shoot were also observed. However, an increase in sodium concentration was detected with the application of higher doses of biofertilizer, reinforcing the need for monitoring its use. It is concluded that, when applied at appropriate doses, defatted microalgal biomass biofertilizer can be a viable alternative to replace conventional fertilizers in arugula cultivation, contributing to more sustainable agriculture.

Keywords: nitrogen fertilization; *Chlorella* sp.; organic fertilization; *Eruca sativa* L.

3.3 INTRODUÇÃO

Em razão dos impactos ambientais gerados pela queima de combustíveis fósseis, o interesse por fontes alternativas de energia vêm se intensificando nos últimos anos. Nesse cenário, o biodiesel de terceira geração, produzido a partir de microalgas, tem se destacado como uma alternativa promissora no campo dos biocombustíveis (CHOWDHURY; LOGANATHAN, 2019). A viabilidade das microalgas está associada à sua elevada capacidade em acumular lipídios, à possibilidade de colheita ao longo do ano inteiro, à capacidade de duplicação de biomassa e à alta eficiência na utilização de luz solar, água e CO₂ (MUBARAK; SHAIJA; SUCHITHRA, 2019; YIN et al., 2020; RAFA et al., 2021).

A produção de biodiesel a partir de microalgas ocorre por quatro etapas principais: o cultivo microalgal, a colheita da biomassa, a extração dos lipídios e o processo de transesterificação (HUANG et al., 2015; NWOKOAGBARA et al., 2015; NEAG et al., 2023). Após a etapa de extração de lipídeos, estima-se que aproximadamente 65% de biomassa residual permaneça como resíduo (CAPORGNO et al., 2016; SILAMBARASAN et al., 2021). Esse resíduo, subproduto do processo, é conhecido como biomassa desoleificada de microalgas e caracteriza-se por ser rico em nutrientes essenciais ao bom desenvolvimento de plantas, como nitrogênio, fósforo, potássio e outros, tornando possível seu uso como biofertilizante (DINESHKUMAR et al., 2018; NAYAK et al., 2019).

Ao serem utilizadas como biofertilizante, as microalgas possuem potencial para desempenhar uma série de funções importantes no crescimento e desenvolvimento das culturas agrícolas. Seu uso pode melhorar as propriedades do solo, estimular a atividade enzimática e microbiológica e atuar como uma fonte orgânica de nutrientes com liberação gradual (NAYAK et al., 2019). Além disso, a presença de compostos benéficos para o crescimento vegetal, tais como carotenóides, fitohormônios, aminoácidos, vitaminas e substâncias antifúngicas, favorecem o seu aproveitamento agrônomo (DEEPIKA; MUBARAKALI, 2020).

Nos últimos anos constam na literatura aplicações bem-sucedidas de biofertilizantes à base de microalgas em diversas hortaliças, incluindo tomate (LARA et al., 2022), rúcula (DAGNAISSER et al., 2024), espinafre (DASGAN et al., 2023), beterraba (PUGLISI et al., 2020) e pepino (JUNPING, 2020). No entanto, o aproveitamento específico da biomassa de microalgas desoleificada ainda é pouco explorado, sobretudo na produção de olerícolas.

A rúcula (*Eruca sativa* L.) é uma hortaliça folhosa anual, de rápido crescimento e

porte baixo, amplamente apreciada na culinária mundial pelo seu sabor característico e elevado valor nutricional (LIMA et al., 2021). No Brasil, essa cultura tem se mostrado uma opção viável, principalmente para pequenos produtores e agricultores familiares, devido ao seu ciclo curto e facilidade de cultivo (HUBNER et al., 2024). No entanto, para que as plantas expressem o seu máximo potencial produtivo, é indispensável a atuação de diferentes fatores bióticos e abióticos, dentre eles fornecimento de nutrientes (ARAÚJO et al., 2018). Dessa forma, a disponibilidade adequada de nutrientes assume papel fundamental no sucesso do cultivo, pois, devido ao ciclo rápido da planta, desequilíbrios mesmo que temporários podem comprometer o desenvolvimento e produtividade da cultura (CHEN et al., 2020; TORRES et al., 2024).

Neste contexto, o objetivo deste estudo foi comparar o uso da biomassa desoleificada de microalgas, proveniente da produção de biodiesel, como biofertilizante no cultivo de rúcula, em relação ao cultivo com fertilizante nitrogenado convencional (ureia). Para isso, buscou-se avaliar o impacto de ambos os tratamentos no desenvolvimento da cultura, além de analisar sua eficiência no uso de nutrientes.

3.4 OBJETIVOS

3.4.1 Objetivo geral

Avaliar o potencial de utilização de biofertilizante a base de biomassa desoleificada de microalgas, proveniente da produção de biodiesel, como uma alternativa ao uso de fonte convencional de nitrogênio (ureia) para a produção de rúcula (*Eruca sativa* L.), cv. Gigante Folha Larga.

3.4.2 Objetivos específicos

- a) Comparar o desenvolvimento vegetativo da rúcula, cultivada com diferentes doses de biofertilizante com o proporcionado com adubação convencional;
- b) Analisar a composição nutricional e mineral da parte aérea da rúcula em resposta à aplicação do biofertilizante.

3.5 MATERIAL E MÉTODOS

3.5.1 Descrição da área experimental

O experimento foi conduzido no Instituto de Tecnologia, localizado na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), em Seropédica - RJ (latitude 22°48'00'' S; longitude 43°41'00'' W; altitude de 33 metros), no período de agosto a setembro de 2024. Segundo a classificação de Köppen (1948), a região apresenta clima do tipo Aw, com chuvas concentradas no período de novembro a março, com médias anuais de precipitação e temperatura variando de 1.300 a 1.600 mm e de 22 a 24 °C, respectivamente (ALVARES et al., 2013).

O cultivo foi realizado em área aberta, sobre uma bancada metálica posicionada a 100 cm do solo. A estrutura foi coberta com tela de sombreamento tipo sombrite (50%) e plástico agrícola, com o objetivo de reduzir a incidência luminosa e proteger as plantas da chuva.

3.5.2 Descrição do resíduo utilizado como biofertilizante

Os tratamentos com biofertilizante foram constituídos a partir de biomassa residual de microalgas, subproduto do processo de extração de lipídios para fins de produção de biodiesel (Figura 1).



Figura 1. Biomassa desoleificada de microalgas utilizada como biofertilizante. Fonte: a autora (2025)

Após o processo de extração de lipídeos, o material residual permaneceu armazenado a -80°C até o momento de seu uso, conforme recomendado por Nayak et al. (2019). A caracterização da biomassa de microalgas utilizada como biofertilizante está apresentada na

Tabela 1:

Tabela 1. Caracterização da biomassa desoleificada de microalgas.

Parâmetros	Concentração
Sódio (g kg ⁻¹)	3,06
Potássio (g kg ⁻¹)	3,14
Nitrogênio total (g kg ⁻¹)	41,30
Nitrato (mg kg ⁻¹)	3,06
Nitrogênio amoniacal (g kg ⁻¹)	2,44
Alumínio (g kg ⁻¹)	2,49
Cobre (g kg ⁻¹)	0,15
Ferro (g kg ⁻¹)	23,14
Manganês (g kg ⁻¹)	0,85
Zinco (g kg ⁻¹)	0,39
Níquel (g kg ⁻¹)	0,01
Cobalto (g kg ⁻¹)	0,00
Chumbo (g kg ⁻¹)	0,02
Cádmio (g kg ⁻¹)	0,00
Cromo (g kg ⁻¹)	0,02
Cálcio (g kg ⁻¹)	20,49
Magnésio (g kg ⁻¹)	21,80

3.5.3 Cálculo da dose de aplicação do biofertilizante

Para quantificar a dose de biofertilizante aplicado no cultivo da rúcula, o nitrogênio foi adotado como nutriente de referência nos cálculos. Assim, foram consideradas as necessidades nutricionais da cultura, que, de acordo com as recomendações de Aguiar Junior et al. (2010) e Dagnaisser et al. (2024), correspondem à aplicação de 120 kg ha⁻¹ para um ciclo de cultivo de 40 dias. Dessa forma, e conforme o método DEA/UFV, proposto por Matos (2017), a dose recomendada para a fertirrigação foi calculada a partir da Equação 1:

$$D_{AR} = 1000 \times \frac{[N_{abs} - (T_{m1} \times MO \times \rho_s \times p \times 10^7 \times 0,05 \times n/12)]}{T_{m2} \times n/12 \times N_{org} + (N_{amon} + N_{nitrato}) \times TR} \quad (1)$$

em que,

D_{AR} – dose de aplicação (t ha⁻¹); N_{abs} – absorção de nitrogênio pela cultura para obter a produtividade desejada (kg ha⁻¹); T_{m1} – taxa anual de mineralização da matéria orgânica anteriormente existente no solo (0,01 a 0,15 kg kg⁻¹ ano⁻¹); MO – conteúdo de matéria

orgânica do solo (kg kg^{-1}); ρ_s – massa específica do solo (t m^{-3}); p – profundidade do solo considerada (m); $n/12$ – fração do ano referente ao período de cultivo (ano); T_{m2} – taxa de mineralização do N_{org} ($\text{kg kg}^{-1} \text{ ano}^{-1}$); N_{org} – nitrogênio orgânico (g kg^{-1}); N_{amon} – nitrogênio amoniacal (g kg^{-1}); N_{nitrato} – nitrogênio nítrico (g kg^{-1}); e , TR – taxa de recuperação do nitrogênio mineral pela cultura (kg kg^{-1}).

Os valores de entrada utilizados para o cálculo da dose de aplicação encontram-se apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Valores de entrada utilizados no cálculo da dose de aplicação do biofertilizante.

Parâmetros	Valor de Entrada
N_{abs} (kg ha^{-1})	120
MO (kg kg^{-1})	0,0133
ρ_s (t m^{-3})	1,50
n	1,50
p (m)	0,20
T_{m1} ($\text{kg kg}^{-1} \text{ ano}^{-1}$)	0,01
T_{m2} ($\text{kg kg}^{-1} \text{ ano}^{-1}$)	0,5
N_{org} (g kg^{-1})	38,86
N_{amon} (g kg^{-1})	2,44
N_{nitrato} (g kg^{-1})	0,00306
TR (kg kg^{-1})	0,75
D_{AR} (t ha^{-1})	5,53
D_{AR} (kg m^{-2})	0,55

3.5.4 Descrição dos tratamentos e unidades experimentais

Foram avaliados sete tratamentos: um controle (T1 – sem adubação nitrogenada), um com adubação convencional (T2 – 100% da dose recomendada de nitrogênio fornecida via ureia) e cinco tratamentos (T3, T4, T5, T6 e T7) com diferentes doses do biofertilizante caracterizado na Tabela 1.

O tratamento T1, sem adição de fertilizante mineral ou resíduo orgânico, foi utilizado como controle, visando avaliar o efeito do biofertilizante e da fertilização mineral no desenvolvimento da cultura. Já para o tratamento com fertilizante mineral (T2), foram aplicados 120 kg ha^{-1} de nitrogênio (N) na forma de ureia. Para isso, a aplicação foi realizada em duas etapas: 50% da dose aplicada no dia do transplântio e os 50% restantes aos 7 dias após o transplântio (7 DAT).

Por sua vez, nos tratamentos T3 – T7 foram aplicadas quantidades crescentes de biofertilizante, conforme as doses quantificadas na Tabela 3. Durante a aplicação do biofertilizante, toda a biomassa microalgal desengordurada foi adicionada aos respectivos vasos sete dias antes do transplântio das mudas de rúcula, em uma única aplicação. Em seguida o material foi incorporado ao solo e após a homogeneização, foi realizada irrigação com água de abastecimento.

Tabela 3. Descrição dos tratamentos aplicados.

Tratamentos	Descrição
T1	Sem adubação nitrogenada (controle)
T2	100% da dose de N recomendada fornecida via fertilizante mineral (ureia)
T3	100% da dose de N recomendada fornecida via biofertilizante (1,56 g)
T4	150% da dose de N recomendada fornecida via biofertilizante (2,34 g)
T5	200% da dose de N recomendada fornecida via biofertilizante (3,12 g)
T6	250% da dose de N recomendada fornecida via biofertilizante (3,90 g)
T7	300% da dose de N recomendada fornecida via biofertilizante (4,68 g)

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com cinco repetições por tratamento, totalizando 35 unidades experimentais. Cada repetição constituiu-se de um vaso de polietileno com dimensões de 8 × 6 × 14 cm (lados superior, inferior e altura, respectivamente), com capacidade para 0,8 dm³ de substrato, no qual foram cultivadas 3 plantas.

3.5.5 Coleta, preparo e análise de solo

O material de solo utilizado no experimento, classificado como Planossolo, foi coletado na área experimental do Instituto de Agronomia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), localizada em Seropédica – RJ (coordenadas 22°46'22'' S e 43°42'44'' W). Sua caracterização foi realizada no Laboratório de Manejo e Conservação do Solo e da Água do mesmo instituto, em conformidade com o Manual de Métodos de Análise de Solo (TEIXEIRA et al., 2017). Os resultados são apresentados na Tabela 4:

Tabela 4. Caracterização química do solo.

Parâmetros	Resultado
pH	5,68
Carbono Orgânico Total (g kg ⁻¹)	5,94
Matéria Orgânica (g kg ⁻¹)	10,2
Fósforo (mg dm ⁻³)	40
Potássio (mg dm ⁻³)	3
Sódio (cmolc dm ⁻³)	0,03
Cálcio (cmolc dm ⁻³)	1,10
Magnésio (cmolc dm ⁻³)	0,92
Alumínio (cmolc dm ⁻³)	0,00
H + Al (cmolc dm ⁻³)	0,97
S (cmolc dm ⁻³)	2,05
T (cmolc dm ⁻³)	3,03
V (%)	68,00
m (%)	0,00
n (%)	0,92
t (cmolc dm ⁻³)	2,05

Os vasos definitivos foram preenchidos com o material de solo previamente seco ao ar, destorroado e peneirado em peneira de 4 mm. Ao fundo de cada vaso, colocou-se cerca de 2 cm de brita e uma manta geotêxtil visando garantir uma drenagem adequada.

3.5.6 Condução do experimento

Foram utilizadas sementes de rúcula (*Eruca sativa* L.) cultivar ‘Gigante Folha Larga’ adquiridas da empresa Isla®. A semeadura foi realizada em bandeja de 200 células preenchidas com substrato comercial Carolina Soil®. Após semeadas 3 sementes em cada célula, as bandejas foram mantidas em bancada coberta com sombrite 50% e submetidas a irrigação por microaspersão até o momento do transplântio (Figura 2).



Figura 2. Emergência e desenvolvimento inicial de plântulas de rúcula em sementeira.
Fonte: a autora (2025).

Aos 10 dias após a semeadura (DAS) foi realizado o raleio, deixando-se apenas a planta mais bem desenvolvida de cada célula e aos 23 dias DAS, ao atingirem quatro folhas definitivas, as mudas de maior desempenho foram retiradas aleatoriamente das bandejas e transplantadas para os vasos definitivos.

Cada um dos vasos recebeu 3 mudas de rúcula e em seguida, todos os 35 vasos foram distribuídos de forma aleatória sobre a bancada metálica, mantendo-se um espaçamento aproximado de 15 cm entre os vasos.

Após o transplântio, a cultura foi irrigada por microirrigação, utilizando-se emissores autocompensantes (Netafim, mod. PCJ-HCNL) com vazão nominal de 2 L h^{-1} . Foi utilizado um emissor para cada vaso, conforme ilustrado na Figura 3.



Figura 3. Cultivo de rúcula em vasos definitivos com destaque para o sistema de irrigação.
Fonte: a autora (2025).

Antes da instalação do experimento, realizou-se um teste de uniformidade do sistema irrigação, com o objetivo de verificar a uniformidade de distribuição da água aplicada. Para isso, foram determinados o Coeficiente de Uniformidade de Christiansen (CUC), proposto por Christiansen (1942) e o Coeficiente de Uniformidade de Distribuição (CUD), calculados de acordo com as Equações 2 e 3, respectivamente.

$$CUC = \left[1 - \frac{\sum_{i=1}^n (q_i - \bar{q})^2}{n_e - \bar{q}} \right] \times 100 \quad (2)$$

em que,

CUC – Coeficiente de Uniformidade de Christiansen (%);

q_i – vazão de cada gotejador ($L h^{-1}$);

$\bar{q}$ – vazão média dos gotejadores ($L h^{-1}$); e,

n_e – número de coletores.

$$CUD = \left(\frac{q_{25}}{\bar{q}} \right) \times 100 \quad (3)$$

em que,

CUD – Coeficiente de Uniformidade de Distribuição (%);

q_{25} : média de 25% das menores vazões dos emissores ($L h^{-1}$); e,

$\bar{q}$: vazão média dos gotejadores ($L h^{-1}$).

Os valores do Coeficiente de Christiansen (CUC) e Coeficiente de Uniformidade de Distribuição (CUD) obtidos são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. CUC e CUD obtidos para o sistema de irrigação utilizado no cultivo.

Coeficiente	Valor (%)	Classificação
Uniformidade de Distribuição (UD)	95	Excelente
Coeficiente de Uniformidade de Christiansen (CUC)	97	Excelente

As irrigações foram realizadas buscando-se manter a umidade do solo acima de 60% de sua capacidade de campo durante todo o período de cultivo, conforme descrito por Renuka et al. (2016) e Dagnaisser et al. (2024). Para isso, o monitoramento da umidade do solo foi realizado por pesagem, conforme metodologia proposta por Gervásio, Carvalho e Santana (2000).

Com base no resultado da análise de solo, todos os tratamentos receberam 120 kg ha⁻¹ de potássio (K) na forma de cloreto de potássio (KCl). A aplicação foi realizada de forma parcelada, com 50% da dose aplicada aos 7 dias após o transplantio (DAT) e restante aos 14 DAT. Por sua vez, o controle das plantas espontâneas foi realizado ao longo de todo o ciclo da cultura por meio de capinas manuais realizadas sempre que necessário.

3.5.7 Variáveis analisadas

A colheita da rúcula foi realizada aos 28 dias após o transplantio (DAT), momento em que o desempenho agrônômico da rúcula foi avaliado por meio das seguintes variáveis:

3.5.7.1 Comprimento da parte aérea (CPA)

O comprimento da parte aérea (cm) foi determinado com o auxílio de uma régua graduada, medindo-se a partir da base da planta até a última folha completamente expandida.

3.5.7.2 Comprimento das raízes (CR)

A medida do comprimento médio da raiz (cm) foi realizada utilizando uma régua graduada, medindo-se desde a base da planta até a extremidade inferior da raiz.

3.5.7.3 Suculência da parte aérea (SCPA)

A suculência da parte aérea (SCPA) foi determinada de acordo com a metodologia

proposta por BENINCASA (2003) e apresentada por meio da Equação 4:

$$SCPA = \frac{(MFPA - MSPA)}{MSPA} \quad (4)$$

em que,

SCPA – suculência da parte aérea ($\text{gH}_2\text{O g}^{-1}$ MSPA);

MFPA – massa fresca da parte aérea (g); e,

MSPA – massa seca da parte aérea (g).

3.5.7.4 Diâmetro do caule (DC)

O diâmetro do caule (DC) foi medido com o auxílio de um paquímetro digital, posicionado logo acima da superfície do solo.

3.5.7.5 Número de folhas (NF)

O número de folhas foi determinado a partir da contagem de todas as folhas definitivas desenvolvidas em cada planta, com o resultado expresso em unidades planta⁻¹.

3.5.7.6 Clorofila total

As leituras dos índices de clorofila foram realizadas com o auxílio de um clorofilômetro portátil ClorofiLOG®, modelo CFL 1030 (Falker®, Brasil). O índice de clorofila total foi obtido a partir da soma dos índices de clorofila A e B, com os resultados expressos em valores de ICF (Índice de Clorofila).

3.5.7.7 Área foliar (AF)

A mensuração da área foliar foi realizada utilizando um integrador de área foliar LI-COR®, modelo LI-3100 (LI-COR®, Estados Unidos). Os resultados foram apresentados em centímetros quadrados por planta (cm^2 planta⁻¹).

3.5.7.8 Massa fresca da raiz (MFR) e massa fresca da parte aérea (MFPA)

Para obtenção da massa fresca, as plantas referentes a cada unidade experimental foram seccionadas ao nível do solo, promovendo a separação entre a parte aérea e o sistema radicular. Posteriormente, ambas as partes foram pesadas em balança analítica de precisão, com os resultados de massa fresca expressos em g planta⁻¹.

3.5.7.9 Massa seca da raiz (MSR) e massa seca da parte aérea (MSPA)

Para a determinação da massa seca da raiz (MSR) e da parte aérea (MSPA), cada uma das amostras foram identificadas e armazenadas em sacos de papel tipo “kraft”, e posteriormente, mantidas em estufa de ventilação forçada a 65°C até atingirem uma massa constante. Em seguida, o material foi quantificado em uma balança analítica de precisão, obtendo-se, as respectivas massas secas, em g planta⁻¹.

3.5.8 Avaliação da composição nutricional e mineral da parte aérea da rúcula

Após a obtenção da massa seca, as amostras da parte aérea foram moídas e seguiram para análise dos teores proteínas, fibras, magnésio (Mg), cálcio (Ca), sódio (Na), potássio (K) e fósforo (P) em sua constituição. As proteínas foram quantificadas pelo Método de Kjeldahl (método AOAC2001.11), enquanto os de fibra foram determinados pelo método enzimático-gravimétrico, descrito por Prosky et al. (1992). Já os teores de Ca, Mg, Na e K foram obtidos por espectrofotometria de absorção atômica e os de fósforo por Colorimetria com Molibdato de Amônio (AOAC965.17).

3.5.9 Análise Estatística

Os dados foram testados quanto às pressuposições estatísticas, pelo teste de normalidade de Shapiro-Wilk e de homocedasticidade de Bartlett, submetidos à análise de variância (ANOVA) e, quando significativos, as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott, ambos ao nível de 5% de significância, utilizando o software R (versão 4.4.0).

3.6 RESULTADOS

3.6.1 Produção de rúcula

Com relação ao comprimento da parte aérea (CPA), foi observada diferença significativa entre os tratamentos (Figura 4). Os tratamentos T2, T3, T4 e T6 apresentaram as maiores médias de CPA, variando de 12,59 cm a 13,29 cm, representando acréscimos de até 29,91% no comprimento das plantas quando comparados ao controle, que atingiu uma altura média de 10,23 cm.

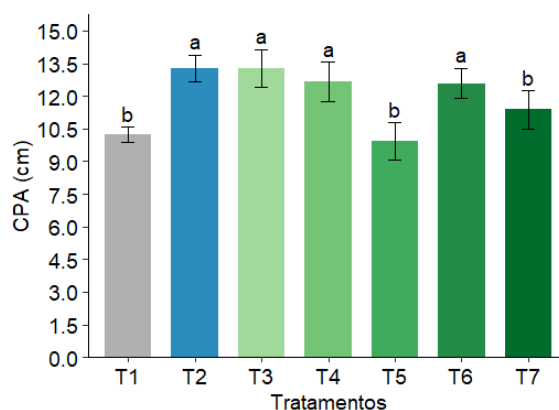


Figura 4. Efeitos de fertilizantes microalgais e fertilizante de ureia sobre o comprimento da parte aérea da rúcula (Scott-Knott, $\alpha = 0,05$).

Nesse sentido, os resultados indicam que tanto a aplicação de fertilizante mineral quanto o uso de biofertilizante em doses correspondentes a 100%, 150% e 250% da dose recomendada de N foram eficientes em estimular o desenvolvimento da parte aérea das plantas de rúcula, sendo estatisticamente superiores ao tratamento com ausência de adubação nitrogenada.

Além disso, ao possibilitar o crescimento da parte aérea das plantas de forma comparável à adubação mineral convencional, os resultados sugerem o potencial de uso de biomassa de microalgas como fonte alternativa de nitrogênio em culturas agrícolas. De forma semelhante, Turhan et al. (2022) também observaram acréscimos no comprimento da parte aérea da rúcula com o uso de biofertilizante microalgal. Semelhantemente, Wichaphian et al. (2025) também perceberam aumentos de 31,89% no comprimento de plantas de alface após o tratamento com biomassa de *Chlorella* sp.

Por sua vez, os tratamentos T5 (200% da dose de N via biofertilizante) e T7 (300% da dose recomendada de N via biofertilizante) apresentaram valores de CPA semelhantes ao controle (T1), com médias que variaram de 9,94 cm a 11,38 cm. Para esse parâmetro, os resultados encontrados indicam que o uso do biofertilizante em doses superiores a 200% pode não ser eficiente no desenvolvimento da parte aérea, possivelmente por causar desequilíbrios nutricionais nas plantas.

Achados semelhantes foram encontrados por Nascimento et al. (2021), os quais também observaram aumentos na altura de plantas de rúcula em resposta ao fornecimento de nitrogênio. No entanto, os autores constataram que a aplicação de doses excessivas de N resultou em uma redução na altura das plantas, efeito atribuído à baixa eficiência de

utilização do nutriente e ao antagonismo com outros nutrientes. Em particular, o aumento da concentração de nitrato de amônio nos tratamentos com maiores doses de N eleva a proporção de NH_4^+ , que por sua vez, pode prejudicar a absorção de outros cátions, como potássio (K^+), magnésio (Mg^{2+}) e cálcio (Ca^{2+}), afetando o crescimento das plantas (NASCIMENTO et al., 2020; 2021). A mesma tendência foi observada no desenvolvimento de plantas de trigo, em que a aplicação de extrato de algas marinhas em concentrações excessivas causou decréscimos no comprimento dos brotos (KUMAR; SAHOO, 2011; LIU et al., 2024).

Nesse sentido, verifica-se a importância da definição da aplicação de doses adequadas de biofertilizantes à base de microalgas visando maximizar o desempenho agrônomo das culturas e ao mesmo tempo evitar os efeitos negativos associados a deficiência ou ao fornecimento de nutrientes em excesso.

Quanto à variável diâmetro do caule, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos (Figura 5). Tanto na ausência de adubação quanto nos tratamentos com adubação via ureia ou com aplicação de diferentes doses de biofertilizante os resultados foram significativamente iguais ao nível de 5% de significância.

Resultados diferentes foram encontrados por Turhan et al. (2022). Os autores observaram aumentos de aproximadamente 34% no diâmetro do caule de plantas de rúcula com a aplicação de microalgas. Li et al. (2024) também verificaram aumento desse parâmetro em plantas de tomate após a aplicação de microalgas combinada com fertilizante químico, em relação ao tratamento com 100% de fertilizante químico (controle). Em outro estudo, Bayona-Morcillo et al. (2022), ao comparar os efeitos da biomassa de *C. vulgaris* submetida a diferentes métodos de extração no crescimento de *Pelargonium × hortorum*, observaram aumento do diâmetro do caule em todos os tratamentos com a microalga em comparação com o tratamento controle, constituído somente por água.

A ausência de efeito para o diâmetro do caule (DC) observada no presente estudo, em comparação aos demais trabalhos, pode estar associada a diferentes fatores, como a espécie cultivada, o tempo de condução do experimento e a forma de aplicação da biomassa. Nesse sentido, é possível que o período de exposição aos nutrientes disponibilizados pelo biofertilizante tenha sido insuficiente para promover alterações significativas nesse parâmetro. Li et al. (2024), por exemplo, observaram diferenças expressivas no DC das plantas de tomate apenas depois de 30 DAT, enquanto Turhan et al. (2022) aplicaram parte das microalgas ainda durante a semeadura, resultando em um maior tempo de exposição das

plantas de rúcula aos nutrientes e compostos bioativos, o que pode ter favorecido respostas mais perceptíveis para a variável.

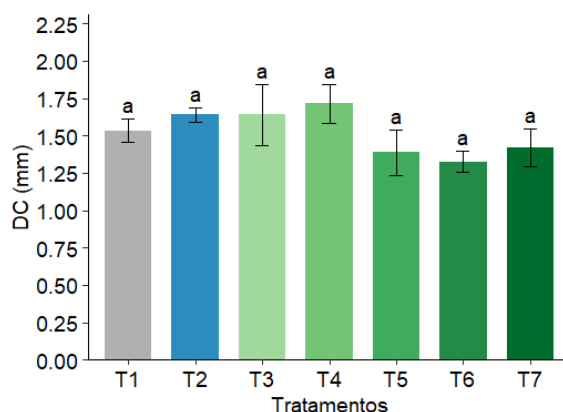


Figura 5. Efeitos de fertilizantes microalgais e fertilizante de ureia sobre o diâmetro do caule da rúcula (Scott-Knott, $\alpha = 0,05$).

A análise de variância apontou diferença significativa entre os tratamentos para a variável suculência da parte aérea (SCPA). O menor valor médio de SCPA ($9,87 \text{ g H}_2\text{O g}^{-1}$ MSPA) foi obtido pelo tratamento com ausência de adubação nitrogenada (T1), diferindo estatisticamente dos demais. Em contrapartida, todos os tratamentos que receberam adição de nitrogênio, tanto sob a forma de fertilizante mineral ou de biofertilizante, resultaram em valores médios superiores de SCPA (Figura 6).

Os resultados encontrados no presente estudo sugerem que a disponibilização de nitrogênio, independentemente da fonte, aumentou a retenção de água na parte aérea das plantas. O aumento da suculência das plantas com o fornecimento de nitrogênio está em consonância com o descrito por Torres-Oliver et al. (2014). Os autores supracitados, destacam que o nitrogênio nas plantas provém principalmente nas formas de amônio (NH_4^+) e nitrato (NO_3^-), íons responsáveis por desempenhar diferentes processos fisiológicos nas plantas, incluindo a melhoria da suculência em muitas culturas agrícolas.

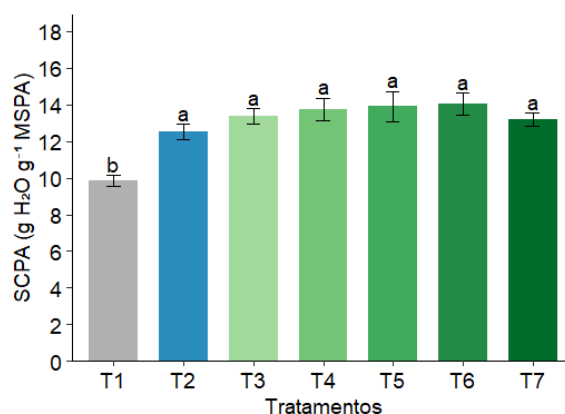


Figura 6. Efeitos de fertilizantes microalgais e fertilizante de ureia sobre a suculência da parte aérea da rúcula (Scott-Knott, $\alpha = 0,05$).

No que se refere aos resultados de massa fresca e massa seca da parte aérea, os tratamentos T2, T3 e T4 foram os que apresentaram valores médios superiores para esses parâmetros, com resultados que variaram de 1,89 a 2,18 g planta⁻¹ para a MFPA (Figura 7A) e de 0,129 a 0,162 g planta⁻¹ para a MSPA (Figura 7B). Os efeitos positivos associados ao uso da biomassa desoleificada de microalgas como biofertilizante podem estar relacionados à desintegração de células de algas inteiras que ocorre durante o processo de extração de lipídios, resultando em aumento da porosidade das microalgas. A maior porosidade acelera a liberação de nutrientes no solo e permitindo ainda uma disponibilidade ideal de nutrientes durante toda a produção da cultura (NAYAK et al., 2019; SILAMBARASAN et al., 2021).

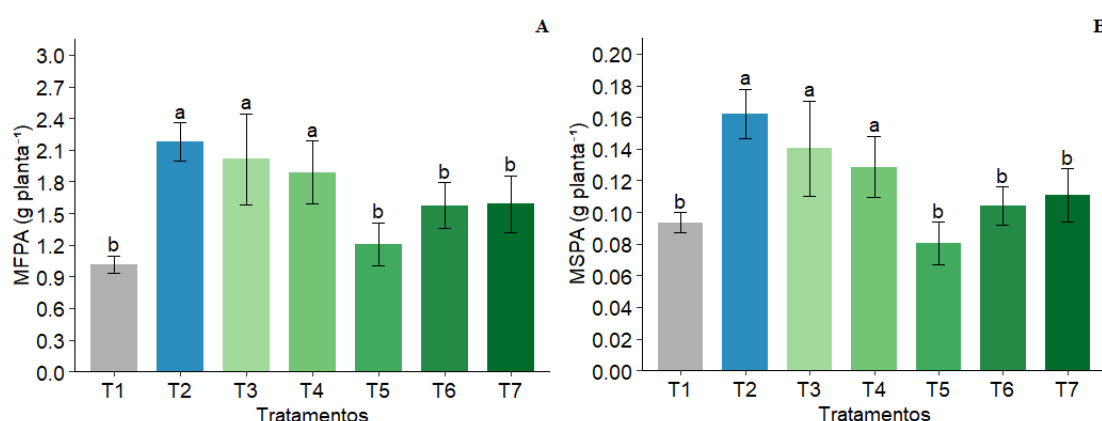


Figura 7. Efeitos de fertilizantes microalgais e fertilizante de ureia sobre a massa fresca (A) e massa seca (B) da parte aérea da rúcula (Scott-Knott, $\alpha = 0,05$).

Ao avaliar o efeito de diferentes biofertilizantes derivados de microalgas no

desenvolvimento da alface (*Lactuca sativa*), Wichaphian et al. (2025) também observaram ganhos significativos nos parâmetros de crescimento das plantas, incluindo aumento na massa fresca da parte aérea ao fim de 25 dias de cultivo. Os tratamentos testados incluíram a aplicação de três tipos de biofertilizantes de microalgas: biomassa integral de *Chlorella*, biomassa de microalgas desoleificada e a aplicação combinada de biomassa desoleificado e desaquosa de microalgas, em comparação com um tratamento controle com ausência de biofertilizantes.

Os autores verificaram que em todos os tratamentos contendo biomassa microalgal foram obtidos aumentos na massa fresca da alface em comparação ao controle. O maior valor de MFPA foi observado no tratamento com biomassa integral de *Chlorella* sp, que alcançou uma média de 4,23 g por planta, representando um aumento de 47,39% em relação ao controle (2,87 g). Já o tratamento combinado de biomassa desoleificado e desaquosa de microalgas proporcionou ganhos de 37,98% (3,96 g), enquanto a biomassa desoleificada promoveu um incremento de 32,75% (3,81 g) sobre o controle.

Em contrapartida, no estudo atual, os tratamentos T5, T6 e T7 registraram as menores médias para ambos os parâmetros, com valores de MFPA entre 1,20 e 1,59 g planta⁻¹ e de MSPA entre 0,080 a 0,110 g planta⁻¹, não diferindo do tratamento controle, que obteve um MFPA de 1,02 g planta⁻¹ e MSPA igual a 0,093 g planta⁻¹. Os resultados obtidos indicam que a aplicação de fertilizante mineral e de doses moderadas de biofertilizante podem favorecer o acúmulo de biomassa na parte aérea da rúcula, enquanto a ausência de adubação ou o excesso de biofertilizante não promoveram ganhos para esse parâmetro. Esses achados estão de acordo com o observados por Sorgatto e Silva (2018), que, ao aplicar biofertilizante em sementes de salsa notaram um efeito adverso do extrato de algas no aumento da massa seca das plântulas, observando uma redução linear da MS à medida que as doses do bioestimulante aumentavam.

Em um estudo visando avaliar a aplicabilidade da microalga *Spirulina platensis* como fertilizantes em vegetais folhosos, Wuang et al. (2016) testaram quatro tratamentos: um tratamento com ausência de adubação (controle), um tratamento com aplicação de *Spirulina platensis*, um com o uso de fertilizante químico e outro com uma combinação da microalga com o fertilizante químico. Os autores observaram que plantas de rúcula cultivadas em solo enriquecido com a microalga *Spirulina* apresentaram um incremento de 30,2% no conteúdo de clorofila, quando comparados ao tratamento controle.

No entanto, no presente estudo, os resultados obtidos para os índices de clorofila total

indicam que a adubação nitrogenada não promoveu variações significativas para esse parâmetro em relação ao tratamento controle, que não recebeu adubação nitrogenada (Figura 8). Os valores observados para esse parâmetro variaram entre 36,08 e 41,78, sem diferirem entre si ao nível de 5% de significância.

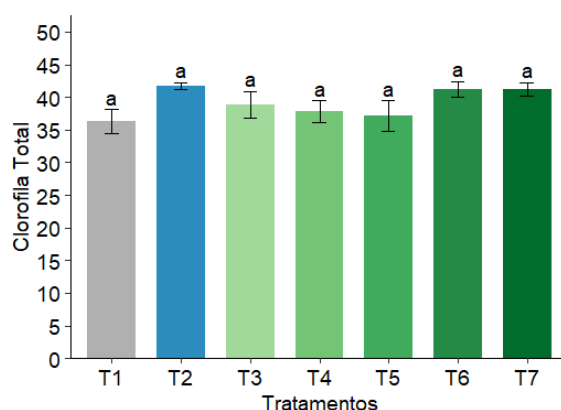


Figura 8. Efeitos de fertilizantes microalgais e fertilizante de ureia sobre o conteúdo de clorofila da rúcula (Scott-Knott, $\alpha = 0,05$).

Com relação ao número de folhas (NF), inicialmente os valores não apresentaram homoscedasticidade de variâncias, mesmo após transformação por Box-cox. Diante disso, os dados foram reprocessados considerando o número de folhas total por vaso. O teste de Bartlett aplicado para os novos dados voltou a indicar ausência de homogeneidade de variâncias, motivo pelo qual realizou-se uma nova transformação por Box-cox. Com essa nova transformação, todas as pressuposições estatísticas foram atendidas, possibilitando a realização da análise de variância.

As médias dos tratamentos para o parâmetro NF variaram de 12,09 a 15,12 folhas vaso⁻¹. Contudo, ao nível de 5% de significância, esses valores não foram significativamente diferentes (Figura 9). De forma semelhante, Nascimento et al. (2021) também não identificaram diferenças estatísticas entre os tratamentos submetidos a diferentes doses de adubação nitrogenada na cultura da rúcula, inclusive quando comparados ao tratamento sem aplicação de nitrogênio. De acordo com os autores, a ausência de efeito positivo da fertilização com N para esse parâmetro pode estar relacionada à baixa plasticidade do número característico de folhas, ao reduzido número de folhas por planta e ciclo de cultivo curto da rúcula (NASCIMENTO et al., 2021).

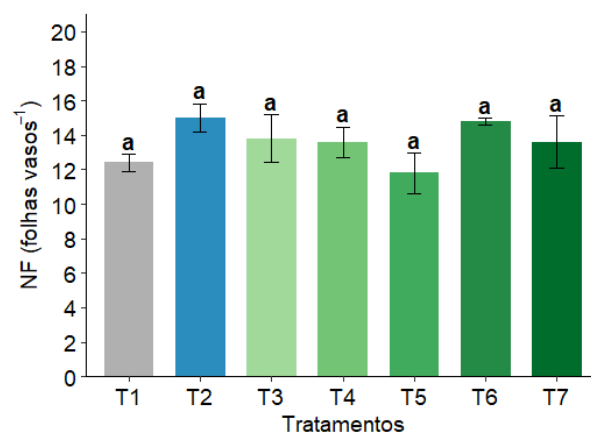


Figura 9. Efeitos de fertilizantes microalgais e fertilizante de ureia sobre o número de folhas de rúcula (Scott-Knott, $\alpha = 0,05$).

Os valores médios de área foliar diferiram significativamente entre os tratamentos (Figura 10). As maiores médias para o parâmetro foram observadas para os tratamentos T2, T3 e T4, com valores de 39,28; 34,40 e 31,09 cm² planta⁻¹, respectivamente. Esses resultados representaram ganhos de 126,2%, 98,0% e 79,0% de AF em relação ao tratamento controle (T1), cuja média foi de 17,37 cm² planta⁻¹. Resultados semelhantes foram encontrados em plantas de pimenta após tratamento com extrato de *Chlorella*, nas quais também houve aumento significativo da área foliar com a aplicação de microalgas (TIAN et al., 2022).

Por sua vez, o fornecimento de doses de biomassa desoleificada de microalgas iguais ou superiores a 200% da necessidade da cultura (T5–T7) não geraram aumentos na AF, apresentando valores semelhantes aos apresentados pelo tratamento T1, sem suplementação de nitrogênio.

Os resultados observados com a aplicação de doses mais altas de biofertilizante podem ser atribuídos ao maior conteúdo de substâncias bioestimulantes aplicadas a planta. Tais compostos, embora apresentem benefícios em concentrações moderadas, possuem um limite no efeito promotor do crescimento e ao ultrapassar esse limite, podem gerar efeitos fisiológicos negativos nas plantas devido à desbalanços hormonais, comprometendo seu desenvolvimento (ALBRECHT et al., 2011, 2012; DALL AGNOL et al., 2022).

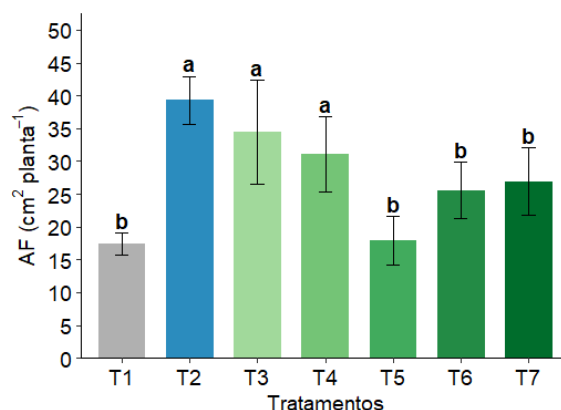


Figura 10. Efeitos de fertilizantes microalgais e fertilizante de ureia sobre a área foliar da rúcula (Scott-Knott, $\alpha = 0,05$).

Para a massa fresca das raízes não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos (Figura 11A). Os valores médios de MFR variaram entre $0,16 \text{ g planta}^{-1}$ e $0,23 \text{ g planta}^{-1}$, indicando que nas condições experimentais do presente estudo, o fornecimento de nitrogênio, sob a forma de ureia ou de biomassa desoleificada de microalgas não impactou diretamente esse parâmetro.

Em contrapartida, para o parâmetro MSR a análise de variância indicou diferenças entre os tratamentos testados (Figura 11B). Os tratamentos T2, T3 e T4 apresentaram resultados superiores aos demais tratamentos, com aumentos de 97,4%, 117,7% e 79,5% em relação ao tratamento controle (T1), que obteve uma média de MSR igual à $0,0248 \text{ g planta}^{-1}$. Por sua vez, as médias obtidas para os tratamentos T5, T6 e T7, que tiveram a aplicação de maiores doses de N, não diferiram estatisticamente do tratamento controle, comportamento semelhante ao observado para outros parâmetros avaliados no presente estudo.

Os resultados convergem com os observados em pesquisa anterior que investigou os efeitos das microalgas *Chlamydomonas reinhardtii* e *Chlorella sorokiniana* em mudas de milho cultivadas em sistema hidropônico. Verificou-se que, sob condições de baixa disponibilidade de nitrogênio, tratamentos com biomoléculas extraídas de microalgas geraram impactos positivos sobre o sistema radicular, com aumento no número de raízes secundárias, na área total e no comprimento das raízes, bem como na massa fresca dessas raízes. Contudo, os mesmos efeitos não foram observados quando as plantas foram cultivadas sob alta disponibilidade de N, corroborando os resultados do presente estudo (MARTINI et al., 2021).

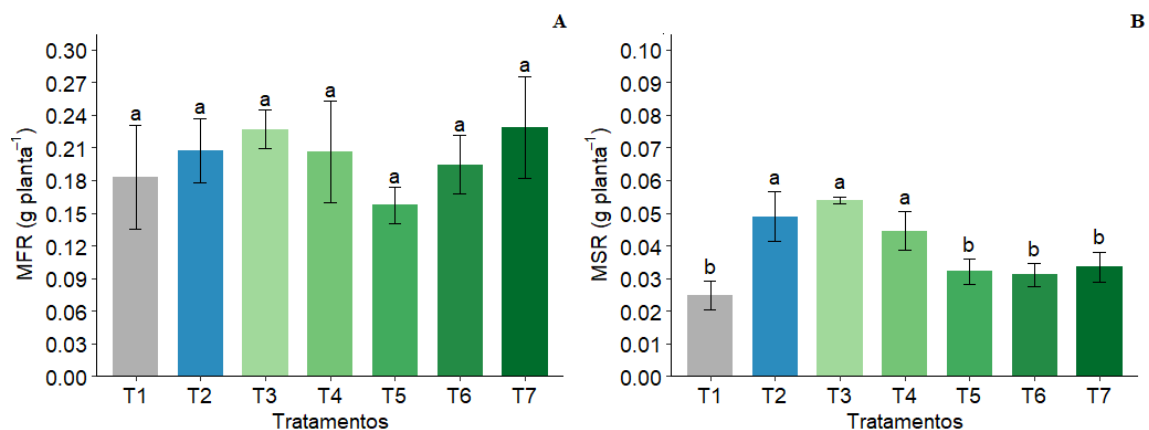


Figura 11. Efeitos de fertilizantes microalgais e fertilizante de ureia sobre a massa fresca (A) e massa seca (B) das raízes da rúcula (Scott-Knott, $\alpha = 0,05$).

No que se refere ao comprimento radicular da rúcula (CR) os valores médios encontrados variaram de 9,34 a 11,62 cm planta⁻¹, conforme verifica-se na Figura 12. A partir da análise estatística não foi possível observar diferença significativa entre os tratamentos testados, ao nível de 5% de significância.

Resultados semelhantes foram obtidos em estudo anterior realizado por Sharma et al. (2021) para a cultura do espinafre. Os autores observaram que o fornecimento de N, seja por fertilização convencional ou pela aplicação da microalga *Chlorella minutissima* de forma isolada ou em combinação com ureia, resultou em comprimentos de raiz semelhantes ao obtido pelo tratamento controle, sem nenhum tipo de adubação. Os tratamentos que tiveram fornecimento de N, as médias de CR apresentaram valores variando entre 15,21 e 17,04 cm planta⁻¹, enquanto no controle a média foi de 14,67 cm planta⁻¹. Da mesma forma, ao compararem os efeitos da aplicação de ureia, água residuária da bovinocultura e de biofertilizante de microalgas no cultivo de rúcula Dagnaisser et al. (2024) também não verificaram diferenças no comprimento das raízes após a aplicação dos tratamentos.

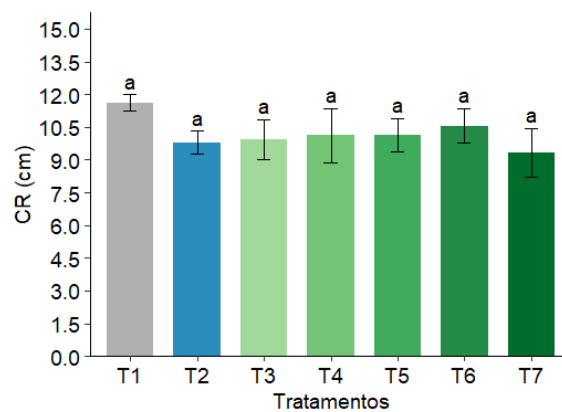


Figura 12. Efeitos de fertilizantes microalgais e fertilizante de ureia sobre o comprimento das raízes da rúcula (Scott-Knott, $\alpha = 0,05$).

3.6.2 Avaliação da composição nutricional e mineral da parte aérea da rúcula

Os resultados da avaliação da composição nutricional da parte aérea da rúcula são apresentados na Tabela 6.

Tabela 6. Efeitos de fertilizantes microalgais e fertilizante de ureia sobre os teores de proteínas, fibras, cálcio, fósforo, magnésio, sódio e potássio na parte aérea da rúcula (Scott-Knott, $\alpha = 0,05$).

Tratamentos	Proteínas	Fibras	Cálcio	Fósforo	Magnésio	Sódio	Potássio
	g kg ⁻¹						
T1	13,33 ± 0,58 c	34,67 ± 1,53 a	0,57 ± 0,06 c	0,97 ± 0,06 c	0,33 ± 0,06 c	0,27 ± 0,06 d	2,97 ± 0,06 a
T2	27,33 ± 0,58 b	30,67 ± 0,58 b	0,57 ± 0,06 c	1,03 ± 0,06 c	0,33 ± 0,06 c	1,17 ± 0,06 c	3,00 ± 0,10 a
T3	25,67 ± 0,58 b	30,67 ± 1,15 b	2,27 ± 0,06 a	1,57 ± 0,06 b	0,97 ± 0,06 b	1,10 ± 0,10 c	2,93 ± 0,15 a
T4	26,33 ± 1,15 b	29,67 ± 0,58 b	2,00 ± 0,10 a	1,63 ± 0,06 b	1,10 ± 0,10 b	1,37 ± 0,06 b	2,90 ± 0,10 a
T5	25,33 ± 0,58 b	29,00 ± 1,00 b	1,63 ± 0,42 b	1,63 ± 0,06 b	1,33 ± 0,15 a	1,60 ± 0,36 b	2,90 ± 0,10 a
T6	26,00 ± 1,00 b	29,00 ± 1,00 b	1,27 ± 0,15 b	1,83 ± 0,15 a	1,33 ± 0,15 a	2,53 ± 0,06 a	3,17 ± 0,15 a
T7	30,33 ± 0,58 a	30,33 ± 1,53 b	1,37 ± 0,32 b	2,00 ± 0,10 a	1,40 ± 0,10 a	2,23 ± 0,15 a	3,17 ± 0,15 a

Valores apresentados como média ± desvio padrão (n=3). Médias seguidas na coluna pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Os resultados indicaram que o fornecimento de nitrogênio, via ureia ou por biomassa desoleificada de microalgas, proporcionou aumentos no teor de proteínas em todos os tratamentos, quando comparados ao controle, com ausência de nitrogênio. O tratamento T7, que recebeu a maior dose de N via biofertilizante, foi o que apresentou o maior teor de proteínas dentre todos os demais, com acréscimos de 10,98% em relação ao tratamento com ureia (T2) e de 127,53% em relação ao controle (T1).

Resultados semelhantes foram observados em estudos anteriores em diferentes hortaliças. Em plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*), todos os tratamentos com polissacarídeos microalgais aumentaram significativamente o teor de proteína das plantas tratadas, em comparação com as plantas controle não tratadas (RACHIDI et al., 2021). De modo semelhante, La Bella et al. (2021) observaram que o conteúdo total de proteína em mudas de alface (*Lactuca sativa* L.) aumentou após pulverização foliar de extrato de microalgas, com ganhos de aproximadamente de 20% nos brotos e 10% nas raízes, em comparação ao controle.

Os resultados observados no presente estudo evidenciam que tanto o uso de biomassa desoleificada de microalgas quanto a adubação com ureia contribuíram significativamente para o aumento do conteúdo de proteínas na parte aérea da rúcula. Esse efeito pode ser atribuído à disponibilização de nitrogênio proporcionada pelos tratamentos, tendo em vista que esse nutriente é um dos componentes essenciais de proteínas, como de aminoácidos, ácidos nucleicos e clorofila (AZIMI; KAUR; GANDHI, 2020).

Ao avaliar os efeitos das diferentes formas de fertilização nitrogenada sobre conteúdo fibroso da parte aérea da rúcula, verificou-se que a média obtida para o tratamento T1 foi significativamente superior às demais, ao apresentar uma concentração de 34,67 g kg⁻¹. De forma semelhante, a aplicação de diferentes fontes de nitrogênio reduziu o teor de fibra bruta foliar em plantas de milho forrageiro, sendo o menor valor observado nas plantas que receberam fertilizante enquanto, o maior teor foi registrado no tratamento controle, com ausência de nitrogênio (AMIN, 2011).

Esse efeito pode estar associado ao papel do nitrogênio no metabolismo vegetal. De acordo com Faria et al. (2010), a maior disponibilidade desse nutriente favorece a síntese proteica e estimula o crescimento de tecidos novos, caracterizados por menores teores de carboidratos estruturais em sua matéria seca. Dessa forma, a redução observada no conteúdo fibroso para os tratamentos adubados está associada à formação de tecidos mais jovens.

Quando comparados ao tratamento sem adubação, o teor de cálcio na parte aérea da

rúcula foi superior em todos os tratamentos com biomassa residual, com ganhos de até 301,35%. Contudo, o mesmo comportamento não foi observado para o tratamento com fertilizante inorgânico, que não diferiu estatisticamente do controle, ao nível de 5% de significância.

De modo semelhante ao observado para o cálcio, os menores teores de P na parte aérea foram observados para os tratamentos T1 e T2, com $0,97 \text{ g kg}^{-1}$ e $1,03 \text{ g kg}^{-1}$, respectivamente. Houve aporte nos teores de fósforo nas plantas de rúcula em todos os tratamentos com uso de biofertilizantes, tanto comparados ao controle (T1) quanto ao tratamento com aplicação de ureia (T2). As maiores concentrações do nutriente foram observadas nos tratamentos que receberam as duas maiores doses de biofertilizante, com médias de $2,00$ e $1,83 \text{ g kg}^{-1}$ para os tratamentos T6 e T7, respectivamente.

De forma análoga, também foram observados acréscimos nos teores de fósforo e cálcio no capim-marandu (*Urochloa brizantha* cv. Marandu) fertilizado com uma combinação de microalgas *Scenedesmus* e *Chlorella*, em comparação às plantas fertilizadas com um fertilizante inorgânico (LORENTZ et al., 2020). Aumentos de até 564,64 – 596,72 % no teor de fósforo foram observados em brotos de trigo tratados com cultura bruta e filtrado de microalgas, em comparação com plantas não tratadas (MINAOUI et al., 2024).

Para as concentrações de magnésio na parte aérea da rúcula, foram obtidas médias superiores em todos os tratamentos utilizando biomassa desoleificada de microalgas, quando comparados aos tratamentos T1 e T2. Em especial, os tratamentos T5, T6 e T7 apresentaram os maiores teores de Mg^{2+} na parte aérea, com valores de $1,33 \text{ g kg}^{-1}$ para os tratamentos T5 e T6 e de $1,40 \text{ g kg}^{-1}$ para o T7, representando acréscimos de até 320% em relação ao tratamento controle e ao tratamento com a aplicação de N via ureia. O efeito observado com a utilização da biomassa residual como biofertilizante pode ser justificado pelo expressivo conteúdo de magnésio ($21,80 \text{ g kg}^{-1}$) presente em sua composição (Tabela 1).

De forma semelhante, em um estudo com *Brachiaria híbrida* cv. Sabiá, também foram observados aumentos nos teores de Mg^{2+} nas plantas cultivadas com uso de biomassa de microalgas, em comparação ao tratamento sem adubação (CASTRO et al., 2024). No entanto, diferentemente do que foi verificado no presente estudo, o tratamento com aplicação de ureia resultou em concentrações de Mg^{2+} superiores às obtidas para o controle.

Quanto aos teores de sódio (Na^+), foi observado que o incremento das doses de biofertilizante promoveu o acúmulo do íon nas plantas, com as maiores médias de Na^+ sendo obtidos para os tratamentos correspondentes às maiores doses de biofertilizante aplicadas,

com valores de 2,53 e 2,23 g kg⁻¹ de Na⁺ para os tratamentos T6 e T7, respectivamente. O tratamento T3, em que foi aplicada a menor dose de biofertilizante, foi significativamente igual ao tratamento com ureia (T2) e ambos, inferiores aos demais tratamentos com adubação nitrogenada via biofertilizante. O acúmulo desse íon com o aumento das doses de biofertilizante pode ser explicado pelo conteúdo expressivo de sódio contido na biomassa residual, a qual continha 3,06 g kg⁻¹ de Na⁺ em sua composição (Tabela 1).

Embora a aplicação de biomassa desoleificada de microalgas represente uma alternativa viável ao uso de fertilizantes inorgânicos, com efeitos positivos sobre diversos parâmetros nas plantas, é de suma importância monitorar o teor de Na⁺ buscando-se evitar efeitos deletérios ao solo e às culturas agrícolas. Já foi relatado que aumentos nos níveis de Na⁺ podem causar desregulação do mecanismo de abertura e fechamento dos estômatos, assim como interferir negativamente na ativação da enzima carboxilativa do ciclo de Calvin na fase bioquímica da fotossíntese, podendo ocasionar limitações na taxa fotossintética e, consequentemente menor crescimento das plantas (PRADO, 2008; CORDEIRO et al., 2019).

Ao analisar os dados referentes à concentração de potássio (K⁺) na parte aérea da rúcula, verificou-se que não houve diferença significativa entre os tratamentos utilizados, ao nível de 5% de significância. Os teores de K⁺ variaram entre 2,90 g kg⁻¹ e 3,17 g kg⁻¹. Embora os resultados não tenham indicado diferenças entre os tratamentos com biomassa residual de microalgas, foi verificado em estudo anterior que a aplicação de microalgas proporcionou um aumento significativo de aproximadamente 33% no teor de potássio em plantas de agrião (*Lepidium sativum* L.) (SADAK; ŞENSOY, 2022).

A diferença entre os resultados com o relatado na literatura pode estar relacionada à adubação complementar com 120 kg ha⁻¹ de potássio, na forma de cloreto de potássio, realizada em todos os tratamentos do estudo atual. Ao fornecer quantidades compatíveis com as exigências nutricionais da cultura para esse nutriente, sua concentração nos tecidos vegetais não se alterou mesmo com o uso de biofertilizante microalgal. Por outro lado, não foi reportada a realização de adubação complementar de K⁺ no trabalho de Sadak e Şensoy (2022), o que pode ter contribuído para evidenciar um efeito mais expressivo nas concentrações do nutriente com a aplicação de biomassa de microalgas.

3.7 CONCLUSÕES

O uso da biomassa desoleificada de microalgas como biofertilizante no cultivo de rúcula, especialmente em doses equivalentes a 100% e 150% da dose recomendada de nitrogênio (T3 e T4), proporcionou efeitos positivos sobre o comprimento, suculência, massa fresca e massa seca da parte aérea, além de aumento da área foliar e da massa seca das raízes, com resultados superiores ao controle e semelhantes à adubação com ureia.

Por outro lado, quando aplicado em doses elevadas (T5 a T7), o biofertilizante não favoreceu o desenvolvimento das plantas, apresentando resultados semelhantes aos obtidos pelo tratamento sem adubação (T1).

Não foram observadas diferenças significativas para os parâmetros diâmetro do caule, clorofila total, número de folhas, massa seca e comprimento das raízes.

Os teores de proteínas, cálcio, fósforo e magnésio na parte aérea da rúcula aumentaram significativamente com uso da biomassa desoleificada de microalgas, superando o tratamento controle e, na maioria dos casos, também a adubação com ureia.

A biomassa desoleificada de microalgas, quando aplicada em doses adequadas, apresenta-se como uma alternativa viável ao uso de fertilizantes convencionais no cultivo de rúcula.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR JUNIOR, R. A. et. al. Avaliação de alguns parâmetros de crescimento em rúcula. **Horticultura Brasileira**, v. 28, n. 2, S3970-S3974, 2010.
- ALBRECHT, L. P.; BRACCINI, A. L.; SCAPIM, C. A.; ÁVILA, M. R.; ALBRECHT, A. Biorregulador na composição química e na produtividade de grãos de soja. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 43, n. 4, p. 774-782, 2012.
- ALBRECHT, L.P.; BRACCINI, A. L.; SCAPIM, C. A.; ÁVILA, M. R.; ALBRECHT, A. J. P.; RICCI, T. T. Manejo de biorregulador nos componentes de produção e desempenho das plantas de soja. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 27, n. 6, p. 865-876, 2011.
- ALLEN, R. G. et al. Crop evapotranspiration-Guidelines for computing crop water requirements-FAO Irrigation and drainage paper 56. **Fao, Rome**, v. 300, n. 9, p. D05109, 1998.
- ALVARES, C. A. et al. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n. 6, p. 711-728, 2013.
- AMIN, M. E.-M. H. Effect of different nitrogen sources on growth, yield and quality of fodder maize (*Zea mays* L.). **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, v. 10, n. 1, p. 17-23, 2011.
- AOAC International. Official Method 2001.11. Forage (Plant Tissue), Grain, and Oilseeds Block Digestion Method Using Copper Catalyst and Steam Distillation into Boric Acid. First Action 2001, Final Action 2005.
- AOAC International. Official Method 999.11. Elements in Foods and Feeds by Flame Atomic Absorption Spectrophotometry.
- ARAÚJO, B. DE A. et al. Desenvolvimento de *Eruca Sativa* L. sob diferentes lâminas de irrigação e substratos. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada**, v. 12, n. 4, p. 2731-2739, 2018.
- AZIMI, S.; KAUR, T.; GANDHI, T. K. A deep learning approach to measure stress level in plants due to Nitrogen deficiency. **Measurement**, p. 108650, 2020.
- BARTLETT, M. S. Properties of sufficiency and statistical tests. **Proceedings of the Royal Society of London. Series A - Mathematical and Physical Sciences**, v. 160, n. 901, p. 268-282, 1937.
- BAYONA-MORCILLO, P. J. et al. Effect of the Application of Hydrolysate of *Chlorella vulgaris* Extracted by Different Techniques on the Growth of *Pelargonium × hortorum*. **Plants**, v. 11, n. 17, p. 2308, 2022.
- BENINCASA, M. M. P. Análise de crescimento de plantas: noções básicas. Jaboticabal: Funep, 2003. 41p.
- CAPORGNO, M. P. et al. Energy and Nutrients Recovery from Lipid-Extracted *Nannochloropsis* via Anaerobic Digestion and Hydrothermal Liquefaction. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 4, n. 6, p. 3133-3139, 2016.

- CASTRO, I. M. P. et al. The effects of microalgae use as a biofertilizer on soil and plant before and after its anaerobic (co-)digestion with food waste. **Science of The Total Environment**, v. 934, p. 173301, 2024.
- CHEN, T.-W. et al. Determining Ion Toxicity in Cucumber under Salinity Stress. **Agronomy**, v. 10, n. 5, p. 677, 2020.
- CHOWDHURY, H.; LOGANATHAN, B. Third-generation biofuels from microalgae: a review. **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, v. 20, p. 39–44, dez. 2019.
- CHRISTIANSEN, J.E. Irrigation by sprinkling. Berkley: University of California, 1942. 124p.
- CORDEIRO, C. J. X. et al. Cultivo de rúcula em fibra de coco utilizando solução nutritiva salinizada enriquecida com nitrato de potássio. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada**, v. 13, n. 1, p. 3212, 2019.
- DAGNAISSER, L. S. et al. Microalgae Cultivated in Cattle Wastewater as a Biofertilizer: Tests on the Production of Arugula (*Eruca vesicaria*) and the Benefits for Sustainable Agriculture. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 235, n. 11, 2024.
- DALL AGNOL, W. et al. Comportamento agronômico da cultura da soja em função de diferentes doses de bioestimulante via semente. **Ciências Agrárias: o avanço da ciência no Brasil - Volume 5**, p. 115–129, 2022.
- DASGAN, H. Y. et al. Biofertilizers Improve the Leaf Quality of Hydroponically Grown Baby Spinach (*Spinacia oleracea* L.). **Agronomy**, v. 13, n. 2, p. 575, 2023.
- DEEPIKA, P.; MUBARAKALI, D. Production and assessment of microalgal liquid fertilizer for the enhanced growth of four crop plants. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 28, p. 101701, 2020.
- DINESHKUMAR, R. et al. Microalgae as Bio-fertilizers for Rice Growth and Seed Yield Productivity. **Waste and Biomass Valorization**, v. 9, n. 5, p. 793–800, 2018.
- FARIA, A. F. G. de. **Acúmulo de forragem verde, extração de nutrientes e valor nutricional do capim-xaraés adubado com nitrogênio**. 2010. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Ciência do Solo) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Câmpus de Jaboticabal, Jaboticabal, 2010.
- GERVÁSIO, E. S.; CARVALHO, J. DE A.; SANTANA, M. J. DE. Efeito da salinidade da água de irrigação na produção da alface americana. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 4, n. 1, p. 125–128, 2000.
- HUANG, J. et al. Biodiesel production from microalgae oil catalyzed by a recombinant lipase. v. 180, p. 47–53, 2015.
- HUBNER, V. et al. Doses de boro na cultura da rúcula. **Observatório de la Economía Latinoamericana**, v. 22, n. 11, p. e7588–e7588, 5 nov. 2024.
- JUNPING, L. V. et al. Efeitos da biomassa de microalgas como biofertilizante no crescimento de pepino e comunidades microbianas na rizosfera do pepino. **Turkish Journal of Botany**, v. 44, n. 2, 2020.

KÖPPEN, W. Climatologia: con un studio de los climas de la Terra. **México: Fondo Cultural Económico**, 1948. 479p.

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.

LA BELLA, E. et al. Foliar Spray Application of *Chlorella vulgaris* Extract: Effect on the Growth of Lettuce Seedlings. **Agronomy**, v. 11, n. 2, p. 308, 2021.

LARA, G. B. DE et al. Microalga improve the growth, yield, and contents of sugar, amino acid, and protein of tomato. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 46, 2022.

LI, C. et al. The Influence of Microalgae Fertilizer on Soil Water Conservation and Soil Improvement: Yield and Quality of Potted Tomatoes. **Agronomy**, v. 14, n. 9, p. 2102–2102, 2024.

LIMA, E. J. de et al. Efeito de biofertilizante no desenvolvimento agrônomo da cultura da rúcula *Eruca sativa* Miller cv. Folha Larga. **Revista Brasileira de Gestão Ambiental e Sustentabilidade**, v. 8, n. 18, p. 559-566, 2021.

LIU, X.-Y. et al. Valorization of treated swine wastewater and generated biomass by microalgae: Their effects and salt tolerance mechanisms on wheat seedling growth. **Environmental Research**, v. 251, p. 118664–118664, 2024.

LORENTZ, J. F. et al. Microalgal biomass as a biofertilizer for pasture cultivation: Plant productivity and chemical composition. **Journal of Cleaner Production**, v. 276, p. 124130, 2020.

MARTINI, F. et al. The potential use of *Chlamydomonas reinhardtii* and *Chlorella sorokiniana* as biostimulants on maize plants. **Algal Research**, v. 60, p. 102515, 2021.

MATOS, A. T.; MATOS, M. P. **Disposição de Águas Residuárias no Solo e em Sistemas Alagados Construídos**. 1 ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2017. 371p.

MINAOUI, F. et al. Biostimulant effect of green soil microalgae *Chlorella vulgaris* suspensions on germination and growth of wheat (*Triticum aestivum* var. Achtar) and soil fertility. *Algal Research*, v. 82, p. 103655–103655, 2024.

MUBARAK, M.; SHAIJA, A.; SUCHITHRA, T. V. Flocculation: An effective way to harvest microalgae for biodiesel production. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 7, n. 4, p. 103221, 2019.

NASCIMENTO, C. S.; NASCIMENTO, C. S.; CECÍLIO FILHO, A. B. Doses and split nitrogen fertilizer applications on the productivity and quality of arugula. **Revista Caatinga**, v. 34, n. 4, p. 824–829, 2021.

NASCIMENTO, C. S.; NASCIMENTO, C. S.; CECÍLIO FILHO, A. B. N:K RATIO FOR PHENOLOGICAL GROWTH STAGES OF NET MELON CULTIVATED IN NFT HYDROPONIC SYSTEM1. **Revista Caatinga**, v. 33, n. 1, p. 108–115, 2020.

NAYAK, M.; SWAIN, D. K.; SEN, R. Strategic valorization of de-oiled microalgal biomass waste as biofertilizer for sustainable and improved agriculture of rice (*Oryza sativa* L.) crop. **Science of The Total Environment**, v. 682, p. 475–484, 2019.

- NEAG, E. et al. Advances in Biodiesel Production from Microalgae. **Energies**, v. 16, n. 3, p. 1129–1129, 2023.
- NWOKOAGBARA, E.; OLALEYE, A. K.; WANG, M. Biodiesel from microalgae: the use of multi-criteria decision analysis for strain selection. **Fuel**, v. 159, 2015.
- PRADO, R. M. Nutrição de plantas. São Paulo: UNESP, 2008. 407p.
- PROSKY, L. et al. Determination of total dietary fiber in foods and food products: collaborative study. **Journal - Association of Official Analytical Chemists**, v. 68, n. 4, p. 677–9, 1985.
- PUGLISI, I. et al. Effect of Microalgal Extracts from *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus quadricauda* on Germination of Beta vulgaris Seeds. **Plants**, v. 9, n. 6, p. 675, 2020.
- RACHIDI, F. et al. Evaluation of microalgae polysaccharides as biostimulants of tomato plant defense using metabolomics and biochemical approaches. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, 2021.
- RAFA, N. et al. Strategies to Produce Cost-Effective Third-Generation Biofuel From Microalgae. **Frontiers in Energy Research**, v. 9, 2021.
- RENUKA, N et al. Exploring the efficacy of wastewater-grown microalgal biomass as a biofertilizer for wheat. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 7, p. 6608–6620, 2016.
- SADAK, A.; ŞENSOY, S. Utilization of microalgae [*Chlorella vulgaris* Beyerinck (Beijerinck)] on plant growth and nutrient uptake of garden cress (*Lepidium sativum* L.) grown in different fertilizer applications. **International Journal of Agriculture Environment and Food Sciences**, v. 6, n. 2, p. 240–245, 2022.
- SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. An Analysis of Variance Test for Normality (Complete Samples). **Biometrika**, v. 52, n. 3/4, p. 591–611, 1965.
- SHARMA, H. S. S. et al. 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.
- SILAMBARASAN, S. et al. Removal of nutrients from domestic wastewater by microalgae coupled to lipid augmentation for biodiesel production and influence of deoiled algal biomass as biofertilizer for *Solanum lycopersicum* cultivation. **Chemosphere**, v. 268, p. 129323, 2021.
- SILVA, L. DE O. et al. Treated cattle wastewater affects the growth, quality and water productivity of *Dalbergia nigra* seedlings produced with shading and irrigation levels. **Scientia Agricola**, v. 81, 2024.
- SORGATTO, K. P.; SILVA, V. N. Embebição de sementes de salsa com *Ascophyllum nodosum*: efeitos na germinação e crescimento de plântulas sob estresse térmico. **Acta Biológica Catarinense**, v. 5, n. 3, p. 98-106, 2018.
- TEIXEIRA, P. C.; DONAGEMMA, G. K.; FONTANA, A.; TEIXEIRA, W. G. **Manual de métodos de análise de solos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2017. 230 p.

- TIAN, S.-L. et al. Effects of Chlorella extracts on growth of Capsicum annuum L. seedlings. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 15455, 2022.
- TORRES, M. B. et al. Fertigation of arugula crops grown in saline soils. **Comunicata Scientiae**, v. 15, p. e4173–e4173, 2024.
- TORRES-OLIVAR, V. et al. Role of nitrogen and nutrients in crop nutrition. **Journal of Agricultural Science and Technology B**, v. 4, n. 1B, p. 29, 2014.
- TURHAN, A. S. et al. The Effect of Use of Microalgae [Chlorella vulgaris Beyerinck (Beijerinck)] in Different Fertilizer Applications on Plant Growth of Garden Rocket (Eruca vesicaria ssp. sativa Mill.). **Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology**, v. 10, n. 2, p. 323–329, 2022.
- WICHAPHIAN, A. et al. Integrating Microalgal Chlorella Biomass and Biorefinery Residues into Sustainable Agriculture and Food Production: Insights from Lettuce Cultivation. **Foods**, v. 14, n. 5, p. 808, 2025.
- WUANG, S. C. et al. Use of Spirulina biomass produced from treatment of aquaculture wastewater as agricultural fertilizers. **Algal Research**, v. 15, p. 59–64, 2016.
- YIN, Z. et al. A comprehensive review on cultivation and harvesting of microalgae for biodiesel production: Environmental pollution control and future directions. **Bioresource Technology**, v. 301, p. 122804, 2020.

4 CAPÍTULO II

POTENCIAL BIOESTIMULANTE DA BIOMASSA DE MICROALGAS EM SEMENTES DE RÚCULA E TOMATE.

4.1 RESUMO

O uso prolongado de reguladores de crescimento sintéticos pode acarretar impactos negativos ao meio ambiente. Nesse contexto, a biomassa de microalgas tem sido considerada uma alternativa a esses produtos. Assim, o presente capítulo teve como objetivo avaliar o potencial bioestimulante de diferentes frações de biomassa de microalgas, cultivadas em efluentes de uma indústria de bioprocessos, na germinação e crescimento inicial de sementes de rúcula e tomate. Ambos os ensaios foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, com seis tratamentos: T1 – Ácido giberélico (50 mg L⁻¹ para o ensaio com rúcula e 100 mg L⁻¹ para o ensaio com tomate); T2 – Água residuária da indústria de bioprocessos; T3 – Cultura bruta da microalga *Chlorella vulgaris* cultivada em água residuária; T4 – Concentrado do cultivo microalgal; T5 – Sobrenadante do cultivo microalgal e T6 – Água destilada (controle) e quatro repetições de 25 sementes cada. As unidades experimentais foram constituídas por caixas do tipo Gerbox contendo duas folhas de papel Germitest® umedecidas com a solução correspondente a cada tratamento, na proporção de 2,5 vezes o peso do papel. As caixas foram mantidas em câmara de germinação tipo B.O.D., sob temperatura constante e fotoperíodo de 12 horas, durante 7 dias para a rúcula e 14 dias para o tomate. Foram avaliadas a primeira contagem de germinação (PCG), porcentagem de germinação (%G), o tempo médio de germinação (TMG), o índice de velocidade de germinação (IVG), o comprimento da radícula (CR) e o comprimento da parte aérea (CPA), além da massa fresca (MF) e seca (MS) das plântulas. Também foi realizada a caracterização do perfil fitormonal dos tratamentos derivados do cultivo microalgal. Os resultados foram submetidos à análise de variância e, quando significativos, as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de significância. Como resultado, nas sementes de rúcula tratadas com bioestimulantes derivados do cultivo microalgal observou-se aumentos de até 6,74% no CPA e de até 33,43% no CR, em relação ao controle. O tratamento T1 com ácido giberélico (50 mg L⁻¹) apresentou desempenho superior às microalgas apenas para o comprimento da parte aérea. Para as sementes de tomate, o tratamento T5 destacou-se com ganhos de 43,11% para MF, 36,43% no CR e 26,90% no CPA, em relação ao controle, além de apresentar o menor TMG entre todos os tratamentos. O ácido giberélico (100 mg L⁻¹) apresentou desempenho inferior ou semelhante aos tratamentos com microalgas para todos os parâmetros avaliados. Microalgas cultivadas em água residuária da indústria de bioprocessos foram capazes de produzir fitormônios importantes, entre eles as Giberelinas GA₁, GA₃, GA₄, GA₂₀ e GA₂₉, a auxina ácido indol-3-acético (IAA), as citocininas t-ZR, DHZ, iP, IPA e iPAMP e ácido abscísico (ABA). Esses resultados ressaltam o potencial de uso da biomassa de microalgas como bioestimulante em sementes, além de evidenciarem a viabilidade do aproveitamento de águas residuárias como fonte de nutrientes para seu crescimento, minimizando o descarte contribuindo para a sustentabilidade dos sistemas agrícolas.

Palavras-chave: germinação; vigor; *Chlorella vulgaris*; tratamento de sementes; giberelinas.

4.2 ABSTRACT

The prolonged use of synthetic growth regulators may lead to negative environmental impacts. In this context, microalgal biomass has been considered an alternative to such products. Thus, the present chapter aimed to evaluate the biostimulant potential of different fractions of microalgal biomass, cultivated in effluents from a bioprocessing industry, on the germination and early growth of arugula and tomato seeds. Both assays were conducted in a completely randomized design, with six treatments: T1 – Gibberellic acid (50 mg L⁻¹ for the arugula assay and 100 mg L⁻¹ for the tomato assay); T2 – Wastewater from the bioprocessing industry; T3 – Raw culture of the microalga *Chlorella vulgaris* grown in wastewater; T4 – Concentrated microalgal culture; T5 – Supernatant of the microalgal culture; and T6 – Distilled water (control), with four replications of 25 seeds each. Experimental units consisted of Gerbox-type boxes containing two sheets of Germitest© paper moistened with the solution corresponding to each treatment, in a proportion of 2.5 times the weight of the paper. The boxes were maintained in a B.O.D. germination chamber, under constant temperature and a 12-hour photoperiod, for 7 days for arugula and 14 days for tomato. The following parameters were evaluated: first germination count (FGC), germination percentage (%G), mean germination time (MGT), germination speed index (GSI), radicle length (RL), shoot length (SL), fresh mass (FM), and dry mass (DM) of seedlings. Additionally, the phytohormonal profile of the treatments derived from the microalgal culture was characterized. Results were subjected to analysis of variance, and when significant, means were compared using the Scott-Knott test at a 5% significance level. As a result, arugula seeds treated with biostimulants derived from microalgal culture showed increases of up to 6.74% in SL and up to 33.43% in RL compared to the control. Treatment T1 with gibberellic acid (50 mg L⁻¹) outperformed the microalgal treatments only for shoot length. For tomato seeds, treatment T5 stood out with gains of 43.11% in FM, 36.43% in RL, and 26.90% in SL compared to the control, in addition to presenting the lowest MGT among all treatments. Gibberellic acid (100 mg L⁻¹) showed inferior or similar performance compared to the microalgal treatments for all evaluated parameters. Microalgae cultivated in wastewater from the bioprocessing industry were able to produce important phytohormones, including gibberellins GA₁, GA₃, GA₄, GA₂₀, and GA₂₉; the auxin indole-3-acetic acid (IAA); the cytokinins t-ZR, DHZ, iP, IPA, and iPAMP; and abscisic acid (ABA). These results highlight the potential use of microalgal biomass as a seed biostimulant, while also demonstrating the feasibility of wastewater utilization as a nutrient source for microalgal growth, reducing waste and contributing to the sustainability of agricultural systems.

Keywords: germination; vigor; *Chlorella vulgaris*; seed treatment; gibberellins.

4.3 INTRODUÇÃO

Desde a década de 1930, os reguladores de crescimento vegetal vêm sendo amplamente utilizados na agricultura e horticultura, desempenhando papel importante na regulação do crescimento das plantas e na resposta à fatores ambientais (WANG; HAO, 2023). Dentre os principais reguladores, destaca-se o ácido giberélico (GA₃), um regulador de crescimento essencial em múltiplos processos fisiológicos, incluindo a germinação de sementes, alongamento do caule, extensão foliar, maturação do pólen e indução floral (CORNEA-CIPCIGAN et al., 2020).

Apesar dos benefícios associados ao uso dos reguladores de crescimento sintéticos, seu uso prolongado pode acarretar poluição ambiental e riscos à saúde (WANG; HAO, 2023). Nos últimos anos, fatores como o endurecimento das políticas agrícolas e ambientais em associação às mudanças climáticas, aumentaram a busca pela adoção de alternativas mais sustentáveis na agricultura, impulsionando a demanda por bioestimulantes naturais (LAU et al., 2022; MA; FREITAS; DIAS, 2022).

Entre os diferentes tipos de bioestimulantes naturais, os produtos à base de microalgas têm ganhado destaque ao atuarem como fontes de nutrientes e metabólitos bioativos, sendo capazes de melhorar a germinação e o crescimento das culturas agrícolas (GONZÁLEZ-PÉREZ et al., 2021; AMER CHABILI et al., 2024; MINAOUI et al., 2024). Microalgas são reconhecidas por conterem uma ampla variedade de compostos bioativos, incluindo fitormônios como auxinas, citocininas, ácido abscísico, etileno e giberelinas, responsáveis por desempenharem funções importantes no crescimento e desenvolvimento de plantas (STIRK et al., 2013; ROMANENKO et al., 2015; KANG et al., 2021).

Outra vantagem da utilização de microalgas está em sua capacidade de recuperar nutrientes de águas residuárias, especialmente nitrogênio e fósforo. Dessa forma, ao utilizar efluentes como fonte de nutrientes para o crescimento microalgal, o custo da produção de bioestimulantes pode ser reduzido (MORAIS et al., 2021; ÁLVAREZ-GONZÁLEZ et al., 2023).

Nesse sentido, foi comprovado que o uso de microalgas cultivadas em diferentes águas residuárias podem melhorar significativamente o desempenho de sementes. Diversos estudos demonstraram os efeitos positivos do uso de microalgas cultivadas em efluentes sobre o desempenho de sementes. De acordo com NAVARRO-LÓPEZ et al. (2020), a aplicação de *Scenedesmus obliquus* cultivada em efluente de cervejaria promoveu o aumento

da germinação e do crescimento de plântulas de agrião, feijão-mungo e pepino. De forma semelhante, o uso de microalgas cultivadas em águas residuárias da suinocultura aumentaram o índice de germinação de sementes de pepino em 75 a 138% (FERREIRA et al., 2021). Resultados semelhantes também foram observados em sementes de trigo após a aplicação de microalgas cultivadas em efluentes avícolas (VIEGAS; GOUVEIA; GONÇALVES, 2021).

Dada a importância dos reguladores de crescimento vegetal e considerando que o tratamento de sementes com biomassa de microalgas demonstrou efeitos positivos em diferentes culturas, a produção de bioestimulantes de microalgas produzido a partir de água residuária de uma indústria de bioprocessos pode ser uma abordagem promissora na agricultura, ao mesmo tempo em que contribui para o manejo adequado dos efluentes.

4.4 OBJETIVOS

4.4.1 Objetivo geral

Avaliar os efeitos bioestimulantes de diferentes frações obtidas a partir do cultivo da microalga *Chlorella vulgaris* sobre a germinação e desenvolvimento inicial de sementes de rúcula (*Eruca sativa* L.) e tomate (*Solanum lycopersicum* L.), como uma alternativa ao uso do regulador de crescimento sintético ácido giberélico.

4.4.2 Objetivos específicos

- a) Comparar os efeitos potencialmente bioestimulantes dos tratamentos com microalgas aos do regulador de crescimento sintético (ácido giberélico – GA₃) e do controle (água) sobre o desempenho germinativo e crescimento inicial de sementes de rúcula e tomate; e,
- b) Caracterizar o perfil fitohormonal das frações de microalgas utilizadas no tratamento de sementes.

4.5 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Bioenergia e Tecnologias Ambientais – BioTec, no Departamento de Engenharia do Instituto de Tecnologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), em Seropédica – RJ.

4.5.1 Caracterização da água residuária

A água residuária utilizada no presente experimento foi obtida de uma indústria de bioprocessos, especializada na produção de bioprodutos para o controle alternativo de pragas e doenças em plantas. A água residuária bruta foi caracterizada a partir das análises dos seguintes parâmetros: Nitrogênio Kjeldahl Total (NTK), nitrogênio amoniacal (N_{amon}), fosfato (P_2O_4), Demanda Química de Oxigênio (DQO), carbono orgânico total (COT), potássio (K), pH, condutividade elétrica (CE), salinidade e temperatura. Todas as análises foram realizadas no laboratório BioTec da UFRRJ, em conformidade com a American Public Health Association (APHA, 2017). Os valores médios para cada um dos parâmetros analisados encontram-se na Tabela 7.

Tabela 7. Composição da água residuária utilizada no cultivo da microalga *Chlorella vulgaris*.

Parâmetro	Valor
Nitrogênio Total de Kjeldahl ($mg\ L^{-1}$)	$1988,89 \pm 19,24$
Nitrogênio Amoniacal ($mg\ L^{-1}$)	$1010,99 \pm 1,17$
Fosfato ($mg\ L^{-1}$)	$82,87 \pm 0,30$
DQO ($mg\ L^{-1}$)	$142,33 \pm 0,00$
COT ($mg\ L^{-1}$)	$36,88 \pm 0,00$
Potássio ($mg\ L^{-1}$)	$1,35 \pm 0,04$
pH	$7,12 \pm 0,01$
Condutividade Elétrica ($\mu S\ cm^{-1}$)	$328,33 \pm 0,57$
Salinidade (ppm)	$164 \pm 0,00$
Temperatura ($^{\circ}C$)	$22,9 \pm 0,06$
Valores apresentados como média $\pm$ desvio padrão (n = 3)	

As concentrações de NTK, N_{amon} , P_2O_4 e K foram determinados em consonância com a metodologia do fabricante do Kit Alfakit, com as leituras das concentrações realizadas utilizando um espectrofotômetro (Hach DR 3900, Alemanha). O método colorimétrico Spectro Kit DQO Efluentes da Alfakit foi utilizado para obter a DQO (ALFAKIT, 2022), enquanto a Sonda AKSO multiparamétrica foi utilizada para determinar a salinidade, pH, temperatura e a condutividade elétrica (CE). A determinação do COT seguiu o método de correlação descrito por Bouwer e Chaney (1974).

4.5.2 Condições de cultivo

O inóculo da microalga *Chlorella vulgaris* utilizado nos ensaios foi obtido a partir do banco de cultivos do laboratório BioTec. As culturas de microalgas foram cultivadas em fotobiorreatores com capacidade total de 5 litros e volume útil de 4,5 litros. O reator foi inoculado com a microalga *Chlorella vulgaris* em uma proporção correspondente a 1/6 de seu volume útil. O volume restante do reator foi completado com o efluente caracterizado anteriormente na Tabela 7.

O cultivo foi realizado sob iluminação contínua fornecida a partir de quatro lâmpadas LED de 40 W e uma irradiância média de $73 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, conforme ilustrado na Figura 13. A agitação do meio foi realizada por um compressor de ar operando sem interrupções ao longo do período experimental. Com aeração constante, a injeção de ar do sistema pelo compressor foi realizada a uma taxa de 2 L min^{-1} .



Figura 13. Fotobiorreator utilizado no cultivo da microalga *Chlorella vulgaris*. Fonte: a autora (2025).

4.5.3 Acompanhamento do crescimento microalgal

O crescimento microalgal foi monitorado duas vezes ao dia por meio da Densidade Óptica (DO), conforme descrito por Dagnaisser et al. (2024). Ao fim da fase exponencial de crescimento, ocorrida aos 7 dias após o início, o cultivo foi finalizado e preparado para ser utilizado como bioestimulante no tratamento das sementes.

4.5.4 Descrição dos tratamentos utilizados no teste de germinação e crescimento

A descrição dos tratamentos aplicados às sementes de rúcula e tomate foi apresentada na Tabela 8:

Tabela 8. Descrição dos tratamentos empregados no experimento.

Tratamento	Descrição
T1	Ácido giberélico (50 ou 100 mg L ⁻¹ GA ₃).
T2	Água residuária da indústria de bioprocessos.
T3	Cultura bruta da microalga <i>Chlorella Vulgaris</i> cultivada em água residuária da indústria de bioprocessos.
T4	Fração concentrada obtida a partir da centrifugação da cultura microalgal bruta (T3).
T5	Sobrenadante obtido a partir da centrifugação da cultura microalgal bruta (T3).
T6	Água destilada – controle.

O tratamento T1, utilizado nas sementes de rúcula, consistiu em uma solução de concentração de 50 mg L⁻¹ de ácido giberélico, preparada a partir do produto comercial ProGibb 400®. Por se tratar de um produto não solúvel em água, na sua forma pura, foi necessário realizar uma pré-diluição em álcool etílico antes de incorporá-lo à água, conforme as recomendações de Nachtigal (2007). Para as sementes de tomate, o procedimento de preparo foi o mesmo, entretanto com concentração ajustada para 100 mg L⁻¹ de GA₃, conforme os resultados obtidos por KOSERA et al. (2015).

Por sua vez, o tratamento T2 foi constituído por água residuária. O efluente proveniente de uma indústria de bioprocessos, caracterizado anteriormente na Tabela 7, foi utilizado no presente estudo tanto como meio de cultivo para microalgas quanto aplicado diretamente como tratamento. Já o tratamento T3 foi constituído pela cultura bruta da microalga *Chlorella vulgaris* obtida ao fim da fase exponencial de crescimento.

A biomassa concentrada e o sobrenadante utilizados nos tratamentos T4 e T5 foram obtidos por meio da centrifugação do cultivo microalgal bruto (Figura 13). Para isso, parte do material foi submetido à centrifugação a 8000 rpm durante 3 minutos visando a separação do concentrado (biomassa) e do sobrenadante (Figura 14). Após esse processo, o sobrenadante (fração líquida superior) foi cuidadosamente coletado com o auxílio de uma pipeta e transferido para outro recipiente, dando origem à solução empregada no tratamento T5. Enquanto o material retido no fundo do tubo, correspondeu a biomassa concentrada utilizado no tratamento T4. O tratamento T6 foi constituído apenas por água destilada, sendo

considerado o tratamento controle.

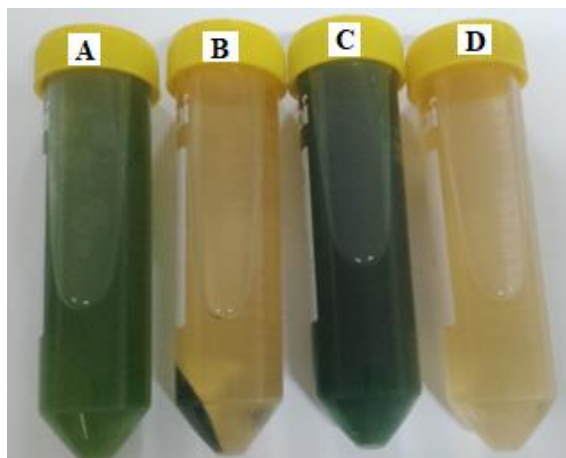


Figura 14. Biomassa microalgal antes (A) e logo após a centrifugação (B), com a obtenção das frações de concentrado (C) e sobrenadante (D). Fonte: a autora (2025).

4.5.5 Preparo dos ensaios

Ambos os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com quatro repetições de 25 sementes tanto para a rúcula (*Eruca sativa* L.) como para o tomate (*Solanum lycopersicum* L.). No total, foram utilizadas 600 sementes de cada cultura, as quais foram semeadas em caixas do tipo Gerbox.

Inicialmente, cada caixa foi forrada com duas folhas de papel Germitest© previamente esterilizados em estufa a 105 °C por 2 horas, conforme as Regras para Análises de Sementes – RAS (Brasil, 2009). Em seguida, as folhas foram umedecidas com os respectivos tratamentos (conforme a Tabela 8), na proporção de 2,5 vezes o peso do papel seco.

As sementes foram distribuídas uniformemente sobre o papel umedecido (Figura 15) e as caixas gerbox foram acondicionadas em câmara de germinação do tipo B.O.D (Biological Oxygen Demand), onde permaneceram até o término do experimento. A temperatura da B.O.D variou conforme a cultura: para a rúcula, a câmara foi mantida a 20 °C com fotoperíodo de 12 horas, enquanto a temperatura para as sementes de tomate foi de 25 °C, com o mesmo fotoperíodo utilizado para a rúcula.

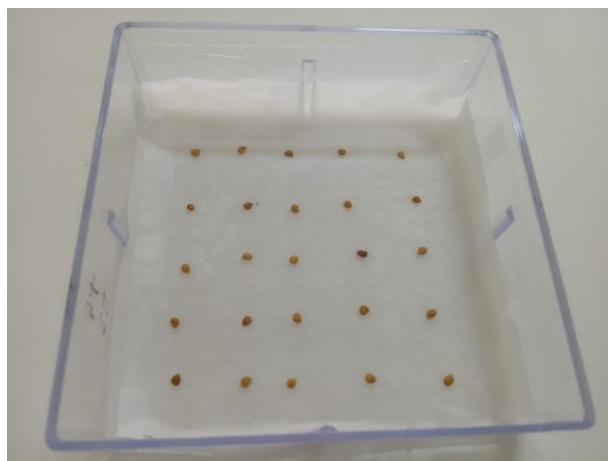


Figura 15. Montagem do ensaio com sementes de tomate. Fonte: a autora (2025).

Para os ensaios, foram utilizadas sementes de rúcula (*Eruca sativa* L.) cv. Cultivada e sementes de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) cv. Santa Cruz Kada (Paulista) adquiridas da empresa Isla®. As características das sementes apresentadas nas embalagens são: 90% de germinação e 100% de pureza para a rúcula e 90% de germinação e 99,8% de pureza para o tomate.

4.5.6 Teste de germinação e crescimento

Os seguintes parâmetros foram avaliados: primeira contagem de germinação (PCG), porcentagem de germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG) e tempo médio de germinação (TMG). Ao fim do experimento, foram avaliados ainda o comprimento da parte aérea (CPA), comprimento da radícula (CR), massa fresca (MF) e massa seca (MS) das plântulas.

4.5.6.1 Primeira contagem de germinação

A primeira contagem de germinação foi obtida no 4º dia após a instalação do teste para as sementes de rúcula e no 5º dia para as sementes de tomate. Para obtenção do parâmetro, considerou-se o número de sementes germinadas na data em relação ao número total de sementes colocadas para germinar em cada caixa gerbox.

4.5.6.2 Primeira contagem de germinação

O IVG foi obtido com base nas contagens diárias das sementes germinadas, sendo calculado conforme a equação proposta por Maguire (1962):

$$IVG = \frac{G1}{N1} + \frac{G2}{N2} + \dots + \frac{Gn}{Nn} \quad (5)$$

em que,

IVG: índice velocidade de germinação;

G1, G2, Gn: número de sementes germinadas na 1ª, 2ª até a última contagem; e,

N1, N2, Nn: número de dias da sementeira à primeira, segunda e última contagem.

4.5.6.3 Tempo Médio de Germinação

Para obtenção do TMG, foi empregada a metodologia proposta por Labouriau (1983):

$$TMG = \frac{\Sigma(niti)}{\Sigma ni} \quad (6)$$

em que,

TMG: tempo médio de germinação (dias);

ni: número de sementes germinadas por dia; e,

ti: tempo de incubação (dias).

4.5.6.4 Primeira contagem de germinação

A porcentagem final de germinação foi avaliada no 7º DAS para a rúcula e no 14º DAS para o tomate, conforme os critérios estabelecidos pela RAS (BRASIL, 2009). Para a determinação desse parâmetro, utilizou-se o método apresentado por Labouriau e Valadares (1976) a partir da Equação 7:

$$G = \frac{N}{A} \times 100 \quad (7)$$

em que,

G: porcentagem de germinação (%);

N: número de sementes germinadas; e,

A: número total de sementes no gerbox.

4.5.6.5 Comprimento da radícula (CR) e comprimento da parte aérea (CPA)

Logo após a valoração da porcentagem final de germinação (Figura 16), foi realizado o mensuramento do comprimento da radícula e da parte aérea das plântulas. Para isso, dez plântulas normais de cada uma das repetições foram cuidadosamente removidas da caixa gerbox e medidas com o auxílio *Software Image J®*. Os resultados foram expressos em cm planta⁻¹.



Figura 16. Sementes de rúcula nas caixas gerbox ao fim do período experimental. Fonte: a autora (2025).

4.5.6.6 Massa fresca

Após a medição do comprimento, as plântulas tiveram os cotilédones removidos com auxílio de uma pinça. Em seguida, as amostras foram pesadas em balança analítica com precisão de 0,001 g, permitindo a determinação das massas frescas. O valor da massa fresca obtido foi dividido pelo número de plântulas e os resultados apresentados em mg plântula⁻¹.

4.5.6.7 Massa seca

Para a determinação da massa seca, as mesmas dez plântulas foram acondicionadas em sacos de papel tipo “kraft” previamente identificados e levadas à estufa de ventilação forçada à uma temperatura de 65°C, até atingirem massa constante. Decorrido o tempo de

secagem, o material foi pesado com auxílio de uma balança analítica com precisão de 0,001 g. Assim como a massa fresca, o valor da massa seca foi expresso em mg plântula⁻¹.

4.5.6.8 Extração e detecção de fitohormônios

Com o objetivo de caracterizar os principais hormônios vegetais presentes nas soluções utilizadas nos tratamentos T3, T4 e T5, o perfil fitormonal das amostras foi analisado. A biomassa líquida foi inicialmente homogeneizada por sonificação, congelada e depois liofilizada por um período de 48 horas. Após a etapa de liofilização, o material foi moído até alcançar um estado de pó fino.

A análise do perfil fitormonal foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas em tandem de alto rendimento (UPLC-MS/MS), modelo Acquity H Class, equipado com bomba quaternária (modelo QSM), injetor automático com controle de temperatura (modelo FTN), forno para colunas, e por um espectrômetro de massas com analisador quadrupolo e tempo de voo (modelo Xevo G2-S QToF). O procedimento analítico adotado foi realizado conforme as recomendações de Delatorre et al. (2017).

Por sua vez, o método empregado foi adaptado a partir do descrito por Cao et al. (2020), utilizado para tecidos vegetais, e validado para microalgas por Rupawalla et al. (2022). Antes da injeção das amostras no UPLC-MS/MS as mesmas passaram pela etapa de purificação, conforme metodologia destacada pelos mesmos autores. Citocininas, como DHZR, DHZ, tZR, T-Zeatin, iP, iPA e iPAMP, auxina (IAA), ácido abscísico (ABA) e as giberelinas GA₁, GA₃, GA₄, GA₂₀ e GA₂₉ foram quantificadas. Cada uma das amostras foi analisada em triplicata.

4.5.7 Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e ao teste F. Atendendo as pressuposições estatísticas, pelo teste de normalidade de Shapiro-Wilk e de homocedasticidade de Bartlett. Quando verificada significância pelo teste F, as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de significância, utilizando-se o software R (versão 4.4.0).

4.6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na primeira contagem de germinação as sementes de rúcula não apresentaram diferenças significativas quanto aos tratamentos avaliados (Figura 17A). A porcentagem de sementes germinadas no 4º dia de contagem variou entre 92 e 96%. Por sua vez, para as sementes de tomate, os valores de PCG variaram entre de 77% e 89% em todos os tratamentos, com exceção do tratamento T1, que obteve o menor valor de PCG, apresentando 42,12% de sementes germinadas no 5º dia de ensaio (Figura 17B).

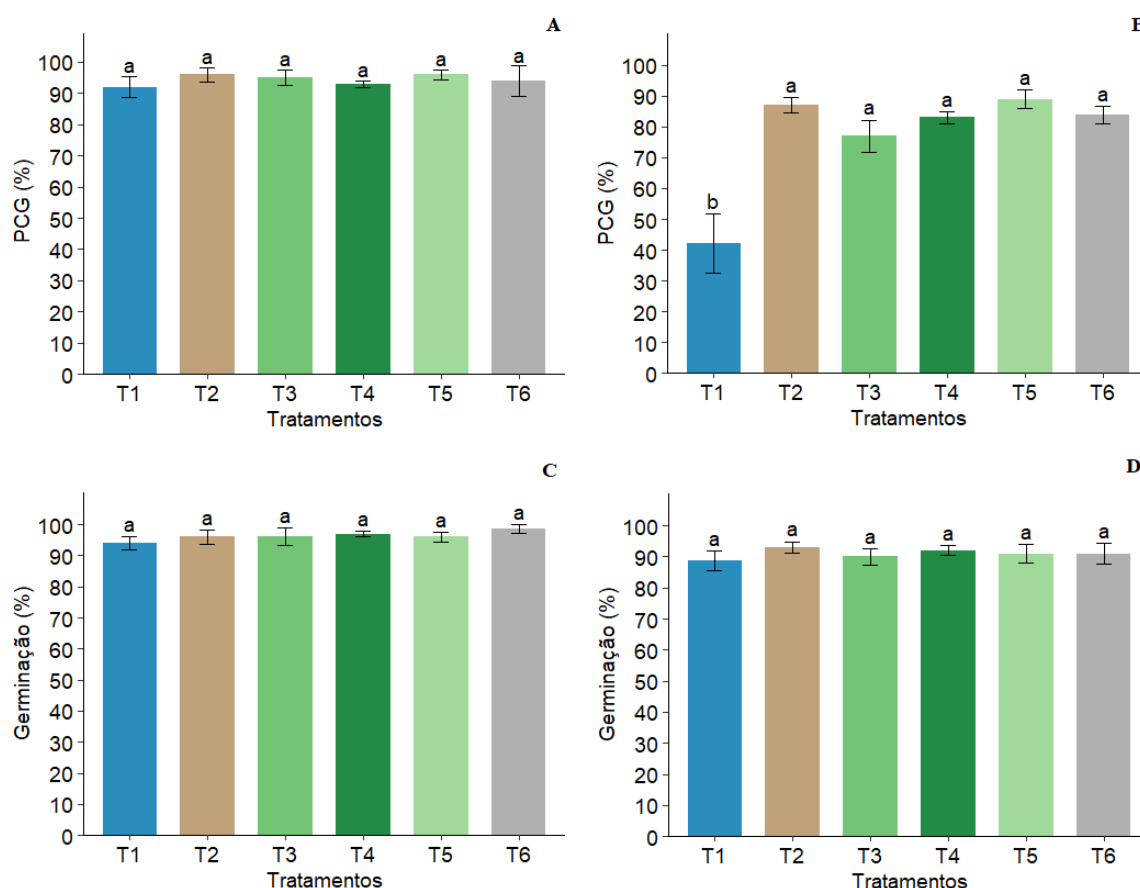


Figura 17. PCG e Porcentagem de germinação de sementes de rúcula (A e C) e tomate (B e D) submetidas a diferentes tratamentos (Scott-Knott, $\alpha = 0,05$).

Já os resultados de porcentagem final de germinação indicaram que os diferentes tratamentos não promoveram variações significativas para esse parâmetro em relação ao tratamento controle, tanto para as sementes de rúcula (Figura 17C) como para as sementes de tomate (Figura 17D). A porcentagem final de germinação variou entre 94 e 97% para a rúcula e entre 89 e 93% para o tomate.

Assim como no presente estudo, também não foram observadas diferenças

significativas na porcentagem de germinação de sementes de alface após o tratamento com microalgas, conforme observado por Ribeiro et al. (2019). No entanto, resultados diferentes foram obtidos em sementes de tomate e cevada após o uso das microalgas *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus obliquus* cultivadas em águas residuárias urbanas não tratadas. No estudo, Alling et al. (2023) avaliaram a aplicação de microalgas tanto na forma de células intactas, células rompidas e sobrenadante da colheita. Os autores concluíram que as sementes tratadas com *Chlorella vulgaris*, em particular células intactas ou sobrenadante, apresentaram acréscimos de até 25% na germinação após 2 dias e um tempo médio de germinação significativamente mais rápido em relação ao controle, evidenciando seu potencial para uso como bioestimulante.

Outros estudos também destacaram os efeitos positivos na germinação de sementes após aplicação de biomassa microalgal, com resultados positivos observados em culturas como agrião (*Lepidium sativum*), tomate (*Solanum lycopersicum*), trigo (*Triticum aestivum*), feijão (*Phaseolus vulgaris*), entre outras (NAVARRO-LÓPEZ et al., 2020; SUPRAJA et al., 2020; VIEGAS; GOUVEIA; GONÇALVES, 2021; PUENTE-PADILLA et al., 2025).

No que se refere ao tempo médio de germinação da rúcula, os maiores tempos foram observados para as sementes que receberam os tratamentos T1 e T4, correspondendo a 2,38 dias e 2,22 dias, respectivamente (Figura 18A). Em contrapartida, os TMGs obtidos para os tratamentos T2, T3, T5 não diferiram do controle (1,51 dias). Já em relação ao índice de velocidade de germinação (IVG,) os tratamentos T1 e T4 apresentaram IVG inferiores ao controle, enquanto os demais apresentaram resultados semelhantes ao controle (Figura 18C).

Em relação as sementes de tomate, o menor tempo médio necessário para a germinação foi obtido pelo tratamento T5, com 2,28 dias. Em seguida, destacou-se o tratamento T4, com um tempo de 2,71 dias enquanto os tratamentos T2 e T3 não diferiram do controle (T6). O tratamento T1 obteve o maior TMG entre todos os tratamentos, com 6,17 dias (Figura 18B). Os tratamentos T4 e T5 destacaram-se com os maiores IVG, correspondente à 10,27 e 10,65 respectivamente. Já os tratamentos T2 e T3 não diferiram do controle, enquanto o T1 apresentou média inferior a todos os demais, com um IVG igual a 3,96 (Figura 18D).

Os resultados sugerem que a aplicação do ácido giberélico na concentração de 50 mg L⁻¹ e da biomassa microalgal concentrada retardaram a germinação das sementes de rúcula. No caso das sementes de tomate, pode-se inferir que a concentração de 100 mg L⁻¹ de ácido giberélico teve efeito negativo sobre a germinação, o que pode ser corroborado pelos

menores IVGs e maiores TMGs observados para esses tratamentos.

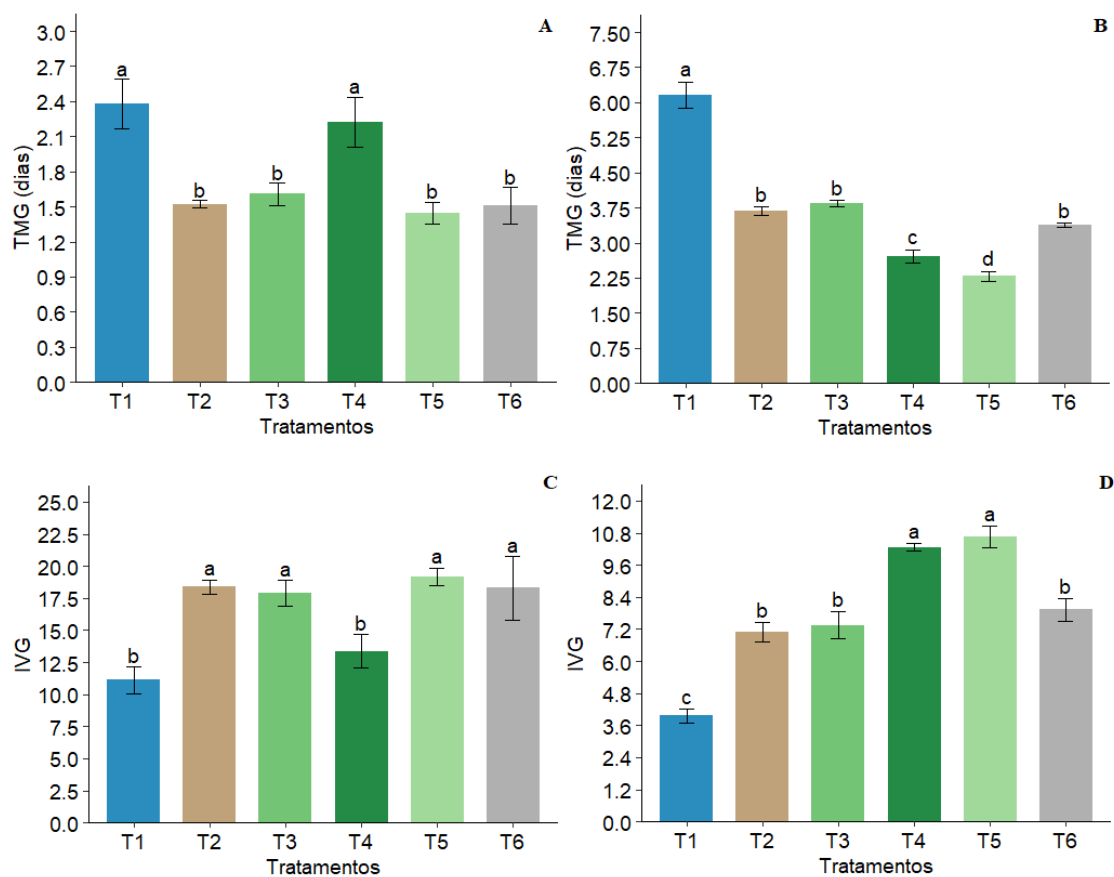


Figura 18. TMG e IVG das sementes de rúcula (A e C) e tomate (B e D), submetidas a diferentes tratamentos (Scott-Knott, $\alpha = 0,05$).

Aos 7 dias após a semeadura da rúcula, foi possível observar algumas diferenças visuais no crescimento radicular e da parte aérea entre os tratamentos (Figura 19).



Figura 19. Plântulas de rúcula aos 7 dias após a semeadura, ao fim do ensaio. Fonte: a autora (2025).

Para o comprimento da parte aérea (CPA) da rúcula, a maior média foi registrada para as sementes submetidas ao tratamento T1, com um comprimento médio de 1,89 cm (Figura 20A). Em seguida, destacaram-se os tratamentos T3, T4 e T5, cujas médias foram iguais a 1,73, 1,72 e 1,74 cm, respectivamente. Em contrapartida, o tratamento T2 (1,60 cm) não diferiu significativamente do controle (1,63 cm), ao nível de 5% de significância.

A ausência de efeito com a aplicação do tratamento T2 sobre o CPA sugere que, isoladamente, o uso da água residuária, por si só pode não ser suficiente para promover incrementos na altura das plântulas de rúcula, diferentemente dos tratamentos derivados do cultivo microalgal. Nesse sentido, a cultura bruta de microalgas, assim como o concentrado e o sobrenadante promoveram ganhos de até 6,74% na parte aérea da rúcula, quando comparados ao controle.

Nas plântulas de tomate, os tratamentos T1 e T5 promoveram os maiores valores de CPA (Figura 20B), com médias de 5,91 cm e 5,52 cm, representando acréscimos de aproximadamente 35,86% e 26,90%, respectivamente, em relação ao controle (4,35 cm). Em contrapartida, os tratamentos T2, T3 e T4 não diferiram estatisticamente do controle, ao nível de 5% de significância.

De modo semelhante, Xie et al. (2022) observaram que sementes de manjeriço tratadas com a microalga *Chlorella* sp. apresentaram incrementos de até 22% no CPA em relação ao controle. Por outro lado, no mesmo estudo, não foram observadas diferenças significativas no CPA de plântulas de tomate em comparação ao controle, embora tenha sido observado um incremento de 13% do CPA com uso da microalga. A influência de extratos

de microalgas sobre o crescimento vegetativo tem sido associada à presença de estimulantes orgânicos na biomassa microalgal, como polissacarídeos, ácidos graxos, vitaminas, aminoácidos e fitormônios (FONSECA et al., 2022).

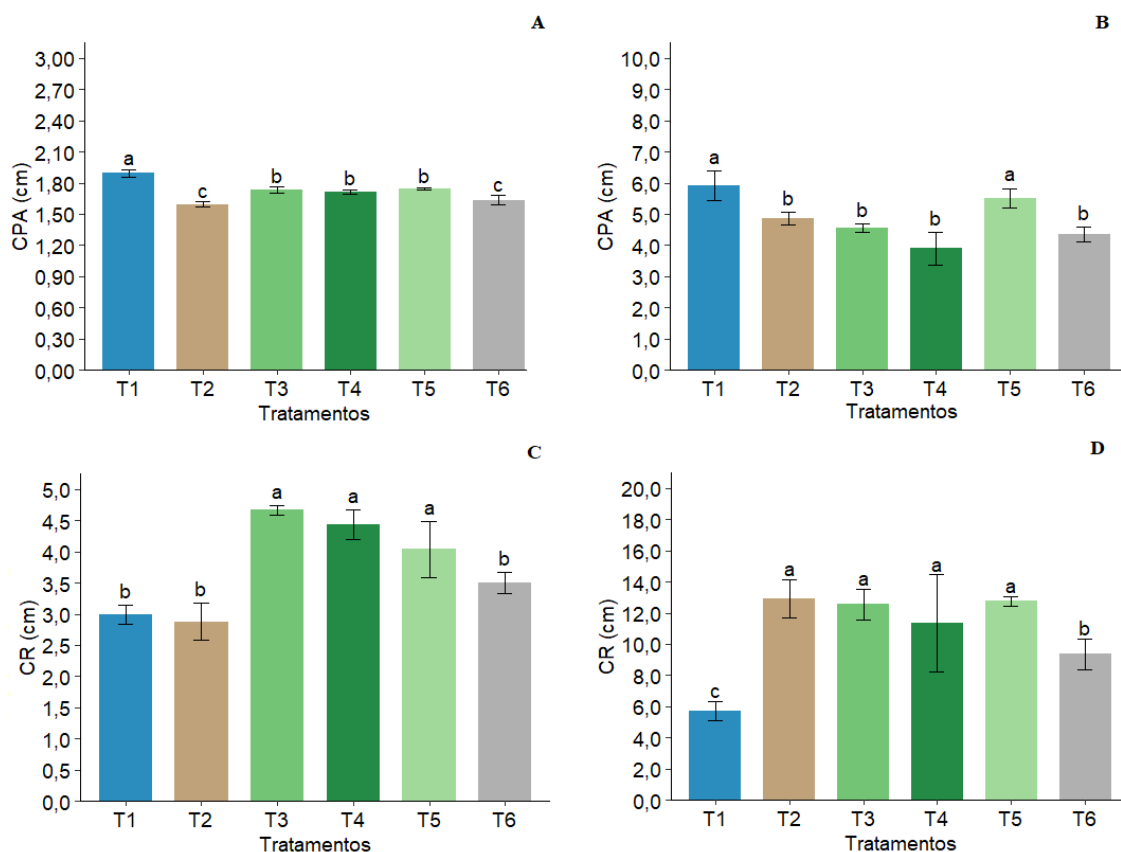


Figura 20. CPA e CR de plântulas de rúcula (A e C) e tomate (B e D) submetidas a diferentes tratamentos (Scott-Knott, $\alpha = 0,05$).

Nas plântulas de rúcula, o comprimento da radícula foi superior em sementes que receberam a microalga *Chlorella*, independente da forma aplicada: cultura bruta, concentrado ou sobrenadante (Figura 20C). Quando comparados ao controle, os tratamentos T3, T4 e T5 promoveram ganhos de 33,43%, 26,86% e 26,86%, respectivamente.

Assim como para as plântulas de rúcula, as plântulas de tomate obtiveram ganhos expressivos no comprimento radicular com os tratamentos T3, T4 e T5 (Figura 20D). Os tratamentos T2, T3, T4 e T5 resultaram em aumentos de 38,14%, 34,08%, 21,15% e 36,43% em comparação com o controle, respectivamente. Em contrapartida, foi observado um decréscimo de aproximadamente 38,78% com o uso de ácido giberélico exógeno nas raízes de tomate, em relação ao controle.

Resultados semelhantes foram obtidos por Minaoui et al. (2024), ao também verificaram que a aplicação da fração do sobrenadante da cultura de microalgas em sementes de trigo geraram acréscimos de até 27,59% no comprimento da raiz e de 11,84% no comprimento de plântulas. Em ensaios com plantas de tomate, o tratamento com extrato de *Aphanothece* sp. e *Chlorella pyrenoidosa* foram responsáveis por aumentos no comprimento das raízes de até 112,65% e 84,80%, respectivamente (MUTALE-JOAN et al. 2020). Puglisi et al. (2020) também relataram que a aplicação de biomassa da microalga *Chlorella vulgaris* em sementes de beterraba aumentaram significativamente todos os parâmetros morfológicos da raiz, em comparação ao tratamento controle.

De acordo com SANTOS et al. (2021), os efeitos positivos de extratos de microalgas sobre o crescimento radicular podem ser explicados pela provável presença de auxinas em seu conteúdo, uma vez que esse fitohormônio é responsável pelo alongamento celular e pela promoção do crescimento.

Os resultados referentes à variável massa fresca e seca encontram-se apresentados na Figura 21. Para as sementes de rúcula, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos testados (Figura 21A). A ausência de significância em relação aos tratamentos aplicados às sementes de rúcula pode estar relacionada ao menor tempo de exposição aos compostos, de apenas 7 dias.

Por outro lado, nas sementes de tomate (Figura 21B), as médias dos tratamentos T2 (35,44 mg planta⁻¹), T3 (34,42 mg planta⁻¹) e T5 (38,17 mg planta⁻¹) foram significativamente superiores às dos demais. Esses resultados representam acréscimos 32,88%, 29,05% e 43,11%, respectivamente, em relação ao tratamento controle, cuja média de MF foi de 26,67 mg planta⁻¹. Em contrapartida, as menores médias foram observadas nos tratamentos T1, T4 e T6. Esse comportamento, especialmente o observado no tratamento com o uso de biomassa concentrada (T4), pode estar relacionado à alta concentração de microalgas aplicada às sementes. Segundo Bumandalai e Tserennadmid (2019) e Ferreira et al. (2021), concentrações elevadas de microalgas podem inibir o crescimento vegetal.

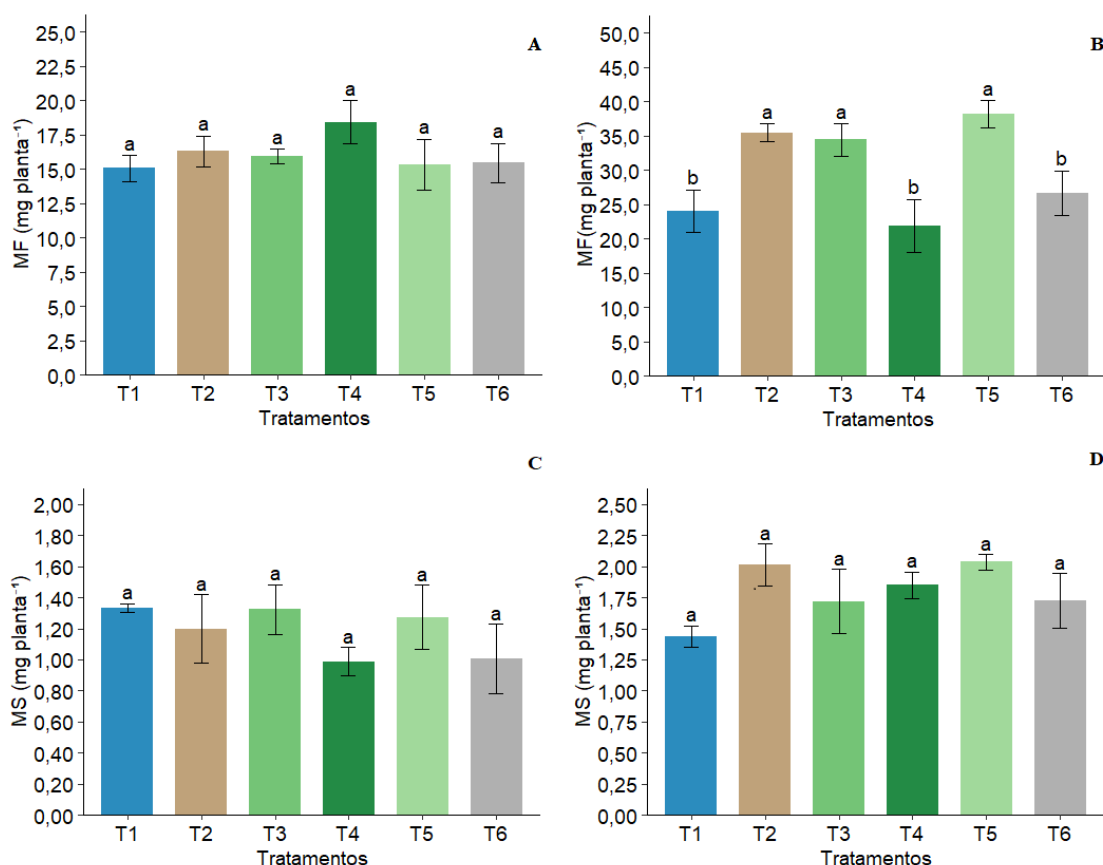


Figura 21. MF e MS de plântulas de rúcula (A e C) e tomate (B e D) submetidas a diferentes tratamentos (Scott-Knott, $\alpha = 0,05$).

A massa seca das plântulas de rúcula (Figura 21C) não foi influenciada pelos tratamentos testados, ao nível de 5% de significância. O mesmo comportamento foi observado para as plântulas de tomate (Figura 21D). Os valores de MS da rúcula variaram entre 0,99 e 1,33 mg planta⁻¹ e para o tomate entre 1,44 e 2,04 mg planta⁻¹. Apesar de estudos anteriores indicarem ganhos de massa seca com o uso de bioestimulantes de microalgas (SUPRAJA et al., 2020; RUPAWALLA et al., 2022), os resultados podem variar conforme o tipo de planta, o tempo de aplicação e o método utilizado. De acordo com Oliveira et al. (2024), esses fatores podem interferir diretamente na resposta das plantas aos tratamentos, o que pode justificar a ausência significância observada no presente estudo.

4.6.1 Perfil fitohormonal

Diferentes fitormônios foram produzidos pela microalga *Chlorella vulgaris* cultivada em água residuária da indústria de bioprocessos, conforme apresentado na Tabela 9.

Tabela 9. Perfil de fitohormonal obtido nas diferentes frações após o cultivo da microalga *Chlorella vulgaris* em água residuária da indústria de bioprocessos.

Fitohormônio	Cultivo bruto (T3)	Concentrado (T4)	Sobrenadante (T5)
Giberelinas (ng g⁻¹)			
GA₁	0,233 ± 0,058	0,533 ± 0,058	ND
GA₃	0,183 ± 0,076	0,667 ± 0,058	ND
GA₄	0,217 ± 0,076	0,517 ± 0,015	ND
GA₂₀	0,817 ± 0,076	3,667 ± 0,115	ND
GA₂₉	3,367 ± 0,208	5,733 ± 0,321	0,503 ± 0,055
Citocinas (ng g⁻¹)			
DHZR	ND	ND	ND
DHZ	ND	6,333 ± 0,577	ND
t-ZR	0,790 ± 0,036	ND	ND
t-Zeatin	ND	ND	ND
iP	13,667 ± 1,528	60,333 ± 0,577	0,417 ± 0,029
IPA	ND	6,333 ± 0,577	ND
iPAMP	3,000 ± 1,000	21,667 ± 1,528	ND
Auxinas (ng g⁻¹)			
IAA	23,000 ± 2,000	82,333 ± 2,517	0,567 ± 0,058
Demais hormônios (ng g⁻¹)			
ABA	5,000 ± 1,000	3,333 ± 0,577	0,133 ± 0,058

Valores apresentados como média ± desvio padrão (n=3). ND: não detectado.

De acordo Han et al. (2018) e Álvarez-González et al. (2023), os fitormônios se dividem em cinco grupos: giberelinas, citocinas, auxinas, ácido abscísico e etileno, podendo desempenhar papéis importantes nas respostas fisiológicas e bioquímicas das plantas, mesmo em baixas concentrações.

Entre as giberelinas pesquisadas (GA₁, GA₃, GA₄, GA₂₀, GA₂₉), todas foram identificadas no cultivo microalgal bruto e na fração concentrada. Os maiores níveis foram observados para a giberelina GA₂₉, com uma concentração média de 3,367 ± 0,208 ng g⁻¹ para o cultivo bruto e de 5,733 ± 0,321 ng g⁻¹ para a biomassa concentrada, sendo também a única giberelina detectada na fração sobrenadante, embora em baixa concentração (0,503 ± 0,055 ng g⁻¹).

Os valores verificados para a giberelina GA₂₉ encontram-se próximos aos descritos na literatura para microalga *Chlorella*, cujas concentrações variaram entre 3,7 e 6,4 ng g⁻¹,

conforme observado por STIRK et al. (2013). No mesmo estudo, os autores também detectaram outras giberelinas, incluindo GA₁, GA₃, GA₄, GA₂₀, confirmando a capacidade da microalga *Chlorella* sp. em sintetizar esses fitohormônios, assim como na presente pesquisa.

Em relação as citocinas, as maiores concentrações foram obtidas para a Isopenteniladenina (iP), com valores médios de $13,667 \pm 1,528 \text{ ng g}^{-1}$ para o cultivo bruto e $60,333 \pm 0,577 \text{ ng g}^{-1}$ para a fração concentrada. Além disso, a Ip foi a única citocina presente em todos os tratamentos, inclusive no sobrenadante. Enquanto, as citocinas Dihidrozeatina (DHZ) e Ácido Isopentenil Adenílico (IPA) foram observadas apenas na biomassa concentrada, ambas com médias de $6,333 \pm 0,577 \text{ ng g}^{-1}$. Já a citocina Trans-zeatina ribosídeo (t-ZR), foi identificada exclusivamente no cultivo bruto, a $0,790 \pm 0,036 \text{ ng g}^{-1}$.

Não foram detectados níveis das citocinas Dihidrozeatina ribosídeo (DHZR) e Trans-zeatina (t-Zeatin) em nenhum dos tratamentos. De forma semelhante, t- Zeatin também não foi detectada em *Scenedesmus* sp, enquanto DHZR foi observada em baixas concentrações (RUPAWALLA et al., 2022). Citocininas são fitormônios fundamentais em diversos processos de desenvolvimento das plantas, pois atuam na diferenciação de brotos, divisão celular, mobilização de nutrientes, desenvolvimento fotomorfogênico, biogênese de cloroplastos, dominância apical e diferenciação vascular (FAHAD et al., 2015; PARMAR et al., 2023).

No grupo das auxinas, o ácido indol-3-acético (IAA) foi identificado em todos os tratamentos, com valores médios de $23,000 \pm 2,000 \text{ ng g}^{-1}$, $82,333 \pm 2,517 \text{ ng g}^{-1}$ e $0,133 \pm 0,058 \text{ ng g}^{-1}$ para o cultivo bruto, biomassa concentrada e sobrenadante, respectivamente. Assim como ocorreu para a cultura bruta e para o concentrado, o IAA também foi o fitormônio encontrado em maior teor no estudo de Álvarez-González et al. (2023). Os autores supracitados identificaram conteúdos de IAA variando entre 62 e 70 ng g^{-1} em cepas das microalgas *Synechocystis* sp., *Phormidium* sp. e *Scenedesmus* sp. cultivadas em águas residuárias urbanas.

O IAA é considerado um dos hormônios vegetais mais importantes na regulação do crescimento e desenvolvimento vegetal, atuando na morfogênese de brotos e raízes e em seu alongamento (SAINI et al., 2021; MA et al., 2022). Nesse sentido, a presença de IAA verificada no presente estudo reforça a hipótese de que o crescimento expressivo das raízes após aplicação dos extratos de microalgas foi potencialmente favorecido pela presença de auxinas em seu conteúdo.

Quanto ao ácido abscísico (ABA), foi identificada a presença desse fitormônio nos três tratamentos, em concentrações médias de $5,000 \pm 1,000 \text{ ng g}^{-1}$ para o cultivo bruto, $3,333 \pm 0,577 \text{ ng g}^{-1}$ para o concentrado e de apenas $0,133 \pm 0,058 \text{ ng g}^{-1}$ no sobrenadante. Estudos anteriores também relataram a presença de ABA em extratos microalgais. Álvarez-González et al. (2023) encontraram teores de ABA variando na faixa entre 0,869 e 2,365 ng g^{-1} para diferentes cepas microalgais. Valores semelhantes também foram registrados por Bajguz (2009) para a microalga *Chlorella* sp. ($1,25 \text{ ng g}^{-1}$) e por Rupawalla et al. (2022) para a espécie *Scenedesmus* (1 ng g^{-1}).

4.7 CONCLUSÕES

O presente estudo demonstrou que a aplicação das diferentes frações de biomassa da microalga *Chlorella vulgaris* apresentou potencial bioestimulante sobre as sementes de rúcula e de tomate, atuando como uma alternativa ao uso do regulador de crescimento sintético GA₃.

Nas sementes de rúcula, embora não tenham sido observadas diferenças significativas para germinação, as frações da biomassa de microalgas favoreceram principalmente o crescimento radicular, enquanto o GA₃ (50 mg L^{-1}) apresentou desempenho superior apenas para o comprimento da parte aérea.

Para as sementes de tomate, destacou-se o tratamento com a fração sobrenadante (T5), que proporcionou incrementos na massa fresca, no comprimento radicular, comprimento da parte aérea, além de promover uma germinação mais rápida em comparação ao controle. Por sua vez, o tratamento com GA₃ (100 mg L^{-1}) apresentou uma germinação mais lenta, conforme seu TMG e IVG.

Além disso, microalgas cultivadas em água residuária da indústria de bioprocessos foram capazes de produzir as principais giberelinas, citocinas, IAA e ABA, demonstrando seu potencial como bioestimulante alternativo e ambientalmente sustentável.

REFERÊNCIAS

- ALFAKIT. Início – Produtos – Kits – Kits individuais - Parte 1 – DQO – Spectro Kit DQO Efluentes. Disponível: Acesso: 2024.
- ALLING, T.; FUNK, C.; GENTILI, F. G. Nordic microalgae produce biostimulant for the germination of tomato and barley seeds. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 3509, 2023.
- ÁLVAREZ-GONZÁLEZ, A. et al. Enhancing sustainability through microalgae cultivation in urban wastewater for biostimulant production and nutrient recovery. **Science of the total environment**, v. 904, p. 166878–166878, 2023.
- AMER CHABILI et al. A Comprehensive Review of Microalgae and Cyanobacteria-Based Biostimulants for Agriculture Uses. **Plants**, v. 13, n. 2, p. 159–159, 2024.
- APHA. American Public Health Association. **Standard methods for examination of water and wastewater**, 23rd edn. APHA, AWWA, WPCF, Washington, 2017.
- BAJGUZ, A. Brassinosteroid enhanced the level of abscisic acid in *Chlorella vulgaris* subjected to short-term heat stress. **Journal of plant physiology**, v. 166, n. 8, p. 882-886, 2009.
- BOUWER, H.; CHANEY, R. L. Land Treatment of Wastewater. **Advances in agronomy**, p. 133–176, 1974.
- 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.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF: MAPA/ACS, 2009.
- CAO, D.; BARBIER, F.; YONEYAMA, K.; BEVERIDGE, C. A. A rapid method for quantifying RNA and phytohormones from a small amount of plant tissue. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, p. 605069, 2020.
- CORNEA-CIPCIGAN, M. et al. Gibberellic Acid Can Improve Seed Germination and Ornamental Quality of Selected Cyclamen Species Grown Under Short and Long Days. **Agronomy**, v. 10, n. 4, p. 516, 2020.
- DELATORRE, C.; RODRÍGUEZ, A.; RODRÍGUEZ, L.; MAJADA, J. P.; ORDÁS, R. J.; FEITO, I. Hormonal profiling: development of a simple method to extract and quantify phytohormones in complex matrices by UHPLC–MS/MS. **Journal of Chromatography B**, v. 1040, p. 239-249, 2017.
- FAHAD, Shah et al. Phytohormones and plant responses to salinity stress: a review. **Plant growth regulation**, v. 75, p. 391-404, 2015.
- FERREIRA, A. et al. Biostimulant and biopesticide potential of microalgae growing in piggy wastewater. **Environmental Advances**, v. 4, p. 100062, 2021.
- FONSECA, Y. B. T. et al. Effect of the seed coating with biomass of *Dunaliella salina* on early plant growth and in the secondary metabolites content of *Coriandrum sativum*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 94, n. 4, 2022.

- GONZÁLEZ-PÉREZ, B. K. et al. Microalgae as biostimulants: a new approach in agriculture. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 38, n. 1, 2021.
- HAN, X. et al. Phytohormones and Effects on Growth and Metabolites of Microalgae: A Review. **Fermentation**, v. 4, n. 2, p. 25, 2018.
- KANG, Y. et al. Potential of Algae–Bacteria Synergistic Effects on Vegetable Production. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, 2021.
- KOSERA, C. et al. Métodos para superação de dormência em sementes de tomateiro arbóreo (*Solanum betaceum*). **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 45, n. 4, p. 420-425, 2015.
- LABOURIAU, L. G. **A germinação das sementes**. Washington, DC: Secretaria Geral da Organização dos Estados Americanos, 1983.
- LABOURIAU, L. G.; VALADARES, M. B. On the germination of seeds of *Calotropis procera*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 48, p. 174–186, 1976.
- LAU, S.-E. et al. Microbiome engineering and plant biostimulants for sustainable crop improvement and mitigation of biotic and abiotic stresses. **Discover Food**, v. 2, n. 1, 2022.
- MA, C. et al. IAA Plays an Important Role in Alkaline Stress Tolerance by Modulating Root Development and ROS Detoxifying Systems in Rice Plants. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 23, p. 14817–14817, 2022.
- MA, Y.; FREITAS, H.; DIAS, M. C. Strategies and prospects for biostimulants to alleviate abiotic stress in plants. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, 2022.
- MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Proceedings of the International Seed Testing Association**, v. 27, n. 1, p. 176–177, 1962.
- MINAUI, F. et al. Biostimulant effect of green soil microalgae *Chlorella vulgaris* suspensions on germination and growth of wheat (*Triticum aestivum* var. Achtar) and soil fertility. **Algal Research**, v. 82, p. 103655–103655, 2024.
- MORAIS, E. G. et al. Microalgal Systems for Wastewater Treatment: Technological Trends and Challenges towards Waste Recovery. **Energies**, v. 14, n. 23, p. 8112, 2021.
- MUTALE-JOAN, C. et al. Screening of microalgae liquid extracts for their bio stimulant properties on plant growth, nutrient uptake and metabolite profile of *Solanum lycopersicum* L. **Scientific reports**, v. 10, n. 1, p. 2820, 2020.
- NACHTIGAL, J. C. **BRS Clara: recomendações para o cultivo no Rio Grande do Sul**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2007. 8p. (Comunicado Técnico, 74).
- NAVARRO-LÓPEZ, E. et al. Biostimulant Potential of *Scenedesmus obliquus* Grown in Brewery Wastewater. **Molecules**, v. 25, n. 3, p. 664, 2020.
- OLIVEIRA, R. A.; JUNQUEIRA, D. I.; FERREIRA, R. Biofertilizante à base de microalgas testado na germinação de sementes de *Lactuca sativa* L. (alface americana). **Acta Biologica Brasiliensia**, v. 7, n. 2, p. 151–168, 2024.

- PARMAR, P. et al. Microalgae as next generation plant growth additives: Functions, applications, challenges and circular bioeconomy based solutions. **Frontiers in Plant Science**, v. 14, 2023.
- PUENTE-PADILLA, B. L. et al. Effect of Marine Microalgae Biomass (*Nannochloropsis gaditana* and *Thalassiosira* sp.) on Germination and Vigor on Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Seeds “Higuera”. **Life (Basel, Switzerland)**, v. 15, n. 3, p. 386, 2025.
- RIBEIRO, D. M. et al. Effect of different culture media on growth of *Chlorella sorokiniana* and the influence of microalgal effluents on the germination of lettuce seeds. **J Appl Biol Biotechnol**, v. 7, n. 1, p. 6-10, 2019.
- ROMANENKO, E. A. et al. Phytohormones of microalgae: biological role and involvement in the regulation of physiological processes. Pt I. Auxins, abscisic acid, ethylene. **International Journal on Algae**, v. 17, n. 3, 2015.
- 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, p. 102784, 2022.
- SAINI, S. et al. Morphological Analysis, Protein Profiling and Expression Analysis of Auxin Homeostasis Genes of Roots of Two Contrasting Cultivars of Rice Provide Inputs on Mechanisms Involved in Rice Adaptation towards Salinity Stress. **Plants**, v. 10, n. 8, p. 1544, 2021.
- SANTOS, N. H. S. DOS et al. 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, 2021.
- STIRK, W. A. et al. Hormone profiles in microalgae: Gibberellins and brassinosteroids. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 70, p. 348–353, 2013.
- SUPRAJA, K. V.; BEHERA, B.; BALASUBRAMANIAN, P. Efficacy of microalgal extracts as biostimulants through seed treatment and foliar spray for tomato cultivation. **Industrial crops and products**, v. 151, p. 112453, 2020.
- SUPRAJA, K. V.; BEHERA, B.; BALASUBRAMANIAN, P. Efficacy of microalgal extracts as biostimulants through seed treatment and foliar spray for tomato cultivation. **Industrial crops and products**, v. 151, p. 112453, 2020.
- VIEGAS, C.; GOUVEIA, L.; GONÇALVES, M. Aquaculture wastewater treatment through microalgal. Biomass potential applications on animal feed, agriculture, and energy. **Journal of Environmental Management**, v. 286, p. 112187, 2021.
- VIEGAS, C.; GOUVEIA, L.; GONÇALVES, M. Evaluation of microalgae as bioremediation agent for poultry effluent and biostimulant for germination. **Environmental Technology & Innovation**, v. 24, p. 102048, 2021.
- WANG, X.; HAO, W. Reproductive and developmental toxicity of plant growth regulators in humans and animals. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 196, p. 105640, 2023.
- XIE, R. et al. The Effects of Microalgae as a Biostimulant on Seed Germination. **Proc. Int. Plant Propagators’ Soc**, v. 72, p. 119-126, 2022.

5 CONCLUSÕES GERAIS

Conclui-se que a biomassa de microalgas possui potencial para ser utilizada tanto como biofertilizante quanto como bioestimulante em culturas hortícolas. O biofertilizante à base de biomassa desoleificada, aplicado em doses adequadas, proporcionou desempenho semelhante ao da ureia em todos os parâmetros de crescimento da rúcula, demonstrando seu potencial como fonte alternativa de N para essa cultura. Além disso, o biofertilizante também demonstrou capacidade de promover incrementos nos teores de proteínas, cálcio, fósforo e magnésio na parte aérea das plantas.

Quando empregadas no tratamento de sementes, também foram observados resultados positivos, com destaque para o sobrenadante da cultura de microalgas que foi capaz de gerar aumentos de até 43% na massa fresca e de até 36% no comprimento das raízes do tomate. As microalgas também foram capazes de sintetizar diferentes fitormônios importantes para o desenvolvimento de plantas.

Os resultados obtidos nesta pesquisa demonstram que a diversidade de aplicações das microalgas pode favorecer a economia circular, uma vez que tanto o sobrenadante quanto a biomassa gerados ao fim do cultivo podem ser aproveitados. O sobrenadante possui potencial para ser utilizado no tratamento de sementes, enquanto a biomassa pode ser destinada a outros fins, como a produção de biodiesel e, posteriormente, seus resíduos podem ser reaproveitados como biofertilizante, permitindo o aproveitamento integral da biomassa e a redução de desperdícios.