

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM GESTÃO E TECNOLOGIA AMBIENTAL

ELINE SCHMIDT LIMONS

**EXTRATOS HIDROLISADOS DE BIOMASSA DE *Chlorella* sp. COMO
BIOESTIMULANTE PARA SEMENTES**

Santa Cruz do Sul

2024

ELINE SCHMIDT LIMONS

**EXTRATOS HIDROLISADOS DE BIOMASSA DE *Chlorella* sp. COMO
BIOESTIMULANTE PARA SEMENTES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Ambiental – Mestrado, Universidade de Santa Cruz do Sul – UNISC, como requisito parcial para o título de Mestre em Tecnologia Ambiental.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Rosana de Cassia de Souza Schneider

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Lisianne Brittes Benitez

Santa Cruz do Sul

2024

Dedico esta dissertação aos meus amados pais, Paulo e Vanete, pelo amor e incentivo que permearam minha jornada até aqui. Sempre apoiaram as minhas escolhas, lutaram e torceram comigo para o êxito em cada uma delas. Muito obrigada pelo suporte que sempre tive desde o início da minha vida.

Vocês são meus maiores exemplos, meu maior orgulho e meus maiores incentivadores.

AGRADECIMENTOS

Agradeço profundamente à CAPES, UNISC e ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Ambiental pela inestimável oportunidade de realizar o mestrado, assim como pelo enriquecedor aprendizado ao longo desses dois anos de curso. Minha gratidão se estende à minha orientadora, Prof.^a Dra. Rosana de Cassia de Souza Schneider, pela sua inigualável disponibilidade, orientação precisa e apoio constante ao longo deste trabalho. À Prof.^a Dra. Lisianne Brittes Benitez, minha coorientadora, expressei meu agradecimento pela valiosa ajuda e incentivo fornecidos para a concretização deste projeto. Agradeço imensamente a Alessandra de Oliveira Machado e Claudio Luiz Mayer da Brazil Seed Tech, bem como à Dra. Michele Hoeltz da Inoculla Tech, por serem parceiras fundamentais na obtenção dos resultados, compartilhando seus conhecimentos essenciais para a elaboração deste trabalho e por disponibilizarem tempo e o espaço para o andamento da pesquisa. Não posso deixar de mencionar o SESI, meu local de trabalho, e expressar minha gratidão aos meu gestor, Fábio Trojhan, e, sobretudo, à minha equipe, que demonstraram generosidade e compreensão diante das minhas ausências. À colega e amiga Francielle Meinhard, agradeço sinceramente por sua acolhida em sua casa, pela amizade dedicada, pelas preciosas dicas, companheirismo e pelo compartilhamento generoso de seu conhecimento, sendo um conforto nos momentos desafiadores. Por último, e mais significativo, quero expressar minha profunda gratidão à minha família e ao meu querido namorado, Jardel Bisolo, por seu apoio incansável ao longo de todo o período do mestrado. Seu suporte foi meu alicerce para completar essa importante etapa, compreendendo e incentivando nos momentos de ausência. Aos meus pais, Paulo e Vanete, meu agradecimento especial por serem a base da minha educação, por acreditarem sempre em mim e por mostrarem que o caminho do sucesso é trilhado com estudo e dedicação.

RESUMO

O aumento pela demanda de alimentos é proporcional ao crescimento populacional, o que nos leva a buscar novas tecnologias que visam aprimorar as técnicas no cultivo de alimentos, com foco em mais resistência aos estresses bióticos e abióticos, gerando uma maior produtividade na lavoura com menores perdas, desde o plantio até a colheita. No entanto, a maioria dos insumos utilizados acabam tendo um impacto negativo ao meio ambiente, prejudicando e contaminando o solo, água e o ar, além de carregar para a mesa do consumidor substâncias nocivas à saúde humana. Diante desse contexto, a necessidade de garantir segurança alimentar e promover práticas agrícolas sustentáveis motiva o desenvolvimento de bioinsumos, ao mesmo tempo em que sejam ambientalmente amigáveis. Neste sentido, este estudo teve como objetivo desenvolver bioestimulantes a base da microalga *Chlorella* sp. por hidrólise ácida. A avaliação do potencial bioestimulante ocorreu mediante a análise da germinação de sementes de alface e cebola, realizada tanto em laboratório quanto em casa de germinação. A caracterização dos bioestimulantes foi realizada quanto ao potencial antioxidante, perfil de carboidratos, perfil de aminoácidos, efeito análogo ao de fitormônios, teor lipídico e presença de metais. Os resultados evidenciaram que, em comparação com o grupo de controle (tratado apenas com água), os hidrolisados preparados com ácido sulfúrico nas concentrações de 0,25% e 0,75% e igualmente diluídos à 15%, apresentaram os melhores resultados no processo de germinação de sementes de alface. A germinação de sementes de cebola não apresentaram melhores resultados na germinação do que o controle (água). Os hidrolisados, apresentaram compostos como monossacarídeos, lipídios, aminoácidos e compostos orgânicos voláteis, que podem ser cruciais para o desenvolvimento das plantas e sua resistência a estresses. Portanto, conclui-se que o hidrolisado da microalga *Chlorella* sp. tem potencial bioestimulante para sementes de alface.

Palavras-chave: *Chlorella* sp., biomassa, microalgas, bioestimulante, germinação de sementes.

ABSTRACT

The increasing demand for food is proportional to population growth, leading us to seek new technologies aimed at enhancing techniques in food cultivation, focusing on greater resistance to biotic and abiotic stresses, resulting in higher crop productivity with reduced losses from planting to harvesting. However, most inputs used end up having a negative impact on the environment, harming and contaminating soil, water, and air, besides carrying harmful substances to human health to the consumer's table. In this context, the need to ensure food security and promote sustainable agricultural practices motivates the development of bioinputs, while also being environmentally friendly. In this regard, this study aimed to develop bio-stimulants based on the microalgae *Chlorella* sp. through acid hydrolysis. The evaluation of the bio-stimulant potential occurred through the analysis of lettuce and onion seed germination, carried out both in the laboratory and in a germination chamber. The characterization of the bio-stimulants was performed regarding antioxidant potential, carbohydrate profile, amino acid profile, hormone-like effect, lipid content, and presence of metals. The results showed that, compared to the control group (treated only with water), the hydrolysates prepared with sulfuric acid at concentrations of 0.25% and 0.75% and equally diluted to 15% showed the best results in the lettuce seed germination process. The germination of onion seeds did not show better results than the control (water). The hydrolysates presented compounds such as monosaccharides, lipids, amino acids, and volatile organic compounds, which may be crucial for plant development and their resistance to stresses. Therefore, it is concluded that the *Chlorella* sp. microalgae hydrolysate has bio-stimulant potential for lettuce seeds.

Keywords: *Chlorella* sp., biomass, microalgae, biostimulant, seed germination.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Fluxograma que representa as etapas da pesquisa24
- Figura 2. Mapa de identificação de palavras presentes nos documentos analisados considerando a pesquisa de “biostimulant” ou “biofertilizer” e “germination” e “microalgae”, sendo destacado em A) aspectos ambientais, em B) biomassa e composição, e em C) bioestimulação e biofertilização.30
- Figura 3. Resultados relativos a protusão de radícula no primeiro dia (A) e abertura dos cotilédones no quarto dia (B) e a massa das plântulas após uma semana (C).....66
- Figura 4. Registro fotográfico após a coleta e transporte das mudas de alface que foram retiradas da fibra de coco, lavadas, transportadas para o laboratório e pesadas.....67
- Figura 5. Registro fotográfico após a coleta e transporte das mudas de cebola que foram retiradas da fibra de coco, lavadas, transportadas e pesadas.71
- Figura 6. Índice de germinação semente de alface e cebola nos tratamentos com os hidrolisados e ácido giberélico comercial e em comparação com índice de germinação obtido com a água.....71
- Figura 7. (A) Ganho de massa fresca dos cotilédones de pepino com relação aos tratamentos com hidrolisados para avaliar o efeito comparado a citocinina BAP e (B) Número de raízes formadas com relação aos tratamentos com hidrolisados comparado a auxina IBA.72
- Figura 8. Perfil de aminoácidos dos extratos hidrolisados do estudo E3, onde: 1) L-Alanina, 2) Glicina, 3) L-Valina, 4) L-Leucina, 5) Isoleucina, 6) L-Prolina, 7) L-Metionina, 8) L-Serina, 9) L-Treonina, 10) L-Fenilalanina, 11) Ácido L-Aspártico, 12) Hidroxiprolina, 13) L-Cisteína, 14) Ácido L-Glutâmico, 15) L-Arginina, 16) L-Asparagina; 17) L-Lisina, 18) L-Glutamina, 19) L-Cistina, 20) L-Histidina, 21) L-Tirosina, 22) L-Triptofano.74
- Figura 9. Compostos orgânicos voláteis presentes na amostra com similaridade com a biblioteca Nist 17 superior a 80%.75
- Figura 10. Potencial antioxidante dos extratos nas concentrações aplicadas as sementes, comparado ao potencial do Trolox.76
- Figura 11. Monossacarídeos presentes nos hidrolisados do planejamento 3.....77

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Estudos publicados nos últimos 5 anos sobre a ação bioestimulantes de microalgas no cultivo de diferentes culturas.....	31
Tabela 2.	Microalgas testadas na etapa de germinação ou como biofertilizante para plantas de acordo com a pesquisa dos últimos 10 anos.	37
Tabela 3.	Condições experimentais de produção dos hidrolisados.....	57
Tabela 4.	Observações durante o teste de germinação de sementes de alface, ao longo de um período de 7 dias, nos planejamentos 1 e 2, tratadas com diferentes formulações de hidrolisados à base de biomassa de microalga <i>Chlorella</i> sp., elaboradas com distintas concentrações e diluições. Notações: N = normais, A = anormais.	62
Tabela 5.	Pesagem das plântulas de alface cultivadas em fibra de coco.....	68
Tabela 6.	Observações durante o teste de germinação de sementes de cebola, ao longo de um período de 12 dias, nos estudos E1 e E2, tratadas com diferentes formulações de hidrolisados à base de biomassa de microalga <i>Chlorella</i> sp., elaboradas com distintas concentrações e diluições. Notações: N = normais, A = anormais e M = mortas.....	69
Tabela 7.	Metais solubilizados no extrato hidrolisado de biomassa de <i>Chlorella</i> sp.	73

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	12
2	OBJETIVOS.....	15
2.1	<i>Objetivo Geral.....</i>	<i>15</i>
2.2	<i>Objetivos específicos.....</i>	<i>15</i>
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	17
3.1	<i>Desafios na agricultura e impactos ambientais.....</i>	<i>17</i>
3.1.1	Benefícios ambientais do uso de bioestimulantes de microalgas na agricultura.....	18
3.2	<i>A influência dos bioestimulantes na germinação das sementes e no desenvolvimento das plantas.....</i>	<i>19</i>
3.3	<i>As microalgas e seus compostos bioestimulantes.....</i>	<i>21</i>
4	METODOLOGIA.....	23
5	ARTIGO 1 – MICROALGAS E SEU POTENCIAL BIOESTIMULANTE NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES: UMA REVISÃO	25
5.1	RESUMO	<i>Erro! Indicador não definido.</i>
5.2	INTRODUÇÃO	26
5.3	METODOLOGIA	29
5.4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	30
5.4.1	Uma abordagem sobre as tecnologias de bioestimulação de sementes a partir de microalgas.....	30
5.4.2	Biomassa de Microalgas com efeito Bioestimulante.....	33
5.4.3	Espécies de microalgas em destaque para produção de bioestimulante.....	37
5.5	CONCLUSÃO	43
5.6	REFERÊNCIAS	44
6	ARTIGO 2 – EXTRATOS HIDROLISADOS DE <i>Chlorella</i> sp. COMO	

BIOESTIMULANTES DE SEMENTES DE <i>Lactuca sativa</i> (alface) E <i>Allium cepa</i> (cebola)	52
.....
6.1 RESUMO	52
6.2 INTRODUÇÃO	53
6.3 METODOLOGIA	55
6.3.1 Biomassa de microalga e caracterização	55
6.3.2 Produção dos extratos hidrolisados	56
6.3.3 Teste de germinação em câmara de germinação	58
6.3.4 Teste de germinação em casa de vegetação	59
6.3.5 Determinação do Índice de germinação	59
6.3.6 Efeito de similaridade à fitormônios (citocinina e auxina) em sementes de <i>Cucumis sativus</i> (pepino)	60
6.3.7 Determinação do potencial antioxidante dos hidrolisados	60
6.3.8 Determinação de Metais nos hidrolisados	61
6.3.9 Determinação de aminoácidos e monossacarídeos nos hidrolisados	61
6.3.10 Determinação de compostos voláteis nos hidrolisados por Cromatografia Gasosa com detector de massas	61
6.4 RESULTADOS	62
6.4.1 Caracterização da biomassa.....	62
6.4.2 Germinação das sementes de <i>Lactuca sativa</i> (alface).....	62
6.4.3 Teste de germinação em casa de vegetação da <i>Lactuca sativa</i> (alface).....	Erro!
Indicador não definido.	
6.4.4 Germinação das sementes de <i>Allium cepa</i> (cebola).....	68
6.4.5 Índice de germinação de sementes de alface e cebola.....	71
6.4.6 Efeito Citocinina e Auxina dos hidrolisados	72
6.4.7 Composição de metais nos hidrolisados.....	73
6.4.8 Composição de aminoácidos nos hidrolisados	74
	10

6.4.9	Compostos orgânicos voláteis nos hidrolisados	75
6.4.10	Atividade Antioxidante dos hidrolisados	76
6.4.11	Composição de monossacarídeos nos hidrolisados	76
6.5	<i>Discussão dos resultados</i>	77
6.6	CONCLUSÕES	81
6.7	REFERÊNCIAS	81
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	85
8	ATIVIDADES REALIZADAS	88
9	REFERÊNCIAS	89

1 INTRODUÇÃO

O olhar para o crescimento populacional, a segurança alimentar, a produção agrícola mais eficiente, consumo de recursos naturais finitos, uso de agroquímicos e condições climáticas adversas para a agricultura, impulsionam o desenvolvimento de produtos biotecnológicos que venham ao encontro do setor agroindustrial, com especial interesse na produção agrícola de alimentos (Martini *et al.*, 2021).

Além dos cuidados no plantio e tratos culturais, a qualidade das sementes é excepcionalmente importante para o desenvolvimento agrícola, pois as sementes transportam as informações genéticas da futura planta, e para sua germinação com vigor é importante o solo em que são semeadas, os tratamentos que recebem e, em uma perspectiva de inovação e melhoria do processo agroindustrial, as moléculas bioestimulantes que em baixas concentrações podem ser carreadas junto à sementeira (Varia *et al.*, 2022). Por este motivo, sementes tratadas com moléculas que auxiliam na sua germinação têm maior resistência as adversidades climáticas e se adaptam mais rapidamente às condições do solo. Isso resulta em uma maior produtividade na agricultura, reduzindo as perdas desde o plantio até a colheita (Martini *et al.*, 2021).

Contudo, a maioria dos insumos químicos utilizados geram um impacto negativo no meio ambiente, prejudicando e contaminando o solo, a água e o ar, além de introduzir substâncias nocivas à saúde humana na mesa do consumidor (Behera *et al.*, 2021). Isso está relacionado à necessidade de reduzir os problemas associados aos agroquímicos sintéticos e diminuir sua aplicação. Neste sentido, a atenção está voltada para soluções ecologicamente amigáveis, incluindo bioestimulantes vegetais e microrganismos, que atuam na germinação e na aplicação foliar (Varia *et al.*, 2022).

Nos últimos anos, o potencial das microalgas como biofertilizantes ou bioestimulantes tem sido investigado devido aos compostos bioativos sintetizados por esses organismos (Mógor *et al.*, 2017; Singh *et al.*, 2016), se tornando uma alternativa promissora para o estudo de novos produtos que visam à estimulação da germinação das sementes e do crescimento das plantas. Segundo Ertani *et al.* (2019) e Colla *et al.* (2015), estes produtos são responsáveis pelo melhoramento e desenvolvimento de várias culturas agrícolas, podendo aumentar o vigor de sementes e diminuir

o tempo de germinação. Em dosagens baixas estimulam a nutrição das plantas por meio da regulação positiva dos transportadores de nutrientes.

Neste sentido, os bioestimulantes a partir da biomassa de microalgas têm sido formulados com o objetivo de melhorar o desempenho das culturas e a sustentabilidade agrícola. Inclui-se nos benefícios das formulações a base de microalgas, uma melhor eficiência do uso da água do solo, um sistema de enraizamento reforçado, e diminuição de efeitos como, estresses bióticos e abióticos e da salinidade do solo. Ademais, os bioestimulantes de microalgas são benéficos para o ecossistema e reduzem o impacto nocivo de fertilizantes químicos sintéticos na saúde humana, no ecossistema e nos recursos naturais (Kumar *et al.*, 2022).

Um dos principais desafios de uso dos compostos bioativos das microalgas como bioestimulantes está no fato de que não são excretados, e sim acumulados dentro das células. Como as paredes celulares são rígidas e protetoras, o processo de ruptura torna-se muito importante para o uso como bioestimulante, assim como, de fragmentação de macromoléculas, através de processos de hidrólise. A associação de processos químicos, físicos e biológicos têm tido efeitos positivos neste sentido (Damtie *et al.*, 2021; Lakshmikandan *et al.*, 2021; Navarro-Lopez *et al.*, 2020; Wensel *et al.*, 2022).

Destaca-se assim que biomassas de microalgas, por apresentarem lipídios, proteínas, carboidratos, carotenóides, clorofilas, ficobilinas, polissacarídeos, vitaminas, esteróis e diversos outros compostos bioativos naturais (De Souza *et al.*, 2018), quando hidrolisadas podem ter perfis químicos diferentes, que podem ser mais ou menos aplicáveis como bioestimulantes (Navarro-Lopez *et al.*, 2020). Nesse contexto, dada à importância dos bioestimulantes na agricultura, há um grande potencial do desenvolvimento de produto inovador que auxilia na etapa de germinação de vários tipos de sementes. Assim, busca-se produzir, testar e reconhecer o potencial destes produtos para aceleração da germinação, do vigor da plântula e da formação de raízes, bem como, a caracterização dos produtos desenvolvidos para aplicação nas sementes.

Um outro aspecto relevante é a importância de bioestimulantes de germinação para o setor de horticulturas. Estamos na região dos Vales, onde a possibilidade do desenvolvimento de processos biotecnológicos para a obtenção de bioprodutos, pode impactar positivamente o setor agroalimentar. Na região, a agricultura familiar é a fonte de grande parte da diversidade de alimentos comercializados nos municípios, destacando-se a produção de hortaliças. A horticultura

na região se estabelece cada vez mais atendendo a necessidade de sustentar mais pessoas, sem aumentar substancialmente a área de cultivo, utilizando culturas de ciclo mais rápido, com tratamentos culturais menos complexos e contribuindo com a renda anual aos produtores.

Considerando o Painel do Agronegócio do Rio Grande do Sul, de 2022, para o emprego formal na agricultura e nos setores agroindustriais vinculados, há uma contribuição muito grande da horticultura, que provêm, em sua maioria, dos estabelecimentos familiares. No relatório anual divulgado pela Organização das Cooperativas do Estado do Rio Grande do Sul (OCERGS), foi demonstrado que em 2022 o setor agropecuário representou o segmento cooperativo mais robusto do estado. As 121 cooperativas reuniram 336,3 mil produtores associados e empregaram diretamente 40 mil trabalhadores. Dentre essas, 32 cooperativas eram voltadas para hortifrutigranjeiros (Feix *et al.*, 2022). A produção de hortaliças, destacando-se alface, batata, cebola, cenoura e tomate, oferece garantias mais sólidas de comercialização e consumo. Essa segurança não se restringe apenas ao Sul do Brasil, estendendo-se a diferentes regiões do país. A diversidade de culturas possibilita aos agricultores oportunidades de plantio e colheita ao longo de todo o ano, fortalecendo a estabilidade econômica do setor.

2 OBJETIVOS

2.1 *Objetivo Geral*

- Desenvolver bioestimulantes a base de biomassa de *Chlorella* sp. que, quando aplicados em sementes (alface e cebola), sejam eficientes para a germinação e impactem positivamente na germinação e vigor das plântulas.

2.2 *Objetivos específicos*

- Revisar as tecnologias de produção de bioestimulante de germinação desenvolvidos a partir de microalgas.
- Obter extratos de microalgas com potencial bioestimulante para a aplicação em sementes de alface e cebola.
- Conduzir com parceria de empresa da área de tratamento de sementes, estudos controlados e preconizados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento para investigação da eficiência dos bioestimulantes na germinação de sementes e vigor das plântulas.
- Identificar as melhores condições de hidrólise ácida de biomassa de *Chlorella* sp. utilizando como resposta o número de sementes germinadas, para uso do extrato hidrolisado como bioestimulante para sementes de alface e cebola utilizando como resposta o número de sementes germinadas, em comparação com o controle (água destilada).

- Caracterizar a composição dos extratos hidrolisados de microalgas selecionados com melhores resultados na etapa de germinação.
- Identificar o efeito similar à fitormônios nos hidrolisados selecionados, para reconhecer o mecanismo de bioestimulação e melhorar a eficiência de produção.
- Reconhecer o potencial antioxidante dos extratos hidrolisados com melhores resultados na germinação de sementes, através da avaliação do potencial antioxidante ORAC.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 *Desafios na agricultura e impactos ambientais*

Nos últimos anos, as mudanças climáticas têm exercido uma influência significativa na agricultura, desafiando os métodos tradicionais de cultivo. A Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO) prevê que a população mundial atingirá 10 bilhões de habitantes até 2050. Nesse contexto, a preocupação com os impactos ambientais da agricultura está se tornando cada vez mais proeminente, sendo um dos principais focos de pesquisa e discussão. O desafio de atender às necessidades alimentares globais deve ser equilibrado com o uso responsável dos recursos naturais (Colla; Roupheal, 2015).

De acordo com Shanmugavel *et al.* (2023), a questão ambiental exerce uma influência direta nas decisões relacionadas ao cultivo, uma vez que estas variam conforme as necessidades e as vulnerabilidades específicas de cada ambiente de cultivo. Neste sentido, a qualidade dos produtos agrícolas, a segurança alimentar e o valor nutricional dos alimentos trazem a agricultura para o centro dessa discussão, pois ela é a responsável por suprir uma das necessidades básicas dos seres humanos, sendo o cultivo uma prática milenar que sempre buscou meios de inovar nas técnicas produtivas visando aumento da produtividade.

Nosso maior desafio é poder conciliar o avanço tecnológico com a conservação do meio ambiente. Desenvolver práticas de cultivo que não agridam o meio ambiente e que tragam segurança alimentar, está cada vez mais em evidência, visto que os consumidores estão buscando por alimentos orgânicos, livres de substâncias nocivas à saúde humana. Portanto, para que possamos atender a grande demanda de alimentos e garantir a segurança alimentar assim como a ambiental, precisamos de tecnologias que aumentem a produtividade agrícola, sem causar danos ao meio ambiente e aos consumidores (Mógor *et al.*, 2017). O cultivo agrícola, além dos cuidados no plantio e tratos culturais, a qualidade das sementes é excepcionalmente importante, pois elas são as responsáveis por transportar as informações genéticas das plantas. Por este motivo, sementes que carregam moléculas que auxiliam na sua germinação têm maior resistência aos

estresses bióticos e abióticos, suportando mais as adversidades climáticas e se adaptando mais rapidamente às condições de solo (Varia *et al.*, 2022).

Os estresses bióticos e abióticos são fatores que influenciam no desenvolvimento e qualidade da planta e envolvem as características do ambiente no qual a planta está inserida. O estresse abiótico é caracterizado pelo efeito da temperatura, umidade, luminosidade, nutrientes e poluentes assim como a salinidade do solo. Já os estresses bióticos, estão relacionados com os microrganismos, insetos e até mesmo plantas invasoras presentes no ambiente. Por este motivo, busca-se cada vez mais, diferentes formas de minimizar esses impactos através de biotecnologias com baixo custo (Kumar *et al.*, 2022).

3.1.1 Benefícios ambientais do uso de bioestimulantes de microalgas na agricultura.

As pesquisas costumam propor o uso de microalgas para enfrentar desafios como a crescente demanda por energia e a redução das emissões de carbono, tornando o uso de microalgas um recurso limpo e acessível para a produção de biocombustíveis, devido ao seu alto teor de carboidratos, sendo fontes de carbono na síntese de bioetanol. Além disso, as microalgas podem ser usadas na produção de plásticos biodegradáveis, o que pode contribuir para uma economia circular sustentável. Desta forma, são tratadas como promissoras e fonte de energia limpa (Olabi *et al.*, 2023).

A pesquisa de Olabi *et al.* (2023), destacou a contribuição das microalgas nos 17 ODS, estabelecidos pela ONU, com ênfase na promoção de energia limpa, segurança alimentar e economia circular. A meta 6 está relacionada com água limpa e saneamento, neste sentido as microalgas têm sido fonte promissora para biorremediação de águas residuais, além de serem fortemente recomendadas para a remoção de metais pesados quando comparadas aos métodos tradicionais de tratamento de águas, principalmente por apresentarem altos custos operacionais e ineficácia na remoção de metais pesados. Assim, as algas emergem como uma fonte verde e economicamente viável de biostimulantes.

Esses biostimulantes exercem impacto positivo na eficiência da absorção de nutrientes e em sua concentração no solo, resultando no aumento da tolerância das plantas a estresses abióticos (Rouphael; Colla, 2020). Além disso, as microalgas têm a capacidade de fornecer moléculas

bioativas que promovem ativamente o crescimento das plantas (Alam *et al.*, 2020; Guo *et al.*, 2020). Essas descobertas destacam o potencial das microalgas não apenas como uma alternativa sustentável para aprimorar a qualidade do solo, mas também como uma valiosa fonte de substâncias promotoras de crescimento que beneficiam o desenvolvimento das plantas.

As microalgas também são responsáveis por economia circular, uma vez que envolvem a produção baseada no aproveitamento de recursos naturais e/ou resíduos como recursos para criar produtos sustentáveis. Isso leva à preservação de recursos naturais, redução de resíduos e maximização de valores. A implementação de microalgas na indústria resulta na produção de produtos valiosos, ao mesmo tempo que aborda o gerenciamento de resíduos orgânicos, emissões de gases de efeito estufa e contribui para a segurança alimentar (Olabi *et al.*, 2023)

No campo da agricultura, é destacado a crescente demanda por bioestimulantes vegetais, impulsionada pela necessidade de aumentar o rendimento e a qualidade das colheitas, reduzir a dependência de agrotóxicos na agricultura convencional e orgânica, e promover a adoção de produtos químicos de base biológica como parte dos princípios da economia circular sustentável (Rupawalla *et al.*, 2022).

Diversos desafios dificultam a implementação em larga escala de microalgas nos setores agrícolas, abrangendo desde a seleção de cepas eficientes até os custos iniciais e operacionais elevados associados ao cultivo e colheita (Yuan *et al.*, 2009). A otimização da produtividade também se configura como um desafio crucial a ser superado (Xu *et al.*, 2009). Essas considerações ressaltam a importância de abordagens estratégicas e pesquisas contínuas para enfrentar os obstáculos associados à adoção generalizada de microalgas na agricultura, visando colher os benefícios potenciais desse recurso promissor, ao mesmo tempo em que se superam as barreiras identificadas (Olabi *et al.*, 2023) e que se prospectem mais espécies que venham ao encontro de melhores resultados para a agricultura (Jose *et al.*, 2024).

3.2 *A influência dos bioestimulantes na germinação das sementes e no desenvolvimento das plantas*

Pesquisas voltadas ao desenvolvimento de bioprodutos, que visam o aprimoramento da produtividade, melhoria genética e resistência a doenças, vêm sendo desenvolvidas. Neste

sentido, os bioestimulantes que são responsáveis por contribuir para melhorar o crescimento e o desenvolvimento de plantas por acelerar a germinação de sementes (Fetter *et al.*, 2020).

Os bioestimulantes são formulações feitas a partir de recursos biológicos com o objetivo de reduzir e/ou extinguir o uso de produtos químicos sintéticos que danificam o solo e causam impactos, muitas vezes irreversíveis ao meio ambiente. São responsáveis por benefícios que vão além do crescimento vegetativo propriamente dito, contribuindo para aumentar a resistência aos estresses abióticos (Dagnaisser *et al.*, 2022; Fetter *et al.*, 2020; Kumar *et al.*, 2022).

Segundo Ertani *et al.* (2019) os bioestimulantes são responsáveis pelo melhoramento e desenvolvimento de várias culturas agrícolas, podendo aumentar o vigor na germinação de sementes e diminuir o tempo deste processo. Ademais, em dosagens baixas estimulam a nutrição das plantas por meio da regulação positiva dos transportadores de nutrientes. Assim, estes produtos são responsáveis pelo melhoramento e desenvolvimento de várias culturas agrícolas.

Varia *et al.* (2022), definem os bioestimulantes como formulações que são preparadas a partir de recursos biológicos que agem diretamente no metabolismo, melhorando a germinação da semente e o crescimento da planta. Sua utilização tem o objetivo de reduzir e/ou extinguir o uso de produtos químicos sintéticos que danificam o solo e causam impactos, muitas vezes irreversíveis ao meio ambiente. De acordo com Kumar *et al.* (2022), os bioestimulantes são eficazes na regulação da respiração e fotossíntese quando empregados em pequenas porções, além de melhorar o desenvolvimento das plantas, facilitando portanto, a absorção de nutrientes e protegendo contra os efeitos dos estresses bióticos e abióticos.

Esses achados estão respaldados por pesquisas recentes (Dineshkumar *et al.*, 2017; Garcia-Gonzalez; Sommerfeld, 2016; Wang *et al.*, 2018). Um grupo importante de bioestimulantes é composto de proteínas hidrolisadas (Colla *et al.*, 2015), ricos em aminoácidos, os quais têm se destacado na agricultura devido aos benefícios que desempenham nas culturas (Ertani *et al.*, 2019). As proteínas hidrolisadas podem ser produzidas por meio de hidrólise química ácida, alcalina e/ou enzimática de matérias-primas animais e vegetais (Colla *et al.*, 2015). Os hidrolisados podem ser administrados na forma líquida, sendo aplicados às plantas por pulverização foliar, aplicação direta às raízes de plantas que crescem em hidroponia ou no tratamento das sementes (Colla; Rouphael, 2015; Ertani *et al.*, 2019). No entanto, devido à complexidade e às potenciais interações entre seus diversos constituintes, o mecanismo exato pelo

qual os bioestimulantes induzem respostas fisiológicas nas plantas ainda necessita investigações mais aprofundadas (Ertani *et al.*, 2019).

3.3 *As microalgas e seus compostos bioestimulantes*

Nos últimos anos, o potencial das microalgas como bioestimulantes tem sido investigado devido aos compostos bioativos sintetizados por esses organismos, apresentando-se como um biorecurso promissor ao setor agrícola, por possuir micro e macronutrientes essenciais para a produção de compostos que são responsáveis por melhorar o crescimento e o desenvolvimento de plantas, por aumentar a resistência aos estresses abióticos e comprovadamente acelerar a germinação de sementes (Kumar *et al.*, 2022).

Os extratos de microalgas fornecem diversos componentes fundamentais para o desenvolvimento e crescimento das plantas como proteínas, carboidratos e lipídios, além presença de fitohormônios e compostos antioxidantes, sendo a presença destes componentes que caracteriza a atividade bioestimulantes do extrato à base de microalgas (Behera *et al.*, 2021). Estudos científicos evidenciam que os polissacarídeos das microalgas desempenham um papel crucial na promoção da absorção de nutrientes, no crescimento das plantas e na melhoria da tolerância ao estresse (Ferreira *et al.*, 2019).

A biomassa de microalgas ainda é rica em aminoácidos que oferecem benefícios significativos para as plantas, promovendo o crescimento e melhorando a capacidade de absorver nutrientes e água do solo. Além disso, as microalgas contêm hormônios vegetais, como auxinas, que estimulam o desenvolvimento radicular, tornando as plantas mais resilientes a condições adversas de estresse. Adicionalmente, as microalgas desempenham um papel como biopesticidas, protegendo as plantas contra patógenos como fungos e bactérias (Behera *et al.*, 2021; Rupawalla *et al.*, 2022).

No entanto, um dos principais desafios no uso de compostos bioativos das microalgas como bioestimulantes está no fato de que não são excretados, mas acumulados dentro das células. Como muitas vezes as paredes celulares das microalgas são rígidas e protetoras, a escolha do adequado processo de ruptura torna-se essencial para que seja possível obter os compostos bioativos das células desejados. De acordo com Stirk (Stirk *et al.*, 2020) a escolha entre esses

métodos deve considerar as características das microalgas, os compostos desejados com a extração e os requisitos de produção.

Alguns estudos já vêm sendo realizados sobre o efeito dos hidrolisados de microalgas em diferentes cultivos, os quais vêm obtendo resultados positivos no crescimento e desenvolvimento de plantas, demonstrando ser um promotor de crescimento natural e matéria-prima promissora para formulações de bioestimulantes. Garcia-Gonzalez e Sommerfeld (2016) relataram que o uso do extrato hidrolisado e da biomassa seca de *Acutodesmus dimorphus*, aplicados por meio de pulverização foliar e bioestimulantes, respectivamente, promoveram uma germinação mais rápida e aumentaram o crescimento da planta e a produção floral em tomateiros. Barone *et al.* (2018) e Supraja *et al.* (2020b) também investigaram a importância do uso de microalgas no cultivo de tomate, evidenciando benefícios para a formação das raízes em co-cultivos em sistemas hidropônicos. O uso direto de resíduos de biomassa de *Chlorella* sp. and *Scenedesmus* sp. após etapa de extração de lipídios foi realizado também para o cultivo de tomates, com melhorias no crescimento da planta (Silambarasan *et al.*, 2021). Segundo Suchithra *et al.* (2022), na biofertilização com biomassa de *Chlorella* sp., a qualidade da planta do tomate foi atribuída a presença de açúcar solúvel, ácido ascórbico, proteína, bem como, de minerais, como fósforo, potássio, cálcio e magnésio. Os benefícios apresentados para germinação de semente de tomate têm tido efeito para outras culturas.

A *Chlorella* sp. apresentou potencial para estimular a germinação de pepinos, com aumento do comprimento da parte aérea e da raiz (Bumandalai; Tserennadmid, 2019). Também foi empregado com sucesso a biomassa de *Spirulina* sp. rica em ficocianinas como bioestimulante em alface cultivada hidroponicamente. Outro estudo, conduzido por Mógor *et al.* (2017), investigou as propriedades bioestimulantes da biomassa hidrolisada de *Spirulina platensis* em plântulas de alface, demonstrando ser um promotor de crescimento natural da planta, podendo ser usado como matéria-prima para bioestimulantes. Diante destes estudos, evidencia-se que a utilização desses compostos pode desempenhar um papel crucial no futuro da agricultura, promovendo práticas mais sustentáveis e eficazes, sendo um vasto campo a ser explorado.

4 METODOLOGIA

Esta pesquisa inicia com uma abordagem metodológica abrangente, fundamentada em uma pesquisa bibliográfica que contemplou combinações de palavras-chave. Nesse processo, adotou-se o método de mapeamento bibliométrico, proporcionando uma análise criteriosa das relações entre microalgas, bioprodutos, hidrolisados e bioestimulantes, cujos resultados foram consolidados no artigo 1.

Dando continuidade ao estudo, foi realizada a produção de bioestimulantes à base da biomassa da microalga *Chlorella* sp.; a Biomassa foi cultivada em escala piloto em *Raceway ponds* e submetida a caracterização em termos de carboidratos, lipídios, proteínas e cinzas. Para a produção do bioestimulante, a biomassa passou por um processo de hidrólise química e foi aplicada em sementes de alface e cebola para teste de germinação. Os hidrolisados com melhores resultados nesta etapa de germinação, foram analisados, considerando a presença de metais, aminoácidos, lipídios, açúcares e compostos antioxidantes. Este conjunto de procedimentos integrados ofereceu uma melhor compreensão da composição da biomassa da microalga *Chlorella* e seu potencial bioestimulante.

Explorando a avaliação do potencial bioestimulante nos testes de germinação, foram considerados alguns parâmetros, incluindo o número de plântulas normais germinadas, a aceleração na formação da radícula e abertura dos cotilédones e vigor das plântulas, assim como a análise dos compostos bioativos presentes nos hidrolisados preparados como antioxidantes, aminoácidos, açúcares, metais, compostos orgânicos voláteis e fitormônios. Essa abordagem forneceu informações fundamentais para a compreensão do efeito dos hidrolisados da *Chlorella* sp. na produção de bioestimulantes, culminando na elaboração do artigo 2. Assim, o delineamento da pesquisa pode ser observado na Figura 1, a qual representa as diferentes etapas da pesquisa realizadas, as quais culminaram na elaboração de dois artigos. O primeiro artigo fundamenta teoricamente a pesquisa, trazendo informações recentes e relevantes sobre a utilização de microalgas na produção de bioestimulantes, contendo o estado da arte da produção de bioestimulantes de microalgas. O segundo artigo refere-se aos resultados obtidos na produção de extratos hidrolisados de microalgas e sua aplicação como bioestimulantes de germinação.

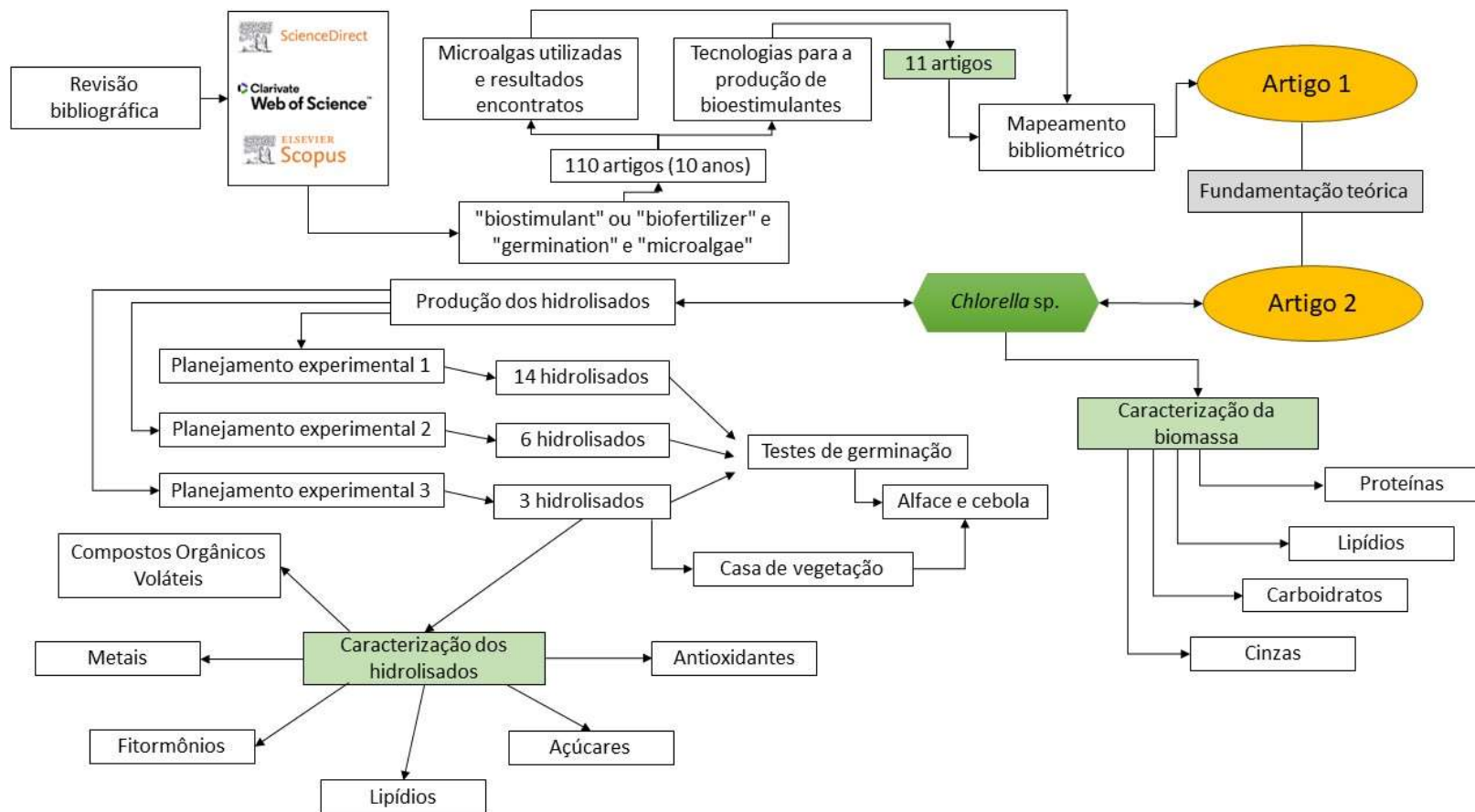


Figura 1. Fluxograma que representa todas as etapas da pesquisa