

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS – CAMPUS DE BAURU
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Sarah Corrêa Barrochelo

USO DE MICROALGAS NATIVAS CRESCIDAS EM ESGOTO SANITÁRIO
DIGERIDO ANAEROBIAMENTE COMO BIOFERTILIZANTE EM
PLANTAS DE *Amaranthus cruentus* L.

BAURU

2022

Sarah Corrêa Barrochelo

USO DE MICROALGAS NATIVAS CRESCIDAS EM ESGOTO SANITÁRIO
DIGERIDO ANAEROBIAMENTE COMO BIOFERTILIZANTE EM
PLANTAS DE *Amaranthus cruentus* L.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado a Faculdade de Ciências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Campus de Bauru, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Henrique Ribeiro da Silva

Coorientadora: Profa. Dra. Inês Cechin

BAURU

2022

Barrochelo, Sarah Corrêa.

Uso de microalgas nativas crescidas em esgoto sanitário digerido anaerobiamente como biofertilizante em plantas de *Amaranthus cruentus* L. / Sarah Corrêa Barrochelo, 2022

38 f. : il.

Orientador: Gustavo Henrique Ribeiro da Silva
Coorientadora: Inês Cechin

Monografia (Graduação)-Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Ciências, Bauru, 2022

1. Economia circular. 2. Biomassa algal. 3. Nutrição vegetal. I. Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Ciências. II. Título.

SARAH CORRÊA BARROCHELO

**USO DE MICROALGAS NATIVAS CRESCIDAS EM ESGOTO SANITÁRIO
DIGERIDO ANAEROBIAMENTE COMO BIOFERTILIZANTE EM
PLANTAS DE *Amaranthus cruentus* L.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado a Faculdade de Ciências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Campus de Bauru, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Henrique Ribeiro da Silva

Coorientadora: Prof^a. Dra. Inês Cechin

Aprovado em: 23 de março de 2022.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Gustavo Henrique Ribeiro da Silva

Prof^a. Dra. Inês Cechin

Prof. Dr. Aloísio Costa Sampaio

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à minha família que sempre me apoiaram e estiveram ao meu lado, mesmo com a distância física, me dando todo o suporte necessário para realizar este meu sonho. Além disso, agradeço muito pelo apoio do meu namorado e parceiro de vida Matheus, que me manteve forte durante toda esta jornada e meus amigos que tornaram o caminho mais leve.

Agradeço imensamente ao meu orientador Prof. Dr. Gustavo Henrique Ribeiro da Silva e coorientadora Prof^a. Dra. Inês Cechin que sempre estiveram presentes dando conselhos, correções, sendo pacientes e se mostrando dispostos a me auxiliar em qualquer coisa que eu precisasse. Com toda certeza me fizeram aprender e crescer muito como profissional e pesquisadora. Agradeço também ao Prof. Dr. Aloísio Costa Sampaio por ter aceitado o convite para compor a minha banca e contribuir com minha formação e aos companheiros de laboratório que auxiliaram durante todo o projeto e tornaram a execução possível.

Também agradeço especialmente à FAPESP pela oportunidade de exercer a função de bolsista de Iniciação Científica e assim desenvolver minhas habilidades como pesquisadora.

Por fim, agradeço a UNESP e todo seu corpo docente pelas oportunidades que foram proporcionadas a mim como pessoa, estudante e pesquisadora.

RESUMO

Atualmente, a maioria dos sistemas de saneamento empregados não leva em consideração o ciclo de nutrientes, energia e água de forma sustentável, fazendo com que haja desperdício de nutrientes e emissão de cargas poluidoras residuais no meio ambiente. As microalgas surgem como uma ótima opção para recuperar estes nutrientes não tratados e retirados dos sistemas de tratamento de esgotos atuais, contribuindo para redução da emissão de gases de efeito estufa através da fotossíntese além de recuperarem os nutrientes minerais, convertendo-os em biomassa algal. Esta biomassa rica em nutrientes pode ser utilizada como biofertilizante proporcionando elementos essenciais para o desenvolvimento das plantas. Assim, o objetivo deste projeto foi avaliar a viabilidade do uso de microalgas crescidas em esgoto sanitário anaerobiamente tratado, como biofertilizantes no crescimento de *Amaranthus cruentus* L., uma planta de interesse econômico. Especificamente, foram analisados as trocas gasosas, pigmentos fotossintéticos, produção de biomassa na parte aérea e conteúdo mineral das folhas. Após a realização das análises, obteve-se resultados positivos em relação a massa seca das plantas fertilizadas com biomassa algal, principalmente no Tratamento com 9 g de biomassa algal que apresentou quase metade do peso seco (49%) obtido em T1. Já em relação ao T2, o T5 aumentou em 40% a massa seca total. Os tratamentos com microalgas T3, T4 e T5 obtiveram, respectivamente, média de altura 17,07%, 21,18% e 29,60% maior que T2. T3, T4 e T5 apresentaram menor g_s , E e A , mas o declínio da atividade fotossintética não pode ser atribuído apenas ao fechamento dos estômatos, mas também às limitações não estomáticas. Uma dessas limitações são os pigmentos fotossintéticos que apresentaram resultados inferiores ao controle T2, podendo estar relacionado a alguma deficiência nutricional, como N, P e K, que apresentaram concentrações menores nos tratamentos com microalgas. São necessários mais estudos com diferentes dosagens e número de aplicações de biomassa algal para entender melhor como o uso das microalgas pode ser mais efetivo no cultivo de *A. cruentus*.

Palavras-chave: economia circular, biomassa algal, nutrição vegetal.

ABSTRACT

Currently, most of the sanitation systems used do not take into account the cycle of nutrients, energy and water in a sustainable way, causing waste of nutrients and emission of polluting residual loads in the environment. Microalgae appear as a great option to recover these nutrients untreated and removed from current sewage treatment systems, contributing to reducing the emission of greenhouse gases through photosynthesis, in addition to recovering mineral nutrients, converting them into algal biomass. This nutrient-rich biomass can be used as a biofertilizer providing essential elements for plant development. Thus, the objective of this project was to evaluate the feasibility of using microalgae grown in anaerobically treated sewage, as biofertilizers in the growth of *Amaranthus cruentus* L., a plant of economic interest. Specifically, gas exchange, photosynthetic pigments, biomass production in the aerial part and leaf mineral content were analyzed. After performing the analyses, positive results were obtained in relation to the dry mass of plants fertilized with algal biomass, especially in the Treatment with 9 g of algal biomass, which showed almost half of the dry weight (49%) obtained in T1. In relation to T2, T5 increased the total dry mass by 40%. Treatments with microalgae T3, T4 and T5 obtained, respectively, an average height of 17.07%, 21.18% and 29.60% greater than T2. T3, T4 and T5 showed lower g_s , E and A , but the decline in photosynthetic activity cannot be attributed only to stomatal closure, but also to non-stomatal limitations. One of these limitations is the photosynthetic pigments, which presented lower results than the T2 control, which may be related to some nutritional deficiency, such as N, P and K, which presented lower concentrations in the treatments with microalgae. More studies with different dosages and number of applications of algal biomass are needed to better understand how the use of microalgae can be more effective in the cultivation of *A. cruentus*.

Keywords: circular economy, algal biomass, plant nutrition.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	8
2	OBJETIVOS	12
3	JUSTIFICATIVA	13
4	MATERIAIS E MÉTODOS	14
4.1	Material Biológico.....	14
4.1.1	Microalgas	14
4.1.2	Sementes	15
4.2	Condições de cultivo	15
4.3	Composição nutricional das microalgas	17
4.4	Medidas de crescimento	17
4.5	Medidas de trocas gasosas e eficiência instantânea do uso da água (EUA).....	17
4.6	Determinações bioquímicas	18
4.7	Determinação da massa foliar específica	19
4.8	Determinação dos teores foliares de macro e micronutrientes.....	19
4.9	Determinação da massa seca das plantas	19
4.10	Análise Estatística.....	20
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	21
5.1	Crescimento e produção de massa seca	21
5.2	Trocas gasosas e pigmentos fotossintéticos.....	25
5.3	Teores de macro e micronutrientes foliares	29
6	CONCLUSÃO	32
	REFERÊNCIAS	33

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, 9,1 toneladas de esgoto são geradas por dia (ATLAS ESGOTOS, 2017), sendo que apenas 46% de todo o esgoto gerado é tratado (INSTITUTO TRATA BRASIL, 2019). Atualmente, a maioria dos sistemas de saneamento empregados não levam em consideração o ciclo de nutrientes, energia e água de forma sustentável, fazendo com que haja desperdício de substâncias e emissão de cargas poluidoras residuais no meio ambiente. Isto faz com que novos modelos e ferramentas sejam criados e testados para que haja menos desperdício de recursos tão preciosos e que ainda possuem grande utilidade.

Como exemplo de substância desperdiçada, pode-se citar o fósforo que está presente nestas águas residuárias. Ele é um elemento de grande importância para as plantas, desempenhando funções como elemento estrutural dos ácidos nucleicos, regulador de vias sintéticas, estimulando a fotossíntese e como transferidor de energia em ligações energéticas, fornecendo energia às células (KERBAUY, 2004). Ele é utilizado em fertilizantes para suprir a demanda das plantas, assim garantindo um bom alimento para a nutrição humana. Atualmente, este elemento está se esgotando na natureza, o que implicará em problemas no futuro, tendo visto sua importância global. Apenas três países detêm mais de 85% das reservas globais conhecidas de fósforo, sendo Marrocos o maior detentor (KAUWENBERG, 2010). Portanto, com a utilização de métodos para recuperar este nutriente, haveria uma distribuição mais uniforme entre os países. Em conjunto a isto, El Wali, Golroudbary e Kraslawski (2021) estimaram que um modelo de economia circular de fósforo, baseado na recuperação de recursos, seria capaz de contribuir para reduzir em 6% a taxa de pobreza até 2050, contribuindo com alguns indicadores de ODS ligados a questões sociais como ODS 1, 2, 3, 5, 8 e 12 em diversos países. Se fosse possível recuperar todo o fósforo de águas residuárias, 22% da demanda global de P poderia ser suprida apenas com os excrementos humanos (MIHELICIC; FRY; SHAW, 2011). Outro elemento que pode ser citado é o nitrogênio. Ele também está presente em grande concentração no esgoto e possui imensa importância para as plantas, desempenhando funções como elemento estrutural de aminoácidos, amidas, proteínas, ácidos nucleicos, coenzimas e componentes celulares importantes para a fotossíntese, como a clorofila (TAIZ *et al.*, 2017).

Pensando em todos estes problemas, as microalgas surgem como uma ótima opção para recuperar estes nutrientes perdidos nos atuais sistemas de tratamento de esgoto. A pesquisa com microalgas cresceu nas últimas décadas com a sua exploração para extração de produtos e a

utilização em sistemas de tratamento de águas residuais (WUANG *et al.*, 2016; SILVA *et al.*, 2019).

As microalgas são microrganismos uni ou multicelulares que são capazes de realizar fotossíntese, pois possuem pigmentos orgânicos capazes de converter luz em energia. Neste processo elas capturam CO₂, reduzindo a emissão de gases de efeito estufa (RAZZAK *et al.*, 2013). Além disso, elas podem assimilar fósforo, nitrogênio, entre outros macros e micronutrientes presentes no esgoto sanitário, convertendo-os em biomassa algal. Esta biomassa, rica em nutrientes, pode ser utilizada para produção de biogás, pigmentos, bioplásticos, biofertilizantes e produtos químicos (GRUBIŠIĆ; IVANČIĆ; ŠANTEK, 2019; SULEIMAN *et al.*, 2020). No Brasil, a biomassa algal, não proveniente do esgoto sanitário, é produzida principalmente para alimentação de camarões e moluscos marinhos, existindo apenas iniciativas de caráter experimental visando outras aplicações das microalgas (DERNER *et al.*, 2006).

Além de serem úteis para a recuperação de nutrientes do esgoto, as microalgas possuem uma biomassa que contém altas concentrações de proteínas, lipídios, vitaminas, além do nitrogênio e fósforo que são elementos essenciais para o desenvolvimento das plantas. Por conta disso, as microalgas possuem utilidade como biofertilizante, que diferentemente dos fertilizantes químicos, possuem microrganismos vivos que são aplicados no solo e fornecem nutrientes às plantas (SILVA *et al.*, 2019).

Toda planta necessita de nutrientes em quantidades ótimas para se desenvolver adequadamente. Para isso, fertilizantes químicos são amplamente utilizados por disponibilizarem imediatamente estes nutrientes. Porém, o uso em excesso destes fertilizantes químicos se mostra prejudicial, pois afeta negativamente o equilíbrio dinâmico do solo (BAMBARADENIYA; AMERASINGHE, 2003) e a agrobiodiversidade do solo (GALHANO *et al.*, 2011), além de contribuírem para emissão de gases de efeito estufa e causar eutrofização (MILLAR *et al.*, 2018).

Como alternativa, existem os fertilizantes orgânicos, como o lodo de esgoto e as microalgas. A biomassa algal cultivada em esgoto previamente tratado é uma ótima alternativa, ao fertilizante sintético, pois são biofertilizantes sustentáveis, que oferecem uma alternativa ao ciclo vicioso de fertilizantes químicos e exaustão do solo (WUANG *et al.*, 2016). Além disso, em uma pesquisa em conjunto ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, foi descoberto que de um total de 2496 produtos de fertilização agrícola, apenas dois são biofertilizantes, indicando que há um nicho no mercado brasileiro com grande espaço para os biofertilizantes de microalgas (SILVA, 2019).

Elhafiz *et al.* (2015) descobriram que células vivas da espécie de microalga *Chlorella vulgaris* distribuídas em água de irrigação podem ser um biofertilizante sustentável promissor, melhorando o peso seco da planta e seu teor de clorofila em cultivos de arroz, pepino e berinjela. Similarmente, Coppens *et al.* (2016) constataram que ao aplicar as microalgas a um meio de crescimento orgânico, o crescimento das plantas de tomate foi afetado positivamente em um nível comparável ao de um fertilizante orgânico comercial.

Diante do exposto acima, buscou-se uma espécie relevante para testar este biofertilizante a partir de biomassa algal, chegando à espécie *Amaranthus cruentus* L. Esta planta tem sido cultivada desde a antiguidade em várias partes do mundo: da Argentina ao Sudoeste dos Estados Unidos, da Pérsia ao Ceilão, da Índia ao Himalaia, ao interior da China e à Mongólia e África Oriental (SAUER, 1950). Mas no Brasil ainda é pouco conhecida. É considerada uma Planta Alimentícia Não Convencional, pois o seu uso como alimento restringe-se a algumas regiões, não sendo utilizada comumente pela maior parte da população (KINUPP; LORENZI, 2014). A espécie *A. cruentus* pertence ao gênero *Amaranthus* (família *Amaranthaceae*) que compreende 70 espécies agrupadas em três subgêneros (MOSYAKIN; ROBERTSON, 2003). A espécie estudada pertence ao subgênero *Amaranthus* propriamente dito, que inclui algumas espécies domesticadas para a produção de grãos, como *Amaranthus hypochondriacus*, *Amaranthus caudatus* e *Amaranthus cruentus*. As outras espécies estão divididas conforme seu modo de utilização como grãos, hortaliças, ornamentais ou ervas daninhas (ALEGBEJO, 2013). É uma planta C₄, o que significa que possui importante adaptação para reduzir a fotorrespiração, evento que causa desperdício de energia pela enzima Rubisco na fotossíntese (SAGE; MONSON, 1998). Além disso, é uma eudicotiledônea que apresenta inflorescência do tipo panícula e tanto suas folhas quanto suas sementes possuem grande quantidade de proteínas, vitaminas e sais minerais, constituindo um alimento de grande valor nutritivo (RASTOGI; SHUKLA, 2013). A qualidade da proteína é considerada alta devido ao seu conteúdo em lisina e outros aminoácidos essenciais. Isso faz com que o amaranto se situe acima dos cereais convencionais em termos de potencial nutricional. Outra vantagem é que em sua composição não está presente o glúten (ALEMAYEHU; BENDEVIS; JACOBSEN, 2015), sendo uma opção de alimento para pessoas portadoras da doença celíaca.

O cultivo de amaranto no Brasil tem expectativa de crescimento, como é apresentado pela Embrapa-Cerrados, Planaltina, GO, que tem desenvolvido estudos adaptando espécies de amaranto ao solo e clima do Cerrado Brasileiro e os resultados têm sido positivos, pois a produtividade tem sido alta, atraindo interesse de agricultores na sua utilização (AMAYA-FARFAN; MARCILIO; SPEHAR, 2005). Por conta de todos estes fatores, o amaranto se

mostra uma espécie interessante para ser utilizada neste estudo. Com isso, o presente estudo buscou compreender como as microalgas nativas crescidas em esgoto sanitário previamente tratado anaerobiamente podem ser utilizadas como biofertilizante no cultivo da espécie *A. cruentus* que tem este potencial alto tanto nutricionalmente como comercialmente.

2 OBJETIVOS

Com base em estudos anteriores em outras espécies, levantamos a hipótese de que as microalgas nativas crescidas em esgoto sanitário previamente tratado anaerobiamente podem ser utilizadas como biofertilizante e fornecer nutrientes ao *A. cruentus* cultivar BRS Alegria. Assim, o objetivo do presente projeto foi testar a viabilidade do uso das microalgas vivas como biofertilizante na cultura do amaranto. Especificamente, foram avaliados os efeitos do uso das microalgas como biofertilizante nas seguintes variáveis: altura das plantas, diâmetro do coleto, número de folhas visíveis, trocas gasosas, pigmentos fotossintéticos, massa foliar específica, teores foliares de macro e micronutrientes e massa seca da parte aérea.

3 JUSTIFICATIVA

A compreensão dos efeitos das microalgas frescas como biofertilizante fornecerá base científica para melhorar o rendimento da cultura do amaranto, melhorando a produtividade e evitando a poluição ambiental. Além disso, este biofertilizante é um modo de reutilizar resíduos de biomassa de microalgas e nutrientes que seriam desperdiçados no processo de tratamento de esgoto, contribuindo com a economia circular. Por fim, os dados obtidos podem fornecer subsídios para pesquisas adicionais futuras a fim de entender mais claramente como as microalgas podem ser utilizadas como biofertilizante.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Material Biológico

Para realizar a pesquisa, foram utilizados dois materiais biológicos, as microalgas como biofertilizante e as sementes de *A. cruentus* como espécie de estudo da efetividade do uso da biomassa algal.

4.1.1 Microalgas

As microalgas nativas de esgoto sanitário que foram utilizadas neste estudo foram obtidas após processo de digestão de esgoto sanitário de alta carga em Filtro Anaeróbio de Fluxo Ascendente instalado na Estação de Tratamento e Esgoto (ETE) do distrito de Tibiriçá, em Bauru (São Paulo). Após isto, as microalgas foram mantidas no Laboratório de Microbiologia e Parasitologia do Departamento de Morfologia e Patologia da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) em São Carlos/São Paulo, onde foi realizado o isolamento e crescimento dos indivíduos.

Após essa etapa, o consórcio de microalgas foi transferido para o Laboratório de Hidráulica Geral e Saneamento da FEB – UNESP. No interior do laboratório foi preparada uma sala de cultivo de microalgas com ambiente controlado com o objetivo de manter a cultura viva durante todo o período experimental. Em uma avaliação prévia foi constatado que as espécies de microalgas presentes no esgoto sanitário eram a *Scenedesmus* sp. e *Chlorella* sp.

Após o crescimento da cultura de microalgas, uma parte delas foi transferida para um sistema fechado em ambiente externo. O sistema fechado foi instalado na FEB – UNESP, em uma área onde um projeto de Planta Fotovoltaica 2,04 kWp já vem sendo realizado pelo Departamento de Engenharia Elétrica, em função da ampla cobertura solar que o local recebe durante o dia. A temperatura média do ambiente de cultivo no mês de fevereiro foi de 28,2 °C. O cultivo foi realizado em uma caixa onde foi inoculado 10 L do consórcio e 50 L do esgoto sanitário de alta carga digerido anaerobiamente recém-coletado. Além disso, foram utilizados mais dois galões com capacidade de 14L, inoculados cada um com 2L de consórcio e 10L de esgoto sanitário de alta carga digerido anaerobiamente recém-coletado.

Ao final de um período de aproximadamente 7 dias, 90% do esgoto sanitário da batelada anterior foi encaminhado para decantadores da biomassa algal com capacidade de 200 L e a parcela restante de 10% foi utilizada como inóculo para o início de um novo ciclo de cultivo.

O restante do volume foi novamente completado com o esgoto sanitário de alta carga tratado anaerobiamente recém-coletado.

Após algumas semanas de coleta de esgoto sanitário e cultivo de microalgas, foi completado o volume total dos decantadores e pode-se realizar o processo de sedimentação das microalgas. Para isso, foi adicionado 150 mg/L de tanino para coagulação, floculação e sedimentação, possibilitando a coleta desta biomassa para o uso neste projeto como biofertilizante. As microalgas não foram secas neste projeto, a sua aplicação foi feita com elas vivas e úmidas. Então, o que foi coletado a partir dessa separação, foi armazenado em galões e mantido em geladeira até o dia da filtragem destas microalgas.

4.1.2 Sementes

Foram utilizadas sementes de *Amaranthus cruentus* L. cultivar BRS Alegria, fornecidas pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Esta cultivar foi desenvolvida pelo Centro de Pesquisa Agrícola de Cerrados, originada da estirpe *A. cruentus* AM 5189 dos Estados Unidos (SPEHAR *et al.*, 2003).

4.2 Condições de cultivo

As microalgas foram aplicadas apenas duas vezes em cada planta. A primeira aplicação ocorreu vinte dias antes do plantio das sementes em vasos de 4 L preenchidos com vermiculita de granulação média como substrato dos tratamentos 3, 4 e 5. As microalgas foram incorporadas manualmente ao substrato até 5 a 6 cm abaixo da superfície. Neste período ocorre a degradação da parede celular, permitindo a liberação de seus nutrientes. Uma segunda aplicação foi feita 24 dias após o plantio das sementes. Esta aplicação foi apenas superficial. Após vinte dias da primeira aplicação, as sementes de amaranto foram plantadas nos vasos. A vermiculita foi escolhida por não possuir nutrientes, então a planta só recebeu o que foi colocado por meio das microalgas e solução nutritiva de Long Ashton (HEWITT, 1966). As plantas foram mantidas em casa de vegetação sob condições fotoperiódicas naturais, localizada junto ao Departamento de Ciências Biológicas no Campus da UNESP de Bauru-SP. A temperatura mínima e máxima da casa de vegetação foi medida diariamente, resultando em média mínima de 19°C e média máxima de 33°C. Uma semana após o plantio foi feito o desbaste das plantas deixando-se apenas uma por vaso (Figura 1)

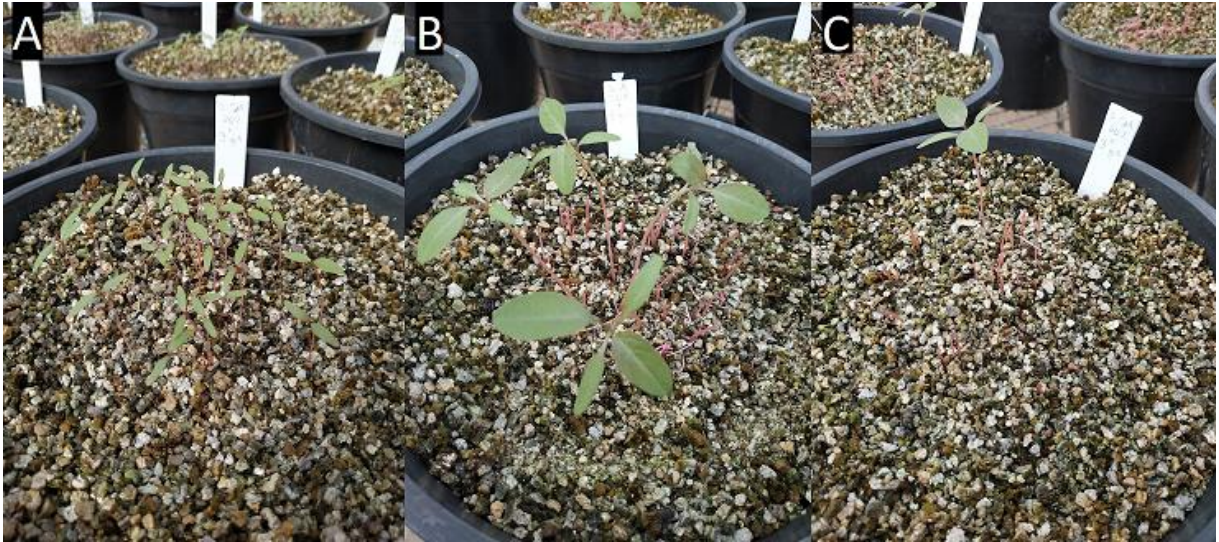


Figura 1 - A: crescimento das plantas 8 dias após o plantio; B: vaso antes do desbaste; C: vaso após o desbaste.

O conteúdo de nutrientes nas plantas foi manipulado através do suprimento de 250 mL vaso⁻¹ de solução nutritiva de Long Ashton, três vezes por semana. As plantas foram irrigadas com água de torneira sempre que necessário.

Em experimentos anteriores com o amaranto e outras plantas, observou-se um crescimento desejável com a aplicação da solução nutritiva 70%, e é esperado um menor desenvolvimento nas plantas que receberem 20% de todos os nutrientes quando comparadas com 70% (CECHIN; PRESS, 1993; CECHIN; VALQUILHA, 2019). Assim, quando as plantas mantidas com solução nutritiva a 20% mais as microalgas (T3, T4 e T5) são comparadas às plantas com solução nutritiva a 70% (T1), pode-se provar ou não a eficiência das microalgas em prover nutrientes às plantas.

As plantas de amaranto foram divididas em 5 grupos sendo que, os grupos 3, 4 e 5 receberão respectivamente, 3g, 6g e 9g de microalgas vivas que foram aplicadas em dois momentos (Figura 2):

- T1.** Plantas com solução nutritiva de Long Ashton a 70% sem microalgas (controle)
- T2.** Plantas com solução nutritiva de Long Ashton a 20% sem microalgas (controle)
- T3.** Plantas com solução nutritiva de Long Ashton a 20% com 3,0 g de microalgas
- T4.** Plantas com solução nutritiva de Long Ashton a 20% com 6,0 g de microalgas
- T5.** Plantas com solução nutritiva de Long Ashton a 20% com 9,0 g de microalgas

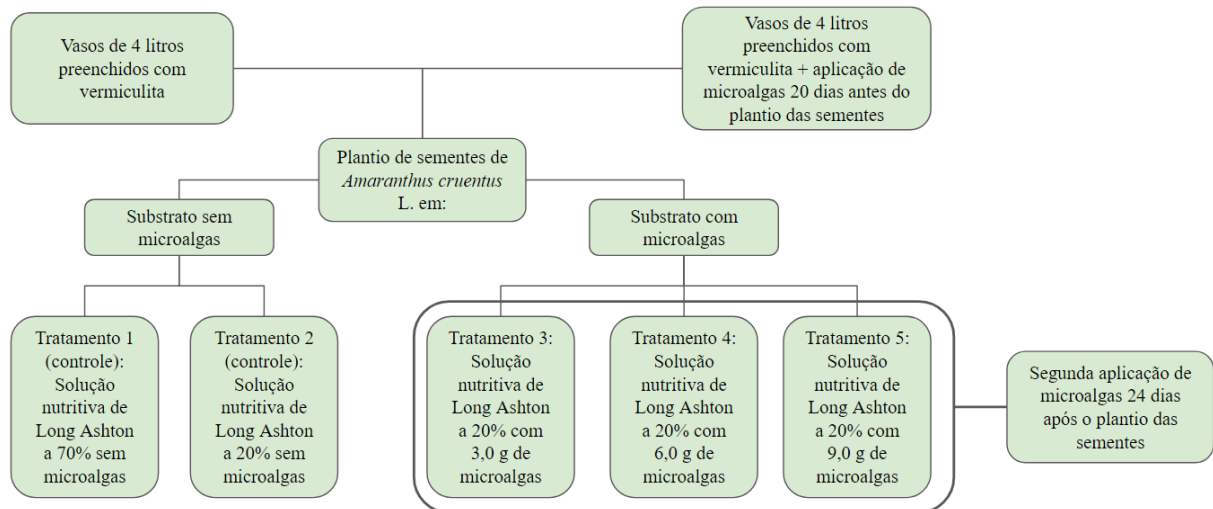


Figura 2 - Fluxograma das condições de cultivo de *Amaranthus cruentus* L.

4.3 Composição nutricional das microalgas

As amostras de biomassa algal foram enviadas para efetuar a análise de sua composição nutricional, a qual foi realizada no Laboratório de Solos, situado no Departamento de Solos e Recursos Ambientais da Faculdade de Ciências Agronômicas/UNESP/Botucatu. Foram analisados macronutrientes (N, P, K, Ca, Mg e S), micronutrientes (Na, Cu, Fe, Mn, Zn e Na) e pH por meio da metodologia do Manual de Métodos Analíticos Oficiais para Fertilizantes e Corretivos.

4.4 Medidas de crescimento

Medidas de crescimento foram feitas semanalmente a partir do dia 24 de maio, 28 dias após o plantio. A altura das plantas foi medida com auxílio de uma régua milimetrada, desde o nível do substrato até o último nó visível. O diâmetro do coleto (na inserção dos cotilédones) foi determinado com paquímetro digital (KingTools), e calculada a relação altura de planta/diâmetro do coleto. Foi contado o número de folhas emergidas, considerando-se como folhas emergidas as que eram visíveis sem o manuseio da planta.

4.5 Medidas de trocas gasosas e eficiência instantânea do uso da água (EUA)

As medidas de fotossíntese (A), de condutância estomática (g_s), de transpiração (E) e a concentração de CO_2 na cavidade subestomática (C_i) foram realizadas 43 dias após o plantio

através do uso de um analisador de gás por infravermelho portátil (IRGA-LCpro, ADC, Hoddesdon, UK). A eficiência instantânea do uso da água (*EUA*) foi obtida através da razão *A/E* entre a taxa fotossintética (*A*) e a taxa de transpiração (*E*). As análises foram realizadas na folha mais jovem totalmente expandida dentro da casa de vegetação entre 8 e 10 horas da manhã sob condições ambientes de temperatura, pressão parcial de CO₂ e pressão de vapor de água do ar. Radiação fotossinteticamente ativa de 1000 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ foi suprida por uma lâmpada acoplada à câmara foliar. A folha foi mantida sob esta intensidade até que uma taxa de estado estacionário foi alcançada.

4.6 Determinações bioquímicas

As determinações foram realizadas 59 dias após o plantio. Para cada planta, 3 discos foliares com área de 1,68 cm² foram cortados em folhas jovens totalmente expandidas e colocados em um pedaço de papel alumínio, fechados e armazenados em uma caixa de isopor com gelo. Foram coletados 3 discos de 5 plantas de cada tratamento. Os pigmentos fotossintéticos (clorofila e carotenoides) foram extraídos em um almofariz contendo acetona 80% e as suas concentrações calculadas de acordo com as fórmulas de Lichtenthaler (1987). Os extratos foram passados para tubos Falcon e foi adicionado acetona 80% até o tubo completar 9 mL. Após isso, os tubos com os extratos foram centrifugados por 5 minutos a 5000 rpm. Os sobrenadantes foram transferidos para balões volumétricos e o volume completado com acetona 80% até atingir 10 mL. As leituras de absorbância foram efetuadas em espectrofotômetro (NANOCOLOR® UV/VIS II) a 647, 663 e 470 nm (Figura 3). Os teores de clorofila e de carotenoides foram expressos por unidade de área (g m⁻²).

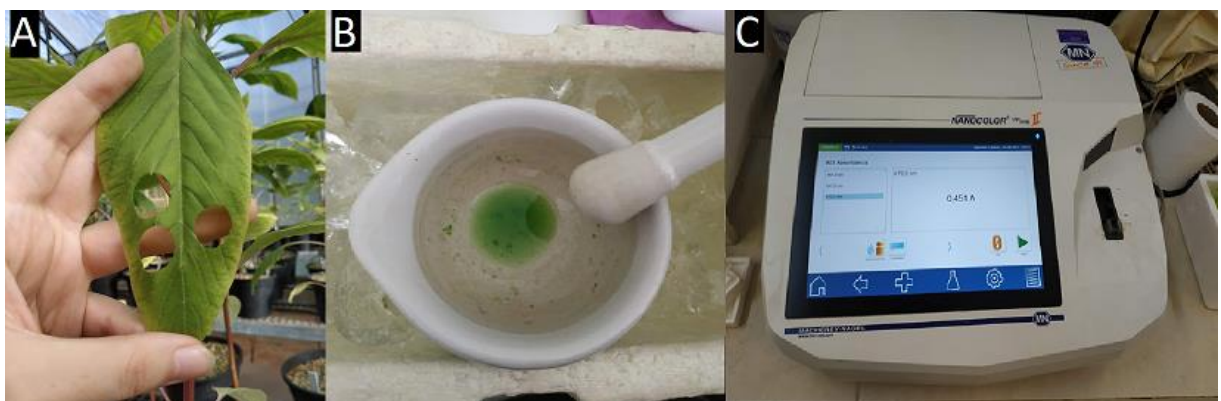


Figura 3 - A: coleta de discos foliares; B: extração dos pigmentos no almofariz; C: espectrofotômetro para leitura de absorbância.

4.7 Determinação da massa foliar específica

Para a determinação da massa foliar específica (*MFE*) foram coletados 4 discos de área conhecida por planta 60 dias após o plantio. Foram coletados discos de 5 plantas de cada tratamento. Após a coleta, os discos foram secados em estufa de circulação forçada a 65°C até obtenção de peso constante. A *MFE* foi determinada de acordo com a seguinte equação:

$$MFE = MS / A,$$

onde, *A* é a área dos 4 discos e *MS* é a massa seca dos discos.

4.8 Determinação dos teores foliares de macro e micronutrientes

A determinação foi feita nas folhas ocupando a região mediana até a o ápice da planta, descartando-se folhas em início de senescência. As folhas foram secadas em estufa de circulação de ar a 65°C até obtenção de peso constante. A seguir, as folhas foram trituradas em moinho e enviadas para o Laboratório de Solos da Faculdade de Ciências Agrárias da UNESP/Botucatu para determinação dos teores foliares de macro e de micronutrientes pelo semi micrométodo Kjeldahl após digestão das amostras com ácido sulfúrico de acordo com Malavolta, Vitti e Oliveira (1997).

4.9 Determinação da massa seca das plantas

No final do experimento, 60 dias após o plantio, as plantas foram colhidas e divididas em caule, folhas e inflorescência antes de serem secas em estufa com circulação forçada de ar a 65°C por um período mínimo de 48 horas. Após este período, a massa seca das diferentes partes foi determinada usando-se para isto uma balança analítica de precisão (Figura 4).



Figura 4 - Plantas de amaranto colhidas e divididas em folhas, caule e inflorescência e pesagem em balança analítica de precisão.

4.10 Análise Estatística

Os dados coletados foram submetidos a uma Análise de Variância simples (ANOVA) usando-se o “software” SPSS/PC 9.0 para Windows. Mudanças quantitativas nas diferentes variáveis foram analisadas através de um teste de múltipla comparação para determinar diferenças entre os tratamentos ao nível de 5% de significância. Quando as variâncias eram iguais usou-se o teste Post Hoc LSD, já quando as variâncias eram diferentes, usou-se o *Games-Howell*. Os gráficos foram gerados através do programa *Microcal Origin Student Version 8.0*. As análises estatísticas para número de folhas foram realizadas após transformação dos valores das amostras em $\sqrt{(x+0.5)}$, para construção dos gráficos foram utilizados os valores reais.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Crescimento e produção de massa seca

Na Figura 5A, nota-se que nas primeiras duas semanas de medidas os 3 tratamentos com microalgas (T3, T4 e T5) apresentaram alturas maiores que os dois controles (T1 e T2). Já a partir de 42 dias após o plantio, os tratamentos com microalgas apresentaram alturas maiores que o Tratamento com 20% LA (T2), porém menores que o Tratamento com 70% LA (T1), sendo que o Tratamento com 9 g (T5) apresentou a maior altura entre os tratamentos com microalgas. Isso pode indicar que, no início, as microalgas conseguiram suprir os nutrientes que essas plantas precisavam, até mais eficientemente que o Tratamento com 70% LA (T1), mas depois de algumas semanas, houve uma possível exaustão dos nutrientes contidos nas microalgas. Também é possível observar que quanto maior a concentração de microalgas no tratamento, maior a altura alcançada, demonstrando que a concentração tem influência no aumento da altura das plantas. De forma prática, os tratamentos com microalgas T3, T4 e T5 obtiveram, respectivamente, média de altura 17,07%, 21,18% e 29,60% maior que T2 ao final do experimento.

Quanto ao diâmetro, os tratamentos com microalgas apresentaram valores superiores ao controle T2 e semelhantes ao controle T1 até cerca de 35 dias após o plantio. Após este período, os tratamentos com microalgas não foram significativamente diferentes de T2, mesmo o T5 tendo diâmetro um pouco maior que os demais, obteve-se resultados bem abaixo do observado em T1 ao final do experimento (Figura 5B).

Com relação ao número de folhas produzidas, os tratamentos com microalgas, entre 28 e 35 dias e no final do experimento, apresentaram número levemente superior ao T2 (Figura 5C). Ao final do experimento, o número de folhas de T3 e T5 praticamente se igualou ao T1, podendo ser uma consequência do atraso no início da floração.

Pode-se notar que o T1 teve um crescimento mais rápido em número de folhas e diâmetro do coleto, podendo ser explicado pelo fato de que este tratamento recebeu um nível adequado de nutrientes por meio da solução nutritiva de Long Ashton a 70%. Porém os outros tratamentos conseguiram acompanhar este crescimento visto em T1 apenas em número de folhas, enquanto em diâmetro do coleto obteve resultados bem diferentes. Já em relação ao T2, os tratamentos com adição de microalgas apresentaram resultados superiores principalmente em altura e levemente em número de folhas.

Todas as plantas de T1 já apresentavam inflorescência 42 dias após o plantio, podendo ser uma justificativa para a quase estabilização no número de folhas e diâmetro do coleto observado da terceira até a quinta semana de medidas (Fig. 5B; C). Quando o meristema apical vegetativo se torna reprodutivo, ele passa a produzir folhas modificadas, os verticilos florais, para a reprodução, deixando de produzir os nomofilos para fotossíntese. Dessa forma, as plantas direcionaram seus recursos para o desenvolvimento da inflorescência. A nutrição atrasou o início da floração em T2, T3, T4 e T5 que é evidenciado pelo contínuo aumento do número de folhas nessas plantas.

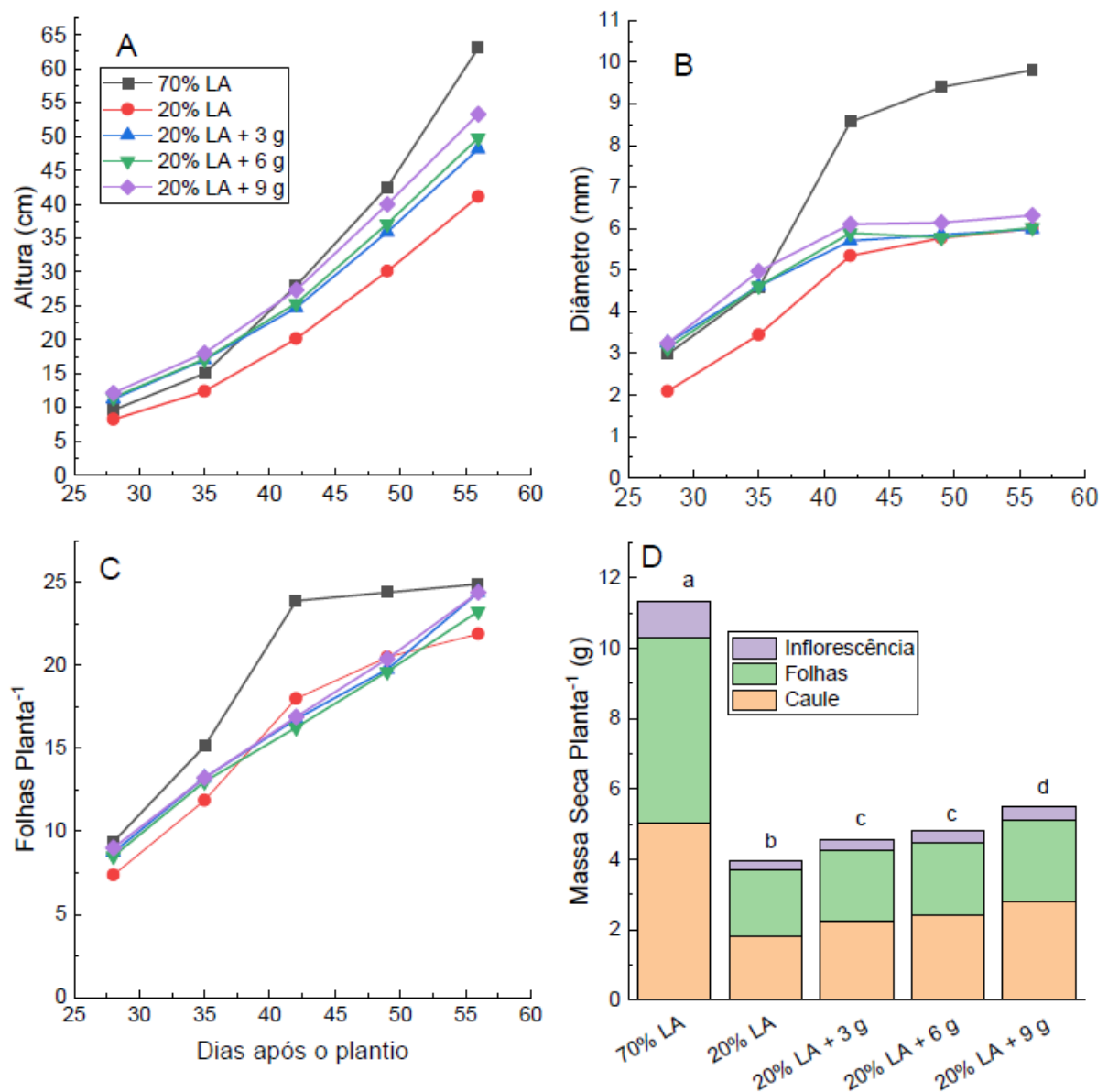


Figura 5 - Altura (A), diâmetro do coleto (B), número de folhas (C) e partição da massa seca da parte aérea (D) de plantas de amaranth cultivadas com solução nutritiva de Long Ashton 70% (70% LA); solução nutritiva de Long Ashton 20% (20% LA); solução nutritiva de Long Ashton 20% + 3 g de

microalgas úmidas (20% LA + 3 g); solução nutritiva de Long Ashton 20% + 6 g de microalgas úmidas (20% LA + 6 g) e solução nutritiva de Long Ashton 20% + 9 g de microalgas úmidas (20% LA + 9 g). Os valores são a média de 10 plantas para altura, diâmetro e número de folhas e de 8 plantas para massa seca. Os valores que compartilham as mesmas letras não são significativamente diferentes em $P < 0,05$.

Na Figura 5D pode ser observado que o aumento da quantidade de microalgas em cada tratamento resultou em aumento na quantidade de massa seca da parte aérea obtida, sendo maior que a massa obtida por T2. Porém, o aumento observado do Tratamento com 3g para o Tratamento com 6g de microalgas não foi significativamente diferente. Já T5 se destaca entre eles, apresentando 40% mais massa seca quando comparado ao T2, podendo ser observado aumento na massa seca do caule, folhas e inflorescência.

Quando comparado ao controle T1, o tratamento T5 apresentou quase metade da sua massa seca (49%). Observando cada parte da planta individualmente, T5 teve mais efeito no crescimento do caule, apresentando 55% da massa seca do caule observado no controle T1. Já em relação ao controle T2, o T5 apresentou 40% mais massa seca e teve um efeito positivo sobre o caule também, aumentando em 52% a massa seca, mas teve efeito maior na inflorescência, contribuindo com 62% a mais de massa seca. Embora não tenha sido determinada a produção de sementes, um aumento na massa seca da inflorescência pode se refletir em um aumento na produção de sementes se a polinização e fecundação não forem afetadas. Dessa forma, a aplicação da biomassa algal foi efetiva para melhorar o estado nutricional da planta e promover aumento da massa seca. Faheed e Fattah (2008) e Barone *et al.* (2019) também obtiveram resultados similares com o uso de microalgas frescas em plantas de tomate e alface, onde houve o aumento da massa seca em relação ao controle sem fertilizantes. Além disso, o uso de microalgas frescas no solo pode afetar positivamente a atividade biológica do solo, aumentando os valores do índice bioquímico potencial de fertilidade do solo, calculado a partir das atividades de enzimas que refletem o estado metabólico do solo, como desidrogenase (DHA), hidrolases do diacetato de fluoresceína (FDA), fosfomonoesterase ácida e alcalina, urease, bem como o teor de carbono orgânico no solo (BARONE *et al.*, 2019).

Estes resultados obtidos em altura e massa seca são importantes porque tem efeito na quantidade e qualidade da produção, colaborando com outros fatores para tornar o plantio do amaranto mais efetivo e produtivo (DINESHKUMAR; SUBRAMANIAN; SAMPATHKUMAR, 2020). Todas estas características de crescimento têm um efeito na

quantidade e qualidade do rendimento, que também depende de práticas culturais e insumos agrícolas.

A massa foliar específica (MFE) é uma indicação da espessura da folha e representa o investimento necessário por unidade de área foliar, uma característica da folha que depende das condições ambientais (WRIGHT; WESTOBY; REICH, 2002). Com disponibilidades de nutrientes mais baixas, as folhas apresentam maior MFE e maior espessura (WITKOWSKI; LAMONT, 1991). Plantas de amaranto supridas com Long Ashton 70% (T1) apresentaram MFE menor que as plantas dos outros tratamentos (Fig. 6) corroborando com os dados de Witkowski e Lamont (1991). A adição de microalgas úmidas ao substrato não resultou em alteração na MFE quando comparado com o controle T2, porém os tratamentos com microalgas apresentaram aumento na massa seca, então pode-se dizer que as folhas desses tratamentos eram mais finas e largas, distribuindo sua massa em maior área. O aumento da massa foliar específica vem em conjunto com o aumento de diversas classes de compostos, como os carboidratos estruturais totais e lignina, que aumenta mais de duas vezes (POORTER *et al.* 2009). Embora esses compostos não tenham sido estudados neste estudo, um aumento deles pode explicar as características esclerenquimáticas das folhas de T2 e tratamentos com microalgas.

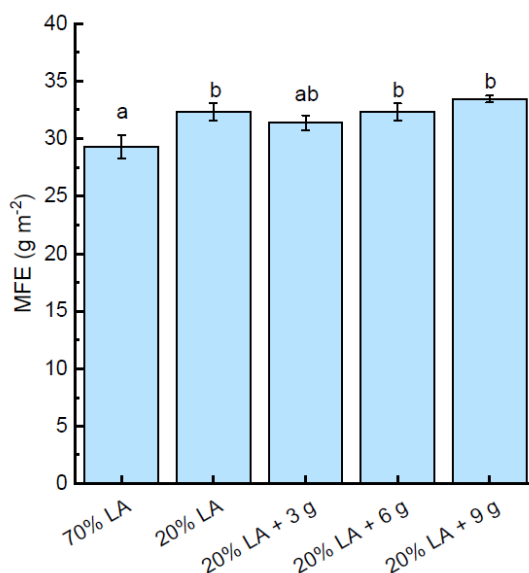


Figura 6 - Massa foliar específica (MFE) de plantas de amaranto cultivadas com solução nutritiva de Long Ashton 70% (70% LA); solução nutritiva de Long Ashton 20% (20% LA); solução nutritiva de Long Ashton 20% + 3 g de microalgas úmidas (20% LA + 3 g); solução nutritiva de Long Ashton 20% + 6 g de microalgas úmidas (20% LA + 6 g) e solução nutritiva de Long Ashton 20% + 9 g de microalgas

úmidas (20% LA + 9 g). Os valores são média±erro padrão de 5 plantas. Os valores que compartilham as mesmas letras não são significativamente diferentes em $P < 0,05$.

5.2 Trocas gasosas e pigmentos fotossintéticos

A condutância estomática (g_s) diz respeito a abertura dos estômatos, estruturas responsáveis pela realização das trocas gasosas da folha com o meio. Os três tratamentos com microalgas apresentaram resultado abaixo dos controles, não diferindo significativamente entre si. Isso indica que T3, T4 e T5 tinham estômatos mais fechados, impedindo a entrada da quantidade adequada de CO_2 , importante para o processo de fotossíntese (Figura 6A).

A variável transpiração (E) também apresentou taxa abaixo dos controles para os tratamentos com microalgas, porém teve aumento de acordo com a concentração de microalgas aplicada, indicando diferença significativa entre eles (Figura 6B). Isso condiz com o obtido na condutância estomática, pois se os estômatos estão mais fechados, há menos transpiração. Em geral, mudanças em g_s são refletidas em E , mas como houve aumento na transpiração mesmo g_s se mantendo significativamente igual entre os tratamentos com microalgas, pode haver outros fatores envolvidos neste processo.

Os tratamentos com microalgas apresentaram taxa fotossintética (A) menor que os controles, sendo T3 o que obteve menor taxa, enquanto T4 e T5 não tiveram diferença significativa entre si (Figura 6C). No entanto, a concentração de CO_2 na cavidade subestomática (C_i) diferiu significativamente comparado ao controle T2 apenas em T3 (Figura 6D). Este aumento na C_i quando comparada com T2 está relacionado a menor A em T3, resultando em um acúmulo maior de CO_2 na cavidade subestomática quando comparamos os três tratamentos com microalgas. Todos os tratamentos com 20% com ou sem microalgas apresentaram valores de C_i acima do tratamento com 70% LA. O fechamento estomático implica em menos CO_2 disponível na cavidade subestomática para fotossíntese. Se a g_s limitasse exclusivamente A , C_i deveria diminuir como consequência da remoção de CO_2 dos espaços intercelulares e redução no ressuprimento uma vez que os estômatos estão fechados. Embora a redução na g_s possa, sem dúvida, desempenhar um papel na limitação da fixação de CO_2 , não é a causa primária do declínio na atividade fotossintética em T2, T3, T4 e T5. Pelo contrário, C_i nestes tratamentos está acima do controle T1, uma evidência de que a inibição da fotossíntese não pode ser atribuída apenas ao fechamento dos estômatos, mas a outras restrições na capacidade de assimilação de CO_2 . Limitações não estomáticas podem ser: baixo teor de pigmentos (Fig. 8), baixa capacidade de condutância do mesofilo em mover o CO_2 da cavidade subestomática para

os cloroplastos onde ocorre a fotossíntese e pode ser também devido a alteração nas atividades e/ou conteúdo das enzimas envolvidas na fotossíntese (BARBOUR; KAISER, 2016; SICHER *et al.*, 2015; ZHANG *et al.*; 2015).

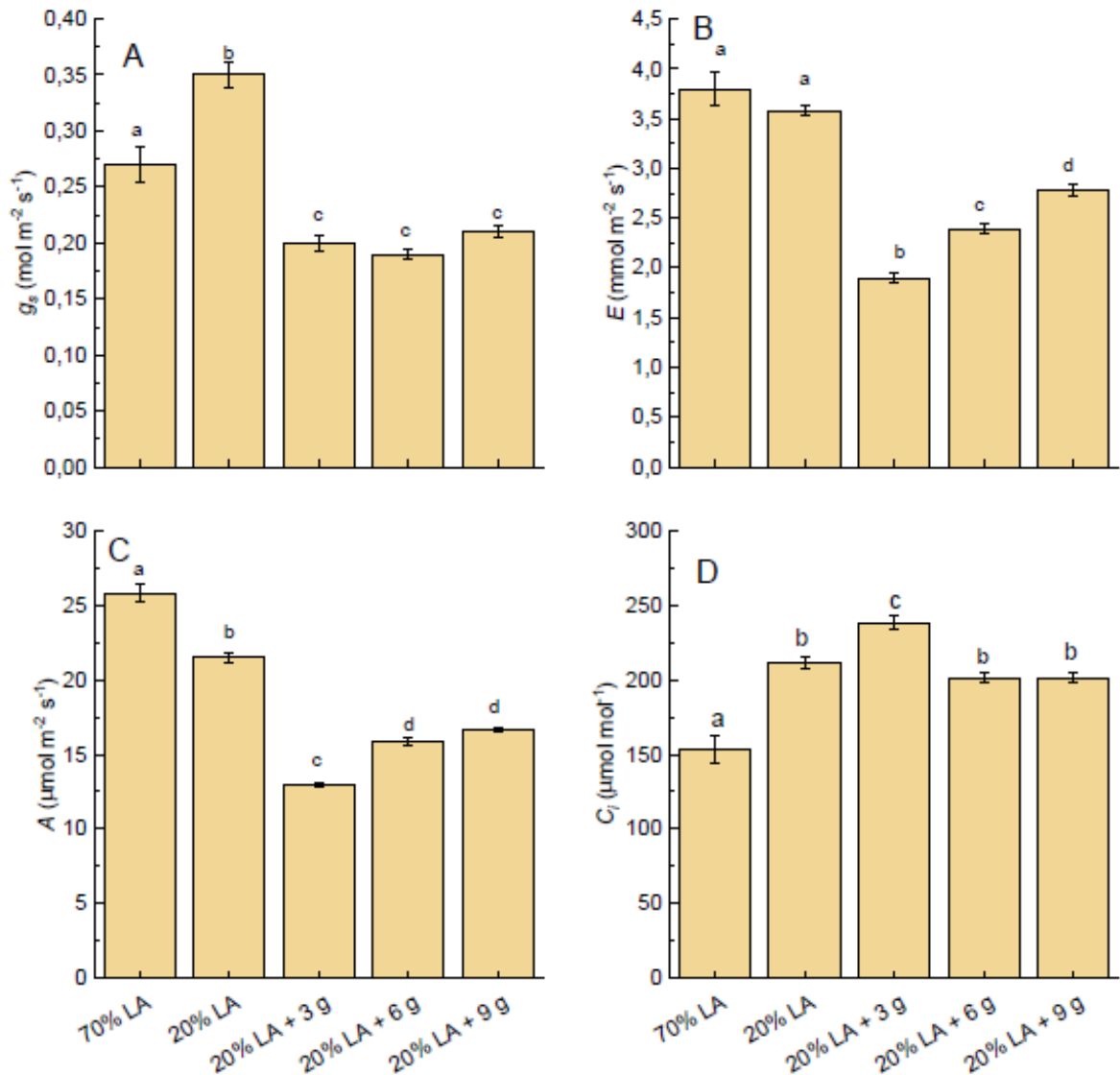


Figura 7 - Condutância estomática (A), transpiração (B), fotossíntese (C) e concentração de CO₂ na cavidade subestomática (D) de plantas de amaranto cultivadas com solução nutritiva de Long Ashton 70% (70% LA); solução nutritiva de Long Ashton 20% (20% LA); solução nutritiva de Long Ashton 20% + 3 g de microalgas úmidas (20% LA + 3 g); solução nutritiva de Long Ashton 20% + 6 g de microalgas úmidas (20% LA + 6 g) e solução nutritiva de Long Ashton 20% + 9 g de microalgas úmidas (20% LA + 9 g). Os valores são média±erro padrão de 8 plantas. Os valores que compartilham as mesmas letras não são significativamente diferentes em $P < 0,05$.

As plantas dos tratamentos com microalgas apresentaram um crescimento acelerado no início em relação aos controles que pode ser observado nas Figuras 5A; B; C. Após este período inicial acelerado, a quantidade aplicada de microalgas pode não ter sido capaz de fornecer nutrientes em quantidades adequadas para manter nutricionalmente este crescimento inicial, havendo esgotamento principalmente de N e Mg, nutrientes de grande importância para a síntese de clorofila e outros processos para o desenvolvimento das plantas, levando a uma aceleração da perda de coloração verde (clorofila) da folha. Isso é evidenciado em estudos que mostram que deficiência em macronutrientes (N, Ca, K, Mg, P) reduzem a taxa fotossintética, condutância estomática, transpiração e teor de clorofila em plantas de milho e amaranto, ambas plantas C4 (SITKO *et al.* 2019).

Os tratamentos com microalgas produziram mais massa seca na parte aérea do que o controle T2. Com isso, as plantas precisariam de um suprimento constante de nutrientes para a manutenção dessa massa inicialmente produzida. Porém, provavelmente devido à exaustão inicial, houve falta de nutrientes para essa manutenção e como consequência houve redução nos teores dos pigmentos acarretando na inibição da taxa fotossintética. Essa exaustão pode estar relacionada a alguma deficiência nutricional, devido ao fato de que houve apenas duas aplicações de microalgas e que o amaranto possui crescimento rápido e um ciclo de vida curto (SPEHAR *et al.* 2003) e visto que estudos mostraram que a deficiência de N, K e Mg reduzem o teor de clorofila (SITKO *et al.* 2019, CECHIN; VALQUILHA, 2019).

Além de apresentarem resultados menores de clorofila *a* e *b*, os tratamentos com microalgas também apresentaram resultados menores de carotenoides. Eles são pigmentos acessórios da fotossíntese, auxiliando na captação de luz, mas também possuem função de proteção prevenindo fotodestruição do aparato fotossintético que ocorre em situações em que há muita luz no ambiente (FRANK; COGDELL, 1996; HASHIMOTO; URAGAMI; COGDELL, 2016). Com isso, além de ter efeitos negativos na fotossíntese, os tratamentos com microalgas também ficaram mais expostos aos efeitos de fotodestruição.

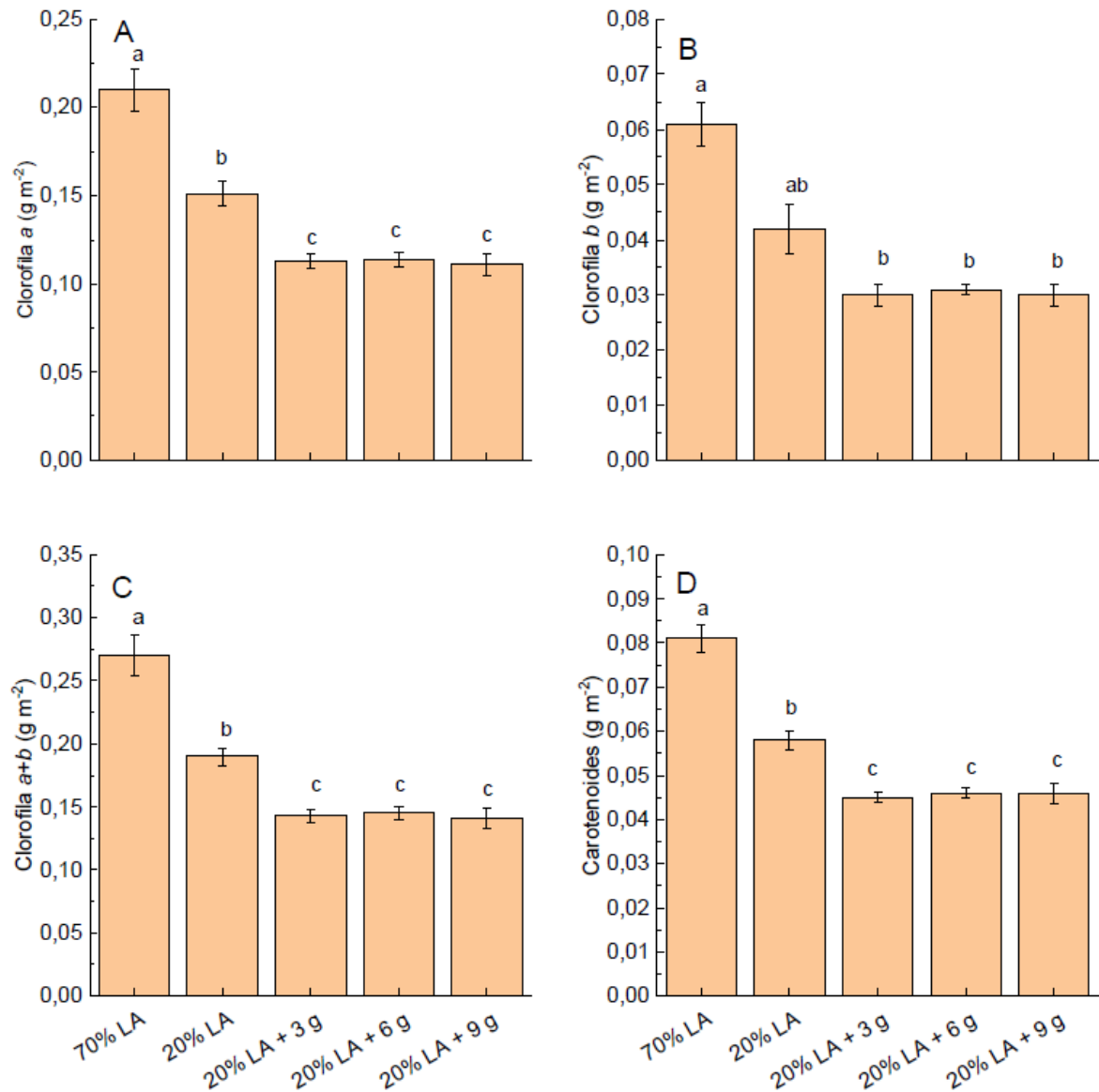


Figura 8 - Teores de clorofila *a* (A), clorofila *b* (B), clorofila *a+b* (C) e carotenoides (D) em plantas de amaranto cultivadas com solução nutritiva de Long Ashton 70% (70% LA); solução nutritiva de Long Ashton 20% (20% LA); solução nutritiva de Long Ashton 20% + 3 g de microalgas úmidas (20% LA + 3 g); solução nutritiva de Long Ashton 20% + 6 g de microalgas úmidas (20% LA + 6 g) e solução nutritiva de Long Ashton 20% + 9 g de microalgas úmidas (20% LA + 9 g). Os valores são média±erro padrão de 5 plantas. Os valores que compartilham as mesmas letras não são significativamente diferentes em $P < 0,05$.

Em relação a eficiência instantânea do uso da água, os tratamentos T3 e T4 apresentaram valores maiores que o controle T2, pois reduziram mais a taxa de transpiração do que a taxa de fotossíntese, dessa forma conseguindo fixar mais CO₂ por molécula de água perdida via transpiração (Fig. 9).

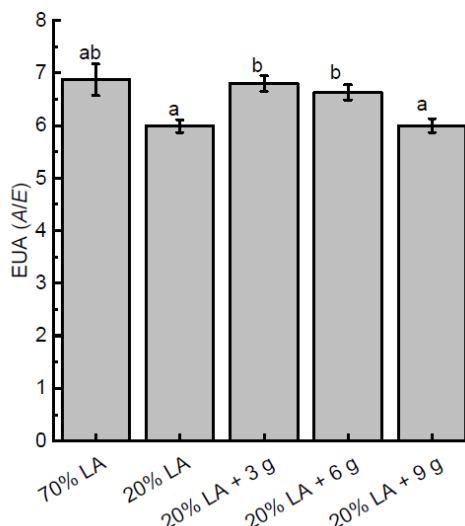


Figura 9. Eficiência instantânea do uso da água (EUA) em plantas de amaranto cultivadas com solução nutritiva de Long Ashton 70% (70% LA); solução nutritiva de Long Ashton 20% (20% LA); solução nutritiva de Long Ashton 20% + 3 g de microalgas úmidas (20% LA + 3 g); solução nutritiva de Long Ashton 20% + 6 g de microalgas úmidas (20% LA + 6 g) e solução nutritiva de Long Ashton 20% + 9 g de microalgas úmidas (20% LA + 9 g). Os valores são média $\pm$ erro padrão de 8 plantas. Os valores que compartilham as mesmas letras não são significativamente diferentes em $P < 0,05$.

5.3 Teores de macro e micronutrientes foliares

Os três tratamentos com microalgas apresentaram maiores concentrações dos nutrientes Ca, Mg, B e Zn em comparação aos dois tratamentos controles (Tabela 1). Enquanto apresentaram menores concentrações dos nutrientes N, P e Cu em comparação ao tratamento com 70% LA, se aproximando aos valores encontrados para o tratamento com 20% LA. O nitrogênio se destaca como um constituinte essencial de aminoácidos, ácidos nucleicos e proteínas, além de fazer parte do aparelho fotossintético, afetando a fotossíntese e crescimento. Quanto ao K, Fe e Mn, os tratamentos com microalgas apresentaram concentrações menores quando comparados aos dois tratamentos controles. Já o S se manteve próximo em todos os tratamentos. O potássio tem importantes funções na célula, como a atuação no movimento dos estômatos, na ativação enzimática, síntese de proteínas e na fotossíntese. Por conta disso, a menor concentração desse nutriente em T3, T4 e T5 pode ter trazido consequências negativas ao desenvolvimento das plantas, como a baixa taxa de fotossíntese (Fig. 7C).

Para espécies C_4 como o amaranto, o Na é um nutriente necessário e a sua deficiência impede a conversão de piruvato em fosfoenolpiruvato, podendo reduzir a atividade do fotossistema II e alterar sua estrutura, prejudicando o processo de fotossíntese (SUBBARAO,

2003). As microalgas parecem ter suprido a necessidade deste nutriente uma vez que seu teor nas folhas foi aumentado (Tabela 1). Assim, a inibição da fotossíntese não está relacionada a uma falta de Na.

Estudos realizados com várias culturas mostraram que o limite de toxidez por Zn no solo está entre 40-110 mg de Zn por Kg de solo e os níveis tóxicos para a massa seca da parte aérea de 100 a 673 mg kg⁻¹, dependendo da cultura (FAGERIA, 2000). Embora as microalgas tenham apresentado uma concentração de Zn de 291 mg Kg⁻¹, as folhas do amaranto não apresentaram teores tóxicos deste elemento (Tabela 1), sugerindo possíveis mecanismos de evitar absorção em níveis tóxicos pelas raízes.

Como discutido anteriormente, fatores não estomáticos estão envolvidos nos resultados obtidos neste estudo e dentre eles, que incluem principalmente o conteúdo de PSI, PSII e LHCs, Cyt b6f, ATP sintase e enzimas fotossintéticas, estão os nutrientes que desempenham papéis diretos ou indiretos na fotossíntese, afetando a síntese de clorofila, a atividade e conteúdo das enzimas da fotossíntese. Nitrogênio, fósforo e ferro são três nutrientes que foram bem estudados em relação aos seus papéis e como atuam na fotossíntese (PORTER; LAWLOR, 1991). Quando há deficiência de N em plantas C₄ como o amaranto, a clorofila *a* e clorofila *b* reduzem em resposta (TAZOE; NOGUCHI; TERASHIMA, 2006). Isso se deve ao fato de o nitrogênio ser um importante componente da clorofila, estando extremamente correlacionados, (MU; CHEN, 2021; CECHIN; VALQUILHA, 2019) além de compor as proteínas do ciclo de Calvin e os tilacoides.

O ferro é um micronutriente que tem seu principal efeito nas reações da fase luminosa da fotossíntese. Quando em deficiência, reduz a clorofila *a*, *b* e carotenoides e a quantidade de membranas do tilacoide por cloroplasto. Como pode ser visto na Tabela 1, o teor de Fe nas folhas dos tratamentos com adição de biomassa algal está muito abaixo do teor encontrado nas folhas do controle T2. Enquanto o fósforo é um macronutriente que tem maior efeito no ciclo de Calvin e na regeneração da Rubisco (MARSCHNER, 1983; PORTER; LAWLOR, 1991). O magnésio, mesmo desempenhando papéis importantes na fotossíntese, sendo o elemento central da molécula de clorofila, não tem tanta evidência como N, P e K. Sua deficiência pode diminuir a assimilação de CO₂ foliar, como observado por Li et al. (2017) e Cai et al. (2019), que além disso, obtiveram também redução na condutância estomática (g_s) e nas concentrações de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila *a+b* e carotenoides em folhas inferiores com deficiência de Mg de plântulas de *Citrus sinensis*. Os tratamentos com microalgas apresentaram concentrações maiores que T1 em relação ao Mg e o T2 também, podendo ter ocorrido alguma interação entre nutrientes.

Os tratamentos com microalgas apresentaram concentrações parecidas de potássio em relação ao relatado por Srivastava (2011), que avaliou diferentes espécies de amaranto quanto à qualidade nutricional das folhas. Quanto ao cálcio e sódio, o apresentado nos tratamentos com microalgas ficou abaixo do relatado, porém é dito que estes valores foram superiores aos encontrados em outros estudos, sendo 4 a 5 vezes maior em relação ao sódio. Já em relação ao ferro, também foram inferiores em relação ao encontrado por Srivastava (2011), porém, é dito que é algo comum em espécies de hortaliças de folhas verdes por conta da grande quantidade de oxalatos que podem diminuir a disponibilidade de Fe nessas plantas.

Como foi visto anteriormente, as plantas de amaranto estavam entrando em seu período reprodutivo, produzindo suas inflorescências. Durante essa fase, é sabido que a atividade da raiz e a absorção de nutrientes geralmente diminuem (NIU *et al.*, 2010; CIAMPITTI *et al.*, 2013; GREGERSEN *et al.*, 2013). Com isso, há o início da remobilização de nutrientes para desenvolver o órgão reprodutivo, sendo que a remobilização de N sempre resulta na diminuição da taxa fotossintética (MU; CHEN, 2021), que pode ser observado neste estudo. Além disso, o amaranto é uma planta de ciclo curto e crescimento rápido, então talvez necessitasse de mais doses de biomassa algal ou uma maior concentração, pois pode ter havido um esgotamento de alguns nutrientes resultando em menor concentração nos tratamentos T3, T4 e T5. Por fim, também pode ter havido alguma interação entre os nutrientes, causando inibição na absorção de alguns deles ou propiciando maior absorção de outros (ROMERA *et al.*, 2021), porém apenas análises nutricionais mais específicas conseguiriam explicar exatamente o que ocorreu no experimento.

Tabela 1 - Concentração de macro e micronutrientes presentes no tecido foliar das plantas de amaranto em cada tratamento e na biomassa algal

Nutrientes	Macronutrientes (g Kg ⁻¹)						Micronutrientes (mg Kg ⁻¹)					
	N	P	K	Ca	Mg	S	B	Cu	Fe	Mn	Zn	Na
Biomassa algal	5,6	1,3	0,1	0,4	0,2	0,4	-	27,0	510,0	13,0	291,0	164,0
70% LA	28,0	6,4	60,0	7,0	13,9	3,9	24,0	15,0	229,0	359,0	36,0	170,0
20% LA	20,0	4,6	39,0	7,0	18,7	4,9	35,0	9,0	115,0	252,0	25,0	160,0
20% LA+3 g	22,0	5,1	35,0	11,0	24,1	5,4	42,0	10,0	86,0	152,0	27,0	180,0
20% LA+6 g	22,0	5,0	36,0	12,0	24,9	4,8	45,0	9,0	78,0	176,0	30,0	180,0
20% LA+9 g	20,0	4,6	31,0	11,0	23,0	5,0	45,0	11,0	75,0	186,0	43,0	170,0

- não determinado

6 CONCLUSÃO

Este estudo mostra que a adição de biomassa algal nos tratamentos T3, T4 e T5 teve resultado positivo principalmente em relação à massa seca e altura. Porém, estes tratamentos apresentaram menor taxa fotossintética, ocasionada principalmente por limitações não estomáticas, como os pigmentos fotossintéticos. Isso pode estar relacionado a alguma deficiência nutricional, como N, P e K, que apresentaram concentrações menores nos tratamentos com microalgas. Esta deficiência nutricional pode ter resultado da exaustão dos nutrientes das microalgas devido ao crescimento inicial acelerado das plantas de amaranto e ao número de aplicações ou doses usadas neste estudo. Dada a importância de *A. cruentus* como alimento e do uso de microalgas crescidas em esgoto sanitário para realizar o processo de economia circular é necessária uma compreensão mais ampla sobre os efeitos das microalgas como biofertilizante dessa espécie. Com isso, mais estudos devem ser realizados especialmente em relação ao número de aplicações e diferentes dosagens de biomassa algal a fim de entender como pode ser feito o melhor uso de biofertilizante no cultivo de amaranto.

REFERÊNCIAS

- ALEGBEJO, J. O. Nutritional value and utilization of *Amaranthus* (*Amaranthus* spp.)—a review. **Bayero Journal of Pure and Applied Sciences**, v. 6, n. 1, p. 136-143, 2013.
- ALEMAYEHU, F. R.; BENDEVIS, M. A.; JACOBSEN, S. E. The potential for utilizing the seed crop amaranth (*Amaranthus* spp.) in East Africa as an alternative crop to support food security and climate change mitigation. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 201, n. 5, p. 321-329, 2015.
- AMAYA-FARFAN, J. MARCILIO, R.; SPEHAR, C. R. Deveria o Brasil investir em novos grãos para sua alimentação? A proposta do amaranto (*Amaranthus* SP.) **Segurança Alimentar e Nutricional**. Campinas, v.12, n.1, p. 47-56, 2005.
- ATLAS ESGOTOS. 2017. Disponível em: <http://atlasesgotos.ana.gov.br/> . Acesso em 17 de mar. 2020.
- BAMBARADENIYA, C. N. B.; AMERASINGHE, F. P., Biodiversity Associated with the Rice Field Agroecosystem in Asian Countries: A Brief Review, **International Water Management Institute**, Colombo, Sri Lanka, 2003.
- BARBOUR, M. M.; KAISER, B. N. The response of mesophyll conductance to nitrogen and water availability differs between wheat genotypes. **Plant Science**, v. 251, p. 119-127, 2016.
- BARONE, V. *et al.* Effect of living cells of microalgae or their extracts on soil enzyme activities. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 65, n. 5, p. 712-726, 2019.
- CAI, Y. *et al.* Responses of reactive oxygen species and methylglyoxal metabolisms to magnesium-deficiency differ greatly among the roots, upper and lower leaves of *Citrus sinensis*. **BMC plant biology**, v. 19, n. 1, p. 1-20, 2019.
- CECHIN, I.; PRESS, M. C. Nitrogen relations of the sorghum-*Striga hermonthica* host-parasite association: growth and photosynthesis. **Plant, Cell & Environment**, v. 16, n. 3, p. 237-247, 1993.
- CECHIN, I.; VALQUILHA, E. M. Nitrogen effect on gas exchange characteristics, dry matter production and nitrate accumulation of *Amaranthus cruentus* L. **Brazilian Journal of Botany**, v. 42, n. 3, p. 373-381, 2019.
- CHISTI, Y. Microalgae: our marine forests-Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology, A. Richmond, editor, Blackwell, Oxford, **Biotechnology Advances**, v. 7, n. 22, p. 565-566, 2004.
- CIAMPITTI, I. A. *et al.* Maize nutrient accumulation and partitioning in response to plant density and nitrogen rate: I. Macronutrients. **Agronomy journal**, v. 105, n. 3, p. 783-795, 2013.
- COPPENS, J. *et al.* The use of microalgae as a high-value organic slow-release fertilizer results in tomatoes with increased carotenoid and sugar levels. **Journal of Applied phycology**, v. 28, n. 4, p. 2367-2377, 2016.

DERNER, R. B. *et al.* Microalgas, produtos e aplicações. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 6, p. 1959-1967, Dec. 2006.

DINESHKUMAR, R.; SUBRAMANIAN, J.; SAMPATHKUMAR, P. Prospective of *Chlorella vulgaris* to augment growth and yield parameters along with superior seed qualities in black gram, *Vigna mungo* (L.). **Waste and Biomass Valorization**, v. 11, n. 4, p. 1279-1287, 2020.

EL WALI, M.; GOLROUDBARY, S. R.; KRASLAWSKI, A. Circular economy for phosphorus supply chain and its impact on social sustainable development goals. **Science of The Total Environment**, v. 777, p. 146060, 2021.

ELHAFIZ, A. *et al.* *Chlorella vulgaris* and *Chlorella pyrenoidosa* live cells appear to be promising sustainable biofertilizer to grow rice, lettuce, cucumber and eggplant in the UAE soils. **Recent Research in Science and Technology**, p. 14-21, 2015.

FAGERIA, N. K. Níveis adequados e tóxicos de zinco na produção de arroz, feijão, milho, soja e trigo em solo de cerrado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 4, n. 3, p. 390-395, 2000.

FAHEED, F. A.; FATTAH, Z. A. Effect of *Chlorella vulgaris* as bio-fertilizer on growth parameters and metabolic aspects of lettuce plant. **Journal of Agriculture and Social Sciences** (Pakistan), 2008.

FRANK, H. A.; COGDELL, R. J. Carotenoids in photosynthesis. **Photochemistry and photobiology**, v. 63, n. 3, p. 257-264, 1996.

GALHANO, V. *et al.* Impact of herbicides on non-target organisms in sustainable irrigated rice production systems: state of knowledge and future prospects. **Herbicides and environment**. InTech, Rijeka, p. 45-72, 2011.

GREGERSEN, P. L. *et al.* Plant senescence and crop productivity. **Plant molecular biology**, v. 82, n. 6, p. 603-622, 2013.

GRUBIŠIĆ, M.; IVANČIĆ Š. M.; ŠANTEK, B. Potential of Microalgae for the Production of Different Biotechnological Products. **Chemical and biochemical engineering quarterly**, v. 33, n. 2, p. 161-181, 2019.

HASHIMOTO, H.; URAGAMI, C.; COGDELL, R. J. Carotenoids and photosynthesis. **Carotenoids in nature**, p. 111-139, 2016.

HEWITT, E. J. Sand and water culture methods used in the study of plant nutrition Technical Communication No. 22. **Commonwealth Bureau of Horticultural and Plantation Crops**, East Malling, Kent UK, 1966.

INSTITUTO TRATA BRASIL. Esgoto. 2019. Disponível em: <http://www.tratabrasil.org.br/saneamento/principais-estatisticas/no-brasil/esgoto>. Acesso em 17 de mar. 2020.

KAUWENBERGH, S. J. **World phosphate rock reserves and resources**. Muscle Shoals: IFDC, 2010.

KERBAUY, Gilberto Barbante. **Fisiologia vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

KINUPP, V.F.; LORENZI, H. (2014). **Plantas alimentícias não convencionais (PANC) no Brasil: guia de identificação, aspectos nutricionais e receitas ilustradas**. Instituto Plantarum de Estudos da Flora, São Paulo, 768 pg.

LI, C. P. *et al.* Magnesium-deficiency-induced alterations of gas exchange, major metabolites and key enzymes differ among roots, and lower and upper leaves of *Citrus sinensis* seedlings. **Tree physiology**, v. 37, n. 11, p. 1564-1581, 2017.

LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In: **Methods in enzymology**. Academic Press, 1987. p. 350-382.

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

MARSCHNER, H. General introduction to the mineral nutrition of plants. In: Inorganic plant nutrition. **Springer**, Berlin, Heidelberg, 1983. p. 5-60.

MIHELIC, J. R.; FRY, L. M.; SHAW, R. Global potential of phosphorus recovery from human urine and feces. **Chemosphere**, v. 84, n. 6, p. 832-839, 2011.

MILLAR N. *et al.* Nitrous oxide (N₂O) flux responds exponentially to nitrogen fertilizer in irrigated wheat in the Yaqui Valley, Mexico. **Agric Ecosyst Environ** 261:125–132, 2018.

MOSYAKIN, S.L.; ROBERTSON, K. R. *Amaranthus*. In: **Flora of North America**. North of Mexico. Oxford University Press, New York, USA, 2003.

MU, X.; CHEN, Y. The physiological response of photosynthesis to nitrogen deficiency. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 158, p. 76-82, 2021.

MUELLER, N. D. *et al.* Closing yield gaps through nutrient and water management. **Nature**, v. 490, n. 7419, p. 254-257, 2012.

NIU, J. *et al.* Changes in root length at the reproductive stage of maize plants grown in the field and quartz sand. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 173, n. 2, p. 306-314, 2010.

POORTER, H. *et al.* Causes and consequences of variation in leaf mass per area (LMA): a meta-analysis. **New phytologist**, v. 182, n. 3, p. 565-588, 2009.

PORTER, J. R.; LAWLOR, David W. (Ed.). Plant growth: interactions with nutrition and environment. **CUP Archive**, 1991.

RASTOGI, A.; SHUKLA, S. Amaranth: a new millennium crop of nutraceutical values. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 53, n. 2, p. 109-125, 2013.

RAZZAK, S. A. *et al.* Integrated CO₂ capture, wastewater treatment and biofuel production by microalgae culturing—a review. **Renewable and sustainable energy reviews**, v. 27, p. 622-653, 2013.

ROMERA F. J. *et al.* Editorial: Nutrient Interactions in Plants. **Front Plant Sci.** 2021

SAGE, R. F.; MONSON, Russell K. **C4 plant biology**. Elsevier, p. 3-11, 1998.

SAUER, J. D. The grain amaranthus; a survey of their history classification. **Annals of Missouri Botanic Garden**, St. Louis, v. 37, p. 561-618, 1950.

SICHER, R. *et al.* Water-deficiency effects on single leaf gas exchange and on C4 pathway enzymes of maize genotypes with differing abiotic stress tolerance. **Photosynthetica**, v. 53, n. 1, p. 3-10, 2015.

SILVA, A. C. M. *et al.* Biofertilizantes de microalgas: desafios para uma produção competitiva e sustentável. In: **Embrapa Agroenergia-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: CONGRESSO DA REDE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA E INOVAÇÃO DE BIODIESEL, 7., 2019, Florianópolis. Empreendedorismo e inovação: construindo um futuro competitivo para o biodiesel: anais. Florianópolis, SC: Rede Brasileira de Tecnologia e Inovação De Biodiesel, 2019., 2019.

SILVA, G. H. R. *et al.* Feasibility of closing nutrient cycles from black water by microalgae-based technology. **Algal Research**, v. 44, p. 101715, 2019.

SITKO, K. *et al.* Influence of short-term macronutrient deprivation in maize on photosynthetic characteristics, transpiration, and pigment content. **Scientific Reports**, 2019, v. 9, artigo 14181, DOI: 10.1038/s41598-019-505.

SPEHAR, C. R. *et al.* Amaranth BRS Alegria: alternative for diversification of cropping systems. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 38, n. 5, p. 659-663, 2003.

SRIVASTAVA, R. Nutritional quality of some cultivated and wild species of *Amaranthus* L. **International Journal of pharmaceutical sciences and research**, v. 2, n. 12, p. 3152, 2011.

SUBBARAO, G. V. *et al.* Sodium—a functional plant nutrient. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 22, n. 5, p. 391-416, 2003.

SULEIMAN, Afnan Khalil Ahmad *et al.* From toilet to agriculture: Fertilization with microalgal biomass from wastewater impacts the soil and rhizosphere active microbiomes, greenhouse gas emissions and plant growth. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 161, p. 104924, 2020.

TAIZ, L. *et al.* **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Artmed Editora, 2017.

TAZOE, Y.; NOGUCHI, K. O.; TERASHIMA, I. Effects of growth light and nitrogen nutrition on the organization of the photosynthetic apparatus in leaves of a C4 plant, *Amaranthus cruentus*. **Plant, Cell & Environment**, v. 29, n. 4, p. 691-700, 2006.

WITKOWSKI, E. T. F.; LAMONT, B. B. Leaf specific mass confounds leaf density and thickness. **Oecologia**, 88:486-493, 1991.

WRIGHT, I. J.; WESTOBY, M.; REICH, P. B. Convergence towards higher leaf mass per area in dry and nutrient-poor habitats has different consequences for leaf life span. **Journal of Ecology**, 90, 534–543, 2002.

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.

ZHANG, R. H. *et al.* Photosynthetic performance of maize hybrids to drought stress. **Russian Journal of Plant Physiology**, v. 62, n. 6, p. 788-796, 2015.