



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
CAMPUS DE BAURU - FACULDADE DE CIÊNCIAS**

ELISA TEÓFILO FERREIRA

**EFEITO NUTRICIONAL DE MICROALGAS CULTIVADAS EM ÁGUA
RESIDUÁRIA PREVIAMENTE TRATADA NO CRESCIMENTO DE
Amaranthus cruentus L.**

Bauru

2022

ELISA TEÓFILO FERREIRA

**EFEITO NUTRICIONAL DE MICROALGAS CULTIVADAS EM ÁGUA
RESIDUÁRIA PREVIAMENTE TRATADA NO CRESCIMENTO DE
Amaranthus cruentus L.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho” – UNESP Câmpus de Bauru,
para obtenção do título de Bacharel em Ciências
Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Henrique Ribeiro
da Silva

Coorientadora: Prof^ª. Dr^ª. Inês Cechin

Bauru

2022

F383e

Ferreira, Elisa Teófilo

Efeito nutricional de microalgas cultivadas em água residuária previamente tratada no crescimento de *Amaranthus cruentus* L. / Elisa Teófilo Ferreira. -- Bauru, 2022

47 p.

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências, Bauru

Orientador: Gustavo Henrique Ribeiro da Silva

Coorientadora: Inês Cechin

1. Nutrição vegetal. 2. Fertilizante orgânico. 3. Recuperação de recursos. 4. Amarantho. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências, Bauru. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

ELISA TEÓFILO FERREIRA

**EFEITO NUTRICIONAL DE MICROALGAS CULTIVADAS EM ÁGUA
RESIDUÁRIA PREVIAMENTE TRATADA NO CRESCIMENTO DE
Amaranthus cruentus L.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho” – UNESP Câmpus de Bauru,
para obtenção do título de Bacharel em Ciências
Biológicas.

Bauru, 23 de março de 2022.

Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Gustavo Henrique Ribeiro da Silva - UNESP - Bauru/SP

Prof^ª. Dr^ª. Inês Cechin - UNESP - Bauru/SP

Prof. Dr. Aloísio Costa Sampaio - UNESP - Bauru/SP

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à minha família, meus pais Márcia e Luiz, meus irmãos Isabela, Laura, Alexandre e Júlia, e ao meu namorado Rodrigo, por todo amor, incentivo e apoio durante toda minha graduação;

Agradeço aos meus orientadores Prof. Dr. Gustavo Henrique Ribeiro da Silva e Prof^a. Dr^a. Inês Cechin pela oportunidade de realizar minha Iniciação Científica, por aceitarem conduzir o meu trabalho de pesquisa, pela atenção e assistência oferecida, e por toda a confiança depositada em mim;

Agradeço aos colegas do Laboratório de Hidráulica e Saneamento, e do Laboratório de Fisiologia Vegetal e Horticultura, pelo auxílio durante o desenvolvimento da minha Iniciação Científica;

Agradeço às minhas amigas Nádia e Lígia, pela companhia e auxílio durante toda a graduação pela qual passamos juntas;

Agradeço à UNESP (Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”), ao corpo docente e todos os funcionários que contribuíram direta e indiretamente para a conclusão deste trabalho ; e

Agradeço à FAPESP (Projeto Auxílio de Pesquisa FAPESP 2018/18367-1 e Projeto Iniciação Científica FAPESP 2020/06459-9) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (Projeto nº 427936/2018-7), pelo financiamento da minha pesquisa de Iniciação Científica.

RESUMO

Atualmente, observa-se que os padrões de tratamento de esgoto sanitário e a fertilização agrícola não atendem as necessidades de uma população em constante crescimento. Para acompanhar esses avanços, novos métodos devem ser propostos. Os sistemas de saneamento empregados em grande escala não possuem meios de recuperação de nutrientes e não são eficientes na remoção total de resíduos, emitindo cargas poluidoras nos locais de lançamento, sendo este um dos fatores que contribuem para a eutrofização de corpos de água. Outro fator contribuinte para a eutrofização de corpos de água é a fertilização química empregada prioritariamente na agricultura, uma prática prejudicial ao meio ambiente e cada vez mais insustentável devido à escassez de reservas de fósforo e os crescentes custos. Uma vez que o setor agrícola depende de meios de fertilização para manter sua produção em grande escala, novos métodos devem ser propostos. Paralelamente, os sistemas de tratamento de esgoto precisam de alternativas para a recuperação de seus nutrientes. Deste modo, o presente estudo teve como objetivo analisar a efetividade de microalgas nativas crescidas em águas residuárias previamente tratadas anaerobiamente, alternativa para despoluição e recuperação de nutrientes, como fertilizante orgânico no crescimento de *Amaranthus cruentus* L., um vegetal de ciclo de crescimento rápido e crescente interesse econômico. Inicialmente foi realizado o cultivo das microalgas em esgoto sanitário previamente tratado anaerobiamente, sedimentação e secagem. Foram utilizadas sementes de *A. cruentus* L. cv. BRS Alegria, em vasos de 4 L contendo vermiculita, em casa de vegetação. O experimento foi conduzido com 5 tratamentos: T1 (controle) - solução de Long Ashton 70%; T2 (controle) - solução de L. A. 20%; T3 - solução de L. A. 20% + 2 g de microalgas; T4 - solução L. A. 20% + 4 g de microalgas; T5 - solução de L. A. 20% + 8 g de microalgas. Foram realizadas medidas semanais de crescimento, medidas de trocas gasosas, e no final do experimento, medidas de massa seca, análises de nutrientes (foliares e microalgais) e pigmentos fotossintéticos (clorofilas *a*, *b* e carotenoides). As análises de nutrientes das microalgas demonstraram que sua biomassa possui características favoráveis à sua aplicação como fertilizante orgânico, chamando atenção somente para sua deficiência em K e excesso de micronutrientes. A aplicação das microalgas favoreceu o crescimento, produção de folhas e produção de massa seca, especialmente no T4 e T5. Nos pigmentos fotossintéticos e trocas gasosas não foram observadas diferenças significativas do T4 e T5 em relação ao T2, demonstrando um possível efeito da deficiência de Fe e Mn apresentados nas análises foliares. O T3, entretanto, apresentou maior taxa fotossintética (*A*), possivelmente relacionado a sua menor produção de massa seca e, conseqüentemente, menor diluição de nutrientes nos tecidos.

Palavras-chave: Nutrição vegetal, fertilizante orgânico, recuperação de recursos, amaranto.

ABSTRACT

Currently, it is observed that sanitary sewage treatment standards and agricultural fertilization do not meet the needs of a constantly growing population. Consequently, looking to match up with these advances, new methods must be proposed. Sanitation systems used on a large scale do not have nutrient recovery means and are inefficient in total waste removal, emitting polluting loads in the release sites, which is one of the factors that contribute to the eutrophication of water bodies. Another contributing factor to the eutrophication of water bodies is chemical fertilization used primarily in agriculture, a practice that is harmful to the environment and increasingly unsustainable due to the scarcity of phosphorus reserves and rising costs. Since the agricultural sector depends on fertilization means to maintain its production on a large scale, new methods must be proposed. At the same time, sewage treatment systems need alternatives to recover their nutrients. Thus, the present study is aimed to analyze the effectiveness of native microalgae grown in previously anaerobically treated wastewater, an alternative for depollution and nutrient recovery, as an organic fertilizer in the growth of *Amaranthus cruentus* L., a plant with a fast growth cycle and growing economic interest. Initially, the microalgae were cultivated in sanitary sewage previously anaerobically treated, and later they were sedimented and dried. The Seeds of *A. cruentus* L. cv. BRS Alegria, were used in 4 L pots containing vermiculite, in a greenhouse. The experiment was conducted with 5 treatments: T1 (control) - 70% Long Ashton solution; T2 (control) - 20% L.A. solution; T3 - 20% L.A. solution + 2 g of microalgae; T4 - L.A. solution 20% + 4 g of microalgae; T5 - 20% L.A. solution + 8 g of microalgae. Furthermore, along the experiment weekly growth measurements and gas exchange measurements were performed; and at the end of experiment was performed dry mass measurements, analysis of nutrients (foliar and microalgal) and analysis of photosynthetic pigments. Nutrient analysis of microalgae showed that its biomass has characteristics favorable to its application as organic fertilizer, drawing attention only to its deficiency in K and excess of micronutrients. The application of microalgae favored growth, leaf production, and dry mass production, especially in T4 and T5. In photosynthetic pigments and gas exchange, no significant differences were observed between T4 and T5 in relation to T2, demonstrating a possible effect of Fe and Mn deficiency presented in the foliar analysis. T3, however, showed a higher photosynthetic rate (*A*), possibly related to its lower production of dry mass and, consequently, lower nutrient dilution in the tissues.

Keywords: Plant nutrition, organic fertilizer, resource recovery, amaranth.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
1.1 MICROALGAS NO TRATAMENTO DE ESGOTO SANITÁRIO	10
1.2 NUTRIÇÃO VEGETAL E O USO DE MICROALGAS COMO FERTILIZANTE ORGÂNICO	11
1.3 AMARANTO: ORIGEM E CARACTERÍSTICAS	13
2 OBJETIVO	15
3 MATERIAIS E MÉTODOS	16
3.1 MATERIAL BIOLÓGICO	16
3.1.1 Obtenção das microalgas	16
3.1.2 <i>Amaranthus cruentus</i> L. cv. BRS Alegria	18
3.2 CONDIÇÕES DE CULTIVO	19
3.3 MEDIDAS DE CRESCIMENTO	20
3.4 MEDIDAS DE TROCAS GASOSAS	21
3.5 DETERMINAÇÃO DA MASSA FOLIAR ESPECÍFICA	21
3.6 ANÁLISE DE PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS	22
3.7 MEDIDAS DE MASSA SECA DA PARTE AÉREA	22
3.8 DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO DE NUTRIENTES FOLIARES E CARACTERIZAÇÃO DAS MICROALGAS	22
3.9 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	23
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
4.1 NUTRIENTES MICROALGAIS	24
4.2 CRESCIMENTO E PRODUÇÃO DE MASSA SECA	28
4.3 PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS E TROCAS GASOSAS	32
5 CONCLUSÕES	38
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39

1 INTRODUÇÃO

Com o crescimento da população e a mudança nos hábitos de consumo, a demanda por recursos e sistemas para suprir as necessidades básicas aumenta, e cada vez mais é necessário otimizar processos para melhor aproveitamento de recursos. Juntamente com este novo estilo de vida surgem questões substanciais relativas à sustentabilidade das atividades humanas, como o uso de fertilizantes químicos na produção de alimentos e o tratamento de águas residuárias, problemas estes que requerem soluções sustentáveis favoráveis ao meio ambiente e ao bem-estar humano (KHAN *et al.*, 2019). Neste contexto a economia circular surge como um modelo econômico que propõe mudanças nas cadeias produtivas, modificando-as de um modelo linear para um *loop* de processos voltados para o uso eficiente de recursos, minimização de resíduos, redução da extração de recursos primários e o fechamento do ciclo de produtos (MORSELETTO, 2020). Por meio desta abordagem é possível promover o crescimento econômico minimizando os impactos negativos ao meio ambiente e o esgotamento de recursos (MORSELETTO, 2020).

As modificações nos meios de tratamentos de águas residuais já vêm acontecendo há algum tempo, principalmente nas últimas décadas em que a proteção ambiental ganhou maior visibilidade e surgiu a necessidade de não somente promover a higiene urbana, mas também remover os nutrientes deste efluente antes do seu descarte (VERSTRAETE *et al.*, 2009; WILSENACH *et al.*, 2003). O descarte de esgoto doméstico com elevadas cargas de nutrientes, assim como a lixiviação de solos com excesso de fertilizantes ricos em sais minerais, pode levar à eutrofização de cursos de água (BARRETO *et al.*, 2013). A recuperação destes recursos valiosos e sua destinação adequada auxilia na promoção da economia circular, evita o esgotamento de recursos (ROUT *et al.*, 2021) e favorece o desenvolvimento de uma agricultura sustentável, por exemplo quando os produtos dos novos tratamentos com remoção de nutrientes são aplicados na agricultura como um meio de fertilização, ou na fertirrigação (CHAUHAN *et al.*, 2020; THEREGOWDA *et al.*, 2019).

1.1 MICROALGAS NO TRATAMENTO DE ESGOTO SANITÁRIO

Os tratamentos de água residuais são classificados de acordo com seu nível em: preliminar, primário, secundário e terciário (SPERLING; DE LEMOS CHERNICHARO, 2005). Desse modo, cada nível tem como objetivo a remoção de um tipo de componente do esgoto sanitário por diferentes meios. No tratamento preliminar são retirados grandes materiais sólidos como cascalho e madeira, após a retirada destes materiais grosseiros ocorre o tratamento primário onde há a remoção de sólidos sedimentáveis por ação da gravidade. Nestas etapas iniciais os mecanismos de remoção físicos são os predominantes. Na etapa secundária podem ser utilizados diferentes meios de tratamento biológico, aeróbio ou anaeróbio, para remoção de matéria orgânica e nutrientes (diferentes eficiências de remoção de acordo com o método). O tratamento terciário, mais raro de se encontrar em estações de tratamento, é focado na remoção complementar de poluentes não removidos nas etapas anteriores: nutrientes, organismos patogênicos e metais, por exemplo (SPERLING; DE LEMOS CHERNICHARO, 2005). As microalgas podem ser implementadas como um pós-tratamento, sendo viável principalmente após o esgoto sanitário passar pelo tratamento anaeróbio, onde o efluente remanescente conserva a maioria dos nutrientes (SLOMPO *et al.*, 2019; ZEEMAN *et al.*, 2008). O uso de microalgas é um método que pode ser aplicado em estações de tratamento de esgoto sanitário, como um tratamento complementar aos tratamentos convencionais, promovendo a recuperação de nutrientes e energia, a remoção de micropoluentes, auxiliando na desinfecção pela variação do pH e melhorando a qualidade do efluente final (DE WILT *et al.*, 2016; LI *et al.*, 2019).

Em relação aos nutrientes, a eficiência de remoção pelas microalgas pode chegar a 90% devido a sua capacidade de usar nitrogênio, fósforo e outros compostos inorgânicos para o seu crescimento (ABDEL-RAOUF *et al.*, 2012; ACIÉN FERNÁNDEZ *et al.*, 2018; MOGES *et al.*, 2020). O cultivo de microalgas, como *Chlorella sorokiniana* e *Scenedesmus obliquus* em água residuárias apresentam uma grande capacidade de remoção de nutrientes a ponto de tornar o esgoto no final do tratamento utilizável para práticas de reuso não potável (DE GODOS *et al.*, 2010). Este método de tratamento contribui para a diminuição da eutrofização de corpos de água e proporciona produtos secundários para recuperação de recursos. De acordo com Li *et al.* (2018), 68% da energia química da

biomassa algal pode ser recuperada, na forma de *bio-oil* (44%) e biogás (23%), além da recuperação de 44% do conteúdo de nitrogênio e 91% do conteúdo de fósforo da biomassa na forma de produtos fertilizantes. Com a matéria orgânica destas microalgas pode-se obter material nutritivo com características vantajosas para as culturas e para o solo em função da capacidade das microalgas de melhorar a qualidade do solo, a sua microflora e aumentar a produtividade (RENUKA *et al.*, 2017). Dentre os micropoluentes mais comuns presentes no esgoto sanitário podemos citar fármacos e hormônios naturais, produtos de limpeza e higiene pessoal, substâncias com impacto negativo nos ecossistemas aquáticos e na saúde humana que contaminam o meio ambiente por meio do lançamento de efluentes tratados e não tratados nos corpos d'água naturais (AEMIG *et al.*, 2021; AQUINO *et al.*, 2013; KIM; AGA, 2007). As microalgas podem ser utilizadas como um tratamento complementar, aumentando a remoção destes compostos (DE WILT *et al.*, 2016; GARCIA-GALÁN *et al.* 2020).

1.2 NUTRIÇÃO VEGETAL E O USO DE MICROALGAS COMO FERTILIZANTE ORGÂNICO

A indisponibilidade de nutrientes no substrato limita o crescimento e a produção vegetal, pois é por meio destes compostos retirados do solo que a planta sintetiza os componentes orgânicos essenciais na composição dos tecidos e no ciclo vegetal (TAIZ *et al.*, 2017). A fertilização das culturas agrícolas é uma necessidade devido à exaustão de nutrientes do solo ao longo das consecutivas safras, sem a reposição destes nutrientes não é possível suprir a demanda de alimentos para uma população crescente (VITOUSEK *et al.*, 2009). O nitrogênio e o fósforo estão entre os principais componentes de fertilizantes sintéticos, estes minerais são essenciais para o desenvolvimento das plantas uma vez que sua carência acarreta perturbações no metabolismo e restrição do desenvolvimento (TAIZ *et al.*, 2017). O nitrogênio destaca-se por ser um constituinte essencial dos aminoácidos, ácidos nucleicos e das proteínas, além de fazer parte do aparato fotossintético; o fósforo é um nutriente importante na armazenagem de energia e na integridade estrutural da célula. A demanda por fertilizantes à base de nitrogênio e fósforo é alta. O nitrogênio é abundante na natureza, e existem processos como o método Haber–Bosch para sua fixação a partir do nitrogênio

atmosférico (GARCIA *et al.*, 2013). O fósforo, por outro lado, advém de reservas naturais de rocha fosfática, um recurso finito e não renovável (ELSER *et al.*, 2012; STAM *et al.*, 2021). O acesso a fertilizantes se torna cada vez mais um desafio para os produtores que têm que enfrentar a volatilidade dos preços, e para os consumidores que verificam o resultado no preço dos alimentos, este cenário mostra que alcançar a segurança alimentar em uma escala global com o atual sistema de agricultura é altamente problemático (MEW, 2016; OGINO *et al.*, 2020; WITHERS *et al.*, 2018).

A fertilização química também possui problemas importantes no sentido ambiental impactando o ambiente desde o momento de sua extração até após sua aplicação (RETA *et al.*, 2018; SHARMA *et al.*, 2017). O uso indiscriminado de fertilizantes pode levar a poluição de águas subterrâneas, além de acumular metais pesados no solo ao longo das consecutivas aplicações (SHARMA *et al.*, 2017). Outro grande impacto ambiental está relacionado a mineração de fósforo que está associada com a poluição do ar e da água por meio da geração de grandes quantidades de resíduos, dentre eles metais tóxicos e elementos radioativos que contaminam o meio ambiente (RETA *et al.*, 2018). No Brasil, o uso de fertilizantes é elevado devido à grande produção agrícola, cerca de 60% do fósforo utilizado é importado pois as minas de rochas fosfáticas fornecem quantidades limitadas devido aos altos custos de processamento, tornando a produção de alimentos vulnerável aos preços voláteis e a crescente escassez de fertilizantes (WITHERS *et al.*, 2018). No entanto, existem diversas fontes secundárias disponíveis para substituir as importações entre elas o esterco de gado (DU *et al.*, 2020), resíduos de processamento de cana (LEAL *et al.*, 2013) ou biossólidos de estação de tratamento de esgoto (WITHERS *et al.*, 2018). De acordo com Verstraete *et al.* (2009), 30% da demanda agrícola de nitrogênio poderia ser suprida a partir da recuperação de nutrientes de águas residuárias. Deste modo as microalgas cultivadas em águas residuárias previamente tratadas podem desempenhar o papel de fonte secundária, de nitrogênio, além de fósforo e outros macronutrientes essenciais ao vegetal, visto que sua capacidade de remoção de nutrientes de águas residuárias já é comprovada (MOGES *et al.*, 2020).

Diversos tipos de microalgas, como *Chlorella vulgaris*, *Chlorella pyrenoidosa* (ELHAFIZ *et al.*, 2015) e *Spirulina platensis* (DIAS *et al.*, 2016) são cultivadas em meios padrões para produção de fertilizantes orgânicos, com diversos tipos de aplicações em cultivos. Com a utilização de meios alternativos que visem a recuperação de nutrientes como o estudado por Moges *et al.* (2020), a matéria orgânica das microalgas pode ser fonte de

nutrientes essenciais. De acordo com Suleiman *et al.* (2020), as microalgas cultivadas em esgoto sanitário são fertilizantes eficientes para o crescimento da planta e uma opção viável para o fechamento do ciclo de nutrientes. Juntamente com a produção de fertilizantes eficientes para a planta as microalgas também podem ser utilizadas na produção de biodiesel e biogás, numa cadeia de processos de reaproveitamento máximo (HUSSAIN *et al.*, 2021; SILAMBARASAN *et al.*, 2021).

A suplementação da nutrição vegetal por meio de fertilizantes orgânicos de microalgas já se mostrou eficaz em diversas culturas, como o milho (DINESHKUMAR *et al.*, 2019) e o arroz (DINESHKUMAR *et al.*, 2017). Uma nova abordagem para o cultivo dessas microalgas surgiu juntamente com a necessidade de remover nutrientes de águas residuais, elas apresentam uma grande capacidade de remoção de nutrientes e poluentes a ponto de tornar o esgoto no final do tratamento utilizável para práticas de reuso não potável (DE GODOS *et al.*, 2010), incorporando-os à sua biomassa. O fertilizante orgânico de microalgas cultivado em águas residuais já foi testado em diferentes culturas, como exemplo podemos citar o trigo (DAS *et al.*, 2019; RENUKA *et al.*, 2017) e o tomate (SILAMBARASAN *et al.*, 2021), onde em ambos os resultados foram positivos. O conteúdo de nutrientes da biomassa de microalgas pode ser influenciado pelo tipo de cultivo, e pela variedade das microalgas cultivadas (ABDEL-RAOUF *et al.*, 2012; CHEW *et al.*, 2018). No cultivo de microalgas em esgoto sanitário dificilmente haverá um controle das espécies que se multiplicam, uma vez que o próprio esgoto sanitário possui suas espécies nativas que estão bem adaptadas àquele ambiente (PALMER, 1969; PALMER, 1974 *apud* ABDEL-RAOUF *et al.*, 2012), além disso as condições ambientais como temperatura e luminosidade também influenciam na composição das comunidades de microalgas e é possível ver uma alteração das espécies que compõem essa comunidade nas diferentes estações do ano (RENUKA *et al.*, 2014).

1.3 AMARANTO: ORIGEM E CARACTERÍSTICAS

O gênero *Amaranthus*, pertencente à família Amaranthaceae, possui cerca de 60 espécies (CHENG, 2018) chamadas popularmente de amaranto ou caruru. O gênero é largamente distribuído pelo mundo em climas temperados, subtropicais e tropicais. São

conhecidas espécies de “grãos” utilizadas na América do Sul, América Central, Europa, Ásia, África e Austrália, sendo os principais centros a Índia e a América tropical (AMAYA-FARFAN *et al.*, 2005). A origem do uso do amaranto é atribuída ao novo mundo (América), onde foi domesticada por povos nativos das Américas (Maias, Incas e Astecas) 8000 anos atrás, tendo grande importância ritualística (CHENG, 2018). Posteriormente foi introduzida na Europa, Ásia e África, como ornamentação ou vegetal para alimentação (RASTOGI *et al.*, 2013).

O amaranto possui diversas características que o tornam um produto com grande valor econômico e um bom candidato para a diversificação do sistema produtivo devido ao seu “rápido crescimento, tolerância ao déficit hídrico, produção de biomassa, ciclagem de nutrientes e utilização humana e animal”, como exposto por Spehar *et al.* (2003), principalmente no Cerrado que tem sua produção dominada por grandes monoculturas como soja e milho para exportação, que contribuem com a degradação do solo, a proliferação de pragas e conflitos socioambientais (JAYME-OLIVEIRA *et al.*, 2017; LAMEIRA *et al.*, 2018; SILVA *et al.*, 2011). O cultivar BRS Alegria produzido pela EMBRAPA Cerrados a partir da linhagem *A. cruentus* AM 5189 dos Estados Unidos, é o primeiro recomendado para produção no Brasil podendo ser cultivado o ano todo com diferentes finalidades (SPEHAR *et al.*, 2003).

Do ponto de vista nutricional o amaranto é um pseudocereal importante devido ao seu potencial nutricional naturalmente balanceado, sendo mais completo nutricionalmente que os cereais convencionais cultivados em grande escala (SCHMIDT *et al.*, 2021). O conteúdo relativo de proteínas da semente chega próximo a 15%, seu conteúdo de gorduras e minerais é grande em relação aos cereais, e sua farinha pode ser utilizada na suplementação alimentar de celíacos por ser um produto farináceo livre de glúten, compartilhando assim características típicas de cereais e leguminosas (AMAYA-FARFAN *et al.*, 2005; CASELATO-SOUSA *et al.*, 2012; TBCA, 2020). Adicionalmente, o amaranto possui grande potencial antioxidante, possuindo atividade antioxidante e conteúdo fitoquímico maior do que os encontrados em cereais como milho, aveia e arroz (AKIN-IDOWU *et al.*, 2017). A atividade antioxidante é uma característica importante para a saúde humana, pois diversas doenças estão associadas às formas reativas de oxigênio que são produzidas naturalmente por processos metabólicos (PALA; TABAKÇIOĞLU, 2007), mas também podem ter sua produção induzida pela radiação e pela poluição (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2015 *apud* ADEGBOLA *et al.*, 2020).

A espécie *A. cruentus* apresenta grandes vantagens porque tanto suas folhas quanto suas sementes podem ser utilizadas na alimentação, podendo ser usadas em saladas e sopas, e a farinha feita com as sementes é utilizada na fabricação de pães, bolos e biscoitos (CASELATO-SOUSA *et al.*, 2012). Mesmo com a existência de cultivares adaptados às condições brasileiras e com o conhecimento de seu potencial nutricional, este pseudocereal ainda é pouco consumido no Brasil (SCHMIDT *et al.*, 2021). Conforme a procura por alimentos mais diversificados e nutritivos aumenta, esse nicho de mercado representa uma oportunidade para pequenos e médios produtores.

2 OBJETIVO

O objetivo do estudo foi analisar a efetividade do uso das microalgas nativas cultivadas em água residuária doméstica previamente tratada anaerobiamente como fertilizante orgânico em substituição a fertilizantes químicos na cultura do *Amaranthus cruentus* L. Especificamente, foram analisados os efeitos do uso das microalgas no crescimento, produção de biomassa na parte aérea, pigmentos fotossintéticos e trocas gasosas.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 MATERIAL BIOLÓGICO

3.1.1 Obtenção das microalgas

Para obtenção das microalgas, inicialmente o isolamento e crescimento das microalgas nativas de esgoto sanitário foi realizado no Laboratório de Microbiologia e Parasitologia do Departamento de Morfologia e Patologia da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) em São Carlos-SP, para obtenção do inóculo de microalgas nativas de esgoto sanitário.

A água residuária doméstica previamente tratada anaerobiamente utilizada para o cultivo das microalgas foi coletada na estação de tratamento de esgoto (ETE) do distrito de Tibiriçá, em Bauru/São Paulo (22°13'38.7"S 49°12'47.0"W). No tratamento preliminar, o esgoto sanitário passa por um gradeamento e por um desarenador. Após esta etapa o esgoto sanitário passa por um tratamento primário de decantação e um tratamento secundário em um Filtro Anaeróbio de Fluxo Ascendente (FAFA). A água residuária resultante do tratamento anaeróbio foi coletada na saída do FAFA para servir de meio de cultivo para as microalgas.

O cultivo das microalgas ocorreu em uma caixa com 50 L de água residuária anaerobiamente pré-tratada e 5 L de inóculo de microalgas nativas de esgoto sanitário, e em dois frascos com 10 L de água residuária anaerobiamente pré-tratada e 1 L de inóculo de microalgas nativas, mantidos em temperatura ambiente com cobertura de tela de sombreamento (50% de sombreamento), e recebendo a injeção contínua de ar comprimido por meio de compressores de ar (Seven Star - S-6000).

As microalgas foram cultivadas por sete dias. Após este período o efluente foi adicionado em bombonas de 200 L. Este processo se repetiu semanalmente até o enchimento das bombonas. A temperatura média no período de cultivo das microalgas foi de 28 °C, e a intensidade luminosa média foi de 919,48 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

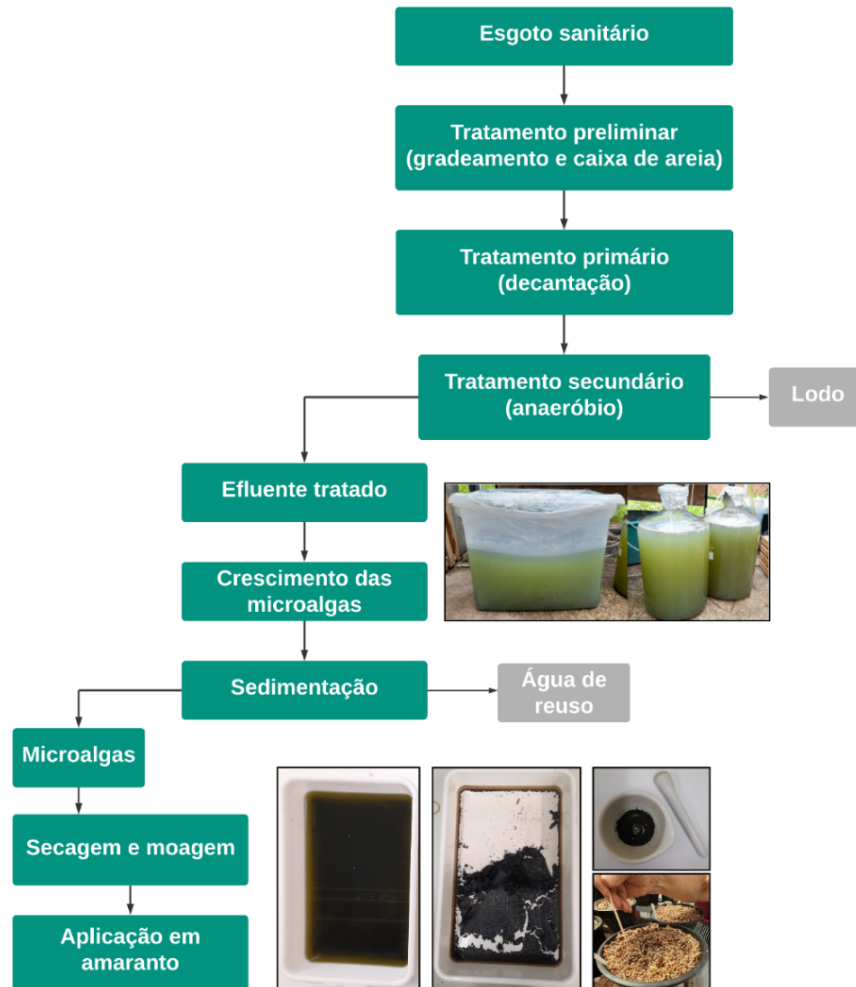
Após o enchimento das bombonas de decantação com as microalgas juntamente com o efluente, foi adicionado 100 mg/L de tanino (Tanfloc) para auxiliar na

coagulação, floculação e sedimentação das microalgas. O processo de separação das microalgas ocorreu 24 horas depois da adição do tanino, nesse processo inicialmente foi retirada toda a água de reuso e depois foram retiradas as microalgas sedimentadas no fundo do decantador.

A partir da separação obtém-se um líquido concentrado de microalgas que foi distribuído em bandejas plásticas para secagem em estufa de circulação forçada de ar a 65°C por aproximadamente 48 horas.

Para obtenção de microalgas para as duas aplicações que foram propostas, houve mais de uma separação de microalgas. Na primeira separação, com o conteúdo de microalgas e efluente de duas bombonas de 200 L obteve-se aproximadamente 40 L de microalgas, após a secagem obteve-se 115 g de microalgas secas. Na segunda separação, com o conteúdo de microalgas e efluente de duas bombonas de 200 L obteve-se aproximadamente 45 L de microalgas, após a secagem obteve-se 160 g de microalgas secas. Do total das duas separações, 224 g foram utilizadas para aplicação no substrato como fertilizante, divididas em duas aplicações de 112 g cada, e 30 g foram enviadas para caracterização das microalgas. As microalgas secas foram moídas em almofariz até a obtenção de um pó fino, pesadas em balança de precisão e armazenadas em frascos até a aplicação no substrato. No fluxograma da Figura 1 estão apresentadas as etapas até obtenção das microalgas secas e moídas.

Figura 1 - Fluxograma da obtenção das microalgas para uso como fertilizante orgânico.



Fonte: Autor.

3.1.2 *Amaranthus cruentus* L. cv. BRS Alegria

Foram utilizadas sementes de *Amaranthus cruentus* L. cv. BRS Alegria, fornecidas pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA). BRS Alegria é uma cultivar de *Amaranthus cruentus* desenvolvida pelo 13º Centro de Pesquisa Agrícola de Cerrados, originada da estirpe *A. cruentus* AM 5189 dos Estados Unidos (SPEHAR *et al.*, 2003).

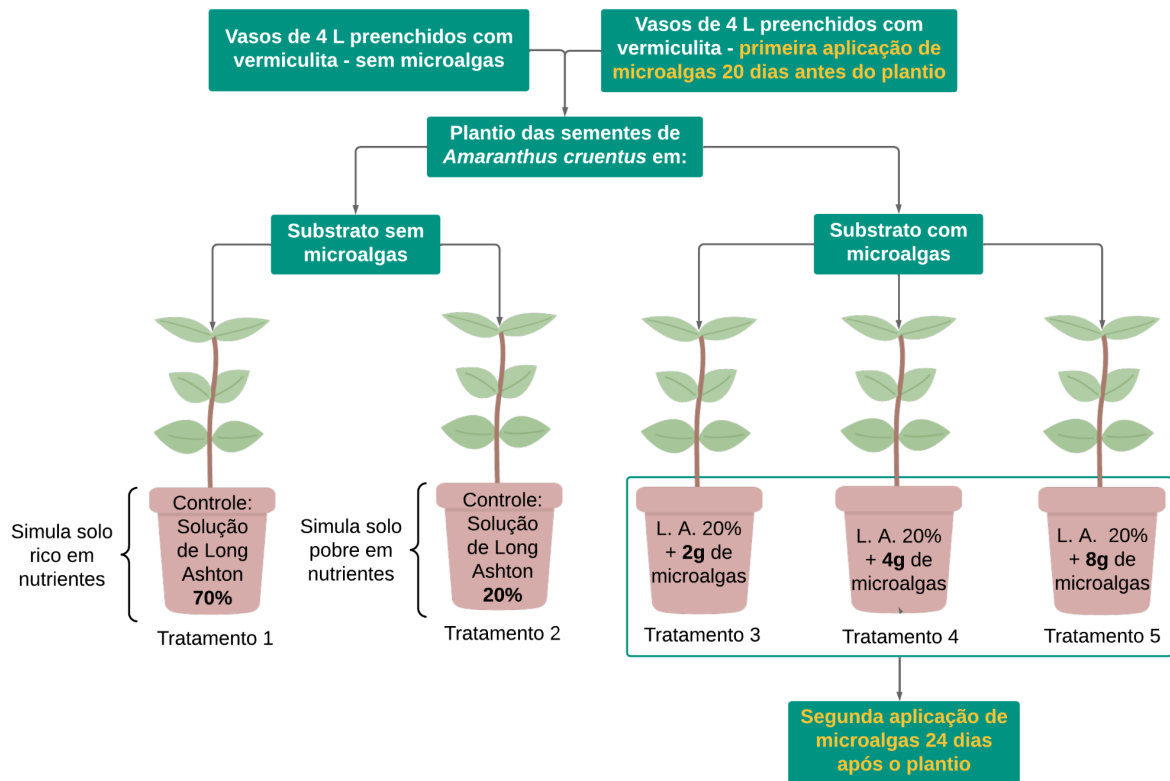
3.2 CONDIÇÕES DE CULTIVO

O experimento foi conduzido na casa de vegetação localizada junto ao Departamento de Ciências Biológicas no Campus da UNESP Bauru, sob condições fotoperiódicas naturais e temperatura média mínima e máxima de 17 e 33°C, respectivamente. Foram utilizados vasos de 4 L preenchidos com vermiculita até 1 cm da borda.

Foram estabelecidos 5 tratamentos com 8 vasos por tratamento (Fig. 2):

- T1: Controle 70% Long Ashton + 0 g microalgas;
- T2: Controle 20% Long Ashton + 0 g microalgas;
- T3: solução de Long Ashton 20% + 2 g de microalgas secas;
- T4: solução de Long Ashton 20% + 4 g de microalgas secas;
- T5: solução de Long Ashton 20% + 8 g de microalgas secas.

Figura 2 - Fluxograma do experimento em casa de vegetação.



Fonte: Autor.

Foram aplicados 250 ml da solução nutritiva de Long Ashton (HEWITT, 1966) em cada planta nas concentrações estabelecidas para cada tratamento três vezes na semana durante todo o período experimental.

Como tratamentos controles, utilizamos solução nutritiva de Long Ashton (HEWITT, 1966) 70% e 20% na ausência de microalgas (T1 e T2). 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 *et al.*, 2019).

Nos tratamentos que receberam microalgas (T3, T4 e T5), a aplicação das microalgas secas e moídas ocorreu em dois momentos. A primeira aplicação de microalgas ocorreu 20 dias antes do plantio das sementes, as microalgas secas e moídas foram espalhadas pela vermiculita e misturadas superficialmente com auxílio de um palito.

Após 20 dias da primeira aplicação das microalgas, as sementes de *A. cruentus* L. foram semeadas. As sementes foram espalhadas na região central do vaso e receberam uma fina camada de vermiculita. Duas semanas após o plantio foi realizado o desbaste das plantas, mantendo somente um indivíduo por vaso.

A segunda aplicação das microalgas ocorreu 24 dias após o plantio, nas mesmas quantidades da primeira aplicação para cada tratamento. As microalgas foram espalhadas sobre a superfície do substrato e cobertas com uma fina camada de vermiculita.

A quantidade de microalgas aplicadas foi determinada de acordo com análises prévias feitas com microalgas cultivadas nos mesmos parâmetros, posteriormente foi realizada a análise de nutrientes das microalgas utilizadas.

3.3 MEDIDAS DE CRESCIMENTO

A partir do 28º dia após o plantio, foram iniciadas as medidas de crescimento. Foram medidas semanalmente a altura (cm), diâmetro do caule na altura dos cotilédones (mm) e o número de folhas produzidas visíveis sem manipulação da planta. Para as medidas de altura foi utilizada régua milimetrada, medindo a planta do nível do substrato até o último nó visível, e para as medidas de diâmetro do caule foi utilizado um paquímetro digital

(KingTools), medindo o diâmetro na altura dos cotilédones ou de sua cicatriz após caírem. Foram feitas medidas por 5 semanas, de 24 de maio a 21 de junho de 2021.

3.4 MEDIDAS DE TROCAS GASOSAS

As medidas de trocas gasosas foram feitas no 44º dia após o plantio. Essas medidas foram realizadas posteriormente pois era necessário que as folhas das plantas atingissem uma área de no mínimo 6,25 cm para utilização do analisador de gás por infravermelho (LCpro, ADC, Hoddesdon, UK) para realização das medidas de fotossíntese.

As medidas foram realizadas na folha mais jovem totalmente expandida, dentro da casa de vegetação no período da manhã, entre 8 h - 10 h sob condições ambientes de temperatura, pressão parcial de CO₂ e pressão de vapor de água do ar. Radiação fotossinteticamente ativa de 1000 μmol m⁻² s⁻¹ foi suprida por uma lâmpada acoplada à câmara foliar. A folha foi mantida sob esta intensidade até alcançar uma taxa fotossintética estacionária. Foram coletados dados de fotossíntese (*A*), condutância estomática (*g_s*), transpiração (*E*) e concentração de CO₂ na cavidade subestomática (*C_i*). A partir destes dados calculamos a eficiência instantânea do uso da água (EiUA) através da relação *A/E*, relação entre a taxa fotossintética e a taxa transpiratória.

3.5 DETERMINAÇÃO DA MASSA FOLIAR ESPECÍFICA

Para a determinação da massa foliar específica (MFE) foram coletados 4 discos por planta com área (*A*) de 1,68 cm² de 5 plantas de cada tratamento. Estes discos foram secos em estufa de circulação forçada de ar a 65°C até a obtenção de peso constante. Após a secagem os discos foram pesados em balança analítica para obtenção da massa seca dos discos (*MS*). Para determinação da MFE foi aplicada a equação:

$$MFE = MS/A,$$

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

3.6 ANÁLISE DE PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS

Para as análises de pigmentos fotossintéticos foram coletados de cada planta (5 plantas por tratamento) 3 discos com área de 1,68 cm². Estes discos foram homogeneizados em um almofariz contendo acetona 80%, o extrato dos discos foi colocado em tubos *falcon* de 15 ml, os tubos foram completados até 9 ml com acetona 80% e 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 absorvância foram efetuadas em espectrofotômetro (NANOCOLOR® UV/VIS II).

A partir das leituras de absorvância nos comprimentos de onda 663 nm, 647 nm e 470 nm, foram calculadas as concentrações de clorofila *a*, clorofila *b* e carotenoides por meio das fórmulas de Lichtenthaler (1987).

3.7 MEDIDAS DE MASSA SECA DA PARTE AÉREA

Após a realização das análises de pigmentos fotossintéticos e determinação da MFE, as plantas foram coletadas separando-as em folhas, caule e inflorescência. As partes separadas foram colocadas em sacos de papel identificados e posteriormente secas em estufa de circulação forçada de ar a 65°C até a obtenção de massa constante. Utilizando uma balança de precisão foi determinada a massa seca de cada uma das partes das plantas para obtenção da massa seca da parte aérea.

3.8 DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO DE NUTRIENTES FOLIARES E CARACTERIZAÇÃO DAS MICROALGAS

Para cada tratamento foram selecionadas as folhas da região mediana até o ápice da planta, descartando-se folhas em início de senescência, para as análises de micro e

macronutrientes. Estas folhas foram separadas durante as medidas de massa seca da parte aérea e após a pesagem as folhas foram trituradas em moinho.

Juntamente com as microalgas secas separadas para análise de nutrientes, as folhas trituradas foram enviadas para o Laboratório de Solos, situado no Departamento de Solos e Recursos Ambientais da Faculdade de Ciências Agrônômicas/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 *et al.* (1997), e determinação dos macronutrientes (N, P, K, Ca, Mg e S), micronutrientes (Na, Cu, Fe, Mn, Zn e Na), pH, matéria orgânica (MO) e a relação C/N das microalgas, por meio da metodologia do Manual de Métodos Analíticos Oficiais para Fertilizantes e Corretivos (BRASIL, 2017).

3.9 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

As análises estatísticas foram feitas a partir de uma Análise de Variância simples (ANOVA), usando 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. Foi utilizado o teste de diferença mínima significativa (DMS) para variâncias iguais presumidas e o teste *Games-Howell* para variâncias iguais não presumidas.

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. Os gráficos foram gerados através do programa *OriginPro* 8.5.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 NUTRIENTES MICROALGAIS

De acordo com Giafferis, Barros e Oliveira (2014), o esgoto sanitário coletado da ETE do distrito de Tibiriçá recebe despejo clandestino de esgoto oriundo de criações de suínos e, devido a grande quantidade de nutrientes oriundos desse despejo clandestino, o esgoto pode ser caracterizado como esgoto sanitário de alta carga, sendo um aspecto que interfere no cultivo das microalgas pois dependendo das características ambientais e da água residuária utilizada no cultivo das microalgas, suas características, composição de nutrientes e produção podem variar (CHEW *et al.*, 2018). A caracterização das microalgas utilizadas como fertilizante neste experimento (Tabela 1) mostra que seu conteúdo de nutrientes é desbalanceado em relação às necessidades da planta (Tabela 2). A biomassa dessas microalgas possui um conteúdo adequado de nitrogênio (N, 57 g kg⁻¹), cálcio (Ca 6,8 g kg⁻¹), fósforo (P₂O₅ 14,2 g kg⁻¹) e enxofre (S 4,0 g kg⁻¹), enquanto o potássio (K 5,2 g kg⁻¹), o magnésio (Mg 3,1 g kg⁻¹) e o manganês (Mn 102 mg kg⁻¹) possuem concentração abaixo das necessidades do amaranto e outros vegetais (RAIJ *et al.*, 1997). Em relação aos micronutrientes, o desequilíbrio se mostra pelo conteúdo de sódio (Na 20803 mg kg⁻¹), ferro (Fe, 5725 mg kg⁻¹), zinco (Zn 2925 mg kg⁻¹) e cobre (Cu 202 mg kg⁻¹) serem bastante elevados de acordo com os parâmetros do amaranto e da maioria das culturas comerciais (DE BONA *et al.*, 2016; RESENDE, 2004), como é possível observar na Tabela 2.

Tabela 1 - Caracterização da biomassa de microalgas utilizada como fertilizante.

Constituintes		Macronutrientes (g kg ⁻¹)		Micronutrientes (mg kg ⁻¹)	
pH	7,8	N	57	Na	20803
Umidade (%)	7	P ₂ O ₅	14,2	Cu	202
CO _{seca}	43	K ₂ O	5,2	Fe	5725
Relação C/N	7/1	Ca	6,8	Mn	102
MO (%)	72	Mg	3,1	Zn	2925
		S	4		

Fonte: Autor.

Quando comparamos o conteúdo de nutrientes das microalgas com a faixa de nutrientes foliares de diferentes cereais e leguminosas podemos analisar a adequação das microalgas como fonte de nutrientes para estes vegetais (Tabela 2). Considerando a concentração de nutrientes foliares, as microalgas cultivadas em esgoto sanitário neste experimento se mostram uma boa fonte de N, P, Ca, S, Cu, Fe e Zn, uma vez que a concentração destes nutrientes, principalmente os micronutrientes, é considerada acima do adequado para todos os vegetais que foi feita essa comparação. Para o amaranto o K, Mg e Mn das microalgas não atingem o teor de nutrientes foliares adequado, para os valores atribuídos ao trigo, ao milho e à soja somente o K fica abaixo do necessário, e para o amendoim o K e Ca são insuficientes (Tabela 2). Por essa comparação, vemos que os nutrientes microalgais se adequam de maneira semelhante às faixas de diferentes culturas, tendo como principal característica a deficiência de K e o excesso de micronutrientes, principalmente Cu, Fe e Zn.

Tabela 2 - Comparação* entre conteúdo de nutrientes das microalgas cultivadas em esgoto sanitário e nutrientes foliares de diferentes vegetais.

Nutrientes		Microalgas	<i>A. cruentus</i> **	Trigo***	Milho***	Soja***	Amendoim***
Macronutrientes (g kg ⁻¹)	N	57,0	28,0	20 - 34	27 - 35	40 - 54	30,0 - 45,0
	P	14,2	6,4	2,1 - 3,3	1,8 - 3,0	2,5 - 5,0	2,0 - 5,0
	K	5,2	60,0	15 - 30	15 - 30	17 - 25	17,0 - 30,0
	Ca	6,8	7,0	2,5 - 10	2,5 - 10,0	4 - 20	12,0 - 20,0
	Mg	3,1	13,9	1,5 - 4,0	1,5 - 4,0	3,0 - 10,0	3,0 - 8,0
	S	4,0	3,9	1,5 - 3,0	1,5 - 3,0	2,1 - 4,0	2,0 - 3,5
Micronutrientes (mg kg ⁻¹)	Cu	202,0	15,0	5 - 25	5 - 25	10 - 30	5 - 20
	Fe	5725,0	229,0	10 - 300	10 - 300	50 - 350	50 - 300
	Mn	102,0	359,0	25 - 150	25 - 150	20 - 100	20 - 300
	Zn	2925,0	36,0	20 - 70	20 - 70	20 - 50	20 - 60

***Amarelo** - nutrientes microalgais abaixo do teor foliar; **Verde** - nutrientes microalgais adequados ao teor foliar; **Vermelho** - nutrientes microalgais acima do teor foliar;

**Teores de macro- e micronutrientes foliares das plantas do T1 (controle 70%);

***Faixas de teores adequados de macro- e micronutrientes foliares (Raij *et al.*, 1997).

Fonte: Autor.

O lodo produzido no tratamento de esgoto sanitário tem sua aplicação como fertilizante mais bem estabelecida, havendo legislações próprias e mais conhecimento sobre sua aplicação em culturas (BAIOUI *et al.*, 2017; Resolução CONAMA 498/2020). O conteúdo de nutrientes do lodo é elevado, e assim como observado para as microalgas os micronutrientes estão presentes em concentrações mais elevadas, apesar disso, quando dentro

dos parâmetros estabelecidos pela legislação para metais pesados, os lodos demonstraram ter um efeito positivo no crescimento e produção vegetal (ANKUSH *et al.*, 2020; BAIQUI *et al.*, 2017). Em determinadas abordagens o lodo é visto como uma fonte de N, P e micronutrientes principalmente (MAÑAS; DE LAS HERAS, 2018), o mesmo ocorre para as microalgas. A presença das microalgas pode influenciar na absorção de determinados nutrientes pelas plantas. Como mostrado por Paula Pereira *et al.* (2021), a aplicação das microalgas levou a uma maior assimilação de N pelas plantas de milho. Neste mesmo experimento foi observado que a biomassa das microalgas também favoreceu a concentração de boro (B) e Na nestas plantas. Adicionalmente, Renuka *et al.* (2017) mostrou em seu estudo que a aplicação das microalgas aumenta a disponibilidade do conteúdo de micronutrientes do solo, particularmente Zn, Fe, Cu e Mn. Os dados obtidos para as concentrações de nutrientes das microalgas condizem com os autores citados, uma vez que o conteúdo de N e dos micronutrientes citados é relativamente elevado na biomassa das microalgas cultivadas no esgoto sanitário da ETE de Tibiriçá, podendo então ser disponibilizado para as plantas.

Os resultados das análises foliares dos tratamentos que receberam microalgas mostram que o T5, que recebeu 8 g de microalgas superou consideravelmente os valores de nutrientes foliares encontrados no T2 (tratamento controle 20%), chegando próximo do conteúdo de nutrientes foliares encontrados no T1 (tratamento controle 70%). Estes resultados indicam uma boa assimilação de nutrientes pelas plantas, além de demonstrar a disponibilidade de nutrientes provenientes das microalgas (Tabela 3). Mesmo atingindo as concentrações foliares de N e P do tratamento controle 70%, o T5 mostrou uma quantidade menor de K, praticamente não diferindo do conteúdo de K do T2, além de apresentar concentrações de Fe e Mn menores que o T2. A menor concentração destes nutrientes pode ser um fator que contribuiu para os resultados de crescimento obtidos devido à gama de papéis desempenhados no metabolismo vegetal. Com o aumento da biomassa principalmente no início do experimento, a quantidade de K, Fe e Mn não acompanhou as necessidades da planta que exige mais nutrientes conforme se desenvolve. Apesar da concentração de micronutrientes ser elevada nas microalgas, somente os teores foliares de Zn e Na foram significativamente maiores no T5 em relação ao T2 e T1, e a planta não apresentou sinais morfológicos clássicos para o estresse salino (Tabela 3). A ausência do excesso desses nutrientes nas análises foliares dos tratamentos com microalgas pode indicar a presença de

mecanismos de inibição de assimilação de nutrientes em excesso, ou inibição da absorção pelas raízes.

O amaranto é uma planta C₄ (subtipo NAD-ME), sendo então diferenciada das C₃ principalmente pela presença da anatomia foliar *Kranz* e a atividade da PEPCase na fixação de CO₂ em ácidos C₄, como o malato, por exemplo (TAZOE *et al.*, 2005). Como grande parte das plantas C₄ possui uma necessidade especial de Na em comparação com plantas C₃, sendo esta necessidade especial uma possível explicação para a maior assimilação de Na no T5 (MURATA *et al.*, 1992; SUBBARAO *et al.*, 2003). Em *A. tricolor* foi verificado a participação do sódio na recuperação do fosfoenolpiruvato no mesofilo dos cloroplastos (MURATA *et al.*, 1992), e para outras plantas C₄ verificou-se que o Na faz parte da síntese de clorofila (ANDO; OGUCHI, 1990 *apud* SUBBARAO *et al.*, 2003). Além da grande quantidade de Na na biomassa das microalgas, a menor concentração de K pode ter favorecido a maior assimilação de Na pelas plantas do T5. Em sua forma hidratada o Na e K possuem semelhanças químicas e estruturais, essas características podem ter levado a maior assimilação de Na nas plantas para suprir algumas das funções do K (MAATHUIS, 2014). Outro nutriente que pode ter sua absorção favorecida pelo conteúdo de K das microalgas foi o Mg, isso ocorre pois existe uma natureza competitiva entre estes minerais que, quando se trata da absorção pelas raízes, está ligada à falta de especificidade dos sistemas de absorção e à competição por sítios ativos nas membranas (XIE *et al.*, 2021). Essa maior absorção de Mg em detrimento do conteúdo de K pôde ser observado em todos os tratamentos que receberam microalgas e no tratamento controle 20% (Tabela 3).

Tabela 3 - Conteúdo de nutrientes foliares das plantas ao final do experimento.

Tratamentos	Macronutrientes (g kg ⁻¹)						Micronutrientes (mg kg ⁻¹)					
	N	P	K	Ca	Mg	S	B	Cu	Fe	Mn	Zn	Na
T1	28	6,4	60	7	13,9	3,9	24	15	229	359	36	170
T2	20	4,6	39	7	18,7	4,9	35	9	115	252	25	160
T3	23	3,8	48	5	20,0	6,0	27	10	93	401	37	120
T4	25	5,2	39	7	19,8	3,9	36	9	82	98	39	140
T5	29	6,4	42	6	21,1	4,0	39	11	89	103	43	190

Fonte: Autor.

Apesar da elevada concentração de micronutrientes como o Cu, Fe e Mn na biomassa de microalgas, não houve aumento acentuado nos tecidos das plantas supridas com

essa biomassa (Tabela 3). Esses resultados podem indicar que a planta possui mecanismos específicos para limitar a absorção destes nutrientes em excesso e evitar danos fisiológicos, como uma das defesas apresentadas em arroz onde os genes relacionados à absorção de Fe são suprimidos quando a planta é exposta a quantidades excessivas (AUNG; MASUDA, 2020). Outra possibilidade é de que os micronutrientes não foram completamente liberados no solo. De acordo com Coppens *et al.* (2016), as microalgas podem ser utilizadas como um fertilizante orgânico de liberação lenta (*slow-release fertilizer*), disponibilizando os nutrientes gradativamente. Visto isso, outro ponto que necessita de mais investigação é a liberação dos nutrientes microalgais no substrato, quanto é liberado ao longo do tempo e em quais formas.

As plantas do T5 absorveram eficientemente os macronutrientes e não apresentaram excesso de micronutrientes nas análises foliares. O motivo específico da planta não apresentar altas concentrações de micronutrientes ainda necessita de mais investigação para entendermos como o amaranto lida com os nutrientes em excesso no solo, se existem mecanismos para inibir a absorção desses nutrientes, ou se as características específicas da biomassa de microalgas influenciam na disponibilidade e absorção de nutrientes pelas plantas. Visto que os sinais e sintomas foliares específicos para a deficiência ou toxidez de cada nutriente no amaranto não são bem conhecidos seria necessário a investigação destes aspectos para complementação da bibliografia sobre este vegetal. Caberia também a investigação do efeito da aplicação das microalgas em plantas C₃, visto que essas plantas possuem necessidades nutricionais distintas das C₄.

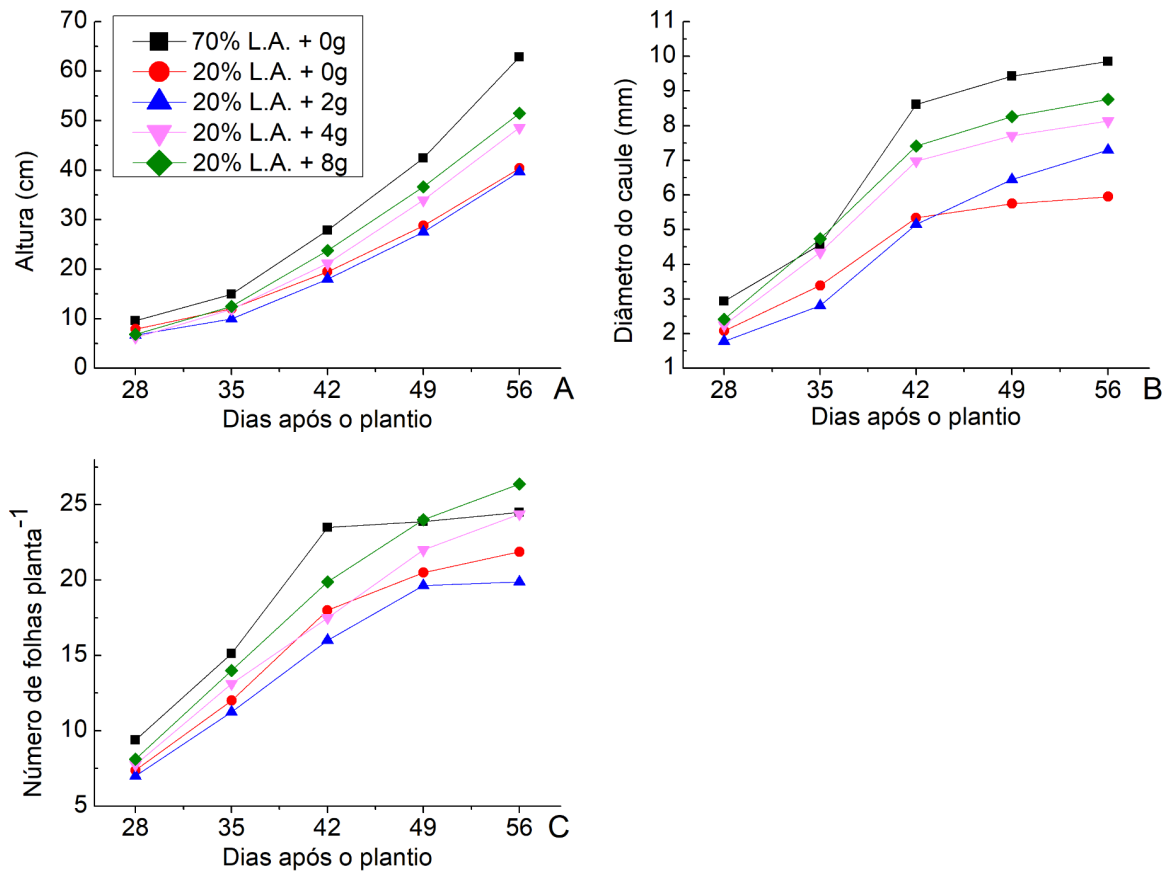
4.2 CRESCIMENTO E PRODUÇÃO DE MASSA SECA

O impacto da nutrição pode ser observado através das análises de crescimento das plantas. No final do experimento, o T4 e o T5 apresentaram valores próximos em altura, 48,5 e 51,5 cm, respectivamente, superando significativamente o T2 que atingiu 40,3 cm, e o T3 que atingiu 39,6 cm (Fig. 3A). Um padrão semelhante foi observado para o diâmetro do caule, o T4 e T5 apresentaram valores semelhantes, 8,1 e 8,7 mm, respectivamente, valores significativamente maiores que o diâmetro do caule do T2 que foi de 5,9 mm (Fig. 3B). Quando calculada a relação entre altura e diâmetro (RAD) é possível observar que as plantas

que receberam microalgas apresentaram uma tendência a investir mais em espessura do que em altura no caule (Fig. 4). De acordo com Silva *et al.* (2007), plantas com valores menores de RAD são mais resistentes às condições ambientais e possuem melhor capacidade de adaptação no campo. Para as plantas deste experimento supridas com as microalgas, esse maior investimento na espessura do caule pode estar relacionado à necessidade de suporte para a grande massa de folhas produzidas (Fig. 5A).

O número de folhas produzidas no T5 alcançou o número de folhas produzidas no T1 49 dias após o plantio, com ambos os tratamentos apresentando em média 24 folhas por planta (Fig. 3C). Após 56 dias do plantio, o número de folhas do T5 superou o número de folhas do T1 chegando a 26 folhas por planta, enquanto o T1 não apresentou mudança em relação ao número anterior. Para o cv. BRS alegria o esperado para a diferenciação floral é de 30 dias após a emergência e a antese 45 dias (SPEHAR *et al.*, 2003), devido à remobilização de nutrientes para a produção dos órgãos reprodutivos, a produção de folhas (nomofilos) é interrompida neste estágio (MU *et al.*, 2021). Os resultados obtidos indicam o início do estágio reprodutivo no T1 dentro do esperado para este cv., e um atraso nos demais tratamentos, além de indicar a influência da nutrição no tempo de floração. No estudo de Costa *et al.* (2008), observou-se que o aumento da salinidade na água de irrigação levou ao retardo do início da floração de *Amaranthus* spp., um indicativo de que a maior quantidade de Na na biomassa microalgal e a maior assimilação desse micronutriente pode ter relação com o início tardio da fase reprodutiva nas plantas fertilizadas com as microalgas.

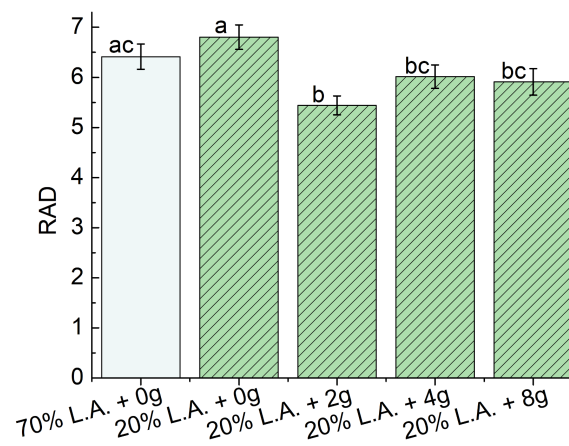
Figura 3 - Medidas de altura (A), diâmetro do caule (B) e número de folhas (C) ao longo do experimento.



Valores são a média para 8 repetições.

Fonte: Autor.

Figura 4 - Relação altura/diâmetro (RAD) no final do experimento.



Valores são a média ± erro da média para 8 repetições. Diferenças significativas ($P < 0,05$) entre os tratamentos são representadas por letras minúsculas diferentes.

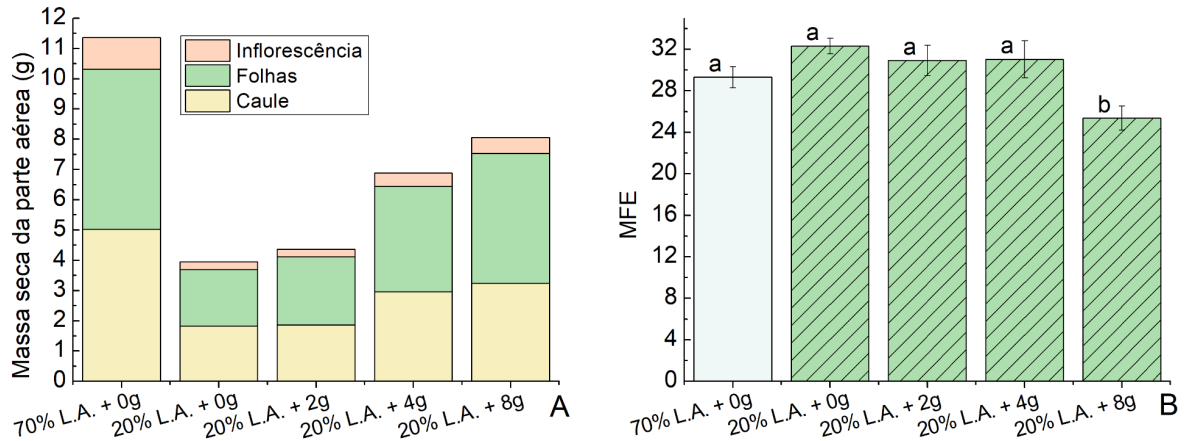
Fonte: Autor.

A produção de massa seca no T4 e T5 superou significativamente o T2. O T5 (8,0 g) chegou a produzir mais que o dobro de massa seca produzida no T2 (3,9 g), e produziu somente 30% a menos em relação ao T1 (11,3 g). Os tratamentos microalgais apresentaram um investimento de massa seca maior na produção de folhas, enquanto o T3 (51,5%), T4 (50,7%) e T5 (53,1%) tiveram um investimento de mais de 50% em folhas, o T1 (46,6%) e T2 (46,9%) tiveram um investimento próximo a 47% (Fig. 5A). De modo contrário, o T1 e o T2 apresentaram maior investimento de massa seca no caule, com investimento de 44,2 e 46,4% de massa seca nesse órgão, respectivamente, enquanto os tratamentos com microalgas não superaram 43,0%. O investimento em inflorescência no T1 foi o maior com 9,2%, nos demais tratamentos ficou entre 5,6% e 6,6%. O maior investimento em folhas nos tratamentos com biomassa microalgas pode estar relacionado ao retardamento do início da fase reprodutiva e com o suprimento de nitrogênio. Como já mencionado anteriormente, o início da fase reprodutiva interrompe a produção de nomofilos devido à remobilização dos nutrientes para produção de órgãos reprodutivos, o que ocorreu no T1 visto que é o tratamento que possui maior produção de massa seca de inflorescência. Enquanto parte da massa seca do T1 foi investida em inflorescência, os tratamentos microalgais mantiveram seu investimento na produção de folhas. O suprimento de nitrogênio, por sua vez, leva a maior produção de folhas pela sua atuação na divisão e expansão celular nas folhas (ROGGATZ *et al.*, 1999), e como já demonstrado por Cechin *et al.* (2019) pelo aumento do investimento na produção de biomassa da parte aérea.

Os tratamentos com microalgas T3 e T4, não apresentaram diferença significativa na MFE em relação ao T2. Já o T5 apresentou MFE menor que o T2 e os demais tratamentos com microalgas. A MFE do T5 pode estar relacionada ao maior investimento da massa seca na expansão das folhas, desse modo menos massa fica concentrada por área, resultando em folhas mais finas, com valores menores para MFE (Fig. 5B). Os demais tratamentos apresentaram maior MFE, o que indica uma concentração de massa maior por área, possivelmente devido a um menor investimento em expansão foliar. Como já mencionado, o N tem um importante papel sobre o desenvolvimento e expansão foliar, devido a seu acúmulo na zona de crescimento foliar (GASTAL; NELSON, 1994; LEMAIRE *et al.*, 2007; ROGGATZ *et al.*, 1999). O conteúdo de N no T5 superou significativamente o conteúdo de N no T2, chegando a ser igual ao conteúdo no T1. O maior conteúdo de N no T5, pode ter favorecido a expansão foliar nesse tratamento, entretanto, para uma análise mais

precisa desta variável em projetos futuros, seria necessário a inclusão da coleta de dados de área foliar juntamente com a MFE.

Figura 5 - Partição da massa seca da parte aérea (A), massa foliar específica (B) no final do experimento.



Valores são a média \pm erro da média para 8 e 5 repetições, respectivamente. Diferenças significativas ($P < 0,05$) entre os tratamentos são representadas por letras minúsculas diferentes.

Fonte: Autor.

Comparando o conteúdo de nutrientes do T5 (Tabela 3) com seu crescimento (Fig. 3) e produção de massa seca (Fig. 5A), vemos que dentre os tratamentos que receberam a biomassa de microalgas como fonte de nutrientes este foi o que apresentou os melhores resultados nestes aspectos. A deficiência de K apresentada na biomassa algal pode ser o principal fator limitante para o crescimento das plantas. Com o crescimento acelerado e o aumento da produção de massa seca o conteúdo de K foi diluído nos tecidos resultando nos valores de concentração menores que os adequados nos tecidos foliares. Neste sentido, se observarmos o T3 que produziu menos massa seca dentre os tratamentos com microalgas (Fig. 5A), observa-se que os teores foliares de K e S, por exemplo, são maiores que os encontrados no T4 e T5 (Tabela 3), pois não houve a diluição dos nutrientes nos tecidos.

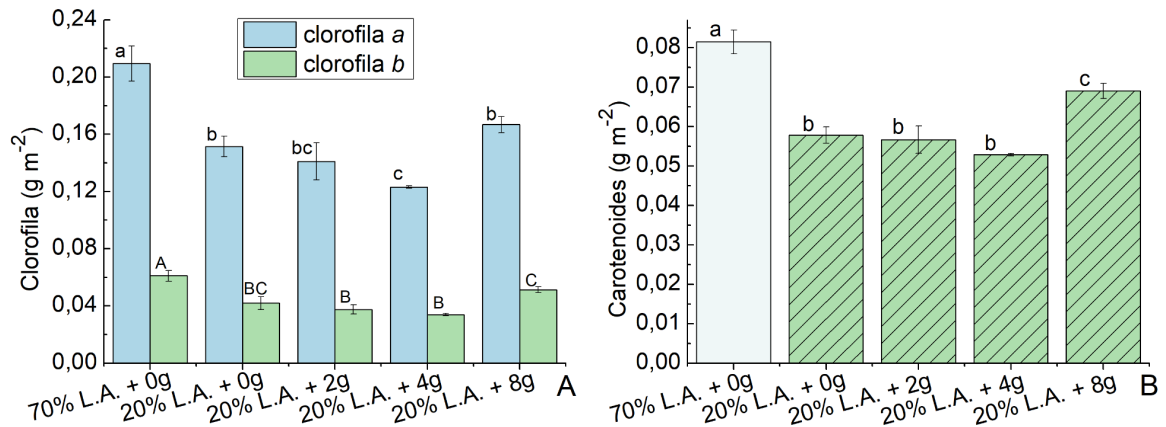
4.3 PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS E TROCAS GASOSAS

O conteúdo de clorofila *a* e *b* dos tratamentos com microalgas não demonstrou diferença significativa em relação ao T2 (Fig. 6A). Somente o T4 demonstrou diferença significativa em relação ao T2 e T5, com uma concentração de clorofila *a* inferior ao T2.

Diversos estudos apontam uma relação positiva do conteúdo de pigmentos fotossintéticos com a quantidade de nutrientes supridos para a planta, principalmente o N e Mg, componentes importantes das moléculas de clorofila (CECHIN *et al.*, 2019; SKWARYŁO-BEDNARZ *et al.*, 2009). Os tratamentos que receberam microalgas não apresentaram os resultados esperados para clorofila (*a* e *b*), esperava-se uma correlação positiva entre a quantidade de microalgas e conteúdo de clorofila devido ao aumento do conteúdo de N e Mg. No final do experimento, quando foram realizadas as medidas de clorofila, as folhas apresentavam aspecto amarelado (Fig. 7), as folhas do T2, entretanto, foram as que apresentaram aspecto menos amarelado, provavelmente devido ao menor crescimento foliar. O aspecto foliar observado indica que a quantidade de nutrientes supridos pode não ter acompanhado a demanda devido ao aumento da massa foliar, levando a menor síntese de pigmentos fotossintéticos. As análises foliares mostraram que a concentração de Fe e Mn nos tratamentos com microalgas são menores que as concentrações do T2 (desconsiderando o valor anormal de Mn apresentado no T3). A deficiência de micronutrientes como Fe, Mn e Zn afetam negativamente a síntese e o conteúdo de pigmentos fotossintéticos, o que já foi demonstrado para diferentes culturas como trigo, alface e girassol (BABAEIAN *et al.*, 2011; KANDOLIYA; *et al.*, 2018; ROOSTA *et al.*, 2018; SANTOS *et al.*, 2013). De acordo com esses resultados, mesmo com um conteúdo foliar adequado de N e Mg as plantas que apresentaram concentrações inadequadas de micronutrientes, como Fe e Mn, tiveram sua produção de clorofila impactada negativamente.

A concentração de carotenóides, por sua vez, foi significativamente maior no T5 em relação ao T2 e os demais tratamentos que receberam microalgas (Fig. 6B). Este resultado pode estar relacionado à maior concentração foliar de Na, superando o T2. Como demonstrado por Sarker e Oba (2019), o conteúdo de carotenoides totais tende a ser maior quando o amaranto está sobre estresse salino moderado ou severo, quando comparado a uma planta que não está sobre estresse salino.

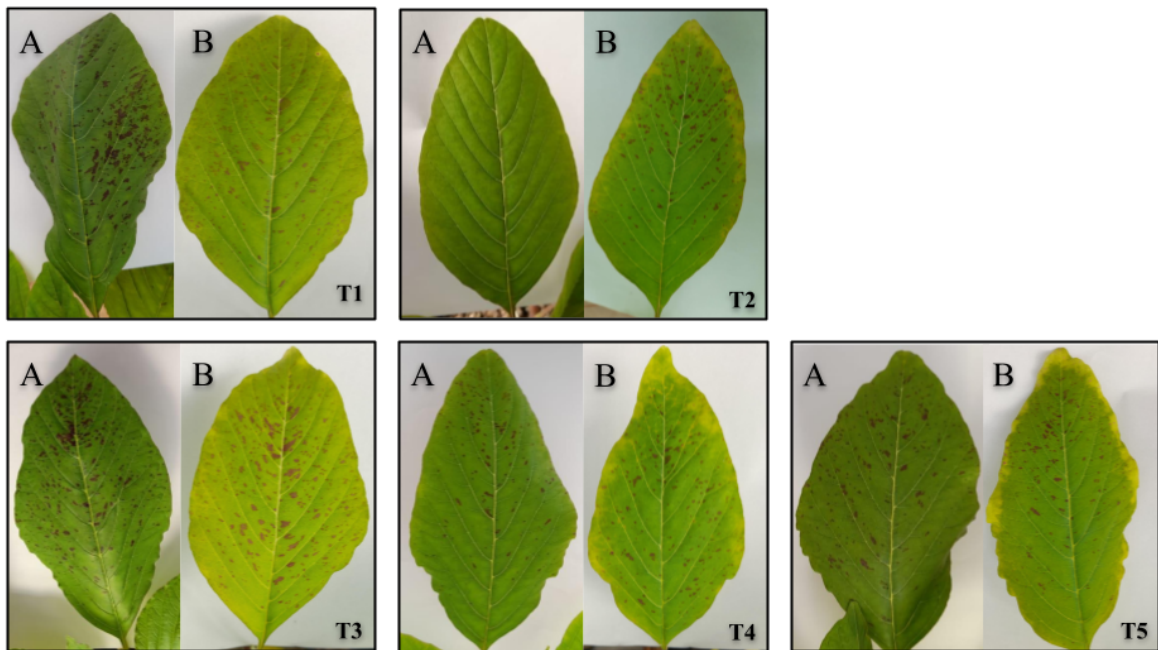
Figura 6 - Conteúdo de pigmentos fotossintéticos, clorofila *a* e *b* (A) e carotenoides (B) ao final do experimento.



Valores são a média \pm erro da média para 8 repetições. Diferenças significativas ($P < 0,05$) entre os tratamentos são representadas por letras minúsculas diferentes.

Fonte: Autor.

Figura 7 - Aspecto visual das folhas da região média* da planta, 25 dias após o plantio (A) e 56 dias após o plantio (B).



*Folhas n°10 a 12 no sentido acrópeto.

Fonte: Autor.

Como relatado por Cechin *et al.* (2019), a taxa de fotossíntese (*A*) possui uma correlação positiva com o suprimento de N, plantas com maior suprimento de N apresentaram taxas mais altas de *A*. Nos tratamentos com microalgas essa correlação não foi tão bem expressa, uma vez que se espera que os tratamentos que receberam mais algas possuam mais N, porém não se observou uma relação de aumento na taxa de *A* com o aumento da

quantidade de microalgas (Fig. 8A). O T3 e T5 superaram a taxa de fotossíntese do T2, o T4 entretanto foi o tratamento com os menores valores para A .

A condutância estomática (g_s) geralmente possui correlação positiva com A (CECHIN *et al.*, 2019), tratamentos com maiores taxas de g_s podem apresentar maior A , pois a condutância estomática é uma medida que expressa a abertura dos estômatos e a capacidade da planta em realizar as trocas gasosas, suprindo CO_2 para a fotossíntese. Entretanto, em determinados casos, mesmo que não haja limitação da g_s , a taxa de A é menor, indicando uma limitação não estomática à fotossíntese. Em casos em que a fotossíntese é inibida por fatores não estomáticos é observada uma maior concentração de CO_2 na cavidade subestomática (C_i), indicando que o CO_2 que entra pelos estômatos não está sendo fixado pela fotossíntese. No presente estudo, A e C_i apresentaram uma correlação negativa. Os dados de C_i (Fig. 8C) são mais altos nos tratamentos com menor taxa de A , isso ocorre pois o CO_2 absorvido pela planta via estômatos não está sendo convertido na fotossíntese e se acumula na cavidade subestomática. Analisando as taxas de A , g_s e C_i coletados para os tratamentos com microalgas (Fig. 8), é possível observar que no T3 não há inibição da fotossíntese, já no T4 e T5 há uma limitação não estomática de A , provavelmente causada pela redução na síntese dos pigmentos fotossintéticos e fatores nutricionais.

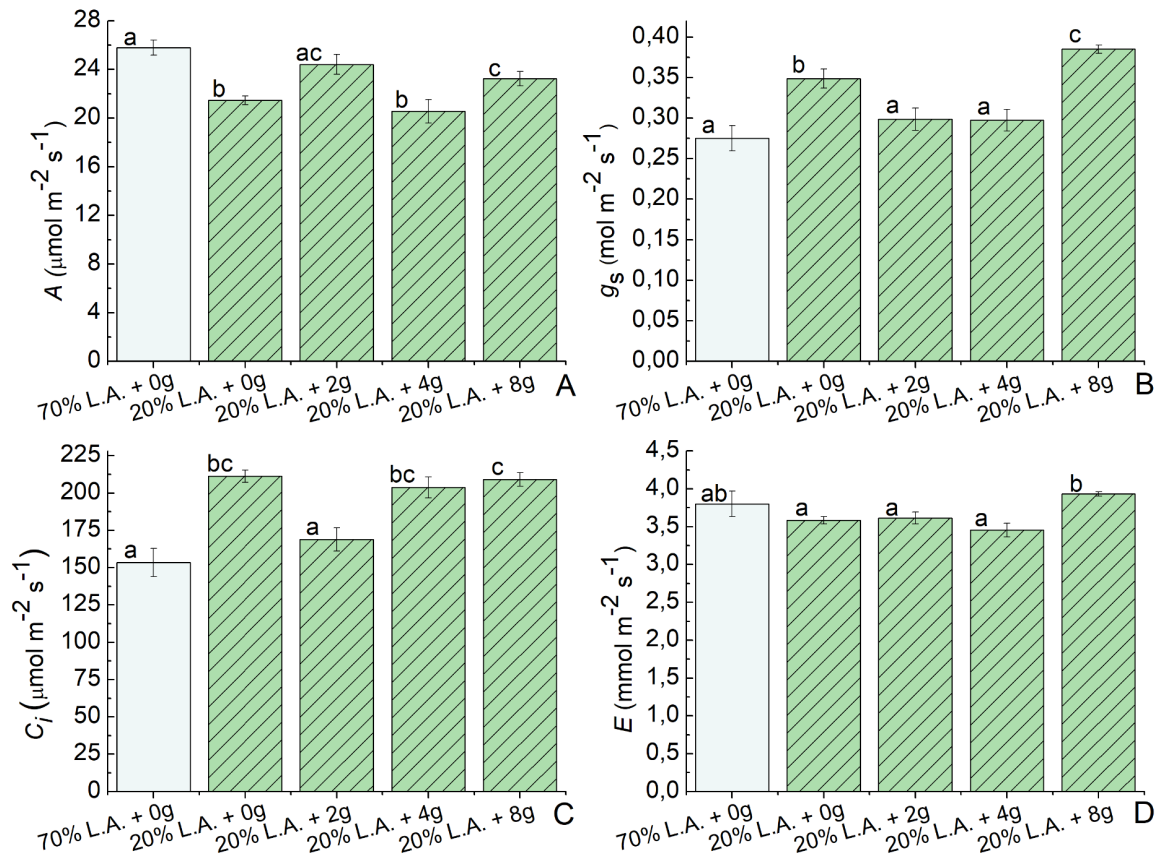
É possível que, devido ao crescimento acelerado característico do amaranto, a segunda aplicação de microalgas não tenha sido suficiente para suprir as necessidades nutricionais da planta devido ao seu rápido consumo de nutrientes e a maior produção de massa seca. O T3 teve uma produção de massa seca semelhante ao T2, porém com um investimento maior em folhas, portanto, mesmo que o conteúdo de clorofila também seja semelhante nestes tratamentos, o A no T3 foi superior, sendo semelhante ao A do T1. No T4 e T5, a produção de massa seca foi maior, com grande investimento na produção de folhas, entretanto, o suprimento nutricional não foi suficiente e os nutrientes ficam diluídos nos tecidos. Devido a estas deficiências nutricionais o conteúdo de clorofila nestes tratamentos foi menor, um dos motivos para uma menor A . Outro fator está relacionado especificamente ao conteúdo de Mn. O Mn é um componente do PSII, especificamente o complexo Mn_4Ca age na oxidação da água. A deficiência desse micronutriente reduz a quantidade de complexos de Mn, levando à desestabilização e degradação do PSII por estresse oxidativo, impactando diretamente a taxa fotossintética (SCHMIDT *et al.*, 2016). A degradação deste fotossistema

afeta a estrutura dos tilacoides e desencadeia a degradação de clorofila, numa cascata de reações que levam a menor eficiência fotossintética (ALEJANDRO *et al.*, 2020).

A transpiração (E) no T5 foi a mais elevada dentre todos os tratamentos (Fig. 8D), esse resultado está relacionado à maior g_s neste tratamento (Fig. 8B), pois com os estômatos abertos a perda de água pela E se torna maior. Nos demais tratamentos não foram observadas diferenças significativas para E em relação ao T2. A maior g_s no T5 pode estar relacionada a seu conteúdo elevado de Zn que superou o conteúdo apresentado nos tratamentos controle (T1 e T2). Esse micronutriente essencial demonstrou ter grande influência na regulação da abertura estomática e na condutância estomática, apesar disso o mecanismo pelo qual o Zn age na regulação destes processos necessita de maiores regulações (KHEIRIZADEH AROUGH *et al.*, 2016; UMAIR HASSAN *et al.*, 2020; ZINZALA *et al.*, 2019). Diferentes estudos demonstraram o impacto negativo da deficiência de Zn na condutância estomática, dentre as culturas estudadas estão o trigo (KHEIRIZADEH AROUGH *et al.*, 2016), grão de bico (KHAN *et al.*, 2004), e arroz (ZINZALA *et al.*, 2019). Para todas as culturas citadas foi demonstrada uma diferença significativa na g_s entre plantas deficientes e plantas com suprimento adequado de Zn.

O T4 e T5 apresentaram uma eficiência instantânea do uso da água (EiUA) igual ao T2. O T3 apresentou EiUA maior que o T2, com resultado igual ao T1. Devido à maior perda de água pela E no T5, juntamente com a menor A , o T5 foi um dos tratamentos com menor EiUA, juntamente com o T4, T2, quando comparado com T1 (Fig. 9). O T4 não teve uma E tão elevada, entretanto, a A nesse tratamento foi menor, levando também a uma baixa EiUA. Por outro lado, o T3 que apresentou E igual ao T2 e T4, e maior A , possui um resultado maior para EiUA, igualando-se ao T1. Pelo resultado demonstrado no T3 verifica-se que a A foi o fator com maior influência na EiUA. A EiUA é a medida que expressa a assimilação líquida de carbono pela fotossíntese (A) e a taxa de transpiração de água (E), ou seja, quanto CO_2 a planta assimila por unidade de água perdida. Os diferentes fatores que afetaram o conteúdo de clorofila e as trocas gasosas, culminaram numa menor eficiência no uso da água no T4 e T5, contudo estes tratamentos apresentaram EiUA igual ao T2. Dentre estes fatores o conteúdo desbalanceado de micronutrientes foi o mais claramente associado aos resultados.

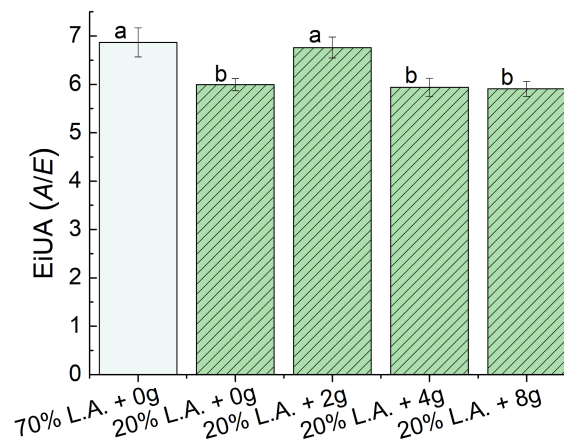
Figura 8 - Fotossíntese (A , A), condutância estomática (g_s , B), concentração de CO_2 na cavidade subestomática (C_i , C) e transpiração (E , D), 44 dias após o plantio.



Valores são a média \pm erro da média para 8 repetições. Diferenças significativas ($P < 0,05$) entre os tratamentos são representadas por letras minúsculas diferentes.

Fonte: Autor.

Figura 9 - Eficiência instantânea do uso da água (EiUA).



Valores são a média \pm erro da média para 8 repetições. Diferenças significativas ($P < 0,05$) entre os tratamentos são representadas por letras minúsculas diferentes

Fonte: Autor.

5 CONCLUSÕES

A partir das análises de nutrientes realizadas para a biomassa de microalgas vemos que os nutrientes microalgais se adequam de maneira semelhante às faixas de diferentes culturas, tendo como principal característica o conteúdo adequado de N e P, a deficiência de K e o excesso de micronutrientes, principalmente Cu, Fe e Zn. Com isso, as microalgas demonstram ser uma boa fonte de N, P e micronutrientes, podendo ser uma boa fonte para uma substituição parcial da fertilização química. No entanto, são necessárias mais investigações a respeito da liberação e disponibilidade dos nutrientes microalgais no substrato, principalmente os micronutrientes. De forma geral, foram observados efeitos positivos da aplicação do fertilizante orgânico microalgal no cultivo de *A. cruentus* L. O impacto da nutrição pelas microalgas foi demonstrado por meio das medidas de crescimento e trocas gasosas das plantas, por estes resultados foi observado que a aplicação de microalgas em substratos pobres (simulado no T2) promove bons resultados no crescimento e produção de massa seca do amaranto no T4 e T5, favorecendo significativamente a produção de folhas. Apesar disso, os resultados de trocas gasosas e pigmentos fotossintéticos no T4 e T5 não diferiram significativamente do T2, demonstrando o possível efeito da indisponibilidade de micronutrientes como Fe e Mn, e da quantidade insuficiente de aplicação de microalgas. O T3 por outro lado, que apresentou uma menor produção de massa seca, apresentou uma maior A, superando o T2, demonstrando o efeito da diluição dos nutrientes nas plantas com mais massa seca. Em estudos futuros seria necessária a investigação de diferentes doses e aplicações das microalgas, para atingir os parâmetros ótimos para o amaranto. Além disso, são necessários novos estudos para investigar diferentes efeitos das aplicações da biomassa de microalgas em plantas C_3 e C_4 , visto que essas plantas possuem necessidades nutricionais distintas, principalmente em relação ao Na, um micronutriente abundante na biomassa das microalgas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDEL-RAOUF, N.; AL-HOMAIDAN, A. A.; IBRAHEEM, I. B. M. **Microalgae and wastewater treatment**. Saudi Journal of Biological Sciences, v. 19, n. 3, p 257-275, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2012.04.005>
- ACIÉN FERNÁNDEZ, F. G.; GÓMEZ-SERRANO, C.; FERNÁNDEZ-SEVILLA, J. M.. **Recovery of nutrients from wastewaters using microalgae**. Frontiers in Sustainable Food Systems, v. 2, p. 59, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3389/fsufs.2018.00059>
- ADEGBOLA, P. I.; ADETUTU, A.; OLANIYI, T. D. **Antioxidant activity of *Amaranthus* species from the Amaranthaceae family – A review**. South African Journal of Botany, v. 133, p. 111-117, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.07.003>
- AEMIG, Q.; HÉLIAS, A.; PATUREAU, D. **Impact assessment of a large panel of organic and inorganic micropollutants released by wastewater treatment plants at the scale of France**. Water Research, v. 188, p. 116524, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116524>
- AKIN-IDOWU, P. E. *et al.* **Phytochemical content and antioxidant activity of five grain amaranth species**. American Journal of Food Science and Technology, v. 5, n. 6, p. 249-255, 2017. DOI: 10.12691/ajfst-5-6-5
- ALEJANDRO, S. *et al.* **Manganese in plants: from acquisition to subcellular allocation**. Frontiers in Plant Science, v. 11, p. 300, 2020. DOI: 10.3389/fpls.2020.00300
- AMAYA-FARFAN, J.; MARCÍLIO, R.; SPEHAR, C. R.. **Deveria o Brasil investir em novos grãos para a sua alimentação? A proposta do amaranto (*Amaranthus* sp.)**. Segurança Alimentar e Nutricional, v. 12, n. 1, p. 47-56, 2005. DOI: 10.20396/san.v12i1.1838
- ANDO, T.; OGUCHI, Y. **A possible role of sodium in chlorophyll biosynthesis of sodium-requiring C₄ plants**. In: Transactions 14th International Congress of Soil Science, Kyoto, Japan, August 1990, v. IV, p. 152-157, 1990 *apud* SUBBARAO *et al.*, 2003.
- ANKUSH, R. P. *et al.* **Micronutrients accumulation under pearl millet-wheat cropping system in response of salinity levels amended with sewage sludge**. Journal of Environmental Biology, v. 41, p. 1641-1647, 2020. DOI: 10.22438/JEB/41/6/SI-233
- AQUINO, S. *et al.* **Remoção de fármacos e desreguladores endócrinos em estações de tratamento de esgoto: revisão da literatura**. Engenharia Sanitária e Ambiental, [s. l.], v. 18, p. 187-204, 2013. DOI: 10.1590/S1413-41522013000300002
- AUNG, M. S.; MASUDA, H. **How does rice defend against excess iron?: Physiological and molecular mechanisms**. Frontiers in Plant Science, v. 11, p. 1102, 2020. DOI: 10.3389/fpls.2020.01102

BABAEIAN, M. *et al.* **Effect of water stress and micronutrients (Fe, Zn and Mn) on chlorophyll fluorescence, leaf chlorophyll content and sunflower nutrient uptake in Sistan region.** African Journal of Agricultural Research, v. 6, n. 15, p. 3526-3531, 2011. DOI: 10.5897/AJAR10.1142

BAIOUI, R. *et al.* **Agricultural valorization of domestic sewage sludge: impact on growth, photosynthesis, nutrition and toxic metal accumulation in *Medicago sativa*.** Agrochimica, Vol. 61, No. 1, p. 56-74, 2017. DOI: 10.12871/0021857201715

BARRETO, L. V. *et al.* **Eutrofização em rios brasileiros.** Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer-Goiânia, v. 9, n. 16, p. 2167, 2013.

BRASIL. **Manual de Métodos Analíticos Oficiais para Fertilizantes e Corretivos.** Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília: MAPA, 2017. ISBN 978-85-7991-109-5

BRASIL. **Resolução n. 498, de 19 de agosto de 2020.** Define critérios e procedimentos para produção e aplicação de biossólido em solos, e dá outras providências. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, ed. 161, Seção: 1, p. 265. 2020. Disponível em: <https://www.in.gov.br/web/dou/-/resolucao-n-408-de-6-de-maio-de-2020-263970286>. Acesso em: 3 de dez. 2021.

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. DOI: 10.1007/s40415-019-00542-1

CASELATO-SOUSA, V. M.; AMAYA-FARFÁN, J. **State of knowledge on amaranth grain: a comprehensive review.** Journal of Food Science, v. 77, n. 4, p. R93-R104, 2012. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2012.02645.x

CHAUHAN, J. S.; KUMAR, S.. **Wastewater ferti-irrigation: an eco-technology for sustainable agriculture.** Sustainable Water Resources Management, v. 6, n. 3, p. 1-11, 2020. DOI: 10.1007/s40899-020-00389-5

CHENG, A.. **Shaping a sustainable food future by rediscovering long-forgotten ancient grains.** Plant Science, v. 269, p. 136-142, 2018. DOI: 10.1016/j.plantsci.2018.01.018

CHEW, K. W. *et al.* **Effects of water culture medium, cultivation systems and growth modes for microalgae cultivation: a review.** Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, v. 91, p. 332-344, 2018. DOI: 10.1016/j.jtice.2018.05.039

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. DOI: 10.1007/s10811-015-0775-2

COSTA, D. M. A. D. *et al.* **Crescimento e desenvolvimento do amaranto (*Amaranthus spp.*) sob estresse salino e cobertura morta.** Revista Brasileira de Ciência do Solo, v. 32, p. 43-48, 2008. DOI: 10.1590/S0100-06832008000100005

DAS, P. *et al.* **Microalgal nutrients recycling from the primary effluent of municipal wastewater and use of the produced biomass as bio-fertilizer.** International journal of environmental science and technology, v. 16, n. 7, p. 3355-3364, 2019. DOI: 10.1007/s13762-018-1867-8

DE BONA, F. D.; DE MORI, C.; WIETHÖLTER, S. **Manejo nutricional da cultura do trigo.** Informações Agronômicas - International Plant Nutrition Institute (IPNI), Piracicaba-SP, Brasil. p. 1– 16. 2016.

DE GODOS, I. *et al.* **A comparative evaluation of microalgae for the degradation of piggery wastewater under photosynthetic oxygenation.** Bioresource technology, v. 101, n. 14, p. 5150-5158, 2010. DOI: 10.1016/j.biortech.2010.02.010

DE WILT, A. *et al.* **Micropollutant removal in an algal treatment system fed with source separated wastewater streams.** Journal of hazardous materials, v. 304, p. 84-92, 2016. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2015.10.033

DIAS, G. A. *et al.* **Growth, yield, and postharvest quality in eggplant produced under different foliar fertilizer (*Spirulina platensis*) treatments.** Semina: Ciências Agrárias, v. 37, n. 6, p. 3893-3901, 2016. DOI: 10.5433/1679-0359.2016v37n6p3893

DINESHKUMAR, R. *et al.* **Microalgae as bio-fertilizers for rice growth and seed yield productivity.** Waste and biomass valorization, v. 9, n. 5, p. 793-800, 2017.

DINESHKUMAR, R. *et al.* **The impact of using microalgae as biofertilizer in maize (*Zea mays* L.).** Waste and Biomass Valorization, v. 10, n. 5, p. 1101-1110, 2019. DOI: 10.1007/s12649-017-0123-7

DU, Y. *et al.* **Effects of manure fertilizer on crop yield and soil properties in China: A meta-analysis.** Catena, v. 193, p. 104617, 2020. DOI: 10.1016/j.catena.2020.104617

EL GENDY, A. N. G. *et al.* **Yield and qualitative characterisation of seeds of *Amaranthus hypochondriacus* L. and *Amaranthus cruentus* L. grown in central Italy.** Italian Journal of Agronomy, v. 13, n. 1, p. 63-73, 2018. DOI: 10.4081/ija.2017.993

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, v. 7, p. 14-21, 2015.

ELSER, J. J. **Phosphorus: a limiting nutrient for humanity?** Current opinion in biotechnology, v. 23, n. 6, p. 833-838, 2012. DOI: 10.1016/j.copbio.2012.03.001

GARCIA, G. ; CARDOSO, A. A.; SANTOS, O. A. M. D. **Da escassez ao estresse do planeta: um século de mudanças no ciclo do nitrogênio.** Química Nova, v. 36, n. 9, p. 1468-1476, 2013.

GARCÍA-GALÁN, M. J. *et al.* **Fate of priority pharmaceuticals and their main metabolites and transformation products in microalgae-based wastewater treatment systems.** *Journal of Hazardous Materials*, v. 390 p. 121771, 2020. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2019.121771

GASTAL, F.; NELSON, C. J. **Nitrogen use within the growing leaf blade of Tall Fescue.** *Plant physiology*, v. 105, p. 191-197, 1994. DOI: 10.1104/pp.105.1.191

GIAFFERIS, G. P.; BARROS, Z. X. De; OLIVEIRA, E. L. D. **Avaliação do potencial de reuso agrícola do efluente de uma estação de tratamento de esgoto com alagados construídos.** *Energia na Agricultura*, v. 29, n. 1, p. 48–56, 2014. DOI: 10.17224/EnergAgric.2014v29n1p48-56

HAFSI, C.; DEBEZ, A.; ABDELLY, C.. **Potassium deficiency in plants: effects and signaling cascades.** *Acta Physiologiae Plantarum*, v. 36, n. 5, p. 1055-1070, 2014. DOI: 10.1007/s11738-014-1491-2

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. MC. **Free radicals in biology and medicine.** Oxford university press, USA, 2015 *apud* ADEGBOLA *et al.*, 2020.

HEWITT, E. J. **Sand and water culture methods used in the study of plant nutrition.** Technical Communication N°. 22. Commonwealth Bureau of Horticultural and Plantation Crops, East Malling, Kent UK, 1966.

HUSSAIN, F. *et al.* **Microalgae an ecofriendly and sustainable wastewater treatment option: Biomass application in biofuel and bio-fertilizer production. A review .** *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 137, 2021. DOI: 10.1016/j.rser.2020.110603

JAYME-OLIVEIRA, A. *et al.* **Amaranth, quinoa, and millet growth and development under different water regimes in the Brazilian Cerrado.** *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 52, p. 561-571, 2017. DOI: 10.1590/S0100-204X2017000800001

JOSS, A. *et al.* **Biological degradation of pharmaceuticals in municipal wastewater treatment: proposing a classification scheme.** *Water research*, v. 40, n. 8, p. 1686-1696, 2006. DOI: 10.1016/j.watres.2006.02.014

KANDOLIYA, R. U.; SAKARVADIYA, H. L.; KUNJADIA, B. B. **Effect of zinc and iron application on leaf chlorophyll, carotenoid, grain yield and quality of wheat in calcareous soil of Saurashtra region.** *IJCS*, v. 6, n. 4, p. 2092-2096, 2018.

KHAN, H. R.; MCDONALD, G. K.; RENGEL, Z. **Zinc fertilization and water stress affects plant water relations, stomatal conductance and osmotic adjustment in chickpea (*Cicer arietinum* L.).** *Plant and Soil*, v. 267, n. 1, p. 271-284, 2004. DOI: 10.1007/s11104-005-0120-7

KHAN, S. A. *et al.* **Microalgae based biofertilizers: A biorefinery approach to phycoremediate wastewater and harvest biodiesel and manure.** *Journal of cleaner production*, v. 211, p. 1412-1419, 2019. DOI: 10.1016/j.jclepro.2018.11.281

- KHEIRIZADEH AROUGH, Y.; SEYED SHARIFI, R.; SEYED SHARIFI, R. **Bio fertilizers and zinc effects on some physiological parameters of triticale under water-limitation condition.** *Journal of Plant Interactions*, v. 11, n. 1, p. 167-177, 2016. DOI: 10.1080/17429145.2016.1262914
- KIM, S.; AGA, D. S. **Potential ecological and human health impacts of antibiotics and antibiotic-resistant bacteria from wastewater treatment plants.** *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, v. 10, n. 8, p. 559-573, 2007. DOI: 10.1080/15287390600975137
- LAMEIRA, A. M. T. *et al.* **Conflito socioambiental no cerrado: a monocultura da soja nos municípios de Itaúbal e Macapá, Amapá.** *Revista do Instituto Histórico e Geográfico do Pará*, v. 4, n. 01, 2018. DOI: 10.17648/ihgp.v4i01.78
- LEAL, M. R. L. V. *et al.* **Sugarcane straw availability, quality, recovery and energy use: a literature review.** *Biomass and Bioenergy*, v. 53, p. 11-19, 2013. DOI: 10.1016/j.biombioe.2013.03.007
- LEIGHT, R. A.; WYN JONES, R. G. **A hypothesis relating critical potassium concentrations for growth to the distribution and functions of this ion in the plant cell.** *New Phytologist*, v. 97, n. 1, p. 1-13, 1984. DOI: 0.1111/j.1469-8137.1984.tb04103.x
- LEMAIRE, G. *et al.* **Is crop N demand more closely related to dry matter accumulation or leaf area expansion during vegetative growth?.** *Field Crops Research*, v. 100, n. 1, p. 91-106, 2007. DOI: 10.1016/j.fcr.2006.05.009
- LI, K. *et al.* **Microalgae-based wastewater treatment for nutrients recovery: A review.** *Bioresource technology*, v. 291, p. 121934, 2019. DOI: 10.1016/j.biortech.2019.121934
- LI, Y. *et al.* **Quantitative Evaluation of an Integrated System for Valorization of Wastewater Algae as Bio-oil, Fuel Gas, and Fertilizer Products.** *Environmental science & technology*, v. 52, n. 21, p. 12717-12727, 2018. DOI: 10.1021/acs.est.8b04035
- LICHTENTHALER, H. K. **Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes.** In: *Methods in enzymology*. Academic Press, p. 350-382, 1987. DOI: 10.1016/0076-6879(87)48036-1
- MAATHUIS, F. J. M. **Sodium in plants: perception, signaling, and regulation of sodium fluxes.** *Journal of Experimental Botany*, v. 65, n. 3, p. 849-858, 2014.
- MALAVOLTA, E. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações.** Piracicaba: Potafos, 1997.
- MAÑAS, P.; DE LAS HERAS, J. **Nutrient content in wheat grain and straw using sludge and compost from a wastewater treatment plant as a fertilizer.** *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 98, n. 12, p. 4707-4714, 2018. DOI: 10.1002/jsfa.9005
- MEW, M. C. **Phosphate rock costs, prices and resources interaction.** *Science of the Total Environment*, v. 542, p. 1008-1012, 2016. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2015.08.045

MOGES, M. E.; HEISTAD, A.; HEIDORN, T. **Nutrient Recovery from Anaerobically Treated Blackwater and Improving Its Effluent Quality through Microalgae Biomass Production.** *Water*, v. 12, n. 2, p. 592, 2020. DOI: 10.3390/w12020592

MORSELETTO, P. **Targets for a circular economy.** *Resources, Conservation and Recycling*, v. 153, p. 104553, 2020. DOI: 10.1016/j.resconrec.2019.104553

MOTYLEVA, S. M. *et al.* **Drought effects on the physiological and biochemical parameters of amaranth (c-4) and actinidia (c-3) plants.** *SABRAO Journal of Breeding & Genetics*, v. 53, n. 2, 2021. DOI:

MU, X.; CHEN, Y. **The physiological response of photosynthesis to nitrogen deficiency.** *Plant Physiology and Biochemistry*, v. 158, p. 76-82, 2021. DOI: 10.1016/j.plaphy.2020.11.019

MURATA, S. *et al.* **Sodium Stimulates Regeneration of Phosphoenolpyruvate in Mesophyll Chloroplasts of *Amaranthus tricolor*.** *Plant and cell physiology*, v. 33, n. 8, p. 1247-1250, 1992. DOI: 10.1093/oxfordjournals.pcp.a078381

OGINO, C. M. *et al.* **Poder de compra, preço e consumo de fertilizantes minerais: uma análise para o centro-oeste brasileiro.** *Revista de Economia e Sociologia Rural*, v. 59, 2020. DOI: 10.1590/1806-9479.2021.220367

PALA, F. S.; TABAKÇIOĞLU, K. **Free radicals: Our enemies or friends?.** *Advances in Molecular Biology*, v. 1, n. 2, 2007.

PALMER, C. M. **A composite rating of algae tolerating organic pollution (2).** *Journal of Phycology*, v. 5, n. 1, p. 78-82, 1969. DOI: 10.1111/j.1529-8817.1969.tb02581.x

PALMER, C. M. **Algae in American sewage stabilization ponds.** *Rev. Microbiol*, p. 75-80, 1974.

PAULA PEREIRA, A. S. A. D. *et al.* **Organomineral fertilizers pastilles from microalgae grown in wastewater: Ammonia volatilization and plant growth.** *Science of The Total Environment*, v. 779, p. 146205, 2021. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.146205

RAIJ, B. V *et al.* **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo.** Campinas: IAC, 1997.

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. DOI: 10.1080/10408398.2010.517876

RENUKA, N. *et al.* **Influence of seasonal variation in water quality on the microalgal diversity of sewage wastewater.** *South African Journal of Botany*, v. 90, p. 137-145, 2014. DOI: 10.1016/j.sajb.2013.10.017

- RENUKA, N. *et al.* **Wastewater grown microalgal biomass as inoculants for improving micronutrient availability in wheat.** *Rhizosphere* 3 (Part 1): 150–159. ISSN 2452-2198. 2017. DOI: 10.1016/j.rhisph.2017.04.005
- RESENDE, A. V. **Adubação da soja em áreas de cerrado: micronutrientes.** EMBRAPA Cerrados. Planaltina, DF, BR. Documentos 115. 29 p. 2004.
- RETA, G. *et al.* **Environmental impact of phosphate mining and beneficiation: review.** *International Journal of Hydrology*, v. 2, n. 4, p. 424-31, 2018.
- ROGGATZ, U. *et al.* **Effects of nitrogen deprivation on cell division and expansion in leaves of *Ricinus communis* L.** *Plant, Cell & Environment*, v. 22, n. 1, p. 81-89, 1999. DOI: 10.1046/j.1365-3040.1999.00383.x
- ROMERA, F. J. *et al.* **Editorial: Nutrient Interactions in Plants.** *Frontiers in Plant Science*, v. 12, p. 2651, 2021. DOI: doi.org/10.3389/fpls.2021.782505
- ROOSTA, H. R.; ESTAJI, A.; NIKNAM, F. **Effect of iron, zinc and manganese shortage-induced change on photosynthetic pigments, some osmoregulators and chlorophyll fluorescence parameters in lettuce.** *Photosynthetica*, v. 56, n. 2, p. 606-615, 2018. DOI: 10.1007/s11099-017-0696-1
- ROUT, P. R. *et al.* **Nutrient removal from domestic wastewater: A comprehensive review on conventional and advanced technologies.** *Journal of Environmental Management*, v. 296, p. 113246, 2021. DOI: 10.1016/j.jenvman.2021.113246
- SANTOS, E. F. D. *et al.* **Photosynthesis rate, chlorophyll content and initial development of physic nut without micronutrient fertilization.** *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 37, p. 1334-1342, 2013. DOI: 10.1590/S0100-06832013000500022
- SARKER, U.; OBA, S. **Salinity stress enhances color parameters, bioactive leaf pigments, vitamins, polyphenols, flavonoids and antioxidant activity in selected *Amaranthus* leafy vegetables.** *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 99, n. 5, p. 2275-2284, 2019. DOI: 10.1002/jsfa.9423
- SCHMIDT, D. *et al.* **Quinoa and Amaranth as Functional Foods: A Review.** *Food Reviews International*, p. 1-20, 2021. DOI: 10.1080/87559129.2021.1950175
- SCHMIDT, S. B.; JENSEN, P.; HUSTED, S. **Manganese deficiency in plants: the impact on photosystem II.** *Trends in Plant Science*, v. 21, n. 7, p. 622-632, 2016. DOI: 10.1016/j.tplants.2016.03.001
- SHARMA, N.; SINGHVI, R. **Effects of chemical fertilizers and pesticides on human health and environment: a review.** *International journal of agriculture, environment and biotechnology*, v. 10, n. 6, p. 675-680, 2017. DOI: 10.5958/2230-732X.2017.00083.3

SILAMBARASAN, S. *et al.* **Removal of nutrients from domestic wastewater by microalgae coupled to lipid augmentation for biodiesel production and influence of deoiled algal biomass as biofertilizer for *Solanum lycopersicum* cultivation.** *Chemosphere*, v. 268, p. 129323, 2021. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2020.129323

SILVA, C. E. M. **Monocultura e conflito socioambiental.** Grupo de estudos em temáticas ambientais (GESTA) UFMG, 2011.

SILVA, R. R. D. *et al.* **Desenvolvimento inicial de plântulas de *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) Schum. sob influência de sombreamento.** *Acta Amazônica*, v. 37, p. 365-370, 2007. DOI: 10.1590/S0044-59672007000300007

SKWARYŁO-BEDNARZ, B.; KRZEPIŁKO, A. **Effect of various doses of NPK fertilizers on chlorophyll content in the leaves of two varieties of amaranth (*Amaranthus cruentus* L.).** *Ecological Chemistry and Engineering. A*, v. 16, n. 10, p. 1373-1378, 2009.

SLOMPO, N. D. M. *et al.* **Black water treatment by an upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor: a pilot study.** *Water Science and Technology*, v. 80, n. 8, p. 1505-1511, 2019. DOI: 10.2166/wst.2019.402.

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. DOI: 10.1590/S0100-204X2003000500015

SPERLING, M. V.; DE LEMOS CHERNICHARO, C. A. **Biological wastewater treatment in warm climate regions.** IWA publishing, 2005. v. 1. ISBN: 1-84339-002-7

STAM, C. *et al.* **Towards circular phosphorus: The need of inter-and transdisciplinary research to close the broken cycle.** *Ambio.*, p. 1-12, 2021. DOI: 10.1007/s13280-021-01562-6

SUBBARAO, G. V. *et al.* **Sodium—a functional plant nutrient.** *Critical Reviews in Plant Sciences*, v. 22, n. 5, p. 391-416, 2003. DOI: 10.1080/07352680390243495

SULEIMAN, A. K. A. *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. DOI: 10.1016/j.resconrec.2020.104924

Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TBCA). Universidade de São Paulo (USP). Food Research Center (FoRC). Versão 7.1. São Paulo, 2020. Disponível em: <http://www.fcf.usp.br/tbca>. Acesso em: 21 nov. 2021.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MØLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal.** Porto Alegre: Artmed Editora, 2017. 6. ed. ISBN 978-85-8271-367-9.

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. DOI: 10.1111/j.1365-3040.2005.01453.x

THEREGOWDA, R. B. *et al.* **Nutrient recovery from municipal wastewater for sustainable food production systems: An alternative to traditional fertilizers**. *Environmental engineering science*, v. 36, n. 7, p. 833-842, 2019. DOI: 10.1089/ees.2019.0053

THORNBURG, T. E. *et al.* **Potassium deficiency significantly affected plant growth and development as well as microRNA-mediated mechanism in wheat (*Triticum aestivum* L.)**. *Frontiers in Plant Science*, v. 11, 2020. DOI: doi.org/10.3389/fpls.2020.01219

UMAIR HASSAN, M. *et al.* **The critical role of zinc in plants facing the drought stress**. *Agriculture*, v. 10, n. 9, p. 396, 2020. DOI: 10.3390/agriculture10090396

VERSTRAETE, W.; DE CAVEYE, P. V.; DIAMANTIS, V. **Maximum use of resources present in domestic "used water"**. *Bioresource Technology*, v. 100, p. 5537-5545, 2009. DOI: 10.1016/j.biortech.2009.05.047

VITOUSEK, P. M. *et al.* **Nutrient imbalances in agricultural development**. *Science*, v. 324, n. 5934, p. 1519-1520, 2009. DOI: 10.1126/science.1170261

WILSENACH, J. A. *et al.* **From waste treatment to integrated resource management**. *Water Science and Technology*, v. 48, n. 1, p. 1-9, 2003. DOI: 10.2166/wst.2003.0002

WITHERS, P. J. *et al.* **Transitions to sustainable management of phosphorus in Brazilian agriculture**. *Scientific reports*, v. 8, n. 1, p. 2537, 2018. DOI: 10.1038/s41598-018-20887-z

XIE, K. *et al.* **Synergistic and antagonistic interactions between potassium and magnesium in higher plants**. *The Crop Journal*, v. 9, n. 2, p. 249-256, 2021. DOI: 10.1016/j.cj.2020.10.005

ZEEMAN, G. *et al.* **Anaerobic treatment as a core technology for energy, nutrients and water recovery from source-separated domestic waste (water)**. *Water Science and Technology*, v. 57, n. 8, p. 1207-1212, 2008. DOI: 10.2166/wst.2008.101

ZINZALA, V. N. *et al.* **Influence of Zinc Applications on Photosynthesis, Transpiration and Stomatal Conductance in Kharif Rice (*Oryza sativa* L.) Genotypes**. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci*, v. 8, p. 150-168, 2019.