

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

GUILHERME DA SILVA MORAES

POTENCIAL BIOESTIMULANTE DE HIDROLISADOS DA BIOMASSA DA  
MICROALGA DO GÊNERO *Spirulina* NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES E  
PRODUTIVIDADE DE PLANTAS DE INTERESSE ECONÔMICO

CURITIBA  
2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

GUILHERME DA SILVA MORAES

POTENCIAL BIOESTIMULANTE DE HIDROLISADOS DA BIOMASSA DA  
MICROALGA DO GÊNERO *Spirulina* NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES E  
PRODUTIVIDADE DE PLANTAS DE INTERESSE ECONÔMICO

Dissertação apresentada como requisito parcial à  
obtenção do grau de Mestre em Engenharia de  
Bioprocessos e Biotecnologia, no Programa de  
Pós-Graduação em Engenharia de Bioprocessos  
e Biotecnologia, Setor de Tecnologia,  
Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Ricardo Soccol  
Co-orientador: Dr. André Luís Lopes da Silva

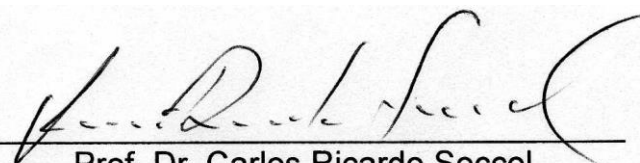
CURITIBA  
2015

## TERMO DE APROVAÇÃO

**GUILHERME DA SILVA MORAES**

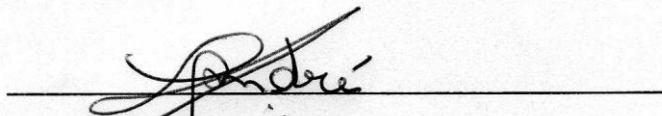
POTENCIAL BIOESTIMULANTE DE HIDROLISADOS DA BIOMASSA DA MICROALGA DO GÊNERO *Spirulina* NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES E PRODUTIVIDADE DE PLANTAS DE INTERESSE ECONÔMICO

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Curso de Pós-Graduação em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, Setor de Ciências Exatas, Universidade Federal do Paraná, pela seguinte banca examinadora:



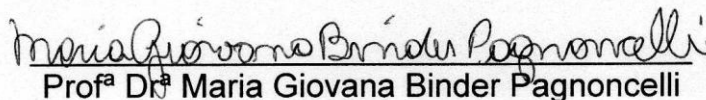
Prof. Dr. Carlos Ricardo Soccol

Orientador – Departamento de Eng<sup>a</sup> de Bioprocessos e Biotecnologia, UFPR



Dr. André Luís Lopes da Silva

Pós - Doutorando do Programa de Pós Graduação de Bioprocessos e Biotecnologia, UFPR



Profª Drª Maria Giovana Binder Pagnoncelli

UTFPR

**Curitiba, 14 de outubro de 2015.**

## DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho a minha família e meus amigos, sem os quais eu nada seria.

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente, agradeço a Deus pela minha vida.

Agradeço à minha família por todo o apoio, carinho e paciência dado a mim durante o mestrado.

Agradeço aos professores do Departamento de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia (DEBB), aos alunos do Programa de Pós Graduação em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia (PPGEBB) e também da Graduação da Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, aos técnicos e estagiários do Laboratório de Processos Biotecnológicos e aos meus amigos, pela amizade e momentos de alegria vividos ao longo dessa jornada.

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Carlos Ricardo Soccol e ao meu co-orientador Dr. André Luís Lopes da Silva, pela tutelação.

Agradeço à CAPES pelo suporte financeiro.

## RESUMO

A aplicação de produtos bioestimulantes em sementes e folhas pode promover o aumento da produtividade de grãos. Experimentos foram conduzidos no Centro Politécnico da Universidade Federal do Paraná, entre 2014 e 2015, para obtenção de um produto de hidrólise de biomassa da microalga do gênero *Spirulina* com propriedades bioestimulantes do crescimento de plantas, com aplicações em sementes e folhas na forma de extrato líquido. Foi avaliada a composição iônica, proteica e dos carboidratos dos extratos produzidos, assim como seus efeitos sobre a germinação de sementes e na produtividade em plantas adultas. A germinação de sementes foi acelerada significativamente com a aplicação do hidrolisado etanólico, cujo solvente promove a extração de compostos fenólicos com ação antimicrobiana e antioxidante. O hidrolisado de biomassa algal com 1% de ácido sulfúrico promoveu um aumento significativo do percentual de germinação de sementes de trigo sob estresse salino na presença de 25 milimolar de cloreto de sódio. Os melhores resultados de aplicação foliar foram obtidos com os hidrolisados com água sob pressão de 1 atm e 121°C de temperatura, chegando a produzir mais que o dobro do número de grãos por espiga no tratamento com 5 g.L<sup>-1</sup> de biomassa. Concluiu-se que foi possível obter um produto de hidrólise com propriedades bioestimulantes a partir da biomassa de microalga do gênero *Spirulina*, para o crescimento de plantas e para germinação de sementes.

Palavras-chave: Milho. Trigo. *Spirulina maxima*. Bioestimulante. Hidrólise ácida. Aplicação foliar. Tratamento de sementes. Estresse salino.

## ABSTRACT

The application of biostimulants products in seeds and leaves can promote increased grain yield. Experiments were conducted at the Polytechnic Center of the Federal University of Parana, between 2014 and 2015 to obtain a product of hydrolysis from biomass of the microalgae of *Spirulina* genre with biostimulants properties of plant growth, for seeds and leaves application in the form of a liquid extract. The ionic, protein and carbohydrates contents produced from extracts, as well as its effects on seed germination and productivity in adult plants were evaluated. Seed germination was significantly accelerated with the application of ethanol hydrolyzate, solvent which promotes the extraction of phenolic compounds with antimicrobial and antioxidant action. The algal biomass hydrolyzate with 1% sulfuric acid induced a significant increase in wheat seed germination percentage under salt stress in the presence of 25 millimolar sodium chloride. The best results obtained by leaf application were with water hydrolysates under pressure of 1 atm and 121 ° C of temperature, producing more than twice the number of grains per spike by the treatment with 5 g.L<sup>-1</sup> of biomass. It was concluded that it was possible to obtain a hydrolysis product with biostimulants properties from biomass of the microalgae of *Spirulina* genre for plant growth and seed germination.

Keywords: Corn. Wheat. *Spirulina maxima*. Biostimulant. Acid hydrolysis. Foliar application. Seed treatment. Saline stress.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Regiões de plantio do trigo para safra de 2013. ....	26
FIGURA 2. Série histórica da produtividade paranaense de milho, na Safra de Verão e na Safrinha .....	30
FIGURA 3. Zoneamento da Cultura de Milho precoce, médio e semiprecoce – Solo tipo 1. ....	31
FIGURA 4. Zoneamento da Cultura de Milho precoce, médio e semiprecoce – Solos tipo 2 e 3.....	32
FIGURA 5. Médias do rendimento de grãos de milho, obtidas em dois espaçamentos e quatro densidades de plantas. ....	33
FIGURA 6. Possíveis caminhos dos solutos através da folha.....	40
FIGURA 7. Seção transversal de uma folha dicotiledônea .....	41
FIGURA 8. Guia para o preparo da solução fertilizante baseado na compatibilidade dos componentes .....	46
FIGURA 9. Umidades críticas de fertilizantes e misturas.....	47
FIGURA 10. Dinâmica do processo de hidrólise. ....	60
FIGURA 11. Fluxograma de extração de biomoléculas da biomassa algal de <i>S. maxima</i> .....	62
FIGURA 12. Bandejas para semeadura utilizadas no experimento de emergência das sementes tratadas com os diferentes hidrolisados.....	64
FIGURA 13. Duas sementes de trigo germinadas por poço, destacadas em amarelo. ....	67
FIGURA 14. Mudanças de milho 20 dias após semeadura obtidas das sementes tratadas com os hidrolisados algais. ....	68
FIGURA 15. Experimento de indução de estresse salino em sementes de trigo. ....	69
FIGURA 16. Sementes germinadas no experimento de estresse salino em sementes de trigo.....	70
FIGURA 17. Mudanças de trigo, semanas após transferência para sacos de cultivos. ....	71
FIGURA 18. Estufa de vegetação do LPBI. ....	71
FIGURA 19. Local de plantio do milho no Centro Politécnico da UFPR. ....	72

FIGURA 20. Sacos plásticos para mudas de milho que seguiram para o campo para experimento de aplicação foliar.....	73
FIGURA 21. Trigo: Aplicação foliar do hidrolisado usando 1% de óleo mineral. ....	74
FIGURA 22. Milho: Aplicação foliar do hidrolisado algal – T5 .....	75
FIGURA 23. Milho: Aplicação foliar do hidrolisado algal – T1 e Controle.....	76
FIGURA 24. Teor de açúcares totais solubilizados resultantes dos diferentes processos de hidrólise da biomassa seca de Spirulina maxima.....	79
FIGURA 25. Teor de proteínas em solução resultantes dos diferentes processos de hidrólise da biomassa seca de Spirulina maxima.....	80
FIGURA 26. Teor de íons de amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) em solução, resultantes dos diferentes processos de hidrólise da biomassa seca de Spirulina maxima.....	81
FIGURA 27. Teor de íons de sódio ( $\text{Na}^+$ ) solubilizado nos diferentes processos de hidrólise da biomassa seca de Spirulina maxima.....	82
FIGURA 28. Teor de íons de magnésio $\text{Mg}^{2+}$ solubilizado resultante dos diferentes processos de hidrólise da biomassa seca de Spirulina maxima.....	83
FIGURA 29. Teor de íons de cálcio $\text{Ca}^{2+}$ solubilizado resultante dos diferentes processos de hidrólise da biomassa seca de Spirulina maxima.....	84
FIGURA 30. Teor de íons de potássio $\text{K}^+$ solubilizado resultante dos diferentes processos de hidrólise da biomassa seca de Spirulina maxima.....	85

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Perfil de aminoácidos da microalga <i>Spirulina maxima</i> . Valores expressos em massa, a cada 16 gramas de nitrogênio (g/16g N). Aminoácidos essenciais em destaque. ....	24
TABELA 2. Composição percentual de biomoléculas de alguns alimentos e microrganismos amplamente utilizados/produzidos. ....	24
TABELA 3. Evolução da produção do trigo nos Estados Unidos, China, Índia, Brasil e mundo em 2014/15 (milhões de toneladas) .....	25
TABELA 4. Composição química do grão de trigo e suas partes constituintes (% de peso seco).....	28
TABELA 5. Composição química dos diferentes tipos de milho (% de peso seco). .....	33
TABELA 6. Percentagem do constituinte total indicado nas estruturas físicas do grão de milho.....	34
TABELA 7. Os elementos essenciais para as plantas superiores e suas concentrações consideradas adequadas para o crescimento normal da planta .....	37
TABELA 8. Macronutrientes: Funções e compostos .....	37
TABELA 9. Micronutrientes: Funções e compostos .....	38
TABELA 10. Tempo de absorção de nutrientes aplicado às folhas.....	46
TABELA 11. Condições meteorológicas que utilizam a aplicação foliar.....	50
TABELA 12. Principais vantagens da adubação foliar. ....	50
TABELA 13. Principais desvantagens da adubação foliar. ....	51
TABELA 14. Indicação de adubação nitrogenada (kg.ha <sup>-1</sup> ) para culturas de trigo e triticales no Estado do Paraná .....	53
TABELA 15. Adubação fosfatada para culturas de trigo e triticales no Estado do Paraná.....	53
TABELA 16. Adubação potássica para culturas de trigo e triticales no Estado do Paraná.....	54
TABELA 17. Referência para adubação do solo menos argiloso no Estado do Paraná.....	54

TABELA 18. Referência para adubação do solo mais argiloso no Estado do Paraná.....	55
TABELA 19. Referência para adubação do solo para o milho da safrinha no Estado do Paraná.....	55
TABELA 20. Composição dos tratamentos aplicados à biomassa.....	59
TABELA 21. Análise química do solo do local de coleta – Centro Politécnico.	65
TABELA 22. Cálculo do volume de hidrolisado em cada experimento de emergência das sementes a partir do volume individual.....	66
TABELA 23. Diluições do hidrolisado algal para imersão das sementes de trigo. ....	67
TABELA 24. Nomenclatura e concentração de cloreto de sódio aplicada nos tratamentos .....	69
TABELA 25. Dados climatológicos registrados no período de cultivo do trigo .	74
TABELA 26. Dados climatológicos registrados no período de cultivo do milho. ....	75
TABELA 27. Índices de recuperação percentual de concentração de moléculas solubilizadas pós tratamento ( $mf\ g.L^{-1}$ ) a partir da concentração inicial de biomassa de <i>S. maxima</i> ( $mi\ g.L^{-1}$ ) disponível em cada tratamento aplicado....	78
TABELA 28. Efeitos da biomassa hidrolisada de <i>S. maxima</i> sobre a germinação de sementes de trigo em solo. Percentagem de emergência das sementes (SE%), estimativa do dia médio de sementes (AGT dias) e coeficiente de velocidade de germinação de sementes (CGV %).....	86
TABELA 29. Efeitos de diferentes hidrolisados de biomassa de <i>S. maxima</i> no percentual de germinação de sementes de trigo cv. Supera submetidas a diferentes níveis de salinidade (milimolar) mediada por cloreto de sódio. ....	88
TABELA 30. Efeitos de diferentes hidrolisados de biomassa de <i>S. maxima</i> no índice de velocidade de germinação de sementes de trigo cv. Supera submetidas a diferentes níveis de salinidade (milimolar) mediada por cloreto de sódio. ....	89
TABELA 31. Efeitos de diferentes hidrolisados de biomassa de <i>S. maxima</i> na estimativa do dia médio de germinação de sementes de trigo cv. Supera submetidas a diferentes níveis de salinidade mediada por cloreto de sódio....	89
TABELA 32. Efeitos de diferentes hidrolisados de biomassa de <i>S. maxima</i> na estimativa do dia médio de germinação de sementes de trigo cv. Supera submetidas a diferentes níveis de salinidade mediada por cloreto de sódio....	90

TABELA 33. Altura da parte aérea (H cm), números de perfilhos (NT) e espiguetas (NS) por planta, comprimento das espigas (SL cm), número de grãos por espiga (GS), peso do hectolitro (HW kg), peso seco da parte aérea da planta sem grãos (DW g), peso de mil grãos (G g), produção de grãos por planta (GP mg) e o índice de colheita (HI %). .....	91
TABELA 34. Efeitos do T1 (10 g.L <sup>-1</sup> de biomassa seca de <i>S. maxima</i> à 25°C sob agitação de 100 rpm durante 24 horas) sobre a germinação de sementes de milho em solo. Percentagem de emergência das sementes (SE%), estimativa do dia médio de sementes (AGT dias) e coeficiente de velocidade de germinação de sementes (CGV %). .....	92
TABELA 35. Efeitos do T2 (1 g.L <sup>-1</sup> de biomassa seca de <i>S. maxima</i> hidrolisada em água por autoclavagem) sobre a germinação de sementes de milho em solo. Percentagem de emergência das sementes (SE%), estimativa do dia médio de sementes (AGT dias) e coeficiente de velocidade de germinação de sementes (CGV %). .....	93
TABELA 36. Efeitos do T3 (5 g.L <sup>-1</sup> de biomassa seca de <i>S. maxima</i> hidrolisada em água por autoclavagem) sobre a germinação de sementes de milho em solo. Percentagem de emergência das sementes (SE%), estimativa do dia médio de sementes (AGT dias) e coeficiente de velocidade de germinação de sementes (CGV %). .....	93
TABELA 37. Efeitos do T4 (10 g.L <sup>-1</sup> de biomassa seca de <i>S. maxima</i> hidrolisada em água por autoclavagem) sobre a germinação de sementes de milho em solo. Percentagem de emergência das sementes (SE%), estimativa do dia médio de sementes (AGT dias) e coeficiente de velocidade de germinação de sementes (CGV %). .....	94
TABELA 38. Efeitos do T5 (10 g.L <sup>-1</sup> de biomassa seca de <i>S. maxima</i> hidrolisada em 1% de ácido sulfúrico por autoclavagem) sobre a germinação de sementes de milho em solo. Percentagem de emergência das sementes (SE%), estimativa do dia médio de sementes (AGT dias) e coeficiente de velocidade de germinação de sementes (CGV %). .....	95
TABELA 39. Efeitos do T6 (10 g.L <sup>-1</sup> de biomassa seca de <i>S. maxima</i> hidrolisada em 3% de ácido sulfúrico por autoclavagem) sobre a germinação de sementes de milho em solo. Percentagem de emergência das sementes (SE%), estimativa	

do dia médio de sementes (AGT dias) e coeficiente de velocidade de germinação de sementes (CGV %). .....	96
TABELA 40. Efeitos do T7 (10 g.L <sup>-1</sup> de biomassa seca de <i>S. maxima</i> hidrolisada em 5% de ácido sulfúrico por autoclavagem) sobre a germinação de sementes de milho em solo. Percentagem de emergência das sementes (SE%), estimativa do dia médio de sementes (AGT dias) e coeficiente de velocidade de germinação de sementes (CGV %). .....	97
TABELA 41. Efeitos do T8 (10 g.L <sup>-1</sup> de biomassa seca de <i>S. maxima</i> hidrolisada com solução de álcool 50% por autoclavagem) sobre a germinação de sementes de milho em solo. Percentagem de emergência das sementes (SE%), estimativa do dia médio de sementes (AGT dias) e coeficiente de velocidade de germinação de sementes (CGV %). .....	98
TABELA 42. Altura da planta (AP cm), altura da inserção da primeira espiga (AE cm), número de grãos por espiga (GE), massa seca da planta sem grãos (MS g), massa de 1.000 grãos (M1000 g), produtividade dos grãos (P g planta <sup>-1</sup> ), número de espigas por planta (EP) e índice de colheita (IC %) do milho variedade Azteca, submetido a diferentes hidrolisados de biomassa de <i>S. maxima</i> via aplicação foliar, na safra 2015, em Curitiba, PR. ....	99

## LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

$\mu\text{moles.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  – Fluxo de fótons incidentes

ATP – Adenosina tri-fosfato

cm – Centímetros

$\text{cmol}_c$  – centimol de carga

$\text{dm}^{-3}$  – decímetro cúbico

ELA – Espaço Livre Aparente

$\text{g.L}^{-1}$  – Grama por litro

INMET – Instituto Nacional de Meteorologia

LPB I – Laboratório de Processos Biotecnológicos I

$\text{mg.L}^{-1}$  – miligrama por litro

mL – Mililitros

P.A – Pureza analítica

ppm – Parte por milhão

PVC – Policloreto de Vinila

rpm – Rotação por minuto

SGI – Índice de velocidade de germinação de sementes

TMG – Tempo médio de germinação

UTEX – Universidade do Texas

vvm – Volume de ar por volume de meio por minuto

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	18
1.1 OBJETIVO GERAL .....	20
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	20
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	21
2.1 MICROALGAS .....	21
2.1.1 <i>Spirulina maxima</i> .....	22
2.2 TRIGO .....	25
2.2.1 Composição química do trigo .....	28
2.3 MILHO .....	29
2.3.1 Composição química do milho .....	33
2.4 FERTILIZAÇÃO FOLIAR .....	35
2.4.1 Nutrientes .....	36
2.4.1.1 Fatores inerentes aos nutrientes .....	38
2.4.2 Mecanismos de absorção de nutrientes .....	39
2.4.3 Fatores que afetam a absorção de nutrientes pela folhas .....	42
2.4.3.1 Fatores externos .....	42
2.4.3.2 Fatores internos .....	43
2.4.4 Preparo das soluções de nutrientes .....	44
2.4.4.1 Agentes protetores .....	45
2.4.4.2 Agentes umectantes e molhantes .....	46
2.4.4.3 Agentes quelantes .....	47
2.4.4.4 pH da solução .....	48
2.4.4.5 Métodos e época de aplicação do adubo foliar .....	49
2.4.5 Vantagens e desvantagens da adubação foliar .....	50
2.5 CARACTERÍSTICAS IDEAIS DO SOLO PARA O PLANTIO .....	51
2.5.1 Tratamento do solo para cultivo do trigo .....	52
2.5.2 Tratamento do solo para cultivo do milho .....	54

2.6 Teste de germinação de sementes .....	56
3 MATERIAL E MÉTODOS .....	58
3.1 LINHAGEM UTILIZADA DA MICROALGA <i>Spirulina maxima</i> .....	58
3.2 MANUTENÇÃO DE CEPAS E PREPARO DE INÓCULO .....	58
3.3 DISPONIBILIZAÇÃO DAS BIOMOLÉCULAS DA BIOMASSA MICROALGAL .....	59
3.4 MÉTODOS ANALÍTICOS DOS HIDROLISADOS ALGAIS .....	63
3.4.1 Determinação de biomassa algal.....	63
3.4.2 Determinação dos nutrientes solúveis, proteínas e açúcares totais dos hidrolisados algais .....	63
3.5 TESTE DE EMERGÊNCIA DAS SEMENTES EM BANDEJA.....	64
3.6 TESTE DE RESISTÊNCIA À SALINIDADE .....	69
3.7 APLICAÇÃO DO HIDROLISADO ALGAL COMO FERTILIZANTE FOLIAR EM PLANTAS .....	70
3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	77
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	78
4.1 COMPOSIÇÃO DE NUTRIENTES E BIOMOLÉCULAS NOS HIDROLISADOS DE <i>Spirulina maxima</i> .....	78
4.2 EFEITOS DO HIDROLISADO ALGAL NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES E NO DESENVOLVIMENTO DE PLANTAS DE TRIGO .....	86
4.2.1 Germinação de sementes de trigo .....	86
4.2.2 Sementes de trigo submetidas ao estresse salino.....	87
4.2.3 Aplicação foliar em plantas de trigo .....	90
4.3 EFEITOS DO HIDROLISADO ALGAL NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES E NO DESENVOLVIMENTO DE PLANTAS DE MILHO .....	92
4.3.1 Germinação de sementes de milho .....	92
4.3.2 Aplicação foliar em plantas de milho.....	98
5 CONCLUSÕES .....	102
6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS .....	102
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	103

## 1 INTRODUÇÃO

*Spirulina maxima* é uma microalga produzida comercialmente como uma rica fonte de nutrientes para alimentação humana. Desde a década de 90, várias formas de utilização de biofertilizantes como técnica agrônômica para aperfeiçoar a produtividade de diversas culturas foram estudadas e aplicadas, dentre elas, as aplicações foliares como suprimento nutricional, ativador do crescimento vegetal e auxiliar no controle de pragas e doenças (SANTOS *et al.*, 2003). Atualmente produtos a base de algas marinhas tem atraído a atenção de produtores de todo o mundo, já que sua eficiência em testes com cereais, hortaliças, frutíferas e outras culturas têm demonstrado bons resultados (NUNES, 2010).

Desde então, algas marinhas sempre foram reconhecidas como excelentes adubos e bioestimulantes naturais para as plantas (MOREIRA *et al.*, 2005). Logo, o uso de produtos bioestimulantes tornou-se uma técnica alternativa que tem apresentado resultados promissores e favoráveis ao crescimento e desenvolvimento dos cultivos (CASTRO; VIEIRA, 2001; MÓGOR *et al.*, 2008).

Produtos bioestimulantes ou biofertilizantes, na forma seca ou de extratos obtidos através de processos de remoção dos componentes constituintes da biomassa algal estão cada vez mais sendo utilizados na agricultura (STADNIK, 2006), com a finalidade de:

- ✓ Estimular o crescimento de plantas em seus diferentes estágios
- ✓ Promover a capacidade antioxidante
- ✓ Estimular maior resistência aos estresses abióticos, como solo desnutrido, períodos de calor, frio, secas e chuvas intensas
- ✓ Estimular respostas das plantas a doenças (ZODAPE, 2001; STADNIK, 2003).

O aumento da produtividade, com produtos de alta qualidade motivou e continua motivando muitas empresas de pesquisas, tanto públicas quanto privadas a investir altas somas de dinheiro no desenvolvimento de novas

tecnologias que sanem esta necessidade das empresas, produtores e da sociedade (MÓRGAN, 2010).

Assim, produtos que possuam ação bioestimulante são responsáveis por melhorar o desenvolvimento de espécies vegetais e por consequência suas capacidades produtivas (CASTRO, 2006). São utilizados por aplicação foliar, sendo que, na Comunidade Européia é frequente o uso de produtos comerciais à base de extrato de alga para aplicações foliares ou no solo, inclusive na agricultura orgânica (MASNY *et al.*, 2004).

No Brasil, o uso de extrato de alga na agricultura é regulamentado pelo Decreto número 4.954 (BRASIL, 2004) enquadrando como agente complexante em formulações para aplicação foliar e fertirrigação.

Bioestimulantes são substâncias químicas promotoras do desenvolvimento das plantas em seus diferentes estágios do crescimento. Constituem-se de misturas de reguladores vegetais com diversos outros compostos como micronutrientes, vitaminas, aminoácidos, ácido ascórbico e algas marinhas (VIEIRA, 2001). Possuem função promotora do equilíbrio hormonal em plantas, estimulando a expressão genética, resultando no desenvolvimento de seus sistemas, entre eles o radicial (ONO *et al.*, 1999).

Caracterizam-se como uma alternativa à suplementação de nutrientes no plantio, podendo ser aplicados via solo, via sistemas de irrigação ou pulverização foliar. O aumento no uso de formulações bioestimulantes e/ou biofertilizantes é justificado pelo baixo custo, composição variada e a existência de bons níveis de nutrientes (SOUZA, 2003), além de excelentes resultados.

Hormônios reguladores vegetais são moléculas com a função sinalizadora, encontradas de forma natural em plantas durante todos os estágios de desenvolvimento. São responsáveis por características essenciais para o crescimento ótimo das plantas, garantindo sua sobrevivência nas etapas do plantio (TAIZ & ZEIGER, 2004). Alguns destes reguladores agem desde os estágios iniciais de desenvolvimento das sementes, sendo responsáveis pela degradação dos nutrientes de reserva estocados, pela diferenciação da massa celular, brotamento, divisão e alongamento da planta (CASTRO & VIEIRA, 2001).

A ação destes compostos baseiam-se na ação sintetizadora dos aminoácidos pelas plantas, sendo utilizados para suprir grande parte das

necessidades estruturais, além de sínteses vitamínicas, de vários compostos como enzimas, hormônios e clorofila, além de armazenamento e transporte de nitrogênio, efetuando assim uma ação direta para um maior desenvolvimento vegetal e com um gasto energético reduzido, além da redução da fitotoxicidade de alguns defensivos, maior tolerância ao estresse hídrico e a geadas, maior florescimento das plantas e aumenta a qualidade dos produtos colhidos (BRANDÃO, 2007; CAÇO, 2008).

### 1.1 OBJETIVO GERAL

Obtenção de um produto de hidrólise da biomassa de *Spirulina maxima* com propriedade bioestimulante do crescimento de plantas, com aplicação em sementes e folhas na forma de extrato líquido de biomassa algal.

### 1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Hidrólise da biomassa algal de *Spirulina maxima* utilizando solventes como água, soluções hidroalcoólicas e ácido sulfúrico.
- Análise da composição iônica, proteica, de carboidratos dos extratos produzidos.
- Avaliar o potencial dos extratos preparados sobre seus efeitos na germinação de sementes através dos índices de emergência, tempo médio de germinação e do coeficiente de velocidade de germinação.
- Avaliar o efeito dos extratos através de análises morfológicas e de produtividade nas plantas adultas.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 MICROALGAS

De acordo com os pesquisadores, a primeira forma de vida fotossintética apareceu na terra cerca de 3,6 bilhões de anos atrás. As cianobactérias, conhecidas como algas azul-esverdeadas, são o elo evolucionário entre as bactérias e as plantas verdes. Elas continham todas as ferramentas necessárias para a evolução da vida e a cerca de 40 anos vem sendo cada vez mais exploradas e cultivadas.

Microalgas são microrganismos unicelulares que vivem isolados ou em colônias. No entanto, elas são diferentes da maioria dos outros microrganismos que usam a luz solar para produzir seu próprio alimento por meio da fotossíntese. Elas são ancestrais primitivos das plantas e “inventaram” a fotossíntese a bilhões de anos atrás. São extremamente diversificadas, no que se refere à sua aparência física e química interna. Podem ser encontradas no mar, na água doce, no solo, nas rochas, e até mesmo na neve, evidenciando a sustentabilidade das microalgas em ecossistemas iluminados pelo sol na Terra. Na verdade, aproximadamente a metade do oxigênio lançado na atmosfera da Terra todos os dias vem das microalgas, e o restante vem de plantas terrestres (FOX, 1996).

Assim como as plantas são a base – o início – das cadeias alimentares em terra, as microalgas, também denominadas de fitoplâncton, são a base da cadeia alimentar aquática. Alimentadas pelo açúcar produzido pela fotossíntese, as microalgas absorvem elementos minerais, principalmente nitrogênio e fósforo, encontrados em fertilizantes, para aumentar em número. Como organismos unicelulares, quando crescem não ficam maiores, na realidade aumentam em quantidade. Sua biomassa é uma mistura de proteínas, carboidratos e gorduras, fornecendo alimento para ostras, mariscos e mexilhões. A mistura de milhares de espécies de microalgas em águas naturais, de alguma forma, satisfaz as necessidades nutricionais de todos os animais que lá vivem, mas como a humanidade faz a transição de caçador para “agricultor” do mar e água doce,

assim como temos na terra, faz sentido selecionar apenas as espécies de microalgas mais nutritivas para cultivar como alimento de animais aquáticos e marinhos que se alimentam de microalgas.

*Spirulina*, também conhecida como *Arthrospira* é uma microalga multicelular fotossintetizadora, filamentosa e espiralada, de cor azul-esverdeada que tem um longo histórico de utilização como alimento (TOMASELLI, 2003).

Devido a esse microrganismo conter clorofila, como as plantas superiores, os botânicos a classificam como uma alga pertencente à família *Cyanophyceae*, mas de acordo com os bacteriologistas, é uma bactéria devido à sua estrutura procariótica. *Spirulina* conhecida comercialmente é essencialmente um simples extrato de algas verde-azuladas, e tem sido extensivamente estudado e agora está em uso generalizado em todo o mundo como um produto alimentício e um suplemento alimentar (PALEAZ, 2006).

### 2.1.1 *Spirulina maxima*

*Spirulina maxima*, uma alga verde-azulada, é uma cianobactéria capaz de formar naturalmente grandes colônias em águas superficiais tropicais e subtropicais com altos níveis de carbonatos e bicarbonatos. Após o primeiro isolamento realizado por Tupin em 1827 a partir de um córrego de água doce, espécies de *Spirulina* tem sido encontradas em uma variedade de ambientes: solo, areia, pântanos, água salobra, água do mar e água doce. Espécies de *Spirulina* tem sido isoladas, por exemplo, de águas tropicais do Mar do Norte, águas termais, salinas, água mornas de usinas de energias, tanques de peixes, etc. Assim, o organismo parece ser capaz de se adaptar a diferentes habitats e coloniza certos ambientes em que a vida de outros microrganismos é, se não impossível, muito difícil (CIFERRI, 1983).

Não se sabe com precisão quando o humano começou a usar as microalgas. A utilização dessas fontes tem três precedentes: tradição, desenvolvimento científico e tecnológico, e da chamada “tendência verde”. Há relatos de sua utilização como alimento no México durante a civilização Asteca, aproximadamente 400 anos atrás. Bernal Díaz del Castillo, um membro das tropas de Hernán Cortez, reportou em 1521 que *S. maxima* foi extraída do Lago

Texcoco, seca e vendida para consumo humano em um mercado de Tenochtitlán, hoje, Cidade do México (SÁNCHEZ *et al.*, 2003).

Em 1940, um fitologista francês, Dangeard, publicou um relatório sobre o consumo de dihé pelo povo Kanembu próximo do Lago Chad. Ele também observou essas mesmas algas povoando uma série de lagos no Vale do Rift da África Oriental, e era o principal alimento de flamingos que viviam ao redor destes lagos. Vinte e cinco anos depois, entre 1964-1965, um botânico em uma expedição Trans-Saharan Belga, Jean Lu Léonard, relatou a descoberta de um curioso bolo comestível esverdeado que estava sendo vendido em mercados nativos de Fort-Lamy (agora N'Djamena) no Chad. Quando os moradores locais disseram que esses bolos vieram de áreas próximas do Lago Chad, Léonard reconheceu a conexão entre a proliferação de algas e os bolos secos vendidos no mercado (HABIB *et al.*, 2008).

Em 1967, *Spirulina* foi estabelecida como uma “maravilhosa futura fonte de alimento” na Associação Internacional de Microbiologia Aplicada (SASSON, 1997).

Na sua utilização comercial, o nome comum, *Spirulina*, se refere a biomassa seca da cianobactéria *Arthrospira platensis* e é um produto inteiro de origem biológica. *A. platensis* e *A. maxima*, são comumente utilizadas como alimento e suplemento alimentar (WIKFORS; OHNO, 2001).

A re-introdução da *Spirulina* como alimento saudável para o consumo humano no final dos anos de 70 e início dos anos 80 foi associada a muitas reivindicações controversas de que a *Spirulina* teria um papel de um “agente mágico” que poderia fazer quase tudo, desde a cura do câncer, até atividade antibiótica e antiviral. Como a maioria dessas reivindicações nunca foram afirmadas detalhadamente por pesquisas científicas e médicas. No entanto, não se pode ignorar o fato de que mais de 70 por cento do mercado de *Spirulina* atual é para o consumo humano, principalmente como alimento saudável. O principal interesse na *Spirulina* é voltado principalmente para o seu rico conteúdo de proteínas, aminoácidos essenciais (TABELA 1), minerais, vitaminas e ácidos graxos essenciais.

TABELA 1. Perfil de aminoácidos da microalga *Spirulina maxima*. Valores expressos em massa, a cada 16 gramas de nitrogênio (g/16g N). Aminoácidos essenciais em destaque.

Aminoácido	<i>Spir. max.</i>	Aminoácido	<i>Spir. max.</i>
Asp	11,2	<u>Tre</u>	6,1
Glu	10,7	<u>Tyr</u>	7,9
Ser	5,5	<u>Phe</u>	1,3
Gly	6,0	<u>Val</u>	8,4
Arg	10,0	<u>Met</u>	2,0
Ala	8,9	<u>Cys</u>	0,6
Pro	4,4	<u>Ile</u>	4,2
Hys	1,7	<u>Leu</u>	5,5
		<u>Lys</u>	6,1

<sup>a</sup> Tyr + Phe ; <sup>b</sup> Met + Cys.

Fonte: Adaptado de ORTEGA-CALVO *et al*, 1993

A *Spirulina* possui de 60-70% (TABELA 2) em peso de proteínas e contém uma fonte rica de vitaminas, por exemplo de vitamina B12 e provitamina A (beta-caroteno), e minerais, especialmente o ferro (SASSON, 1997).

TABELA 2. Composição percentual de biomoléculas de alguns alimentos e microrganismos amplamente utilizados/produzidos.

Produto	Proteína (%)	Carboidrato (%)	Lipídeo (%)
Fermento de panificação	39	38	1
Carne	43	1	34
Leite	26	38	28
Arroz	8	77	2
Grão de soja	37	30	20
<i>Anabaena cylindrica</i>	43-56	25-30	4-7
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	48	17	21
<i>Chlorella vulgaris</i>	51-58	12-17	14-22
<i>Dunaliella salina</i>	57	32	6
<i>Porphyridium cruentum</i>	28-39	40-57	9-14
<i>Scenedesmus obliquus</i>	50-56	10-17	12-14
<i>Spirulina maxima</i>	60-71	13-16	6-7
<i>Synechococcus sp.</i>	63	15	11

Fonte: Adaptado de BECKER, 2004.

## 2.2 TRIGO

Originário de regiões com clima ameno e pouco chuvoso, de grande variação térmica em cada estação, o trigo (*Triticum spp.*) tem sua origem nas regiões montanhosas do sudoeste da Ásia. É uma importante fonte de nutrientes, carboidratos, proteínas, minerais, vitaminas, fibras e fitocompostos (VRČEK *et al.*, 2014).

É um dos cereais mais produzidos no mundo, ficando em segundo lugar logo atrás do milho, com 716,1 milhões de toneladas produzidas na safra 2014/2015. Mais dados sobre a evolução na produção mundial e a participação do Brasil no cenário global estão apresentados na TABELA 3 a seguir.

TABELA 3. Evolução da produção do trigo nos Estados Unidos, China, Índia, Brasil e mundo em 2014/15 (milhões de toneladas)

<b>Produtos</b>	<b>EUA</b>	<b>China</b>	<b>Índia</b>	<b>Brasil</b>	<b>Mundo</b>	<b>Part. (%) destes países/mundo</b>
<b>Milho</b>	356,4	222	21	74	<b>985,4</b>	<b>68%</b>
<b>Trigo</b>	55,2	126	95,9	8	<b>716,1</b>	<b>40%</b>
<b>Arroz</b>	7,3	144	103	7,3	<b>477,3</b>	<b>55%</b>
<b>Soja</b>	103,9	12	11	91	<b>304,7</b>	<b>72%</b>
<b>TOTAL</b>	<b>522,8</b>	<b>504</b>	<b>230,9</b>	<b>180,3</b>	<b>2483,5</b>	<b>58%</b>

Fonte: Adaptado de Ocepar/Getec - [www.fas.usda.gov](http://www.fas.usda.gov), agosto 2014.

Cerca de 67% da produção mundial é destinada à alimentação humana, 20% é usado como ração animal, e 7% é destinado à sementeira (SAYASLAN, 2004).

A região Sul do país é a pioneira no cultivo do grão, devido suas características de clima temperado e temperaturas amenas. A espécie de trigo mais cultivada é *Triticum aestivum*, e sua época de plantio varia de acordo com relação à região de plantio, temperatura média, umidade, e condições do solo. Umidades acima de 75%, temperaturas acima de 26-27°C são fatores que prejudicam o plantio. O frio e a geada são fatores positivo no começo do plantio, mas não podem ocorrer no amadurecimento do trigo pois haverão grandes perdas.

No estado do Paraná, o Instituto Agrônomo do Paraná juntamente com a comissão brasileira de pesquisa de trigo e tricale lançam as diretrizes e

informações técnicas para o plantio dos cultivares para cada safra. Segundo as diretrizes para a safra de 2013, estimou-se as regiões homogêneas de adaptação de cultivares de trigo no Estado do Paraná, como mostra a FIGURA 1 a seguir.



FIGURA 1. Regiões de plantio do trigo para safra de 2013.

Fonte: IAPAR, instrução normativa nº. 3, de 14 de outubro de 2008, e instrução normativa nº. 58, de 19 de novembro de 2008.

De acordo com o Zoneamento Agrícola do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para a cultura de trigo no Estado, pode-se obter a indicação para época de semeadura em cada município do Paraná com aptidão para o cultivo de trigo, levando-se em consideração o tipo de solo da região:

Tipo 1: com teor de argila entre 10% e 15%;

Tipo 2: com teor de argila entre 15% e 35% e menos de 70% de areia, com profundidade igual ou superior a 50 cm;

Tipo 3:

a) Com teor de argila superior a 35%, com profundidade igual ou superior a 50 cm;

b) Solos com menos de 35% de argila e menos de 15% de areia (textura siltosa), com profundidade igual ou superior a 50 cm (ZADOCKS; KONZAK, 1974).

As épocas de semeadura indicadas são aquelas com maior probabilidade de apresentar melhor rendimento de grão conforme o ciclo das cultivares. Historicamente, os períodos de maior probabilidade de geada nas regiões tritícolas do Paraná têm sua maior frequência entre 11 e 31 de julho. De modo geral, as cultivares indicadas para cultivo no Estado têm, no seu ciclo, fator de fundamental importância na decisão da época ideal de semeadura. Portanto, em locais onde a ocorrência de geada tem sido mais frequente, especialmente no Centro, Oeste e Sudeste, nas semeaduras em que a emergência de trigo e triticales ocorre no intervalo entre 11 de abril a 31 de maio, essas lavouras, provavelmente, estariam espigando durante o mês de julho. Assim, aconselha-se o escalonamento de épocas de semeadura e diversificação de cultivares para uma mesma propriedade rural, mas sempre objetivando que as cultivares atinjam o pleno espigamento até 1º de junho. As densidades variam de 60 a 80 sementes por metro ou de 200 a 400 sementes viáveis/m<sup>2</sup>, em função do ciclo, porte das cultivares e, algumas vezes, dos tipos de clima e solo. O espaçamento normalmente utilizado para trigo é de 17 a 20 cm entre linhas (CBPTT, 2012).

Segundo a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB), a safra de trigo 2013/2014 está estimada em 5,471 milhões de toneladas, correspondente a um crescimento de 25% em relação ao período anterior (4,380 milhões de toneladas). O desempenho é resultado de aumento de 15,7% na área plantada e produtividade 7,9% maior. O Rio Grande do Sul, favorecido pelo clima, foi responsável por 58,0% da safra nacional, o Paraná por 32,7% e os demais Estados por 9,3%.

Prevê-se a importação da ordem de 6,5 milhões de toneladas de trigo, ou seja, 510 mil toneladas a menos do que o volume do ano anterior. Entre agosto e novembro de 2013 foram importadas 2,529 milhões de toneladas do cereal. Para complementar o volume estimado de 6,5 milhões de toneladas, o País deverá internalizar cerca de 4,0 milhões de toneladas de trigo, significando importações mensais entre dezembro/13 e julho/14 da ordem de meio milhão de toneladas (CONAB, 2014).

### 2.2.1 Composição química do trigo

A composição química é determinada por fatores como a qualidade do solo de cultivo, condições climáticas, armazenamento dos grãos e principalmente de acordo com sua genética. A TABELA 4 apresenta valores médios da composição química do grão de trigo.

TABELA 4. Composição química do grão de trigo e suas partes constituintes (% de peso seco).

<b>Componentes químicos</b>	<b>Grão inteiro</b>	<b>Casca do grão com o endosperma</b>	<b>Embrião</b>	<b>Endosperma</b>
Proteínas	10-12	23-33	36-42	9-14
Carboidratos				
Amido	60-70	0	0	78-84
Açúcares	3,0-6,0	3,0-5,0	22-28	3,0-4,0
Pentosanas	6,0-9,5	30-40	9-11	2,5-3,0
Celulose	2,5-3,3	12-20	3-5	0,13-0,18
Lipídeos	2,0-2,5	7,0-8,5	12-16	0,5-0,7
Minerais	1,4-2,3	9-11	5-6	0,3-0,5

Fonte: Adaptado de SHARMA, 2003.

O componente mais abundante presente no grão de trigo é o amido (60 a 70%), que se encontra no endosperma na forma de grânulos. Além do amido, o trigo possui em menor proporção outros carboidratos como arabinoxilanas, celulose e abarinogalactana-peptídeos (BORGHT, VAN DER *et al.*, 2005).

O endosperma do trigo possui cerca de 12% de proteínas, as quais podem ser divididas em dois grupos principais: glúten e proteínas que não são glúten. As proteínas que não são glúten (15 a 20% das proteínas do grão) consistem de albuminas e globulinas, enquanto o glúten (principal forma de estoque de proteína do grão de trigo, compondo 80 a 85% das proteínas totais do trigo) pode ser dividido em gliadinas e gluteninas (BORGHT, VAN DER *et al.*, 2005).

e em alguns países do Oriente Médio, até em regiões com alta precipitação pluvial, como é o caso da China e Índia. No Brasil, pode ser cultivado com sucesso desde a Região Sul do país até a Região de Cerrados,

no Brasil. As áreas tritícolas de maior expressão são as de clima temperado, tipo mediterrâneo, com inverno úmido e verão seco, como as da Europa, Centro dos EUA e Argentina. Segundo MOTA (1982), atualmente existem variedades adaptadas aos climas tropicais, em geral pouco exigentes em frio, indiferentes ao fotoperiodismo, de ciclo curto, aceitável tolerância à umidade e moderada resistência às enfermidades. Parte da região sul (norte do Estado do Paraná) e sudeste do Brasil apresentam outono e inverno suficientemente frio e relativamente úmido, possibilitando a triticultura. Nessa região, o trigo é plantado no outono, após o período de calor excessivo do verão, ainda com umidade suficiente no solo para permitir o desenvolvimento vegetativo e o espigamento normal das plantas. A deficiência hídrica, porém, nos períodos de plantio e de espigamento é o fator frequentemente limitante da produção.

As espécies mais economicamente significativas são *Triticum aestivum* subsespécie *vulgar*, *Triticum compactum* e a *Triticum durum*.

### 2.3 MILHO

O milho (*Zea mays*) pertence a família *Poaceae*, é originário das Américas. É uma cultura anual com início nas estações de verão e outono, idealmente em solos que não apresentam excesso de água. As cultivares existentes hoje são muito diferentes da que as originaram e devido ao enorme progresso da manipulação genética, existem no mercado mais de 40 cultivares, altamente adaptáveis às adversidades de solo, clima entre outros (CONAB, 2014).

Produzido em quase todos os continentes, sua importância econômica é caracterizada pelas diversas formas de sua utilização, que vão desde a alimentação animal até a indústria de alta tecnologia, como a produção de filmes e embalagens biodegradáveis. Cerca de 70% da produção mundial de milho é destinada à alimentação animal, podendo este percentual chegar a 85%, em países desenvolvidos. Em termos gerais, apenas 15% de toda a produção mundial destina-se ao consumo humano, de forma direta ou indireta (PAES, 2006).

É o cereal mais produzido no mundo, com 985,4 milhões de toneladas produzidas na safra 2014/2015, de produção mais expressiva no país, com 74 milhões de toneladas (TABELA 3) produzidas nesta safra de 2015.

A cultura do milho no Brasil tem sua produtividade média muito baixa se comparada ao maior produtor do mundo, Estados Unidos da América com produtividade média entre 9 mil a 10 mil  $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ , segundo a Associação Brasileira dos Produtores de Milho, ABRAMILHO. Já no Brasil, estes valores variam entre 4.417  $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  na safra e 4.045  $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  na safrinha, demonstrando o potencial da pesquisa e aplicação de novas tecnologias nos diferentes sistemas de produção do milho, visando obter um aumento significativo na produtividade e na rentabilidade que a cultura pode proporcionar.

O milho “safrinha” refere-se ao cultivo extemporâneo do milho, com a semeadura sendo realizada entre os meses de janeiro a abril, após a cultura de verão, geralmente a soja. O termo “milho de safrinha” teve origem nas baixas produtividades dos primeiros cultivos deste cereal, iniciados no final da década de 1970 (GERAGE; BIANCO, 1990), as quais eram consideravelmente menores do que aquelas obtidas no período da primavera-verão, e que passaram a ser registradas a partir do ano agrícola de 1983/1984, como apresenta a FIGURA 2.

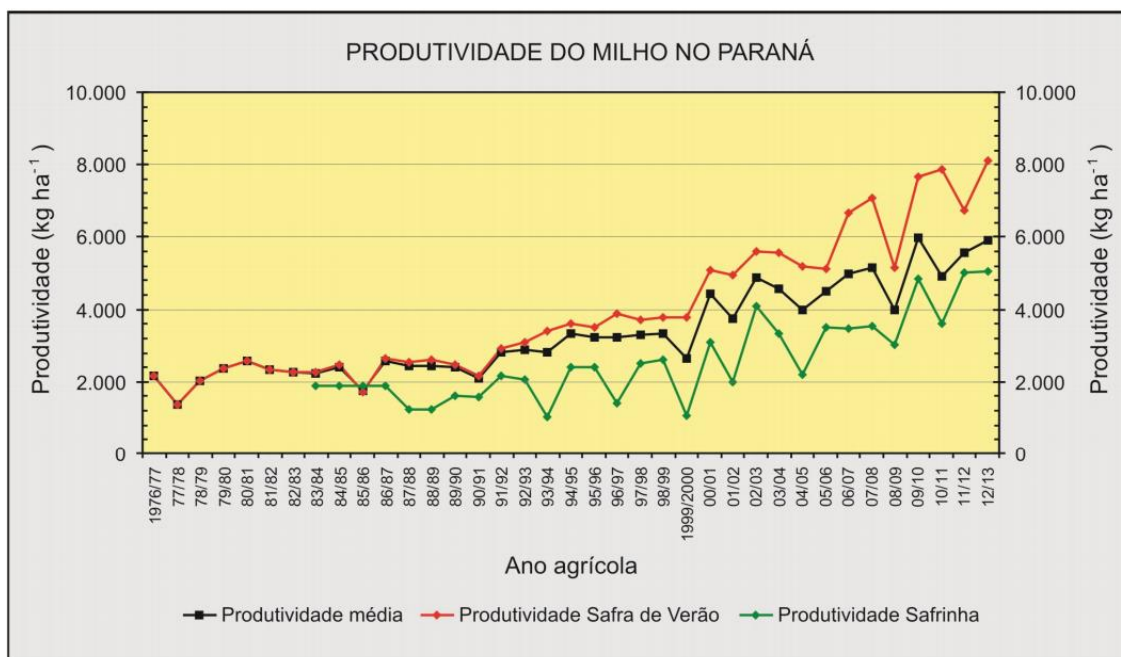


FIGURA 2. Série histórica da produtividade paranaense de milho, na Safra de Verão e na Safrinha  
Fonte: CONAB (2013).

A época de semeadura mais adequada é aquela que faz coincidir o período de floração com os dias mais longos do ano e a etapa de enchimento de grãos com o período de temperaturas mais elevadas e alta disponibilidade de radiação solar. No Sul do Brasil, o milho geralmente é plantado de agosto a setembro e, à medida que se caminha para os estados do Centro-Oeste e Sudeste, a época de semeadura na safra varia de outubro a novembro.

Assim como referido ao trigo nos tópicos anteriores, depende do tipo do solo e das condições climáticas da região, como observado nas FIGURAS 3 e 4.

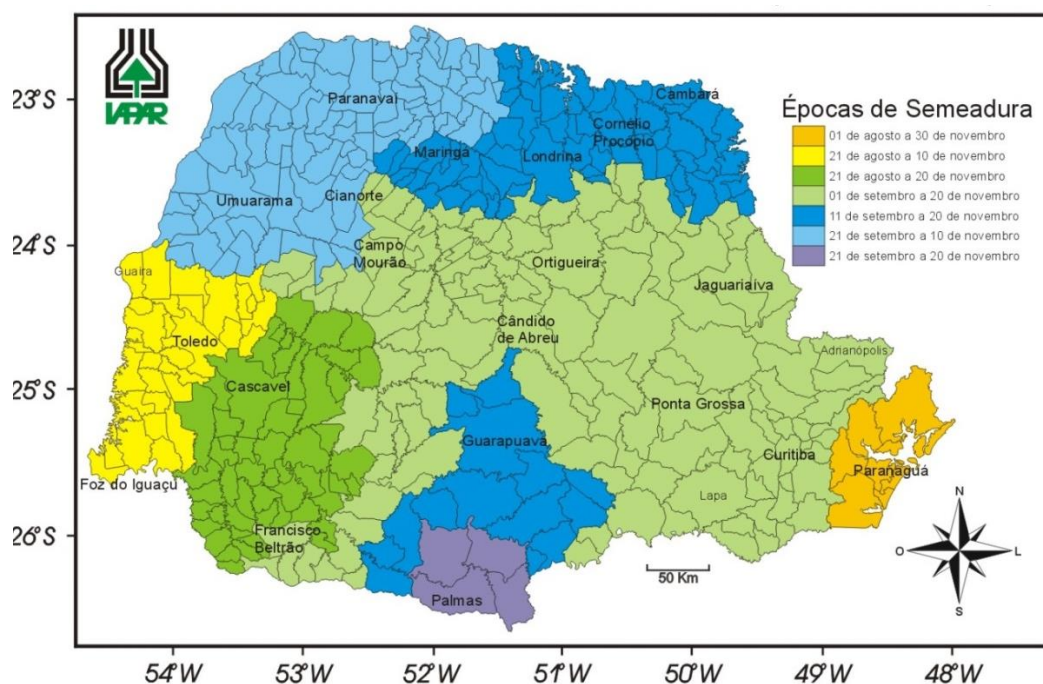


FIGURA 3. Zoneamento da Cultura de Milho precoce, médio e semiprecoce – Solo tipo 1.

Fonte: Instituto Ambiental do Paraná – IAPAR.  
<http://www.iapar.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=1044>

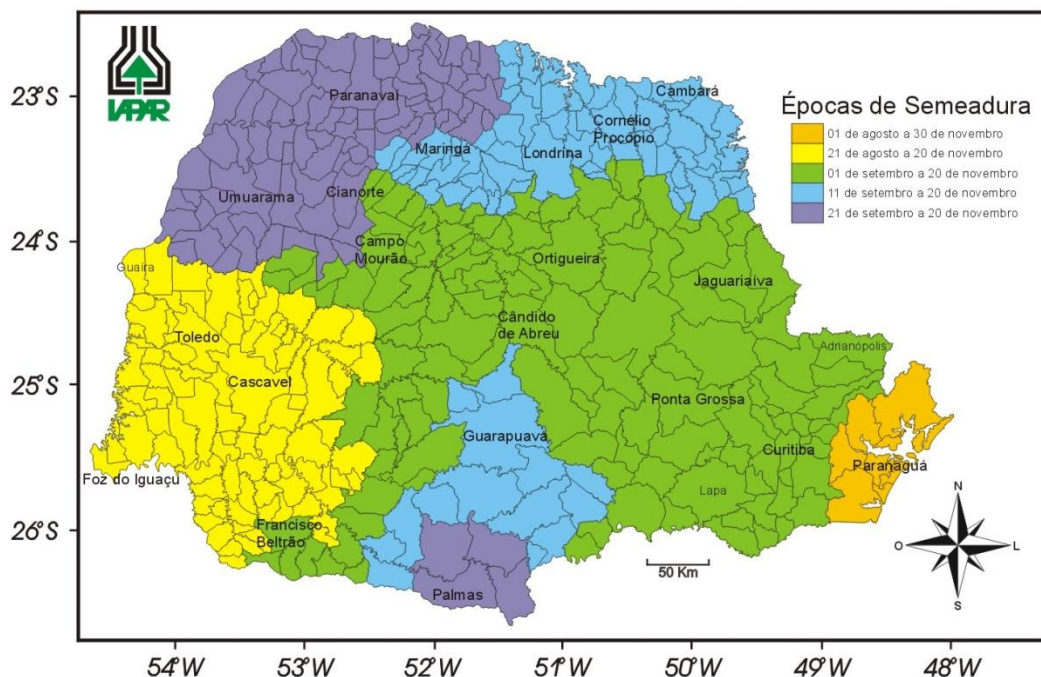


FIGURA 4. Zoneamento da Cultura de Milho precoce, médio e semiprecoce – Solos tipo 2 e 3. Fonte: Instituto Ambiental do Paraná – IAPAR. <http://www.iapar.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=1044>.

Porém, as melhores condições de cultivo do milho são aquelas em que a produtividade é maximizada, levando em conta os diversos fatores como temperatura, umidade do solo, radiação solar e fotoperíodo. Idealmente a temperatura deve ficar entre 24°C e 30°C, com umidade disponível no solo entre 5mm até 10mm nos dias mais secos. Nas condições brasileiras, o efeito do fotoperíodo na produtividade do milho é praticamente insignificante.

Em solos mais pesados, com drenagem deficiente as sementes devem ser colocadas entre 3 e 5 cm de profundidade. Já em solos mais leves ou arenosos, as sementes podem ser colocadas mais profundas, entre 5 e 7 cm de profundidade. Já o espaçamento entre fileiras de milho nas lavouras é muito variado, embora seja nítida a tendência de sua redução. Dados de pesquisa mostram vantagens do espaçamento reduzido (45 a 50 cm entre fileiras) comparado ao espaçamento convencional (80 a 90 cm), especialmente quando se utilizam densidades de plantio mais elevada, como podemos observar nos dados contidos na FIGURA 5.

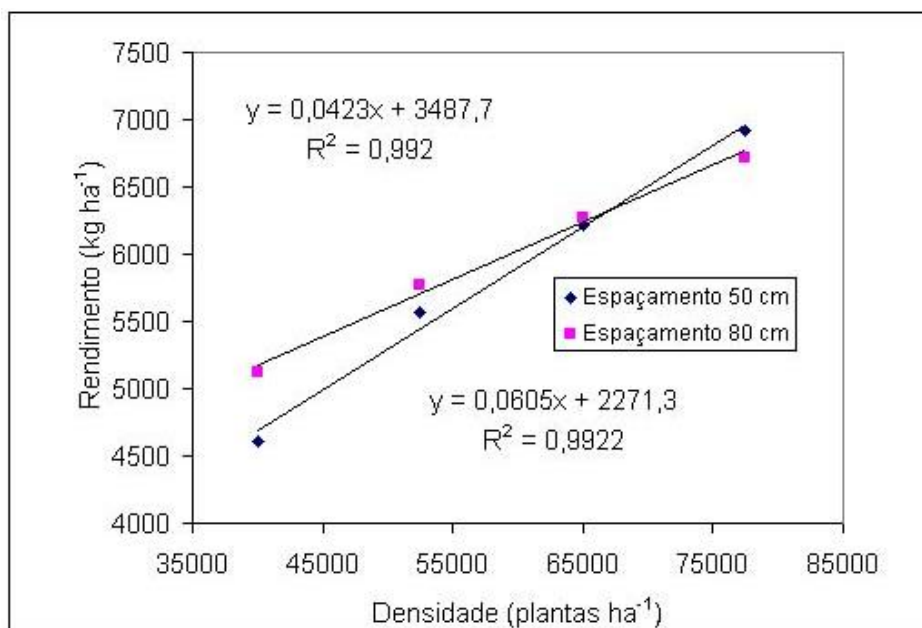


FIGURA 5. Médias do rendimento de grãos de milho, obtidas em dois espaçamentos e quatro densidades de plantas.  
Fonte: CRUZ *et al.*, 2007.

### 2.3.1 Composição química do milho

A composição química é determinada por fatores como a qualidade solo do cultivo, condições climáticas, armazenamento dos grãos e principalmente de acordo com o tipo e a genética da variedade. A TABELA 5 apresenta valores médios da composição química dos diferentes tipos de grãos de milho.

TABELA 5. Composição química dos diferentes tipos de milho (% de peso seco).

Tipo de milho	Umidade	Cinzas	Proteína	Fibras	Extrato etéreo	Carboidratos
Salpor	12.2	1.2	5.8	0.8	4.1	75.9
Cristalino	10.5	1.7	10.3	2.2	5.0	70.3
Farináceo	9.6	1.7	10.7	2.2	5.4	70.4
Amiláceo	11.2	2.9	9.1	1.8	2.2	72.8
Doce	9.5	1.5	12.9	2.9	3.9	69.3
Pop	10.4	1.7	13.7	2.5	5.7	66.0
Escuro	12.3	1.2	5.2	1.0	4.4	75.9

Fonte: CORTEZ; WILD-ALTAMIRANO, 1972.

Entre os constituintes principais do grão (TABELA 6), o endosperma representa aproximadamente 82% do peso seco do grão, consistindo principalmente de amido e encontra-se organizado na forma de grânulos. Ali

estão presentes os carotenóides, substâncias lipídicas que conferem a cor aos grãos de milho (WEBER, 1983).

TABELA 6. Percentagem do constituinte total indicado nas estruturas físicas do grão de milho.

Fração	% grão	% da parte (base seca)					Fibras/ conteúdo celular
		Am.	Lip.	Prot.	Min.	Açúc.	
Endosperma	82	98	15,4	74	17,9	28,9	--
Gérmen	11	1,3	82,6	26	78,4	69,3	12
Pericarpo	5	0,6	1,3	2,6	2,9	1,2	54
Ponta	2	0,1	0,8	0,9	1	0,8	7

Legenda: Am – Amido; Lip – Lipídeos; Prot. – Proteínas; Min – Minerais; Açúc – Açúcares. Fonte: Adaptado de Watson (2005).

O gérmen representa 11% do grão de milho e concentra quase a totalidade dos lipídeos, óleo e vitamina E (aproximadamente 83%) e dos minerais, aproximadamente 78% do grão, além de conter quantidades importantes de proteínas e açúcares (PAES; BICUDO, 1995).

Os grãos do milho são, geralmente, amarelos ou brancos, podendo apresentar colorações variando desde o preto até o vermelho. O peso individual do grão varia, em média, de 250 a 300mg (TOSELLO, 1987).

Porém, o melhoramento genético propiciou melhoria da produtividade via novos genótipos e o aperfeiçoamento de técnicas de obtenção das melhores combinações gênicas. Isso levou à seleção de genótipos com rendimento de grãos mais elevados, além de possibilitar o aumento da composição individual de determinados constituintes do grão, possuindo mais proteínas, minerais e açúcares no endosperma, no gérmen entre outros. Os híbridos triplos e simples – com maior potencial de produtividade - e de ciclo mais curto toleram melhor o estresse causado pelo adensamento de plantas, permitindo às lavouras obter rendimentos elevados, próximos de 10 ton/ha com o uso de maior adubação (MUNDSTOCK, 2013).

Pelos avanços na genética das sementes, permitiu-se a diminuição do efeito competitivo entre as mudas no campo, propiciando a redução dos espaçamentos entre linhas (0,50 m), devido ao desenvolvimento de plataforma de colheita apropriada com ajuste de linhas se semeadura reguláveis (RADOSAVLJEVIC, 2000).

## 2.4 FERTILIZAÇÃO FOLIAR

É o fornecimento de macro e micronutrientes, além de açúcares, hormônios vegetais entre outros, na forma líquida para as plantas através da pulverização. Dentre os mais comuns estão a uréia, cloreto de potássio, fosfato monoamônico (MAP), superfosfato, sulfato e nitrato de potássio, nitrato de amônio, fosfato diamônico (DAP), ácido fosfórico, e sulfatos de micronutrientes. A aplicação líquida tem como finalidade o aproveitamento da capacidade de absorção de nutrientes pelas folhas. Diversos experimentos comprovam que a adubação via solo é mais lenta que a foliar. Para otimizar os resultados obtidos por esta técnica, deve-se aplicar a solução de nutrientes necessário no local adequado, na época certa, na quantidade correta e também pelo tempo suficiente para a absorção (ROSOLEM, 1992).

A pulverização de soluções com sais, nutrientes e promotores do crescimento vegetal data de 1844, quando foi utilizada uma solução de sais de ferro para correção de falta deste mineral que causa a clorose férrica (GRIS, 1844). Desde então, diversas soluções de fertilizantes, baseadas no reaproveitamento de resíduos como efluentes de estações de tratamento de esgoto, esterco proveniente da criação de gado, porcos, aves entre outros, foram utilizados como fonte de adubação foliar em diversas culturas. Porém, apenas nas últimas décadas essa prática tornou-se mais comum, devido a estudos com elementos químicos marcados radioativamente para detecção e constatação da absorção foliar, apesar das discussões sobre os benefícios e da correta implementação desta prática (OOSTERHUIS, 2003).

Wittwer, Bukovac e Tukey em 1963, Trocme & Grãs em 1966 e Camargo em 1970, produziram uma grande revisão bibliográfica abordando os vários aspectos da nutrição foliar de plantas. Os trabalhos realizados revelaram que em muitos casos, a adubação foliar com a suplementação de micronutrientes e alguns poucos macronutrientes é muito mais eficiente que a adubação no solo.

Entretanto, para que os nutrientes possam ser de fato utilizados para o crescimento da planta, eles devem ter acesso ao interior da folha. Uma vez dentro da célula, a absorção do nutriente é similar aos processos ocorridos na raiz da planta.

Especificamente, não foram encontrados muitos trabalhos com a utilização de um extrato microalgal a partir de *Spirulina maxima* para fins de adubação foliar e aplicação em sementes, de trigo e milho.

#### 2.4.1 Nutrientes

Cada nutriente desempenha funções definidas dentro da planta e nenhum pode ser completamente substituído por outro, todos devem estar juntos para produzir melhores resultados. Porém, o efeito de cada nutriente em particular no crescimento da planta, depende da reserva dos outros elementos essenciais (Lei do Mínimo de Liebig) e nenhum efeito de cada elemento pode ser interpretado isoladamente (FAGERIA, 1984).

A separação entre macro e micronutrientes baseia-se nas quantidades de cada elemento na matéria seca do tecido. Elementos essenciais como carbono, oxigênio e hidrogênio totalizam cerca de 95% do peso seco das plantas e têm origem na água e no ar, sendo assim denominados de macronutrientes orgânicos. Os demais elementos essenciais, no total de treze, por terem origem no solo, são denominados nutrientes minerais e são classificados em (ARNON; STOUT, 1939):

- Macronutrientes primários: Nitrogênio, Fósforo, Potássio.
- Macronutrientes secundários: Cálcio, Magnésio, Enxofre.
- Micronutrientes: Boro, Cloro, Cobre, Ferro, Manganês, Molibdênio, Zinco.

Porém, a concentração de determinado nutriente pode estar acima ou abaixo daquela requerida para o crescimento normal da planta. Assim, é melhor classificar macro e micronutrientes de acordo com o requerimento dos nutrientes para o crescimento adequado da planta (TABELA 7).

TABELA 7. Os elementos essenciais para as plantas superiores e suas concentrações consideradas adequadas para o crescimento normal da planta

Elemento	Símbolo Químico	Forma disponível	Concentração na matéria seca (mmol/kg)
Macronutrientes			
Hidrogênio	H	H <sub>2</sub> O	60.000
Carbono	C	CO <sub>2</sub>	40.000
Oxigênio	O	O <sub>2</sub> , CO <sub>2</sub>	30.000
Nitrogênio	N	NO <sub>3</sub> , NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	1.000
Potássio	K	K <sup>+</sup>	250
Cálcio	Ca	Ca <sup>2+</sup>	125
Magnésio	Mg	Mg <sup>2+</sup>	80
Fósforo	P	H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> , HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	60
Enxofre	S	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	30
Silício	Si	SiO <sub>2</sub>	30
Micronutrientes			
Cloro	Cl	Cl <sup>-</sup>	3,0
Boro	Bo	BO <sub>3</sub> <sup>3-</sup>	2,0
Ferro	Fe	Fe <sup>2+</sup> , Fe <sup>3+</sup>	2,0
Manganês	Mn	Mn <sup>2+</sup>	1,0
Sódio	Na	Na <sup>+</sup>	0,4
Zinco	Zn	Zn <sup>2+</sup>	0,3
Cobre	Cu	Cu <sup>+</sup> , Cu <sup>2+</sup>	0,1
Níquel	Ni	Ni <sup>2+</sup>	0,05
Molibdênio	Mo	MoO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	0,001

Fonte: HOPKINS, 2000.

O sódio, o silício e o cobalto são considerados elementos essenciais apenas para algumas espécies. As principais funções dos nutrientes de plantas está apresentado nas TABELAS 8 e 9, extraídas de MALAVOLTA (1980).

TABELA 8. Macronutrientes: Funções e compostos

Nutriente	Funções	Compostos
N	Importante no metabolismo como composto orgânico; estrutural	Aminoácidos e proteínas, amins, amidas, aminoaçúcares, purinas e pirimidinas, alcalóides. Coenzimas, vitaminas, pigmentos
P	Armazenamento e transferência de energia; estrutural	Ésteres de carboidratos, nucleotídeos, e ácidos nucléicos, coenzimas, fosfolipídios.
K	Abertura e fechamento de estômatos, síntese e estabilidade de proteínas, relações osmóticas, síntese de carboidratos	Predomina em forma iônica, compostos desconhecidos.

continua

TABELA 8. Macronutrientes: Funções e compostos

		conclusão
Ca	Ativação enzimática, parede celular, permeabilidade.	Pectato de cálcio, fitato, carbonato, oxalato
Mg	Ativação enzimática, estabilidade de ribossomos, fotossíntese.	Clorofila
S	Grupo ativo de enzimas e coenzimas.	Cisteína, cistina, metionina e taurina, Glutathione, glicosídeos e sulfolipídios, coenzimas.

Fonte: MALAVOLTA, 1980.

TABELA 9. Micronutrientes: Funções e compostos

Nutriente	Funções	Compostos
B	Transporte de carboidratos Coordenação com fenóis	Borato; Compostos desconhecidos
Cl	Fotossíntese	Cloreto; Compostos desconhecidos
Co	Fixação de N <sub>2</sub>	Vitamina B <sub>12</sub>
Cu	Enzima Fotossíntese	Polifenoloxidase; plastocianina, azurina, estelacianina; umecianina
Fe	Grupo ativo em enzimas e em transportadores de elétrons	Citocromos, ferredoxina, catalase, peroxidase, redutase de nitrato, nitrogenase; redutase de sulfito
Mn	Fotossíntese, metabolismo de ácidos orgânicos	Manganina
Mo	Fixação do N <sub>2</sub> , redução do NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Redutase de nitrato; nitrogenase
Zn	Enzimas	Anidrase carbônica, aldolase

Fonte: MALAVOLTA, 1980.

#### 2.4.1.1 Fatores inerentes aos nutrientes

Cada elemento, isoladamente, possui características ímpares no processo de interiorização na célula vegetal. Os íons possuem capacidade de mobilidade proporcional ao tamanho raio atômico, sendo classificados de acordo com sua mobilidade em móveis (sódio, enxofre, cloro, rubídio, potássio e fósforo), parcialmente móveis (molibdênio, ferro, cobre e manganês) e imóveis (estrôncio, cálcio, magnésio e bário). Íons móveis são rapidamente absorvidos e translocam-se para outras regiões da folha e do vegetal, participando do metabolismo (VITTI *et al.*, 1993).

Cada nutriente possui uma velocidade de absorção na folha. O nutriente que a folha consegue absorver com maior velocidade é a uréia, cerca de vinte

vezes mais rápido que os demais nutrientes. A condição de hidratação dos íons também é um fator de grande influência na absorção de nutrientes. A superfície dos íons hidratados atua como um impedimento da mobilidade pelo aumento do diâmetro do complexo iônico, resultando na menor velocidade de difusão dos íons. Porém, para melhorar a velocidade de difusão dos íons, costuma-se associar íons de menor diâmetro a um de maior diâmetro, para que o menor seja capaz de arrastar o maior. (MURAOKA; BOARETTO, 1993).

#### 2.4.2 Mecanismos de absorção de nutrientes

O desenvolvimento de tecnologias com radioisótopos permitiu o esclarecimento da dinâmica do mecanismo de absorção via foliar dos diversos nutrientes. Para que se obtenha bons resultados, geralmente, o nutriente precisa ser translocado para locais de maior demanda dentro da planta. A cutícula da folha é a barreira pela qual os nutrientes permeiam nas células vegetais (FIGURA 6), sendo responsável pela absorção através do revestimento da superfície foliar. Alguns estudos realizados com o isolamento enzimático da cutícula das folhas confirmam a permeabilidade devido a difusão de ânions e cátions no sentido do influxo de nutrientes, ou seja, do meio extrafoliar para o meio intrafoliar. Estes estudos também descrevem a velocidade de absorção da uréia, notadamente mais rápida que a de outros elementos como rubídio, cloro, grupos sulfato e o cálcio. Este aumento da concentração de uréia não foi proporcional, sugerindo um processo de absorção por difusão facilitada. Nos estudos de MALAVOLTA (1980), apresenta-se a capacidade de indução ao aumento da permeabilidade causado pela uréia na membrana das células vegetais, modificando as estruturas do plasmalema e tonoplasto. Portanto, a uréia possui um papel importantíssimo na adubação foliar, sendo capaz de proporcionar o aumento da absorção dos íons que constituem o adubo foliar.

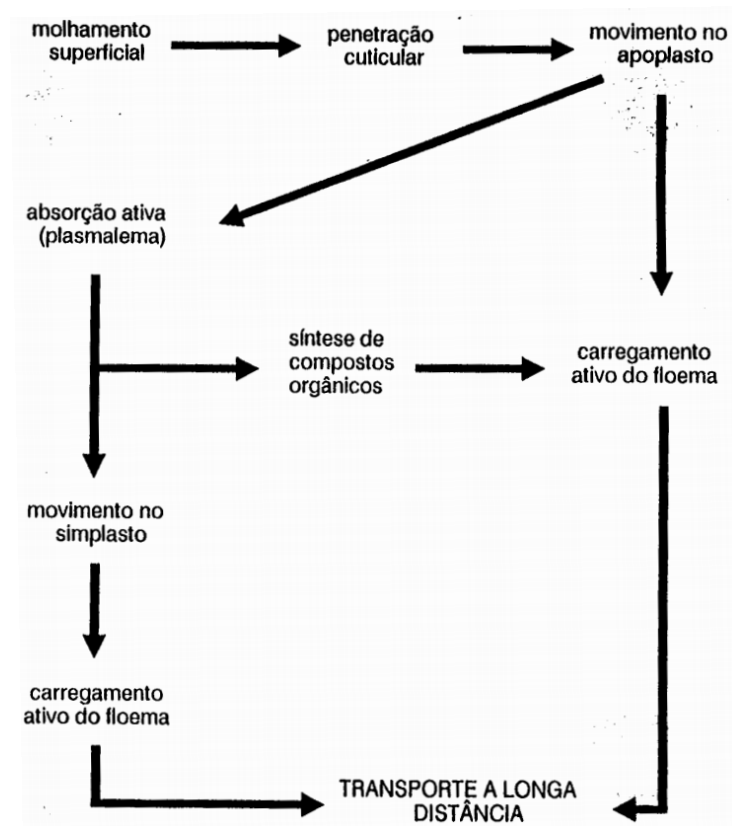


FIGURA 6. Possíveis caminhos dos solutos através da folha.  
 Fonte: Modificado de HANES & GOH, 1977, Sci. Hort., Z(4): 291-302.

A primeira barreira à absorção foliar se deve à cutícula que cobre toda a superfície da folha, incluindo os estômatos e os tricomas. Tanto a forma como a estrutura da cutícula (FIGURA 7) se modificam com o crescimento dos órgãos, ou seja, a permeabilidade da cutícula depende do estágio de desenvolvimento da folha, bem como, da maior presença de estômatos e de tricomas na superfície inferior da folha.

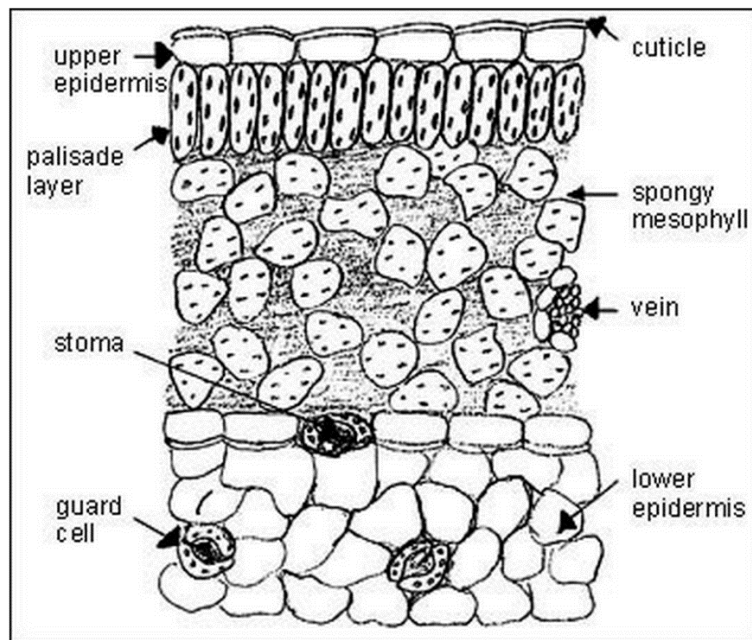


FIGURA 7. Seção transversal de uma folha dicotiledônea  
 Fonte: <http://extension.missouri.edu/p/mg2>. Acesso em fevereiro 2014.

Existem duas etapas de absorção foliar dos nutrientes que são as mais comumente aceitas:

- Passiva – Processo que não envolve mecanismos do metabolismo, no qual os nutrientes que estão em contato com a superfície da folha atravessam a cutícula até atingir a parede celular, onde passam a ocupar o espaço livre aparente (ELA) e fazer parte do apoplasto celular, espaço delimitado pela parede celular e pela superfície externa do plasmalema, constituído de espaços intercelulares.
- Ativa – Processo metabólico com velocidade reduzida, irreversível e com gasto energético (ATP) devido a barreira do gradiente de concentração através da membrana plasmática.

Estas, possuem uma diversidade de biomoléculas como lipídeos, proteínas e carboidratos que permeiam as membranas, formando uma estrutura complexa. Grupos fosfato, hidroxilas, carboxílicos e amino compõe a parte hidrofílica da membrana, enquanto os hidrocarbonetos são responsáveis pela porção hidrofóbica desta estrutura. Na média, as membranas plasmáticas foliares são constituídas de cerca de 40% de lipídeos, 55% de proteínas de

função estrutural, enzimas de transporte entre outras e apenas 5% de carboidratos (MENGEL; KIRKBY, 1987).

### 2.4.3 Fatores que afetam a absorção de nutrientes pela folhas

Diversos fatores podem influenciar na absorção foliar, alguns externos, ligados ao meio, e outros internos, ligados à própria planta.

#### 2.4.3.1 Fatores externos

##### a. Molhabilidade da superfície foliar

É fundamental que exista uma camada de água depositada sobre a superfície da folha para promover a entrada dos nutrientes através da cutícula. Para isso, a solução deve possuir a capacidade de molhar a superfície foliar, sob influência do ângulo de contato entre ambas. A tensão superficial da gota da solução aplicada e o tipo de superfície (variando de acordo com a composição bioquímica) é outro fator importante que influencia significativamente na absorção dos nutrientes. Os produtos molhantes ou adesivos (surfactantes) tem a finalidade de romper a tensão superficial entre a superfície foliar (cutícula hidrofóbica) e as gotas. Promovem o melhor espalhamento do adubo foliar, aumentando o poder de penetração dos íons nutrientes e dos reguladores vegetais presentes além de evitar perdas pela evaporação do produto (GARCIA; SALGADO, 1981).

##### b. Temperatura e umidade relativa do ar

O carreamento dos íons nutrientes só ocorre na presença de água. Porém, a temperatura e a umidade relativa do ar afetam a quantidade de água disponível na superfície foliar. Estas variáveis podem criar cenários a favor ou contra a absorção de nutrientes, através de alterações no gradiente de pressão de vapor entre a folha e o ar. Temperaturas relativamente amenas e a alta umidade são condições que influenciam positivamente a absorção dos nutrientes via foliar. A própria transpiração foliar é outro fator que auxilia na manutenção da

umidade na cutícula. Assim, a aplicação de adubo foliar é ideal nos períodos da manhã e também no final da tarde devido ao fato de que nas horas mais quentes, a solução aplicada pode secar mais rápido e também ocorre o murchamento das folhas devido ao fechamento dos estômatos (VOLKWEISS, 1986).

#### c. Composição da solução

Cada componente nutricional do adubo foliar apresenta uma velocidade de absorção intrínseca. Porém, a forma iônica com que o nutriente está disponível em solução afeta sua taxa de absorção, por exemplo, a absorção de nitrogênio: o N-amídico (uréia) >  $\text{N-NO}_3^-$  >  $\text{N-NH}_4^+$ . Deve-se observar que a elevada velocidade de absorção pode levar ao excesso e acúmulo do nutriente, que pode causar toxidez à planta, como no caso da absorção da uréia que libera grandes quantidade de amônia devido a ação da uréase foliar (FERNANDES, 1987).

#### d. Luz

No geral, a grande maioria das plantas promove a abertura dos estômatos em presença de luz e os fecha na ausência de luz, influenciando diretamente na absorção de nutrientes. A luz também interfere na permeabilidade das substâncias absorvidas no plasmalema. Caso a absorção ocorra de forma ativa, este processo metabólico resulta no gasto de energia proveniente do ATP pelas vias de fosforilação oxidativa e a fosforilação fotossintética (KHOLDEBARIN; OERTLI, 1972).

### 2.4.3.2 Fatores internos

#### a. Superfície foliar

A extensão, espessura da cutícula, densidade dos estômatos, número de ectodesmas são fatores que também influenciam na absorção de nutrientes. Os tricomas, pêlos, aumentam a superfície de contato foliar, auxiliando neste processo.

A face abaxial da folha (página inferior) possui uma alta densidade de estômatos e espessura menor na cutícula, fatores que contribuem para o aumento da absorção iônica. A quantidade de água no interior das células é outro fator importantíssimo para o aumento da permeabilidade dos nutrientes através da cutícula (LEECE, 1976).

#### b. Idade da folha

Este fator está relacionado diretamente com a espessura da cutícula e com a atividade metabólica presente. Em folhas com maior idade, a espessura é maior e sua atividade metabólica é reduzida. Já em folhas mais novas, a espessura cuticular é menor e a atividade metabólica é acelerada, aumentando a absorção dos nutrientes, favorecendo a redução do estado iônico interno (LEECE, 1976).

#### c. Estado iônico interno

Trata-se do estado de nutrição no interior das folhas. Os elementos da solução nutritiva serão mais facilmente absorvidos se houver uma carência destes nutrientes no interior da planta. Quanto maior for esta diferença, maior será a taxa de absorção foliar. O processo de transporte dos nutrientes absorvidos via foliar às demais regiões da planta auxilia na redução do nível de nutrientes acumulados nas folhas, aumentando conseqüentemente a absorção (VITTI *et al.*, 1993).

### 2.4.4 Preparo das soluções de nutrientes

A concentração da solução de nutrientes, a adição de produtos molhantes e protetores e o pH da solução devem estar compatíveis para que o produto final seja quimicamente benéfico à planta. Um dos fatores mais importantes na manipulação da solução a ser aplicada é a concentração individual dos compostos nutrientes. Altas concentrações salinas podem ser benéficas a algumas plantas, porém podem matar outras que são mais sensíveis pela toxicidade do sal. Para corrigir a deficiência salina, plantas lenhosas necessitam

de muito potássio via foliar. Contudo, se estas soluções de potássio de alta concentração forem aplicadas às folhas, certamente causarão danos. A macieira e a cerejeira, quando estão no período de dormência, são capazes de tolerar altas concentrações destas soluções. Logo, o ideal é preparar a solução baseado nas informações prévias das quantidades de nutrientes disponíveis no solo e também o tipo da cultura, fase do crescimento da planta e os fatores externos atuantes (FERNANDES, 1987).

Na relação entre o íons zinco em citrus, a concentração na superfície foliar está diretamente relacionada a absorção deste íon. Porém sua distribuição final na planta é equivalente se comparado com a adubação via solo. As pesquisas tem demonstrado que sais dos cátions divalentes podem ser aplicados de forma mais concentrada que as dos demais cátions. Dentre esses cátions, os mais tolerados pelas plantas são os alcalinos terrosos como o magnésio, bário e estrôncio (ROSOLEM; SACRAMENTO, 2000).

#### *2.4.4.1 Agentes protetores*

Alguns sais (de magnésio por exemplo) e açúcares são comumente utilizados como agentes protetores para reduzir os prejuízos que os nutrientes podem causar às folhas. Soluções tampão que mantêm o pH entre 5 e 6 são comumente utilizadas (MCNALL, 1967).

A velocidade de absorção da uréia é reduzida quando a formulação contém agentes protetores. Porém, pode-se evitar os danos sobre as folhas causados pelas aplicações com íons zinco através da aplicação de soluções com hidróxido de cálcio  $\text{Ca(OH)}_2$ , preparada a partir do  $\text{CaO}$  com 5-20% de  $\text{NaOH}$  e 6-18% de  $\text{H}_2\text{O}$ . A adição de cal sulfurada,  $\text{CaS}$ , também é recomendada. Para utilizar agentes protetores é preciso atentar para as quantidades recomendadas na literatura, a fim de se evitar efeitos tóxicos que impeçam a absorção dos nutrientes (SACRAMENTO; ROSOLEM, 2000). A FIGURA 8 apresenta a compatibilidade cruzada entre os sais fertilizantes e corretivos que compõe os adubos comerciais presentes no mercado.

## Compatibilidades entre fertilizantes e corretivos

Adubos Orgânicos		Legenda	
C	Nitrato de Sódio	C	COMPATÍVEIS: Podem ser misturados
C C	Nitrato de Potássio	CI	COMPATIBILIDADE LIMITADA: Devem ser misturados pouco antes da aplicação
C C C	Nitrocálcio	I	INCOMPATÍVEIS: Não podem ser misturado
C C C C	Nitrato de Amônio		
C C C C C	Sulfato de Amônio		
C C C I I C	Uréia		
C C C C C C C C	Farinha de Ossos		
C C C C C C C C C	Fosfatos Naturais		
C C C C C C C CI C C	Superfosfato Simples		
C C C C C C C CI C C C C	Superfosfato Triplo		
C C C C C C C C C C C C	MAP		
C C C C C C C C C C CI CI C	DAP		
I C CI I I I I I I I I I I I	Escórias		
I C CI I I I I I I I I I I I C	Termofosfato		
C C C C C C C C C C C C C C CI CI	Cloreto de Potássio		
C C C C C C C C C C C C C C CI CI C	Sulfato de Potássio		
C C C C C C C C C C C C C C I I C C	Sulfato de Potássio e Magnésio		
I C CI I I I I I I I I I I I C C CI CI I	Cal Virgem, Hidratada, Calcários Calcinados		
I C CI I I I I I I I I I I I C C CI CI C C	Calcários		

Fonte: LOPES, 1989.

Obs: Dependendo de certas características da Uréia, do Nitrato de Amônio e do teor de Cloreto de Sódio no Cloreto de Potássio, as misturas podem apresentar certo grau de incompatibilidade.

FIGURA 8. Guia para o preparo da solução fertilizante baseado na compatibilidade dos componentes  
Fonte: LOPES, 1989.

### 2.4.4.2 Agentes umectantes e molhantes

São componentes essenciais para otimizar a adubação foliar. Entre os mais utilizados estão o glicerol, polissacarídeos como amido, sais de potássio. Têm a função de impedir a evaporação rápida da solução que se aplica a superfície foliar. É responsável também por manter os nutrientes, na forma iônica em solução, em contato com a folha por mais tempo. Isto significa que quanto mais tempo a solução do nutriente permanecer em contato com a superfície da folha, maior será a sua absorção (MABBETT, 2013). O objetivo principal destes compostos é aumentar o tempo de contato do produto com a superfície foliar, de acordo com o tempo de absorção de cada nutriente (TABELA 10).

TABELA 10. Tempo de absorção de nutrientes aplicado às folhas.

Nutriente	Tempo para 50% de absorção
Nitrogênio (uréia)	1/2 - 36 horas
Fósforo	1 - 15 dias
Potássio	1 - 4 dias
Cálcio	10 - 96 horas
Magnésio	10 - 24 horas

continua

TABELA 10. Tempo de absorção de nutrientes aplicado às folhas.

Enxofre	5 - 10 dias
Cloro	1 - 4 dias
Ferro	10 - 20 dias
Manganês	1 - 2 dias
Molibdênio	10 - 20 dias
Zinco	1 - 2 dias

conclusão

Fonte: Adaptado de WITTEWER, 1964.

Surfactantes são detergentes que reduzem a tensão superficial das gotículas aplicadas as folhas, promovendo o seu espalhamento. A redução do ângulo de contato com a superfície da folha proporciona o seu umedecimento ideal (MABBETT, 2013). A FIGURA 9 apresenta valores de umidade relativa críticas para manutenção dos íons em solução aquosa com disponibilidade de absorção pela folha.

Nitrato de Cálcio 46,7		Valores em % de umidade relativa a 30°C									
23,5	Nitrato de Amônio 59,4										
37,7	46,3	Nitrato de Sódio 72,3									
---	18,1	45,6	Uréia 72,3								
---	51,4	51,9	57,9	Cloreto de Amônio 77,2							
---	62,3	---	58,4	71,3	Sulfato de Amônio 79,2						
---	59*	---	62*	---	72*	Fosfato Diamônico 82,9					
22	67,9	66,9	60,3	73,5	71,3	70*	Cloreto de Potássio 84,0				
31,4	59,9	64,5	65,2	57,9	69,2	---	78,6	Nitrato de Potássio 90,5			
52,8	58	63,8	65,2	---	75,8	78*	72,8	59,8	Fosfato Monoamônico 91,6		
46,2	52,8	68,1	65,1	73,9	57,7	79*	---	87,8	88,8	Fosfato Monocálcico 93,7	
76,1	69,2	73,3	71,5	71,3	81,4	77*	---	87,8	79	---	Sulfato de Potássio 96,3

\* Valores aproximados obtidos pelo T.V.A.

FIGURA 9. Umidades críticas de fertilizantes e misturas.

Fonte: ALCARDE *et al.*, 1989.

#### 2.4.4.3 Agentes quelantes

São materiais que possuem capacidade de fazer a ligação com quantidades substanciais de íons metálicos e outros cátions. Sendo assim, estes componentes exercem um controle com relação ao fornecimento e a

disponibilidade dos elementos nutrientes na planta (RODRIGUEZ-LUCENA *et al.*, 2010).

Constituem-se de materiais húmicos e orgânicos como ácidos cítrico e málico, açúcares, aminoácidos, ácidos fenólicos, gluconatos, lignosulfonatos, glicoproteínas, poliaminas, que formam complexos quelados e aparentam promover e aumentar os efeitos de absorção de micronutrientes (WITTEWER, 1964).

Complexos quelados são a combinação de um componente doador de elétrons, chamado de composto coordenador, com íons metálicos. A união destes coordenadores formam anéis que formam as “estruturas queladas”. Os de origem orgânica são biodegradáveis e ficam disponíveis para a planta e solo como fontes de energia. Porém, muitos destes apresentam baixa estabilidade e quando misturados a ânions como fosfatos, podem resultar em precipitados (TUKEY JR, 1962).

Existe também os agentes quelantes sintéticos, utilizados desde os anos 50. Os mais populares são o ácido etileno-diamino tetra-acético (EDTA), ácido hidroxietil etileno-diamino tri-acético (HEDTA) e o ácido etilenoglicol tetra-acético (EGTA). Possuem o melhor custo benefício se usados adequadamente, porém não são biodegradáveis. Seu uso é direcionado a adubação do solo, evitando a perda dos nutrientes quelados para o solo. Entretanto, não possuem boa eficiência na adubação foliar (WALLACE *et al.*, 1957).

#### 2.4.4.4 pH da solução

O pH afeta a solubilidade dos nutrientes e a interação deles com outros componentes na água. Soluções com pH abaixo de 3 e acima de 11 são responsáveis por danificar as estruturas foliares com queimaduras ácidas e básicas respectivamente. Há também o efeito da solubilidade iônica de acordo com o pH utilizado. Assim, uma solução adubadora deve ter um pH ideal para cada tipo de nutriente que está em solução, permitindo que os íons estejam livres e disponíveis para absorção.

Por exemplo, entre pH 5 e 8, a absorção da uréia é ideal. No caso de fosfatos, há pesquisas demonstrando que a máxima absorção se processa em

pH 2 e 3 até 3,5. Além disso, o pH da solução afeta a absorção foliar de nutrientes de três outras formas:

- a. O pH afeta a carga superficial da cutícula, portanto afeta a seletividade dos íons;
- b. A forma iônica dos nutrientes é dependente do pH, ou seja, o pH afeta a taxa de penetração dos nutrientes;
- c. O pH pode afetar a fitotoxicidade dos componentes pulverizados nas folhas (RATHORE *et al.*, 1970).

#### 2.4.4.5 Métodos e época de aplicação do adubo foliar

O aspecto mais crítico da adubação foliar é a época adequada de aplicação foliar correspondente ao estado de crescimento da planta. A pulverização do produto deve ser programada para fornecer os nutrientes necessários durante o potencial de rendimento da fase de crescimento em que a cultura se encontra. Isso pode favorecer os estágios de crescimento pós reprodutivos conseguintes. Múltiplas aplicações de baixo volume do produto podem mostrar respostas mais favoráveis (GRAY, 1977).

Outro fator de fundamental importância no sucesso da aplicação foliar em culturas é a condição em termo de nutrientes em que a cultura se encontra (i.d. estado nutricional da planta). Isso reflete diretamente na qualidade do tecido foliar e na absorção das moléculas para dentro da folha em direção ao sistema, refletindo diretamente no vigor de crescimento das plantas ao permitir a rápida translocação dos nutrientes para o resto da planta (HALLIDAY, 1961).

Culturas sob estresse térmico e hídrico respondem pior devido a falha na absorção foliar e ao baixo vigor de crescimento. No entanto, a adubação tende a apressar a recuperação da planta quando se encontra em condições de estresse (MIDWEST, 1972).

As condições meteorológicas adequadas fazem parte das influências ambientais, assim como a hora do dia, temperatura, umidade e velocidade do vento. A permeabilidade do tecido da planta é um fator importante na absorção de nutrientes para a planta: condições do tempo com temperaturas levemente elevadas, alta umidade relativa do ar e ventos amenos favorecem o aumento da

permeabilidade do tecido. Estas condições são encontradas, na maioria das vezes, nas horas tardias da noite e nas primeiras horas da manhã. A TABELA 11 resume as condições meteorológicas que favorecem a aplicação foliar.

TABELA 11. Condições meteorológicas que utilizam a aplicação foliar.

<b>Horário do dia</b>	final da tarde: após 18:00 início da manhã: antes das 09:00
<b>Temperatura</b>	18,3°C - 29,7°C; ideal 21,4°C
<b>Umidade relativa</b>	maior que 70%
<b>Índice de temperatura-umidade</b>	140-160
<b>Velocidade do vento</b>	menor que 8,05 km/h

Fonte: Adaptado de HERGERT, 1976.

#### 2.4.5 Vantagens e desvantagens da adubação foliar

A adubação foliar é um método direto de fertilização de plantas. Trata-se da pulverização de nutrientes diretamente nas folhas e caule, onde eles são absorvidos e utilizados. É considerada uma forma quase imediata de alimentação do cultivo. Atualmente esta prática é muito comum, especialmente entre os pequenos horticultores. Ela tem uma série de vantagens e desvantagens (KOLOTA; OSINKA, 2001), apresentadas nas TABELAS 12 e 13, respectivamente.

TABELA 12. Principais vantagens da adubação foliar.

<b>VANTAGENS</b>	<b>DESCRIÇÃO</b>
Dosagem precisa	Evita desperdícios de nutrientes. Aplicação homogênea. Menor custo de aplicação por hectare.
Maior uniformidade na aplicação	Lavoura com desenvolvimento mais homogêneo. Iguala o ponto de maturação, aumentando a produtividade.
Redução da mão-de-obra	Diminui custos. Mão-de-obra pode ser deslocada para outras atividades. Aplicações simultâneas com inseticidas e fungicidas.

Continua

TABELA 12. Principais vantagens da adubação foliar.

	conclusão
Maior autonomia dos equipamentos	Menor custo de operação. Aplicação mais barata. Aplicações nas épocas oportunas. Maior aproveitamento dos nutrientes.
Versatilidade nas formulações	Permite uma adubação mais racional e econômica.
Fácil armazenamento	Dispensa construção de grandes armazéns. Controle de estoque mais fácil. Produção mais protegida das intempéries ocasionais. Menores estoques na propriedade. Menor custo financeiro.

Fonte: Adaptado de vários autores: LUZ *et al.*, 2006; RODRIGUES *et al.*, 2007; BUCK *et al.*, 2008; RODRIGUES *et al.*, 2010.

TABELA 13. Principais desvantagens da adubação foliar.

<b>DESVANTAGENS</b>	<b>DESCRIÇÃO</b>
Área de absorção x demanda de nutrientes	A demanda de nutriente é, geralmente, alta quando as plantas são pequenas e a área foliar é insuficiente para absorção foliar.
Idade da folha	Reflete no espessamento da cutícula, aumentando a barreira de isolamento celular.
Falta de acompanhamento	Pode ser muito tarde para corrigir as deficiências e ainda obter produções máximas.
Alta concentração de sais	Com alta concentração salina pode ocorrer queima das folhas;
Repetições da aplicação	Custo de aplicação extra pode ser necessário, em função da necessidade de mais de uma aplicação no ciclo da planta

Fonte: Adaptado de vários autores: LUZ *et al.*, 2006; RODRIGUES *et al.*, 2007; BUCK *et al.*, 2008; RODRIGUES *et al.*, 2010.

## 2.5 CARACTERÍSTICAS IDEAIS DO SOLO PARA O PLANTIO

Para cada tipo de cultura existe uma demanda específica de nutrientes que precisam estar disponíveis em quantidade satisfatória para propiciar o melhor vigor de crescimento das plantas. Mas, algumas destas características

se sobresaem às outras quando planeja-se fazer o preparo da terra para receber a próxima safra.

Características físico-químicas do solo como o pH, dureza (quantidade de calcário), teor de areia, argila e minerais podem e devem ser manipuladas com determinada frequência. Por exemplo, a calagem, que consiste na reposição da quantidade de calcário, é calculada em função do pH do solo e de outros fatores, como o teor de argila. Assim, em solos com teor de argila acima de 20%, o cálculo é baseado nos teores de Cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ), de Magnésio ( $\text{Mg}^{2+}$ ) e de Alumínio ( $\text{Al}^{3+}$ ) trocáveis do solo (CQFS-RS/SC, 2004).

Do ponto de vista econômico, a calagem deve ser considerada como investimento. Assim, no cálculo de sua economicidade, devem ser considerados períodos de amortização ao redor de 5 a 6 anos. Essa prática corresponde entre 12 a 15% do custo global do investimento para “construção” da fertilidade do solo. Por esta razão, essa operação deve ser efetuada corretamente, seguindo-se todas as recomendações. O uso de doses inferiores às recomendadas podem resultar na queda da produtividade, requerendo reaplicações mais frequentes.

A adubação do solo com nutrientes essenciais, nitrogênio, fósforo e potássio, faz parte de uma recomendação criteriosa a partir do plano de utilização do solo, incluindo a seqüência de culturas, o prazo de utilização das áreas e a expectativa de produção (EMBRAPA AGROPECUÁRIA OESTE, 2008).

### 2.5.1 Tratamento do solo para cultivo do trigo

Recomenda-se fazer a calagem quando a percentagem em saturação por bases for inferior a 50%, calculando a quantidade do corretivo para atingir 60% em saturação por bases. A saturação por bases refere-se à proporção de cátions básicos trocáveis em relação à capacidade de troca determinada a pH7. A expressão alta saturação se aplica a solos com saturação por bases igual ou superior a 50% (Eutrófico) e baixa saturação para valores inferiores a 50% (Distrófico). Esta característica está relacionada diretamente à fertilidade natural do solo onde os atributos Eutrófico (alta fertilidade) e Distrófico (baixa fertilidade) indicam a necessidade ou não de adubação para uso agrícola.

O cálculo da necessidade de calagem (NC), em toneladas por hectare de cultivo ( $t \cdot ha^{-1}$ ), é feito utilizando-se a equação 1:

$$NC = \frac{T(V_2 - V_1)f}{100} \quad (1)$$

Onde “T” é capacidade de troca de cátions, obtida pela soma  $S + (H + Al)$ , em que “S” representa a soma de bases trocáveis ( $Ca^{2+} + Mg^{2+} + K^+$ ) em  $cmolc/dm^3$ . “V2” é a percentagem desejada de saturação por bases (60%). V1 é a percentagem de saturação por bases fornecida pela análise ( $100 \times S/T$ ) e “f” obtém-se pela relação  $100 \div PRNT$  (poder relativo de neutralização total). Para rochas calcárias moídas, pode-se usar valor de  $f = 1,3$  quando o PRNT do corretivo de acidez não for conhecido.

A adubação nitrogenada deverá ser parcelada aplicando-se parte na semeadura e o restante em cobertura. O aumento da dose de N no sulco é sugerida pois os resultados de pesquisa indicam que a aplicação do nitrogênio deve ser realizada nas fases iniciais do desenvolvimento da cultura. A aplicação de cobertura deverá ser feita no perfilhamento, a lanço, independente da cultura anterior, visando complementar a adubação realizada no sulco de semeadura, conforme indicado na TABELA 14.

TABELA 14. Indicação de adubação nitrogenada ( $kg \cdot ha^{-1}$ ) para culturas de trigo e triticales no Estado do Paraná

<b>Cultura anterior</b>	<b>Semeadura</b>	<b>Cobertura</b>
Soja	10 - 30	30 - 60
Milho	25 - 50	30 - 90

Fonte: Extraído e adaptado de “Informações técnicas para trigo e triticales safra 2013”, IAPAR 2012.

As doses de aplicação de pentóxido de fósforo ( $P_2O_5$ ) e de óxido de potássio ( $K_2O$ ) indicadas para a cultura do trigo constam nas TABELAS 15 e 16 a seguir.

TABELA 15. Adubação fosfatada para culturas de trigo e triticales no Estado do Paraná.

<b>Teor de P* (<math>mg/dm^3</math>)</b>	<b><math>P_2O_5</math> (<math>kg \cdot ha^{-1}</math>)</b>
<5	60 - 90
5 - 9	40 - 60
>9	20 - 40

\* Extraído pelo método de Mehlich 1.

Fonte: Extraído e adaptado de “Informações técnicas para trigo e triticales safra 2013”, IAPAR 2012.

TABELA 16. Adubação potássica para culturas de trigo e triticale no Estado do Paraná

Teor de K* (cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> )	K <sub>2</sub> O (kg.ha <sup>-1</sup> )
< 0,10	60 - 80
0,10 - 0,30	40 - 60
> 0,30	30 - 40

\* Extraído pelo método de Mehlich 1.

Fonte: Extraído e adaptado de "Informações técnicas para trigo e triticale safra 2013", IAPAR 2012.

### 2.5.2 Tratamento do solo para cultivo do milho

A calagem em solos para cultivo de milho deve ser aplicada quando a saturação por bases, indicada pela análise do solo, for inferior a 60%, usando o índice de 70% para cálculo da quantidade de corretivo a ser aplicada.

Já para a adubação nitrogenada, em safra normal, deve-se aplicar de 20 a 40 kg.ha<sup>-1</sup> de N no sulco de plantio e de 60 a 120 kg.ha<sup>-1</sup> em cobertura, dependendo da cultura de inverno e do potencial produção da lavoura. Caso o milho seja cultivado em sucessão a leguminosas ou nabo forrageiro a adubação tanto de base quanto de cobertura pode ser diminuída, a critério do responsável pelo projeto. As doses de aplicação de pentóxido de fósforo (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) e de óxido de potássio (K<sub>2</sub>O) indicadas para a culturas do milho, nos diferentes tipos de solo do Paraná, constam nas TABELAS 17 e 18 a seguir.

TABELA 17. Referência para adubação do solo menos argiloso no Estado do Paraná. Adubação fosfatada e potássica para milho cultivado em safra normal em solos com teor de argila menor de 360 g.kg<sup>-1</sup> de solo.

P extraível		K trocável		P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O
mg.kg <sup>-1</sup>	Classe	cmol <sub>c</sub> .dm <sup>-3</sup>	Classe	kg.ha <sup>-1</sup>	kg.ha <sup>-1</sup>
≤ 3,0	Baixa	≤ 0,10	Baixa	70 - 90	60 - 70
		0,11 - 0,30	Média		50 - 60
		≥ 0,31	Alta		40 - 50
3,1 - 9,0	Média	≤ 0,10	Baixa	50 - 70	60 - 70
		0,11 - 0,30	Média		50 - 60
		≥ 0,31	Alta		40 - 50
9,1 - 36,0	Alta	≤ 0,10	Baixa	40 - 50	60 - 70
		0,11 - 0,30	Média		50 - 60
		≥ 0,31	Alta		40 - 50
≥ 36,1	Muito Alta	≤ 0,10	Baixa	30 - 40	60 - 70
		0,11 - 0,30	Média		50 - 60
		≥ 0,31	Alta		40 - 50

Fonte: Extraído de IAPAR, 2003.

TABELA 18. Referência para adubação do solo mais argiloso no Estado do Paraná. Adubação fosfatada e potássica para milho cultivado em safra normal em solos com teor de argila maior de 360 g/kg-1 de solo.

<b>P extraível</b>		<b>K trocável</b>		<b>P<sub>2</sub>O<sub>5</sub></b>	<b>K<sub>2</sub>O</b>
<b>mg.kg<sup>-1</sup></b>	<b>Classe</b>	<b>cmol.c.dm<sup>-3</sup></b>	<b>Classe</b>	<b>kg.ha<sup>-1</sup></b>	<b>kg.ha<sup>-1</sup></b>
≤ 2,0	Baixa	≤ 0,10	Baixa	90 - 120	60 - 70
		0,11 - 0,30	Média		40 - 60
		≥ 0,31	Alta		30 - 40
2,1 - 4,5	Média	≤ 0,10	Baixa	60 - 90	60 - 70
		0,11 - 0,30	Média		40 - 60
		≥ 0,31	Alta		30 - 40
4,6 - 11,0	Alta	≤ 0,10	Baixa	50 - 60	60 - 70
		0,11 - 0,30	Média		40 - 60
		≥ 0,31	Alta		30 - 40
≥ 11,1	Muito Alta	≤ 0,10	Baixa	30 - 50	60 - 70
		0,11 - 0,30	Média		40 - 60
		≥ 0,31	Alta		30 - 40

Fonte: Extraído de IAPAR, 2003.

Na safrinha, é recomendado aplicar 15 kg.ha<sup>-1</sup> de nitrogênio (N) no sulco de plantio e de 30 a 45 kg.ha<sup>-1</sup> em cobertura para milho cultivado, em sucessão a soja e milho. Deve-se verificar, através de análises de composição de nutrientes, sais minerais, quantidades e relações entre os íons presentes como cálcio (Ca<sup>2+</sup>) e magnésio (Mg<sup>2+</sup>) e a partir destes valores construir relações de proporção para se planejar e executar o correto manejo do solo que irá receber os novos cultivos. Caso haja necessidade operacional de reduzir a quantidade de nitrogênio (N) no plantio de ambas as safras, adicionar a diferença por ocasião da adubação nitrogenada em cobertura. As doses de aplicação de pentóxido de fósforo (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) e de óxido de potássio (K<sub>2</sub>O), indicadas para a cultura do milho safrinha, constam na TABELA 19 a seguir.

TABELA 19. Referência para adubação do solo para o milho da safrinha no Estado do Paraná. Adubação fosfatada e potássica para milho cultivado em safra normal em solos com teor de argila maior de 360 g/kg-1 de solo.

<b>P extraível</b>		<b>K trocável</b>		<b>P<sub>2</sub>O<sub>5</sub></b>	<b>K<sub>2</sub>O</b>
<b>mg.kg<sup>-1</sup></b>	<b>Classe</b>	<b>cmol.c.dm<sup>-3</sup></b>	<b>Classe</b>	<b>kg.ha<sup>-1</sup></b>	<b>kg.ha<sup>-1</sup></b>
≤ 2,0	Baixa	≤ 0,10	Baixa	40	30
		0,11 - 0,30	Média		20
		≥ 0,31	Alta		0
2,1 - 4,5	Média	≤ 0,10	Baixa	30	30
		0,11 - 0,30	Média		20
		≥ 0,31	Alta		0

continua

TABELA 19. Referência para adubação do solo para o milho da safrinha no Estado do Paraná. conclusão

4,6 - 11,0	Alta	$\leq 0,10$	Baixa	20	30
		0,11 - 0,30	Média		20
		$\geq 0,31$	Alta		0
$\geq 11,1$	Muito Alta	$\leq 0,10$	Baixa	0	30
		0,11 - 0,30	Média		20
		$\geq 0,31$	Alta		0

Fonte: IAPAR, 2003.

## 2.6 Teste de germinação de sementes

A avaliação do potencial fisiológico das sementes é fundamental como base para os processos de produção, distribuição e comercialização dos lotes de sementes. Assim, as empresas produtoras e laboratórios de análise de sementes, devem utilizar testes que ofereçam resultados reproduzíveis, confiáveis e que indiquem, com segurança, a qualidade de um lote de sementes, principalmente no que se refere ao vigor (FRIGERI, 2007).

O teste de primeira contagem de germinação se baseia no princípio de que as amostras que apresentam maiores porcentagens de plântulas normais na primeira contagem estabelecidas pelas Regras para Análises de Sementes (BRASIL, 1992), serão as mais vigorosas, o que se correlaciona com a velocidade de germinação. Este teste é de grande interesse para avaliação do vigor de sementes de milho visto também sua praticidade e tempo de execução.

O teste de germinação, segundo as normas das Regras para Análises de Sementes (BRASIL, 1992), consiste na obtenção de dados como a uniformidade e a velocidade de emergência de plântulas, que são os mais importantes componentes dentro da conceituação atual de vigor de sementes. Os testes de massa seca e comprimento de plântulas são considerados, assim como o de velocidade de germinação, testes que caracterizam lotes que apresentam sementes mais vigorosas e que originarão plântulas com maiores taxas de desenvolvimento e ganho de massa, devido apresentarem maior capacidade de transformação dos tecidos e suprimento das reservas dos tecidos de armazenamento e fundamentação destes na composição e formação do eixo embrionário (DAN *et al.*, 1987).

São vários os estudos sobre o potencial fisiológico de diferentes tipos de sementes que têm evidenciado que o teste de germinação traduz parcialmente o potencial de desempenho de sementes dessas espécies (NASCIMENTO, 1994).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 LINHAGEM UTILIZADA DA MICROALGA *Spirulina maxima*

A microalga utilizada nos experimentos pertence ao banco de cepas de microrganismos do LPB I, nomeada LEM-01 *Spirulina maxima*, originária da coleção de culturas de algas da UTEX (Universidade do Texas) com número serial LB 2342.

#### 3.2 MANUTENÇÃO DE CEPAS E PREPARO DE INÓCULO

O inóculo inicial foi preparado em frascos Erlenmeyers de 250 mL contendo 50 mL de meio de cultura descrito por Zarrouk (1966) com pH ajustado para a faixa de 9 a 10 (FERRAZ *et al.*, 1985; MATERASSI *et al.*, 1984) e inoculados com aproximadamente 50mg.L<sup>-1</sup> de células de *Spirulina maxima*. A cepa estava ativa e mantida em cultivo constante no LPB I. Os frascos foram dispostos em incubadora com temperatura controlada e ajustada para a faixa de 30°C a 35°C (RICHMOND, 1990), sob agitação de 100rpm e com iluminação a uma taxa de 42  $\mu\text{moles.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  em um fotoperíodo de 12 horas fornecido por lâmpadas fluorescentes tipo luz do dia, durante 8 dias.

Os cultivos subsequentes foram escalonados a uma proporção de 20% de inóculo para o cultivo final em frasco Erlenmeyer de 6 litros com 4,5 litros de cultivo em meio descrito por Zarrouk (1966), com aeração de 1 volume de ar por volume de meio de cultivo (vvm), nas mesmas condições de temperatura e iluminação.

A cultura foi mantida por repiques a cada 30 dias. A obtenção da biomassa algal foi realizada pela filtração a vácuo do cultivo, separando a biomassa do filtrado.

Toda manipulação envolvendo a transferência de culturas da microalga foi realizada em condições assépticas no fluxo laminar.

### 3.3 DISPONIBILIZAÇÃO DAS BIOMOLÉCULAS DA BIOMASSA MICROALGAL

A disponibilização das biomoléculas constituintes da biomassa algal foi realizada por uma série de tratamentos físico-químicos. Assim, a fragmentação de moléculas complexas em moléculas simples, como a conversão de carboidratos em açúcares simples e de proteínas em aminoácidos (CHANDRA *et al.*, 2012). As metodologias aplicadas foram direcionadas à obtenção de uma suspensão contendo uma gama de moléculas resultantes da hidrólise, como proteínas, aminoácidos, açúcares, lipídeos, sais minerais e íons solubilizados.

A biomassa resultante do cultivo da microalga *S. maxima* foi obtida pela filtragem em papel-filtro de nitrocelulose gramatura 80, com o auxílio da vidraria adequada (i.e. Kitasato e funil de Büchner) e uma bomba a vácuo da TECNAL, modelo TE-058. O líquido filtrado (Resíduo 1) foi descartado.

A biomassa úmida foi disposta em placas de Petri, dentro de uma estufa de secagem com circulação forçada de ar, com temperatura controlada a 40°C durante 48 horas. Com o auxílio de um almofariz e um pilão de cerâmica, a biomassa foi macerada e peneirada até que seu tamanho fosse reduzido a gramatura igual ou inferior a 1mm.

Em seguida, a biomassa foi solubilizada em diferentes solventes para etapa de hidrólise. Os tratamentos aplicados à biomassa e as variáveis testadas estão apresentados na TABELA 20.

TABELA 20. Composição dos tratamentos aplicados à biomassa.

Tratamento	Biomassa (g.L <sup>-1</sup> )	Solvente	Temperatura	Pressão	Tempo
T1	10	Água	25°C	--	24 h
T2	1	Água	121°C	1 atm	15 min
T3	5				
T4	10				
T5	10	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 1%			
T6	10	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 3%			
T7	10	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 5%			
T8	10	Etanol 50%			

As variáveis físico-químicas testadas foram temperatura, pressão, tipo e concentração do solvente, além da concentração de biomassa disponível para extração das biomoléculas. Os tratamentos “à quente” (T2, T3, T4, T5, T6, T7 e T8) foram realizados em autoclave horizontal sob temperatura de 121°C e 1 atm (atmosfera) de pressão. O tratamento “à frio” (T1) foi conduzido sob temperatura ambiente de 25°C e durante 24 horas sob agitação constante de 100 rpm por meio de um agitador magnético. Concentrações de 1 g.L<sup>-1</sup>, 5 g.L<sup>-1</sup> e 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa algal foram testadas.

A solução de ácido sulfúrico, utilizada nos tratamentos T5, T6 e T7, foi preparada a partir da solução comercial com 99% P.A. (pureza analítica) da marca Vetec Química Fina. A solução de etanol utilizada foi preparada com água destilada e etanol 99% P.A., com o auxílio de um alcoômetro Gay-Lussac para ajustar a proporção de água destilada/etanol em 50%.

Após adicionar o solvente, cada hidrólise foi realizada em frascos Erlenmeyer de 2 litros de capacidade, com 1,5 litros da solução a ser hidrolisada. A FIGURA 10 apresenta o processo térmico da hidrólise.

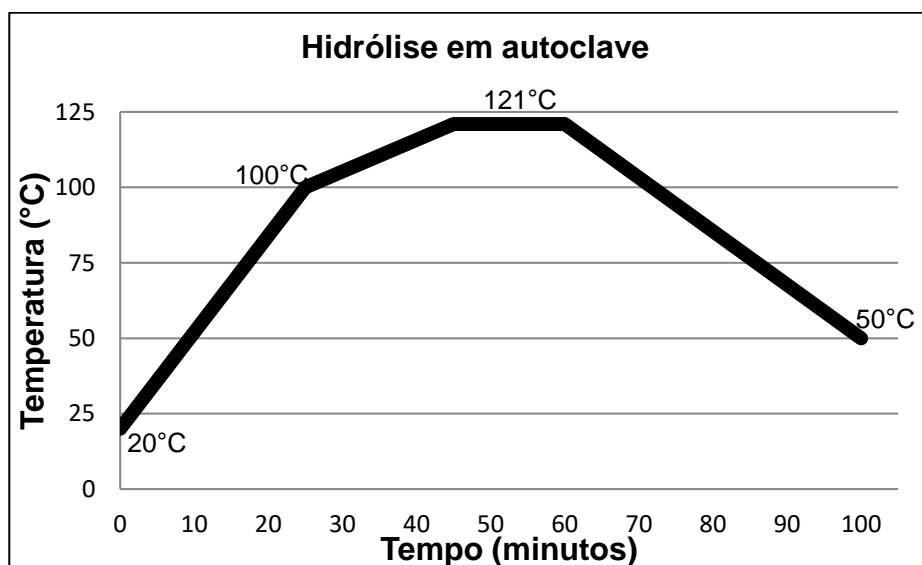


FIGURA 10. Dinâmica do processo de hidrólise.

O proceso de hidrólise compreendeu o aquecimento da autoclave até a produção de vapor saturado fluente, com a chave seletora de potência ajustada para a posição “máximo”. Em seguida, o registro da válvula de retenção do vapor foi fechado para dar início à pressurização da autoclave até que a temperatura de 121°C e pressão de 1atm fossem atingidos. Neste momento, a chave seletora

de potência da autoclave foi ajustada ao valor médio para estabilização destas condições durante 15 minutos. A autoclave foi então desligada para dar início ao processo de despressurização e redução da temperatura dentro da autoclave.

Após 100 minutos do início do processo de hidrólise, os frascos foram retirados da autoclave para submersão em banho de gelo levando à redução da temperatura à 25°C. Em seguida, os caldos hidrolisados tiveram seu pH ajustado para 5.8 adicionando-se a base hidróxido de sódio (NaOH) em quantidade suficiente.

Os tratamentos ácidos (T5, T6 e T7) receberam uma quantidade maior de base NaOH para ajuste do pH, alterando seu volume e diluindo o caldo hidrolisado. Para evitar o efeito da diluição das biomoléculas presentes, os tratamentos foram submetidos a uma evaporação à vácuo com o auxílio de um evaporador rotativo da marca TECNAL, modelo TE-211, para reajuste do volume inicial do caldo hidrolisado sob temperatura constante de 45°C. O líquido excedente deste processo de evaporação/concentração do caldo (Resíduo 2) foi descartado.

O processo de produção do caldo hidrolisado foi realizado de acordo com o fluxograma da FIGURA 11.

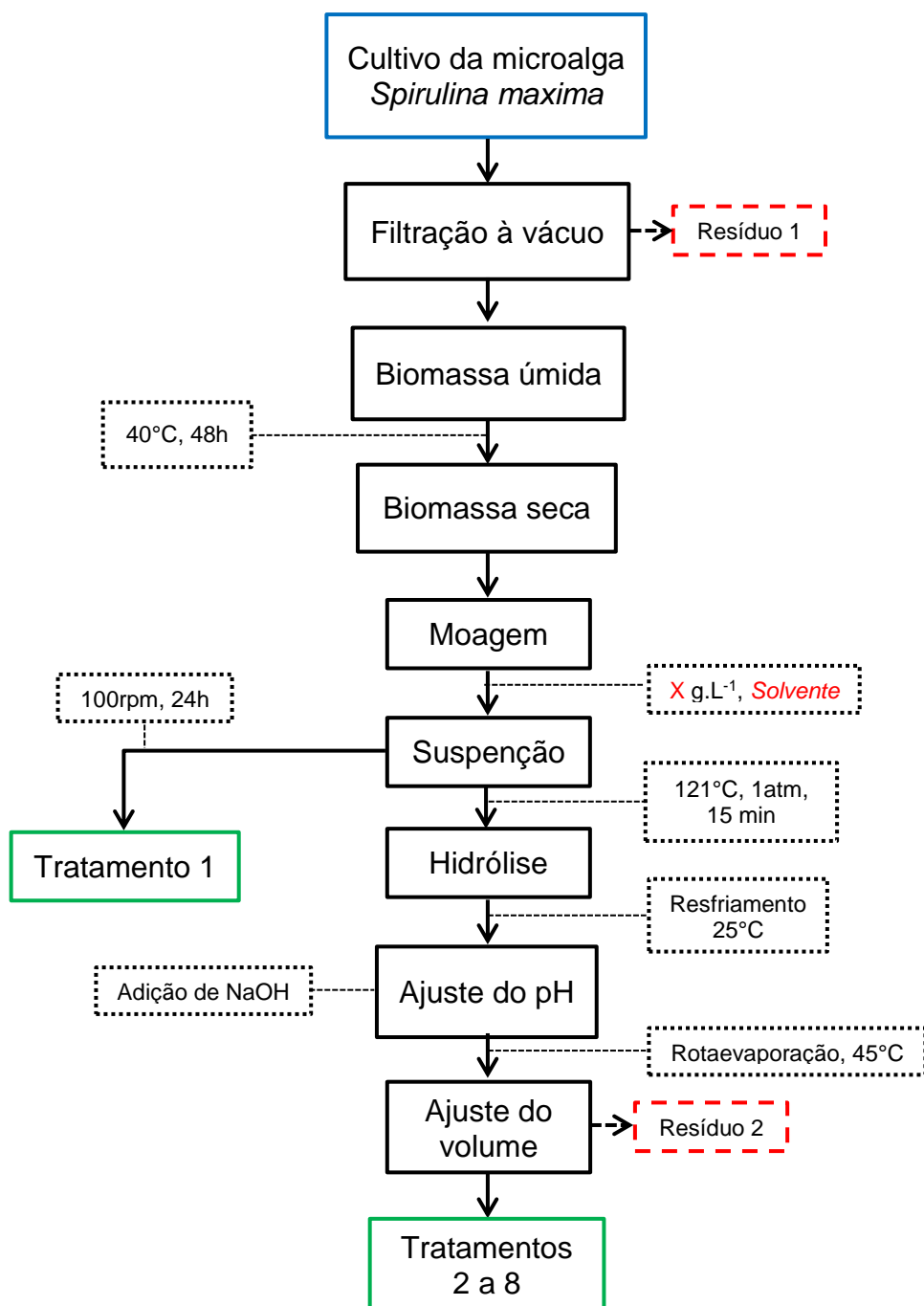


FIGURA 11. Fluxograma de extração de biomoléculas da biomassa algal de *S. maxima*.

### 3.4 MÉTODOS ANALÍTICOS DOS HIDROLISADOS ALGAIS

#### 3.4.1 Determinação de biomassa algal

Foi utilizado o método gravimétrico, no qual o cultivo algal foi filtrado a vácuo, com o auxílio de filtros de celulose gramatura 80G previamente secos e tarados em estufa a 80°C durante 48 horas. A biomassa algal ficou retida no papel filtro, que foi novamente seco em estufa a 45°C até peso constante (BECKER, 1995). Os resultados foram expressos em grama por litro (g.L<sup>-1</sup>).

#### 3.4.2 Determinação dos nutrientes solúveis, proteínas e açúcares totais dos hidrolisados algais

O teor de nutrientes solúveis foi determinado nos hidrolisados algais de *S. maxima* diluído em água, utilizando o cromatógrafo de íons Compac IC 761 com detector Bioscan 817 da Metrohm®. Os íons analisados foram: amônio, sódio, magnésio, cálcio, potássio, com seus respectivos resultados expressos em miligrama por litro (mg.L<sup>-1</sup>).

O conteúdo proteico total foi determinado utilizando a metodologia descrita por Lowry *et al.* (1951), com resultados expressos em grama por litro (g.L<sup>-1</sup>). Nesta metodologia prepara-se, para a curva de calibração, uma solução padrão de albumina de soro bovino a 1 mg/mL. Para a reação coloca-se 0,4 mL de amostra e 2 mL de solução de tartarato de sódio e potássio em conjunto com sulfato de cobre, agita-se a amostra com o auxílio de um vortex e aguarda-se 10 minutos. Em seguida, adiciona-se 0,2 mL do reagente folin-ciocalteau diluído em água (1:1), a amostra é homogeneizada com o auxílio de um vortex e mantida no escuro por 30 minutos. Após este período a absorbância da amostra é lida em espectrofotômetro a 750 nm.

O conteúdo de açúcares totais foi determinado utilizando a metodologia descrita por Dubois *et al.* (1956). A curva de calibração desta metodologia foi preparada com cinco soluções padrão de D-glicose, com faixa de concentração ajustada de 0,1 g.L<sup>-1</sup> a 1 g.L<sup>-1</sup>. A amostra foi preparada a partir do hidrolisado por

filtração à vácuo com filtros de papel celulose gramatura 80G. Pipetou-se 1,0 mL do hidrolisado filtrado e diluído em um tubo de ensaio, pipetando em seguida 1,0 mL de solução de fenol 5%, agitando o tubo vigorosamente. Após a agitação, foi adicionado com uma pipeta, 5 mL de ácido sulfúrico concentrado (99%), voltando a agitar o tubo de ensaio. Os tubos permaneceram em repouso até entrarem em equilíbrio com a temperatura ambiente.

A leitura de absorvância da solução foi realizada com o auxílio de um espectrofotômetro no comprimento de onda de 490 nm.

### 3.5 TESTE DE EMERGÊNCIA DAS SEMENTES EM BANDEJA

A semeadura foi realizada em bandeja sementeira de poliestireno (isopor) com 128 células (FIGURA 12), com dimensões de 68 cm (centímetros) de comprimento, 35 cm largura e altura de 6,2 cm.



FIGURA 12. Bandejas para semeadura utilizadas no experimento de emergência das sementes tratadas com os diferentes hidrolisados.

Cada célula possui 3,5 cm de largura e 6,2 cm de altura, de formato cônico totalizando um volume de 25,32 mL de substrato adquirido do solo do Campus Centro Politécnico previamente peneirado para remoção de pedras, galhos, gramíneas e outros debris (retirado até a profundidade de 15 cm). A irrigação das bandejas foi realizada diariamente, para manter o substrato em capacidade de campo.

A análise do solo foi realizada de acordo com as metodologias de Marques & Motta (2003), resultando na classificação do solo tipo cambissolo argiloso e os resultados obtidos se encontram na TABELA 21. Os nutrientes cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ), magnésio ( $\text{Mg}^{2+}$ ), potássio ( $\text{K}^+$ ), fósforo (P) e enxofre (S), assim como o alumínio

(Al<sup>3+</sup>) – tóxico e prejudicial no processo de disponibilização e translocação dos nutrientes do solo - foram quantificados e os resultados expressos em centímol de carga (cmol<sub>c</sub>) do nutriente, em relação ao hidrogênio (H<sup>+</sup>), que é a quantidade necessária do nutriente para deslocar 10,08 mg de H<sup>+</sup>. O pH do solo foi determinado com base nas metodologias sobre cloreto de cálcio CaCl<sub>2</sub>, que confere menor interferência na medição, e também com solução tamponada (SMP), mais utilizados nos estados do Rio Grande do Sul e em Santa Catarina. Na faixa de pH entre 6,0 e 6,5 encontra-se a maior disponibilidade dos nutrientes para absorção pelas plantas (LOPES *et al.*, 2004).

A soma de bases (SB) refere-se à soma das quantidades dos bons nutrientes, como o K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>. Outro importante índice determinado na análise do solo é a capacidade de troca de cátions potencial (CTC(T)), ou seja, a soma de todos cátions trocáveis (SB) e os nutrientes nocivos como H<sup>+</sup> e Al<sup>3+</sup>. A saturação por bases (V) e a matéria orgânica (MO) constituinte foram calculadas e expressas em percentagem. Muitos autores determinam que a relação Ca/Mg ideal deve estar entre 3:1 e 4:1 para um bom desenvolvimento das plantas e atingir alta produtividade (LOPES *et al.*, 2004).

TABELA 21. Análise química do solo do local de coleta – Centro Politécnico.

cmol <sub>c</sub> .dm <sup>-3</sup>						
Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Al <sup>3+</sup>	H <sup>+</sup> +Al <sup>3+</sup>	CTC (T)	SB	K
12	4,5	0	3,4	20,79	17,4	0,89
pH		mg.dm <sup>-3</sup>		g.dm <sup>-3</sup>	(%)	
CaCl <sub>2</sub>	SMP	P	S	C	V	M. O.
6	6,5	5,8	-	28,5	84	4,9
<b>Ca/Mg</b>						
2,67						

Foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes por tratamento. Após a semeadura, as bandejas foram mantidas em casa-de-vegetação à temperatura ambiente, em regime natural de luz e escuro. As sementes foram consideradas germinadas quando o coleóptilo emergiu. A contagem de sementes germinadas iniciou desde o aparecimento do primeiro coleóptilo e terminou quando as sementes pararam de emergir. Contagens diárias foram realizadas. Foram avaliadas a percentagem de germinação de sementes, a estimativa do dia médio de germinação e o coeficiente de velocidade de germinação.

A estimativa do tempo médio de germinação (AGT – *average germination time*) foi estimada de acordo com a equação 2 de Kotowski (1926), modificado por Nichols & Heydecker (1968):

$$AGT = \frac{\sum n_i \cdot t_i}{\sum n_i} \quad (2)$$

Onde  $n_i$  representa o número de sementes germinadas dentro de um intervalo de tempo  $t_i$  em que “i” representa o tempo que ocorre a germinação de um número “ $n_i$ ” de sementes.

O coeficiente de velocidade de germinação (CVG) foi estimado de acordo com a metodologia descrita por Kotowski (1926) e modificado por Nichols & Heydecker (1968), onde para esta equação é utilizada a mesma equação utilizada para o tempo médio de germinação, no entanto, usando a relação inversa e multiplicado por 100, representado pela equação 3 abaixo:

$$CVG = \frac{\sum n_i}{\sum n_i \cdot t_i} \times 100 \quad (3)$$

Para a realização do tratamento das sementes com os diferentes hidrolisados, foi usado a imersão das mesmas nas diferentes suspensões de hidrolisados. Com o auxílio de uma proveta e um balão volumétrico, aferiu-se o volume das 200 sementes utilizadas na semeadura. A fração de semente/extrato utilizada foi de 1/5 v/v (em volume). A TABELA 22 apresenta o volume total e individual das sementes por tratamento, assim como o volume de extrato no qual as sementes foram submersas antes da semeadura.

TABELA 22. Cálculo do volume de hidrolisado em cada experimento de emergência das sementes a partir do volume individual

Semente	Nº de sementes	Volume	Volume individual	Volume do extrato
Trigo	200	10,2 mL	0,051 mL	51 mL
Milho		28,1 mL	0,141 mL	140,5 mL

As sementes foram submersas por uma hora em diferentes concentrações do hidrolisado algal (TABELA 23) com pH ajustado para 5,8.

TABELA 23. Diluições do hidrolisado algal para imersão das sementes de trigo.

Semente	Concentração do extrato:	6,25%	12,50%	25%	50%	100%
Trigo	Volume de hidrolisado(mL)	3,2	6,4	12,8	25,5	51,0
	Volume de água destilada(mL)	47,8	44,6	38,2	25,5	0,0
Milho	Volume de hidrolisado(mL)	13,8	27,6	55,4	110,6	221,3
	Volume de água destilada(mL)	207,5	193,6	166,0	110,6	0,0

No experimento com sementes de trigo foram testados os hidrolisados T2, T3 e T4, com concentrações de  $1 \text{ g.L}^{-1}$ ,  $5 \text{ g.L}^{-1}$  e  $10 \text{ g.L}^{-1}$  de biomassa respectivamente, resultando num total de 32 tratamentos (devido as sucessivas diluições que foram: 62,5; 125, 250; 500; 1000; 2500; 5000 e 10000  $\text{mg.L}^{-1}$ ), além do tratamento controle, que consistiu apenas de água destilada e pH ajustado para 5,8.

Cada poço da bandeja recebeu duas sementes de trigo (FIGURA 13), pois as raízes e a parte aérea das plântulas não necessitam de muito espaço no poço da bandeja nesta fase.



FIGURA 13. Duas sementes de trigo germinadas por poço, destacadas em amarelo.

O trigo foi semeado no dia 16 de abril de 2014 e ao terceiro dia foi observado as primeiras emergências. A última emergência observada foi ao sétimo dia, totalizando 10 dias de experimento desde a semeadura.

Para os experimentos com sementes de milho, foram utilizadas sementes de milho doce tratadas da marca TOPSEED, categoria S2 AZTECA IV, lote 034203, OP: 34580, com germinação média de 85%, testadas em fevereiro de 2014 e com validade para fevereiro de 2016.

Oito hidrolisados foram testados, os hidrolisados ácidos com 1%, 3% e 5% de ácido sulfúrico, o hidrolisado com etanol 50%, os três hidrolisados com água e com concentrações diferentes de biomassa  $1 \text{ g.L}^{-1}$ ,  $5 \text{ g.L}^{-1}$  e  $10 \text{ g.L}^{-1}$  e o hidrolisado a frio (extrato aquoso), resultando num total de 32 tratamentos mais o controle, o qual consistiu de água destilada com o pH ajustado para 5.8. As diluições de cada hidrolisado foram: 6,25; 12,5; 25; 50 e 100%. Apenas uma semente de milho foi semeada, no dia 11 de setembro, em cada poço, devido ao seu elevado tamanho com relação ao espaço.



FIGURA 14. Mudanças de milho 20 dias após semeadura obtidas das sementes tratadas com os hidrolisados algais.

### 3.6 TESTE DE RESISTÊNCIA À SALINIDADE

As sementes de trigo foram embebidas durante uma hora em diferentes concentrações salinas adicionadas ao hidrolisado algal (TABELA 24), na proporção de uma semente por mL por 1 hora. Foram usados os hidrolisados T4, T5, T6 e T7.

TABELA 24. Nomenclatura e concentração de cloreto de sódio aplicada nos tratamentos

Tratamento	S0	S1	S2	S3
Concentração salina - NaCl	0 mM	25 mM	50mM	100mM

Cada tratamento contemplou 100 sementes embebidas, 5 repetições de 20 sementes. Na sequência, as sementes foram transferidas para placas de Petri (9 cm de diâmetro) (FIGURA 15) contendo 2 mL de água destilada, suplementado com 500 mg.L<sup>-1</sup> de nistatina, utilizado como agente fungistático. As placas foram seladas com filme de PVC (policloreto de vinila) para evitar a desidratação. Em seguida, as placas foram dispostas em uma sala de crescimento com temperatura controlada a 25°C sob luz fluorescente branca (15 μm M<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>) com um fotoperíodo ajustado para 16 horas de iluminação e 8 horas de escuro. As avaliações foram realizadas diariamente, com reposição de água para manutenção do volume de 2 mL para evitar a desidratação das sementes.

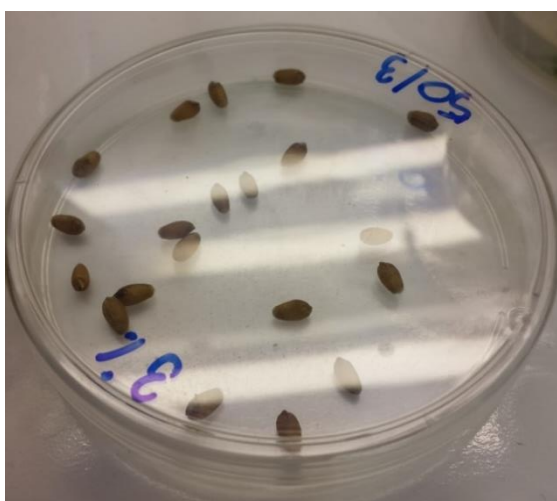


FIGURA 15. Experimento de indução de estresse salino em sementes de trigo.

Início do experimento. Sementes embebidas no hidrolisado algal - hidrólise ácida H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 3% (T6) - concentração salina 50 mM, repetição n°3 de 5 repetições.

As sementes foram consideradas germinadas quando o coleóptilo emergiu. A contagem de germinação foi encerrada no sétimo dia, quando parou a germinação em todos os tratamentos (FIGURA 16).

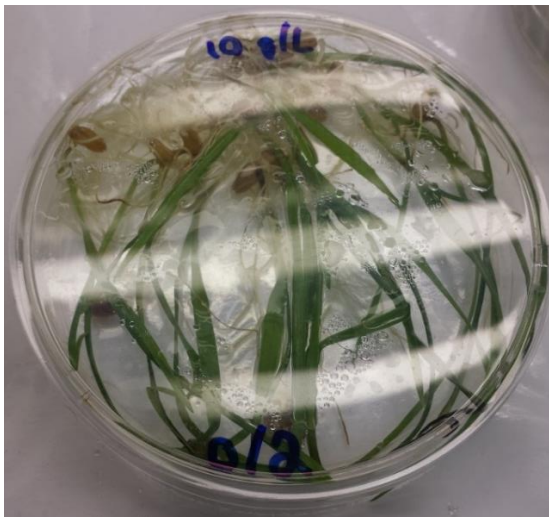


FIGURA 16. Sementes germinadas no experimento de estresse salino em sementes de trigo.

Sementes embebidas em  $10 \text{ g.L}^{-1}$  de hidrolisado algal (T4), concentração salina 0 mM, repetição n°2 de 5 repetições.

Para avaliação dos efeitos do hidrolisado algal na tolerância ao estresse salino na germinação das sementes, foi organizado um experimento no delineamento inteiramente casualizado em esquema bi-fatorial ( $2 \times 4$ ), onde o fator A consistiu de dois tipos de embebição das sementes (água destilada e 100% de hidrolisado de alga), ambas as soluções tinham o pH ajustado para 5,8. O fator B constou de diferentes níveis de NaCl, apresentados na TABELA 24. A percentagem de germinação (%G), estimativa do tempo médio de germinação (AGT) e coeficiente de velocidade de germinação (CVG) foram avaliados no décimo dia após a semeadura.

### 3.7 APLICAÇÃO DO HIDROLISADO ALGAL COMO FERTILIZANTE FOLIAR EM PLANTAS

A aplicação foliar dos hidrolisados foi testada no trigo e no milho. Mudas de trigo e milho foram produzidas a partir de sementes. Todos os experimentos foram realizados no mesmo solo descrito anteriormente, cuja análise está apresentada na TABELA 21. No décimo oitavo dia após a semeadura, quatro

mudas de trigo foram transferidas em cada saco plástico de cultivo com 12,5 litros de volume total, totalizando 5 sacos e 20 mudas por tratamento (FIGURA 17). A irrigação das plantas foi realizada diariamente, até a saturação do substrato.

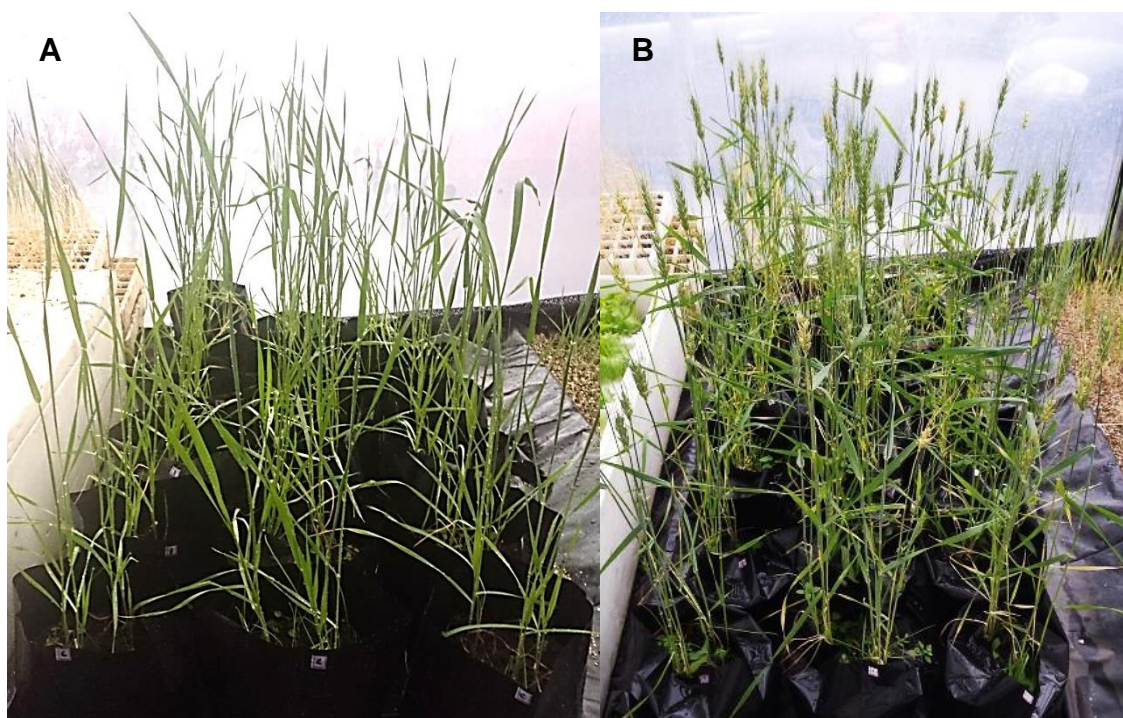


FIGURA 17. Mudas de trigo, semanas após transferência para sacos de cultivos. Três (A) e quatro (B) meses após a sementeira.

Os experimentos com o trigo foram conduzidos na estufa de vegetação do Laboratório Processos Biotecnológicos I (LPB I), no Centro Politécnico (FIGURA 18).



FIGURA 18. Estufa de vegetação do LPB I.

Já o experimento com o milho transcorreu no Centro Politécnico da Universidade Federal do Paraná, ao lado do prédio do CENBAPAR. No preparo do solo foram feitas covas de comprimento e largura de 18 cm com profundidade de 20 cm para receber os sacos de cultivo com milho com 21,2 litros de volume total, tais sacos foram dispostos em fileiras de cinco sacos por tratamento com espaçamento de 70 cm entre si (FIGURA 19). A irrigação das plantas foi realizada diariamente, para saturação do substrato.



FIGURA 19. Local de plantio do milho no Centro Politécnico da UFPR. Seis (A) e oito (B) semanas após a transferência para o campo.

No vigésimo dia após a semeadura, as plântulas foram transferidas para sacos plásticos de cultivo de mudas. Duas mudas de milho foram dispostas em cada saco de cultivo, totalizando 5 sacos e dez mudas por tratamento (FIGURA 20). Três semanas depois as mudas foram transferidas a campo para o estabelecimento do experimento com aplicação foliar, para esse experimento foram usadas apenas as mudas originadas no tratamento controle.



FIGURA 20. Sacos plásticos para mudas de milho que seguiram para o campo para experimento de aplicação foliar.

Os hidrolisados foram aplicados nos tecidos da parte aérea das plantas de trigo e milho. O pH da solução foi ajustado para 5,8 e em seguida adicionou-se 1% v/v de óleo mineral, para atuar como agente fixador do extrato no tecido da planta. Com o auxílio de um borrifador, 150 mL de cada tratamento do hidrolisado algal foi pulverizado de maneira uniforme sobre as partes aéreas das plantas, o que resultou em aproximadamente 7,5 mL de hidrolisado por planta de trigo e 15 mL de hidrolisado por planta de milho, considerando que as folhas de milho são muito mais largas que as de trigo.

A primeira aplicação do extrato algal, em ambas plantas de trigo e milho, foi realizada ao sétimo dia após o transplante das mudas para os sacos de cultivo, aguardando o tempo de adaptação do transplante. A segunda aplicação coincidiu com a etapa de diferenciação da espiga (FIGURA 21). A terceira e última aplicação foi realizada na etapa de enchimento dos grãos. Todas aplicações do extrato algal foram realizadas entre as 19 e 20 horas, horário em que o sol já não incidia mais sobre o plantio.

Nos experimentos com o trigo, as condições climáticas de temperatura diária máxima e mínima, umidade relativa do ar média e insolação total foram monitoradas diariamente e os dados foram fornecidos pelo Instituto Nacional de

Metereologia (INMET) (TABELA 25). Temperaturas máxima (T.máx°C) e mínima (T.mín°C), umidade relativa média do ar (URm %) e insolação total diária média (ltm.d<sup>-1</sup> (h)) foram observados.

TABELA 25. Dados climatológicos registrados no período de cultivo do trigo

Mês/Ano	T. máx(°C)	T. mín(°C)	URm (%)	ltm.d <sup>-1</sup> (h)
Abril/2014	23	12	83	3,9
Maio/2014	21	10	81	4,1
Junho/2014	19	10	80	4,0
Julho/2014	19	8	78	4,3
Agosto/2014	20	9	70	6,2
Setembro/2014	22	12	75	4,5
Outubro/2014	22	13	77	5,5

Fonte: Adaptado de INMET (Instituto Nacional de Metereologia), [www.inmet.gov.br/sim/gera\\_graficos.php](http://www.inmet.gov.br/sim/gera_graficos.php).

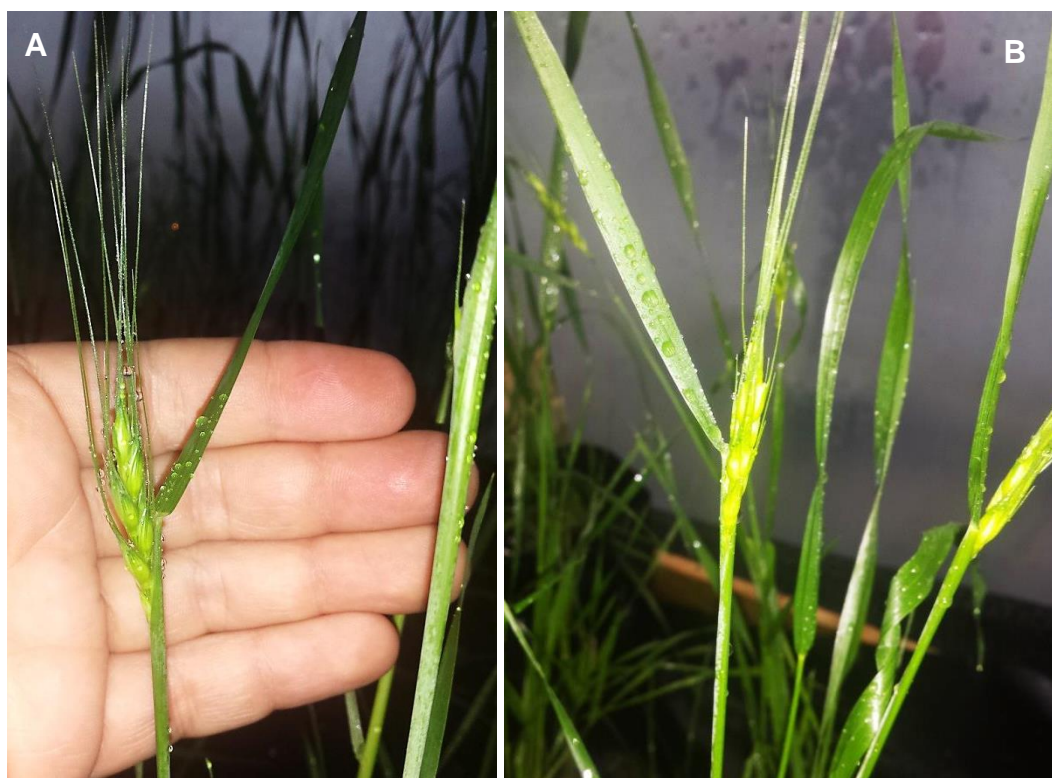


FIGURA 21. Trigo: Aplicação foliar do hidrolisado usando 1% de óleo mineral. Perfilho do trigo (A) após pulverização do hidrolisado algal. Nota-se o efeito do óleo mineral na retenção das gotículas de água na superfície do tecido foliar (B)

Nos experimentos com o milho (FIGURA 22 e FIGURA 23), as condições climáticas de temperatura diária máxima e mínima, umidade relativa do ar média, insolação total diária e a quantidade de chuva acumulada em milímetros de água durante 24 horas foram monitoradas diariamente e os dados foram fornecidos pelo INMET (TABELA 26). Temperaturas máxima (T.máx°C) e mínima

(T.mín°C), umidade relativa média do ar (URm %), insolação total diária média (Itm.d<sup>-1</sup> (h)) e chuva acumulada (C.A mm H<sub>2</sub>O) foram observadas.

TABELA 26. Dados climatológicos registrados no período de cultivo do milho.

Mês/Ano	T. máx(°C)	T. mín(°C)	URm (%)	I <sub>t</sub> m.d <sup>-1</sup> (h)	C.A (mmH <sub>2</sub> O)
Setembro/2014	22	12	75	4,5	183
Outubro/2014	22	13	77	5,5	120
Novembro/2014	24	15	80	5,0	205
Dezembro/2014	25	16	81	5,5	160
Janeiro/2015	27	17	77	6,5	180
Fevereiro/2015	26	17	80	6,0	10,7

Fonte: Adaptado de INMET (Instituto Nacional de Meteorologia), [www.inmet.gov.br/sim/gera\\_graficos.php](http://www.inmet.gov.br/sim/gera_graficos.php).



FIGURA 22. Milho: Aplicação foliar do hidrolisado algal – T5

Gotículas do hidrolisado ácido 1% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> sobre o tecido foliar (A). Horas após a aplicação, a mancha do hidrolisado sobre a superfície foliar (B). Todos os três hidrolisados ácidos apresentaram essa coloração esbranquiçada ao pulverizar sobre as plantas.

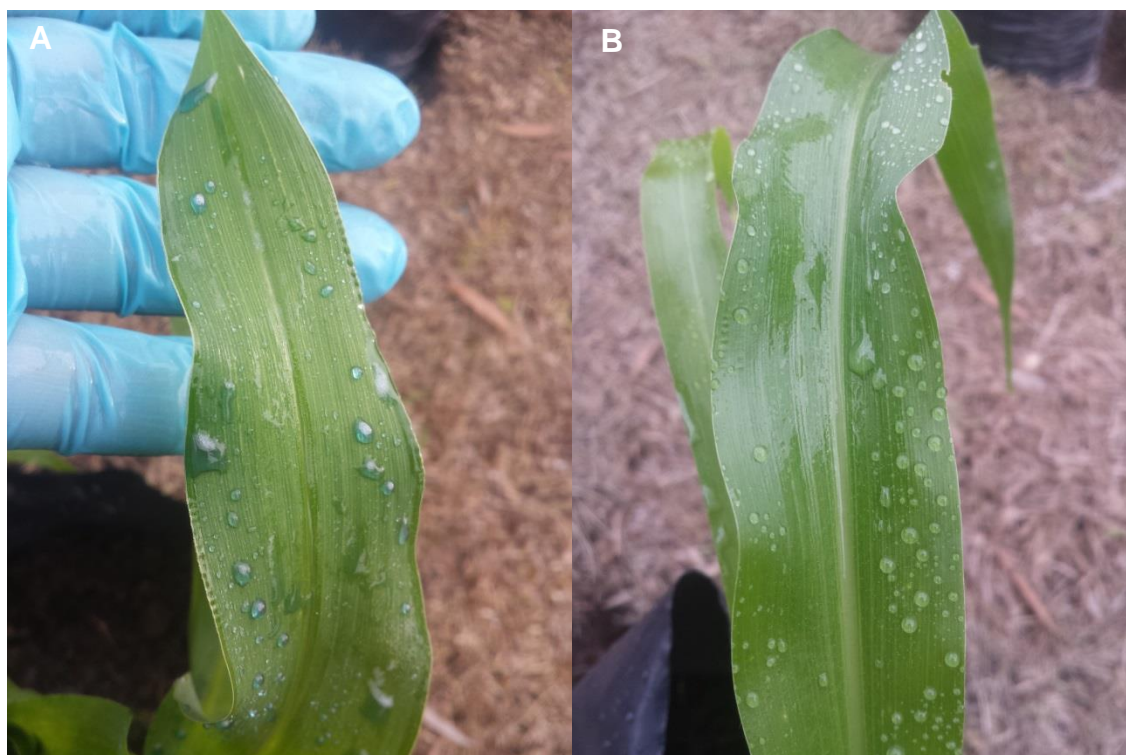


FIGURA 23. Milho: Aplicação foliar do hidrolisado algal – T1 e Controle.

Gotículas levemente azul-esverdeadas do hidrolisado “à frio” (A). Gotículas transparentes do controle aplicado (B).

Quando as culturas de trigo e milho atingiram a sua maturidade fisiológica, as espiguetas e espigas foram colhidas, respectivamente e a avaliação foi realizada. As características avaliadas para a cultura do trigo foram: Altura da parte aérea (cm), números de perfilhos e espiguetas por planta, comprimento das espigas (cm), número de grãos por espiga, peso do hectolitro (kg), peso seco da parte aérea da planta sem grãos (g), peso de mil grãos (g), produção de grãos por planta ( $\text{mg.planta}^{-1}$ ) e o índice de colheita (%). O índice de colheita foi estimado de acordo com a equação 5:

$$IC\% = \frac{\text{massa total dos grãos produzidos}}{\text{biomassa seca total acima do solo}} \times 100 \quad (5)$$

Para a cultura do milho foram avaliadas as seguintes características: Altura da planta (cm), altura da inserção da primeira espiga (cm), número de grãos por espiga, massa seca da planta sem grãos (g), peso de mil grãos (g), produção de grãos por planta ( $\text{mg.planta}^{-1}$ ), número de espigas por planta e índice de colheita.

### 3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O delineamento experimental usado foi inteiramente casualizado em todos os experimentos. Os dados foram submetidos ao teste de Lilliefors e em seguida para a análise de variância e comparados pelo teste de Scott-Knott, ambas as análises ao nível de 5% de probabilidade de erro. Os dados oriundos de contagem foram transformados para  $\sqrt{x + 0,5}$  e os oriundos de percentagem para arcoseno  $\sqrt{x/100}$ . Todas as análises foram realizadas com auxílio do programa computacional SOC (EMBRAPA, 1990). Quando a estatística analítica não foi necessária, as médias foram apresentadas com seu respectivo desvio padrão da média.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 COMPOSIÇÃO DE NUTRIENTES E BIOMOLÉCULAS NOS HIDROLISADOS DE *Spirulina maxima*

Cada tratamento aplicado à biomassa inicial (mi) disponível em solução apresentou níveis de recuperação com relação aos açúcares totais, proteínas e sais minerais quantificados em solução após tratamento (mf). Os índices de recuperação destas moléculas encontram-se na TABELA 27 a seguir.

TABELA 27. Índices de recuperação percentual de concentração de moléculas solubilizadas pós tratamento (mf g.L<sup>-1</sup>) a partir da concentração inicial de biomassa de *S. maxima* (mi g.L<sup>-1</sup>) disponível em cada tratamento aplicado.

Tratamento	mi (g.L <sup>-1</sup> )	mf (g.L <sup>-1</sup> )	Recuperação
T1	10	3,9	38,7%
T2	1	0,2	21,1%
T3	5	1,4	28,7%
T4	10	2,1	20,6%
T5	10	4,7	47,0%
T6	10	3,6	36,4%
T7	10	4,2	41,7%
T8	10	2,5	24,8%

Tipos de hidrolisados: (T1) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* à 25°C sob agitação de 100 rpm durante 24 horas. (T2) 1 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em água por autoclavagem. (T3) 5 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em água por autoclavagem. (T4) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em água por autoclavagem. (T5) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em 1% de ácido sulfúrico por autoclavagem. (T6) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em 3% de ácido sulfúrico por autoclavagem. (T7) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em 5% de ácido sulfúrico por autoclavagem. (T8) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada com solução de álcool 50% por autoclavagem. A autoclavagem ocorreu à 121°C e 1.1 kg.cm<sup>2</sup> durante 15 minutos.

O teor de açúcares totais em solução teve um aumento proporcional à concentração de biomassa tratada. Comparando os tratamentos T1 e T4 pode-se concluir que a hidrólise à quente produz efeitos negativos pela degradação dos açúcares. Os tratamentos ácidos (T5, T6 e T7) resultaram em uma maior quantidade de açúcares totais solubilizadas, devido ao aumento no grau de dissociação das biomoléculas causada pelo solvente ácido utilizado. Já o

tratamento etanólico (T8) obteve um rendimento comparável aos tratamentos T1 e T4 (FIGURA 24).

O tratamento T5, referente à hidrólise ácida com 1% v/v de ácido sulfúrico, foi responsável pelos melhores rendimentos de solubilização dos componentes da biomassa algal (FIGURAS 24 e 25).

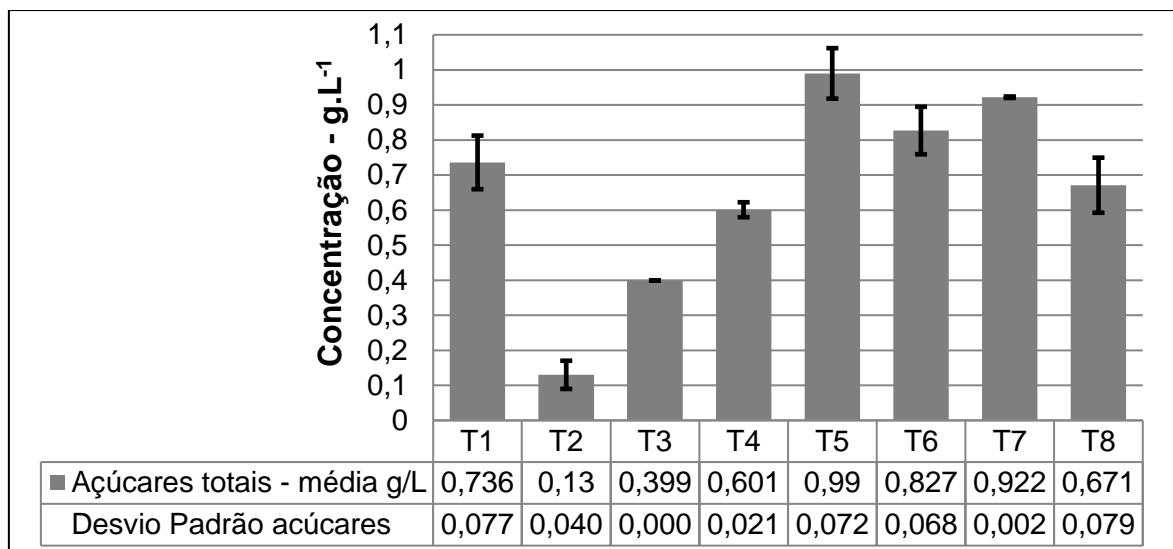


FIGURA 24. Teor de açúcares totais solubilizados resultantes dos diferentes processos de hidrólise da biomassa seca de *Spirulina maxima*.

Tipos de hidrolisados: (T1) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* à 25°C sob agitação de 100 rpm durante 24 horas. (T2) 1 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em água por autoclavagem. (T3) 5 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em água por autoclavagem. (T4) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em água por autoclavagem. (T5) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em 1% de ácido sulfúrico por autoclavagem. (T6) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em 3% de ácido sulfúrico por autoclavagem. (T7) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em 5% de ácido sulfúrico por autoclavagem. (T8) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada com solução de álcool 50% por autoclavagem. A autoclavagem ocorreu à 121°C e 1.1 kg.cm<sup>2</sup> durante 15 minutos.

Sais de magnésio e açúcares são usualmente utilizados como agentes protetores para reduzir os prejuízos que os nutrientes podem causar às folhas (MCNALL, 1967).

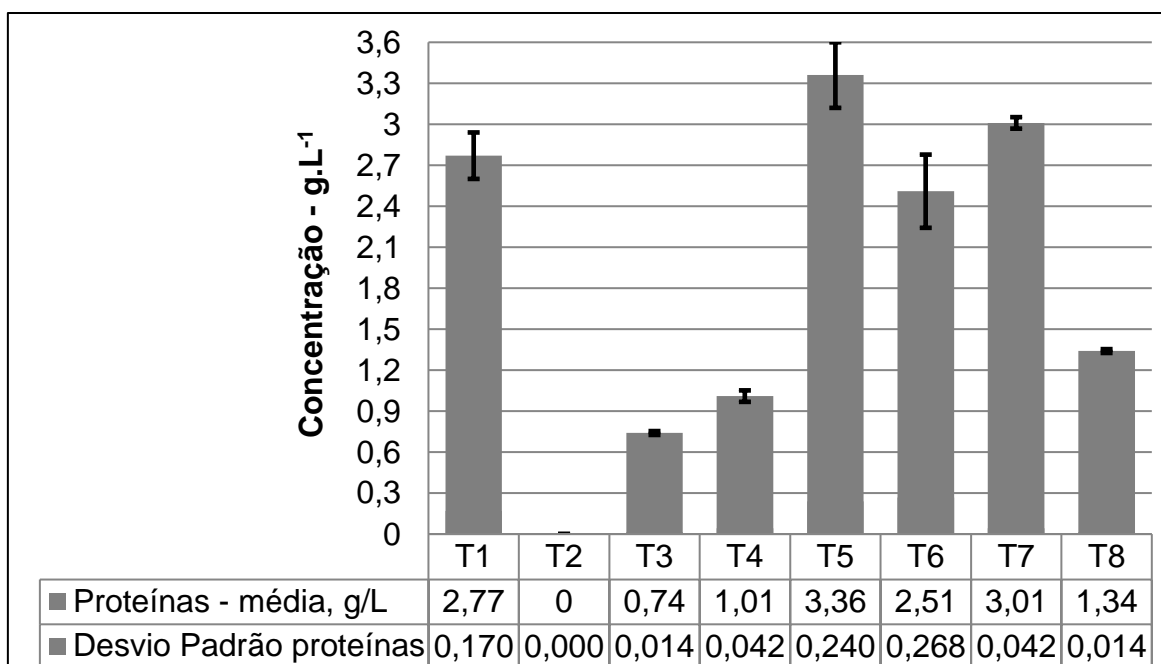


FIGURA 25. Teor de proteínas em solução resultantes dos diferentes processos de hidrólise da biomassa seca de *Spirulina maxima*.

Tipos de hidrolisados: (T1) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* à 25°C sob agitação de 100 rpm durante 24 horas. (T2) 1 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em água por autoclavagem. (T3) 5 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em água por autoclavagem. (T4) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em água por autoclavagem. (T5) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em 1% de ácido sulfúrico por autoclavagem. (T6) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em 3% de ácido sulfúrico por autoclavagem. (T7) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em 5% de ácido sulfúrico por autoclavagem. (T8) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada com solução de álcool 50% por autoclavagem. A autoclavagem ocorreu à 121°C e 1.1 kg.cm<sup>2</sup> durante 15 minutos.

A biomassa de *Spirulina maxima* apresentou um certo teor de proteínas hidrosolúveis, 2,77 g.L<sup>-1</sup>, que foram solubilizadas pelo tratamento sem agressividade química ou física, à temperatura ambiente e sob agitação constante (T1). Porém, ao submeter a biomassa algal a altas temperaturas e pressão elevada (FIGURA 28), ocorre a degradação térmica de proteínas (ZIMMERMAN; WOSTMANN, 1963; COATES, 1984), reduzindo o teor em solução porém aumentando o teor de nitrogênio em forma de íons na solução (FIGURA 26).

Biomoléculas antioxidantes naturais da biomassa algal promovem uma maior estabilidade à oxidação (ex.: tocoferóis), no entanto, estes podem ser perdidos por degradação térmica (RICHMOND, 1990; HENRIKSON, 1995).

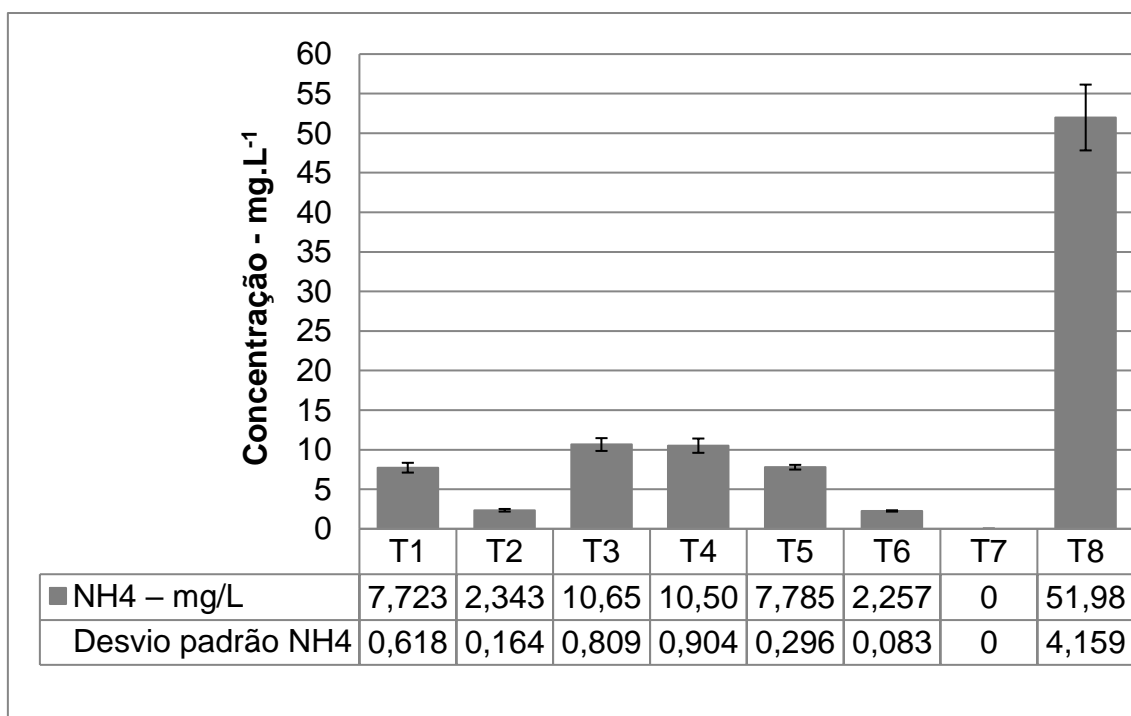


FIGURA 26. Teor de íons de amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) em solução, resultantes dos diferentes processos de hidrólise da biomassa seca de *Spirulina maxima*.

Tipos de hidrolisados: (T1) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* à 25°C sob agitação de 100 rpm durante 24 horas. (T2) 1 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em água por autoclavagem. (T3) 5 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em água por autoclavagem. (T4) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em água por autoclavagem. (T5) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em 1% de ácido sulfúrico por autoclavagem. (T6) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em 3% de ácido sulfúrico por autoclavagem. (T7) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em 5% de ácido sulfúrico por autoclavagem. (T8) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada com solução de álcool 50% por autoclavagem. A autoclavagem ocorreu à 121°C e 1.1 kg.cm<sup>2</sup> durante 15 minutos.

O íon amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) em solução é proveniente da hidrólise de biomoléculas que constituem a biomassa de *S. maxima* como proteínas e aminoácidos. A hidrólise aquosa foi capaz de solubilizar mais íons amônio, comparado com o T1 que possuem a mesma concentração de biomassa.

O tratamento hidroalcoólico T8 apresentou o maior teor de íons de amônio solubilizados. Uma das principais fontes de nitrogênio para as plantas é a amônia. A amônia aplicada via foliar apresenta uma grande velocidade de absorção e pode ser usada para suprir as necessidades de nitrogênio do cultivo (BRITTO & KRONZUCKER, 2002). Entretanto, há limite da quantidade de amônia usada para a aplicação foliar, o excesso causa toxidez.

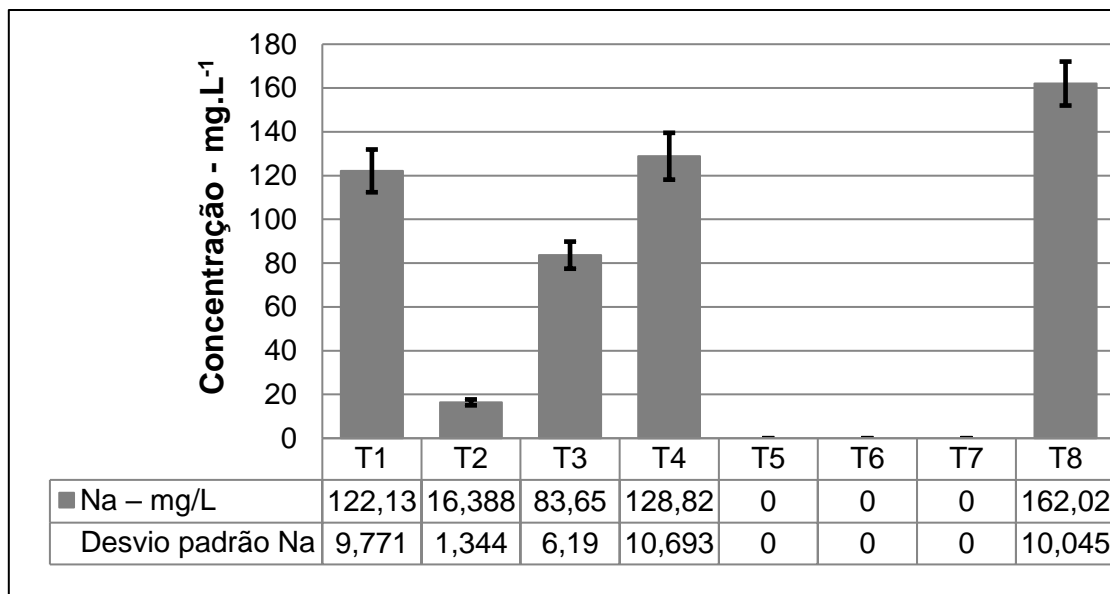


FIGURA 27. Teor de íons de sódio ( $\text{Na}^+$ ) solubilizado nos diferentes processos de hidrólise da biomassa seca de *Spirulina maxima*.

Tipos de hidrolisados: (T1) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* à 25°C sob agitação de 100 rpm durante 24 horas. (T2) 1 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em água por autoclavagem. (T3) 5 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em água por autoclavagem. (T4) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em água por autoclavagem. (T5) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em 1% de ácido sulfúrico por autoclavagem. (T6) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em 3% de ácido sulfúrico por autoclavagem. (T7) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em 5% de ácido sulfúrico por autoclavagem. (T8) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada com solução de álcool 50% por autoclavagem. A autoclavagem ocorreu à 121°C e 1.1 kg.cm<sup>2</sup> durante 15 minutos.

Os tratamentos T1 (biomassa solubilizada à temperatura ambiente) e T4 (10g.L<sup>-1</sup>, hidrólise aquosa em autoclave), apresentaram índices de sódio solubilizado equivalentes (FIGURA 27). Observa-se um aumento no teor de sódio ao aumentar a quantidade de biomassa disponível no tratamento (T2, T3 e T4). Já nos tratamentos ácidos não foi observado teores de sódio livres na solução devido ao processo de neutralização dos tratamentos ácidos com hidróxido de sódio, formando o sal sulfato de sódio precipitado na forma de cristais após refrigeração da solução neutra. O tratamento T8 (com etanol 50%) solubilizou a maior quantidade de íons de sódio.

Estudos têm demonstrado que o aumento do teor de sódio diminui os teores de cálcio na parte aérea das plantas de milho (ALBERICO; CRAMER, 1991; CRAMER *et al.*, 1994; AZEVEDO NETO; TABOSA, 2000). Estes autores reportaram que o aumento do teor de sódio do meio externo ocasiona a diminuição dos teores de cálcio nos tecidos das plantas de milho, pois o sódio desloca o cálcio do plasmalema das células radiciais, o que resulta em uma

perda da integridade da membrana e efluxo citossólico de solutos orgânicos e inorgânicos (CRAMER *et al.*, 1994).

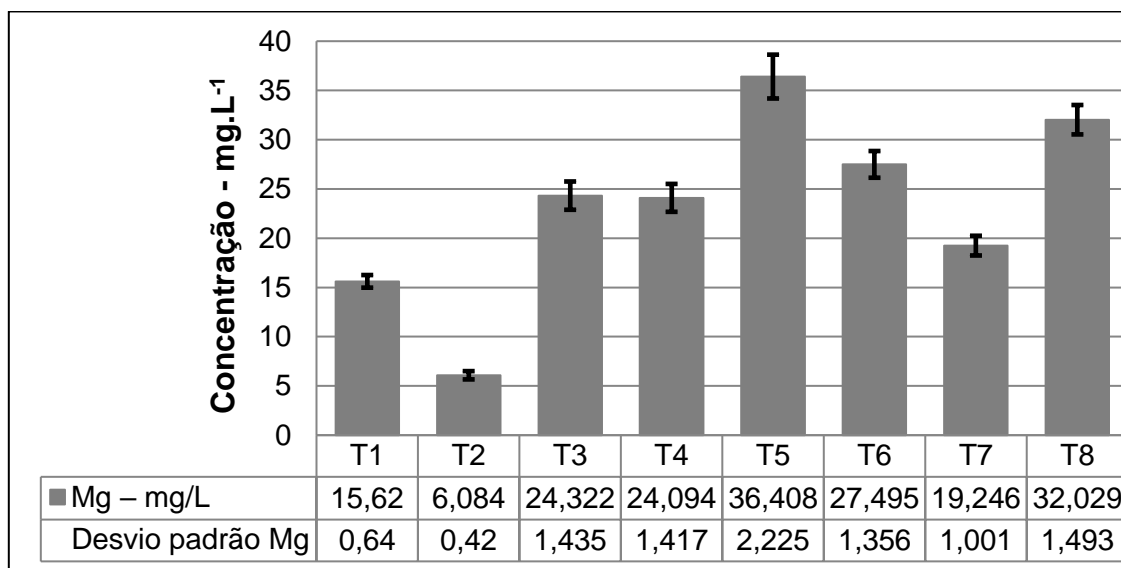


FIGURA 28. Teor de íons de magnésio  $Mg^{2+}$  solubilizado resultante dos diferentes processos de hidrólise da biomassa seca de *Spirulina maxima*.

Tipos de hidrolisados: (T1) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* à 25°C sob agitação de 100 rpm durante 24 horas. (T2) 1 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em água por autoclavagem. (T3) 5 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em água por autoclavagem. (T4) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em água por autoclavagem. (T5) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em 1% de ácido sulfúrico por autoclavagem. (T6) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em 3% de ácido sulfúrico por autoclavagem. (T7) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em 5% de ácido sulfúrico por autoclavagem. (T8) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada com solução de álcool 50% por autoclavagem. A autoclavagem ocorreu à 121°C e 1.1 kg.cm<sup>2</sup> durante 15 minutos.

A partir dos resultados da FIGURA 28 pode-se inferir que a hidrólise ácida 1% obteve maiores índices de íons magnésio livres solubilizados e o aumento da concentração de ácido causou efeito negativo na solubilização do íon. Não houve diferença significativa entre os tratamentos T3 e T4. Já o tratamento T8, com etanol 50%, foi melhor comparado ao tratamento ácido T6.

O magnésio e açúcares são comumente utilizados como agentes protetores com o objetivo de reduzir os prejuízos que os nutrientes podem causar às folhas (MCNALL, 1967). Em geral, os sais dos cátions divalentes podem ser aplicados de forma mais concentrada que as dos demais cátions. Os mais tolerados pelas plantas são os alcalinos terrosos como o cálcio, estrôncio, bário e magnésio (ROSOLEM; SACRAMENTO, 2000).

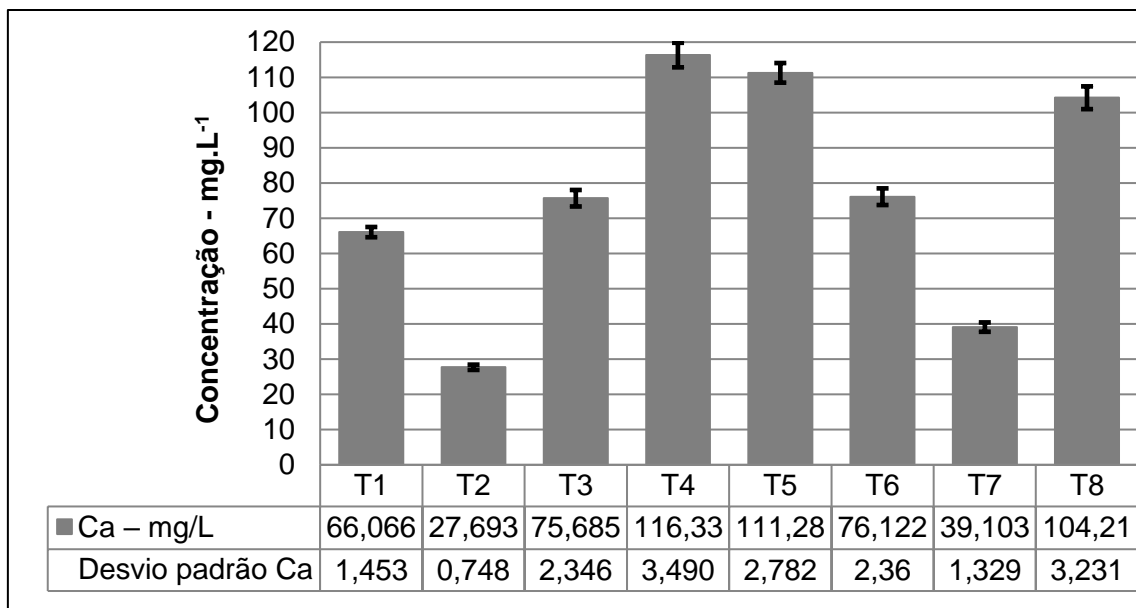


FIGURA 29. Teor de íons de cálcio  $Ca_2^+$  solubilizado resultante dos diferentes processos de hidrólise da biomassa seca de *Spirulina maxima*.

Tipos de hidrolisados: (T1) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* à 25°C sob agitação de 100 rpm durante 24 horas. (T2) 1 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em água por autoclavagem. (T3) 5 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em água por autoclavagem. (T4) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em água por autoclavagem. (T5) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em 1% de ácido sulfúrico por autoclavagem. (T6) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em 3% de ácido sulfúrico por autoclavagem. (T7) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em 5% de ácido sulfúrico por autoclavagem. (T8) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada com solução de álcool 50% por autoclavagem. A autoclavagem ocorreu à 121°C e 1.1 kg.cm<sup>2</sup> durante 15 minutos.

O aumento na concentração de biomassa algal foi proporcional à quantidade de íons de cálcio (FIGURA 29) solubilizados (T2, T3 e T4). Porém, o aumento da concentração de ácido nas hidrólises ácidas (T5, T6 e T7) conferiu uma redução no teor de íons de cálcio disponíveis na solução, sendo inversamente proporcional à concentração de ácido utilizado. Pode-se concluir também que as hidrólises aquosas T3 e T4 assim como as ácidas T5 e T6 foram capazes de solubilizar uma maior quantidade de íons cálcio. O tratamento T8, com etanol 50% foi capaz de solubilizar teores de cálcio próximos ao tratamento ácido 1% (T5).

Trabalhos com plantas sob estresse salino tem demonstrado que a suplementação de cálcio reduz a acumulação de sódio e mantém os níveis de potássio e metabólicos fosfatados nos tecidos radiciais, além de reduzir as perdas de fósforo (COLMER *et al.*, 1994).

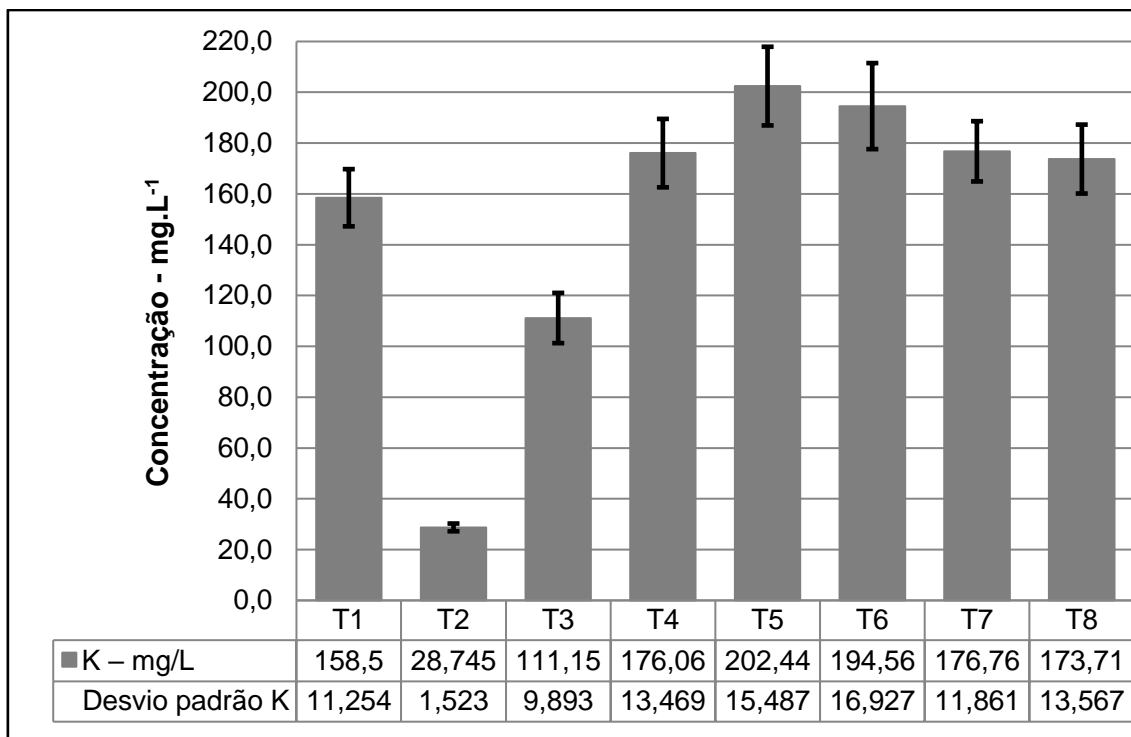


FIGURA 30. Teor de íons de potássio  $K^+$  solubilizado resultante dos diferentes processos de hidrólise da biomassa seca de *Spirulina maxima*.

Tipos de hidrolisados: (T1) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* à 25°C sob agitação de 100 rpm durante 24 horas. (T2) 1 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em água por autoclavagem. (T3) 5 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em água por autoclavagem. (T4) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em água por autoclavagem. (T5) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em 1% de ácido sulfúrico por autoclavagem. (T6) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em 3% de ácido sulfúrico por autoclavagem. (T7) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em 5% de ácido sulfúrico por autoclavagem. (T8) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada com solução de álcool 50% por autoclavagem. A autoclavagem ocorreu à 121°C e 1.1 kg.cm<sup>2</sup> durante 15 minutos.

O teor de potássio solubilizado (FIGURA 30) aumentou proporcionalmente à quantidade de biomassa disponível no tratamento (T2, T3 e T4). Os tratamentos ácidos (T5, T6 e T7) aumentaram o teor de íons em solução, porém o aumento da concentração de ácido resultou em um efeito negativo na solubilização dos íons. Não houve diferença significativa entre as hidrólises aquosa e etanólica (T4 e T8, respectivamente).

Os íons de potássio desempenham um importante papel na regulação do potencial osmótico das células vegetais, além de ativar muitas enzimas envolvidas na respiração e na fotossíntese (TAIZ; ZEIGER, 2004). A salinidade do solo também diminui os teores de potássio na parte aérea das plantas de milho (ALBERICO; CRAMER, 1991; CRAMER *et al.*, 1994; AZEVEDO NETO; TABOSA, 2000). O aumento da concentração de sódio do meio externo também

ocasiona a diminuição dos teores de potássio nos tecidos das plantas e milho, pois o aumento da concentração de sódio no meio radicial pode inibir a absorção de potássio devido a relação competitiva entre estes cátions monovalentes (KAWASAKI *et al.*, 1983). Portanto, é muito desejado a presença do potássio nos hidrolisados com possíveis efeitos benéficos às culturas.

## 4.2 EFEITOS DO HIDROLISADO ALGAL NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES E NO DESENVOLVIMENTO DE PLANTAS DE TRIGO

### 4.2.1 Germinação de sementes de trigo

Os dados coletados nos experimentos de germinação forneceram um panorama geral sobre o efeito da concentração de biomassa no hidrolisado aplicado às sementes (TABELA 28). Os tratamentos T2, T3 e T4 (hidrolisados aquosos) foram testados, nas diferentes diluições apresentadas na TABELA. As sementes começaram a germinar no 3º dia e cessaram no sétimo dia. Percentagem de emergência das sementes (SE%), tempo médio de germinação (AGT) e coeficiente de velocidade de germinação (CVG) foram calculados a partir da coleta diária dos dados.

TABELA 28. Efeitos da biomassa hidrolisada de *S. maxima* sobre a germinação de sementes de trigo em solo. Percentagem de emergência das sementes (SE%), estimativa do dia médio de sementes (AGT dias) e coeficiente de velocidade de germinação de sementes (CGV %).

<b>Biomassa hidrolisada (mg.L<sup>-1</sup>)</b>	<b>SE %</b>	<b>AGT dias</b>	<b>CVG %</b>
<b>0 (controle)</b>	92,9 a <sup>1</sup>	3,2 a	31,6 a
<b>62.5</b>	92,2 a	3,2 a	30,9 a
<b>125</b>	85,2 a	3,3 a	30,3 a
<b>250</b>	88,3 a	3,4 b	29,5 b
<b>500</b>	88,3 a	3,5 b	29,0 b
<b>1000</b>	90,6 a	3,4 b	29,1 b
<b>2500</b>	95,3 a	3,4 b	29,6 b
<b>5000</b>	92,2 a	3,8 c	26,4 c
<b>10000</b>	90,6 a	3,9 c	25,6 c
<b>CV(%)</b>	9,0	4,1	2,4

<sup>1</sup> Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade de erro.

A quantidade de sementes que emergiram, em percentagem de emergência de sementes (SE %), não apresentou diferença significativa entre si pelo teste de Scott-Knott com P-valor menor ou igual a 5% de erro. A percentagem de emergência de sementes não foi inferior a 85% e o coeficiente de variação dos dados (CV %) não excedeu 9% nos hidrolisados.

O tempo médio de germinação (AGT) foi aumentado significativamente ao utilizar maiores concentrações da biomassa no hidrolisado, impactando negativamente no AGT. Até a diluição de 125 mg.L<sup>-1</sup> não houve disparidade com o grupo controle.

O coeficiente de velocidade de germinação de sementes (CVG) máximo obtido foi do grupo controle, porém concentrações de até 125 mg.L<sup>-1</sup> não apresentaram diferença significativa (TABELA 28).

Em geral, observou-se então um efeito negativo no tempo médio e no coeficiente de velocidade de germinação. Porém, a quantidade de sementes emergidas não foi afetada pela aplicação das diferentes diluições. O impacto deste produto, com concentrações acima de 125 mg.L<sup>-1</sup> foi negativo ao retardar a emergência das sementes de trigo. É provável que o excesso de nutrientes tenha influenciado negativamente, considerando que a semente de trigo é sensível a variação de sais durante a germinação.

#### 4.2.2 Sementes de trigo submetidas ao estresse salino

Os dados coletados nos experimentos de estresse salino forneceram um panorama geral sobre o efeito da concentração do sal cloreto de sódio e da ação do hidrolisado aplicado às sementes. As sementes começaram a germinar no 1º dia e cessaram no 4º dia. Percentagem de germinação das sementes (TABELA 29), estimativa do tempo médio de germinação (TABELA 30) e velocidade de germinação (TABELA 31) foram calculados a partir da coleta diária dos dados.

A partir dos resultados sobre o percentual de germinação (TABELA 29), é possível inferir que na ausência do sal cloreto de sódio, os tratamentos 3% e 5% de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> apresentaram certa toxidez relativa aos outros tratamentos, resultando na redução da quantidade de sementes germinadas, provavelmente pela presença de ácido sulfúrico.

O tratamento com hidrólise ácida a 1% conferiu um efeito positivo com significância estatística, sendo superior ao grupo controle e aos demais tratamentos, conferindo um caráter de resistência ao estresse salino às sementes de trigo submetidas a concentração de 25 mM de cloreto de sódio (TABELA 29)

Nos tratamentos com 50mM de concentração salina, os tratamentos não diferiram entre si, entretanto apresentaram resultados negativos comparado ao grupo controle com 0 mM de NaCl. Todavia, a partir dos dados coletados nos tratamentos com 0 mM e 100 mM de sal, pode-se concluir que o tratamento 10 g.L<sup>-1</sup> não diferiu estatisticamente do grupo controle com 0 mM.

Os demais tratamentos, 1%, 3% e 5%, não conferiram proteção às sementes com relação ao estresse salino aplicado. Pode-se afirmar também que, em geral, com o aumento da salinidade, a resposta individual dos tratamentos assim como a percentagem de sementes germinadas reduziu. Quanto maior o teor de ácido nos tratamentos, em geral, menor foi a percentagem de sementes germinadas. É provável que, devido à elevada concentração de ácido sulfúrico aos quais os tratamentos foram submetidos, resultou na formação de subprodutos de hidrólise que são tóxicos, além de que o excesso de nutrientes tenha influenciado negativamente, considerando que a semente de trigo é sensível a variação de sais durante a germinação.

TABELA 29. Efeitos de diferentes hidrolisados de biomassa de *S. maxima* no percentual de germinação de sementes de trigo cv. Supera submetidas a diferentes níveis de salinidade (milimolar) mediada por cloreto de sódio.

NaCl (mM)	Controle	10 g.L <sup>-1</sup>	1%	3%	5%
0	90,0 aA <sup>1</sup>	91,2 aA	91,2 aA	61,2 aB	56,6 bB
25	81,6 aB	78,3 bB	93,3 aA	48,3 bC	56,6 bC
50	86,6 aA	75,0 bB	76,6 bB	70,0 aB	68,3 aB
100	60,0 bA	63,3 cA	51,6 cB	51,6 bB	43,3 cB
CV(%)	12,6				

<sup>1</sup> Médias seguidas por letras minúsculas idênticas não diferem entre si nas colunas e médias seguidas por letras maiúsculas idênticas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade de erro.

O índice de velocidade de germinação de sementes de trigo (TABELA 30) foi afetado negativamente pelos tratamentos ácidos aplicados (3% e 5%), quando comparados ao grupo controle e ao tratamento com 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa. A partir dos resultados apresentados, pode-se concluir que o aumento da salinidade conferiu uma redução no índice de velocidade de germinação. Contudo, o tratamento com 10 g.L<sup>-1</sup> conferiu proteção às sementes em mesmo nível de significância estatística que o grupo controle, nas concentrações de 25mM e 100mM de sal aplicadas.

TABELA 30. Efeitos de diferentes hidrolisados de biomassa de *S. maxima* no índice de velocidade de germinação de sementes de trigo cv. Supera submetidas a diferentes níveis de salinidade (milimolar) mediada por cloreto de sódio.

NaCl (mM)	Controle	10 g.L <sup>-1</sup>	1%	3%	5%
0	68,1 aA <sup>1</sup>	60,5 bB	58,0 aB	48,7 aC	47,5 aC
25	71,9 aA	68,2 aA	53,0 bB	41,7 bC	46,7 aC
50	66,0 aA	55,6 cB	49,7 bC	43,2 bD	43,2 aD
100	47,6 bA	49,0 dA	41,6 cB	38,2 bB	36,2 bB
CV(%)	8,3				

<sup>1</sup> Médias seguidas por letras minúsculas idênticas não diferem entre si nas colunas e médias seguidas por letras maiúsculas idênticas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade de erro.

Analisando os resultados obtidos no experimento de estimativa do dia médio de germinação de sementes de trigo sob estresse salino, pode-se concluir que o aumento da concentração salina resultou no aumento do número de dias médio para germinação a partir de 100 mM (TABELA 31).

Porém, os hidrolisados ácidos conferiram certa toxidez às sementes de trigo, reforçando a hipótese levantada inicialmente sobre a toxidez de subprodutos de hidrólise ácida e o efeito negativo do excesso de nutrientes em solução na germinação de sementes de trigo.

TABELA 31. Efeitos de diferentes hidrolisados de biomassa de *S. maxima* na estimativa do dia médio de germinação de sementes de trigo cv. Supera submetidas a diferentes níveis de salinidade mediada por cloreto de sódio.

NaCl (mM)	Controle	10 g.L <sup>-1</sup>	1%	3%	5%
0	1,6 aA <sup>1</sup>	1,7 aA	1,7 aA	2,1 aB	2,1 aB
25	1,4 aA	1,5 aA	1,8 aB	2,5 bD	2,1 aC

TABELA 32. Efeitos de diferentes hidrolisados de biomassa de *S. maxima* na estimativa do dia médio de germinação de sementes de trigo cv. Supera submetidas a diferentes níveis de salinidade mediada por cloreto de sódio.

<b>50</b>	1,5 aA	1,8 bB	2,0 aC	2,3 aD	conclusão 2,3 aD
<b>100</b>	2,1 bA	2,0 bA	2,4 bB	2,7 bC	2,8 bC
<b>CV(%)</b>	9,5				

<sup>1</sup> Médias seguidas por letras minúsculas idênticas não diferem entre si nas colunas e médias seguidas por letras maiúsculas idênticas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade de erro.

#### 4.2.3 Aplicação foliar em plantas de trigo

Não houve diferenças estatísticas para a altura da parte aérea, comprimento das espigas, número de grãos por espiga, peso seco da parte aérea da planta sem grãos, peso de mil grãos, produção de grãos por planta (rendimento) e o índice de colheita (%). É possível que seja influência da alta densidade de plantas no mesmo saco de cultivo (12,5 litros), resultando na concorrência entre as plantas de trigo. No geral, este tipo de experimento é conduzido diretamente no solo, por isso carecem estudos informando qual o volume mínimo para o cultivo do trigo em sacos ou vasos. Porém, houve diferenças estatísticas para as variáveis números de perfilhos e espiguetas por planta, além do peso do hectolitro.

O número de perfilhos, assim como o número de espiguetas por planta, aumentou nos tratamentos com 5 e 10 g.L<sup>-1</sup> do hidrolisado (T3 e T4). A indução de perfilhos em cereais de inverno é influenciada por muitos fatores, tais como densidade das plantas e condições ambientais (EVERS *et al.*, 2006; ALMEIDA; MUNDSTOCK, 2001). Os perfilhos são estruturas utilizadas pelas plantas da família *Poacea* como estratégia para compensação de espaços vazios dentro da comunidade. Nas espécies onde o perfilhamento é comum, tais como o trigo e o arroz, os perfilhos são considerados estruturas benéficas, aumentando o número de inflorescência por área e contribuindo para o incremento do rendimento de grãos (ALMEIDA *et al.*, 1998). Contudo, os resultados obtidos nesse trabalho sugerem que a possível causa do aumento do perfilhamento possa ser devido ao aumento de nutrientes presente nos hidrolisados ou a uma suposta biomolécula indutora do perfilhamento.

A adubação foliar de micronutrientes na cultura do trigo, quando aplicada em diferentes etapas do crescimento vegetal, não apresenta resultados positivos referentes ao conteúdo de nitrogênio do grão e na produção do trigo nos cultivos brasileiros, como relatado por diversos pesquisadores (SIQUEIRA *et al.*, 1977, GALIANO *et al.*, 1955; RAMOS, M., 1971).

Apesar de não ser estatisticamente significativo, o melhor resultado para o peso do hectolitro foi promovido pelo tratamento 5 g.L<sup>-1</sup>, resultando em 66 kg (TABELA 33). O peso hectolitro, massa de 100 litros expressa em quilogramas, é utilizado como medida tradicional de comercialização do trigo em vários países, e expressa indiretamente a qualidade de grãos (COSTA *et al.*, 2008) e em especial dos relacionados com a moagem. O rendimento será mais elevado quanto maior for o peso do hectolitro da amostra (ORMOND *et al.*, 2013).

TABELA 33. Altura da parte aérea (H cm), números de perfilhos (NT) e espiguetas (NS) por planta, comprimento das espigas (SL cm), número de grãos por espiga (GS), peso do hectolitro (HW kg), peso seco da parte aérea da planta sem grãos (DW g), peso de mil grãos (G g), produção de grãos por planta (GP mg) e o índice de colheita (HI %).

<b>Biomassa (g.L<sup>-1</sup>)</b>	<b>H cm</b>	<b>NT</b>	<b>NS</b>	<b>SL cm</b>	<b>GS</b>
<b>0</b>	45,0 a	2,4 b	2,4 b	4,4 a	50,3 a
<b>1</b>	47,4 a	2,4 b	2,4 b	4,5 a	53,0 a
<b>5</b>	45,8 a	2,7 a	2,7 a	4,3 a	44,8 a
<b>10</b>	46,8 a	2,8 a	2,8 a	4,4 a	49,6 a
<b>CV(%)</b>	3,5	1,9	1,9	5,9	6,8
<b>Biomassa (g.L<sup>-1</sup>)</b>	<b>HW kg</b>	<b>DW g</b>	<b>G g</b>	<b>GP mg</b>	<b>HI %</b>
<b>0</b>	62,4 ab	2,7 a	32,6 a	784,1 a	49,4 a
<b>1</b>	60,5 ab	3,0 a	33,1 a	851,0 a	49,9 a
<b>5</b>	66,0 a	2,8 a	29,5 a	722,5 a	47,3 a
<b>10</b>	54,0 b	3,2 a	29,5 a	822,1 a	47,1 a
<b>CV(%)</b>	8,5	13,3	5,0	14,6	3,5

<sup>1</sup> Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade de erro.

### 4.3 EFEITOS DO HIDROLISADO ALGAL NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES E NO DESENVOLVIMENTO DE PLANTAS DE MILHO

#### 4.3.1 Germinação de sementes de milho

No experimento com sementes de milho, foram testados oito hidrolisados de *S. maxima*. Os resultados das variáveis percentagem de emergência das sementes (SE%), estimativa do dia médio de sementes (AGT dias) e coeficiente de velocidade de germinação de sementes (CGV %) estão apresentados nas TABELAS a seguir. No tratamento T1 (solubilização à temperatura ambiente, com 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa hidrolisada) aplicado às sementes de milho (TABELA 34), não foi observado efeito significativo na germinação das sementes. As sementes começaram a germinar no 1º dia e cessaram no sexto.

TABELA 34. Efeitos do T1 (10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* à 25°C sob agitação de 100 rpm durante 24 horas) sobre a germinação de sementes de milho em solo. Percentagem de emergência das sementes (SE%), estimativa do dia médio de sementes (AGT dias) e coeficiente de velocidade de germinação de sementes (CGV %).

<b>Biomassa hidrolisada %</b>	<b>SE %</b>	<b>AGT dias</b>	<b>CGV %</b>
<b>0 (controle)</b>	73,4 a	2,6 a	40,7 a
<b>6.25</b>	68,7 a	1,7 a	56,1 a
<b>12.5</b>	76,6 a	1,9 a	53,0 a
<b>25</b>	75,0 a	2,4 a	49,0 a
<b>50</b>	70,3 a	2,2 a	45,0 a
<b>100</b>	67,2 a	2,1 a	48,7 a
<b>CV(%)</b>	16,8	20,3	13,2

<sup>1</sup> Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade de erro.

Na diluição 6,25% do T1, houve uma redução não significativa na percentagem de sementes emergidas. Porém o tempo médio e o coeficiente de velocidade de germinação tiveram efeitos não significantes.

No tratamento T2 (com 1 g.L<sup>-1</sup> de biomassa hidrolisada) aplicado às sementes de milho (TABELA 35), não houve significância estatística para nenhuma das variáveis respostas. As sementes começaram a germinar no 1º dia e cessaram no sexto.

TABELA 35. Efeitos do T2 (1 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em água por autoclavagem) sobre a germinação de sementes de milho em solo. Percentagem de emergência das sementes (SE%), estimativa do dia médio de sementes (AGT dias) e coeficiente de velocidade de germinação de sementes (CGV %).

<b>Biomassa hidrolisada %</b>	<b>SE %</b>	<b>AGT dias</b>	<b>CVG %</b>
<b>0 (controle)</b>	90,6 a	2,5 a	39,7 a
<b>6.25</b>	92,2 a	2,9 a	35,2 a
<b>12.5</b>	85,9 a	2,3 a	43,3 a
<b>25</b>	78,1 a	2,1 a	47,5 a
<b>50</b>	87,5 a	2,5 a	41,3 a
<b>100</b>	89,1 a	2,4 a	41,3 a
<b>CV(%)</b>	12,3	13,9	7,3

<sup>1</sup> Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade de erro.

No tratamento T3 (com 5 g.L<sup>-1</sup> de biomassa hidrolisada) aplicado às sementes de milho (TABELA 36), a quantidade de sementes germinadas não diferiu significativamente entre si, porém o tratamento com 50% da biomassa hidrolisada apresentou uma redução significativa para o número médio de sementes, resultando em 0,4 dias a menos que o controle. Houve um aumento significativo de 8,6% com relação ao grupo controle na velocidade de germinação de sementes.

TABELA 36. Efeitos do T3 (5 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em água por autoclavagem) sobre a germinação de sementes de milho em solo. Percentagem de emergência das sementes (SE%), estimativa do dia médio de sementes (AGT dias) e coeficiente de velocidade de germinação de sementes (CGV %).

<b>Biomassa hidrolisada %</b>	<b>SE %</b>	<b>AGT dias</b>	<b>CVG %</b>
<b>0 (controle)</b>	90,6 a <sup>1</sup>	2,5 b	39,7 b
<b>6.25</b>	85,9 a	2,6 b	39,1 b
<b>12.5</b>	85,9 a	2,4 a	42,5 b
<b>25</b>	85,9 a	2,6 b	38,6 b
<b>50</b>	82,8 a	2,1 a	48,3 a
<b>100</b>	84,4 a	2,7 b	37,6 b
<b>CV(%)</b>	12,8	8,9	5,6

<sup>1</sup> Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade de erro.

No tratamento T4 (com 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa hidrolisada) aplicado às sementes de milho (TABELA 37), a diluição de 6,25% conferiu um efeito positivo com maior significância no coeficiente de velocidade de germinação. Porém, houve redução na percentagem de sementes emergentes, diminuindo em 14% com relação ao tratamento controle.

TABELA 37. Efeitos do T4 (10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em água por autoclavagem) sobre a germinação de sementes de milho em solo. Percentagem de emergência das sementes (SE%), estimativa do dia médio de sementes (AGT dias) e coeficiente de velocidade de germinação de sementes (CGV %).

<b>Biomassa hidrolisada %</b>	<b>SE %</b>	<b>AGT dias</b>	<b>CVG %</b>
<b>0 (controle)</b>	90,6 a <sup>1</sup>	2,5 a	39,7 b
<b>6.25</b>	76,6 b	2,3 a	43,1 a
<b>12.5</b>	95,3 a	2,9 a	33,8 c
<b>25</b>	87,5 a	2,7 a	38,3 b
<b>50</b>	87,5 a	2,8 a	36,6 c
<b>100</b>	95,3 a	2,9 a	34,8 c
<b>CV(%)</b>	9,6	11,6	6,4

<sup>1</sup> Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade de erro.

Normalmente sementes com elevado teor nutricional são infestadas por microrganismos durante a germinação, o que influencia na velocidade de germinação. É provável que a biomassa de *S. maxima* possua alguns compostos com atividade antimicrobiana e/ou antioxidante que possam ter promovido a aceleração da germinação de sementes de milho no tratamento 6,25%, inibindo o desenvolvimento de microrganismos (TABELA 37). Resultados semelhantes, foram observados na germinação de sementes de arroz cv. EM10, em que essas sementes foram tratadas após 40 horas com uma solução feita de um liofilizado de biomassa de cebola vermelha, as sementes tratadas apresentaram uma aceleração de 2,3 vezes mais do que no tratamento controle; esse resultado foi atribuído a atividade antimicrobiana e/ou antioxidante da cebola (NAKAMURA & OHTSUBO, 2011).

Dentre as fontes naturais que vêm sendo citadas pelo efeito funcional, associadas à capacidade de prevenir processos oxidativos, encontra-se

a *Spirulina spp*, cujas condições de cultivo afetam positivamente os teores de compostos fenólicos presentes na microalga (COLLA, FURLONG e COSTA).

Atualmente têm se dado grande atenção as suas propriedades antioxidantes, atribuídas aos compostos fenólicos e a ficocianina (MIRANDA *et al*, 1998; BELAY, 2002; TORRES-DURAN *et al.*, 2007). Os compostos fenólicos existentes na *Spirulina spp*. são ácidos orgânicos como os ácidos caféico, clorogênico, salicílico, sináptico e trans-cinâmico, os quais agem individualmente ou sinergicamente como compostos antioxidantes em sistemas *in vivo* e *in vitro* (AMBROSI, *et al.*, 2008). As propriedades biológicas dos compostos fenólicos estão em geral relacionadas com a atividade antioxidante que cada composto exerce sobre determinado meio (MEDINA, 2009).

No tratamento T5 (com ácido H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1%, 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa hidrolisada) aplicado às sementes de milho (TABELA 38), a diluição de 6,25% promoveu uma redução significativa no tempo médio de germinação e por consequência, um aumento no coeficiente de velocidade de germinação. Esse tratamento reduziu o tempo médio de germinação em 0,7 dias e aumentou 17,3% a velocidade de germinação de sementes (TABELA 38). Várias hipóteses podem ser consideradas para explicar esse resultado, no parágrafo anterior foi levantado a possível presença de compostos antimicrobianos e antioxidantes. Mas também existe a possibilidade da existência de compostos que promovam a biossíntese do etileno ou que possam inibir poliaminas, que ao serem inibidas permitem a produção do etileno. Um exemplo que suporta essa hipótese foi relatada em sementes de grão-de-bico, *Cicer arietinum*, em que a aplicação da ciclohexilamina inibiu a síntese de poliaminas, e conseqüentemente acelerou a germinação das sementes pela produção do etileno (GALLARDO *et al.*, 1994).

TABELA 38. Efeitos do T5 (10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em 1% de ácido sulfúrico por autoclavagem) sobre a germinação de sementes de milho em solo. Percentagem de emergência das sementes (SE%), estimativa do dia médio de sementes (AGT dias) e coeficiente de velocidade de germinação de sementes (CGV %).

Biomassa hidrolisada %	SE %	AGT dias	CVG %
<b>0 (controle)</b>	90,6 a <sup>1</sup>	2,5 d	39,7 d
<b>6.25</b>	90,6 a	1,8 a	57,0 a
<b>12.5</b>	98,4 a	2,0 b	49,7 b
<b>25</b>	90,6 a	2,2 c	45,9 c

continua

TABELA 30. Efeitos do T5 (10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em 1% de ácido sulfúrico por autoclavagem) sobre a germinação de sementes de milho em solo. Percentagem de emergência das sementes (SE%), estimativa do dia médio de sementes (AGT dias) e coeficiente de velocidade de germinação de sementes (CGV %).

			conclusão
<b>50</b>	92,2 a	2,3 c	44,2 c
<b>100</b>	92,2 a	2,2 c	44,7 c
<b>CV(%)</b>	13,5	4,9	3,2

<sup>1</sup> Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade de erro.

No tratamento T6 (com ácido H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 3%, 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa hidrolisada) aplicado às sementes de milho (TABELA 39), a diluição de 12,5% apresentou o melhor resultado para a redução do tempo médio de germinação, reduzindo 0,5 dias e aumento de 10% na velocidade de germinação das sementes. O uso desse hidrolisado favoreceu uma redução do tempo médio de germinação e aumento na velocidade de germinação em todos os tratamentos, sugerindo uma maior liberação dos compostos que promovem essa atividade.

TABELA 39. Efeitos do T6 (10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em 3% de ácido sulfúrico por autoclavagem) sobre a germinação de sementes de milho em solo. Percentagem de emergência das sementes (SE%), estimativa do dia médio de sementes (AGT dias) e coeficiente de velocidade de germinação de sementes (CGV %).

<b>Biomassa hidrolisada %</b>	<b>SE %</b>	<b>AGT dias</b>	<b>CVG %</b>
<b>0 (controle)</b>	90,6 a <sup>1</sup>	2,5 b	39,7 c
<b>6.25</b>	90,6 a	2,1 a	46,7 b
<b>12.5</b>	98,4 a	2,0 a	49,7 a
<b>25</b>	90,6 a	2,2 a	45,9 b
<b>50</b>	92,2 a	2,3 a	44,2 b
<b>100</b>	92,2 a	2,2 a	44,7 b
<b>CV(%)</b>	13,3	5,3	3,4

<sup>1</sup> Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade de erro.

No tratamento T7 (com ácido H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 5%, 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa hidrolisada) aplicado às sementes de milho (TABELA 40), a diluição de 12,5% apresentou o melhor resultado para o tempo médio de germinação, resultando numa redução de 0,7 dias e a diluição de 25% promoveu um aumento significativo de 10,9% na velocidade de germinação de sementes. Valores superiores às diluições de 12,5 e 25% influenciaram negativamente para o tempo médio de germinação e

velocidade de germinação de sementes, respectivamente. Uma outra hipótese que pode ser considerada para explicar a aceleração da germinação com esses hidrolisados feitos com o uso do ácido sulfúrico, é que a presença do próprio ácido sulfúrico que poderia promover a escarificação do tegumento, facilitando a germinação. Além disso, outra possibilidade é que o ácido sulfúrico possa ter aumentado a permeabilização do tegumento das sementes, favorecendo a maior absorção de água e induzindo a aceleração das sementes. Porém, maiores investigações devem ser conduzidas para elucidar a causa da aceleração da germinação de sementes usando a biomassa hidrolisada de *S. maxima*, entretanto é possível que várias causas estejam associadas.

TABELA 40. Efeitos do T7 (10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em 5% de ácido sulfúrico por autoclavagem) sobre a germinação de sementes de milho em solo. Percentagem de emergência das sementes (SE%), estimativa do dia médio de sementes (AGT dias) e coeficiente de velocidade de germinação de sementes (CGV %).

<b>Biomassa hidrolisada %</b>	<b>SE %</b>	<b>AGT dias</b>	<b>CGV %</b>
<b>0 (controle)</b>	73,4 a <sup>1</sup>	2,6 d	40,7 c
<b>6.25</b>	56,2 a	2,1 b	48,0 b
<b>12.5</b>	71,9 a	1,9 a	49,6 b
<b>25</b>	68,7 a	2,4 c	51,6 a
<b>50</b>	79,7 a	2,1 b	49,6 b
<b>100</b>	59,4 a	3,6 e	27,9 d
<b>CV(%)</b>	13,3	5,3	3,4

<sup>1</sup> Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade de erro.

No tratamento T8 (com etanol 50%, 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa hidrolisada) aplicado às sementes de milho (TABELA 41), houve diferenças significativas na percentagem de emergência de sementes, demonstrando um efeito tóxico do etanol na viabilidade das sementes. A partir da diluição de 25% houve um decréscimo de aproximadamente 20% e a partir da diluição de 50% houve inibição da germinação das sementes.

Entretanto, foi observado um efeito semelhante à alguns hidrolisados deste estudo, T3, T4, T5, T6 e T7 na aceleração da germinação das sementes. Como esse hidrolisado não possui ácido sulfúrico, é possível descartar o possível efeito deste na aceleração da germinação das sementes.

O tratamento com melhores resultados foi obtido aplicando ao T8 a diluição de 6,25%, no qual houve uma redução no tempo médio de germinação de 1 dia e um aumento na velocidade de germinação de 24,6%. O etanol é um excelente solvente para extração de compostos fenólicos que possuem atividade antimicrobiana e antioxidante, o que reforça a hipótese levantada inicialmente sobre uma possível influência desses compostos para esse efeito.

TABELA 41. Efeitos do T8 (10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada com solução de álcool 50% por autoclavagem) sobre a germinação de sementes de milho em solo. Percentagem de emergência das sementes (SE%), estimativa do dia médio de sementes (AGT dias) e coeficiente de velocidade de germinação de sementes (CGV %).

<b>Biomassa hidrolisada %</b>	<b>SE %</b>	<b>AGT dias</b>	<b>CVG %</b>
<b>0 (controle)</b>	73,4 a <sup>1</sup>	2,6 b	40,7 b
<b>6.25</b>	78,1 a	1,6 a	65,3 a
<b>12.5</b>	76,6 a	1,9 a	55,9 a
<b>25</b>	53,1 b	2,0 a	52,5 a
<b>50</b>	0,00 c	0,00 c	0,00 c
<b>100</b>	0,00 c	0,00 c	0,00 c
<b>CV(%)</b>	14,8	33,5	24,1

<sup>1</sup> Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade de erro.

#### 4.3.2 Aplicação foliar em plantas de milho

Nos experimentos com plantas de milho, variedade Azteca, foram testados oito hidrolisados de *S. maxima*. Os resultados das variáveis altura da planta (AP cm), altura da inserção da primeira espiga (AE cm), número de grãos por espiga (GE), massa seca da planta sem grãos (MS g), massa de 1.000 grãos (M1000 g), produtividade dos grãos (P g planta<sup>-1</sup>), número de espigas por planta (EP) e índice de colheita (IC %) estão apresentados na TABELA 42 a seguir.

TABELA 42. Altura da planta (AP cm), altura da inserção da primeira espiga (AE cm), número de grãos por espiga (GE), massa seca da planta sem grãos (MS g), massa de 1.000 grãos (M1000 g), produtividade dos grãos (P g planta<sup>-1</sup>), número de espigas por planta (EP) e índice de colheita (IC %) do milho variedade Azteca, submetido a diferentes hidrolisados de biomassa de *S. maxima* via aplicação foliar, na safra 2015, em Curitiba, PR.

Tratamentos <sup>1</sup>	AP cm	AE cm	GE	MS g
<b>Controle</b>	81,5 b <sup>2</sup>	23,5 b	92,7 b	41,0 c
<b>T2</b>	102,5 a	31,45 a	181,1 a	62,41 a
<b>T3</b>	112,1 a	34,4 a	215,1 a	63,42 a
<b>T4</b>	105,7 a	33,4 a	157,2 a	47,00 b
<b>T5</b>	103,1 a	30,4 a	144,4 a	49,84 b
<b>T6</b>	98,75 a	29,8 a	129,9 a	48,92 b
<b>T7</b>	92,85 b	27,2 b	134,6 a	40,95 c
<b>T8</b>	90,5 b	27,8 b	161,0 a	52,15 b
<b>T1</b>	85,9 b	24,8 b	69,2 b	38,78 c
<b>CV(%)</b>	9,2	11,6	32,2	14,7
Tratamentos	M1000 g	P g.planta <sup>-1</sup>	EP	IC %
<b>Controle</b>	14,96 a	12,8 b	1,0 a	31,4 b
<b>T2</b>	13,35 a	23,9 a	1,0 a	38,0 a
<b>T3</b>	12,82 a	26,6 a	1,0 a	41,7 a
<b>T4</b>	14,22 a	19,5 a	1,0 a	40,4 a
<b>T5</b>	12,59 a	17,7 a	1,0 a	35,4 a
<b>T6</b>	14,43 a	18,2 a	1,0 a	37,1 a
<b>T7</b>	14,96 a	18,4 a	1,0 a	45,5 a
<b>T8</b>	12,94 a	20,8 a	1,0 a	39,2 a
<b>T1</b>	15,05 a	9,0 b	1,0 a	22,6 b
<b>CV(%)</b>	27,0	29,8	0,0	22,9

<sup>1</sup> Tipos de hidrolisados: (T2) 1 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em água por autoclavagem. (T3) 5 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em água por autoclavagem. (T4) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em água por autoclavagem. (T5) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em 1% de ácido sulfúrico por autoclavagem. (T6) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em 3% de ácido sulfúrico por autoclavagem. (T7) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada em 5% de ácido sulfúrico por autoclavagem. (T8) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* hidrolisada com solução de álcool 50% por autoclavagem. (T1) 10 g.L<sup>-1</sup> de biomassa seca de *S. maxima* à 25°C sob agitação de 100 rpm durante 24 horas. A autoclavagem ocorreu à 121°C e 1.1 kg.cm<sup>2</sup> durante 15 minutos.

<sup>2</sup> Tratamentos seguidos com a mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade de erro.

Os produtos de hidrólise aplicados nas plantas de milho apresentaram resultados positivos, aumentando significativamente o crescimento das plantas, com exceção dos hidrolisados com 5% de ácido (T7), com etanol (T8) e o extrato aquoso à frio (T1) onde não houve disparidade com o grupo controle. Dentre os resultados positivos, o hidrolisado contendo 5 g.L<sup>-1</sup> (T3) da biomassa microalgal atingiu o maior porte, com 112,1 centímetros (cm). É possível que esta concentração de biomassa seja capaz de fornecer níveis de nutrientes e substâncias bioestimulantes que não causem toxidez e inibição pelo excesso destes na aplicação foliar.

A maior altura de inserção da primeira espiga foi obtida com o hidrolisado contendo 5 g.L<sup>-1</sup> (T3) apresentado melhores resultados, entretanto não diferiu dos tratamentos T2, T4, T5 e T6. Os grupos controle, T1, T7 e T8 diferiram entre si.

A produção de grãos por espiga foi influenciada positivamente pela aplicação dos hidrolisados. A maior média de grãos por espiga, 215,1 grãos por planta, foi obtida nas plantas que receberam o hidrolisado contendo 5 g.L<sup>-1</sup> (T3) da biomassa de *S. maxima*, seguido pelo tratamento com 1 g.L<sup>-1</sup> (T2). A partir dos resultados pode-se observar o efeito positivo de todos tratamentos com hidrólise à quente, em mesmo grau de significância estatística. O menor número de grãos produzidos por espiga foi obtido pelo extrato aquoso a frio (T1) da biomassa algal, cujos resultados foram inferiores ao grupo controle, porém, com mesmo grau de significância.

Para os teores de massa seca da planta (MS) observados por ocasião das colheitas, após a análise dos dados constatou-se que os tratamentos com 5 g.L<sup>-1</sup> (T3) e 1 g.L<sup>-1</sup> (T2) foram responsáveis pelo aumento significativo da produção de massa verde das plantas de milho e, por consequência, a massa seca atingiu valores superiores aos demais tratamentos aplicados. Os tratamentos com etanol (T8), com 1% (T5) e 3% (T6) de ácido e com 10 g.L<sup>-1</sup> (T4) de biomassa apresentaram também a capacidade de estimular o aumento da massa verde das plantas, com significância estatística acima dos grupos controle e com hidrolisados à frio (T1) e com 5% de ácido (T7).

Roth *et al.* (1970), trabalhando com híbridos de milho afirmaram que, para a maximização desta produção, deveria haver máximo desenvolvimento de

todas as porções estruturais da planta, sendo a altura fortemente correlacionados com a produção de matéria seca.

Ao analisar os dados da massa de mil grãos não foi observada disparidade dos resultados obtidos entre os tratamentos aplicados com o grupo controle. Porém, os grupos T1 e “controle” apresentaram maiores valores de massa de mil grãos (M1000), fato que pode ser explicado pois o número inferior de grãos produzidos nestes tratamentos propicia o maior enchimento dos grãos na espiga pela incapacidade de formação de novos grãos, o que reduziria significativamente a massa média total dos mil grãos.

A produtividade dos grãos por planta (P), assim como o índice de colheita (IC), também atingiram os melhores resultados com o tratamento contendo 5 g.L<sup>-1</sup> (T3), não havendo disparidade com os demais grupos, exceto os grupos controle e o tratamento com extrato aquoso a frio (TABELA 42)

Apenas uma espiga por planta foi produzida, possivelmente devido ao espaçamento reduzido entre as plantas que propiciou a competição por luz, água e nutrientes. O baixo coeficiente de variação dos dados de altura das plantas indica a ocorrência de competição simétrica, onde crescimento de cada planta está em proporção a seu tamanho (PARK *et al.*, 2001).

Com base nos resultados apresentados na TABELA 42, todos os tratamentos aplicados nas plantas de milho conferiram resultados positivos com significância estatística nas variáveis testadas em geral, com exceção do tratamento com extrato aquoso à frio que na grande maioria dos experimentos foi inferior ou igual ao grupo controle. Contudo, os extratos hidrolisados com água foram responsáveis pelos melhores resultados obtidos. Isso reforça a hipótese inicialmente levantada sobre disponibilidade de nutrientes e compostos bioestimulantes do crescimento vegetal presentes nos extratos de biomassa de *Spirulina maxima* aplicados.

## 5 CONCLUSÕES

Foi possível obter um produto de hidrólise da biomassa seca de *S. maxima* com propriedades bioestimulantes, para o crescimento de plantas e para a germinação de sementes, de trigo e milho.

- O melhor hidrolisado para a germinação de sementes foi o hidrolisado com etanol 50% (T8), o qual favoreceu a maior aceleração da germinação das sementes.

- Os hidrolisados em água com elevada pressão e temperatura (T2, T3 e T4) apresentaram os melhores resultados para aplicação foliar nas plantas.

## 6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Desenvolver formulações de fertilizantes foliares usando a biomassa algal hidrolisada concentrada;
- Fracionar os hidrolisados para avaliação de possíveis biomoléculas com atividade bioestimulante;
- Tratar sementes e plantas via aplicação foliar dos hidrolisados e submete-las a diferentes estresses bióticos e abióticos;
- Adicionar diferentes suplementos, tais como ácido húmico e ferúlico, nas diferentes formulações e avaliar influência na produtividade de grãos.
- Testar condições de cultivo da microalga do gênero *Spirulina* no teor de nutrientes, antioxidantes e verificar seus efeitos em bioensaios com plantas e sementes.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBERICO, G.J.; CRAMER, G.R. Is the salt tolerance of maize related to sodium exclusion I. Preliminary screening of seven cultivars. **Journal Plant Nutrition**. 16: 2289-2303, 1991.

ALCARDE, J.C.; GUIDOLIN, J.A.; LOPES, A.S. **Os adubos e a eficiência das adubações**. São Paulo, Anda, Boletim Técnico 3, p. 35, 1989.

ALMEIDA, M.L. de. **Modificação do afilhamento de trigo e aveia pela qualidade de luz**. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Curso de pós-graduação em Fitotecnia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 121 p. 1998.

ALMEIDA, M.L. de; MUNDSTOCK, C.M. A qualidade da luz afeta o afilhamento em plantas de trigo , quando cultivadas sob competição. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 3, p.401-408, 2001.

AMBROSI, M.A.; REINEHR, C.O.; BERTOLIN, T.E.; COSTA, J.A.V.; COLLA, L.M. Propriedades de saúde de Spirulina spp.ISSN 1808-4532.1. **Ciência Farmacêutica Básica Aplicada**, v. 29, n.2, p. 109-117, 2008.

ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS – AOSA. **Seed vigor testing handbook**. East Lansing, AOSA. p. 88-93, 1983.

ARNON, D.I.; STOUT, P.R. 1939. The essentiality of certain elements in minute quantity for plant with special reference to copper. **Plant Physiology**, 14(2):371-375, 1939.

AZEVEDO NETO, A.D.; TABOSA, J.N. Estresse salino em plântulas de milho: Parte II distribuição dos macronutrientes catiônicos e suas relações com o sódio. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. 4 (2):165-171, 2000.

BECKER, W. Microalgae in human and animal nutrition. In Richmond, A. (ed.), **Handbook of microalgal culture**. p. 312– 351 Blackwell, Oxford, 2004.

BELAY, A. The Potential Application of Spirulina (Arthrospira) as a Nutritional and Therapeutic Supplement in Health Management, **The Journal of the American Nutraceutical Association**, Vol. 5, No. 2, pp.1-24, Jana 27, 2002.

BLUM, A.; SINMENA, B. Wheat seed endosperm utilization under heat stress and its relation to thermotolerance in the autotrophic plant. **Field Crops Research, Amsterdam**, v.37, n.3, p.185 191, 1994.

BORGHT, A.; VAN DER GOESAERT, H.; VERAVERBEKE, W. S.; DELCOUR, J. A. Fractionation of wheat and wheat flour into starch and gluten: overview of the main processes and the factors involved. **Journal of Cereal Science**, v. 41, n. 3, p. 221–237, 2005.

BRANDÃO, R.P. 2007. **Importância dos Aminoácidos na agricultura sustentável**. Informativo Bio Soja, São Joaquim da Barra, inf.5, p.6-8. Disponível em:<<http://www.biosoja.com.br/>> Acesso em: 28 março de 2014.

BRASIL, Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília : SNAD/CLAV 365p, 1992.

BRITTO, DT; KRONZUCKER, HJ. "NH<sub>4</sub><sup>+</sup> toxicity in higher plants: a critical review".*Journal of Plant Physiology* 159 (6): 567–584, 2002.

BUCK, G.B.; KORNDOFER, G.H.; NOLLA, A.; COELHO, L. Potassium silicate as foliar spray and rice blast control. **Journal of Plant Nutrition** 31: 231-237, 2008.

CAÇO, J. **Aminoácidos–nutrientes orgânicos**, 2008. Disponível em: <[http://www.hubel.pt/hubel/Upload/Images/Artigos/HV\\_Aminoácidos](http://www.hubel.pt/hubel/Upload/Images/Artigos/HV_Aminoácidos)>. Acesso em: 25 de fevereiro de 2014.

CAMARGO, P. N. **Princípios de nutrição foliar**. Editora Agronômica Ceres, Piracicaba. p. 9-72, 1970.

CASTRO, P. R. C.; VIEIRA, E. L. **Aplicações de reguladores vegetais na agricultura tropical**. Livraria e Editora Agropecuária, Guaíba: p. 132, 2001.

CASTRO, P.R.C. **Agroquímicos de controle hormonal na agricultura tropical**. Série produtor rural, Piracicaba, n.32, 46p., 2006.

CBPTT - Comissão Brasileira de Pesquisa de Trigo e Triticale, VI Reunião - **Informações Técnicas para Trigo e Triticale – Safra 2013**.

CHANDRA, R.; TAKEUCHI, H.; HASEGAWA, T. Methane production from lignocellulosic agricultural crop wastes: A review in context to second generation of biodiesel production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews** 16, pp. 1462-1476, 2012.

CIFERRI, O. Spirulina, the Edible Microorganism, *Microbiological reviews*. **American Society for Microbiology** Vol.47, No:4, pp. 551-578, 1983.

COATES, M.E. Sterilization of diets. the germ-free animal in biomedical research. In: COATES M. E.; GUSTAFSSON, B. E. (Ed.). **Laboratory animal handbook**, 9. London: Churchill Livingstone, p.85-90, 1984.

COLMER, T.D.; FAN, T.W.M.; HIGASHI, R.M.; LÄUCHLI, A. Interactions of Ca<sup>2+</sup> and NaCl stress on the relations and intracellular pH of Sorghum bicolor root tips: An in vivo <sup>31</sup>P-NMR study. **Journal of Experimental Botany**, 45: 1037-1044, 1994.

COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO – RS/SC. **Manual de adubação e de calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e de Santa**

**Catarina**. 10 ed. Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 400 p., 2004.

CONAB. Acompanhamento da safra brasileira: **Grãos, 12º levantamento, set/2013** – Brasília: Conab, 2013. Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13\\_09\\_10\\_10\\_50\\_55\\_boletim\\_graos\\_2013.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13_09_10_10_50_55_boletim_graos_2013.pdf)> Acesso em 12 de fevereiro de 2014.

CONAB. Companhia Nacional do Abastecimento - V.1 - SAFRA 2013/14 N.12 - **Décimo Segundo Levantamento**, Setembro, 2014.

CORTEZ, A.; WILD-ALTAMIRANO, C. Contributions to the lime treated corn flour technology, In: **Nutritional Improvement of Maize**, Eds. Bressani, R., Braham, J.E. and Behar, INCAP pub. L4 , pp. 99-106, 1972.

COSTA, M. G. Qualidade tecnológica de grãos e farinhas de trigo nacionais e importados. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, v. 28, n. 1, p. 220-225, 2008.

CRAMER, G.R.; ALBERICO, G.J.; SCHMIDT, C. Salt tolerance is not associated with the sodium accumulation of two maize hybrids. **Australian Journal of Plant Physiology**, 21: 675-692, 1994.

CRUZ, J.C.; PEREIRA, F.T.F.; FILHO, I.A.P.; OLIVEIRA, A.C.; MAGALHÃES, P.C. Resposta de cultivares de milho à variação em espaçamento e densidade. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, vol. 6, nº 01, 2007.

DAN, E.L.; MELLO, V.D.C.; WETZEL, C.T.; POPINIGIS, F.; ZONTA, E.P. Transferência de matéria seca como modo de avaliação do vigor de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 9, n.3, p. 45-55, 1987.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. **Núcleo Tecnológico para Informática. SOC–Software Científico**. Campinas, 1990.

EMBRAPA SOJA; EMBRAPA CERRADOS; EMBRAPA AGROPECUÁRIA OESTE. Correção e Manutenção da Fertilidade do Solo. In: **Tecnologias de produção de soja – região central do Brasil 2009 e 2010**. Londrina: Sistemas de Produção/Embrapa Soja. n. 13. p. 65-90. 2008.

EVERS, J.B.; VOS, J.; ANDRIEU, B.; STRUICK, P.C. Cessations of Tillering in Spring Wheat in Relations to Light Interception and Red: Far-red Ratio. **Annals of Botany**, v. 97, p. 649-658, 2006.

FAGERIA, N.K. **Adubação e nutrição mineral da cultura de arroz**. Rio de Janeiro: EMBRAPA/Campus, 341p, 1984.

FERNANDES, C.G.P. **Formulação de adubo foliar**. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE ADUBAÇÃO FOLIAR, 2, Botucatu, 1987. Anais, Botucatu, Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais,. P.539-547, 1987.

FERNANDES, C.G.P. **Formulação de adubo foliar**. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE ADUBAÇÃO FOLIAR, 2, Botucatu, 1987. Anais, Botucatu, Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais, p.539-547, 1987.

FERRAZ, C. A. M.; AQUARONE, E.; KRAUTER, M. Efeito da luz e do pH no crescimento de *Spirulina máxima*. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v. 16, n. 2, p. 132-137, 1985.

FOX, D.R. **SPIRULINA: Production & Potential**, Edisud, France, pp.232, 1996.

FRIGERI, T. **Interferência de patógenos nos resultados dos testes de vigor em sementes de feijoeiro**. 2007. 77F. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2007.

FURLONG, E.B.; COLLA, E.; BORTOLATO, D.S.; BAISCH, A.L.M.; SOUZA-SOARES, L.A. **Avaliação do potencial de compostos fenólicos em tecidos vegetais**. *Vetor Rio Grande* 13: 105-14, 2003.

GALLARDO, M. Inhibition of polyamine synthesis by cyclohexylamine stimulates the ethylene pathway and accelerates the germination of *Cicer arietinum* seeds. **Physiologia Plantarum**, v. 91, n. 1, p. 9-16, 1994.

GARCIA, A.W.R.; SALGADO, A.R. **Absorção do zinco pelo cafeeiro através de sais e misturas quelatizadas**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIRAS, 9, São Lourenço, 1981. Resumos, São Lourenço, MIC/IBC, p.39-47, 1981.

GERAGE, A.G.; BIANCO, R.A. A produção de milho na "Safrinha". **Informe Agropecuário**, v.14, p.39-44, 1990.

GRAY, R. C. **Foliar fertilization with primary nutrients during the reproductive stage of plant growth**. In: The Fertilizer Society. Proc. nº 164, 10 H, 1977.

GRIS, E. **Nouvelles experiences sur l'action des composés ferrugineux soluble, appliqués à la végétation, et spécialement au traitement de la chlorose et de la débilité des plantes**. *Compt. Rend. Acad. Sci.*, Paris, 19:1118, 1844.

HABIB, M.A.B., PARVIN, M., HUNTINGTON, T.C. & HASAN, R.M. A Review on Culture, Production and Use of *Spirulina* as Food for Humans and Feeds for Domestic Animals and Fish, **FAO Fisheries and Aquaculture Circular**. No. 1034, Rome-Italy, ISBN 978-92- 5-106106-0, pp. 1-41, 2008.

HALLIDAY, D. J. **Foliar application of major nutrients to fruit and plantation crops**. In: *Outlook on Agriculture* 3:111-115. 11, 1961.

HENRIKSON, R. **Microalga Spirulina: superalimento del futuro**. Barcelona: Ediciones Urano S.A., 1995.

HERGERT, G. W. **Sprinkler application of fertilizer nutrients**. Solutions, 1976.

HOPKINS, W. G. **Introduction to Plant Physiology**. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons, Inc., 512p, 2000.

IAPAR – Instituto Agronômico do Paraná. **Sugestão de adubação e calagem para culturas de interesse econômico no Estado do Paraná**. Circular técnica nº128, ISSN 0100-3356, Agosto, 2013.

INMET – Instituto Nacional de Meteorologia.

INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ. **Reunião da Comissão Brasileira de Pesquisa de Trigo e Triticale**, Londrina, PR, 29 de julho a 2 de agosto de 2012. – Londrina, PR : Instituto Agronômico do Paraná (IAPAR). 220 p., 2013. Disponível em <[http://www.iapar.br/arquivos/File/zip\\_pdf/TrigoeTriticale2013.pdf](http://www.iapar.br/arquivos/File/zip_pdf/TrigoeTriticale2013.pdf)> Acesso em 15 de fevereiro de 2014.

GALIANO, L.J.; SWANSON, A. Fertilizacion foliar con urea en el trigo. **Boletin de la Direccion General de Agricultura Peru**, (15-6): 25-9, 1955.

KAWASAKI, T.; AKIBA, T.; MORITSUGU, M. Effects of high concentrations of sodium chloride and polyethylene glycol on the growth and ion absorption in plants: I. Water culture experiments in a greenhouse. **Plant and Soil**, 75:75-85, 1983.

KHOLDEBARIN, B., OERTLI, J.J. **Effects of metabolica inhibitors on salt uptake and organic acid synthesis by leaf tissues in the light and in the dark**. Z. Pflanzenphysiol., 66, 352-358. 1972.

KOLOTA E., OSINSKA M. **Efficiency of foliar nutrition of field vegetables grown at different nitrogen rates**. In: Proc. IC Environ. Probl. N-Fert. Acta Hort., 563: 87–91, 2001.

KOTOWSKI, F. Temperature relations to germination of vegetable seed. **Proceedings of the American society for Horticultural Science**, v. 23, p. 176-184, 1926.

KRZYZANOWKI, F.C.; VIEIRA, R.D. Deterioração controlada. In: KRZYZANOWKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES p.61 -68, 1999.

LEECE, D.R. Composition and ultrastructure of leaf cuticles from fruit trees relative to differential foliar absorption. Aust. J. **Plant Physiology**., 3: 833-847. 1976.

LOPES, A.S. **Manual de fertilidade do solo**. São Paulo. ANDA/POTAFOS. p. 153,1989.

LOPES, A.S.; GUILHERME, L.R.G. *Interpretação de análise do solo - conceitos e aplicações*. **ANDA - Associação Nacional para Difusão do Adubos - Boletim Técnico n° 2**. Ed. revisada. 2004.

LUZ, J.M.Q.; GUIMARÃES STMR; KORNDORFER GH. Produção hidropônica de alface em solução nutritiva com e sem silício. *Horticultura Brasileira* 24: 295-300, 2006.

MABBETT, T. Foliar feeding: A more fluid mindset for plant nutrition. **Practical Hydroponics and Greenhouses**, n° 130, p: 27-31, 2013.

MALAVOLTA, E. **Manual de química agrícola: nutrição de plantas e fertilidade do solo**. São Paulo: Agronômica Ceres, 528p., 1976.

MALAVOLTA, E. **Elementos de nutrição mineral de plantas**. Piracicaba : Agronômica Ceres, 251p., 1980.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. Piracicaba : Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 319p., 1997.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. London : Academic, 889p. 1995.

MASNY, A.; BASAK, A.; ZURAWICZ, E. Effects of foliar application of KELPAK SL and GOEMAR BM 86 preparations on yield and fruit quality in two strawberry cultivars. **Journal of Fruit and Ornamental Plant Research**, v. 12, p. 23-27, 2004.

MATERASSI, R.; TREDICI, M.; BALLONI, W. Spirulina culture in seawater. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 19, p. 384-386, 1984.

MCNALL, L. R. **Foliar applications of micronutrients**. Solutions, November/December, pp. 8-13, 1967.

MEDINA, A.L.; **Atividade antioxidante e antimicrobiana de extratos de araçá Psidium cattleianum**. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial da Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, 2009.

MENGEL, K.; KIRKBY, E.A. **Principles of plant nutrition**. Bern, Intern. Potash Institute, 687p, 1987.

MIDWEST LABORATORIES. **Foliar feeding**. Solutions, p. 62-65. 20, 1972.

MIRANDA, M.S.; CINTRA, R.G.; BARROS, S.B.M.; MANCINI-FILHO, J. Antioxidant activity of the microalga *Spirulina máxima*. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, n° 31, 1998.

MÓGOR, A. F.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D.; MÓGOR, G. Aplicação foliar de extrato de alga, ácido l-glutâmico e cálcio em feijoeiro. **Scientia Agraria**, Curitiba, v.9, n.4, p.431-437, 2008.

MOTA, F. S. **Clima e zoneamento para a triticultura no Brasil**. In: FUNDAÇÃO CARGILL Trigo no Brasil, Campinas, v.2, p.29-64, 1982.

MUNDSTOCK, C.M.. **A evolução da genética e da tecnologia de cultivo de milho no Sul do Brasil**, 2013.

MURAOKA, T.; BOARETTO, A.E. **Uso de isótopos em estudos de adubação foliar**. In: BOARETTO, A.E.; ROSOLEM, C.A. Adubação foliar. Campinas: Fundação Cargill, 1989. v.2, p.321-334

MUZILLI, O.; OLIVEIRA, E. L de **Nutrição e adubação**. In: INSTITUTO . AGRONÔMICO DO PARANÁ, Londrina. O milho no Paraná. Londrina : IAPAR, Circular 29 p. 83-104,1982.

MUZILLI, O.; PARRA, M. S. **Como adubar milho e feijão sem usar tabelas de adubação**. Londrina : IAPAR, Circular 28, 17p., 1982.

NAKAMURA, S.; OHTSUBO, K. Acceleration of germination of super-hard rice cultivar EM10 by soaking with red onion. **Bioscience, biotechnology, and biochemistry**, v. 75, n. 3, p. 572-574, 2011.

NASCIMENTO, W.M.; BARROS, B.C.G.; PESSOA, H.B.S.V. Teste de envelhecimento acelerado em sementes de tomate. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.15, n.2, p.251-253, 1993.

NICHOLS, M.A.; HEYDECKER, W. Two approaches to the study of germination data. **Proceedings of the International Seed Testing Association** v. 33, n. 3, p. 531-540, 1968.

NUNES, J.M.C.Taxonomia morfológica: Metodologia de trabalho. In: A.G. Pedrini (org.), **Macroalgas: uma introdução à taxonomia**. Technical Books, Rio de Janeiro, p. 53–70, 2010.

OLIVEIRA, E. L. de; COSTA, A.; PARRA, M. S. Interpretação do Pextraível pelo método Mehlich-1 e recomendação de adubação fosfatada para milho. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, Curitiba, 37:37- 53, 1994.

OLIVEIRA, E. L. de; PARRA, M. S.; COSTA, A. Resposta da cultura do milho, em um latossolo vermelho-escuro álico, à calagem. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 21, n. 1, p. 65-70, 1997.

ONO, E.O.; RODRIGUES, J.D.; SANTOS, S.O. Efeito de fitorreguladores sobre o desenvolvimento de feijero (*Phaseolus vulgaris* L.) cv Carioca. **Revista Biociências**, Taubaté, v. 5, n.1, p.7-13, 1999.

OOSTERHUIS, D.M., STEWART, J.M. **Physiological basis of yield and environmental adaptation**. In: H.T. Nguyen and A. Blum (eds.) *Physiology and Biotechnology Integration for Plant Breeding*. Marcel Dekker Inc., Nova York, 2003.

ORMOND, A. T. S.; NUNES, J. A. S.; CANEPPELE, C.; SILVA, S. L. S. da; PEREIRA, M. T. J. Análise das características físicas de sementes de trigo. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 9, n.17, p.108-114, 2013.

ORTEGA-CALVO, J.J.; MAZUELOS, C.; HERMOSIN, B.; SAIZ-JIMENEZ, C. Chemical composition of *Spirulina* and eukaryotic algae food products marketed in Spain. **Journal of Applied Phycology**, Volume 5, Issue 4, p. 425-435, 1993.

PAES, M. C. D., Ph.D. **Nutrição Humana e Ciência dos Alimentos Embrapa Milho e Sorgo**. Aspectos Físicos, Químicos e Tecnológicos do Grão de Milho. MG Dezembro, 2006.

PAES, M. C. D.; BICUDO, M. H. **Nutritional perspectives of Quality Protein Maize**. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON QUALITY PROTEIN MAIZE, 1995, Sete Lagoas. *Quality Protein Maize: 1964-1994: proceedings*. [West Lafayette]: Purdue University, 1997. p. 65-78. Editado por Brian A. Larkins, Edwin T. Mertz, 1995.

RODRÍGUEZ-LUCENA, P.; HERNÁNDEZ-APAOLAZA, L.; LUCENA, J.J. Comparison of iron chelates and complexes supplied as foliar sprays and in nutrient solution to correct iron chlorosis of soybean. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**. Volume 173, Issue 1, p. 120–126, 2010.

PELAEZ, F. The historical delivery of antibiotics from microbial natural products—Can history repeat?, **Biochemical. Pharmacology**, 71 (7), p.981, 2006.

PARK, S.A.; BENJAMIN, R.L.; WATKINSON, A.R. **The Theory and Application of Plant Competition Models: an Agronomic Perspective**. *Ecology*. v. 82, n. 9, p. 2525 -2535, 2001.

PERRUZO, G. **Recomendações de adubação e de calagem para a cultura de trigo no sistema de plantio direto**. In: CUNHA, G.; BACALTCHUK, R. (Org.). *Tecnologia para produzir trigo no Rio Grande do Sul*. Porto Alegre : Assembléia Legislativa. Comissão de Agricultura, Pecuária e Cooperativismo; Passo Fundo: Embrapa Trigo p. 182-203, 2000.

RADOSAVLJEVIC M.; BEKRIC V.; BOZOVIC I.; JAKOVLJEVIC J. Physical and chemical properties of various corn genotypes as a criterion of technological quality. **Genetika**, nº 32, p.319-329, 2000.

RAMOS, M. **Fertilização foliar-resultados obtidos com a cultura do trigo em Ponta Grossa-1971**; competição de profutos fertilizantes nitrogenados de cobertura, na cultura do trigo. S.n.t. 2p. Trabalho apresentado na 4º Reunião Anual Conjunta de Pesquisa de Trigo, Passo Fundo, RS, 1972.

RATHORE, V.S.; S.H. WITWER, W.H.; JYUNG, Y.P.S.; ADAMS, M.W. Mechanism of zinc uptake in been tissue. **Physiologia Plantarum** n° 23, p.908–919, 1970.

RICHMOND, A. **CRC Handbook of microalgal mass culture**. Florida: CRC Press, P. 528, 1990.

RODRIGUES, C.R.; RODRIGUES, T.M.; FIGUEIREDO, F.C. Aplicação de silício líquido solúvel via foliar em batata: Aumento de 5 toneladas/ha de batata extra. **Revista Campo e Negócios HF** n° 10, p. 66-70, 2007.

RODRIGUES, F.A.; DUARTE, H.S.S.; REZENDE, D.C.; WORDELL FILHO, J.A.; KORNDORFER, G.H.; ZAMBOLIM, L. Foliar spray of potassium silicate on the control of angular leaf spot on beans. **Journal of Plant Nutrition** n° 33: 2082-2093, 2010.

ROSOLEM, C.A. **Eficiência da adubação foliar**. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 20., Piracicaba, SP. Anais... Piracicaba : Fundação Cargill, 1992. p.315-351, 1992.

ROSOLEM, C.A., SACRAMENTO, V.L.S. **Efficiency of foliar Zn fertilizers in citrus and coffee**. In: HORST, W.J. *et al.*, Plant Nutrition: food security and sustainability of agroecosystems through basic and applied research. Dordrecht: Kluwer Ac. Publ, pp. 704-705, 2000.

ROTH, L.S.; MARTEN, G.C.; COMPTON, W.A. Genetic variation of quality traits in maize (*Zea mays*, L.) forage. **Crop Science**, v.10, p.365-367, 1970.

SACRAMENTO, V.L.S., ROSOLEM, C.A. **Foliar applied zinc translocation in coffee trees as affected by chelating agents**. In: International Colloquium for the Optimization of Plant Nutrition, X, Cairo, 2000. Abstracts, IAOPN, Cairo, p. 232-233, 2000.

SÁNCHEZ, M.; CASTILLO, B.J.; ROZO, C.; RODRÍGUEZ, I. Spirulina (*Arthrospira*): An edible microorganism. **Universitas Scientiarum**, Vol. 8, No.1, pp.1-16. Disponível em <[www.javeriana.edu.co/universitas.docs./Vol\\_8\\_htm](http://www.javeriana.edu.co/universitas.docs./Vol_8_htm)>, 2003.

SANTOS, V.L.da.S.S.; FERNANDES, M.do.C.de.A.; MOREIRA, V.F.; CASTILHO, A.M.C.; CARVALHO, J.F. **Efeitos do biofertilizante Agrobio e de diferentes substratos na produção de mudas de alface para cultivo orgânico**. In: Congresso Brasileiro de Agroecologia, Porto Alegre. Anais. Porto Alegre: EMATER: RS-ASCAR, 2003.

SASSON, A. **Micro Biotechnologies: Recent Developments and Prospects for Developing Countries**. BIOTEC Publication 1/2542. Place de Fontenoy, Paris. France. United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization UNESCO, p; 11-31, 1997.

- SHARMA, A. **Wheat grain structure, quality and milling**. Directorate of distance education Guru Jambheshwar University of Science and Technology, Hisar – 125 001, 2003.
- SIQUEIRA, O.J.F.; DE SCHOLLES, D.; BARTZ, H.R. **Resposta do trigo à aplicação de fertilizantes foliares**. In: REUNIÃO ANUAL CONJUNTA DE PESQUISA DE TRIGO, 9, Londrina, PR. Solos e técnicas culturais. Passo Fundo, EMBRAPA-CNPT. V.2, p.30-9, 1977.
- SOUZA, V.F.; MAROUELLI, W.A.; COELHO, E.F.; PINTO, J.M.; COELHO FILHO, M.A. Irrigação e fertirrigação em fruteira e hortaliças. Brasília: Embrapa 721-736p, 2011.
- SOUZA, E.F. **O morango e sua padronização: classificação de produtos**. Gleba, Rio de Janeiro, v.16, p.6-8, 2003.
- STADNIK, M. J. **Potencial Biotecnológico de Macroalgas Marinhas para uso Agrícola**. In: XI Congresso Brasileiro de Ficologia, 2006, Itajaí-SC. Resumo de resumos do XI Congresso Brasileiro de Ficologia. Itajaí-SC: Sociedade Brasileira de Ficologia & UNIVALI, v. 1. p. 14-14, 2006.
- STADNIK, M. J. . **Uso potencial de algas no controle de doenças de plantas**. In: VIII Reunião de Controle Biológico de fitopatógenos, 2003, Ilhéus. VIII Reunião de Controle Biológico de fitopatógenos. Ilhéus-BA: Ceplac/ Cepecp. 70-74, 2003.
- TAIZ, L., ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3ª ed., Artmed, Porto Alegre, 719 p, 2004.
- TAIZ, L.; ZIEGER, E. Auxina: o hormônio de crescimento. In: Fisiologia Vegetal. 3ª ed. cap. 19, p. 449-484. Artmed, Porto Alegre, 2004.
- TOMASELLI, L. The microalgal cell, In: **Handbook of Microalgal Culture**, in: Richmond, A. (ed.), Blackwell Science, ISBN: 0632059532, pp.2-10, 2003.
- TOSELLO, G.A. Milhos especiais e seu valor nutritivo, In: VIEGAS, G. P.; PATERNIANE, E. (Ed.). **Melhoramento e produção do milho**. 2. ed. v. 1, p. 375-409. Campinas: Fundação Cargill, 1987.
- TORRES-DURAN, P.V.; FERREIRA-HERMOSILLO, A.; JUAREZ-OROPEZA, M.A. Antihyperlipemic and antihypertensive effects of Spirulina maxima in an open sample of Mexican population: a preliminary report. **Lipids in Health and Disease**, p. 6-33, 2007.
- TRANI, P.E.; CARRIJO, O.A. **Fertirrigação em hortaliças**. Campinas: Instituto Agrônomo. 58 p, 2004.
- TROCME, S.; GRAS, R. **Solo e fertilização em agricultura**. Madri: Mundi-Prensa, 364p, 1966.

TUKEY, H. B. JR.; H. B. TUKEY. **The loss of organic and inorganic materials by leaching from leaves and other above-ground plant parts.** In: *Radioisotopes in Soil-Plant Nutrition Studies*, Intern. Atomic Energy Agency, Vienna, p 289-302, 1962.

VIEIRA, E. L. **Ação de bioestimulante na germinação de sementes, vigor das plântulas, crescimento radicular e produtividade de soja, feijoeiro e arroz.** 122 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2001.

VITTI, G.C.; DONADIO, L.C.; MALAVOLTA, E. & CABRITA, J.R.M. Influence of soil and leaf applications of micronutrientes on yield and fruit quality of *Citrus sinensis* Osbeck, variety Pera. In: FRAGOSO, M.A.C.; BEUSICHEM, M.L. (Eds.). **Optimization of plant nutrition.** Kluwer Academic Publishers, 453-456, 1993.

VOLKWEISS, S.J. **Otimização das características da planta para maximizar a eficiência do adubo.** In: Seminário fósforo, cálcio, magnésio, enxofre e micronutrientes: situação atual e perspectivas na agricultura, São Paulo, anais, Manah SA, 144p., 1984.

VRČEK, I. V.; ČEPO, D. V.; RAŠIĆ, D. A comparison of the nutritional value and food safety of organically and conventionally produced wheat flours. **Food Chemistry**, v. 143, p. 522–529, 2014.

WALLACE, A.; SHANNON, L. M.; LUNT, O. R.; IMPEY, R. L. Some aspects of the use of metal chelates as micronutrient fertilizer sources. **Soil Science**, v. 84 p. 27-42, 1957.

WARDLAW, I. F.; DAWSON, I. A.; MUNIBI, P. The tolerance of wheat to high temperatures during reproductive growth: II. Grain development. **Australian Journal of Agricultural Research**, Collingwood, v.40, n°1, p.15-24, 1989.

WEBER E. J. Variation in corn (*Zea mays* L.) for fatty acid compositions of triglycerides and phospholipids. **Biochemical Genetics**, New York, v. 21, p. 1-13, 1983.

WIKFORS, H.G.; OHNO, M. Impact Of Algal Research In Aquaculture, **Journal of Phycology**, 37, p.968-974, 2001.

WITTE C.P., TILLER S.A., TAYLOR M.A., DAVIES H.V, Leaf urea metabolism in potato. Urease activity profile and patterns of recovery and distribution of 15N after foliar urea application in wild-type and urease-antisense transgenics. **Plant Physiology**, n° 128, p. 1129–1136. 2002.

WITTWER, S.H. Foliar absorption of plant nutrients. **Technical Advances in Plant Science**, n° 8,161p., 1964.

WITTWER, S.H..MJ. BUKOVAC & H.B. TUKEY. Advances in foliar feeding of plant nutrients. In: **Fertilizer Technology and Usage**. Ed. by M.H. Mac Vickar, G.L. Bridger & L.B. Nelson, Publ. by the Soil Sci. Soc. of America, Madison, 1963.

WITTWER, S. H. Foliar absorption of plant nutrients. In: **Advancing frontiers of plant sciences**, v. 8. Insitute for the Advancement of Science and Culture, New Delhi, India, 1964.

ZADOCKS, J. C.; GHANG, T. T.; KONZAK, C. F. A decimal code for the growth stages of cereals. **Weed Research**, Oxford, v. 14, p. 415-421, 1974.

ZARROUK, C. **Contribution à l'étude d'une Cyanophycée: influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthèse de *Spirulina maxima***. Thesis (Ph.D), Université Des Paris, Paris, 1966.

ZIMMERMAN, D.R.; WOSTMANN, B.S. Vitamin stability in diets sterilized for germ-free animals. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 79, p. 318-322, 1963.

ZODAPE, S.T. Seaweeds as a biofertilizer. **Journal of Scientific and Industrial Research**, n° 60, p. 378-382, 2001.