

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ALINE NOVASKI

USO DE BIOMASSA DE MICROALGA COMO BIOFERTILIZANTE NA PRODUÇÃO
DE BETERRABA ORGÂNICA

CURITIBA

2020

ALINE NOVASKI

USO DE BIOMASSA DE MICROALGA COMO BIOFERTILIZANTE NA PRODUÇÃO
DE BETERRABA ORGÂNICA

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Agronomia, no Curso de Pós-Graduação em Agronomia, Setor de Ciências da Agrárias, da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Professor Doutor Átila Francisco Mógor.

Co-orientadora: Professora Christiane de Queiroz Pereira Pinto

CURITIBA

2020

Novaski, Aline

Uso de biomassa de microalga como biofertilizante na produção de beterraba orgânica. / Aline Novaski. - Curitiba, 2020.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia.

Orientação: Átila Francisco Mógor.

Coorientação: Christiane de Queiroz Pereira Pinto.

1. Alga verde. 2. Beterraba - Cultivo. 3. Agricultura orgânica. I. Mógor, Átila Francisco. II. Pinto, Christiane de Queiroz Pereira. III. Título. IV. Universidade Federal do Paraná.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO AGRONOMIA
(PRODUÇÃO VEGETAL) - 40001018031P6

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em AGRONOMIA (PRODUÇÃO VEGETAL) da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de ALINE NOVASKI intitulada: USO DE BIOMASSA DE MICROALGA COMO BIOFERTILIZANTE NA PRODUÇÃO DE BETERRABA ORGÂNICA, sob orientação do Prof. Dr. ÁTILA FRANCISCO MÓGOR, que após terem inquirido a autora e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 24 de Fevereiro de 2021.

Assinatura Eletrônica

24/02/2021 12:11:02.0

ÁTILA FRANCISCO MÓGOR

Presidente da Banca Examinadora (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

24/02/2021 14:18:37.0

CHRISTIANE DE QUEIROZ PEREIRA PINTO

Avaliador Externo (DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO)

Assinatura Eletrônica

24/02/2021 15:56:58.0

LEANDRO FLAVIO CARNEIRO

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ- DPTO FITOTECNIA E FITOSSANITARISMO)

Rua dos Funcionários, 1540 - CURITIBA - Paraná - Brasil
CEP 80035-080 - Tel: (41) 3390-5801 - E-mail: ppgpv@ufpr.br

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.
Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 78877

Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://www.prgp.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp>
e insira o código 78877

A minha amada mãe, e minha adorada vó, onde quer que estejam,
Dedico.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Alicia e Vitalino, que sempre incentivaram o estudo, a leitura e a imaginação. Me ensinaram o valor da família e do amor. À minha amada vó Izabel, que sempre me ensinou a nunca desistir, e apesar das dificuldades, se manteve minha incentivadora, minha inspiração e minha âncora, até o fim.

Ao meu noivo Pedro, meu eterno agradecimento, pelos cuidados com minha vó enquanto eu ia para a fazenda fazer minhas aplicações e deveres, pelas incontáveis visitas aos experimentos. Ao meu irmão Alan, por me ajudar todas as vezes que precisei.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Átila Francisco Mógor, por passar tanta sabedoria, inspirando diariamente a agir com ética, e a trabalhar com técnica, e por ensinar tão bem como aplicar os ensinamentos dos livros e experimentos, à campo. Sua paciência com as dificuldades dessa sua orientada, sempre será lembrada por mim, com eterna gratidão, ao profissional extraordinário que tive a oportunidade e o privilégio me orientar, como profissional, como aluna e como pessoa, o meu mais profundo muito obrigada.

À pesquisadora Dr.^a Gilda Mógor, por todo conhecimento passado, por toda sua contribuição a essa e outras pesquisas tão importantes. E por fazê-lo com tanta dedicação e carinho, que inspira todos da equipe a sempre melhorar. Sua presença e seu direcionamento fizeram toda a diferença nestes anos de trabalho, muito obrigada.

À minha orientadora, Prof.^a. Dra Christiane de Queiroz Pereira Pinto, por me apresentar o mundo dos fitoquímicos e sua sinergia com o corpo humano, por incentivar meu aprendizado se interessando pela parte agrônômica da nutrição, agradeço muito.

A todos os professores que participaram da minha formação, tanto da graduação quanto durante o mestrado no Programa de pós-graduação em Produção Vegetal (PGAPV) da Universidade Federal do Paraná, especialmente ao professor Prof. Dr. Leandro Flávio Carneiro que colaborou na redação dessa dissertação, trazendo pontos de grande valia.

Aos queridos amigos, que durante essa jornada sempre me apoiaram, entenderam minhas dificuldades sempre me incentivando a não desistir.

O meu mais profundo obrigada aos integrantes do Grupo de Estudos em Biofertilizantes: Gabriel B. Lara, Luiz G. Gemin, Ely C. N. Cordeiro, Harielly Marques,

Laís G. Adamuchio, e todos aqueles que passaram pelo grupo, mas em especial à Juliana de Oliveira Amatussi, por ter sido minha mentora, amiga, e por ter me ensinado todas as partes laboratoriais das análises feitas. Todos do grupo me ensinaram o poder do trabalho em equipe, da importância de trabalhar com quem se respeita e admira. Agradeço e levarei para sempre no coração nossos momentos. Aprendi e cresci muito nestes anos trabalhando ao lado deles.

Aos servidores da UFPR, em especial à Lucimara Antunes, secretária do PGAPV, ao Senhor Marcos, e do Senhor José, funcionários da área de Olericultura por toda a ajuda nos experimentos em campo.

À Universidade Federal do Paraná, que faz parte da história de minha mãe, e depois, para meu orgulho, da minha história e da minha formação profissional

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pela concessão de uma bolsa de estudos, contribuindo para a execução dessa pesquisa.

À empresa Alltech® Crop Sciences do Brasil por fornecer a suspensão da alga *Asterarcys quadricellulare* utilizada nessa pesquisa.

A todos que de alguma forma colaboraram para a minha trajetória até aqui, os meus mais profundos agradecimentos.

Os que se encantam com a prática sem a ciência, são como os timoneiros que entram no navio sem timão nem bússola, nunca tendo certeza do seu destino”.

Leonardo da Vinci

RESUMO

A cada ano cresce a demanda por alimentos mais saudáveis e meios de produção mais responsáveis. Já se sabe que microalgas têm efeitos benéficos quando aplicadas as culturas, porém ainda faltam estudos para identificar quais espécies são mais eficientes e quais compostos atuam com maior atividade sobre as plantas. Neste sentido, este estudo foi desenvolvido a fim de avaliar os efeitos da aplicação de *Asterarcys quadricellulare*, microalga verde até o momento sem registro de uso agrícola. Neste estudo, o seu efeito foi avaliado no cultivo orgânico da beterraba de mesa (*Beta vulgaris*), espécie predominantemente produzida pela agricultura familiar no Brasil. Um experimento de campo foi conduzido para avaliar dados biométricos como massa fresca, massa seca, produtividade, e dados bioquímicos como pigmentos, açúcares e aminoácidos em folhas e hipocótilos das beterrabas, em função dos tratamentos com a microalga. Na Área de Olericultura Orgânica da UFPR, utilizou-se a cultivar Early Wonder Tall top (Topseed ®) em um delineamento inteiramente casualizado com aplicações semanais via foliar de soluções contendo uma suspensão da biomassa da microalga *Asterarcys quadricellulare* em quatro concentrações: 50, 100, 150 e 250 g.L⁻¹, aplicadas na dose de 1 mL.L⁻¹ na calda de pulverização, mais um controle, em quatro repetições. Aos 80 dias após a semeadura, foram colhidas as plantas centrais das parcelas, em sua totalidade (parte aérea e hipocótilos) e separadas para análises. As aplicações das soluções contendo a biomassa da microalga *Asterarcys quadricellulare* aumentaram as massas frescas de folhas e hipocótilos, massas secas de hipocótilos, a produtividade, os teores de açúcares nos hipocótilos e folhas, e a concentração de aminoácidos livres das folhas. As soluções contendo biomassa de *A. quadricellulare* apresentaram efeito biofertilizante, atribuído à presença de aminoácidos livres na biomassa da microalga, com destaque para a concentração de 250 g.L⁻¹.

Palavras-chave: *Asterarcys quadricellulare*, *Beta vulgaris*, aminoácidos, produção orgânica

ABSTRACT

Every year, the demand for healthier food and responsible food production methods increases. It is already known that algae and microalgae have beneficial effects when applied to crops, but studies are still lacking to identify which species are more efficient and which compounds act with the greatest activity on plants. In this sense, this study was developed to evaluate the effects of the application of the green microalgae *Asterarcys quadricellulare*, one with no record of agricultural use, so far, on organic beet plants. In this study, the performance of the microalgae was evaluated in the cultivation of the table beet (*Beta vulgaris*), a vegetable predominantly produced by family farming in Brazil. A field experiment was implemented to evaluate biometric data such as fresh weight, dry weight, yield, and biochemical variables such as pigments, sugars and amino acids, from leaves and hypocotyl roots in function of microalgae treatments. In an open field soil bed at the Organic Horticulture Area at UFPR, the cultivar Early Wonder Tall top (Topseed ®) was sown. In a completely randomized design, four solutions of different concentrations of the *Asterarcys quadricellulare* microalgae (50, 100, 150 and 250 g.L⁻¹), plus water control, were applied in four repetitions. At 80 days after sowing, the plants were harvested from the middle of the plots, in their entirety (aerial part and hypocotyls) and separated for analysis. The sprays of the microalgae increased dry weight, sugars, free amino acids and yield. The solutions containing the *Asterarcys quadricellulare* presented a biofertilizer effect, attributed to the presence of free amino acids in the microalgae biomass, with emphasis on the solution of concentration of 250 g.L⁻¹.

Key words: *Asterarcys quadricellulare*, *Beta vulgaris*, biofertilizer, aminoacids, organic food

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1. MASSA FRESCA DE FOLHAS (A), MASSA FRESCA DE HIPOCÓTILOS (B), E MASSA SECA DE HIPOCÓTILOS (C) DE BETERRABA SUBMETIDAS À APLICAÇÕES FOLIARES DE *ASTERARCYS QUADRICELLULARE*.....31
- FIGURA 2. AMINOÁCIDOS LIVRES EM FOLHAS (A), AÇÚCARES TOTAIS EM FOLHAS (B) E AÇÚCARES TOTAIS EM HIPOCÓTILOS DE BETERRABAS SUBMETIDAS À APLICAÇÕES FOLIARES DE *ASTERARCYS QUADRICELLULARE*..... 32
- FIGURA 3. PRODUTIVIDADE DE BETERRABAS SUBMETIDAS À APLICAÇÕES FOLIARES DE *ASTERARCYS QUADRICELLULARE*.....35
- FIGURA 4. VALORES DA SOMA DAS CLASSIFICAÇÕES (ASR) EM PORCENTAGEM DOS CALIBRES DE HIPOCÓTILOS DE BETERRABAS TRATADAS COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE *ASTERARCYS QUADRICELLULARE*.....36

LISTA DE TABELAS

TABELA 1.	AMINOGRAMA DA BIOMASSA DE <i>ASTERARCYS</i> <i>QUADRICELLULARE</i> OBTIDA EM SISTEMA MIXOTRÓFICO.....	27
-----------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

°C – Graus Celsius

Ton – Toneladas

Ha – Hectares

GS - Glutamina sintetase

GOGAT - Glutamato sintase

Dm³ - Decímetro Cúbico

P – Fósforo

K – Potássio

UFPR – Universidade Federal do Paraná

HPLC - High Performance Liquid Cromatography ou A cromatografia líquida de alta eficiência

nm – Nanômetro

AA – Aminoácidos

AST – *Asterarcys quadricellulare*

DAE – Dias após a emergência

Psi - Libra-força por polegada quadrada

DAS – Dias após a semeadura

TCA - Ciclo dos ácidos tricarboxílicos

GABA – Ácido Gama-Aminobutírico

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1 A BETERRABA.....	18
2.2 BIOFERTILIZANTES COMO ALTERNATIVAS SUSTENTÁVEIS.....	19
2.3 MICROALGAS NA AGRICULTURA.....	20
2.4 AMINOÁCIDOS EM PLANTAS.....	22
2.5 A MICROALGA <i>ASTERARCYS QUADRICELLULARE</i>	23
3. MATERIAL E MÉTODOS	24
3.1 LOCALIZAÇÃO DA ÁREA E CULTIVAR	25
3.2 A MICROALGA <i>ASTERARCYS QUADRICELLULARE</i>	25
3.3 TRATAMENTOS.....	26
3.4 AVALIAÇÕES BIOMÉTRICAS.....	27
3.5 ANÁLISES BIOQUÍMICAS	27
3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	28
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
5. CONCLUSÃO	38
REFERÊNCIAS	39
APÊNDICES	51
APÊNDICE 1 FOTOGRAFIAS DOS EXPERIMENTOS CONDUZIDOS À CAMPO, CLASSIFICAÇÃO DOS HIPOCÓTLOS.....	51
APÊNDICE 2 ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA MASSA FRESCA DE FOLHAS DE BETERRABA SUBMETIDAS À APLICAÇÕES FOLIARES DE <i>ASTERARCYS QUADRICELLULARE</i> OBTIDA EM SISTEMA MIXOTRÓFICO.....	53
APÊNDICE 3 ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA MASSA SECA DE FOLHAS DE BETERRABA SUBMETIDAS À APLICAÇÕES FOLIARES DE <i>ASTERARCYS QUADRICELLULARE</i> OBTIDA EM SISTEMA MIXOTRÓFICO.....	53

APÊNDICE 4	ANÁLISE DE VARIÂNCIA MASSA FRESCA DE HIPOCÓTILOS DE BETERRABA SUBMETIDAS À APLICAÇÕES FOLIARES DE <i>ASTERARCYS QUADRICELLULARE</i> OBTIDA EM SISTEMA MIXOTRÓFICO.....	53
APÊNDICE 5	ANÁLISE DE VARIÂNCIA MASSA SECA DE HIPOCÓTILOS DE BETERRABA SUBMETIDAS À APLICAÇÕES FOLIARES DE <i>ASTERARCYS QUADRICELLULARE</i> OBTIDA EM SISTEMA MIXOTRÓFICO.....	54
APÊNDICE 6	ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA AMINOÁCIDOS LIVRES EM FOLHAS DE BETERRABA SUBMETIDAS À APLICAÇÕES FOLIARES DE <i>ASTERARCYS QUADRICELLULARE</i> OBTIDA EM SISTEMA MIXOTRÓFICO.....	54
APÊNDICE 7	ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA AMINOÁCIDOS LIVRES EM HIPOCÓTILOS DE BETERRABA SUBMETIDAS À APLICAÇÕES FOLIARES DE <i>ASTERARCYS QUADRICELLULARE</i> OBTIDA EM SISTEMA MIXOTRÓFICO.....	55
APÊNDICE 8	ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA AÇÚCARES EM FOLHAS DE BETERRABA SUBMETIDAS À APLICAÇÕES FOLIARES DE <i>ASTERARCYS QUADRICELLULARE</i> OBTIDA EM SISTEMA MIXOTRÓFICO.....	55
APÊNDICE 9	ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA AÇÚCARES EM HIPOCÓTILOS DE BETERRABA SUBMETIDAS À APLICAÇÕES FOLIARES DE <i>ASTERARCYS QUADRICELLULARE</i> OBTIDA EM SISTEMA MIXOTRÓFICO.....	55
APÊNDICE 10	ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA CLOROFILA TOTAL EM FOLHAS DE BETERRABA SUBMETIDAS À APLICAÇÕES FOLIARES DE <i>ASTERARCYS QUADRICELLULARE</i> OBTIDA EM SISTEMA MIXOTRÓFICO.....	56

APÊNDICE 11	ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA CLOROFILA A EM FOLHAS DE BETERRABA SUBMETIDAS À APLICAÇÕES FOLIARES DE ASTERARCYS QUADRICELLULARE OBTIDA EM SISTEMA MIXOTRÓFICO.....	56
APÊNDICE 12	ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA CLOROFILA B EM FOLHAS DE BETERRABA SUBMETIDAS À APLICAÇÕES FOLIARES DE ASTERARCYS QUADRICELLULARE OBTIDA EM SISTEMA MIXOTRÓFICO.....	56
APÊNDICE 13	ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA CAROTENÓIDES TOTAIS EM FOLHAS DE BETERRABA SUBMETIDAS À APLICAÇÕES FOLIARES DE ASTERARCYS QUADRICELLULARE OBTIDA EM SISTEMA MIXOTRÓFICO.....	57
APÊNDICE 14	ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA PRODUTIVIDADE DE BETERRABA SUBMETIDAS À APLICAÇÕES FOLIARES DE ASTERARCYS QUADRICELLULARE OBTIDA EM SISTEMA MIXOTRÓFICO.....	57

1 INTRODUÇÃO

A agricultura mundial é intimamente dependente da aplicação constante de insumos. Atualmente, a grande maioria dos alimentos é produzida em larga escala através de um manejo tecnológico intenso, e frequente aporte de insumos sintéticos. Estas práticas podem trazer mudanças no longo prazo, como a degradação de solos, diminuição da matéria orgânica e lixiviação de moléculas químicas que podem contaminar a água (CASTRO et al, 2020). Neste contexto, biofertilizantes estão ganhando espaço em uma agricultura mais sustentável, com melhoras em produtividade, em qualidade do solo, e gerando novas alternativas ao manejo integrado de culturas tradicionais e rentáveis (RENUKA et al, 2018, SINGH et al, 2011).

As microalgas são um grande grupo de diversos organismos autotróficos unicelulares principalmente fotossintéticos. Nas últimas décadas, inúmeras espécies de microalgas eucarióticas foram exploradas por seu potencial como fontes alternativas na alimentação de animais, suplementos alimentares para humanos, e novos compostos nutracêuticos e farmacêuticos (TOMASELLI, 2004). Estes organismos apresentam altas taxas de crescimento, adaptabilidade a estresses ambientais e uma alta produção de compostos bioquímicos, por isso apresentam um grande potencial em inúmeras aplicações (AZAMAN et al, 2017).

Entre milhares de espécies de microalgas, o potencial agrícola de espécies ainda pouco estudadas pode ser grande, entre estas a de *Asterarcys quadricellulare*. Trata-se de uma microalga verde eucariota da classe Chlorophyta, que está presente em água doce (HONG et al, 2012). Dessa classe fazem parte gêneros como *Scenedesmus*, *Chlorella* além de *Asterarcys*, sendo estudados por apresentarem diversos compostos de interesse (BARONE et al, 2018; VARHNEYA et al, 2018). Em condições controladas de cultivo, *Asterarcys* pode apresentar alto teor de proteínas, lipídeos, polissacarídeos e pigmentos (VARHNEYA et al, 2018; SINGH et al, 2019).

O uso de microalgas na agricultura se mostra uma alternativa promissora, pois suas composições altamente proteicas fornecem uma gama de L-aminoácidos possíveis de serem aproveitados e incorporados pelas plantas, melhorando seu desempenho em crescimento e produção.

A beterraba (*Beta vulgaris* L.) é uma hortaliça pertencente da família Chenopodiaceae (FONTES, 2005), rica em vitaminas, sais minerais e açúcares. Tem como parte comestível a “raiz”, que morfológicamente trata-se do hipocótilo expandido da planta, caracterizado por sua coloração vermelha e sabor doce (SEDIYAMA, 2011). A beterraba é originária das regiões de clima temperado da Europa e do Norte da África. No Brasil, as Regiões Sudeste e Sul cultivam 77% do que é produzido. Os meses mais amenos são os preferidos para o seu cultivo (TIVELLI et al, 2011). Sendo uma hortaliça predominantemente de climas temperados, desenvolve-se melhor em temperaturas amenas ou frias (SOUZA, 2006). É uma hortaliça de extrema importância para a agricultura familiar no Brasil, apesar de não estar entre as hortaliças de maior valor econômico, é parte importante em pequenas propriedades dos cinturões verdes que apresentam grande diversidade no cultivo de hortaliças (CORRÊA et al, 2014).

A microalga *Asterarcys quadricellulare* apresenta potencial como uma nova possibilidade de insumo natural para estimular o crescimento e a produtividade, mas ainda há necessidade de estudos sobre sua bioatividade, a fim de se compreender seus mecanismos de ação e seu efeito biofertilizante. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da microalga *Asterarcys quadricellulare* em beterrabas cultivadas em sistema orgânico.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A BETERRABA

A beterraba hortícola, também conhecida como vermelha ou de mesa, é o biótipo mais cultivado no Brasil, e a produtividade média brasileira é de 10 a 20 ton/ha (TIVELLI et al, 2011). A beterraba é uma hortaliça anual, herbácea, e pertence à família Chenopodiaceae. A planta desenvolve raiz do tipo tuberosa, de cor púrpura, e incha, pelo intumescimento do hipocótilo (caule localizado logo abaixo dos cotilédones), e essa é a parte mais comercializada, o hipocótilo expandido da beterraba de mesa (PETHYBRIDGE et al, 2018). A beterraba é uma das principais hortaliças cultivadas no

Brasil. Pode ser semeada em bandejas para posterior transplante a campo ou semeada direto no solo, método mais usado pelos agricultores brasileiros (TIVELLI et al, 2011).

A beterraba de mesa (*Beta vulgaris* subsp. *vulgaris* L.) é um membro de um grupo de plantas cultivadas do gênero *Beta*. Neste grupo estão plantas domesticadas tanto para consumo de hipocótilos (como a beterraba de mesa), folhas e pecíolo (como acelga vermelha, acelga), para ração animal (beterraba forrageira) e para fontes de sacarose (beterraba açucareira). Estima-se que sua origem como planta cultivada remete aos romanos, quando desenvolveram uma folha comestível, a partir de espécies selvagens de *Beta*, crescendo na região do Mediterrâneo (BIANCARDI, et al, 2012). Neste período houve a seleção de plantas com “raízes” inchadas e maiores, cujas formas resultaram no desenvolvimento da beterraba de mesa moderna, que é consumida principalmente por seus hipocótilos vermelhos e saborosos e, secundariamente por suas lâminas foliares e pecíolos. A beterraba de mesa é cultivada e consumida em todo o mundo tanto como vegetal fresco quanto processado (GALEWSKI et al, 2020).

A cor característica se dá devido à presença de betalaínas, produtos naturais provenientes do grupo dos compostos secundários nitrogenados (PETHYBRIDGE et al, 2018). As betalaínas são pigmentos hidrossolúveis, divididos em duas classes: betacianinas (cor vermelho-violeta) e betaxantinas (amarelo-laranja), caracterizando a coloração típica dos hipocótilos. As betalaínas foram um dos primeiros corantes naturais a serem empregados nas indústrias de alimentos, sendo consideradas muito importantes. Além das propriedades colorantes, as betalaínas são apontadas como nova classe de antioxidantes dietéticos, principalmente devido a sua capacidade de sequestrar radicais livres (KUGLER, 2007).

O consumo de beterraba vermelha regularmente na dieta pode fornecer proteção e prevenção contra determinadas doenças relacionadas com o estresse oxidativo em humanos, como alguns tipos de câncer. A raiz pode ser consumida crua ou cozida, porém são nas folhas que estão concentradas as maiores quantidades de nutrientes e vitaminas por 100 gramas (g) do produto, destacando-se cálcio, ferro, sódio, potássio e vitaminas A, B e C (GENGATHARAN et al, 2015). A beterraba é uma das principais hortaliças cultivadas. Segundo o Censo Agropecuário (IBGE, 2017), existem 24.951 estabelecimentos agrícolas que produzem 134.810 toneladas/ano de beterraba. Os

cinco principais estados produtores são: Paraná, que concentra a maior produção (20,0%), São Paulo (17,0%), Minas Gerais (15,5%), Rio Grande do Sul (15,0%) e Bahia (8,0%).

Há poucas cultivares de beterraba desenvolvidas no Brasil devido à sua exigência de luminosidade para reprodução. Praticamente, todas as cultivares de beterraba de mesa cultivadas no Brasil atualmente são de origem norte-americana ou europeia. Cultivares de formato globular, constituem o grupo denominado Wonder. Cada cultivar contém características individuais quanto ao formato, tamanho, área de inserção foliar, coloração interna e externa de hipocótilo, arquitetura, tamanho e coloração das folhas, tolerância ao calor e à mancha das folhas (*Cercospora beticola*) (TIVELLI et al, 2011).

2.2 BIOFERTILIZANTES COMO ALTERNATIVAS SUSTENTÁVEIS

Atualmente, existem aproximadamente 7.8 bilhões de pessoas vivendo na Terra, e esse número deve continuar subindo para aproximadamente 9 bilhões em torno de 2035 (ONU, 2019). Com o aumento esperado da população mundial, há proporcional aumento nos níveis de poluição, como consequência do rápido crescimento da industrialização e urbanização (GLICK, 2012). Além disso, é um enorme desafio alimentar a grande população atualmente, quadro que deve ficar ainda mais desafiador com o tempo. Nos últimos anos, alternativas sustentáveis para a manutenção, e melhoramento da produção mundial de alimentos têm ganhado foco. Nesse cenário, é essencial que busquemos novas técnicas para que produtividade agrícola seja melhorada para atender a grande demanda de alimentos pela população emergente mantendo e preservando os recursos naturais para próximas gerações (PFISTER et al, 2011).

A alta dependência de insumos químicos para maiores produções agrícolas pode resultar em danos, tanto à biologia e ao meio ambiente, quanto à saúde humana (MAHANTY et al, 2016). Problemas como o acúmulo destes em águas subterrâneas podem causar a eutrofização dos corpos d'água. Além disso podem afetar o solo em termos de esgotamento da capacidade de retenção de água e da fertilidade, ou aumento da salinidade e disparidade nos nutrientes do solo (SAVCI, 2012). Assim, a agricultura

orgânica emergiu como uma área alternativa com potencial econômico, trazendo retornos lucrativos. Por consequência, técnicas que viabilizam o cultivo orgânico, bem como melhoram o manejo integrado da agricultura tradicional, como o uso de biofertilizantes, vêm se mostrando ótimas alternativas e apresentando resultados reais, em termos da crescente demanda por alimentos saudáveis, sustentabilidade a longo prazo e preocupações com a poluição ambiental (REDDY, 2013).

Pela natureza de certos biofertilizantes, alguns atingem resultados fisiológicos consideráveis usando concentrações relativamente pequenas de produto. Sendo assim, podem ser interpretados como estímulos, pois suas concentrações são muito pequenas, agindo como sinalizadores, promovendo o desenvolvimento das culturas, estimulando respostas a estresses, e aumentando raízes que conseqüentemente aumentam a área de absorção de nutrientes. (MÓGOR, 2017; STADINIK et al, 2017).

O conceito de biofertilizantes está definido pelo Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento, na Instrução Normativa 61 de 08 de julho de 2020: “Biofertilizante: produto que contém princípio ativo ou agente orgânico, isento de substâncias agrotóxicas, capaz de atuar, direta ou indiretamente, sobre o todo ou parte das plantas cultivadas, elevando a sua produtividade, sem ter em conta o seu valor hormonal ou estimulante...” (BRASIL, 2020)

2.3 MICROALGAS NA AGRICULTURA

As algas constituem um grande grupo de organismos fotossintéticos, incluindo microalgas eucarióticas e cianobactérias procarióticas, além de macro formas como algas marinhas (RENUKA et al, 2018). A maioria das algas, tanto micro quanto macro, desempenham um papel importante no sequestro ambiental de carbono e são responsáveis por 50% da fotossíntese total na terra (MORONEY et al, 2009). Microalgas verdes e cianobactérias atuam na mineralização, incorporação e mobilização de nutrientes orgânicos (aminoácidos) e inorgânicos (minerais), e na produção de compostos bioativos (polissacarídeos, hormônios de crescimento, compostos antimicrobianos etc.) que podem interferir no crescimento das plantas. Dessa forma tornam-se adequadas como opções de biofertilizantes (JÄGER et al, 2010; STIRK et al,

2013; PRASANNA et al, 2016). Elas têm um papel-chave na manutenção de ecossistemas aquáticos e ciclagem dos nutrientes, melhorando a disponibilidade destes através de ciclos e transformações (MORONEY et al, 2009).

Pioneiras em habitats difíceis, incluindo solos afetados por excesso de sal, contaminação por metais etc., as microalgas podem sobreviver, proliferar, e até dominar tais habitats, facilitando a recuperação dos mesmos. Através da produção de enzimas hidrolíticas e compostos biocidas, algumas exibem efeito antagônico contra muitos patógenos vegetais (PANDEY et al, 2005), sendo consideradas agentes potenciais de biocontrole (RENUKA et al, 2018). As microalgas evoluíram para serem praticamente onipresentes em todo o mundo, e suas variadas distribuições e histórias evolutivas (FEHLING et al 2007) são refletidas em capacidades metabólicas extremamente diversas entre espécies (ANDERSEN, 2013).

Esses diversos metabolismos produzem uma gama de compostos de alto interesse, incluindo nutracêuticos, como os carotenoides produzidos por *Dunaliella* e *Haematococcus* (BOROWITZKA, 2013), os ácidos graxos poli-insaturados (PUFAs) produzidos por várias espécies (RATLEDGE, 2004) e as proteínas de alto valor e carboidratos disponíveis em suplementos de células inteiras de *Spirulina* e *Chlorella* (KHAN et al 2005). Os extratos de algas marinhas podem modificar as respostas de plantas em um nível fundamental (CRAIGIE, 2001). Algas calcáreas do fundo dos oceanos contêm substâncias promotoras de crescimento em plantas, melhorando a qualidade de culturas agrícolas (AMATUSSI et al, 2020). Além disso, algumas microalgas possuem compostos que podem agir como sinalizadores, atuando no metabolismo das poliaminas, promovendo crescimento vegetal (MÓGOR et al, 2017). Já se confirmou o efeito biofertilizante de outras microalgas (*Arthrospira platensis*) em plantas de beterraba, aumentando a concentração de clorofila e aminoácidos em folhas de plântulas (MÓGOR et al, 2018). Novas políticas agrícolas e programas para que novas indústrias incentivem o investimento, construam infraestrutura, e divulguem experiência técnica e informação, são necessárias para criar mercados, que poderiam apoiar o cultivo de biomassa de microalgas, e a expansão desses programas para a produção de insumos agrícolas de origem natural (TRENTACOSTE et al, 2015).

2.4 AMINOÁCIDOS EM PLANTAS

Como o nitrogênio é o nutriente mais limitante para a produção agrícola em muitas áreas do planeta, fertilizantes e biofertilizantes que forneçam nitrogênio são importantes ferramentas para os produtores. O nitrogênio inorgânico fornecido ao solo é incorporado pelas plantas, e transformado em aminoácidos, que são então distribuídos pelas estruturas vegetais (FAGERIA et al, 2005).

Os aminoácidos das plantas desempenham várias funções: são os principais transportadores de nitrogênio no tecido vegetal, precursores de metabólitos importantes como hormônios, moléculas de armazenamento de nitrogênio, moléculas de resposta ao estresse e moléculas de sinalização (TEGEDER, 2012). Os aminoácidos nas plantas são importados para as células do mesofilo para serem usados para fotossíntese, assimilação de carbono e outros processos metabólicos, ou podem ser armazenados transitoriamente como aminoácidos ou proteínas para serem remobilizados durante a fase reprodutiva, agindo como sinalizadores do estado geral da planta (ZHANG, et al, 2014).

A maneira como a planta interpreta sinais exógenos como mudanças ambientais ou ataques de pragas se dá através de sinais metabólicos. Dentre os sinais estão acúmulo de agentes oxidantes, mudanças na concentração de cálcio na célula, e o acúmulo de certos aminoácidos (HÄUSLER, 2014). Este processo é dependente das proteínas receptoras de glutamato (GLR) (MOUSAVI et al, 2013), uma família de canais de íons permeáveis a cátions que modulam processos das plantas, processos que vão desde a defesa contra patógenos, até o crescimento de raízes (FORDE et al, 2014).

Em situações de herbivoria, por exemplo, a glutamato ativa os canais iônicos de GLR, provocando a propagação do sinal de defesa através de alterações no cálcio celular. Estudos sugerem que Glu pode ser um sinal crítico na propagação de longa distância de eventos de sinalização de feridas (TOYOTA et al, 2018). Existem inúmeros canais e transportadores de aminoácidos espalhados pelas células vegetais. É de se esperar, portanto, que a aplicação soluções com aminoácidos induza uma resposta fisiológica em plantas.

2.5 A MICROALGA *Asterarcys quadricellulare*

As algas têm registros muito antigos, estudos datam seus primeiros fósseis conhecidos de 3 a 4 bilhões de anos, quando a microalga mais antiga descoberta, pertencente à grupo de cianobactérias, fora fossilizada em rochas da Austrália Ocidental. Estes organismos apresentam uma enorme biodiversidade, cerca de 200.000 espécies já estão descritas (KALANTARYAN et al, 2019). Uma microalga pouco estudada, mas com grande potencial é a microalga verde eucariótica *Asterarcys quadricellulare* (AST).

A AST é uma espécie isolada a relativamente pouco tempo, Hegewald e colaboradores a identificaram primeiramente em 1992, tratando-a como um gênero difundido de algas verdes tropicais (HEGEWALD & SCHMIDT, 1992). O mesmo autor, 18 anos depois publicou um estudo comparando a microalga, a qual classificou dentro da família *Senedesmus*, depois constatando que a mesma pertencia a um gênero próprio, de uma espécie só, *Asterarcys Comas* (HEGEWALD et al, 2010).

Pouco se sabe das possíveis aplicações dessa microalga, mas estudos recentes mostram que há potencial na produção de ácidos graxos, especialmente do tipo poli insaturado, indicando possíveis aplicações na indústria de energia, e na suplementação alimentar (HONG et al, 2010). Outro estudo, mais recente, verificou que esta espécie também mostra um excelente potencial na produção de carotenoides, de diferentes tipos, produção essa, que se mostra superior à de espécies reconhecidamente produtoras de carotenoides, e utilizadas pela indústria exclusivamente para este fim, mostrando o potencial desta microalga na industrialização destes pigmentos (SINGH et al, 2019).

Dentre os possíveis interesses econômicos no cultivo da AST, destacam-se: a produção de biocombustíveis, suplementos para nutrição e medicina humana, para a alimentação animal, no tratamento de água de dejetos, e em aplicações agrícolas (SINGH et al, 2019).

Esta microalga com alta concentração de proteínas (VARHNEYA et al, 2018) pode fornecer aminoácidos diretamente para as plantas. Extratos de microalgas apresentam muitas substâncias que influenciam o crescimento e desenvolvimento das plantas (YUAN, 2020).

Sabe-se que esses microrganismos podem beneficiar plantas produzindo vitaminas, aminoácidos, polipeptídeos e exopolissacarídeos que melhoram crescimento, defesas e/ou produtividade (KHOLSSI, 2019). Porém os efeitos da aplicação de AST nas plantas, ainda são desconhecidos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 LOCALIZAÇÃO DA ÁREA E CULTIVAR

O experimento foi conduzido na área de Olericultura Orgânica na Estação Experimental do Canguiri, da Universidade Federal do Paraná, localizada no município de Pinhais – PR, situado no Primeiro Planalto Paranaense a 25°23'30" de latitude sul e 49°07'30" de longitude oeste e altitude média de 920 metros, com clima temperado tipo cfb segundo a classificação de Köppen. Análise química da camada de solo de 0-20 cm no local do experimento indicou os valores médios: 6,30 pH (H₂O), 33,30 g.dm⁻³ de matéria orgânica; 0,1331 g.dm⁻³ P; 0,563 g.dm⁻³ K; 1,86 g.dm⁻³ Ca; 0,523 g.dm⁻³ Mg; 0 g.dm⁻³ Al; 0,332 g.dm⁻³ Al + H; e 80% de saturação de base. Sete dias antes da semeadura, o solo foi preparado com rotoencanteirador para a incorporação de 8 t.Ha⁻¹ de composto orgânico com o seguinte valores médios: N= 25 g.kg⁻¹ C = 30,3 g.kg⁻¹ ; P = 8,5 g.kg⁻¹; K = 6,6 g.kg⁻¹; Ca = 8,1 g.kg⁻¹; Mg = 4,1 g.kg⁻¹. A fertilização do solo foi feita respeitando a regulamentação brasileira para agricultura orgânica (BRASIL, 2007).

A cultivar utilizada, Early Wonder Tall Top (TopSeed®), é considerada uma planta de folhagem grande, ereta, com hipocótilos lisos e de coloração vermelha intensa, atingindo peso médio de 200 gramas. O ciclo médio após a semeadura é de 65-75 dias. O método de semeio utilizado foi semeadura direta, realizado em outubro de 2018 em linhas confeccionadas em canteiros de 23,8 metros de comprimento por 1,5 metros de largura. Utilizou-se um marcador para delimitar a distância entre os glomérulos (inflorescência do tipo cimosa múltipara, muito contraída, globosa e com pequenas flores mais condensadas do que no fascículo; fruto da acelga e beterraba), na profundidade de 2 cm, utilizando um espaçamento de 0,25 m entre linhas e 0,10 m entre plantas. O raleio foi realizado com 30 dias após a emergência (DAE).

3.2 A MICROALGA *Asterarcys quadricellulare*

A biomassa de microalga *Asterarcys quadricellulare* (CCAP 294/1) fornecida pela empresa Alltech® Crop Sciences – Brasil, foi produzida em cultivo do tipo mixotrófico e seca por atomização (Spray dryer), obtendo-se um pó fino de cor esverdeada. A concentração de aminoácidos livres totais na biomassa foi de 90,94 mg g⁻¹, correspondendo a 9 % de aminoácidos livres em peso, determinada usando 0,2 mg da biomassa seca diluída em 1,7 mL de etanol a 80% para preparar um extrato do qual 1,0 mL foi diluído em água destilada e deionizada (WINTERS et al, 2002), sendo então realizada a reação colorimétrica.

A biomassa utilizada teve a sua composição de L-aminoácidos livres determinado. A análise do perfil de L-aminoácidos livres presentes em AST (TABELA 1) foi determinado em três etapas, a primeira, adaptado de Dumas (2013), através da análise de amostras para a determinação de nitrogênio e proteína usando o método de combustão. A segunda, por HPLC pelo método sistema Pico-Tag (WHITE et al, 1986). Este método é uma técnica integrada para a derivatização de aminoácidos fenilisotiocianato seguida pela separação de aminoácidos PTC por cromatografia líquida de alta eficiência. Os aminoácidos PTC têm uma forte absorbância ultravioleta; a detecção é feita pela medição desta absorbância a 254 nm. A terceira, a hidrólise de proteínas na determinação de triptofano, (LUCAS, et al, 1980) realizadas com 5 n de NaOH contendo 5% de SnCl₂ e com 4 N de LiOH (o qual reproduz melhores resultados para triptofano), a uma temperatura de 145 °C, e os valores máximos de triptofano foram obtidos com 4-8 hrs de hidrólise. O aminograma foi realizado no laboratório CBO Análises – Valinhos, São Paulo.

Tabela 1. Aminograma da biomassa de *Asterarcys quadricellulare* obtida em sistema mixotrófico.

Análises	Resultados
Ácido Aspartico	3,32%
Ácido Glutâmico	4,27%
Serina	1,68%
Glicina	1,54%
Histidina	0,71%
Taurina	Não Detectado
Arginina	2,17%
Treonina	1,45%
Alanina	2,41%
Prolina	1,6%
Tirosina	0,95%
Valina	1,81%
Metionina	0,51%
Cistina	0,29%
Isoleucina	1,41%
Leucina	2,36%
Fenilalanina	1,37%
Lisina	2,11%
Triptofano	0,37%

3.3 TRATAMENTOS

Foram realizadas pulverizações foliares de suspensões contendo a biomassa da microalga em tratamentos dispostos em delineamento inteiramente casualizado, com aplicações de soluções contendo quatro concentrações (50 g.L⁻¹; 100 g.L⁻¹; 150 g.L⁻¹ e 250 g.L⁻¹) de *Asterarcys quadricellulare* (AST), além do tratamento controle com aplicação de água, em quatro repetições cada. Destas suspensões, retiraram-se alíquotas de 1 mL, que foram então diluídas em um litro para o preparo da calda aplicada às plantas de beterraba. Desta forma, proporcionalmente, as aplicações de AST apresentaram as seguintes concentrações da biomassa na calda de pulverização: 0,05g; 0,1 g; 0,15g e 0,25g de AST respectivamente.

Os canteiros foram divididos em 20 parcelas de 1,3 m² cada, contendo 52 plantas por parcela. As aplicações semanais iniciaram-se aos 30 dias após a emergência (DAE), imediatamente após o raleio, finalizando uma semana antes da colheita, somando um total de 11 aplicações. Estas foram feitas com pulverizador pressurizado de CO₂ com

pressão constante (45 psi) e consumo de calda de 50 ml por parcela, equivalendo ao volume de 394 L. ha⁻¹ de calda aplicada. Foram determinadas a produção, variáveis biométricas e bioquímicas.

3.4 AVALIAÇÕES BIOMÉTRICAS

Aos 80 DAS foram realizadas as colheitas para análises biométricas e bioquímicas das plantas. De cada parcela foram coletadas oito plantas centrais. Foram analisadas: parte aérea e hipocótilos. Os hipocótilos foram pesados e classificados individualmente, com o auxílio de um padrão, dentro das seguintes classes: I – Diâmetros até 35 mm, II – Diâmetros de 35 até 50 mm, III (classe comercialmente conhecida como 1A ou “média”) – Diâmetros de 50 até 70 mm, e IV (classe comercialmente conhecida como 2A ou “graúda”) – Diâmetros maiores que 70 mm. Foram avaliadas as massas, área foliar, e composição bioquímica. As massas frescas (g) foram aferidas em balança de precisão. Então, as massas secas (g) foram quantificadas, somente após secagem em estufa a 65 °C com circulação de ar forçada, até atingirem valor constante, pesadas em balança de precisão. A área foliar (cm²) foi obtida por meio do programa computacional WinRhizo®, acoplado a um Scanner LA1600 (Regent Instruments Inc., Canadá).

3.5 ANÁLISES BIOQUÍMICAS

No mesmo momento das coletas para análises biométricas, foram coletadas 4 plantas centrais nas parcelas, entre 9:00 e 10:00h, para realização das análises bioquímicas das folhas e hipocótilos. As folhas analisadas seguiram um padrão de seleção para todas as amostras, sempre duas folhas do terço médio das plantas, totalmente desenvolvidas. Folhas e hipocótilos foram congelados e macerados em nitrogênio líquido, até a obtenção de um pó fino.

A extração dos açúcares totais foi realizada segundo Maldonade et al (2013) com modificações. As amostras foram obtidas por hidrólise ácida e posterior reação com DNS. A curva padrão para açúcares totais foi feita com glicose a 1 mg mL⁻¹ (5,5 mM) com valores entre 50 a 800 µg mL⁻¹. A leitura foi realizada a 540 nm. Os valores foram expressos em µg de açúcares por g material vegetal fresco.

Realizaram-se duas análises para clorofilas. A primeira aos 60 DAE, determinou os teores relativos de clorofila através do aparelho clorofilômetro N-Tester. Para a segunda, a extração dos pigmentos das amostras foi realizada segundo Lichtenthaler (1987) com modificações. Em microtubo foi adicionado 0,3 g material vegetal macerado e 1,8 mL de acetona 80% em H₂O destilada com 0,1% CaCO₃ (p/v) (POMPELLI et al 2013); após centrifugação (9335 g por 2 segundos) o sobrenadante foi utilizado para as leituras a 663, 647 e 470 nm. Foram utilizadas as fórmulas descritas por Lichtenthaler e Buschmann (2001) e os valores expressos em µg de clorofila por g de material vegetal fresco.

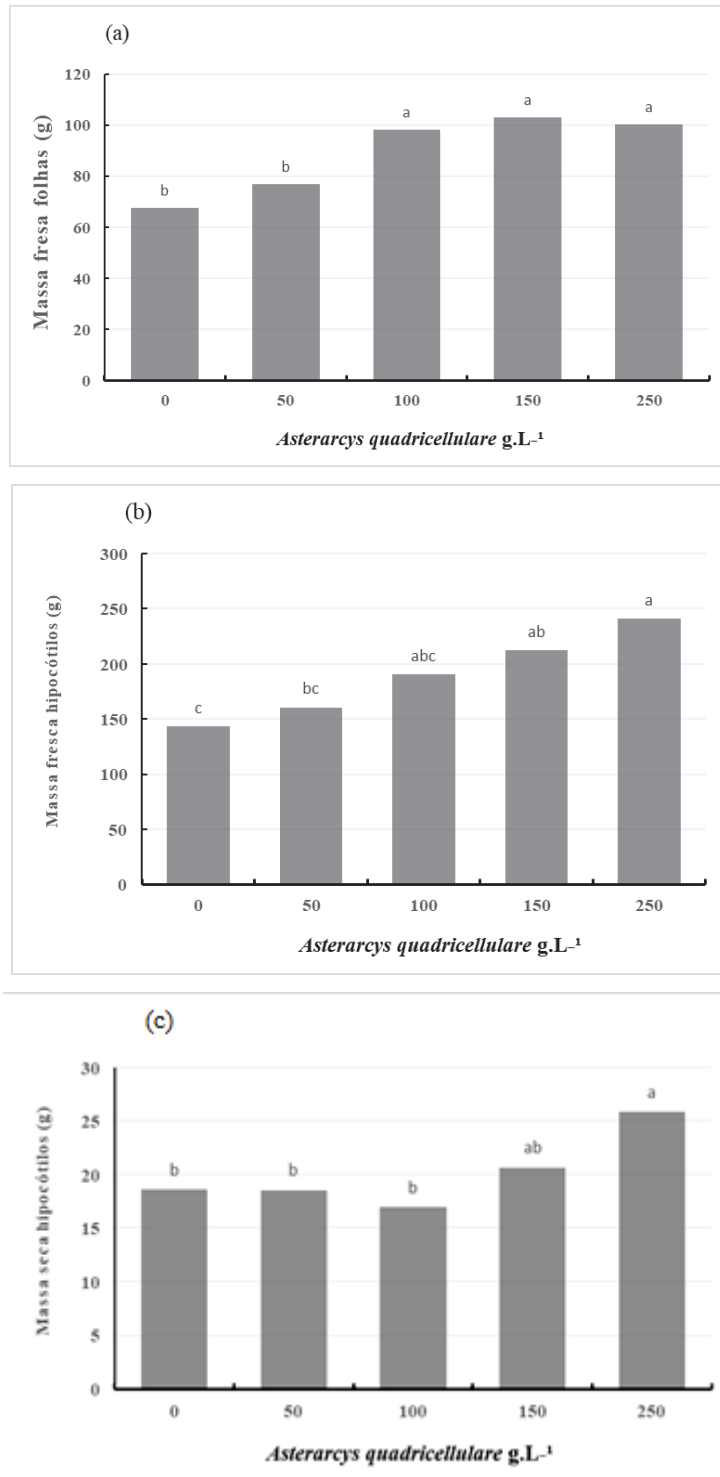
Os aminoácidos livres totais foram extraídos segundo Winters et al (2002) e a reação colorimétrica foi realizada segundo Magné e Larher (1992). A curva padrão foi feita com glutamina e asparagina a 2 mM com valores entre 28 e 140 µg. ml⁻¹. A leitura foi feita a 570 nm. Os resultados foram expressos em µg de aminoácidos livres totais por g de material vegetal fresco.

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A normalidade dos dados foi testada por meio do teste de Shapiro-Wilk, e a homoscedasticidade, através do teste de Bartley. Os dados que não apresentaram normalidade e/ou homoscedasticidade foram transformados por Box-Cox, para atender aos critérios da ANOVA. Quando mesmo com a transformação dos dados não houve atendimento aos pré-requisitos da ANOVA, utilizou-se o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, seguido por Duncan Test quando $p < 0,05$. As variáveis com diferenças significativas foram submetidas à análise de regressão, e à comparação de médias pelo teste de Duncan para coeficientes de determinação (R^2) $< 0,7$. As análises estatísticas foram realizadas através dos softwares Assistat (Silva e Azevedo).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As aplicações da biomassa de AST apresentaram efeito promovendo o crescimento vegetal, alterando variáveis biométricas. A massa fresca de folhas foi influenciada pela aplicação da AST, e as três maiores concentrações resultaram em incrementos (FIGURA 1 – a) chegando a um aumento de 52,5 % em relação ao controle (para AST 150 g.L⁻¹). A massa seca das folhas não diferiu estatisticamente do controle, apresentando média geral de 9,62g, com variação de 21,5%. As massas dos hypocótilos apresentaram alterações em plantas tratadas com a microalga. Para massa fresca, a aplicação da solução de *Asterarcys quadricellulare* à 250 g. L⁻¹ (AST250) interferiu significativamente, resultando em um aumento de 53,6% comparando ao controle (FIGURA 1 – b). Já para massa seca dos hypocótilos, as aplicações de AST250 promoveram aumento em até 27,4%, comparado ao controle (FIGURA 1 – c). O efeito de microalgas também foi observado de maneira similar em plantas de alface (*Lactuca sativa*), onde sua aplicação aumentou o peso fresco e seco de mudas, bem como o conteúdo de pigmentos (FAHEED et al, 2008).



*Médias contendo a mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

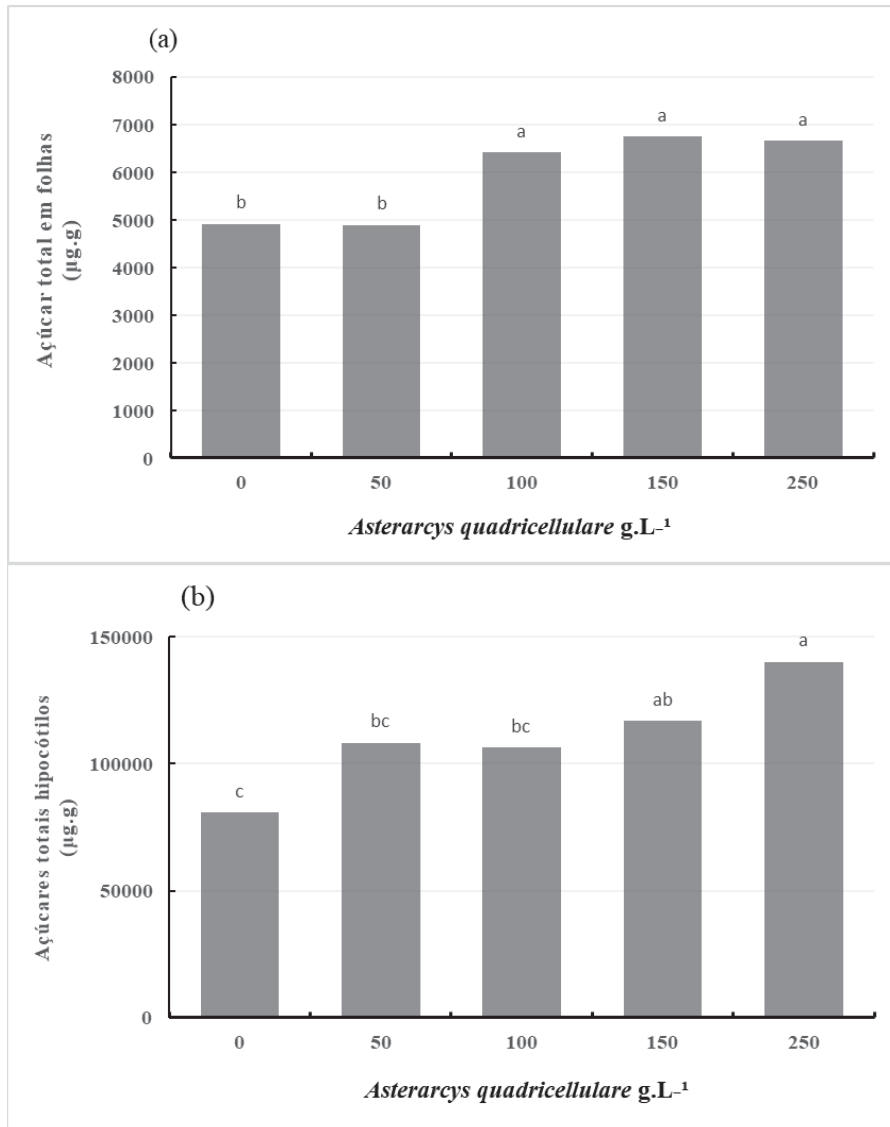
Figura 1. Massa fresca de folhas (a), Massa fresca de hipocótilos (b), e massa seca de hipocótilos (c) de beterrabas submetidas à aplicações foliares de *Asterarcys quadricellulare*.

Os dados indicam que a aplicação da AST250 promoveram nas folhas e hipocótilos de beterraba o aumento das suas massas comparados às plantas que não receberam a aplicação da microalga, aumento poderia traduzir-se em melhoria da produtividade, visto que o acúmulo de biomassa foram significativamente maiores em plantas tratadas com a maior concentração da microalga.

. Aplicações com aminoácidos podem resultar em plantas com maiores teores de proteínas totais solúveis nas folhas e maior atividade de enzimas (LAMBALIS, 2011). A aplicação de AST mostrou um incremento considerável nos aminoácidos livres das folhas. Nas avaliações bioquímicas verificou-se um efeito linear no aumento das concentrações de aminoácidos (FIGURA 3). Esse incremento chegou a 154,6% para AST250 comparando ao controle.

A determinação da área foliar (dados não apresentados) não detectou efeito significativo na expansão das folhas das plantas de beterraba, mas houve variação de 777,28 cm² para o controle, com o menor valor, até AST 250 g. L⁻¹ com 896,68 cm².

Nas avaliações bioquímicas para açúcares nos tecidos vegetais, houve mudanças significativas tanto em folhas quanto em hipocótilos. Isso pode indicar que houve melhora na fixação de carbono em carboidratos pelas plantas que receberam a aplicação da microalga. As folhas que receberam o spray da solução de AST250 apresentaram, em média, um incremento de 30,6% nos teores de açúcares totais no tecido foliar (FIGURA 2 - a).



*Médias contendo a mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

Figura 2. Açúcares totais em folhas (a) e Açúcares totais em hipocótilos (b) de beterrabas submetidas a aplicações foliares de *Asterarcys quadricellulare*

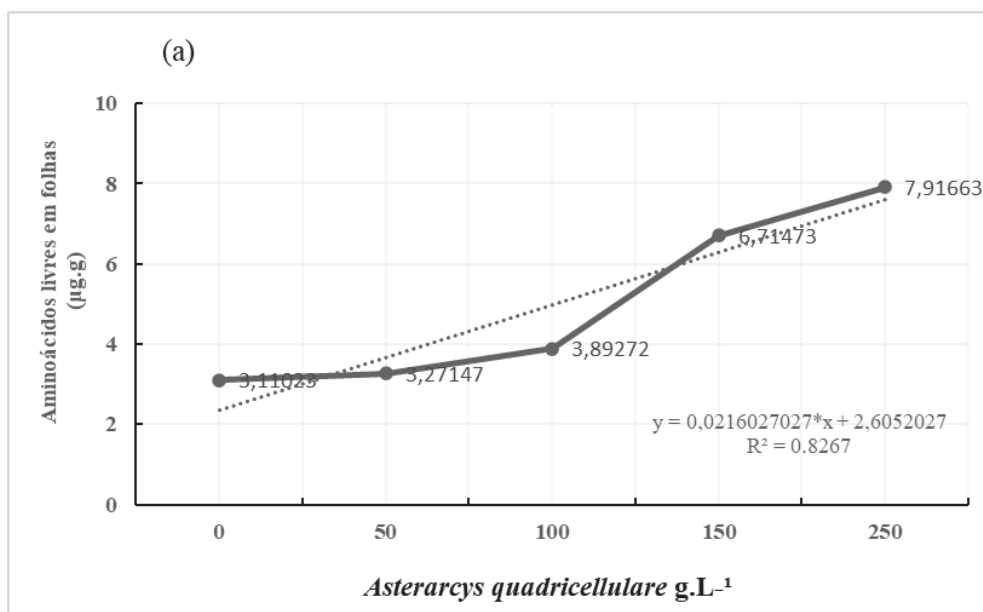


Figura 3. Aminoácidos livres em folhas de beterrabas submetidas a aplicações foliares de *Asterarcys quadricellulare*.

Os hipocótilos de plantas tratadas pela solução de AST250, por sua vez, apresentaram 73,7% mais açúcares que os hipocótilos das plantas controle (FIGURA 2 - b). Mas enquanto o aumento de carboidratos em folhas de plantas tratadas foi de 30,6 %, este incremento foi de 73,7% em açúcares dos hipocótilos, comparado à média dos controles. Isto indica que estes fotoassimilados foram translocados das folhas fonte, onde houve a aplicação da microalga, em direção aos drenos, que, no ciclo da beterraba, é o hipocótilo em constante expansão. Alguns estudos feitos com aplicações foliares de L- aminoácidos (L-aa) em variadas formas, também alcançaram resultados similares, melhorando variáveis bioquímicas das plantas, demonstrando a relação que pode haver entre um maior fornecimento de aminoácidos e a otimização do metabolismo vegetal (TSOUVALTZIS et al, 2014; KHAN et al, 2012; YU et al, 2019).

O resultado do aminograma da biomassa de AST mostra que alguns L-aa estão presentes em maiores concentrações que outros. Nota-se que o mais presente é o ácido glutâmico/glutamato (Glu) (TABELA 1). O esqueleto de carbono de glutamina (Gln) e Glu está diretamente ligado com a síntese primária de energia. As vias de biossíntese para

esses L-aa são reguladas em múltiplos níveis e, por sua vez, servem para comunicar vias de desenvolvimento da planta (OKUMOTO, 2016).

Estes L-aa (Gln/Glu) também atuam como moléculas precursoras ou como sinalizadoras vegetais. É bem estabelecido que a adição de Gln/Glu induz uma mudança transcricional em plantas (GUTIÉRREZ et al, 2008), e o desequilíbrio destes aminoácidos induz respostas ao estresse (YU et al, 2015). O aa GABA (ácido γ -aminobutírico), que é sintetizado a partir da glutamina por uma única reação de descarboxilação, desempenha um papel versátil nas plantas, é importante no metabolismo primário de carbono e nitrogênio, além de ser uma parte integrante do ciclo de Krebs ou TCA (respiração celular aeróbica) em condições de estresse e não estresse. Junto com a prolina, é um dos osmólitos mais acumulados pelas células vegetais quando em estresse (SEABRA et al, 2015). Portanto, a aplicação de uma biomassa rica em glutamato pode ter influenciado as plantas em níveis muito diferentes, que se complementam, resultando na melhora de produtividade de forma linear em função do aumento da concentração de AST.

Os resultados obtidos podem ser explicados por uma combinação entre o fornecimento direto de L-aa e a sinalização metabólica, visto que existe um grande número de transportadores de L-aa nas membranas das células vegetais, que agem como sensores e sinalizadores, e atuam na regulação das plantas, ajudando o processo de resposta ao ambiente e promoção do crescimento (DINKELLOO et al; 2018; YANG et al, 2020).

O conteúdo de clorofila foi determinado em dois momentos do cultivo. Em nenhuma das análises houve diferenças significativas no conteúdo de clorofila das plantas. Os testes laboratoriais para clorofila total resultaram em quantias que foram de 118 $\mu\text{g/g}$ para o controle, até 123 $\mu\text{g/g}$ para AST250, com uma média geral de 108 $\mu\text{g/g}$, e uma variação de 19%. Além da clorofila, os carotenóides foram determinados, e os resultados foram de 49,5 $\mu\text{g/g}$ em média, para o controle, até 61,6 $\mu\text{g/g}$ para AST250, sendo a média geral 48,1 e uma variação de 21%, não diferindo estatisticamente.

Observou-se que os tratamentos com AST250 aumentaram a produtividade das plantas tratadas em comparação com as do controle. Isto se mostrou possível pelo aumento das massas com a aplicação da microalga, maiores massas, traduziram em

maior produtividade por hectare. Os dados (FIGURA 4) para produção apresentaram um comportamento linear ajustando-se ao modelo de regressão calculado com R^2 de 83%.

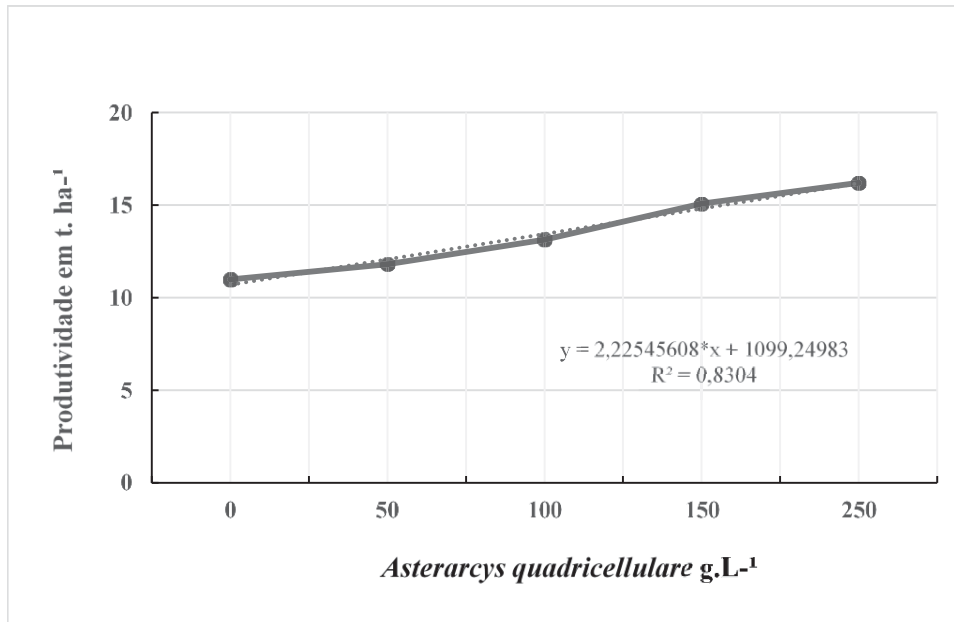
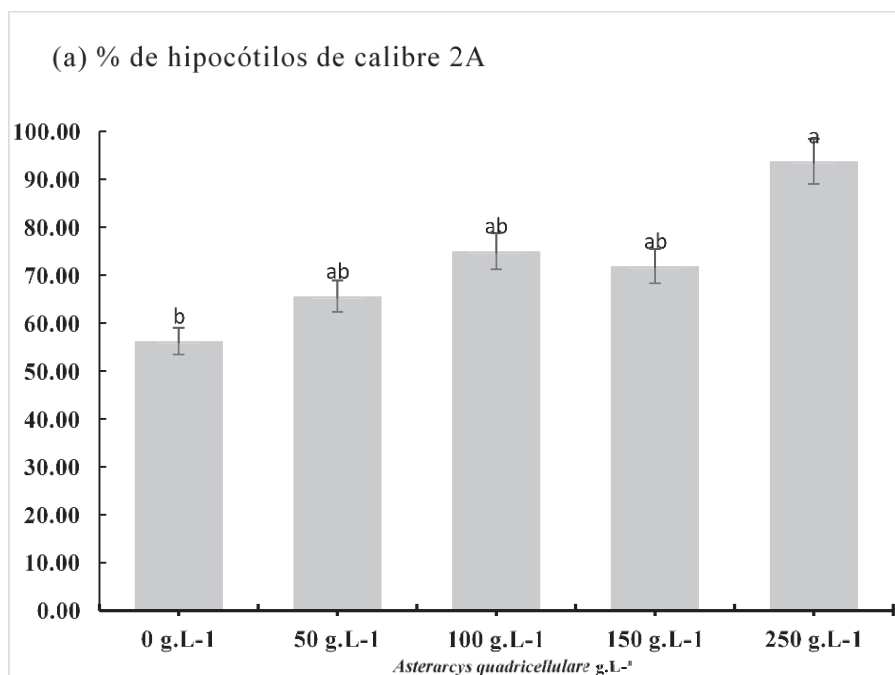


Figura 4. Produtividade média de plantas de beterrabas submetidas a aplicações foliares de *Asterarcys quadricellulare*.

O aumento da produtividade está relacionado à expansão dos hipocótilos, como apresentado na classificação dos mesmos, por diâmetros. Ocorreu o aumento na porcentagem de hipocótilos na classificação 2A ($\varnothing > 70$ mm) para a AST250 comparado ao controle (FIGURA 5). Na comercialização da beterraba, os diâmetros de maior interesse comercial e, portanto, de maior valor para o produtor de beterrabas, estão nas classes III e IV (2A). Houve um aumento de produção com AST250, em peso, e em porcentagem de hipocótilos 2A, comparado ao controle. Assim os ganhos foram tanto em produtividade por hectare quanto no valor por hipocótilo, pois uma melhoria na formação de produtos com bom padrão comercial, rá reverter em preços de venda superiores quando comparados aos preços de hipocótilos menores, fora de padrão comercial



*Somos contendo a mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis a 5% de probabilidade ($p < 0,05$).

Figura 5. Valores da soma das classificações (ASR) em Porcentagem dos calibres de hipocótilos de beterrabas tratadas com diferentes concentrações de *Asterarcys quadricellulare*.

Em estudo usando biomassa de *Arthrospira platensis*, ocorreu o aumento significativo no crescimento do hipocótilo de beterraba (MÓGOR et al, 2018). Um biofertilizante da microalga *Chlorella vulgaris* aumentou as variáveis biométricas e de produção quando aplicada em feijão preto. Essas mudanças foram atribuídas aos aminoácidos e carboidratos presentes nas microalgas (DINESHKUMAR et al, 2020).

O crescimento de órgãos dreno, como um hipocótilo em expansão, depende fortemente da quantidade de compostos nitrogenados e açúcares transportados das folhas fonte para tais tecidos dreno (THOMAS, et al, 2009).

De acordo com o aminograma (TABELA 1) *Asterarcys quadricellulare* é fonte de todos os L-aminoácidos produzidos pelas plantas. Dos 21 L-aa proteinogênicos, a arginina tem a maior quantidade de nitrogênio, tornando-a um importante reserva e meio de transporte deste elemento, sendo a arginina o quinto lugar na escala de concentração do aminograma de AST (TABELA 1). Este aminoácido é o precursor de poliaminas e do

óxido nítrico, portanto, também reproduz papéis cruciais na regulação dos processos de desenvolvimento, bem como as respostas ao estresse (WINTER et al, 2015).

L-triptofano é conhecido por ser um precursor de auxinas e melatonina em plantas superiores. Pesquisas mostraram que o L-triptofano tem um efeito mais positivo no crescimento e rendimento da planta em comparação com suas próprias auxinas (MUSTAFA et al, 2018; PIZARRO-TOBIAS et al, 2020). L-triptofano pode atuar como um osmólito ou regulador de transporte de íons, modulando a abertura estomática e diminuindo os efeitos nocivos dos metais pesados (HILDEBRANDT et al, 2015).

AST é composta por uma grande quantidade de L-aminoácidos livres e carboidratos, esses aminoácidos podem atuar no metabolismo da planta, melhorando o rendimento estimulando a atividade da enzima nitrato redutase (RÖDER et al, 2018), aumentando a síntese endógena de aminoácidos e sua concentração no tecido vegetal, como nas folhas de beterraba (FIGURA 3).

Um incremento na produção de carboidratos e produtividade, como vistos neste trabalho, podem ser atribuídos ao fornecimento de variados aminoácidos e ao conjunto de compostos bioquímicos que microalgas naturalmente produzem (SAFI et al, 2014). O fornecimento de aminoácidos livres pode ter influenciado o crescimento vegetal e o acúmulo de compostos bioquímicos, a translocação de fotoassimilados, ou a atividade hormonal das plantas, mudanças que resultaram em um incremento em crescimento e produtividade. O notável aumento de aminoácidos em folhas de beterraba obtido com a aplicação de AST250, pode ter estimulado a translocação de fotoassimilados para tecidos dreno como os hipocótilos em expansão. Essa melhora se traduziu em um incremento significativo em produtividade, de aproximadamente 53%.

Os dados apresentaram o efeito de *Asterarcys quadricellulare*, como uma promissora fonte natural de L-aminoácidos livres bioativos para uso como biofertilizante. Novos estudos devem ser conduzidos para melhor elucidar os mecanismos fisiológicos relacionados aos resultados obtidos nessa pesquisa.

5 CONCLUSÃO

A aplicação da biomassa da microalga *Asterarcys quadricellulare* (CCAP 294/1) teve influência significativa nos parâmetros de crescimento e produtividade em beterrabas cultivadas em sistema orgânico. A suspensão que promoveu melhores resultados foi a de concentração 250 g. L⁻¹, que corresponde a 0,25 g.L⁻¹ da biomassa da microalga, apresentando efeito biofertilizante. Esses resultados podem ser atribuídos em parte aos L-aminoácidos livres biologicamente ativos presentes na biomassa. Uma concentração baixa, como a aplicada neste estudo, promoveu o aumento da biomassa de beterraba, aumento na concentração de açúcares nas folhas e hipocótilos, aumento na concentração de aminoácidos nas folhas, da expansão e classificação dos hipocótilos, com significativo aumento da produtividade.

6 REFERÊNCIAS

AMATUSSI, J.O., MÓGOR, Á.F., MÓGOR, G. et al (2020) **Novel use of calcareous algae as a plant biostimulant.** Journal Applied Phycology 32, 2023–2030. <https://doi.org/10.1007/s10811-020-02077-5>

ANDERSEN, R.A. (2013), **The microalgal cell.** In: Richmond A, Hu Q (eds) Handbook of microalgal culture: applied phycology and biotechnology, 2nd edn. Wiley, Oxford, pp 1–20.

AZAMAN, S. N. A., NAGAO, N., YUSOFF, F. M., TAN, S. W., & YEAP, S. K. (2017). **A comparison of the morphological and biochemical characteristics of Asterarcys sorokiniana and Asterarcys zofingiensis cultured under photoautotrophic and mixotrophic conditions.** PeerJournal, 5, e3473. doi:10.7717/peerj.3473

BARONE, V.; BAGLIERI, A.; STEVANATO, P.; BROCCANELLO, C.; BERTOLDO, G.; BERTAGGIA, M.; CAGNIN, M.; MOLITERNI, V. M. C.; MANDOLINO, G.; FORNASIER, F.; SQUARTINI, A.; NARDI, S.; CONCHERI, G. (2018) **Root morphological and molecular responses induced by microalgae extracts in sugar beet (Beta vulgaris L.).** Journal of Applied Phycology, v. 30, n.2.

BIANCARDI E., PANELLA L. W., LEWELLEN R. T. (2012). **Beta Maritima: The Origin of Beets.** New York, NY: Springer

BOROWITZKA, M.A. (2013) **High-value products from microalgae—their development and commercialisation.** Journal Applied Phycology 25:743–756

BRASIL. **Decreto nº 6.323, de 27 de dezembro de 2007.** Presidência da República Casa Civil Subchefia para Assuntos Jurídicos. Regulamenta a Lei no 10.831, de 23 de dezembro de 2003, que dispõe sobre a agricultura orgânica, e dá outras providências.

BRASIL. **Instrução normativa No 61**, de 08 de julho de 2020. MAPA – Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento.

BRÜCKNER, H., WESTHAUSER, T. (2003) **Chromatographic determination of L- and D-amino acids in plants**. *Amino Acids* 24, 43–55

BUSCHMANN, C. (2001) **ASTorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV–VIS spectroscopy**. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, p. F4.3.1–F4.3.8.

CASTRO, D. S. J., CALIJURI, M. L., FERREIRA, J., ASSEMAN, P. P., & RIBEIRO, V. J. (2020). **Microalgae based biofertilizer: A life cycle approach**. *Science of The Total Environment*, 138138. doi:10.1016/j.scitotenv. 2020.138138.

CORRÊA, C. V., CARDOSO, A. I., SOUZA, L. G., ANTUNES, W. L., & MAGOLBO, L. A. (2014). **Produção de beterraba em função do espaçamento**. *Horticultura Brasileira*, 32(1), 111–114. doi:10.1590/s0102-05362014000100019

CRAIGIE, JAMES. (2011). **Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture**. *Journal of Applied Phycology*. 23. 371-393. 10.1007/s10811-010-9560-4.

DINESHKUMAR, R., SUBRAMANIAN, J. & SAMPATHKUMAR, P. (2020) **Prospective of *Chlorella vulgaris* to Augment Growth and Yield Parameters Along with Superior Seed Qualities in Black Gram, *Vigna mungo* (L.)**. *Waste Biomass Valor* 11, 1279–1287

DINKELOO, K, BOYD, S, PILOT, G; (2018) **Update on amino acid transporter functions and on possible amino acid sensing mechanisms in plants**, *Seminars in Cell & Developmental Biology*, Volume 74, 2018, Pages 105-113, ISSN 1084-9521, <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2017.07.010>

JEAN--BAPTISTE DUMAS (Adaptado) CBAA, **Método nº 45 - Proteína – Método Dumas**. Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal, p 168-170, 2013

FAGERIA, N. K., & BALIGAR, V. C. (2005). **Enhancing Nitrogen Use Efficiency in Crop Plants**. *Advances in Agronomy*, 97–185. doi:10.1016/s0065-2113(05)88004-6

FAHEED, F.A. and Z. Abd-El Fattah, 2008. **Effect of Asterarcys vulgaris as bio-fertilizer on growth parameters and metabolic aspects of lettuce plant**. *Journal Agricultural Society Science.*, 4: 165–69

FEHLING J, STOECKER D, BALDAUF SL, FALKOWSKI PG, KNOLL AH (2007) **Photosynthesis and the eukaryote tree of life**. In: Falkowski PG, Knoll AH (eds) *The evolution of primary producers in the sea*. Academic Press, New York, pp 76–107.

FONTES, P.C.R. (2005) *Olericultura: teoria e prática*. Viçosa: Suprema. 486p.

FORDE, B. G., & ROBERTS, M. R. (2014). **Glutamate receptor-like channels in plants: a role as amino acid sensors in plant defence?** *F1000Prime Reports*, 6. doi:10.12703/p6-37

GALEWSKI, P.; MCGRATH, J.M. (2020) **Genetic diversity among cultivated beets** (*Beta vulgaris*) assessed via population-based whole genome sequences. *BMC Genomics* 21, 189. <https://doi.org/10.1186/s12864-020-6451-1>

GENGATHARAN, A; DYKES, G, CHOO, W. (2015) **Betalains: Natural plant pigments with potential application in functional foods**, *LWT - Food Science and Technology*, Volume 64, Issue 2, 2015, Pages 645-649, ISSN 0023-6438, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.06.052>

GLICK, BERNARD R. PY - 2012 DA - (2012) - **Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications** SP - 963401 October, 11, VL - 2012 UR - <https://doi.org/10.6064/2012/963401> JF - Scientifica PB - Hindawi Publishing Corporation.

GUTIÉRREZ, R. A., STOKES, T. L., THUM, K., XU, X., OBERTELLO, M., KATARI, M. S., et al (2008). **Systems approach identifies an organic nitrogenresponsive gene network that is regulated by the master clock control gene CCA1**. Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A. 105, 4939–4944. doi: 10.1073/pnas.0800211105

HÄUSLER, R. E., LUDEWIG, F., & KRUEGER, S. (2014). **Amino acids – A life between metabolism and signaling**. Plant Science, 229, 225–237. doi:10.1016/j.plantsci.2014.09.01

HILDEBRANDT, T.M., NUNES NESI, A., ARAÚJO, W.L., BRAUN, H.P., (2015). **Amino Acid Catabolism in Plants**. Molecular Plant 8, 1563–1579

HEGEWALD, E. & SCHMIDT, A. (1992). **Asterarcys Comas, eine weit verbreitete tropische Grünalgen-gattung**. Algological Studies/Archiv für Hydrobiologie, Supplement Volumes 66: 25-30.

HEGEWALD, E., WOLF, M., KELLER, A., FRIEDL, T., & KRIENITZ, L. (2010). **ITS2 sequence-structure phylogeny in the Scenedesmaceae with special reference to Coelastrum (Chlorophyta, Chlorophyceae), including the new genera Comasiella and Pectinodesmus**. Phycologia, 49(4), 325–335. doi:10.2216/09-61.1

IBGE (2017) **Censo Agropecuário do Brasil**. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <https://censos.ibge.gov.br/agro/2017/resultados-censo-agro-2017.html>

JÄGER, K., BARTÓK, T., ÖRDÖG, V., & BARNABÁS, B. (2010). **Improvement of maize (*Zea mays* L.) anther culture responses by algae-derived natural substances**. South African Journal of Botany, 76(3), 511–516.

KALANTARYAN, N. K. AND STEPANYAN, L. A. AND DADAYAN, A. S. AND MINASYAN, E. V. AND GOGINYAN, V. B. (2019) **Comparative characteristics of green microalgae *parachlorella kessleri* and *chlorella vulgaris* as a protein additive**. Հայաստանի քիմիական հանդես. Chemical Journal of Armenia. Химический журнал Армении, 72 (3). pp. 249-255. ISSN 0515-9628

KHAN Z, BHADOURIA P, BISEN PS (2005) **Nutritional and therapeutic potential of spirulina**. Current Pharmaceutical Biotechnology 6:373–379.

KHAN, A.S., B. AHMAD, M.J. JASKANI, R. AHMAD AND A.U. Malik, (2012). **Foliar application of mixture of amino acids and seaweed (*Ascophylum nodosum*) extract improve growth and physico-chemical properties of grapes**. International Journal of Agriculture And Biology, 14: 383–388

KHOLSSI, R., MARKS, E.A.N., MIÑÓN, J. ET AL **Biofertilizing Effect of *Asterarcys sorokiniana* Suspensions on Wheat Growth**. Journal of Plant Growth Regulation 38, 644–649 (2019). <https://doi.org/10.1007/s00344-018-9879-7>

KUGLER, F.; STINTZING, F.; CARLE, R. (2007) **Evaluation of the antioxidant capacity of betalainic fruits and vegetables**. Journal Applied Botany. Food Qual., 81, 69-76.

LAMBAIS, G. R. (2011) **Aminoácidos Coadjuvantes da Adubação Foliar e do Uso do Glifosato na Cultura da Soja**. 97 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia e Bioquímica de Plantas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Quieroz, Piracicaba.

LICHTENTHALER, H. K. **ASTorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes**. Methods in Enzymology, v.148, p.350-382, 1987.

LUCAS, B., SOTELO, A.; (1980) **Effect of different alkalies, temperature, and hydrolysis times on tryptophan determination of pure proteins and of foods**, Analytical Biochemistry, Volume 109, Issue 1, 1980, Pages 192-197, ISSN 0003-2697, [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(80\)90028-7](https://doi.org/10.1016/0003-2697(80)90028-7).

MAGNÉ, C.; LARHER, F. **High sugar content interferes with colorimetric determination of amino acids and free proline**. Analytical Biochemistry, v. 200, p. 115–118. 1992.

MAHANTY, T., BHATTACHARJEE, S., GOSWAMI, M., BHATTACHARYYA, P., DAS, B., GHOSH, A., & TRIBEDI, P. (2016). **Biofertilizers: a potential approach for sustainable agriculture development**. Environmental Science and Pollution Research, 24(4), 3315–3335. doi:10.1007/s11356-016

MALDONADE, I. R.; CARVAHO, P. G. B.; FERREIRA, N. A. **Protocolo para a Determinação de Açúcares Totais em Hortaliças pelo Método de DNS** . Comunicado Técnico, 85, EMBRAPA, p. 1-4. 2013.

MÓGOR, Á. F., ÖRDÖG, V., LIMA, G. P. P., MOLNÁR, Z., & MÓGOR, G. (2017). **Biostimulant properties of cyanobacterial hydrolysate related to polyamines**. Journal of Applied Phycology, 30(1), 453–460. doi:10.1007/s10811-017-1242-z

MÓGOR, A.F., DE OLIVEIRA AMATUSSI, J., MÓGOR, G. AND DE LARA, G.B. (2018) **Bioactivity of Cyanobacterial Biomass Related to Amino Acids Induces Growth and Metabolic Changes on Seedlings and Yield Gains of Organic Red Beet**. American Journal of Plant Sciences, 9, 966-978. <https://doi.org/10.4236/ajps.2018.95074>

MORONEY, J.V., YNALVEZ, R.A., (2009). **Algal photosynthesis**. In: eLS, September 2009. John Wiley & Sons Ltd, Chichester. <http://www.els.net>

MOUSAVI, S. A. R., CHAUVIN, A., PASCAUD, F., KELLENBERGER, S., & FARMER, E. E. (2013). **GLUTAMATE RECEPTOR-LIKE genes mediate leaf-to-leaf wound signalling**. *Nature*, 500 (7463), 422–426. doi:10.1038/nature12478

MUSTAFA, A., IMRAN, M., ASHRAF, M., MAHMOOD, K., 2(018). **Perspectives of Using L-Tryptophan for Improving Productivity of Agricultural Crops: A Review**. *Pedosphere* 28, 16–34

OKUMOTO, S., FUNCK, D., TROVATO, M., & FORLANI, G. (2016). Editorial: **Amino Acids of the Glutamate Family: Functions beyond Primary Metabolism**. *Frontiers in Plant Science*, 7. doi:10.3389/fpls.2016.00oku

PANDEY, K. D., SHUKLA, P. N., GIRI, D. D., & KASHYAP, A. K. (2005). **Cyanobacteria in alkaline soil and the effect of cyanobacteria inoculation with pyrite amendments on their reclamation**. *Biology and Fertility of Soils*, 41(6), 451–457.

PETHYBRIDGE, S., KIKKERT, J., HANSON, L., & NELSON, S. (2018). **Challenges and Prospects for Building Resilient Disease Management Strategies and Tactics for the New York Table Beet Industry**. *Agronomy*, 8(7), 112. doi:10.3390/agronomy8070112

PFISTER, S., BAYER, P., KOEHLER, A., HELLWEG, S., (2011) **Projected water consumption in future global agriculture: Scenarios and related impacts**, *Science of The Total Environment* Volume 409, Issue 20, 15 September, Pages 4206-4216

POMPELLI, M. P.; FRANÇA, S. C.; TIGRE, R. C.; OLIVEIRA, M. T.; SACILOT, M.; PEREIRA, E. C. (2013) **Spectrophotometric determinations of ASToroplastidic pigments in acetone, ethanol and dimethylsulphoxide**. *Revista Brasileira de Biociências*, v. 11, n.1, p. 52-58.

PRASANNA, R., KANCHAN, A., RAMAKRISHNAN, B., RANJAN, K., VENKATACHALAM, S., HOSSAIN, F. NAIN, L. (2016). **Cyanobacteria-based bioinoculants influence growth and yields by modulating the microbial communities favourably in the rhizospheres of maize hybrids**. European Journal of Soil Biology, 75, 15–23.

RATLEDGE C (2004) **Fatty acid biosynthesis in microorganisms being used for single cell oil production**. Rec Adv Lip Metab Relat Disord 86:807–815.

REDDY, S B., (2015). **Soil Health: Issues and Concerns - A Review**, Working Papers id:7599, eSocialSciences.

RENUKA, N., GULDHE, A., PRASANNA, R., SINGH, P., & BUX, F. (2018). **Microalgae as multi-functional options in modern agriculture: current trends, prospects and challenges**. Biotechnology Advances, 36(4), 1255–1273. doi:10.1016/j.biotechadv.2018.04.004 .

RÖDER, C., MÓGOR, ÁTILA F., SZILAGYI-ZECCHIN, V. J., GEMIN, L. G., & MÓGOR, G. (2018). **Potato yield and metabolic changes by use of biofertilizer containing L-glutamic acid**. Comunicata Scientiae, 9(2), 211-218.

SAFI C, B. ZEBIB, O. MERAH, P.Y. PONTALIER, C. VACA-GARCIA, (2014) **Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: a review**, Renewable Sustainable Energy Reviews. 35 265–278.

SAVCI, S. (2012) **An Agricultural Pollutant: Chemical Fertilizer**. International Journal of Environmental Science and Development, 3, 73-80. <https://doi.org/10.7763/IJESD.2012.V3.191>

SEABRA A.B., RAI M., DURÁN N. (2015) **Emerging Role of Nanocarriers in Delivery of Nitric Oxide for Sustainable Agriculture**. In: Rai M., Ribeiro C., Mattoso L., Duran N. (eds) *Nanotechnologies in Food and Agriculture*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-14024-7_9

SEDIYAMA, M.A.N., SANTOS, M.R., VIDIGAL, S.M., (2011) **Yield and nutrient export of sugar beet under mulching and organic fertilization**. *Revista Brasileira Eng Agricola Ambiental*. 15: 883-889.

SILVA, F. A. S. E AZEVEDO, C. A. V. **The Assistat Software Version 7.7 and its use in the analysis of experimental data**. *African Journal of Agricultural Research*, v.11, n.39, p.3733-3740. 2016.

SINGH, A., NIGAM, P. S., & MURPHY, J. D. (2011). **Renewable fuels from algae: An answer to debatable landbased fuels**. *Bioresource Technology*, 102(1), 10–16. doi:10.1016/j.biortech.2010.06.032

SINGH, D. P., KHATTAR, J. S., RAJPUT, A., CHAUDHARY, R., & SINGH, R. (2019). **High production of carotenoids by the green microalga *Asterarcys quadricellulare* PUMCC 5.1.1 under optimized culture conditions**. *PLOS ONE*, 14(9), e0221930. doi:10.1371/journal.pone.0221930

SOUZA, B.S; GRANGEIRO, L.C; NEGREIROS, M.Z; BEZERRA, F; AZEVÊDO P.E; OLIVEIRA, SL.; SERAFIM, E.CS; MEDEIROS, M.A. (2006). **Acúmulo e exportação de nutrientes em beterraba**. In: Congresso brasileiro de olericultura, 46. Resumos... Campo Grande: SOB (CD ROM).

STADNIK, M. J.; ASTOLFI, P., FREITAS, M. B. DE. **Bioestimulantes: uma perspectiva global e desafios para a América latina**. Anais do I Simpósio Latinoamericano sobre Bioestimulantes na Agricultura, v. 01, p. 18-23. 2017. Disponível em: <http://www.bioestimulantes.ufsc.br/files/2017/11/Anais-ISimp%C3%B3sio-Latino-Americano-sobre-Bioestimulantes-na-Agricultura-SLABA2017.pdf>. Acesso em: 20 de abril de 2020.

STIRK, W. A., ÖRDÖG, V., NOVÁK, O., ROLČÍK, J., STRNAD, M., BÁLINT, P., & VAN STADEN, J. (2013). **Auxin and cytokinin relationships in 24 microalgal strains**. *Journal of Phycology*, 49(3), 459–467. doi:10.1111/jpy.12061

TEGEDER, M. (2012). **Transporters for amino acids in plant cells: some functions and many unknowns**. *Current Opinion in Plant Biology*, 15(3), 315–321. doi:10.1016/j.pbi.2012.02.001

THOMAS, J.; MANDAI, R., KUMAR R., and Chordia, A., (2009). **Role of Biologically Active Amino Acid Formulations on Quality and Crop Productivity of Tea (*Camellia quadricellulare*)**. *International Journal of Agricultural Research*, 4: 228-236.

TIVELLI, S., W.; FACTOR, T., L.; SALOMÉ, J., R.; (2011) **Beterraba: do plantio à comercialização**. Campinas: Instituto Agronômico, 45p. (Série Tecnologia APTA. Boletim Técnico IAC, 210)

TOMASELLI, L. (2004) **The microalgal cell**. in: RICHMOND, A., editor. *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*. Oxford: Blackwell Science. P 3-19.

TOP SEED. Top Seed Vegetable Seeds. Disponível em: www.topseed.com.br

TOYOTA, M., SPENCER, D., SAWAI-TOYOTA, S., JIAQI, W., ZHANG, T., KOO, A. J., GILROY, S. (2018). **Glutamate triggers long-distance, calcium-based plant defense signaling**. *Science*, 361(6407), 1112–1115. doi:10.1126/science.aat7744

TRENTACOSTE, E.M., MARTINEZ, A.M. & ZENK, T. (2015). **The place of algae in agriculture: policies for algal biomass production.** *Photosynthesis Research* 123, 305–315 <https://doi.org/10.1007/s11120-014-9985-8>

TSOUVALTZIS, P., KOUKOUNARAS A., and A.S. SIOMOS (2014). **Application of amino acids improves lettuce crop uniformity and inhibits nitrate accumulation induced by the supplemental inorganic nitrogen fertilization.** *International Journal of Agriculture and Biology*, 16: 951–955

VARHNEYA, P.; BEARDALLE, J.; BHATTACHARYAF, S.; WANGIKARB, P.P. (2018) **Isolation and biochemical characterisation of two thermophilic green algal species- *Asterarcys quadricellulare* and *Chlorella sorokiniana*, which are tolerant to high levels of carbon dioxide and nitric oxide.** *Algal Research*, v. 30, p. 28–37.

WINTER, G., TODD, C.D., TROVATO, M., FORLANI, G., FUNCK, D., (2015) **Physiological implications of arginine metabolism in plants.** *Frontiers Plant Sci* 6, 534

WINTERS, A. L.; LLOYD, J. D.; JONES, R.; MERRY, R. J. (2002) **Evaluation of a rapid method for estimating free amino acids in silages.** *Animal feed science and technology*, v.99, n.1, p. 177-187. 2002

WHITE, JA & HART, R & FRY, J. (1986). **An evaluation of the Waters PICO-TAG system for the amino-acid analysis of food materials.** *The Journal of automatic chemistry*. 8. 170-7. [10.1155/S1463924686000330](https://doi.org/10.1155/S1463924686000330).

YANG, Q., ZHAO, D., & LIU, Q. (2020). **Connections Between Amino Acid Metabolisms in Plants: Lysine as an Example.** *Frontiers in Plant Science*, 11, 928. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00928>

YUAN, Y., CHU, D., FAN, J., ZOU, P., QIN, Y., GENG, Y., ... WANG, X. (2020). **Ecofriendly conversion of algal waste into valuable plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) biomass.** Waste Management. [doi:10.1016/j.wasman.2020.10.020](https://doi.org/10.1016/j.wasman.2020.10.020)

YU, Q.; JALALUDIN, A.; HAN, H.; CHEN, M.; R. D. SAMMONS, POWLES, S.; (2015) **Evolution of a Double Amino Acid Substitution in the 5-Enolpyruvylshikimate-3-Phosphate Synthase in *Eleusine indica* Conferring High-Level Glyphosate Resistance** Plant Physiology Apr 2015, 167 (4) 1440-1447; DOI: 10.1104/pp.15.00146

ZHANG, L., GARNEAU, M. G., MAJUMDAR, R., GRANT, J., & Tegeder, M. (2014). **Improvement of pea biomass and seed productivity by simultaneous increase of phloem and embryo loading with amino acids.** The Plant Journal, 81(1), 134–146

APÊNDICES

APÊNDICE 1 - FOTOGRAFIAS DOS EXPERIMENTOS CONDUZIDOS À CAMPO (1, 2, 3) E EM VASO (4), DA COLHEITA (5), CLASSIFICAÇÃO DOS HIPOCÓTLOS (7) CLOROFILÔMETRO (10), E SEPARAÇÃO PARA ANÁLISES BIOQUÍMICAS (11, 12)





APÊNDICE 2 – MASSA FRESCA DE FOLHAS DE BETERRABA SUBMETIDAS À APLICAÇÕES FOLIARES DE *ASTERARCYS QUADRICELLULARE* OBTIDA EM SISTEMA MIXOTRÓFICO.

FONTE DE VARIAÇÃO	GL¹	SQ²	QM³	F
Treatment	4	4053,41058	1013,35264	11,31*
Residue	15	1343,60991	89,5739942	
Total	19	5397,02049		

*Significativo ao nível de 5% de probabilidade ($p < 0,05$); ns: não significativo; ¹ Grau de liberdade, ²Soma dos quadrados; ³ Quadrado médio.

APÊNDICE 3 – MASSA SECA DE FOLHAS DE BETERRABA SUBMETIDAS À APLICAÇÕES FOLIARES DE *ASTERARCYS QUADRICELLULARE* OBTIDA EM SISTEMA MIXOTRÓFICO.

FONTE DE VARIAÇÃO	GL¹	SQ²	QM³	F
Treatment	4	8.10896	2.70299	0.5501 ns
Residue	15	58.96665	4.91389	
Total	19	67.07561		

**Significativo ao nível de 5% de propabilidade ($p < 0,05$); ns: não significativo; ¹ Grau de liberdade, ²Soma dos quadrados; ³ Quadrado médio.

APÊNDICE 4 – APÊNDICE 4 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA MASSA FRESCA DE HIPOCÓTILOS DE BETERRABA SUBMETIDAS À APLICAÇÕES FOLIARES DE *ASTERARCYS QUADRICELLULARE* OBTIDA EM SISTEMA MIXOTRÓFICO.

FONTE DE VARIAÇÃO	GL¹	SQ²	QM³	F
Treatment	4	24519,0828	6129,77069	5.5291 *
Residue	15	22664,1036	1510,94024	
Total	19	47183,1863		

*Significativo ao nível de 5% de propabilidade ($p < 0,05$); ns: não significativo; ¹ Grau de liberdade, ²Soma dos quadrados; ³ Quadrado médio.

APÊNDICE 5 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA MASSA SECA DE HIPOCÓTILOS DE BETERRABA SUBMETIDAS À APLICAÇÕES FOLIARES DE *ASTERARCYS QUADRICELLULARE* OBTIDA EM SISTEMA MIXOTRÓFICO.

FONTE DE VARIAÇÃO	GL¹	SQ²	QM³	F
Treatment	4	167,1687	41,7921749	3.8397 *
Residue	15	227,623183	15,1748789	
Total	19	394,791883		

*Significativo ao nível de 5% de propabilidade ($p < 0,05$); ns: não significativo; ¹ Grau de liberdade, ²Soma dos quadrados; ³ Quadrado médio.

APÊNDICE 6 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA AMINOÁCIDOS LIVRES EM FOLHAS DE BETERRABA SUBMETIDAS À APLICAÇÕES FOLIARES DE *ASTERARCYS QUADRICELLULARE* OBTIDA EM SISTEMA MIXOTRÓFICO.

FONTE DE VARIAÇÃO	GL¹	SQ²	QM³	F
Regressão linear	1	69,0681611	69,0681611	85,87*
Regressão quadrática	1	69,367695	34,6838475	41,59*
Regressão cúbica	1	75,1132438	25,0377479	47,50*
Regressão 4 grau	1	76,85648	19,21412	43,08*
Tratamentos	4	76,85648	19,21412	43,08 --
Resíduo	15	6,689775	0,445985	
Total	19	83,546255		

*Significativo ao nível de 5% de propabilidade ($p < 0,05$); ns: não significativo; ¹ Grau de liberdade, ²Soma dos quadrados; ³ Quadrado médio

APÊNDICE 7 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA AMINOÁCIDOS LIVRES EM HIPOCÓTILOS DE BETERRABA SUBMETIDAS À APLICAÇÕES FOLIARES DE *ASTERARCYS QUADRICELLULARE* OBTIDA EM SISTEMA MIXOTRÓFICO.

FONTE DE VARIAÇÃO	GL¹	SQ²	QM³	F
Treatment	4	41,59437	10.39297	1.2754 ns
Residue	15	122,33516	8.14868	
Total	19	163,92945		

**Significativo ao nível de 5% de probabilidade (p<0,05); ns: não significativo; ¹ Grau de liberdade, ²Soma dos quadrados; ³ Quadrado médio*

APÊNDICE 8 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA AÇÚCARES TOTAIS EM FOLHAS DE BETERRABA SUBMETIDAS À APLICAÇÕES FOLIARES DE *ASTERARCYS QUADRICELLULARE* OBTIDA EM SISTEMA MIXOTRÓFICO.

FONTE DE VARIAÇÃO	GL¹	SQ²	QM³	F
Treatment	4	14065709,9	3516427,48	7,08*
Residue	15	7452266,13	496817,742	
Total	19	21517976,0		

**Significativo ao nível de 5% de probabilidade (p<0,05); ns: não significativo; ¹ Grau de liberdade, ²Soma dos quadrados; ³ Quadrado médio*

APÊNDICE 9 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA AÇÚCARES TOTAIS EM HIPOCÓTILOS DE BETERRABA SUBMETIDAS À APLICAÇÕES FOLIARES DE *ASTERARCYS QUADRICELLULARE* OBTIDA EM SISTEMA MIXOTRÓFICO.

FONTE DE VARIAÇÃO	GL¹	SQ²	QM³	F
Treatment	4	73353096,19	1833827,49	4,89*
Residue	15	56206919,18	374712794,05	
Total	19	129560015,10		

**Significativo ao nível de 5% de probabilidade (p<0,05); ns: não significativo; ¹ Grau de liberdade, ²Soma dos quadrados; ³ Quadrado médio*

APÊNDICE 10 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA CLOROFILA TOTAL EM FOLHAS DE BETERRABA SUBMETIDAS À APLICAÇÕES FOLIARES DE ASTERARCYS QUADRICELLULARE OBTIDA EM SISTEMA MIXOTRÓFICO.

FONTE DE VARIAÇÃO	GL¹	SQ²	QM³	F
Tratamento	4	2542.54040	635.63510	1.44 ns
Resíduo	15	6641.52497	442.76833	
Total	19	9184.06537		

**Significativo ao nível de 5% de probabilidade ($p < 0,05$); ns: não significativo; ¹ Grau de liberdade, ²Soma dos quadrados; ³ Quadrado médio*

APÊNDICE 11 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA CLOROFILA A EM FOLHAS DE BETERRABA SUBMETIDAS À APLICAÇÕES FOLIARES DE ASTERARCYS QUADRICELLULARE OBTIDA EM SISTEMA MIXOTRÓFICO.

FONTE DE VARIAÇÃO	GL¹	SQ²	QM³	F
Tratamento	4	1419.76853	354.94213	1.56 ns
Resíduo	15	3420.76713	228.05114	
Total	19	4840.53566		

**Significativo ao nível de 5% de probabilidade ($p < 0,05$); ns: não significativo; ¹ Grau de liberdade, ²Soma dos quadrados; ³ Quadrado médio*

APÊNDICE 12 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA CLOROFILA B EM FOLHAS DE BETERRABA SUBMETIDAS À APLICAÇÕES FOLIARES DE ASTERARCYS QUADRICELLULARE OBTIDA EM SISTEMA MIXOTRÓFICO.

FONTE DE VARIAÇÃO	GL¹	SQ²	QM³	F
Tratamento	4	208.82500	52.20625	1.07 ns
Resíduo	15	733.47724	48.89848	
Total	19	942.30224		

**Significativo ao nível de 5% de probabilidade ($p < 0,05$); ns: não significativo; ¹ Grau de liberdade, ²Soma dos quadrados; ³ Quadrado médio*

APÊNDICE 13 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA CAROTENÓIDES TOTAIS EM FOLHAS DE BETERRABA SUBMETIDAS À APLICAÇÕES FOLIARES DE ASTERARCYS QUADRICELLULARE OBTIDA EM SISTEMA MIXOTRÓFICO.

FONTE DE VARIAÇÃO	GL ¹	SQ ²	QM ³	F
Tratamento	4	1726,21733	431,554333	4,82*
Resíduo	15	1343,38307	89,5588711	
Total	19	3069,6004		

*Significativo ao nível de 5% de probabilidade ($p < 0,05$); ns: não significativo; ¹ Grau de liberdade, ²Soma dos quadrados; ³ Quadrado médio

APÊNDICE 14 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA PRODUTIVIDADE DE BETERRABAS SUBMETIDAS À APLICAÇÕES FOLIARES DE ASTERARCYS QUADRICELLULARE OBTIDA EM SISTEMA MIXOTRÓFICO.

FONTE DE VARIAÇÃO	GL ¹	SQ ²	QM ³	F
Regressão linear	1	732992,906	732992,906	88,18*
Regressão quadrática	1	741600,971	370800,485	44,70*
Regressão cúbica	1	762520,147	254173,382	33,86*
Regressão 4 grau	1	763942,75	190985,687	24,14*
*Tratamentos	4	763942,75	190985,687	24,14 --
Resíduo	15	118671,199	7911,41327	
Total	19	882613,949		

*Significativo ao nível de 5% de probabilidade ($p < 0,05$); ns: não significativo; ¹ Grau de liberdade, ²Soma dos quadrados; ³ Quadrado médio