



GRACIELA BEATRIS LOPES

**Potencial da Microalga *Desmodesmus* sp. como biofertilizante em
Feijão Pérola**

LAVRAS - MG

2021

GRACIELA BEATRIS LOPES

Potencial da Microalga *Desmodesmus* sp. como biofertilizante em Feijão Pérola

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. Whasley Ferreira Duarte

Orientador

LAVRAS - MG

2021

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Lopes, Graciela Beatris.
Potencial da microalga *Desmodesmus* sp. como biofertilizante
em Feijão Pérola / Graciela Beatris Lopes. - 2021.
55 p.

Orientador(a): Whasley Ferreira Duarte.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2021.

Bibliografia.

1. Phaseolus vulgaris. 2. Enzimas antioxidantes. 3. Nutrição de
Plantas. I. Duarte, Whasley Ferreira. II. Título.

GRACIELA BEATRIS LOPES

**POTENCIAL DA MICROALGA *Desmodesmus* sp. COMO BIOFERTILIZANTE EM
FEIJÃO PÉROLA**

**POTENTIAL OF MICROALGAE *Desmodesmus* sp. AS BIOFERTILIZER IN PEARL
BEANS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Vegetal para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 26 de maio de 2021.

Profa. Dra. Heloisa Oliveira Dos Santos - Universidade Federal de Lavras

Dr. Eudes de Arruda Carvalho - EMBRAPA - Recursos Genéticos e Biotecnologia

Prof. Dr. Whasley Ferreira Duarte

Orientador

LAVRAS - MG

2021

*Ao meu amado companheiro Ademir Goelzer e minha mãe Lourença Graciela, por
todo o ensinamento, proteção, apoio e amor incondicional,*

Dedico!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, pelos dons da vida e da ciência!

Agradeço minha querida mãezinha, Lourença Graciela, que sonhou comigo durante toda sua vida, e enfrentou a decisão de ser mãe solo, pelo desejo de me ter nos braços. Minha amada mãe guerreira, que mesmo doente e aposentada, vendeu salgados e bolos de baixo de sol e chuva nos blocos da minha antiga universidade, para que eu pudesse me dedicar aos estudos e conquistar os títulos obtidos até então. Sem sua persistência e coragem eu jamais teria chegado até aqui. Obrigado por não desistir de mim!

Agradeço também minha família, em especial minha irmã Gabriela Dorotea, e meus amigos, que permaneceram ao meu lado nos dias de dor, me ajudando a superar a fibromialgia e me fazendo ver o lado bom de cada dia mesmo quando tudo parecia tão escuro.

Agradeço aos meus padrinhos, Juliana Beatris, Nair Beatris e Nilton Ribeiro que acreditaram no meu sonho acadêmico, pagaram meu cursinho pré-vestibular, me apoiaram em cada dificuldade financeira durante toda a vida, e por fim me deram a mais linda festa de formatura! A vocês que sonharam e choraram comigo ao ver meu nome mais uma vez, no topo dos editais de aprovação em uma Universidade Federal, saibam que esses títulos não são meus, são nossos! Agradeço ao meu amado e futuro esposo Ademir Goelzer, que me guiou em cada linha desta dissertação, me ajudou nos experimentos, me ensinou a ser cientista e me apoiou em cada decisão difícil nesses últimos 5 anos.

Aos meus professores, especialmente ao Dr. Whasley Ferreira Duarte, por ter me acolhido e orientado com toda a paciência e boa vontade durante essa pós graduação, meus sinceros agradecimentos!

Ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Vegetal – UFLA, e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa concedida durante o mestrado.

Obrigado!

“Quanto mais me aprofundo na Ciência mais me aproximo de Deus.”

~ Albert Einstein

RESUMO

As microalgas são fonte de macro e micronutrientes, fitohormônios, lipídios, carboidratos entre outras moléculas; por sua excelente capacidade adaptativa aos mais diversos ambientes, tornaram-se aposta no setor de biofertilizantes. Objetivou-se neste trabalho avaliar a eficiência da microalga *Desmodesmus* sp. L2B Bold como biofertilizante no cultivo do feijoeiro-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. BRS Pérola. O cultivo microalgal foi realizado utilizando-se meio BG-11, em temperatura ambiente, com fotoperíodo de 12 horas, por 5 dias. A biomassa microalgal foi aplicada no feijoeiro via irrigação manual com população de 10^7 células mL⁻¹, para o tratamento controle foi utilizado água. A aplicação foi iniciada 15 dias após a semeadura e em seguida a cada 10 dias. Quanto aos parâmetros agrônômicos, o número total de legumes e grãos, massa seca de raízes, massa fresca e seca de folhas e massa seca total foram influenciados positivamente quando adicionado o tratamento microalgal. Em relação aos pigmentos foliares houve incremento significativo de aproximadamente 30% do conteúdo de clorofila *a* e *b* com aplicação do biofertilizante 17 dias após a semeadura (DAS), e 7% no meio do ciclo de cultivo (37 DAS). Quanto atividade enzimática foliar houve incremento significativo da Superóxido dismutase (SOD) com a aplicação do biofertilizante em todos os períodos do cultivo quando comparado ao grupo controle. Já a fenilalanina amônia-liase (FAL) apresentou inicialmente resultados significativamente inferiores quando aplicado o biofertilizante. No entanto, ao longo do ciclo o resultado foi revertido, sendo quantidade da FAL cerca de 120% a 1500% maior nas plantas biofertilizadas no meio e no final do ciclo respectivamente. Conclui-se que a microalga *Desmodesmus* sp. L2B Bold apresenta potencial para utilização como biofertilizante no cultivo do feijoeiro-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. BRS Pérola.

Palavras-chaves: Enzimas antioxidantes. Nutrição de plantas. *Phaseolus vulgaris*.

ABSTRACT

Microalgae are a source of some macro- and micronutrients, phytohormones, lipids, carbohydrates, and other molecules; due to their excellent adaptive capacity to the most diverse environments, they gained prominence in the biofertilizer industry. Thus, the objective of this work was to evaluate the potential efficiency of the microalgae *Desmodesmus* sp. L2B Bold as biofertilizer in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. BRS Pearl. The microalgae culture was performed using a BG-11 medium, at room temperature, with a 12-hour photoperiod for 5 days. Microalgae biomass was applied to common bean by manual irrigation with a population of 10^7 cells mL⁻¹, for the control treatment water was used. The application was started 15 days after sowing, then every 10 days thereafter. As for agronomic parameters, the total number of vegetables and grains, a total dry mass, root dry mass, fresh and dry mass of leaves were positively influenced by microalgae. Regarding leaf pigments, there was a significant increase of approximately 30% in chlorophyll *a* and *b* content with the application of biofertilizer 17 days after sowing (DAS), and 7% in the middle of the cultivation cycle (37 DAS). As for foliar enzymatic activity, there was a significant increase in Superoxide dismutase (SOD) with the application of biofertilizer in all periods of cultivation, when compared to the control group. Phenylalanine ammonia-lyase (PAL) initially presented significantly lower results when the biofertilizer was applied. However, throughout the cycle, the result was reversed, with the amount of PAL being around 120% to 1500% higher in fertilized plants in the middle and at the end of the cycle, respectively. It is concluded that the microalgae *Desmodesmus* sp. L2B Bold has great potential for use as a biofertilizer in the cultivation of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. BRS Pearl.

Keywords: Enzyme activity. *Phaseolus vulgaris*. Plant nutrition.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Células de <i>Desmodesmus</i> sp. observadas em microscópio de luz.	6
Figura 2 - Clorofila <i>a</i> , <i>b</i> e carotenoides das folhas feijoeiro ao longo do ciclo de cultivo, com e sem a aplicação do biofertilizante microalgal.	19
Figura 3 - Atividade enzimática da Superóxido dismutase (SOD) nas folhas do feijoeiro ao longo do ciclo de cultivo, com e sem a adição do biofertilizante microalgal.....	22
Figura 4 - Atividade enzimática da fenilalanina amônia-liase (FAL) nas folhas do feijoeiro ao longo do ciclo de cultivo, com e sem a adição do biofertilizante microalgal.....	23
Figura 5 - Rendimentos do número de vagens e grãos do feijoeiro, com e sem a aplicação do biofertilizante microalgal.....	26
Tabela 1 - Atributos químicos dos substratos antes da semeadura e no final do ciclo do feijoeiro com e sem a aplicação das microalgas.	18
Tabela 2 - Composição nutricional da biomassa de <i>Desmodesmus</i> sp. desengordurada.	21
Tabela 3 - Massa seca de raízes, massa fresca e seca de folhas e total do feijoeiro cultivado com e sem o biofertilizante microalgal.	24
ANEXO A - Quadro de análise de variância dos quadrados médios de comprimento de raiz, massa fresca e seca total e de raízes, legumes, folhas e caule aos 107 dias após a semeadura.	29
ANEXO B - Quadro de análise de variância dos quadrados médios do número, comprimento e massa seca de legumes, número e peso de grãos do feijoeiro cultivados com e sem aplicação de microalgas ao final do experimento, 133 DAS.	30

LISTA DE SIGLAS

APx	Ascorbato peroxidase
BG-11	Blue-Green algae medium
CONAB	Companhia nacional de abastecimento
COVID-19	Corona virus disease
CTC	Capacidade de troca de cátions
DIC	Delineamento inteiramente casualizado
DAS	Dias após a semeadura
EMBRAPA	Empresa brasileira de pesquisa agropecuária
EROs	Espécies reativas de oxigênio
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
FAL	Fenilalanina amônia-liase
FAOSTAT	Food and agriculture organization corporate statistical database.
IBGE	Instituto brasileiro de geografia e estatística
IBRAFE	Instituto brasileiro do feijão e pulses
L2B Bold	Linhagem isolada da amostra B da lagoa 2 cultivado em meio Bold
MAPA	Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento
NBT	Nitro azul tetrazólio
ODS	Objetivos de desenvolvimento sustentável
ONU	Organização das nações unidas
POX	Peroxidase
PVP	Polivinilpirrolidona
SOD	Superóxido dismutase
TRIS	Tris(hidroximetil)aminometano

LISTA DE SÍMBOLOS

CaCl ₂	Cloreto de cálcio
Co(NO ₃) ₂ 6H ₂ O	Nitrato de cobalto hexahidratado
CuSO ₂ 5H ₂ O	Sulfato de cobre pentahidratado
cmol _c dm ⁻³	Centimol por decímetro cúbico
H ₂ O	Água
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
H ₃ BO ₃	Ácido bórico
HCl	Ácido clorídrico
MgSO ₄	Sulfato de magnésio
mg dm ⁻³	Miligrama por decímetro cúbico
Mm	Milímetro
mM ⁻¹ cm ⁻¹	Milimolar por centímetros
mM min ⁻¹ mg ⁻¹	Milimolar por minutos por miligrama
mmol _c dm ⁻³	Milimols de carga por decímetro cúbico
NaNO ₃	Nitrato de sódio
NaCO ₃	Carbonato de sódio
Nm	Nanômetros
NPK	Nitrogênio, Fósforo e Potássio
pH	Potencial hidrogeniônico
SB	Soma de bases trocáveis
T	Capacidade de Troca Catiônica a pH 7,0
T	Capacidade de Troca Catiônica efetiva
V%	Saturação de bases
W	Watts
Zn SO ₄ .7H ₂ O	Sulfato de Zinco
%	Porcentagem

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	REFERENCIAL TEÓRICO	2
2.1.	Microalgas	2
2.1.1.	<i>Desmodesmus</i>	5
2.2.	Biofertilizantes	7
2.3.	Feijão Pérola.....	10
2.4.	Enzimas antioxidantes.....	12
3	OBJETIVOS	13
3.1.	Objetivo Geral.....	13
3.2.	Objetivos específicos	13
4	MATERIAL E MÉTODOS	14
4.1.	Cultivo e crescimento de microalgas <i>in vitro</i>	14
4.2.	Obtenção das sementes de Feijão Pérola	15
4.3.	Preparo e aplicação da microalga	15
4.4.	Desenho experimental	15
4.5.	Análise biométrica do feijoeiro	15
4.6.	Atributos químicos dos substratos	16
4.7.	Caracterização dos pigmentos foliares e enzimas antioxidantes do feijoeiro	16
4.8.	Análise estatística.....	17
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	17
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	28
7	CONCLUSÃO.....	28
	ANEXO A	29
	ANEXO B	30
	REFERÊNCIAS.....	31

1 INTRODUÇÃO

Com o aumento populacional observado nas últimas décadas a produção de alimentos revelou-se o maior problema enfrentado pelos líderes mundiais. Sendo necessário a criação de novas tecnologias agrícolas capazes de otimizar a produção de alimentos sem que haja a necessidade de ampliar o espaço destinado às lavouras. No entanto, considerando grave crise climática enfrentada atualmente é necessário também que tais tecnologias sejam sustentáveis e renováveis, sem gerar danos ao ecossistema e a sua biodiversidade; e sem acarretar prejuízos socioeconômicos ao produtor.

Na tentativa de amenizar os impactos ambientais gerados pelo atual sistema produtivo e cumprir as metas de agricultura sustentável até 2030 propostas pela ONU, o Brasil investiu em Biotecnologia e Bioeconomia visando fortalecer o agronegócio nacional frente ao mercado externo, bem como adequar as políticas de agricultura vigentes (EMBRAPA, 2018; JÚNIOR, 2021). Por consequência, a busca por insumos ecologicamente corretos como os biofertilizantes ganhou notoriedade, assim como a necessidade da bioprospecção de organismos que possam servir como fonte para novas tecnologias.

No limiar entre a biotecnologia vegetal e aquática destacam-se as algas, organismos fotossintéticos com ampla diversidade morfológica, fácil cultivo e infinitas possibilidades de aplicação industrial. Com representantes em quase todos os ecossistemas as algas podem se apresentar como macro ou microalgas, podendo ser observadas em colônias fixas, de vida livre, cenóbios ou de maneira unicelular. São organismos eucariontes, de diferentes pigmentações, e que produzem diversas biomoléculas como fitohormônios, proteínas, lipídeos e aminoácidos, que podem ser utilizados na agricultura como bioestimulantes vegetais, biofertilizantes ou coadjuvantes de fertilizantes químicos (GUO et al., 2020).

As microalgas podem ser cultivadas em tanques ou lagoas, sendo facilmente reproduzidas em escala industrial. Podem ser autotróficas, tanto quando absorver carbono do meio em que se encontram; podendo inclusive, serem cultivadas a partir de resíduos agropecuários e industriais, agregando valor a subprodutos até então descartados, enquanto promovem a biorremediação de efluentes com grande potencial de contaminação. Além disso, também podem ser aplicadas na indústria alimentícia, farmacêutica, cosmética, de corantes, biocombustíveis e bioplásticos.

Atualmente o mercado mundial de algas cresce cerca de 10 a 20% ao ano, e segundo a FAO (2018), deve movimentar aproximadamente 40 bilhões de dólares anualmente até o final dessa década; gerando inúmeros empregos e contribuindo significativamente para a economia global. O Brasil, por possuir os maiores reservatórios de água do mundo e a temperatura ideal

para reprodução, apresenta ampla biodiversidade de algas e microalgas. Apesar de atualmente não contribuir expressivamente para o mercado internacional de algas, o país deve se tornar uma grande potência de exportação nos próximos anos.

O feijão é parte essencial da dieta brasileira e quando consumido com o arroz, pode suprir todas as necessidades nutricionais diárias ao ser humano, oferecendo todos os aminoácidos essenciais, proteínas de boa digestibilidade, fibras e uma gama de minerais, vitaminas. Saboroso e nutritivo, a leguminosa é relativamente barata, sendo uma alternativa eficiente no combate à desnutrição nas populações mais carentes. Em virtude disso, a Organização das Nações Unidas (2021b) declarou 2021 como o “ano internacional das frutas e vegetais”, dando destaque primordial às leguminosas no combate à pobreza, segurança alimentar, saúde humana, qualidade do solo e do meio ambiente. Reforçando a importante contribuição do feijão para a concretização dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) estabelecidos na agenda 2030.

Ademais, o feijão é uma cultura que possui grande território agrícola, de acordo com os dados da safra 2019 foram colhidos aproximadamente 29 milhões de toneladas do grão no mundo todo, utilizando-se uma área de 33 milhões de hectares (FAOSTAT, 2020). Um dos principais atrativos para o agricultor é que o feijoeiro se caracteriza como uma planta de ciclo curto, aproximadamente 90 dias, o que possibilita 3 safras ou mais no período de um ano. Mediante ao exposto, fica evidente que o feijão assim como as microalgas, tornou-se aposta para um futuro sustentável ambiental e financeiramente, sendo ambos elegidos como tema do presente trabalho.

Sendo assim, objetivou-se avaliar o efeito da aplicação da biomassa de *Desmodium* sp. L2B Bold como biofertilizante no crescimento, desenvolvimento e produtividade do feijoeiro cv. Pérola.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Microalgas

Os organismos classificados como “algas” constituem um grupo de indivíduos de grande diversidade morfológica e funcional, de “habitats” terrestres e aquáticos, possuindo a capacidade de se adaptar a diferentes temperaturas e pressões atmosféricas (BICUDO; MENEZES, 2010). Sem origem monofilética, as algas são organismos fotossintéticos que variam de uni a pluricelulares e cujos órgãos de reprodução se dividem em gametângios ou esporângios (FRANCESCHINI et al., 2010). O termo *Algae* foi utilizado pela primeira vez em 1953 por Linnaeus para designar uma categoria sistemática de plantas que reunia inicialmente

algas, líquenes e briófitas. Hoje, com o avanço da botânica e sistemas de classificação, o grupo tornou-se exclusivo das algas uni e pluricelulares marinhas e continentais (IHA; SENA, 2014; BOLTON, 2016).

A ampla diversidade desses organismos inclui formas procarióticas (sem membranas envolvendo o núcleo e organelas celulares) representadas pelas cianobactérias e formas eucarióticas (com membranas envolvendo o núcleo e organelas celulares), esta última englobando protistas autotróficos e organismos multicelulares. A diversidade das cianobactérias foi estudada tradicionalmente com as algas eucarióticas, pois ambas ocorrem nos mesmos habitats e compartilham de propriedades fotossintéticas. Entretanto, a taxonomia das cianobactérias foi modificada substancialmente nas quatro últimas décadas, em especial, após a aplicação de métodos de análises moleculares e de ultra estrutura. Essa nova combinação de caracteres, mostrou que o grupo atualmente denominado cianobactéria é constituído por linhagens evolutivas distintas das microalgas eucarióticas, e por esse motivo muitos autores não consideram as cianobactérias parte do grupo das algas (BOLTON, 2016).

As algas podem ser autotróficas ou heterotróficas, possuindo uma alta flexibilidade metabólica em resposta ao meio ambiente, assim como variada coloração; clorófitas ou algas verdes, rodófitas ou algas vermelhas, e cromófitas, chamadas popularmente de algas castanho-amareladas (EL ARROUSSI et al., 2018). Embora sejam organismos de vida livre, também são encontrados fixos em rochas, ou em associação simbiótica com outros organismos como plantas de interesse agrônômico (CHITTAPUN et al., 2018) o que gera grande interesse no estudo desse grupo (ZUCCARO et al., 2019).

As microalgas representam a parte microscópica do grupo de algas, podendo ser uni ou multicelulares (colônias). Reconhecidas como parte vital do planeta, esses organismos são responsáveis por grande parte da produção de oxigênio, além de formar a base da cadeia alimentar aquática (IHA; SENA, 2014). Quando presentes no solo são responsáveis pela fixação de nitrogênio e liberação de macro e micronutrientes, atuando diretamente na fertilidade e na manutenção da umidade, visto que muitas microalgas formam uma espécie de película na superfície do solo (NABTI; JHA; HARTMANN, 2017; SOUZA et al., 2019).

Na indústria as microalgas são utilizadas como fonte de novas tecnologias terapêuticas, na produção de moléculas antioxidantes (MACHADO et al., 2017), anti-inflamatórias e antivirais, inclusive de combate a COVID-19 (MAHENDRAN et al., 2021), bem como na produção de proteínas recombinantes (OSMAN et al., 2010; BAIER et al., 2018b). Paralelamente, também são usadas como fonte de proteínas e lipídeos para ração animal, especialmente na piscicultura (YADAV et al., 2020) e para a alimentação humana

(FERDOUSE et al., 2018). Também são matéria-prima para produção de biodiesel (BITTENCOURT PIMENTEL; AQUINO; CARVALHO LIMA LOBATO, 2018; EL SEMARY et al., 2018), biorremediação de solos (DE SOUZA et al., 2019; NGUYEN et al., 2020; ROCHA et al., 2020), efluentes contaminados (COSTA; MARVULLI, 2020) e para a recuperação de minérios de interesse, como o ferro em águas residuais (ABINANDAN et al., 2020).

Ademais, esses organismos atuam promovendo o crescimento vegetal; produzindo fitohormônios, como auxina, citocinina e giberelina (GÓRKA; WIECZOREK, 2017; GRZESIK; ROMANOWSKA-DUDA; KALAJI, 2017; CHITTAPUN et al., 2018); e como biotransformadores de compostos no solo (SADEGHI et al., 2021). Segundo Dineshkumar et al. (2020) microalgas como *Chlorella vulgaris* e *Spirulina platensis* contêm todos os nutrientes essenciais e em quantidade suficientes para o crescimento das plantas como o feijão mungu (*Vigna radiata* L.). Além disso são relativamente baratas, renováveis e facilmente disponíveis, o que as tornam um bioinsumo adequado, seguro e ecológico, podendo servir tanto como alternativa, quanto como um coadjuvante no uso de fertilizantes químicos.

Consideradas um dos “alimentos do futuro” pela ONU desde 1974, as algas movimentam um mercado em plena expansão. Atualmente são colhidas cerca de 30 milhões de toneladas de biomassa algal por ano no mundo todo, e a previsão é que os lucros ligados à atividade superem os 40 bilhões de dólares anuais até 2030 (FERDOUSE et al., 2018). Entre os maiores produtores estão China, Japão, Coreia e a Nova Zelândia, no entanto países, da América Latina como Chile e Brasil devem assumir papéis de destaque nas próximas décadas (VAN DEN BURG; DAGEVOS; HELMES, 2021). O clima temperado, subtropical e tropical aliado a grande disponibilidade de águas marinhas e continentais presentes no Brasil propiciam uma alta biodiversidade de algas e microalgas, bem como possibilitam uma boa produtividade durante o ano todo. Sendo assim, investimentos milionários estão sendo aplicados no mercado nacional de algas, visando principalmente a indústria alimentícia, agrícola e de biocombustíveis (SIMÕES et al., 2016; MATOS, 2021).

Por se tratar de um gênero amplamente encontrado em águas continentais brasileiras (MENEZES et al., 2015; ABRIL BONETT et al., 2020), *Desmodesmus* caracteriza-se uma opção viável para estudos visando a produção de novas tecnologias como biofertilizantes, e sendo assim foi escolhido para utilização no presente trabalho.

2.1.1. *Desmodesmus*

O gênero *Desmodesmus* (R. Chodat) é pertencente ao grupo de microalgas verdes do domínio Eukarya, ordem Sphaeropleales, classe Chlorophyceae, divisão Chlorophyta e a família *Scenedesmaceae*; sub-família *Desmodesmoidea* (HEGEWALD et al., 2010; HEGEWALD; BOCK; KRIENITZ, 2013). Inicialmente considerado um subgênero de *Scenedesmus*, *Desmodesmus* foi elevado a gênero por An, Friedl e Hegewald. (1999), em estudos utilizando biologia molecular.

De acordo com o estudo, *Desmodesmus* mostrou-se monofilético e diferencia-se de *Scenedesmus* por apresentar uma quarta camada de esporopolenina na parede celular, o que possibilita a formação dos espinhos e das demais ornamentações (AN; FRIEDL; HEGEWALD, 1999; HEGEWALD, 2000). Atualmente, *Desmodesmus* é composto por 65 nomes de espécies aceitas taxonomicamente com base na literatura, e listados em bancos de dados internacionalmente reconhecidos como o *AlgaeBase*. Entretanto, a descrição do gênero ainda está em andamento e deve ser atualizada de acordo com a publicação de novos trabalhos (MD GUIRY, 2021).

As algas desse gênero são clorofiladas, com reprodução assexuada, e frequentemente organizadas em agrupamentos achatados de células em linha reta ou curvadas, normalmente com 2, 4 ou 8 células, e mais raramente com 16 ou 32. A morfologia é ovoide ou elipsoide, as células são mantidas juntas paralelamente formando o chamado cenóbio de vida livre. Nos extremos do cenóbio geralmente há longos espinhos, no entanto, há espécies que podem não apresentar tais ornamentações (FRANCESCHINI et al., 2010; HENTSCHEKE; TORGAN, 2010; HEGEWALD; BOCK; KRIENITZ, 2013; ABRIL BONETT et al., 2020). Comumente encontrado em águas continentais, as espécies desse gênero também possuem a capacidade de sobreviver em efluentes altamente mineralizados e contaminados (HENTSCHEKE; TORGAN, 2010; JI et al., 2014).

A parede celular pode ser ornamentada com pequenas verrugas, reticulada ou apresentar uma crista mediana evidente. Cada célula é uninucleada e contém um cloroplasto parietal com um pirenoide. As células interiores ou médias muitas vezes apresentam um simples espinho apical, considerando que as células marginais ou terminais muitas vezes apresentam um único grande espinho em cada ápice, e estes são diagonais ao longo do eixo da colônia (cenóbio) (HENTSCHEKE; TORGAN, 2010).

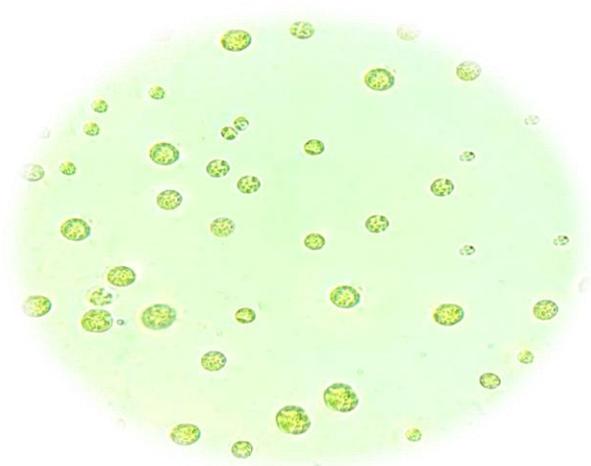
O gênero *Desmodesmus* é conhecido por seu alto teor de lipídeos e sua capacidade de adaptação a diferentes ambientes, sendo classificado como mixotrófico; ou seja, possuem tanto a capacidade de produzir seu próprio alimento a partir de luz e carbono, quanto podem extrair

seu alimento do meio em que se encontram (JI et al., 2014). Em geral, esses organismos se adaptam melhor em pH neutro (pH = 6,5 a 7), contudo, pesquisas recentes relatam boa tolerância a meios mais ácidos (pH = 4,5) (ABINANDAN et al., 2020).

Quando produzido em cultivo heterotrófico, o meio sintético mais indicado é o *Blue-Green algae medium* (BG-11) (ILAVARASI et al., 2011) pois, contém os principais nutrientes que o gênero necessita, como nitrato de sódio (NaNO_3), cloreto de sódio (NaCl), fosfato de potássio dibásico (K_2HPO_4), sulfato de magnésio (MgSO_4), cloreto de cálcio (CaCl_2), carbonato de sódio (Na_2CO_3), ácido cítrico, citrato férrico de amônio, EDTA, entre outros (STANIER et al., 1971).

A temperatura ideal para o desenvolvimento do gênero está entre 23 e 27 °C, sendo os membros desse gênero classificados como mesófilos (FRANCESCHINI et al., 2010; XIE et al., 2013). As espécies do gênero *Desmodesmus* não possuem estruturas de locomoção, mas podem alterar sua morfologia em resposta a mudanças nas condições ambientais, a chamada plasticidade fenotípica. A variação mais proeminente é a colônia, porém, o gênero também pode se apresentar de maneira unicelular como foi observado por Abril Bonett et al. (2020), Arguelles et al. (2017) e Ríos et al. (2018) (FIGURA 1). Esta alteração morfológica pode ser desencadeada por aumento na concentração de nutrientes, variação de pH (HENTSCHKE; TORGAN, 2010) ou presença de fitohormônios (CHUNG et al., 2018; LIN et al., 2020), e tem sido observado a campo e em laboratório.

Figura 1. Células de *Desmodesmus* sp. observadas em microscópio de luz.



Fonte: Do autor, 2021.

Atualmente, diversas espécies do gênero *Desmodesmus* são utilizadas como bioindicadores (SHUBERT; WILK-WOŹNIAK; LIGEZA, 2014); na extração lipídica visando produção de biodiesel (ARGUELLES et al., 2018); e até mesmo na biorremediação de efluentes

contaminados (DE MATTOS; BASTOS, 2016; ABINANDAN et al., 2020). Diniz et al. (2017) analisaram cinco linhagens de microalgas, incluindo do gênero *Desmodesmus*, no tratamento águas residuais, e obtiveram como resultado a diminuição de 65% do teor de nitrogênio e 95% de fósforo presentes na água. A biomassa residual no final do tratamento também tinha potencial adequado para ser utilizada na biofertilização de solos degradados.

Ademais, Bettani et al. (2019) avaliaram o uso da biomassa de *D. subspicatus* após extração lipídica, como aditivo na formulação de fertilizante de liberação lenta, baseado em esferas poliméricas de pectina e vinhaça de cana-de-açúcar. Os autores concluíram que a biomassa microalgal é uma fonte complementar de nitrogênio e micronutrientes como cobre, ferro e zinco, caracterizando-se como potencial alternativa aos fertilizantes químicos.

Diante do exposto, nota-se que apesar do gênero *Desmodesmus* não ter ganhado grande destaque até a última década (RIBEIRO DA ANUNCIACÃO et al., 2018), suas aplicações biotecnológicas vem sendo evidenciadas como fonte para novas pesquisas, tornando-se uma alternativa promissora para novos bioprodutos, principalmente na agricultura.

2.2. Biofertilizantes

Os fertilizantes químicos ganharam destaque na década de 1960 por apresentarem melhorias no solo em pouco tempo e com custos relativamente baixos, elevando a produção mundial de alimentos a outro patamar. Entretanto, o uso indiscriminado desses compostos ocasiona problemas ao meio ambiente em larga escala, como a degeneração da microbiota do solo, eutrofização de superfícies dos corpos d'água, acidificação do solo e desequilíbrio de nutrientes (REETZ, 2017). Sendo assim, tornou-se necessário o estudo de alternativas e coadjuvantes ambientalmente sustentáveis que otimizem a produção agrícola, como os biofertilizantes, que, podem ser produzidos a partir de plantas, fungos, bactérias, algas e microalgas (GUO et al., 2020).

Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) do Brasil, biofertilizante é “todo e qualquer produto que contém agentes de origem biológica ou componentes bioativos capazes de interferir positivamente para o desempenho agrônomo da planta, isento de substâncias proibidas pela regulamentação nacional de orgânicos” (BRASIL, 2016).

Tendo em vista a produção de biofertilizantes, estudos estão sendo desenvolvidos em diversos países de modo a avaliação do impacto das algas no solo. Agha et al. (2020) ao analisarem amostras de solo de fazendas do Paquistão isolaram 109 diferentes microalgas, pertencentes a 54 gêneros. Ao correlacionar as microalgas com os atributos observados nos

substratos, os autores comprovaram que tais organismos melhoram significativamente a fertilidade do solo, melhorando a sua textura, umidade e matéria orgânica; fornecendo também diversos macronutrientes como nitrogênio e potássio.

Quando adicionadas ao solo, as algas e microalgas promovem aumento significativo dos polissacarídeos (EL ARROUSSI et al., 2018), atividades de desidrogenase, urease e fosfatase (BARONE et al., 2019), aumento da porosidade e capacidade de retenção de água, diminuição da temperatura e aumento da variedade na microbiota local (CASTRO et al., 2017, 2020; CHATTERJEE et al., 2017; MARKS et al., 2017; ALOBWEDE; LEAKE; PANDHAL, 2019; SADEGHI et al., 2021).

Singh (2014) em experiência a campo, constatou que a inoculação de cianobactérias em solo salino melhorou o status físico-químico e aumentou a fertilidade. Coelho (2018) ao avaliar a utilização de isolados de *Nostoc* sp., *Klebsormidium* sp. e *Oculatella* sp. como biofertilizantes, constatou que ambas as espécies aplicadas diretamente em solos cultivados com alface, demonstram um efeito protetor na planta contra o estresse salino, além de potencializar o crescimento vegetal. *Klebsormidium* sp. também conseguiu otimizar o solo, promovendo a capacidade de retenção de água, bem como, aumentando a quantidade e qualidade da matéria orgânica presente. Similarmente, Castro et al. (2017) utilizaram um consórcio de microalgas contendo *C. vulgaris* no cultivo de *Pennisetum glaucum* (milheto-pérola), e observaram a formação de biofilme sob o solo que favoreceu o aumento de nitrogênio e menor volatilização de amônia, contribuindo assim para o crescimento da planta e na diminuição da emissão de gases de efeito estufa. Da mesma forma, De Souza et al. (2018) aplicaram microalgas no solo visando a recuperação de nitrogênio e obtiveram resultados positivos.

Além de macro e micronutrientes, as algas também conseguem fornecer uma gama de precursores de vitaminas, proteínas, e metabólitos secundários capazes atuar positivamente nas plantas (BHATTACHARYYA; JHA, 2012). Abu Seif et al. (2016) ao aplicarem extratos de algas marinhas (*Algost*) e continentais (*Spirulina*) em mudas de feijão vagem, constataram incremento significativo dos parâmetros de crescimento vegetativo das plantas, teor de clorofila, e nas quantidades de nitrogênio, fósforo e potássio nas folhas, o que impactou diretamente na quantidade e qualidade dos grãos.

Trabalhos realizados com diferentes algas como biofertilizantes apresentaram resultados positivos também no combate de patógenos. Em tomate, Prasanna et al. (2013) realizaram um estudo sobre interação da planta com cianobactérias (*Anabaena laxa* e *A. variabilis*) após a planta ser infectada com um patógeno (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* e *F. moniliforme*). Os autores observaram que quando inoculadas 10 dias antes da semeadura,

a biomassa de cianobactérias é responsável por aumentar os níveis de nitrogênio, fósforo e carbono no solo, favorecendo o desenvolvimento e produtividade final da planta. Além disso, houve incremento de 239,9% na produção de quitosanase, 179,39% de β -1, 3-glucanase, 87,14% de polifenoloxidase (PPO) e 181,22% de Fenilalanina amônia-liase (FAL) nas raízes de plantas tratadas com cianobactérias, todas enzimas importantíssimas no mecanismo de defesa da planta.

Paralelamente, Coppens et al. (2016) utilizaram a biomassa pasteurizada de *Nannochloropsis oculata* no cultivo de tomate e obtiveram aumento de 28% no peso seco, 33% no teor de açúcar e 36% no teor de carotenoides, quando comparado ao tratamento com fertilizante comercial. Além da significativa melhoria na qualidade dos frutos, os autores também comprovaram através de uma análise detalhada, que a utilização da biomassa microalgal em conjunto com o fertilizante inorgânico é viável economicamente e ambientalmente, trazendo inúmeros benefícios ao produtor e ao consumidor final.

Uma possível explicação para o incremento de produtividade observado em tantos estudos é a correlação entre algas e bactérias promotoras de crescimento vegetal como a *Azotobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Serratia* e *Streptomyces* (VERMA; MISHRA; ARORA, 2019; KANG et al., 2021). Ao fornecer estruturas de fixação como EPS, macro e micronutrientes essenciais, as microalgas estimulam a biodiversidade da microbiota local, que por sua vez irá influenciar diretamente no desenvolvimento de plantas (GUO et al., 2020).

Outra característica de interesse das microalgas é a capacidade de se desenvolver em ambientes terrestres, aquáticos e até hipersalinos (SINGH et al., 2016), o que favorece a sua utilização em cultivos semi hidropônicos como o de arroz. Prasanna et al. (2013a) relataram que o rendimento de arroz tratado com inoculantes únicos ou combinados de *A. doliolum*, *A. torulosa*, *N. carneum* e *N. piscinale* foi semelhante ao tratamento utilizando a dose completa de fertilizante químico comercial. Similarmente, Chittapun et al. (2018) relataram que o uso de cianobactérias do gênero *Nostoc* reduziu em 50% o uso de fertilizantes químicos, além de aumentar o comprimento de raízes e o peso final de grãos de arroz cultivado em vasos. Desse modo, evidencia-se que as microalgas podem tanto substituir como suplementar o uso de fertilizantes inorgânicos, sendo consideradas primordiais para o futuro da agricultura.

Diante do exposto, é possível observar um cenário de mudanças a nível mundial, onde empresas e lideranças políticas se juntam em prol do desenvolvimento econômico e ambientalmente sustentável, visando a segurança alimentar e sanitária agora e também para as

futuras gerações (ONU, 2021a). Sendo assim, o uso de bioinsumos destaca-se mais uma vez, principalmente no setor agrícola, visando a readequação da cadeia produtiva vigente.

2.3. Feijão Pérola

Originário da região Mesoamericana e sul-Andina, o feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) se espalhou pela América a milhares de anos atrás, e foi domesticado múltiplas vezes pelo homem ao longo dos últimos 10 mil anos (RENDÓN-ANAYA et al., 2017). Pertencente à família Fabaceae, gênero *Phaseolus*, a espécie é a principal leguminosa constituinte da alimentação básica da população brasileira, sendo muitas vezes a única fonte de proteína disponível para pessoas de baixa renda (TÔSTO et al., 2012).

Segundo o boletim de grãos de novembro/2020 fornecido pela CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento) o consumo de feijão da população brasileira aumentou consideravelmente durante a pandemia de COVID-19; considerando-se como principal motivo, a diminuição de renda da população durante a grave crise econômica e sanitária enfrentada pelo país. Visto que o feijão é um excelente substituto da proteína animal (FLORES et al., 2020) a procura pelo grão disparou nos últimos anos, elevando a produção brasileira a um total de 3,15 milhões de toneladas na safra de 2019/2020, um aumento de 3,3% em relação à safra de 2018/2019 (CONAB, 2020).

Segundo as projeções do agronegócio realizadas pelo MAPA, até 2028 o consumo de feijão deve crescer ainda mais no Brasil e no mundo. Sendo utilizado como a principal fonte proteica das populações mais jovens, a chamada “geração saúde”; que visa a substituição da carne por vegetais, com a justificativa de que a leguminosa além de mais barata e ambientalmente correta, é igualmente rica em fibras e minerais, contribuindo assim para o controle de diabetes e obesidade (BRASIL, 2019).

Símbolo nacional e parte do principal prato típico brasileiro, arroz com feijão, a leguminosa representa 1,24% de toda a produção de grãos do país; sendo o Brasil um dos principais produtores de feijão do mundo, junto com o Myanmar e Índia (FAOSTAT, 2020). Entre os estados brasileiros, o maior produtor de feijão é o Paraná (31,2%), seguido de Minas Gerais (17,2%) e Mato Grosso (10,5%) (IBGE, 2020). Por ser o maior consumidor de feijão do mundo, o Brasil ainda necessita importar cerca de 80 a 120 mil toneladas do grão por ano de outros países, comprando principalmente da Argentina (COELHO, 2018b; BRASIL, 2019; FAOSTAT, 2020).

Alguns dos fatores que afastam os grandes agricultores e colocam cerca de 42% da produção nacional de feijão a cargo da agricultura familiar (IBGE, 2019) são as pragas, doenças

e alta sensibilidade ao estresse hídrico apresentada pela cultura (TÔSTO et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2018). Sendo assim, algumas cultivares como a BRS Pérola representam uma alternativa promissora para contornar tais problemas.

A cultivar BRS Pérola (linhagem LR 720982 CPL53) foi desenvolvida pelo Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão (CNPAP) em 1996, sendo fruto do trabalho de seleção de linhagens puras da cultivar Aporé. Quando lançada, a cultivar Pérola foi recomendada para o plantio no Mato Grosso do Sul, Paraná, Rio Grande do Norte, Acre, Rondônia e Espírito Santo; pois, apresenta melhor adaptabilidade à climas quentes e úmidos (YOKOYAMA et al., 1999). Seu principal atrativo é a resistência à ferrugem, mosaico-comum e antracnose, assim como moderada resistência à murcha de fusário e à mancha-angular.

Quanto as características físicas, os grãos apresentam coloração bege-claro, com rajadas marrom-claras e brilho opaco, sendo classificado no grupo comercial “carioca”, responsável por 50% da área cultivada com feijões no Brasil (IBRAFE, 2020). Pesando aproximadamente 27 g a cada 100 sementes, outras vantagens do Pérola em relação ao Aporé são grãos maiores, com melhor aspecto visual e menor tempo de cozimento (YOKOYAMA et al., 1999). Em relação as características vegetativas, a cultivar apresenta hábito de crescimento indeterminado (a floração inicia-se da base para o ápice da planta), porte semiereto e com um ciclo de aproximadamente 90 dias. O início da floração ocorre após os 40 dias, com flores brancas seguidas de legumes verdes. Ao final do ciclo, os legumes já secos apresentam coloração amarelo-areia, com tecido fino e quebradiço (YOKOYAMA et al., 1999).

Segundo os pesquisadores da Embrapa Arroz e Feijão, a fase de maior vulnerabilidade hídrica estende-se da semeadura até a plenitude da floração (OLIVEIRA et al., 2018). Dependendo da intensidade e da duração do estresse hídrico, a produtividade do feijoeiro pode cair drasticamente e gerar grandes prejuízos ao produtor. Sendo assim, a Embrapa recomenda uma disponibilização total de água na faixa de 250 mm a 350 mm por ciclo vegetativo.

A respeito das exigências nutricionais, os produtores e pesquisadores consideram o feijoeiro uma planta exigente em fertilidade e qualidade do solo; devido ao ciclo curto e ao sistema radicular superficial e pouco desenvolvido. Entre os principais fatores que influenciam o desenvolvimento da planta estão a correção da acidez, presença de porosidade no solo, disponibilidade de fósforo, magnésio, potássio, zinco, ferro, manganês, enxofre, cobre, cálcio, boro, e principalmente nitrogênio; que quando não for disponibilizado diretamente na forma de fertilizantes químicos, pode ser fixado por bactérias como *Rhizobium* (YOKOYAMA et al., 1999; OLIVEIRA et al., 2018) e cianobactérias cultivadas em conjunto com o feijoeiro (HEGAZI; MOSTAFA; AHMED, 2010; CHATURVEDI; NIKHIL, 2016).

Sendo assim, o uso de um biofertilizante microalgal poderia auxiliar o desenvolvimento e produtividade do feijoeiro ao prover diversos macro e micronutrientes, fitohormônios, bem como ao melhorar a porosidade do solo através da secreção de exopolissacarídeos (presente em alguns grupos de microalgas, a exemplo o gênero *Desmodesmus*). A excreção de EPS também poderia influenciar no incremento da microbiota local, melhorando a mineralização da matéria orgânica presente no solo e impactando positivamente na umidade e fertilidade do mesmo.

2.4. Enzimas antioxidantes

As algas, além de influenciar na microbiota e aspectos físico-químicos do solo, também possuem a capacidade de induzir respostas fisiológicas específicas em diversos organismos como plantas e animais. Quando aplicadas em solo sob cultivo, microalgas como a *C. vulgaris* podem induzir o metabolismo primário e secundário de defesa antioxidante em vegetais como o feijão (KUSVURAN; CAN, 2019), diminuindo os efeitos colaterais da fotossíntese e do ataque de pragas e patógenos.

O oxigênio é um elemento vital para a sobrevivência da maioria das espécies no planeta, inclusive as plantas (BOGUSZEWSKA; ZAGDAŃSKA, 2012). No entanto, cerca de 2 a 5% de todo o oxigênio consumido durante o metabolismo celular é transformado e reduzido a outras moléculas como o ânion superóxido (O_2^-), oxigênio singlete (1O_2) e radical hidroxila (OH^-). Essas substâncias são altamente reativas e podem causar danos severos e irreversíveis a maquinaria celular, pois degradam proteínas, oxidam lipídeos e modificam o código genético (STANGARLIN et al., 2011; KAPOOR et al., 2019). Tais ânions formados a partir do oxigênio molecular, são conhecidos como espécies reativas de oxigênio (EROs).

As EROs são moléculas extremamente instáveis que atuam no mecanismo de defesa primário das plantas ao ataque de pragas e patógenos. Através das “explosões oxidativas” as plantas induzem a intoxicação em insetos pragas e causam a morte das células vegetais nas regiões contaminadas por patógenos, impedindo o progresso da infecção para os tecidos saudáveis (BLOKHINA; FAGERSTEDT, 2010).

Entretanto, quando em excesso as EROs também podem causar a morte da planta. Sendo assim, visando a contenção de danos, enzimas antioxidantes primárias como a Superóxido Dismutase (SOD), Peroxidase (POX) e Ascorbato Peroxidase (APX) são ativadas e reduzem o superóxido à moléculas menos reativas como O_2 , H_2O e H_2O_2 (STANGARLIN et al., 2011; AMORIM; REZENDE; FILHO, 2018).

A Superóxido dismutase (EC 1.15.1.1) em especial, é a primeira e mais importante enzima de desintoxicação celular em plantas. Descoberta por Irwin Fridovich e Joe McCord

(1969) a SOD catalisa a reação de dismutação da molécula $^1\text{O}_2^-$ à H_2O_2 , que será posteriormente inativada por outras enzimas. Conhecida como metaloenzima, a SOD necessita de cofatores metálicos como cobre, zinco, manganês e ferro para funcionar corretamente; sendo assim a fertilidade do solo em que a planta está se desenvolvendo é um fator determinante na ativação enzimática de defesa antioxidante (CARVALHO; NETO, 2016).

Após a ativação das enzimas primária outros mecanismos são acionados, iniciando um metabolismo secundário que tem como principal enzima a Fenilalanina amônia-liase (FAL) (EC 4.3.1.5). Essencial para o desenvolvimento e proteção vegetal, a FAL é responsável pela desaminação da L-fenilalanina transformando-a em ácido trans-cinâmico e amônia; e pode ser regulada por fatores ambientais como disponibilidade de nutrientes no solo, luz ou presença de fungos e demais microrganismos (PERES, 2004). Entre as principais substâncias produzidas a partir da FAL estão o ácido benzoico, precursor do ácido salicílico, e a lignina, molécula responsável por dar rigidez a célula vegetal e consequentemente proteção contra o ataque de pragas e patógenos (TAIZ et al., 2017; TELLES; KUPSKI; FURLONG, 2017; LIU et al., 2019).

A fenilalanina amônio liase também atua na síntese de compostos fenólicos, antocianinas e de flavonoides, que vão influenciar em diversos aspectos vegetais como o odor, sabor, coloração e combate aos radicais livres (ação antioxidante), diminuindo assim a decomposição e oxidação de tecidos danificados. Além disso, os flavonoides e fenilpropanoides ligados a atividade da FAL também operam neutralizando fatores abióticos prejudiciais como a luz ultravioleta, injúrias mecânicas entre outros; motivo pela qual a enzima em questão é considerada constitutiva. (PINTO; RIBEIRO; OLIVEIRA, 2011; TELLES; KUPSKI; FURLONG, 2017; LIU et al., 2019; AMPOFO; NGADI, 2020). A FAL já foi isolada de algas, fungos e principalmente de plantas superiores; porém, ainda não foi detectada em células animais ou bacterianas (STANGARLIN et al., 2011).

3 OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Avaliar o potencial da biomassa de *Desmodesmus* sp. L2B Bold como biofertilizante no cultivo do feijão-comum (*Phaseolus vulgaris*) cv. BRS Pérola.

3.2. Objetivos específicos

- Comparar o crescimento vegetativo e a produtividade de grãos do feijoeiro cultivado sem e com a aplicação do biofertilizante microalgal.

- Caracterizar os pigmentos fotossintéticos das folhas do feijoeiro sob influência ou não do biofertilizante.
- Caracterizar a atividade das enzimas antioxidantes SOD e FAL do feijoeiro em função do biofertilizante microalgal de *Desmodesmus* sp. L2B Bold.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Universidade Federal de Lavras (UFLA), no departamento de biologia (DBI) setor de microbiologia, em conjunto com os departamentos de fitopatologia (DFP) e ciências dos solos (DCS), ambos no município de Lavras-MG; localizado a uma latitude 21° 14' 43 S, longitude 44° 59' 59 O, e altitude de 919 metros. A condução do experimento ocorreu durante os meses de maio de 2020 a janeiro de 2021.

O cultivo do feijoeiro foi realizado em casa de vegetação, com cobertura plástica, pertencente ao DFP.

4.1. Cultivo e crescimento de microalgas *in vitro*.

Para a obtenção da biomassa microalgal, foi utilizada uma amostra de *Desmodesmus* sp. L2B Bold previamente isolada e identificada por Abril Bonett et al. (2020). A microalga estava armazenada no laboratório de microbiologia, pertencente ao DBI/ UFLA.

Foi realizado um cultivo em meio BG -11 (*blue-green algae medium*) composto por: NaNO₃ (1500 mg L⁻¹); NaCl (15000 mg L⁻¹); K₂HPO₄ (40 mg L⁻¹); MgSO₄.7H₂O (75 mg L⁻¹); CaCl₂.H₂O (36 mg L⁻¹); Na₂CO₃ (20 mg L⁻¹); ácido cítrico (6 mg L⁻¹); citrato férrico de amônio (6 mg L⁻¹) e EDTA (1 mg L⁻¹). Adicionou-se também 1 mL de solução de micronutrientes compostos por: H₃BO₃ (2860 mg L⁻¹); MnCl₂.4H₂O (1810 mg L⁻¹); ZnSO₄.7H₂O (222 mg L⁻¹); NaMoO₄.2H₂O (390 mg L⁻¹); CuSO₂.5H₂O (79 mg L⁻¹) e Co(NO₃)₂.6H₂O (49,4 mg L⁻¹), o pH estava próximo a 7,5. Foram utilizados frascos tipo Erlenmeyer de 2 L previamente esterilizados e preenchidos com o meio de cultura, onde ocorreu a inoculação da microalga. Os recipientes foram mantidos à temperatura ambiente (± 25 °C) com fotoperíodo de 12 horas.

O crescimento microalgal foi acompanhado utilizando-se a técnica de contagem celular em câmara de *Neubauer*, com um microscópio óptico de luz. Após 15 dias de cultivo foram realizadas repicagens, transferindo-se 10% da cultura anterior para 90% de meio novo e esterilizado, visando aumento na obtenção de biomassa.

4.2. Obtenção das sementes de Feijão Pérola

As sementes de feijão da variedade “Pérola” (linhagem LR 720982 CPL53) foram obtidas do Departamento de Fitopatologia situado no campus da UFLA.

4.3. Preparo e aplicação da microalga

A obtenção da biomassa de microalgas foi realizada a partir da centrifugação há 6000 rpm por 10 minutos, seguida de duas lavagens em água destilada estéril para retirar o meio de cultura. A aplicação da microalga foi realizada via irrigação manual com população de 10^7 células mL^{-1} , iniciando-se 15 dias após a semeadura (V3) e em seguida, a cada 10 dias.

4.4. Desenho experimental

Os tratamentos foram biofertilizante microalgal e água (controle). O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com 10 repetições para cada tratamento. Cada repetição foi constituída por 1 vasos contendo duas plantas, totalizando assim 20 plantas por tratamento. Foram utilizados vasos com capacidade para 5 kg, preenchidos com uma mistura de substrato composto por areia, solo (horizonte B) e substrato comercial (1:2:1 v/v/v); com adição de calcário dolomítico ($\text{CaCO}_3 \cdot \text{MgCO}_3$) com PRNT 80% para correção da acidez. Posteriormente, foi realizada a suplementação do substrato com 200 g da formulação NPK 4-14-8 e foi então, aguardado 15 dias para o início da semeadura.

A mistura dos substratos apresentou os seguintes atributos químicos: pH = 5,5; P e K (mg dm^{-3}) = 300,4 e 16,4; Ca, Mg, Al, H + Al, SB, T e t ($\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$) = 2,5; 1,9; 0,1; 5,0; 5,2; 5,3 e 10,2, respectivamente; V (%) = 50,9; matéria orgânica = 2,1 dag kg^{-1} ; e Cu, Mn, Fe, Zn e S (mg dm^{-3}) = 1,3; 18,1; 51,9; 1,8 e 79,9, respectivamente. Foram realizadas irrigações diárias e remoção de plantas espontâneas durante todo o experimento.

4.5. Análise biométrica do feijoeiro

Os parâmetros de crescimento foram avaliados seguindo a metodologia de Santana et al. (2018) com adaptações. A cada 10 dias, foram anotados altura de todas as plantas com auxílio de régua milimétrica e o diâmetro do caule, utilizando-se paquímetro digital.

Decorridos 107 dias após a semeadura (DAS) foram colhidas 4 plantas inteiras por tratamento, sendo os vasos escolhidos aleatoriamente. Nesta etapa foram avaliados o comprimento da maior raiz e as massas frescas e secas das folhas, caules e raízes. Posteriormente, foram somadas as massas de raízes, folhas e caules para contabilizar a massa total de cada planta. Para a determinação das massas secas, o material fresco foi colocado em

sacos de papel e acondicionados em estufa com circulação de ar forçada a 60 ± 5 °C até a obtenção de peso constante (SANTANA et al., 2018).

Aos 133 DAS foi realizada a coleta das plantas remanescentes para avaliação de produtividade onde foram anotados o comprimento de legumes, número e peso de legumes e grãos.

4.6. Atributos químicos dos substratos

Para as análises dos atributos químicos dos substratos foram coletadas amostras iniciais, antes do semeio e ao final do experimento (133 DAS) com e sem a aplicação do biofertilizante. As análises químicas foram realizadas no Departamento de Ciências dos Solos da UFLA, seguindo a metodologia de Silva (2009). O pH do solo foi avaliado em CaCl_2 e para os micronutrientes foi utilizado extrator Mehlich 1; exceto para o boro e o enxofre, que foram extraídos com água quente e fosfato monocálcico em ácido acético, respectivamente.

4.7. Caracterização dos pigmentos foliares e enzimas antioxidantes do feijoeiro

Foram coletadas amostras foliares ao longo do ciclo de cultivo do feijoeiro, nos dias 25 de julho, 14 de agosto e 30 de setembro de 2020, que correspondem a 17 (V3), 37 (R5) e 80 (R8) dias após a semeadura (DAS) respectivamente. As folhas de duas plantas de cada tratamento foram retiradas, alocadas individualmente em sacos de papel alumínio, imediatamente armazenadas em nitrogênio líquido e posteriormente freezer -80 °C até o momento das análises.

Para a determinação dos teores de clorofila e carotenoides foram pesados 0,1 gramas de tecido foliar, que foi posteriormente alocado em frascos âmbar com 10 mL de acetona 80% (v/v). Após 48 horas, realizou-se leituras espectrofotométricas a 646,8 e 663,2 nm (clorofilas *a* e *b*), e a 470 nm para os teores de carotenoides conforme metodologia adaptada de Lichtenthaler e Buschmann (2001).

O extrato enzimático foi obtido através da maceração de 0,2 g de folhas em nitrogênio líquido, em um almofariz com polivinilpirrolidona (PVP) a 1%. Em seguida, o fino pó formado foi homogeneizado com um tampão de extração composto por fosfato de potássio 100 mM (pH 7,8), EDTA 0,1 mM e ácido ascórbico 10 mM, e então centrifugado a 13000 xg por 25 min a 4 °C. Os sobrenadantes coletados foram utilizados nas análises enzimáticas da Superóxido Dismutase (SOD) e Fenilalanina Amônia-liase (FAL) (BIEMELT; KEETMAN; ALBRECHT, 1998). A proteína total de cada extrato de plantas foi medida de acordo com Bradford (1976) usando uma curva padrão de albumina de soro bovino.

A atividade da SOD foi avaliada pela capacidade da enzima em inibir a fotorredução do azul de nitrotetrazólio (NBT) em um meio de incubação composto por fosfato de potássio 50 mM (pH 7,8), metionina 14 mM, 0,1 μ M de EDTA, 75 μ M de NBT, 2 μ M de riboflavina e extrato foliar. Os tubos com o meio de reação foram iluminados por 7 minutos com uma lâmpada fluorescente de 30 W. Para o controle, o mesmo meio de reação sem a amostra foliar (enzima) foi exposto a luz. As leituras foram realizadas a 560 nm e o cálculo da enzima foi feito com a seguinte equação: % de inibição = (A560 amostra com extrato enzimático – A560 controle sem enzima) / (A560 controle sem enzima). Uma unidade da SOD corresponde à quantidade de enzima capaz de inibir em 50% a fotorredução do NBT nas condições do ensaio (GIANNOPOLITIS; RIES, 1977).

A avaliação da atividade da FAL foi iniciada após a adição de 10 μ L do sobrenadante do extrato foliar a uma mistura contendo 140 μ L de tampão Tris-HCl 70 mM (pH 8,8) e 50 μ L de L-fenilalanina 125 mM. A mistura da reação foi incubada em Leitor de Elisa a 37 °C durante 20 minutos. A absorvância dos derivados do ácido trans-cinâmico foi medida em espectrofotômetro a 280 nm e o coeficiente de extinção molar de 5000 $\text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$ foi utilizado para calcular a atividade das FAL, a qual foi expressa em $\text{mM min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de proteína (ZUCKER, 1965).

4.8. Análise estatística

Os dados agrônômicos obtidos ao final do ciclo foram submetidos à análise de variância e quando significativos pelo teste F ($p < 0,05$), foram submetidas ao teste t de Student para a fonte de variação biofertilizante microalgal. Já os dados de altura e diâmetro tomados ao longo do ciclo de cultivo foram analisados como parcelas subdivididas no tempo e submetidas ao teste F ($p < 0,05$) seguido de teste t de Student para biofertilizante, e regressão para época de coleta dos dados, ambos a 5% de probabilidade.

Para os dados de pigmentos foliares e enzimas antioxidantes foi utilizado o desvio padrão dos dados em relação a variação das repetições dentro de cada tratamento.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Houve melhoria de alguns atributos químicos do substrato, como o pH e a saturação de base (V%) após o ciclo de cultivo, independente da aplicação da microalga (TABELA 1). Esta melhoria provavelmente está relacionada com a mineralização da matéria orgânica (M.O) inicial, visto que, foi constatado menor teor de M.O após o ciclo de cultivo do feijoeiro em ambos os tratamentos.

Tabela 1 - Atributos químicos dos substratos antes da semeadura e no final do ciclo do feijoeiro com e sem a aplicação das microalgas.

Atributos químicos		Inicial (antes da semeadura)	Sem microalgas	Com microalgas
pH	(CaCl ₂)	5,5	6,6	6,2
K	(mg dm ³)	300,4	318,2	251,7
P	(mg dm ³)	16,4	27,8	22,1
Ca	(cmolc dm ³)	2,5	3,6	3,4
Mg	(cmolc dm ³)	1,9	2,6	2,1
Al	(cmolc dm ³)	0,1	-	0,1
H+Al	(cmolc dm ³)	5,0	2,1	2,5
SB	(cmolc dm ³)	5,2	7,0	6,1
t	(cmolc dm ³)	5,3	7,0	6,2
T	(cmolc dm ³)	10,2	9,1	8,6
V	(%)	50,9	76,9	70,9
M	(%)	1,9	-	1,6
M.O.	(dag kg ⁻¹)	2,1	1,9	1,4
P-Rem	(mg L ⁻¹)	16,2	12,2	14,2
Zn	(mg dm ³)	1,8	1,3	1,1
Fe	(mg dm ³)	51,9	51,4	40,7
Mn	(mg dm ³)	18,1	15,4	12,7
Cu	(mg dm ³)	1,3	1,9	1,8
B	(mg dm ³)	-	0,2	0,2
S	(mg dm ³)	79,9	139	120,9

*SB= Soma de Bases Trocáveis, CTC (T) = Capacidade de Troca Catiônica a pH 7,0, m= Índice de Saturação de Alumínio, CTC (t) = Capacidade de Troca Catiônica Efetiva, MO= matéria orgânica, V= Índice de Saturação de Bases, P-Rem= Fósforo remanescente.

Fonte: Do autor (2021).

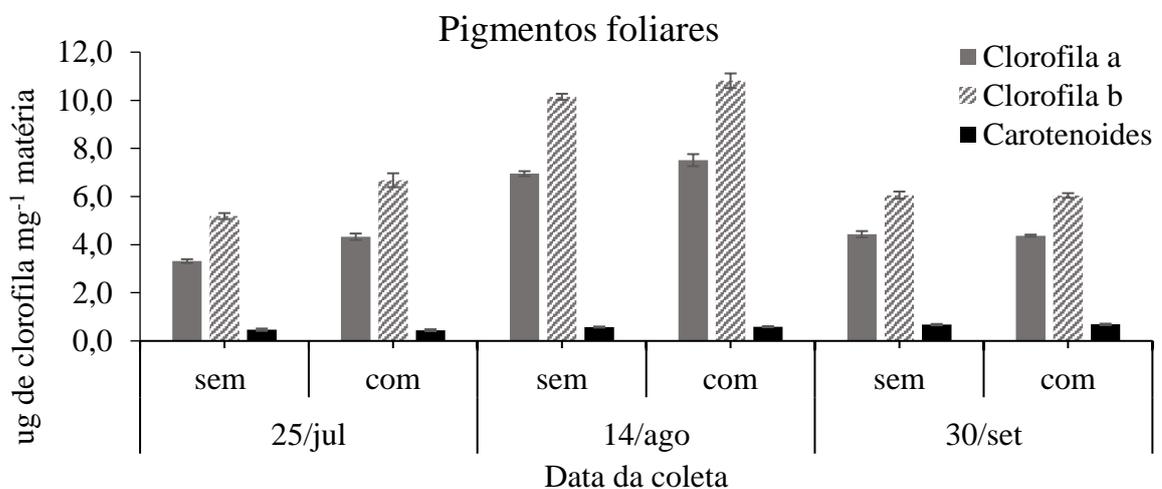
A mineralização da matéria orgânica contribuiu principalmente para a troca catiônica, evidenciada pela aumento da saturação de base (V%). A V% foi influenciada tanto pela maior disponibilidade de Ca e Mg, quanto por uma redução da acidez potencial (H + Al), elevando assim o pH e melhorando a fertilidade do solo (EMBRAPA, 2010). Além disso, de acordo com a análise dos atributos químicos, tanto no início quanto no fim do ciclo de cultivo, independentemente do tratamento, os valores de macro e micronutrientes; pH; soma de bases

trocáveis (SB); capacidade de troca catiônica geral (T) e efetiva (t); índice de saturação de alumínio (m) e matéria orgânica (M. O.) estavam dentro dos padrões mínimos exigidos para o bom desenvolvimento da leguminosa, segundo as recomendações técnicas de Raij et al. (1997) (TABELA 1).

Em contrapartida, ao comparar o solo inicial e final sem a ação do biofertilizante é possível observar que a disponibilidade de ferro permaneceu constante (51,9 e 51,4 mg dm³ respectivamente), ao passo que com a adição da biomassa de *Desmodemus* sp. L2B Bold a concentração de ferro final foi reduzido a 40,7 mg dm³; sendo esse um forte indício de que o biofertilizante atuou diretamente na dinâmica físico-química do substrato. Outros elementos encontrados em menor disponibilidade no solo sob tratamento microalgal fora potássio, cálcio, magnésio, zinco, manganês, cobre, boro e enxofre (TABELA 1).

Quanto aos pigmentos foliares, houve incremento significativo de aproximadamente 30% do conteúdo de clorofila *a* e *b* com a aplicação do biofertilizante no início, aos 17 dias após a semeadura (DAS) e 7% no meio do ciclo de cultivo (37 DAS) (FIGURA 2). No final do ciclo (80 DAS) foi constatado redução dos teores de clorofila *a* e *b* em relação as primeiras avaliações, uma vez que a planta estava iniciando o processo de maturação dos grãos e consequentemente entrando em estágio de senescência das folhas, afetando assim o conteúdo de clorofila independentemente da aplicação do biofertilizante. O conteúdo de carotenoides nas folhas do feijoeiro permaneceu constante ao longo do ciclo de cultivo em ambos os tratamentos (FIGURA 2).

Figura 2 - Clorofila *a*, *b* e carotenoides das folhas feijoeiro ao longo do ciclo de cultivo, com e sem a aplicação do biofertilizante microalgal.



*Barra de erros representa o desvio padrão dos dados em relação à variação das repetições dentro de cada tratamento.

Fonte: Do autor, 2021.

Os resultados estão de acordo com a literatura, onde a aplicação de extratos de algas e microalgas em leguminosas promoveu o incremento da clorofila *a* e *b* de maneira proporcional a concentração de biomassa aplicada, tanto via foliar quanto em substrato (ASHOK KUMAR et al., 2012; ZEWAIL, 2014; MANSORI et al., 2015; DINESHKUMAR; SUBRAMANIAN; SAMPATHKUMAR, 2020). Segundo Dineshkumar et al. (2020) estão presentes nos extratos de microalgas diversos aminoácidos como a fenilalanina, ácido glutâmico e glutamina; que participam tanto da constituição de novas proteínas, quanto das rotas metabólicas das plantas, influenciando diretamente na produção de pigmentos foliares (síntese de clorofilas), armazenamento de reservas energéticas, e enzimas antioxidantes responsáveis pela proteção do aparelho fotossintético das plantas (BATTACHARYYA et al., 2015; TAIZ et al., 2017).

Outra possível explicação para o aumento de pigmentos fotossintéticos observados na Figura 2 é que a biomassa de *Desmodesmus* sp. L2B Bold tenha proporcionado maior absorção de nutrientes pelo feijoeiro. Isso porque, nutrientes como o magnésio, átomo central da molécula de clorofila (TAIZ et al., 2017), foram constatados em menores quantidades no solo após o ciclo do feijoeiro quando adicionado o biofertilizante microalgal em relação ao tratamento controle (TABELA 1).

A maior mineralização da matéria orgânica promovida pela adição da biomassa de *Desmodesmus* sp. (TABELA 1) pode ter influenciado diretamente na disponibilização de macronutrientes essenciais para as plantas como o fósforo; uma vez que os ânions orgânicos liberados na decomposição da M.O formam complexos estáveis com outros cátions e assim diminuem a formação de fosfatos insolúveis como o fosfato de ferro, que não pode ser absorvido pelo vegetal (EMBRAPA, 2010).

Outros nutrientes essenciais para produção e manutenção de pigmentos fotossintéticos são o ferro; que atua tanto como um catalisador na biossíntese de clorofila, como um transportador de elétrons durante a fotossíntese; e o manganês, um importante ativador enzimático responsável por controlar as reações de oxirredução, e que também faz parte da constituição de manganoproteínas envolvidas na quebra da água no fotossistema II (TAIZ et al., 2017). Ao analisar a concentração de ambos os elementos ao final do ciclo de cultivo (TABELA 1) juntamente com os resultados observados na Figura 2, evidencia-se que a adição da microalga influenciou positivamente na disponibilização dos nutrientes, facilitando a sua absorção pelo feijoeiro e influenciando indiretamente na produção de clorofilas.

Além disso, segundo Moreira; Moraes (2017), Fakioglu; Ozturk (2019) e Akgül (2020) os aminoácidos, especialmente os presentes na biomassa de *Desmodesmus* sp., possuem efeito

quelante; fazendo com que macro e micronutrientes catiônicos disponíveis no solo se anexam a eles, facilitando a penetração na membrana celular da radícula do feijoeiro. Nesse sentido, destaca-se que a capacidade de excretar aminoácidos para o meio extracelular já foi comprovada por Yang et al., (2017) em pesquisas com *D. quadricauda*, sendo essa mais uma possível justificativa para o incremento observado na Figura 2.

Ademais, Ekmay et al. (2014) ao realizarem a caracterização da biomassa desengordurada de *Desmodesmus* sp. (TABELA 2) observaram que o gênero é rico em diversos aminoácidos, lipídeos, carboidratos, macro e micronutrientes como nitrogênio, fósforo, magnésio, cobre, ferro, zinco e manganês; que, são indispensáveis para biossíntese da clorofila (TAIZ et al., 2017).

Tabela 2 - Composição nutricional da biomassa de *Desmodesmus* sp. desengordurada.

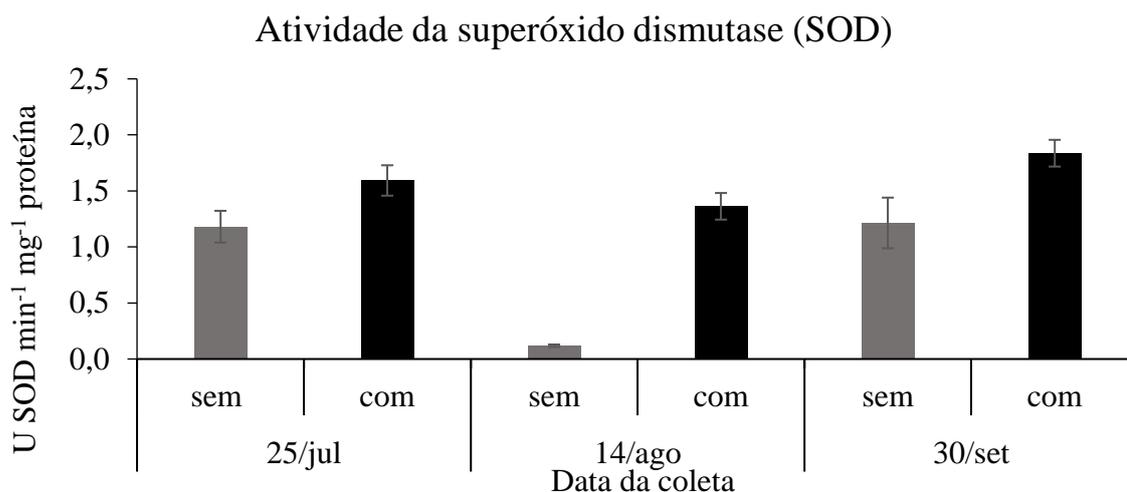
NUTRIENTES	%	AMINOÁCIDOS	%
Matéria seca	96,0	Alanina	2,27
Proteína bruta	31,2	Arginina	1,45
Gordura bruta	1,50	Ácido aspártico	2,69
Fibras em detergente ácido	15,4	Cisteína	0,33
Fibras em detergente neutro	23,2	Ácido glutâmico	2,93
Cinzas	17,1	Glicina	1,72
Cálcio (Ca)	0,33	Histidina	0,50
Fósforo (P)	0,65	Hidroxilisina	0,37
Sódio (Na)	3,24	Hidroxiprolina	0,07
Potássio (K)	0,89	Isoleucina	1,10
Magnésio (Mg)	0,63	Leucina	2,29
		Lisina	1,61
MINERAIS	mg/kg	Metionina	0,48
Ferro (Fe)	1900	Ornitina	0,04
Cobre (Cu)	16,0	Fenilalanina	1,34
Manganês (Mn)	154	Prolina	2,73
Zinco (Zn)	34,0	Serina	1,10
Molibdênio (Mo)	2,4	Taurina	0,02
Selênio (Se)	0,12	Treonina	1,26
		Triptofano	0,43
		Tirosina	1,01
		Valina	1,59

Fonte: Adaptado de Ekmay et al. (2014).

Dessa forma, é possível que a biomassa de *Desmodesmus* sp. além de influenciar na absorção dos nutrientes já disponíveis no solo, também tenha disponibilizado outros minerais após a decomposição da sua biomassa pela microbiota local. Sendo assim, a microalga em questão pode ter atuado tanto como um bioestimulante, quanto biofertilizante.

Foi constatado aumento significativo da atividade enzimática da superóxido dismutase (SOD) nas folhas de feijoeiro em todo o ciclo de cultivo com a aplicação do biofertilizante quando comparado as plantas sem, sendo observada maior atividade ($1,83 \text{ U SOD min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ proteína) após 80 dias da semeadura (FIGURA 3).

Figura 3 - Atividade enzimática da Superóxido dismutase (SOD) nas folhas do feijoeiro ao longo do ciclo de cultivo, com e sem a adição do biofertilizante microalgal.



*Barra de erros representa o desvio padrão dos dados em relação a variação das repetições dentro de cada tratamento.

Fonte: Do autor, 2021.

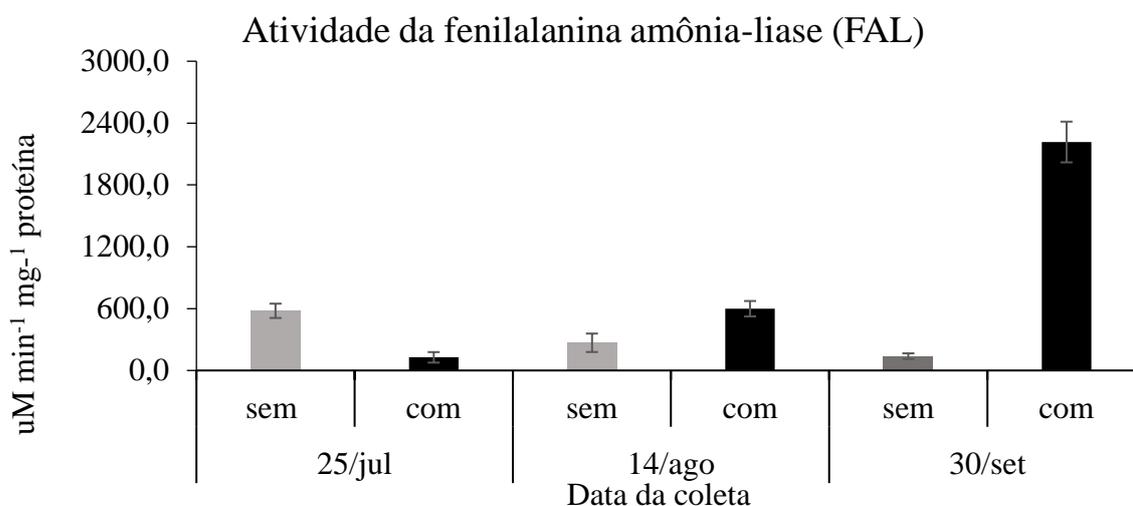
Para que enzimas como a SOD atuem corretamente alguns cofatores como o zinco, ferro e manganês precisam estar disponíveis, bem como, serem absorvidos adequadamente pela planta (BARBOSA et al., 2014; ZAMBOLIM; JÚNIOR; RODRIGUES, 2014). De acordo com a Tabela 1, esses nutrientes estavam em menor concentração no solo ao final do ciclo de cultivo sob tratamento microalgal; ao passo que a superóxido dismutase apresentou significativo aumento (FIGURA 3). Desse modo, reforça-se a hipótese que a microalga estimulou a absorção desses nutrientes, influenciando indiretamente na atividade enzimática da SOD e contribuindo significativamente para a ativação do sistema antioxidantes primário das folhas do feijoeiro.

Os resultados obtidos nesse trabalho estão de acordo com Kusvuran; Kusvuran (2019) e Kusvuran; Can (2020) que ao aplicarem um biofertilizante a base de *C. vulgaris* em feijão-cacho (*Cyamopsis tetragonoloba* L.) também observaram aumento na atividade antioxidante, inclusive da SOD (336,75% e 113,58% maior em relação ao tratamento controle respectivamente). Segundo os autores a adição da microalga melhorou o sistema de defesa da planta, proporcionando maior tolerância ao estresse hídrico e salino.

O aumento da atividade enzimática também pode estar relacionado com o fornecimento de fitohormônios pelas microalgas, em especial de citocininas, que possuem a capacidade de regular a ativação de genes relacionados a produção de enzimas antioxidantes (MANSORI et al., 2015; GUO et al., 2020). A capacidade de regulação gênica, bem como ativação de metabólitos primários e secundários por extratos microalgais foi recentemente confirmada por Barone et al. (2018) ao aplicarem *C. vulgaris* e *Scenedesmus quadricauda* no cultivo hidropônico da beterraba (*Beta vulgaris* L).

A atividade da enzima Fenilalanina amônia-liase (FAL) nas folhas do feijoeiro foi inicialmente menor quando aplicado o biofertilizante em comparação com o tratamento controle. No entanto, ao longo do ciclo o resultado foi revertido, sendo a quantidade de FAL cerca de 120% a 1500% maior nas plantas biofertilizadas em comparação com as plantas sem o biofertilizante, no meio e no final do ciclo respectivamente (FIGURA 4).

Figura 4 - Atividade enzimática da fenilalanina amônia-liase (FAL) nas folhas do feijoeiro ao longo do ciclo de cultivo, com e sem a adição do biofertilizante microalgal.



*Barra de erros representa o desvio padrão dos dados em relação a variação das repetições dentro de cada tratamento.

Fonte: Do autor, 2021.

Os resultados observados no presente trabalho comprovaram que a biomassa de *Desmodesmus* sp. L2B Bold também influencia na indução do metabolismo secundário do feijoeiro (FIGURA 4), que por sua vez, terá impacto nos pigmentos foliares (FIGURA 2) e até mesmo em alguns aspectos do metabolismo primário, como síntese e transporte de auxinas (GAYOMBA; WATKINS; MUDAY, 2016). A indução do metabolismo secundário em

plantas, por bioestimulação microalgal já é conhecida a algumas décadas e foi detalhada por autores como Battacharyya et al. (2015).

A FAL pode ser regulada por hormônios vegetais durante o desenvolvimento da planta, ou ser induzida por estímulos ambientais como infecções, ferimentos, estresse hídrico e fatores nutricionais; dentre os quais se destacam a presença de micronutrientes cofatores (cobre e manganês) e do aminoácido fenilalanina, principal substrato da fenilalanina amônia-liase (MONTEIRO et al., 2016; AMPOFO; NGADI, 2021). Neste sentido, ressalta-se que as biomassas de *D. subspicatus* (BETTANI et al., 2019) e *Desmodemus* sp. (EKMAY et al., 2014) já foram comprovadas como fonte de nitrogênio, cobre, zinco e ferro, assim como a presença de fenilalanina já foi identificada em *Desmodemus* sp. (TABELA 2), *D. communis* (AKGÜL, 2020) e *D. armatus* (FAKIOGLU; OZTURK, 2019) sendo essa uma possível explicação para o aumento da atividade enzimática evidenciada.

O incremento na atividade enzimática da FAL também foi observada por Puglisi et al. (2020) ao aplicarem extratos de *D. quadricauda* em alface (*Lactuca sativa* L.). Segundo os autores a adição da microalga gerou um efeito bioestimulador significativo na atividade da fenilalanina amônia-liase, com um aumento de 100% em comparação com o controle após 4 dias.

Quanto ao tempo de resposta para ativação da FAL, resultados similares foram encontrados por Ampofo e Ngadi (2021) enquanto avaliavam estratégias de elicitação biótica e abiótica em brotos de feijão-comum (*P. vulgaris*). De acordo com o estudo a FAL está diretamente relacionada com a resposta de enzimas primárias como a Catalase (CAT), Peroxidase (POD) e Superóxido dismutase (SOD); somente após a ativação da primeira linha de defesa antioxidante é que enzimas secundárias como a FAL são acionadas.

Em relação aos parâmetros agronômicos, a massa seca (MS) de raiz, massa fresca (MF) e seca de folhas e MS total foram influenciadas positivamente quando adicionado o tratamento microalgal (TABELA 3).

Tabela 3 - Massa seca de raízes, massa fresca e seca de folhas e total do feijoeiro cultivado com e sem o biofertilizante microalgal.

Microalga	MF Folhas	MS Folhas	MS Raiz	MF Total	MS Total
	(g)				
Com	14,5 a	2,9 a	2,6 a	41,7 a	8,1 a
Sem	7,8 b	2,0 b	1,7 b	27,7 b	5,8 b

*letras iguais nas colunas não diferem entre si, pelo teste t de Student a 5% de probabilidade.

Fonte: Do autor, 2021.

A aplicação do biofertilizante promoveu incremento de 85,9% de MF folhas; 45% de MS folhas; 52,9% de MS raiz; 50,5% MF total e 39,6% MS total em comparação ao tratamento controle. Tal ganho de biomassa está diretamente relacionado ao conteúdo elevado de clorofila *a* e *b* observados nas plantas biofertilizadas (FIGURA 2). Isso porque, quanto maior a quantidade de clorofila maior será a produção de energia e de fotoassimilados, como carboidratos e proteínas que vão servir como base para a multiplicação celular, produção de enzimas antioxidantes e hormônios vegetais (TAIZ et al., 2017).

O incremento de biomassas do feijoeiro também pode ser decorrente da presença de hormônios vegetais como citocininas, auxinas e giberelinas, amplamente encontrados em extratos de algas (LU; XU, 2015; GUO et al., 2020). Os hormônios vegetais são essenciais para a divisão e expansão celular, influenciando diretamente na formação de folhas e desenvolvimento de raízes (STIRK; VAN STADEN, 2014). Raízes maiores tendem a ter melhor absorção de nutrientes, aumentando assim o crescimento e desenvolvimento geral da planta. Neste sentido, Shanthakumar et al. (2020) observaram que a adição da biomassa de *Desmodium* sp. no solo pode aumentar em 200% a disponibilidade de auxinas, 500% a atividade de desidrogenases e 200% a presença de exopolissacarídeos; além de regular aspectos físico-químicos como o pH.

A adição de *Desmodium* sp. L2B Bold também pode ter influenciado positivamente no desenvolvimento da microbiota do substrato através da excreção de exopolissacarídeos (EPS), impactando indiretamente na mineralização da matéria orgânica do solo (TABELA 1) e na disponibilização de nutrientes para a planta. Dito isso, destaca-se que a excreção de EPS já foi observada em *Desmodium* sp. por Abinandan et al. (2020) e em *D. subspicatus* por Bettani et al. (2019). Além disso, a excreção de EPS também está relacionada com melhorias estruturais no solo; promovendo maior agregação de partículas, diminuindo a erosão e escoamento precoce da água (MARKS et al., 2017; YILMAZ; SÖNMEZ, 2017; GUO et al., 2020).

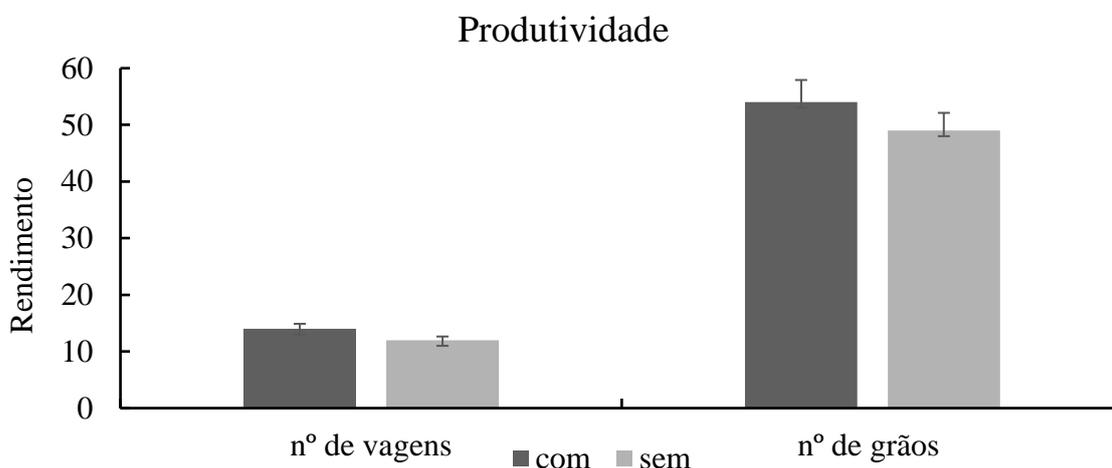
De fato, há uma evidente relação entre os atributos químicos do solo biofertilizado (TABELA 1) e o aumento de massas observado (TABELA 2). A exemplo o pH, que foi positivamente regulado pela biomassa microalgal (pH 6,2) de modo que nutrientes como o fósforo não ficassem indisponíveis para a planta, seja por formação de fosfato de ferro (pH abaixo de 5,5) ou fosfato de cálcio (pH acima de 6,5), o que justifica a sua menor concentração no solo biofertilizado ao final do ciclo de cultivo em relação ao tratamento controle. O fósforo faz parte da constituição da membrana plasmática, composição dos ácidos nucleicos, divisão celular e da ativação de enzimas relacionadas ao metabolismo de açúcares da planta (TAIZ et al., 2017), sendo essencial para o aumento de massas observado no presente trabalho.

Outro macronutriente essencial para otimização da produção de biomassa vegetal é o enxofre (S), que por sua vez também foi observado em menor concentração no solo biofertilizado. O nutriente em questão faz parte da formação de aminoácidos como a cistina, cisteína e metionina; da constituição de enzimas e vitaminas como coenzima A, biotina e vitamina B1; e das moléculas de clorofila *a* e *b* (TAIZ et al., 2017) que não obstante, também foram influenciadas pelo tratamento microalgal (FIGURA 2).

Da mesma forma o zinco, aparentemente melhor absorvido (TABELA 1), pode ter influenciado no aumento de massas (TABELA 3) pois, o micronutriente faz parte da síntese de triptofano; precursor da auxina, fitohormônio determinante para o aumento do peso seco de raízes. Além disso, o zinco também participa da biossíntese de clorofilas (FIGURA 2) e da composição de enzimas como a desidrogenase, proteinase, peptidase e fosfohidrogenase, atuando diretamente no metabolismo de carboidratos e proteínas ligadas ao aumento de massas (HUSSAIN et al., 2021).

Houve um aumento significativo no número de legumes (16,6%) e conseqüentemente grãos (10,2%) do feijoeiro com a adição do biofertilizante microalgal em comparação com as plantas do tratamento controle (FIGURA 5).

Figura 5 - Rendimentos do número de vagens e grãos do feijoeiro, com e sem a aplicação do biofertilizante microalgal.



*Barra de erros representa o desvio padrão dos dados em relação a variação das repetições dentro de cada tratamento.

Fonte: Do autor, 2021.

Tais resultados podem estar relacionados com o aumento de massas frescas e secas, especialmente de raízes e folhas (TABELA 3), que influenciaram positivamente na absorção de nutrientes e na produção de fotoassimilados, possibilitando ganho de produtividade final. Os dados observados estão de acordo com Dineshkumar, Subramanian e Sampathkumar (2020b)

que observaram uma produtividade de 4 a 5 vezes maior no número de legumes e grãos por planta de feijão-chinês quando adicionado um biofertilizante líquido a base de *C. vulgaris*.

Outra possível explicação é que o melhor desenvolvimento da planta (TABELA 3) e o aumento da atividade enzimática (FIGURAS 2 e 3) tenham influenciado diretamente na produtividade final. Quanto melhor o sistema de defesa de planta, bem como sua capacidade de adaptação a estresses abióticos, maior será a chance de alcançar o desenvolvimento pleno e produtividade máxima. Tal relação foi similarmente observada por Kusvuran e Can (2020) enquanto avaliavam a influência de microalgas eucarióticas em leguminosas. Segundo os autores a adição de *C. vulgaris* em feijão-guar aumentou em 60,7% os compostos fenólicos totais, 174,8% o teor de flavonoides e em 113,5% a atividade superóxido dismutase, impactando também no aparato fotossintético, massas e produtividade total da planta.

Ademais, as flavonas e flavonoides decorrentes da atividade enzimática da FAL, quando secretado no solo por raízes de leguminosas, também atuam na interação entre a planta e os microrganismos fixadores de nitrogênio presentes na rizosfera (GARCÍA-CALDERÓN et al., 2020), influenciando diretamente no desenvolvimento vegetativo. Destaca-se aqui, que altos níveis de compostos fenólicos totais e flavonoides foram encontrados na biomassa de *Desmodemus* sp. (7,72 mg g⁻¹ e 4,03 mg g⁻¹ de biomassa respectivamente) (SAFAFAR et al., 2015); e que já foi descrito aumento significativo nos níveis de compostos fenólicos totais e flavonoides (24% e 48% respectivamente) em feijão-cacho biofertilizado com *C. vulgaris* em relação ao tratamento controle (KUSVURAN; KUSVURAN, 2019).

A massa seca e fresca de legumes e caules, comprimento de legumes e raízes, massa fresca de raízes, peso de grãos (ANEXO A e B), altura e diâmetro de plantas não foram influenciados significativamente pelo tratamento microalgal. Tais resultados podem ser atribuídos ao fato de que os extratos de algas apresentam efeitos negativos e positivos de acordo com a sua concentração (CASTELLANOS-BARRIGA et al., 2017). Visto que não houveram efeitos inibitórios atribuídos ao tratamento com microalgas na população de 10⁷ células mL⁻¹, sugere-se que o aumento da concentração celular de *Desmodemus* sp. L2B Bold em trabalhos futuros poderia apresentar melhores resultados nos parâmetros em questão.

Desta maneira, a aplicação do biofertilizante microalgal revelou-se eficaz na otimização do sistema de defesa antioxidante (FIGURAS 2 e 3), que por sua vez impactou diretamente na quantidade de clorofila *a* e *b* das folhas do feijoeiro (FIGURA 1). O incremento do aparato fotossintético melhorou a captação de luz e aumentou a produção de fotoassimilados, que foi evidenciado pelo significativo aumento de massas frescas e secas (TABELA 3) e da produtividade final do feijoeiro (FIGURA 4).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Durante a avaliação da produtividade final do feijoeiro foi possível observar que a adição do biofertilizante microalgal induziu a formação de grãos menores e mais leves quando comparados ao tratamento controle. Sendo assim, sugere-se a avaliação da qualidade tecnológica dos grãos sob biofertilização em trabalhos futuros, afim de identificar possíveis influências da biomassa de *Desmodesmus* sp. na viabilidade e vigor de sementes.

Em relação a avaliação de massas frescas do feijoeiro, os autores notaram considerável aumento na formação de raízes adventícias em plantas que receberam o biofertilizante.

7 CONCLUSÃO

Conclui-se que a biomassa de *Desmodesmus* sp. L2B Bold possui a capacidade de melhorar o sistema de defesa antioxidante, produção de pigmentos fotossintéticos e produtividade final do feijoeiro-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. Pérola; apresentando potencial para utilização como biofertilizante no cultivo da leguminosa.

ANEXO A - Quadro de análise de variância dos quadrados médios de comprimento de raiz, massa fresca e seca total e de raízes, legumes, folhas e caule aos 107 dias após a sementeira.

FV	GL	Quadrado médio										
		Raiz (cm)	MF Raízes	MS Raízes	MF Legumes	MS Legumes	MF Folhas	MS Folhas	MF Caule	MS Caule	MF Total	MS Total
Microalga	1	30,03 ^{ns}	47,82 ^{ns}	1,65*	5,21 ^{ns}	0,014 ^{ns}	92,07**	1,36**	10,90 ^{ns}	0,79 ^{ns}	392,56*	11,18*
Resíduo	6	100,28	14,36	0,23	15,41	0,22	2,64	0,00	5,40	0,37	57,24	1,04
CV (%)		28,56	29,84	21,73	13,78	6,65	14,51	2,00	21,49	26,29	21,80	14,57
Média geral		35,06	12,70	2,20	28,48	7,00	11,20	2,48	10,81	2,31	34,71	7,00

ns = não significativo; * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$, ambos no teste F; FV= fonte de variação; GL= graus de liberdade; CV= coeficiente de variação; MF = massa fresca; MS= massa seca.

ANEXO B - Quadro de análise de variância dos quadrados médios do número, comprimento e massa seca de legumes, número e peso de grãos do feijoeiro cultivados com e sem aplicação de microalgas ao final do experimento, 133 DAS.

FV	GL	Quadrado médio				
		Nº Legumes	Legumes (cm)	MS Legumes	Nº Grãos	Peso de Grãos
Microalga	1	16,90**	0,36 ^{ns}	10,46 ^{ns}	129,60*	6,32 ^{ns}
Resíduo	8	1,00	0,20	3,10	19,55	1,86
CV (%)		7,63	4,57	9,73	8,67	9,76
Média geral		13,10	9,87	18,11	51,00	13,99

ns = não significativo; * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$, ambos no teste F; FV= fonte de variação; GL= graus de liberdade; CV= coeficiente de variação; MS= massa seca.

REFERÊNCIAS

- ABINANDAN, S. et al. Sustainable Iron Recovery and Biodiesel Yield by Acid-Adapted Microalgae, *Desmodesmus* sp. MAS1 and *Heterochlorella* sp. MAS3, Grown in Synthetic Acid Mine Drainage. **ACS Omega**, v. 5, n. 12, p. 6888–6894, Mar. 2020.
- ABRIL BONETT, J. E. et al. Isolation of freshwater microalgae and outdoor cultivation using cheese whey as substrate. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 29, p. 101799, 1 out. 2020.
- ABU SEIF, Y. I. et al. Response of snap bean growth and seed yield to seed size, plant density and foliar application with algae extract. **Annals of Agricultural Sciences**, v. 61, n. 2, p. 187–199, Dez. 2016.
- AGHA, Q. et al. Algae, soil fertility and physicochemical properties in agricultural fields of Balochistan, Pakistan. **Pakistan Journal of Botany**, v. 52, n. 4, p. 1491–1495, 15 ago. 2020.
- AKGÜL, F. Effects of nitrogen concentration on growth, biomass, and biochemical composition of *Desmodesmus communis* (E. Hegewald) E. Hegewald. **Preparative Biochemistry & Biotechnology**, v. 50, n. 1, p. 98–105, 2 Jan. 2020.
- ALOBWEDE, E.; LEAKE, J. R.; PANDHAL, J. Circular economy fertilization: Testing micro and macroalgal species as soil improvers and nutrient sources for crop production in greenhouse and field conditions. **Geoderma**, v. 334, p. 113–123, Jan. 2019.
- AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; FILHO, A. B. **Manual de Fitopatologia Principios e Conceitos**. Vol 2. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2018.
- AMPOFO, J. O.; NGADI, M. Ultrasonic assisted phenolic elicitation and antioxidant potential of common bean (*Phaseolus vulgaris*) sprouts. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 64, Jun. 2020.
- AMPOFO, J. O.; NGADI, M. Stimulation of the phenylpropanoid pathway and antioxidant capacities by biotic and abiotic elicitation strategies in common bean (*Phaseolus vulgaris*) sprouts. **Process Biochemistry**, v. 100, p. 98–106, Jan. 2021.
- AN, S. S.; FRIEDL, T.; HEGEWALD, E. Phylogenetic relationships of *Scenedesmus* and *Scenedesmus*-like coccoid green algae as inferred from ITS-2 rDNA sequence comparisons. **Plant Biology**, v. 1, n. 4, p. 418–428, 1999.
- ARGUELLES, E. D. et al. Antibacterial activity, total phenolic content and antioxidant capacity of a green microalga *Desmodesmus* sp. (U-AU2) from Los Banos, Laguna (Philippines). **Journal of Nature Studies**, v. 16, n. 2, p. 1–13, 2017.
- ARGUELLES, E. D. et al. Fatty acid profile and fuel-derived Physico-chemical properties of biodiesel obtained from an indigenous green microalga, *Desmodesmus* sp. (I-AU1), as

potential source of renewable lipid and high-quality biodiesel. **Journal of Applied Phycology**, v. 30, n. 1, p. 411–419, Feb. 2018.

ASHOK KUMAR, N. et al. Effect of liquid seaweed fertilizer of *Sargassum wightii* grev. on the growth and biochemical content of green gram (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek). v. 4, n. 4, p. 40–45, 2012.

BAIER, T. et al. Intron-containing algal transgenes mediate efficient recombinant gene expression in the green microalga *Chlamydomonas reinhardtii*. **Nucleic Acids Research**, v. 46, n. 13, p. 6909–6919, Jul. 2018a.

BAIER, T. et al. Engineered Fusion Proteins for Efficient Protein Secretion and Purification of a Human Growth Factor from the Green Microalga *Chlamydomonas reinhardtii*. **ACS Synthetic Biology**, v. 7, n. 11, p. 2547–2557, Nov. 2018b.

BARBOSA, M. R. et al. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciencia Rural**, v. 44, n. 3, p. 453–460, mar. 2014.

BARONE, V. et al. Root morphological and molecular responses induced by microalgae extracts in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). **Journal of Applied Phycology**, v. 30, n. 2, p. 1061–1071, 2018.

BARONE, V. et al. Effect of living cells of microalgae or their extracts on soil enzyme activities. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 65, n. 5, p. 712–726, 2019.

BHATTACHARYYA, D. et al. Seaweed extracts as biostimulants in horticulture. **Scientia Horticulturae**, v. 196, n. 1, p. 39–48, Jun. 2015.

BETTANI, S. R. et al. Sugarcane vinasse and microalgal biomass in the production of pectin particles as an alternative soil fertilizer. **Carbohydrate Polymers**, v. 203, p. 322–330, Jan. 2019.

BHATTACHARYYA, P. N.; JHA, D. K. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 28, n. 4, p. 1327–1350, Apr. 2012.

BICUDO, C. E. de M.; MENEZES, M. As algas do Brasil. **Catálogo de plantas e fungos do Brasil - Vol. 1**, p. 49–60, 2010.

BIEMELT, S.; KEETMAN, U.; ALBRECHT, G. Re-Aeration following Hypoxia or Anoxia Leads to Activation of the Antioxidative Defense System in Roots of Wheat Seedlings. **Plant Physiology**, v. 116, n. 2, p. 651–658, Feb. 1998.

BITTENCOURT PIMENTEL, M.; AQUINO, M. D. A.; CARVALHO LIMA LOBATO, A. K. Avaliação do uso da biomassa úmida na produção de biodiesel a partir de microalgas.

Cadernos de Prospecção, v. 11, n. 5, p. 1420, 10 Dez. 2018.

BLOKHINA, O.; FAGERSTEDT, K. V. Reactive oxygen species and nitric oxide in plant mitochondria: Origin and redundant regulatory systems. **Physiologia Plantarum**, v. 138, n. 4, p. 447–462, Apr. 2010.

BOGUSZEWSKA, D.; ZAGDAŃSKA, B. ROS as Signaling Molecules and Enzymes of Plant Response to Unfavorable Environmental Conditions. In: LUSHCHAK, V.; SEMCHYSHYN, H. M. (Ed.). **Oxidative Stress - Molecular Mechanisms and Biological Effects**. 1. ed. Rijeka: InTech, 2012. p. 375.

BOLTON, J. J. What is aquatic botany?- And why algae are plants: The importance of non-taxonomic terms for groups of organisms. **Aquatic Botany**, v. 132, p. 1–4, Jul. 2016.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, n. 1–2, p. 248–54, 7 May 1976.

BRASIL. **Projeções do Agronegócio: Brasil 2018/2019 a 2028/29 projeções a longo prazo**. 10. ed. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2019.

CARVALHO, V.; NETO, A. A. C. Espécies reativas de oxigênio em plantas. In: PEÑA, M. (Ed.). **VI Botânica de Inverno**. 1. ed. São Paulo: Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, 2016. p. 223.

CASTELLANOS-BARRIGA, L. G. et al. Effect of seaweed liquid extracts from *Ulva Lactuca* on seedling growth of mung bean (*Vigna radiata*). **Journal of Applied Phycology**, v. 29, n. 5, p. 2479–2488, out. 2017.

CASTRO, J. de S. et al. Microalgae biofilm in soil: Greenhouse gas emissions, ammonia volatilization, and plant growth. **Science of the Total Environment**, v. 574, p. 1640–1648, 2017.

CASTRO, J. de S. et al. Algal biomass from wastewater: soil phosphorus bioavailability and plants productivity. **Science of the Total Environment**, v. 711, 2020.

CHATTERJEE, A. et al. Role of Algae as a Biofertilizer. **Algal Green Chemistry: Recent Progress in Biotechnology**, p. 189–200, 2017.

CHATURVEDI, V.; NIKHIL, K. Effect of Algal Bio-fertilizer on the *Vigna radiata*: A Critical Review. **Journal of Engineering Research and Applications www.ijera.com**, v. 6, n. 2, p. 85–94, 2016.

CHITTAPUN, S. et al. Effects of using cyanobacteria and fertilizer on growth and yield of rice, Pathum Thani I: a pot experiment. **Journal of Applied Phycology**, v. 30, n. 1, p. 79–85, 13 Feb. 2018.

CHUNG, T. Y. et al. Indole-3-acetic-acid-induced phenotypic plasticity in *Desmodesmus* algae. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 10270, dez. 2018.

COELHO, D. F. C. **Cianobactérias e microalgas autóctones como potenciadoras de crescimento e melhoradoras da estruturas do solo**. 2018a. Faculdade de Ciências U Porto, 2018.

COELHO, J. D. Produção de grãos: feijão, milho e soja. **Caderno Setorial ETENE**, v. 3, n. 51, p. 1–13, 2018b.

CONAB, C. N. de A. Acompanhamento da safra brasileira 2019/2020. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos 2019/2020**, v. 7, n. 1, p. 1–68, 2020.

COPPENS, J. et al. The use of microalgae as a high-value organic slow-release fertilizer results in tomatoes with increased carotenoid and sugar levels. **Journal of Applied Phycology**, v. 28, n. 4, p. 2367–2377, 2016.

COSTA, G. S. da; MARVULLI, M. V. N. Soluções alternativas para o tratamento, disposição ou reutilização de dejetos animais provenientes de atividade suinícola no Brasil. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 3, n. 3, p. 1471–1479, ago. 2020.

DE MATTOS, L. F. A.; BASTOS, R. G. COD and nitrogen removal from sugarcane vinasse by heterotrophic green algae *Desmodesmus* sp. **Desalination and Water Treatment**, v. 57, n. 20, p. 9465–9473, Apr. 2016.

DE SOUZA, M. H. B. et al. Soil application of microalgae for nitrogen recovery: A life-cycle approach. **Journal of Cleaner Production**, v. 211, p. 342–349, 2019.

DINESHKUMAR, R. et al. Microalgae as Bio-fertilizers for Rice Growth and Seed Yield Productivity. **Waste and Biomass Valorization**, v. 9, n. 5, p. 793–800, 2018.

DINESHKUMAR, R. et al. Microalgal liquid biofertilizer and biostimulant effect on the green gram (*Vigna radiata* L) an experimental cultivation. **Biomass Conversion and Biorefinery**, 2020.

DINESHKUMAR, R.; SUBRAMANIAN, J.; SAMPATHKUMAR, P. Prospective of *Chlorella vulgaris* to Augment Growth and Yield Parameters Along with Superior Seed Qualities in Black Gram, *Vigna mungo* (L.). **Waste and Biomass Valorization**, v. 11, n. 4, p. 1279–1287, 26 Apr. 2020.

DINIZ, G. S. et al. The potential of microalgal biomass production for biotechnological purposes using wastewater resources. **Journal of Applied Phycology**, v. 29, n. 2, p. 821–832, Apr. 2017.

EKMAY, R. et al. Nutritional and metabolic impacts of a defatted green marine microalgal

(*Desmodemus* sp.) biomass in diets for weanling pigs and broiler chickens. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 40, p. 9783–9791, 2014.

EL-YAZIED, A. et al. Effect of Seaweed Extract and Compost Treatments on Growth, Yield, and Quality of Snap Bean. **Journal of American Science**, v. 8, n. 6, p. 1545–1003, 2012.

EL ARROUSSI, H. et al. *Dunaliella salina* exopolysaccharides: a promising biostimulant for salt stress tolerance in tomato (*Solanum lycopersicum*). **Journal of Applied Phycology**, v. 30, n. 5, p. 2929–2941, out. 2018.

EL SEMARY, N. A. et al. Use of algae from an oasis in Saudi Arabia in production of biofuel and bio-fertilizer. **Bangladesh Journal of Botany**, v. 47, n. 3, p. 523–531, 2018.

EMBRAPA. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento: Conceitos de Fertilidade do Solo e Manejo Adequado para as regiões tropicais**. 1. ed. Campinas: Embrapa Monitoramento por Satélite, 2010.

EMBRAPA. **Visão 2030: O Futuro da Agricultura Brasileira**. 1. ed. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2018.

FAKIOGLU, O.; OZTURK, F. Fatty acid and amino acid profile of *Scenedesmus ecornis* and *Desmodemus armatus* of different culture media. **Fresenius Environmental Bulletin**, v. 28, n. 10, p. 7242–7249, 2019.

FAOSTAT. **Crops**. Disponível em: <www.fao.org/statistics/en/>. Acesso em: 10 abr. 2021.
FERDOUSE, F. et al. The global status of seaweed production, trade, and utilization. **FAO Globefish Research Programme**, v. 124, n. 1, p. 120, 2018.

FLORES, C. et al. Substitutos vegetarianos da carne em receitas tradicionais como fontes de vitaminas do grupo B Vegetarian meat substitutes in traditional recipes as sources of group B vitamins. **Boletim Epidemiológico Observações**, v. 9, n. 26, p. 43–47, 2020.

FRANCESCHINI, I. M. et al. **Algas - uma abordagem filogenética, taxonômica e ecológica**. 1. ed. Porto Alegre: Artmed Editora, 2010.

GARCÍA-CALDERÓN, M. et al. Flavonoids and isoflavonoids biosynthesis in the model legume lotus japonicus; connections to nitrogen metabolism and photorespiration. **Plants**, v. 9, n. 6, p. 1–22, Jun. 2020.

GAYOMBA, S. R.; WATKINS, J. M.; MUDAY, G. K. Flavonols Regulate Plant Growth, and Development through Regulation of Auxin Transport and Cellular Redox Status. In: YOSHIDA, K.; QUIDEAU, S.; CHEYNIER, V. (Ed.). **Recent Advances in Polyphenol Research**. 5. ed. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd, 2016. 5p. 143–170.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. **Plant physiology**, v. 59, n. 2, p. 309–14, Feb. 1977.

GÓRKA, B.; WIECZOREK, P. P. Simultaneous determination of nine phytohormones in seaweed and algae extracts by HPLC-PDA. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 1057, p. 32–39, Jul. 2017.

GRZESIK, M.; ROMANOWSKA-DUDA, Z.; KALAJI, H. M. Effectiveness of cyanobacteria and green algae in enhancing the photosynthetic performance and growth of willow (*Salix viminalis* L.) plants under limited synthetic fertilizers application. **Photosynthetica**, v. 55, n. 3, p. 510–521, 1 set. 2017.

GUO, S. et al. Microalgae as biofertilizer in modern agriculture. In: ALAM ET AL. (Ed.). **Microalgae Biotechnology for Food, Health and High-Value Products**. 1. ed. [s.l.] Springer Nature Singapore Pte Ltd., 2020. p. 397–411.

HEGAZI, A. Z.; MOSTAFA, S. S. M.; AHMED, H. M. I. Influence Of Different Cyanobacterial Application Methods On Growth And Seed Production Of Common Bean Under Various Levels Of Mineral Nitrogen Fertilization. **Nature and Science**, v. 88, n. 1111, p. 183–194, 2010.

HEGEWALD, E. New combinations in the genus *Desmodesmus* (Chlorophyceae, Scenedesmaceae). **Algological Studies/Archiv für Hydrobiologie, Supplement Volumes**, v. 96, n. 1, p. 1–18, 1 Jan. 2000.

HEGEWALD, E. et al. ITS2 sequence-structure phylogeny in the Scenedesmaceae with special reference to Coelastrum (Chlorophyta, Chlorophyceae), including the new genera Comasiella and Pectinodesmus. **Phycologia**, v. 49, n. 4, p. 325–335, 23 Jul. 2010.

HEGEWALD, E.; BOCK, C.; KRIENITZ, L. A phylogenetic study on Scenedesmaceae with the description of a new species of Pectinodesmus and the new genera *Verrucodesmus* and *Chodatodesmus* (Chlorophyta, Chlorophyceae). **Fottea**, v. 13, n. 2, p. 149–164, set. 2013.

HENTSCHKE, G. S.; TORGAN, L. C. *Desmodesmus* and *Scenedesmus* (Scenedesmaceae, Sphaeropleales, Chlorophyceae) in aquatic environments from the Coastal Plain of Rio Grande do Sul, Brazil. **Rodriguesia**, v. 61, n. 4, p. 585–601, dez. 2010.

HUSSAIN, M. et al. Zinc application improves growth, yield and grain zinc concentration of mung bean (*Vigna radiata* L.). **Semina: Ciências Agrárias**, v. 42, n. 2, p. 487–500, 24 fev. 2021.

IBGE. **Censo agropecuário 2017: resultados definitivos**. 1. ed. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2019. v. 8

IBGE. **Indicadores IBGE - Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**. 1. ed. Brasília: Instituto brasileiro de geografia e estatística, 2020.

IBRAFE. **O que são Pulses?** Disponível em: <www.ibrafe.org/o-que-sao-pulses/>. Acesso

em: 10 fev. 2021.

IHA, C.; SENA, F. A origem do cloroplasto e a evolução dos eucariontes fotossintetizantes. In: LOPEZ, A. M. (Ed.). **IV Botânica no Inverno**. 1. ed. São Paulo: Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, 2014. p. 192.

ILAVARASI, A. et al. Optimization of various growth media to freshwater microalgae for biomass production. **Biotechnology**, v. 10, n. 6, p. 540–545, 2011.

ISHIGAMI, M. Superoxide dismutase. **Japanese journal of clinical medicine**, v. 56, n. 22, p. 160–168, Nov. 1998.

Jl, F. et al. Biomass production and nutrients removal by a new microalgae strain *Desmodesmus* sp. in anaerobic digestion wastewater. **Bioresource Technology**, v. 161, p. 200–207, Jun. 2014.

K.V., S.; BEHERA, B.; P., B. Efficacy of microalgal extracts as biostimulants through seed treatment and foliar spray for tomato cultivation. **Industrial Crops and Products**, v. 151, n. April, p. 112453, 2020.

KANG, Y. et al. Potential of Algae–Bacteria Synergistic Effects on Vegetable Production. **Frontiers in Plant Science**, v. 0, p. 556, 12 Apr. 2021.

KAPOOR, D. et al. Antioxidant enzymes regulation in plants in reference to reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS). **Plant Gene**, v. 19, n. April, p. 100182, 2019.

KUSVURAN, A.; CAN, A. G. Effects of Microalga (*Chlorella vulgaris* Beijerinck) on Secondary Metabolites and Antioxidative Defense System Improve Plant Growth and Salt Tolerance in Guar [*Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub.]. **Legume Research - An International Journal**, v. 43, n. 1, p. 56–60, 22 out. 2019.

KUSVURAN, A.; KUSVURAN, S. Using of Microbial Fertilizer as Biostimulant Alleviates Damage from Drought Stress in Guar (*Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub.) Seedlings. **International Letters of Natural Sciences**, v. 76, n. August, p. 147–157, ago. 2019.

LICHTENTHALER, H. K.; BUSCHMANN, C. Chlorophylls, and Carotenoids: Measurement and Characterization by UV-VIS Spectroscopy. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**, v. 1, n. 1, p. F4.3.1-F4.3.8, ago. 2001.

LIN, W. J. et al. Effects of auxin derivatives on phenotypic plasticity and stress tolerance in five species of the green alga *Desmodesmus* (Chlorophyceae, Chlorophyta). **PeerJ**, v. 2020, n. 3, p. e8623, Mar. 2020.

LIU, H. K. et al. Effects of elicitation on bioactive compounds and biological activities of sprouts. **Journal of Functional Foods**, v. 53, n. 1, p. 136–145, Feb. 2019.

- LU, Y.; XU, J. Phytohormones in microalgae: A new opportunity for microalgal biotechnology? **Trends in Plant Science**, v. 20, n. 5, p. 273–282, 2015.
- MACHADO, A. R. et al. Uma abordagem sobre caracterização e avaliação do potencial antioxidante de extratos fenólicos de microalgas *Spirulina* sp. LEB-18 e *Chlorella pyrenoidosa*. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 40, n. 1, p. 264–278, mar. 2017.
- MAHENDRAN, M. S. et al. Antiviral properties of microalgae and cyanobacteria. **Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences**, v. 9, n. Special issue 1, p. S43–S48, Mar. 2021.
- MANSORI, M. et al. Seaweed extract effect on water deficit and antioxidative mechanisms in bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal of Applied Phycology**, v. 27, n. 4, p. 1689–1698, Jan. 2015.
- MARKS, E. A. N. et al. Application of a microalgal slurry to soil stimulates heterotrophic activity and promotes bacterial growth. **Science of the Total Environment**, v. 605–606, p. 610–617, 2017.
- MATOS, Â. P. Advances in Microalgal Research in Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 64, n. e21200531, p. 1–15, 12 May 2021.
- MD GUIRY. *Desmodesmus* (Chodat) SSAn, T.Friedl & E.Hegewald, 1999. Disponível em: <www.algaebase.org>. Acesso em: 5 Mar. 2021.
- MENEZES, M. et al. Update of the Brazilian floristic list of algae and cyanobacteria. **Rodriguesia**, v. 66, n. 4, p. 1047–1062, out. 2015.
- MONTEIRO, A. C. A. et al. Manganese Phosphite in Coffee Defence against *Hemileia vastatrix*, the Coffee Rust Fungus: Biochemical and Molecular Analyses. **Journal of Phytopathology**, v. 164, n. 11–12, p. 1043–1053, Dez. 2016.
- MOREIRA, A.; MORAES, L. A. C. Yield, nutritional status and soil fertility cultivated with a common bean in response to amino-acids foliar application. **Journal of Plant Nutrition**, v. 40, n. 3, p. 344–351, Feb. 2017.
- NABTI, E.; JHA, B.; HARTMANN, A. Impact of seaweeds on agricultural crop production as biofertilizer. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 14, n. 5, p. 1119–1134, May 2017.
- NGUYEN, T. Q. et al. The Role of Phytohormones in Enhancing Metal Remediation Capacity of Algae. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 105, n. 5, p. 671–678, 20 Nov. 2020.
- OLIVEIRA, L. F. C. de et al. **Conhecendo a fenologia do feijoeiro e seus aspectos fitotécnicos**. 2. ed. Brasília: Embrapa Arroz e Feijão - Livro técnico (INFOTECA-E), 2018.

ONU. **Objetivos de Desenvolvimento Sustentável: As Nações Unidas no Brasil.**

Disponível em: <<https://brasil.un.org/pt-br/sdgs>>. Acesso em: 11 jul. 2021a.

ONU. **ONU destaca importância de leguminosas para uma dieta e planeta saudáveis.**

Disponível em: <<https://news.un.org/pt/story/2021/02/1741072>>. Acesso em: 11 jul. 2021b.

OSMAN, M. E. H. et al. Effect of two species of cyanobacteria as biofertilizers on some metabolic activities, growth, and yield of pea plant. **Biology and Fertility of Soils**, v. 46, n. 8, p. 861–875, ago. 2010.

PERES, L. E. P. **Metabolismo secundário**. 1. ed. São Paulo: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2004.

PINTO, M.; RIBEIRO, J.; OLIVEIRA, E. O estudo de genes e proteínas de defesa em plantas. **Brazilian Journal of Biosciences**, v. 9, n. 2, p. 241–248, 2011.

PRASANNA, R. et al. Soil fertility, and establishment potential of inoculated cyanobacteria in rice crop grown under non-flooded conditions. **Paddy and Water Environment**, v. 11, n. 1–4, p. 175–183, 2013a.

PRASANNA, R. et al. Cyanobacteria mediated plant growth promotion and bioprotection against Fusarium wilt in tomato. **European Journal of Plant Pathology**, v. 136, n. 2, p. 337–353, Jan. 2013b.

PRASANNA, R. et al. Evaluating the efficacy of cyanobacterial formulations and biofilm inoculants for leguminous crops. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 60, n. 3, p. 349–366, 4 Mar. 2014.

PUGLISI, I. et al. Biostimulant Effect and Biochemical Response in Lettuce Seedlings Treated with A *Scenedesmus quadricauda* Extract. **Plants**, v. 9, n. 1, p. 123, 18 Jan. 2020.

RAIJ, B. van et al. **Recomendações de Adubação e Calagem para o Estado de São Paulo - Boletim técnico**. 2. ed. Campinas: Instituto Agronomico de Campinas, 1997.

REETZ, H. F. Aspectos ambientais do uso de fertilizantes. In: LOPES, A. S. (Ed.). **Fertilizantes e seu Uso Eficiente**. 1. ed. São Paulo: Associação Nacional para Difusão de Adubos (ANDA), 2017. p. 156–158.

RENDÓN-ANAYA, M. et al. Genomic history of the origin and domestication of common bean unveils its closest sister species. **Genome Biology**, v. 18, n. 1, p. 60, Mar. 2017.

RENGASAMY, K. R. R. et al. Eckol Improves Growth, Enzyme Activities, and Secondary Metabolite Content in Maize (*Zea mays* cv. Border King). **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 34, n. 2, p. 410–416, 28 Jun. 2015.

RIBEIRO DA ANUNCIACÃO, R. et al. Análise preliminar de metadados do gênero *Desmodesmus* AN, FRIEDL & HEGEW. **Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão**, v. 10, n. 2, p. 1–6, 2018.

RÍOS, L. F. et al. Comparison of Growth and Lipid Accumulation at Three Different Growth Regimes with *Desmodesmus* sp. **Waste and Biomass Valorization**, v. 9, n. 3, p. 421–427, 1 Mar. 2018.

ROCHA, F. et al. Cyanobacteria as a Nature-Based Biotechnological Tool for Restoring Salt-Affected Soils. **Agronomy**, v. 10, n. 9, p. 1321, 3 Sep. 2020.

SADEGHI, S. H. et al. Reduction in soil loss caused by a freeze-thaw cycle through inoculation of endemic soil microorganisms. **Applied Soil Ecology**, v. 157, p. 103770, Jan. 2021.

SAFAFAR, H. et al. Carotenoids, phenolic compounds, and tocopherols contribute to the antioxidative properties of some microalgae species grown on industrial wastewater. **Marine Drugs**, v. 13, n. 12, p. 7339–7356, 11 dez. 2015.

SANTANA, J. S. et al. Avaliação de NPK e doses de biofertilizante orgânico no crescimento do feijão-caupi. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada**, v. 12, n. 5, p. 2877–2889, 30 nov. 2018.

SHANTHAKUMAR, S. et al. Algalization of acid soils with acid-tolerant strains: Improvement in pH, carbon content, exopolysaccharides, indole acetic acid, and dehydrogenase activity. **Land Degradation & Development**, p. 0–2, Dez. 2021.

SHUBERT, E.; WILK-WOŹNIAK, E.; LIGEZA, S. An autecological investigation of *Desmodesmus*: Implications for ecology and taxonomy. **Plant Ecology and Evolution**, v. 147, n. 2, p. 202–212, 2014.

SILVA, F. C. da. **Manual de análises químicas de solos , plantas e fertilizantes Manual de análises químicas de solos , plantas e fertilizantes**. 2. ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2009.

SIMÕES, M. A. et al. **Algas cultiváveis e sua aplicação biotecnológica**. 1. ed. Aracaju: IFS, 2016.

SINGH, J. S. Cyanobacteria: a vital bio-agent in eco-restoration of degraded lands and sustainable agriculture. **Climate change and environmental sustainability**, v. 2, n. 2, p. 133–137, 2014.

SINGH, J. S. et al. Cyanobacteria: A precious bio-resource in agriculture, ecosystem, and environmental sustainability. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, n. APR, p. 1–19, 2016.

SOUZA, S. S. De et al. Cultivars in Response Hydric Replacements in the Soil. **Revista**

Inova Ciência & Tecnologia, v. 5, n. 1, p. 5–11, 2019.

STANGARLIN, J. R. et al. A defesa vegetal contra fitopatógenos. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 10, n. 1, p. 18, 2011.

STANIER, R. Y. et al. Purification, and properties of unicellular blue-green algae (order Chroococcales). **Bacteriological Reviews**, v. 35, n. 2, p. 171–205, 1971.

STIRK, W. A.; VAN STADEN, J. Plant growth regulators in seaweeds: Occurrence, regulation, and functions. In: **Advances in Botanical Research**. 1. ed. Scottsville: Academic Press Inc., 2014. 71p. 125–159.

TAIZ, L. et al. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artemed, 2017.

TELLES, A. C.; KUPSKI, L.; FURLONG, E. B. Phenolic compound in beans as protection against mycotoxins. **Food Chemistry**, v. 214, p. 293–299, Jan. 2017.

TÔSTO, S. G. et al. Diagnóstico socioeconômico da cultura do feijão no Brasil. **Embrapa**, v. 1, n. 1, p. 24, 2012.

VAN DEN BURG, S. W. K.; DAGEVOS, H.; HELMES, R. J. K. Towards sustainable European seaweed value chains: a triple P perspective. **ICES Journal of Marine Science**, v. 78, n. 1, p. 443–450, 24 Mar. 2021.

VERMA, M.; MISHRA, J.; ARORA, N. K. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria: Diversity and Applications. **Environmental Biotechnology: For Sustainable Future**, p. 129–173, 2019.

XIE, Y. et al. Phototrophic cultivation of a thermo-tolerant *Desmodesmus* sp. for lutein production: Effects of nitrate concentration, light intensity, and fed-batch operation. **Bioresource Technology**, v. 144, n. 1, p. 435–444, set. 2013.

YADAV, G. et al. Effective valorization of microalgal biomass for the production of nutritional fish-feed supplements. **Journal of Cleaner Production**, v. 243, p. 118697, Jan. 2020.

YANG, J. T. et al. EOM characteristics, and release of extracellular amino acids in three typical freshwater algae. **China Environmental Science**, v. 37, n. 5, p. 1879–1888, 2017.

YOKOYAMA, L. P. et al. Nível de aceitabilidade da cultivar de feijão “Pérola”: avaliação preliminar. **Embrapa Arroz e Feijão**, p. 20, 1999.

ZAMBOLIM, L.; JÚNIOR, W. C. de J.; RODRIGUES, F. de Á. **O essencial da Fitopatologia: controle de doenças de plantas**. 1. ed. Viçosa: Editora UFV, 2014. v. 1

ZEWAIL, R. Effect of seaweed extract and amino acids on growth and productivity and some biocostituents of common bean (*Phaseolus vulgaris* L) plants. **Journal of Plant Production**, v. 5, n. 8, p. 1441–1453, 1 ago. 2014.

ZUCCARO, G. et al. Microalgae cultivation systems. In: YOUSUF, A. (Ed.). **Microalgae Cultivation for Biofuels Production**. 1. ed. Sylhet, Bangladesh: Elsevier, 2019. p. 11–29.

ZUCKER, M. Induction of Phenylalanine Deaminase by Light and its Relation to Chlorogenic Acid Synthesis in Potato Tuber Tissue. **Plant Physiology**, v. 40, n. 5, p. 779–784, 1965.