

MATHEUS ANTONIO DA COSTA

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DO EXTRATO DA MACROALGA MARINHA
KAPPAPHYCUS ALVAREZII COMO FERTILIZANTE ORGÂNICO, PARA USO VIA
TRATAMENTO DE SEMENTE E PULVERIZAÇÃO FOLIAR NA CULTURA DE
SOJA**

CASCAVEL
PARANÁ – BRASIL
MARÇO – 2015

MATHEUS ANTONIO DA COSTA

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DO EXTRATO DA MACROALGA MARINHA
KAPPAPHYCUS ALVAREZII COMO FERTILIZANTE ORGÂNICO, PARA USO VIA
TRATAMENTO DE SEMENTE E PULVERIZAÇÃO FOLIAR NA CULTURA DE
SOJA**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Energia na Agricultura, para obtenção do título de Mestre.

ORIENTADOR: Dr. Helton José Alves

COORIENTADOR: Dr. Brener M. Marra

CASCADEL
PARANÁ – BRASIL
MARÇO – 2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

C837 Costa, Mateus Antonio
Avaliação do potencial do extrato de macroalga marinha
Kappaphycus Alvarezii como fertilizante orgânico para uso via
tratamento de semente e pulverização foliar na cultura de soja.
/ Mateus Antonio Costa – Cascavel, 2015.
69 p.

Orientador, Helton José Alves
Coorientador, Brenner Magnabosco Marra
Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Oeste do
Paraná, Cascavel, PR – Programa de Pós- Graduação em
Engenharia de Energia na Agricultura, 2015.
Inclui Bibliografia

1. Bioestimulantes. 2. *Kappaphycus Alvarezii*. 3. Agricultura.
I.Titulo. II. Helton José Alves. III. Brenner Magnabosco Marra
IV. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Programa de
Pós- Graduação em Engenharia de Energia na Agricultura.

CDU – 631

MATHEUS ANTONIO DA COSTA

"Avaliação do potencial do extrato da macroalga marinha *Kappaphycus alvarezii* como fertilizante orgânico, para uso via tratamento de semente e pulverização foliar, na cultura de soja"

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Engenharia de Energia na Agricultura em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia de Energia na Agricultura, área de concentração Agroenergia, **aprovada** pela seguinte Banca Examinadora:

Orientador:



Prof. Dr. Helton José Alves
Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE/Cascavel



Prof. Dr. Reinaldo Aparecido Baricatti
Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE/Cascavel



Prof. Dr. Luis Fernando Souza Gomes
Universidade Federal do Paraná – UFPR/Palotina



Prof. Dr. Brenner Magnabosco Marra
Universidade Federal do Paraná – UFPR/Palotina

Cascavel, 09 de março de 2015.

Dedico este trabalho a minha mãe Maria Cristina Nascimento.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me concedido saúde, condições físicas e mentais para realização deste trabalho;

A minha família, em especial minha mãe Maria Cristina Nascimento e meu irmão Luiz Henrique da Costa, pelo alicerce, amor e incentivo pleno em minhas atividades;

Ao professor Luis Fernando de Souza Gomes, pela atenção, ensinamentos e valioso incentivo para ingresso no programa de mestrado;

Ao meu orientador Helton José Alves, pela confiança, paciência, atenção, dedicação e ensinamentos;

Ao meu co-orientador Brener Magnabosco Marra, pela atenção e ensinamentos;

Ao meu amigo e parceiro de trabalho Jorge Cidemar Alab, pela paciência e valiosa colaboração;

Aos professores: Reinaldo Aparecido Baricatti; Dilcemara Cristina Zenatti; Adriana Ferla de Oliveira, Alfredo Junior Paiola Albrecht, Leandro Paiola Albrecht, pelos ensinamentos, atenção e empréstimos de reagentes e/ou equipamentos;

Aos técnicos da UFPR – Setor Palotina: Carine Aline Schwengber e Jamilson Bispo de Oliveira, pela atenção e apoio;

Aos alunos da UFPR – Setor Palotina: Fábio Henrique Krenchinski; Henrique L. Villetti; Victor Salomão; e Danilo M. Rodrigues, pela colaboração;

Aos produtores rurais: Adyr Dazzi e família; Darcy Fantinel e família; Guilherme Pelanda e família; André Pelanda e família; e Irineu Engler e família, por ceder áreas para realização dos experimentos agrícolas;

As demais pessoas que me ajudaram, como o Sergio da Silva (COODETEC – Palotina); Valdir Luiz Guerini (IAPAR – Palotina); Agenor Gomes Gomes (CVALE – Palotina); Jacó e André Araújo (Grupo Agro5mil);

À Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE e a Universidade Federal do Paraná – UFPR setor Palotina.

Muito obrigado!

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Número de publicações internacionais com algas entre 1900-2000.....	6
Figura 2. Produção mundial de algas vermelhas cultivadas em fazendas marinhas.....	11
Figura 3. A: Esquema de uma balsa flutuante de cultivo de <i>Kappaphycus alvarezii</i> . B: Balsas flutuantes instaladas no litoral brasileiro.....	12
Figura 4. Cultivo de <i>Kappaphycus alvarezii</i> em balsa flutuante utilizando a técnica rede tubular - RT (A) e com técnica tietie – TT (B).....	12
Figura 5. Hidrólise ácida parcial (b) de <i>kappa</i> -carragenana.....	16
Figura 6. Foto com o extrato líquido (A) e biomassa sólida (B) de <i>Kappaphycus alvarezii</i>	20
Figura 7. Foto com a biomassa sólida bruta (A) e biomassa peneirada com malha 45 (B) e 25 (C) mesh.....	21
Figura 8. Expressão utilizada para cálculo da percentagem de carbono orgânico total das amostras.....	23
Figura 9. Esquema com o resumo das etapas de obtenção e preparação das amostras da biomassa algal para experimentação agrícola.....	24
Figura 10. Representação da precipitação e temperaturas (mín. e máx.) para o período referente ao ciclo da cultura de soja, no Município de Palotina, na safra 2014/15.....	27
Figura 11. Valores médios do comprimento de parte aérea (cm) de plântulas de soja, sob aplicações dos tratamentos do experimento I.....	34
Figura 12. Valores médios do comprimento de parte aérea (cm) de plântulas de soja, sob aplicações dos tratamentos do experimento II.....	35
Figura 13: Valores médios do comprimento da raiz primária (cm) de plântulas de soja, sob aplicações dos tratamentos do experimento I.....	36
Figura 14: Valores médios do comprimento da raiz primária (cm) de plântulas de soja, sob aplicações dos tratamentos do experimento II.....	37
Figura 15: Valores médios de produtividade (kg hectare ⁻¹), sob aplicações dos tratamentos do experimento III.....	42
Figura 16: Valores médios de produtividade (kg hectare ⁻¹), sob aplicações dos tratamentos do experimento IV.....	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Constituintes químicos do extrato de <i>Kappaphycus alvarezii</i>	13
Tabela 2. Ensaio de hidrólise ácida da biomassa sólida de <i>Kappaphycus alvarezii</i>	22
Tabela 3. Tratamentos realizados em todos os experimentos agrícolas.....	25
Tabela 4. Análise de regressão linear, tabela anova e desvio padrão dos resíduos para os ensaios de hidrólise.....	30
Tabela 5. Médias dos conteúdos de carbono orgânico total dos ensaios de hidrólise ácida da biomassa sólida de <i>Kappaphycus alvarezii</i>	30
Tabela 6. Análise de variância para a variável percentagem de germinação, sob os tratamentos do experimento I	33
Tabela 7. Análise de variância para a variável percentagem de germinação, sob os tratamentos do experimento II.....	33
Tabela 8. Análise de variância para a variável comprimento da parte aérea do experimento I.....	33
Tabela 9. Análise de variância para a variável comprimento da parte aérea do experimento II.....	35
Tabela 10. Análise de variância para a variável comprimento de raiz primária do experimento I.....	36
Tabela 11. Análise de variância para a variável comprimento de raiz primária do experimento II.....	37
Tabela 12. Análise de variância para a variável biomassa seca (g plântula^{-1}), sob os tratamentos do experimento I.....	39
Tabela 13. Análise de variância para a variável biomassa seca (g plântula^{-1}), sob os tratamentos do experimento I.....	40
Tabela 14. Análise de variância para a variável peso de mil grãos (g), sob os tratamentos do experimento III.....	41
Tabela 15. Análise de variância para a variável peso de mil grãos (g), sob os tratamentos do experimento IV.....	41
Tabela 16. Análise de variância para a variável produtividade (kg hectare^{-1}), sob os tratamentos do experimento III.....	42

Tabela 17. Análise de variância para a variável produtividade (kg hectare ⁻¹), sob os tratamentos do experimento IV.....	43
--	----

LISTA DE SÍMBOLOS

AIA	ácido indol acético
g	gramas
H₂SO₄	ácido sulfúrico
H₃PO₄	ácido fosfórico
ha	hectare
K₂SO₄	dricromato de potássio
kg	kilograma
L	litro
M	molaridade (mol L ⁻¹)
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
mL	mililitro
RT	rede tubular

DA COSTA, Matheus Antonio. M.Sc., Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Fevereiro de 2015. Avaliação do potencial do extrato da macroalga marinha *K. alvarezii* como fertilizante orgânico, para uso via tratamento de semente e pulverização foliar na cultura de soja. Helton José Alves. Brener Magnabosco Marra.

RESUMO

Dentre as macroalgas cultivadas em escala comercial hoje, a alga vermelha *Kappaphycus alvarezii* merece destaque devido a sua facilidade de cultivo e importância como fonte de extração de carragenana, um ficocolóide utilizado em diversos setores industriais devido às suas propriedades emulsificante e estabilizante. No processo de obtenção deste composto, obtém-se um extrato líquido como subproduto, o qual vem sendo empregado na agricultura. Todavia considerando a potencial atividade biológica de oligossacarídeos e derivados, que podem ser obtidos a partir da fração sólida da alga fonte de carragenana, o uso em conjunto dessas biomassas, extrato líquido e biomassa sólida, pode maximizar a eficiência dos benefícios associados ao uso do extrato desta alga na agricultura. Além disso, o alto conteúdo de carbono orgânico total dessa mistura de biomassas pode colaborar no reconhecimento legal deste potencial produto como fertilizante orgânico líquido. O processo para obtenção dos oligossacarídeos a partir da biomassa sólida da alga e, então diluição no extrato líquido, foi a hidrólise ácida. Os tratamentos hidrolíticos dispostos em arranjo fatorial 2^3 , variaram a solução de ácido sulfúrico em 0,2 e 0,4 molar, a temperatura em 100 e 127°C e tempo de reação em 15 e 30 minutos. As duas amostras de biomassa hidrolisada que tiveram o maior percentual de carbono orgânico, sendo 11,6 % e 12,6%, foram selecionadas para experimentação agrícola na cultura de soja, onde cada amostra foi diluída no extrato líquido em concentrações de 25% e 75%. Diferentes doses destas duas bases amostrais e do extrato líquido puro foram testadas no tratamento de semente e pulverização foliar na cultura de soja. Para esta primeira tecnologia de aplicação a menor dose avaliada (2,5 mL kg de semente⁻¹) apresentou-se com maior eficiência para incremento de parâmetros de crescimento. E, para a tecnologia via foliar a maior dose avaliada (500 mL hectare⁻¹) demonstrou-se, aparentemente, mais interessante para incremento de produtividade de grãos.

PALAVRAS-CHAVE: bioestimulantes; *kappaphycus alvarezii*; agricultura

DA COSTA, Matheus Antonio. M.Sc., University of West Paraná, February 2015. Marine seaweed extract potential evaluation **Kappaphycus alvarezii** as organic fertilizer, parapara use via seed treatment and foliar spray in soybean. Helton José Alves. Brener Magnabosco Marra.

ABSTRACT

Among the macroalgae grown on a commercial scale today, the red alga *Kappaphycus alvarezii* noteworthy due to its ease of cultivation and importance as a source of carrageenan extraction, one ficocolóide used in various industrial sectors because of its emulsifying and stabilizing properties. In the process of obtaining this compound, obtained as a byproduct a liquid extract, which has been employed in agriculture. However considering the potential biological activity of oligosaccharides and derivatives, which can be obtained from the solid fraction of seaweed source of carrageenan, the use together of these biomasses, solid and liquid extract biomass, can maximize the efficiency benefits associated with the use of the extract this alga in agriculture. In addition, the high total organic carbon content of that biomass mixture can collaborate in the legal recognition of this potential product as liquid organic fertilizer. The process for obtaining the oligassacarídeos from solid biomass and seaweed, then diluting the liquid extract was acidic hydrolysis. The hydrolytic arranged 2³ factorial arrangement of treatments ranged sulfuric acid solution in 0.2 and 0.4 molar, the temperature at 100 to 127 ° C and reaction time 15 and 30 minutes. The two samples of biomass hydrolyzate that had the highest percentage of organic carbon, and 11.6% and 12.6%, were selected for field trials in soybean, where each sample was diluted in liquid extract at 25% concentrations and 75%. Different doses of these two sample bases and pure liquid extract were tested in seed treatment and foliar spray in soybean. For this first application technology the lowest dose evaluated (2.5 ml kg⁻¹ seed) presented with greater efficiency to increase of growth parameters. And for foliar technology the highest dose evaluated (500 mL ha⁻¹) showed up, apparently more interesting for grain yield increase.

KEYWORDS: biostimulants; *Kappaphycus alvarezii*; agriculture

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVO	3
2.1 OBJETIVO GERAL	3
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
3. REVISÃO DA LITERATURA	4
3.1 CARACTERÍSTICAS E IMPORTANCIA DAS MACROALGAS MARINHAS	4
3.2 AS MACROALGAS MARINHAS COMO BIOESTIMULANTES AGRÍCOLA.....	7
3.3 <i>KAPPAPHYCUS ALVAREZII</i>	10
3.4 HIDRÓLISE ÁCIDA DE ALGAS MARINHAS	15
3.5 LEGISLAÇÃO BRASILEIRA DE FERTILIZANTES.....	18
4. MATERIAL E MÉTODOS	20
4.1 MATÉRIA-PRIMA E PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS.....	20
4.1.1 Hidrólise ácida reductiva parcial da biomassa sólida	21
4.1.2 Análise de carbono orgânico total.....	22
4.1.3 Solubilização da biomassa hidrolisada do extrato líquido.....	23
4.2 DESCRIÇÃO DOS EXPERIMENTOS AGRÍCOLAS REALIZADOS.....	24
4.2.1 Tratamentos de semente.....	25
4.2.2 Pulverização foliar.....	26
4.2.3 Delineamento e Análise estatística.....	29
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
5.1 HIDRÓLISE ÁCIDA E ANÁLISE DE CARBONO ORGÂNICO.....	30
5.2 TRATAMENTO DE SEMENTE.....	32
5.3 PULVERIZAÇÃO FOLIAR.....	41
6. CONCLUSÃO	45
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47

1. INTRODUÇÃO

Há séculos as algas marinhas são empregadas por agricultores como fertilizantes, fonte de matéria orgânica e condicionadores de solo. Atribui-se a eficácia do uso de extratos de algas marinhas na agricultura à presença de macro e micronutrientes, aminoácidos, hormônios e reguladores de crescimento, entre outros compostos orgânicos, que apesar de não possuírem modos de ações ainda muito conhecidos, em concentrações variadas funcionam de maneira sinérgica e agem beneficemente nos vegetais, tais efeitos já comprovados em gramíneas, cereais, flores e demais espécies vegetais (KHAN et al., 2009).

Atualmente esses organismos marinhos são utilizados mais especificadamente na agricultura como bioestimulantes, capazes de agir sobre a fisiologia das plantas, empregados principalmente via tratamento de semente e pulverização foliar. Estes compostos podem influenciar na respiração, na fotossíntese, na síntese de ácido nucleico, na absorção de ions e, conseqüentemente, aumentar a disponibilidade de nutrientes, a capacidade de retenção de água, a produção de antioxidantes e clorofila, entre outros eventos metabólicos (RAYORATH et al., 2008; KHAN et al., 2009; CRAIGIE, 2011).

Dentre as algas marinhas com potencial uso na agricultura, a classe mais estudada e empregada em escala comercial é das algas marrons, com destaque para macroalga *Ascophyllum nodosum*. Todavia vale ressaltar o potencial que outras macroalgas possuem, levando principalmente em consideração a facilidade e a sustentabilidade do seu cultivo e, o conteúdo de moléculas biologicamente ativas que sintetizam.

Assim, pode-se destacar a alga vermelha *Kappaphychus alvarezii*, uma macroalga conhecida por ser amplamente empregada como fonte de ficocolóide e sua facilidade de cultivo (KHAMBHATY et al., 2012). No processo para obtenção deste composto, existe a formação de uma biomassa sólida rica em polissacarídeos usada como matéria-prima para produção da carragenana e, a formação de um extrato líquido, que vem sendo avaliado na agricultura (ESWARAN et al., 2005).

Alguns pesquisadores já relataram a eficiência agrícola desse extrato líquido de *K.alvarezii*, como exemplo: Rathore et al. (2009), que concluíram a sua eficácia em

aumentar parâmetros de crescimento e rendimento na cultura de soja; Zodape et al., (2009), comprovaram o aumento de rendimento e da qualidade nutricional de grãos na cultura de trigo; e Prasad et al., (2010), que verificaram a resposta positiva na cultura de cana-de-açúcar. Acredita-se que as respostas fisiológicas benéficas obtidas nas plantas tratadas com extrato líquido de *K. alvarezii* estão relacionadas, principalmente, com o conteúdo de fitohormônios presentes no extrato.

A nível nacional, o órgão responsável pelo reconhecimento e registro de fertilizantes, o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento - MAPA, reconhece e autoriza o uso do extrato de algas, que não atingem os requisitos mínimos para registro como fertilizante mineral, como agentes quelantes e complexantes orgânicos. Por isso, uma possível alternativa para o reconhecimento do extrato líquido de *K. alvarezii* junto ao MAPA é o enquadramento desse composto como fertilizante orgânico.

Dentre as garantias mínimas exigidas pelo MAPA para reconhecimento de fertilizantes orgânicos fluídos, de acordo com a Instrução Normativa nº 25 de Julho de 2009, está o conteúdo de carbono orgânico. Para atingir a exigência mínima deste parâmetro e, considerando a disponibilidade e as características químicas e físicas da biomassa sólida de *K. alvarezii* rica em polissacarídeos, uma alternativa seria a hidrólise ácida deste composto para então diluição no extrato de líquido da alga. Assim, a mistura desses compostos da alga (extrato líquido + biomassa hidrolisada) formaria um potencial fertilizante orgânico e/ou bioestimulante agrícola.

Existem relatos na literatura de que, polissacarídeos e/ou oligossacarídeos, desempenham atividades biológicas importantíssimas, principalmente em funções relacionadas com o sistema imunológico (DUCATTI, 2009). Por isso, o uso em conjunto das duas biomassas pode potencializar o uso apenas do extrato líquido, cujo benefícios vem sendo relatados na literatura científica quando usados na agricultura.

Desta forma, o presente trabalho busca avaliar o potencial do uso agrícola da biomassa sólida hidrolisada de *K. alvarezii* em mistura com o extrato líquido desta alga. Diferentes doses e diluições entre essas biomassas foram avaliadas no uso via tratamento de semente e pulverização foliar na cultura de soja.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o uso da macroalga marinha *Kappaphycus Alvarezii* como fertilizante orgânico, com aplicação via tratamento de semente e aplicação foliar nas cultura de soja.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar o uso do extrato líquido de *Kappaphycus alvarezii* no tratamento de semente de soja, para incremento de parâmetros de crescimento (comprimento da parte aérea, raiz primária e biomassa seca) e do percentual de germinação.

Avaliar o uso do extrato líquido e da biomassa hidrolisada de *Kappaphycus alvarezii* no tratamento de semente de soja, para incrementação de parâmetros de crescimento (comprimento da parte aérea, raiz primária e biomassa seca) e do percentual de germinação.

Avaliar o uso do extrato líquido de *Kappaphycus alvarezii* na pulverização foliar na cultura de soja, para incremento de parâmetros de produção (peso de mil grãos e produtividade).

Avaliar o uso do extrato líquido e da biomassa hidrolisada de *Kappaphycus alvarezii* na pulverização foliar na cultura de soja, para incrementação de parâmetros produção (peso de mil grãos e produtividade).

Avaliar eficiência agrícola do extrato de *Kappaphycus alvarezii* cultivada no litoral brasileiro.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 CARACTERÍSTICAS E IMPORTÂNCIA DAS MACROALGAS MARINHAS

As algas constituem em “grupo” de organismos com ampla diversidade de formas, funções e estratégias de sobrevivência (BICUDO e MENEZES, 2010). São organismos que anteriormente eram incluídos no Reino Plantae, porém atualmente pertencem ao Reino Protista, sendo a Ficologia o ramo da biologia que estuda esses seres: unicelular ou multicelular (filamentosas), eucariontes, fotossintetizantes e autorotrófitos.

De maneira geral as algas podem ser segregadas pelo tamanho em dois grandes grupos: as algas microscópicas e as algas macroscópicas, com dimensões que variam de milímetros a algumas dezenas de metros (PANORAMA DA AQUICULTURA, 2014). Encontram-se distribuídas por diferentes habitats: oceanos, corpos de água doce, solos, rochas, sobre a neve e superfície de vegetais; para isto devem dispor de luz e umidade suficientes (VIDOTTI e ROLLEMBERG, 2004). Geralmente classificadas de acordo com a estrutura física, função e ciclo reprodutivo em: Chlorophyta, algas verdes, Phaeophyta, algas pardas e Rhodophyta, algas vermelhas (RAVEN, 1996; PÁDUA; FONTOURA; MATHIAS, 2004).

As algas vermelhas - Rhodophytas, são preoeminantemente marinhas e produtoras de compostos halogenados, que variam a partir de péptideos, policetideos, indóis, terpenos, acetogeninas e fenóis, aos hidrocarbonetos halogenados voláteis (CABRITA, VALE e RAULER, 2010; FUJII et al., 2011). Além disso, as algas vermelhas são capazes de sintetizar grandes quantidades de polissacarídeos sulfatados, constituintes da sua parede celular (WIJESEKARA e KIM, 2010; GÜVEN, PERCOT e SEZIK, 2010). Diversas atividades biológicas estão associadas com metabolitos de algas marinhas vermelhas, como antibacteriano, antifúngico, antiviral, anti-inflamatória, antiproliferativa, anti-deposição, antialimentar, citotóxica e propriedades inseticidas (OLIVEIRA, FELÍCIO e DEBONSI, 2012).

O filo das algas marrons - Phaeophytas, também é quase exclusivamente marinho e é conhecida principalmente por produzir grandes metabólitos derivados de isopreno (MCCLINTOCK e BAKER, 2001). Além dos diterpenos complexos sintetizados por essas algas, compostos voláteis, fucoidanos, florotaninos e

fucoxantinas também são produzidos, os quais já foram relatados como antioxidantes, antibióticos, antifúngicos, antiviral e atividades anticâncer (FOLMER et al., 2010).

As principais substâncias do filo das algas verdes – Chlorophytas são derivados de isoprenóides. Acetogeninas, derivados de aminoácidos, carboidratos e derivados de chiquimato também foram isoladas a partir destas algas (MCCLINTOCK e BAKER, 2001). Apenas 13% deste filo pertence ao ambiente marinho, sendo considerado a divisão de macroalgas marinhas menos representativa em produtos de química natural (FELÍCIO, OLIVEIRA e DEBONSI, 2012).

Indiscutivelmente, as algas marinhas representam um dos maiores biorrecursos, existindo aproximadamente 150.000 espécies, dentre as quais mais de 30.000 se encontram taxonomicamente classificadas (HARVEY, 1988). Há milhares de anos as macroalgas marinhas são utilizadas como recurso importante pelos seres humanos, relatos revelam que estes organismos aquáticos já eram utilizados na dieta alimentar em tempos pré-históricos, devido principalmente a seus efeitos medicinais (CRAIGIE, 2011). Estes organismos também são de grande importância ecológica e, além de servirem como base de diversas cadeias tróficas, podem desempenhar funções de abrigo, berçário e refúgio para várias espécies de invertebrados e pequenos vertebrados.

De acordo com o relatório da FAO (2012), que trata sobre o panorama mundial de aquicultura, em 2010 o mercado de algas movimentou cerca de 6 bilhões de dólares, devido principalmente ao seu uso diretamente na alimentação e como matéria-prima para obtenção de ficocolóides. A produção mundial de algas neste mesmo ano foi cerca de 19 milhões de toneladas fresca, onde apenas cerca de 5% foi extraído de bancos naturais, tendo a China, a Índia e as Filipinas como maiores produtores mundiais, respectivamente (FAO, 2012).

Apesar do imenso potencial de cultivo e extração das macroalgas, isto ainda não acontece de maneira expressiva a nível mundial. Contudo o interesse sobre esses organismos marinhos, principalmente para obtenção de compostos biologicamente ativos com interesse comercial, esta crescendo. Conforme ilustra a Figura 1, nas últimas décadas houve um aumento significativo no número de trabalhos internacionais publicados relacionados com algas.

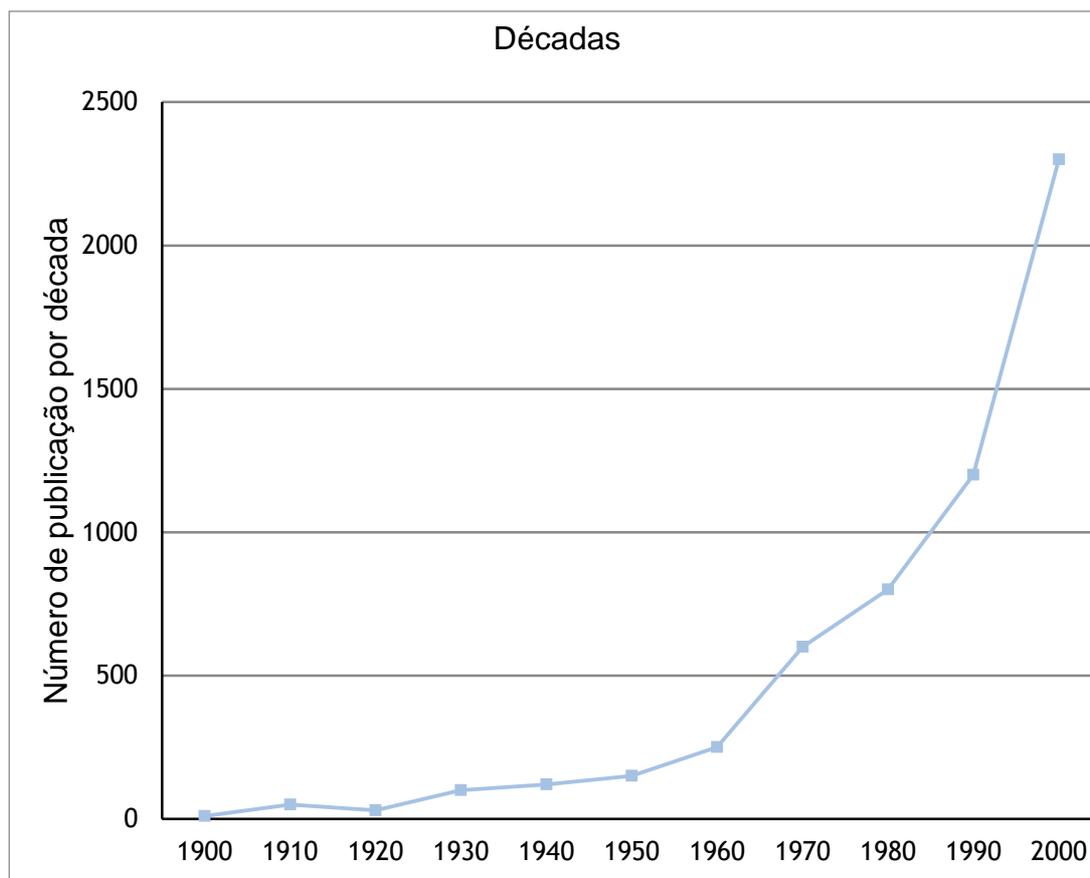


Figura 1 - Número de publicações internacionais com algas por décadas entre 1900-2000. Fonte: Craigie, 2011.

Dentre as tendências atuais das aplicações das macroalgas marinhas, a síntese de produtos com atividade antibiótica, anti-inflamatório, citotóxica, antioxidante e nutricional merecem destaque. Isto deve-se pelas algas serem organismos promissores na síntese de bioativos, pois vivem em ambientes com várias interações biológicas e condições abióticas extremas e, para a sua sobrevivência, desenvolveram estratégias de defesa, resultando na produção de um grande número de compostos químicos a partir de diferentes rotas metabólicas, como os carboidratos, aminoácidos, hormônios vegetais, ácidos graxos, entre outros polímeros e compostos orgânicos. (YOKOYA, 2010). De maneira geral, atualmente pode-se destacar o uso desses vegetais marinhos nas indústrias: alimentícia; nutracêutica, farmacêutica e na agricultura.

3.2 AS MACROALGAS MARINHAS COMO BIOESTIMULANTES AGRÍCOLAS

As algas são utilizadas na agricultura desde a antiguidade, seja diretamente no solo como adubo ou em forma de composto orgânico, como condicionador de solo. A utilização mais específica de extratos derivados desses vegetais marinhos teve início apenas no final de 1940, onde estes compostos passaram a ser comercializados como bioestimulantes e biofertilizantes em seu estado líquido (CRAIGIE, 2011). O primeiro produto comercial derivado do extrato líquido de alga marinha, chamado de Maxicrop, baseado num processo de extração alcalina pressurizado à quente, aconteceu paralelamente com o advento da pulverização foliar para oferta de nutrientes à plantas. De acordo com Milton (1964), inventor do processo Maxicrop, o uso do extrato líquido proporcionou uma resposta imediata da planta, semelhante à aplicação de algas compostadas, com isto iniciou o uso destes na agricultura.

De maneira geral, os extratos de algas disponíveis hoje no mercado agrícola são sintetizados por processos que utilizam soluções ácidas ou alcalinas, ou então processos físicos, que rompem a parede celular e liberam uma espécie de seiva e, após filtração, obtem-se a fração líquida (HERVÉ e ROUILLIER, 1977; HERVÉ e PERCEHAIS 1983; STIRK e VAN STADEN 2006). Atualmente a classe de alga mais comumente usada na agricultura é a marrom, com destaque para a macroalga *Ascophyllum nodosum*, considerada a alga mais pesquisada deste gênero (UGARTE, SHARP e MOORE, 2006). No entanto, outras algas marrons como *Laminaria* spp, *Ecklonia maxima*, *Sargassum* spp, e *Durvillaea* spp. E, de outras classes como *Fucus serratus*, *Enteromorpha intestinalis*, *Ulva lactuca* e *Kappaphycus alvarezii* também vêm sendo estudadas e avaliadas para potencial uso na agricultura (HONG et al., 2007). Atualmente o portfólio de produtos agrícolas derivados de extratos de algas marinhas é relativamente amplo, onde no mínimo 20 empresas no mundo atuam neste mercado, com produtos voltados ao tratamento de semente e pulverização foliar para uso na agricultura e horticultura (KHAN et al., 2009).

Os extratos de algas podem provocar uma série de respostas benéficas em vegetais, como: melhora no vigor das plantas, desenvolvimento radicular, síntese de clorofila; promoção de florescimento precoce, frutificação e uniformidade dos frutos;

retarda a senescência, prolonga a vida útil do produto; melhora a qualidade nutricional; cria tolerância ao estresse hídrico, salinidade e geada; alivia doenças criando resistência à bactérias e fungos; auxilia no controle de pragas de insetos, nematóides do solo; e possui ação adjuvante em misturas de pesticidas (METTING et al., 1990; KHAN et al., 2009; CRAIGIE, 2011).

No início do uso das macroalgas marinhas na agricultura, atribuíam-se as respostas fisiológicas benéficas principalmente à oferta de macro e micronutrientes essenciais. Subsequentemente, a partir da década de 60 com o desenvolvimento de métodos e técnicas analíticas e, a identificação de hormônios e reguladores de crescimento vegetal em extratos de algas marinhas, cientistas e estudiosos levantaram a hipótese de que estas moléculas eram os principais responsáveis pelas bioatividades desses extratos. Geralmente, as classes de hormônios vegetais clássicos e o reguladores de crescimento encontradas em algas marinhas, são: ácido abscísico; auxinas; citocininas; giberelinas, brassinosteróides; poliaminas, entre outros (CRAIGIE, 2011).

A periodicidade e extensão do crescimento vegetal são controladas por ações ordenadas por hormônios e reguladores positivos e negativos. Por exemplo, As auxinas participam de efeitos fisiológicos no alongamento celular, dominância apical, além de promoverem a formação de raízes laterais e adventícias, retardar o início da abscisão foliar e regular o desenvolvimento das gemas florais, sendo geralmente sintetizados nos meristemas, folhas jovens, frutos e sementes em desenvolvimento (VIEIRA e MONTEIRO, 2002). As citocininas fazem parte da regulação da síntese proteica, podem induzir a divisão celular, retardam a senescência foliar, promovem a expansão de cotilédones em dicotiledôneas, entre outros processos fisiológicos (VIEIRA e MONTEIRO, 2002; RAVEN et al., 2007). As giberelinas também estão relacionadas com a divisão celular, iniciação floral e estabelecimento do fruto, com a determinação do sexo e a germinação de sementes, além de outras atividades (TAIZ e ZEIGER, 2004; RAVEN et al., 2007). Os brassinosteróides, considerados por alguns pesquisadores como semelhantes às auxinas, têm como sua principal ação o alongamento de caules, em função disso promoverem uma espécie de flexibilidade à parede celular. Por fim, as poliaminas, encontradas comumente em células vegetais e animais, possuem funções no desenvolvimento vegetal no alongamento celular, enraizamento e na formação de tubérculos, influenciam na formação de flores, na

embriogênese, retardam a senescência foliar, induzem a formação de raízes e ramos adventícias e, a diferenciação vascular, no entanto, sua ação principal esta ligada a maturação de frutos e grãos de pólen (VIEIRA e MONTEIRO, 2002).

Além do interesse dos fitohormônios, existe uma tendência ao aproveitamento de alguns polímeros sintetizados por algas como os polissacarídeos, taninos, proteínas, que podem apresentar atividades biológicas em sistemas vegetais. Em meio a estas moléculas estão os agares, alginatos, carragenanas, fucanas, florotoninos, bem como seus derivados, que chamam a atenção para uso na agricultura devido seus respectivos potenciais de atividades biológicas relacionados com respostas de defesa vegetal na proteção contra patógenos ou injúrias causadas por insetos (IDEO et al., 2009; LI et al., 2008; MYERS et al., 2010; NAKAYASU et al., 2009; WANG et al., 2008).

Diversos trabalhos revelam o uso de extrato de algas marinhas no tratamento de semente de cereais, como o estudo de Carvalho (2013), que avaliou o efeito de doses crescentes (0,25, 0,5, 1, 2 e 5 mL; kg de semente⁻¹) do extrato comercial de *Ascophyllum nodosum*, na cultura de soja, sobre parâmetros biométricos e de produção. A pesquisadora concluiu que o tratamento de semente de soja com o extrato de alga promoveu o desenvolvimento vegetal, onde dentre as doses testadas a de 1 mL kg de semente⁻¹ apresentou maior eficiência, promovendo altas taxas de crescimento radicular e acréscimos em todos os parâmetros de produção avaliados.

Santos et al. (2014), também avaliaram a eficiência do extrato comercial de *Ascophyllum nodosum*, composto de fitohormônios naturais como auxinas, citocininas e giberelinas e, minerais como molibdênio e ácido fosforoso. O produto foi usado no tratamento de semente de soja (2 mL; kg de semente⁻¹) e aplicação foliar no estágio V3 e no início do florescimento das plantas (200 mL; hectare⁻¹). Os pesquisadores concluíram que, em condições de adubação fosfatada, o bioestimulante proporcionou incrementos na massa seca da folha, massa seca do caule, massa seca da vagem e área foliar, para aplicações via tratamento de semente e pulverização foliar.

3.3 KAPPAPHYCUS ALVAREZII

O gênero *Kappaphycus* pertence a divisão das Rhodophytas (algas vermelhas), classe Florideophyceae, ordem Gigartinales e família Solieriaceae. Foi segregado do gênero *Eucheuma* por Doty (1987) devido principalmente a presença do polissacarídeo *kappa* carragenana e algumas características morfológicas. Assim, a *Kappaphycus alvarezii* é uma alga vermelha, espécie perene que ocorre naturalmente em áreas de recife de coral da região do Indo-Pacífico, do Leste da África até Guam, China, Japão e ilhas do Sudeste Asiático (DOTY, 1987; ARECES et al., 1995).

Diante das macroalgas marinhas cultivadas atualmente em escala comercial, a *Kappaphycus alvarezii* apresenta-se como potencial fonte de biomassa para obtenção de diversos compostos de expressivo interesse industrial. A produção desta alga surgiu desde que a demanda por *kappa* carragena, um hidrocoloide utilizado em diversas indústrias como agente espessante e estabilizante, foi maior do que a oferta de matéria-prima pelos bancos naturais (PICKERING, SKELTON e SULU, 2007; BIXLER e PORSE, 2011). Desta forma, a partir da década de 40 juntamente com o cultivo de *Kappaphycus striatum* e a *Eucheuma denticulatum*, iniciou-se a produção comercial desta macroalga (ARECES et al., 1995). Em meados da década de 70, mais de 90% do volume de alga seca exportada das Filipinas era de *K. alvarezii*, *K. striatum* e de *E. denticulatum*. Atualmente esta alga é cultivada comercialmente em países como as Filipinas, Indonésia, Malásia, Tanzânia e China, sendo considerada a principal matéria-prima para indústria de *kappa* carragena. De acordo com a FAO, em 2010 a produção mundial de *Kappaphycus alvarezii*, somado a produção das algas do gênero *Eucheuma*, chegou a cerca de 6 milhões de toneladas de alga fresca (Figura 2).

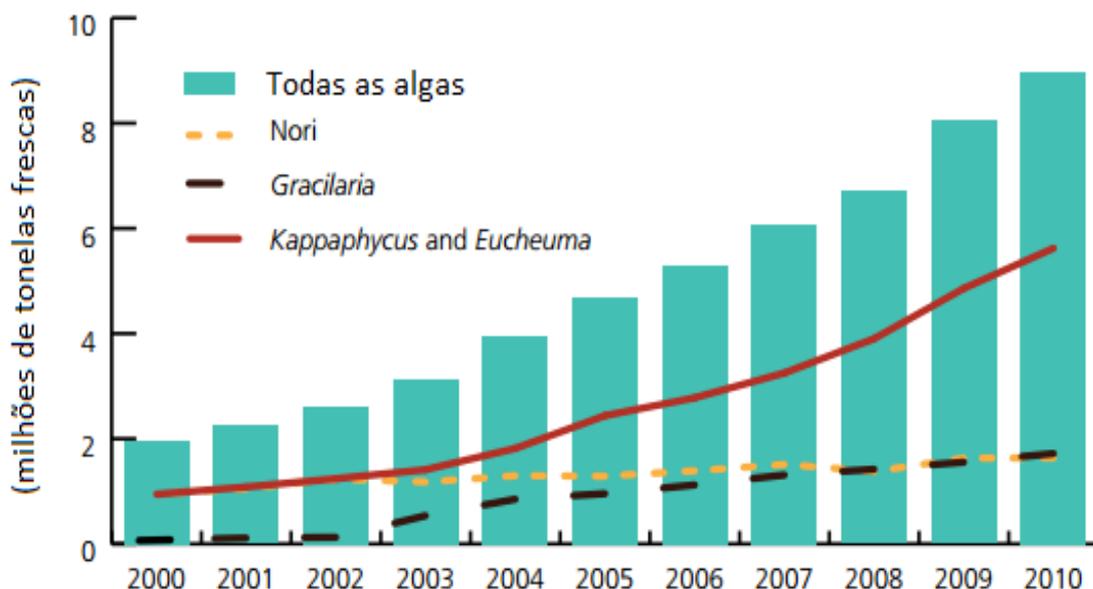


Figura 2 - Produção mundial de algas vermelhas cultivadas em fazendas marinhas.
Fonte: FAO (2010).

O expressivo aumento da produção de *Kappaphycus alvarezii*, com destaque para os últimos 20 anos aconteceu graças ao domínio de técnicas de cultivo comercial deste organismo, realizado geralmente em sistemas conhecidos como tie-tie. Esta forma de cultivo é um processo baseado no princípio de propagação vegetativa, onde porções do talo são amarradas em cabos de cultivo e esses são mantidos fixos em sistemas flutuantes, como balsas (Figura 3). Assim a propagação de *Kappaphycus alvarezii*, é um processo contínuo, com multiplicação vegetativa através de ciclos sucessivos de cultivo de 40 a 60 dias, podendo variar de acordo com fatores bióticos e abióticos específicos de cada microrregião (GÓES e REIS, 2011).

Neste contexto, devido o relativo sucesso do cultivo comercial desta macroalga e a necessidade mundial de ampliar a oferta da matéria-prima para produção de carragena, esta macroalga foi inserida em diversos países inclusive no Brasil. A espécie foi introduzida no país em 1995, no Instituto de Pesca da Secretaria de Agricultura e Abastecimento de Ubatuba, SP, para estudos básicos do cultivo do vegetal marinho, sendo aprovado pelo IBAMA. A maricultura comercial de *Kappaphycus alvarezii* iniciou em 1998 na baía de Ilha Grande e em 2003 na Baía de Sepetiba, localizadas no sul do Rio de Janeiro. Houve uma pequena modificação na técnica de cultivo tie-tie (Figura 4), onde ao invés de usar linhas de plantio e as mudas serem amarradas, são utilizadas redes tubulares (RT) de polietileno com entre nós capazes de prender as mudas (Figura 4), no entanto o princípio de cultivo é o mesmo.

Atualmente esta macroalga é a única carragenófito cultivada comercialmente em todo território brasileiro (GÓES e REIS, 2011; HAYASHY e REIS, 2012).

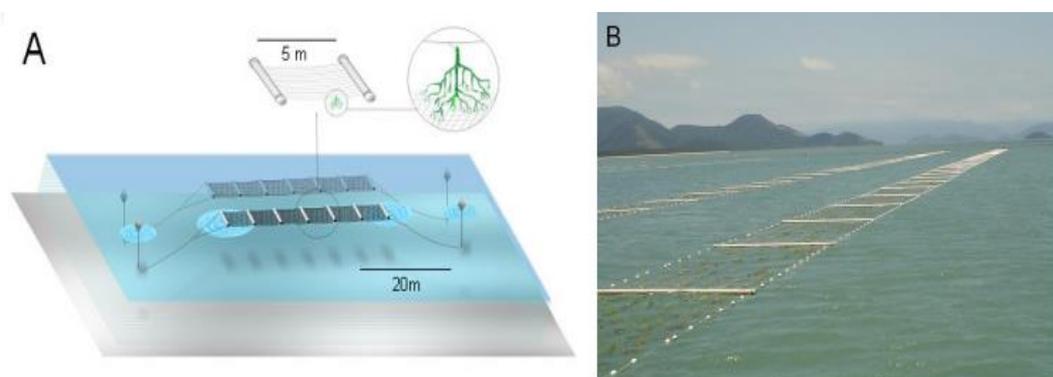


Figura 3 – A: Esquema de uma balsa flutuante de cultivo de *Kappaphycus alvarezii*. B: Balsas flutuantes instaladas no litoral brasileiro.

Fonte: GÓES (2009).

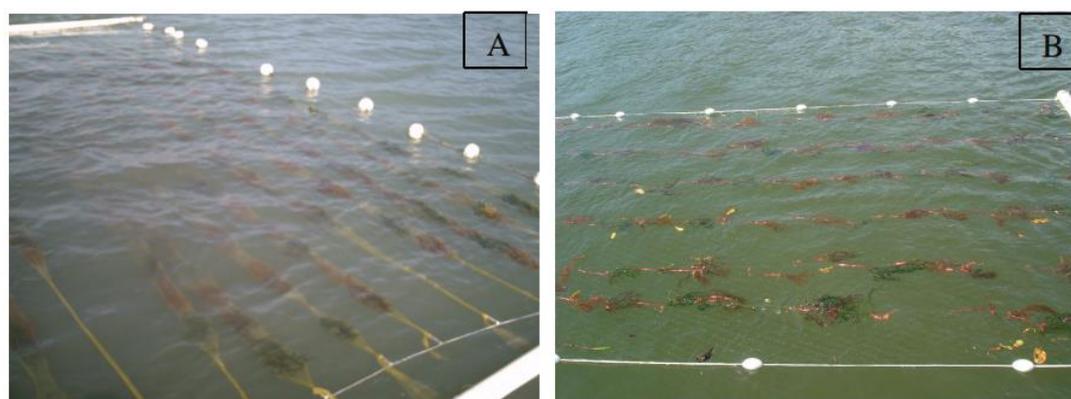


Figura 4 - Cultivo de *Kappaphycus alvarezii* em balsa flutuante utilizando a técnica rede tubular - RT (A) e com técnica tietie – TT (B).

Fonte: GÓES (2009).

Além do uso como matéria-prima para a indústria de carragenana, recentemente a *K. alvarezii* vem demonstrando potencial para diversas aplicações biotecnológicas graças ao amplo espectro de compostos biologicamente ativos que possui. Nas indústrias de produtos cosméticos, nutracêuticos e farmacêuticos, as seguintes aplicações merecem destaque: uso em misturas com hidrogéis para aplicação alimentar, com capacidade de inchamento, resistência térmica e a degradação; fibra dietética com atividade anti-viral e anti-câncer; redutor de colesterol e antioxidante; anticoagulante; entre outros. No âmbito do agronegócio, o extrato de alga sendo testado como matéria-prima para produção de bioetanol e para uso na agricultura, como biestimulante (MEENA, PRASAD e SIDDHANT, 2009; HOLDT e KRAAN, 2011; MATANJUN et al., 2010; NISIZAWA, 2006).

No caso específico do emprego desta alga na agricultura, relatos científicos comprovam o potencial bioestimulante do extrato líquido derivado da biomassa algal. Este extrato líquido é obtido conforme processo descrito por Eswaran et al., (2005), onde a alga fresca é esmagada e filtrada, segregando uma fração de grânulos úmidos, rica em polissacarídeos utilizada para extração de k-carragena e, uma fração líquida que pode ser usada como fertilizante líquido. A composição química deste extrato líquido de *K. alvarezii* foi caracterizada por Zodape et al., (2009) conforme Tabela 1:

Tabela 1: Constituintes químicos do extrato de *Kappaphycus alvarezii*

Constituientes da seiva	Valores
Nitrogênio (%)	0,45 - 0,70
Fósforo (%)	0,007- 0,01
Potássio (%)	1,60 - 2,10
Matéria orgânica (%)	1,05 - 1,40
Sódio (%)	0,45 - 0,70
Cálcio (%)	0,04 - 0,06
Magnésio (%)	0,06 - 0,07
Manganês (ppm)	6 – 9
Ferro (ppm)	100 – 160
Cobre (ppm)	7 – 11
Zinco (ppm)	19 – 25
Cobalto (ppm)	2 – 5
Molibidênio (ppm)	2
Sulfato (%)	1,06 - 1,20
Cloreto (%)	2,36 - 2,70
IAA (ppm)	25,14
Cinetina (ppm)	8,50
Zeatina (ppm)	20,10
Giberelinas (ppm)	27,11

Fonte: Zodape (2009).

A composição química da fração de grânulos úmidos, de acordo com Khambhaty et al., (2012), continha em percentual peso peso⁻¹: sal solúvel, 21,39; fibra, 12,66; sulfato orgânico, 11,75; carragenana, 51,02; a matéria insolúvel em ácido, 0,33 e outras impurezas, 0,33. Por fim se analisarmos em conjuntos a composição química da *Kappaphycus alvarezii*, as seguintes classes de compostos podem ser encontradas: sais solúveis; fibras; sulfatados orgânicos; hormônios (AIA, giberelinas, zeatinas, citocininas); vitaminas; minerais (nitrogênio, fósforo, potássio, magnésio, cálcio, zinco, manganês, molibidênio, sódio e ferro; e os polissacarídeos como carragenana.

O uso do extrato líquido de *Kappaphycus. alvarezii* na agricultura em pulverização foliar, já foi relatado por Rathore et al., (2009), quando realizaram um teste a campo para avaliação do efeito do extrato de alga no crescimento, produção e consumo de nutrientes na cultura de soja. Foram realizados sete tratamentos diferentes de pulverização foliar (0; 2.5; 5; 7.5; 10; 12.5 e 15% v/v) de extrato em duas aplicações, uma no estágio vegetativo (30 dias após semeadura) e a segunda no estágio de florescimento (60 dias após semeadura), com um volume total de pulverização de 650 L/hectare em cada aplicação. Concluiu-se que, naquelas condições do experimento, a aplicação do extrato líquido aumentou o rendimento de grãos e também melhorou a absorção de nutrientes (N, P, K e S) das plantas, com as maiores concentrações do extrato aplicado.

Zodape et al., (2009) também trabalharam com o mesmo extrato líquido em pulverização foliar, para avaliação do efeito na qualidade de grão e em alguns parâmetros de produção na cultura de trigo. Foram realizadas três tratamentos diferentes do extrato (0,25%, 0,50% e 1,0%) em três aplicações, no estágio vegetativo, no perfilhamento e no início do enchimento de grãos. O tratamento com 1% de extrato líquido aumentou o rendimento de grãos e melhorou a qualidade nutricional dos grãos, em relação ao tratamento controle.

Neste contexto, considerando o potencial já comprovado do extrato líquido de *K. alvarezii* na agricultura e a possível atividade biológica dos polímeros presentes na fração sólida da alga, bem como seus derivados, o uso em conjunto dessas biomassas podem ampliar as respostas fisiológicas positivas já obtidas no tratamento de vegetais apenas com o extrato líquido. Para além disso, com base na legislação nacional de fertilizantes, esta mistura poderia enquadrar-se como fertilizante orgânico, baseado principalmente no conteúdo de carbono orgânico total.

Contudo devido a propriedade geleificante do polissacarídeo *kappa-carragena*, principal componente da fração sólida da alga, uma alternativa para garantir a solubilização e fluidez da mistura com o extrato líquido, é a hidrólise ácida deste material.

3.4 HIDRÓLISE ÁCIDA DE ALGAS MARINHAS

A hidrólise de algas marinhas é uma ferramenta importante em diversas aplicações biotecnológicas atuais, como: para obtenção de matéria-prima para fabricação de bioetanol; extração de aminoácidos para alimentação humana; produção de biogás e do subproduto fertilizante sólido com baixo teor de metais pesados; extração de proteínas com propriedades corantes; entre outras. Este processo caracteriza-se por dar origem aos oligossacarídeos denominados secundários, sintetizados *in vitro* a partir de oligossacarídeos maiores, polissacarídeos, glicoproteínas ou glicolípídeos. Os oligossacarídeos são definidos como compostos que, através de hidrólise, apresentam-se com um número reduzido de unidades monossacarídicas (STANEK, CERNY e PACAK, 1965). Assim, de acordo com o número de unidades presentes estes compostos são classificados em: dissacarídeo, trissacarídeo, tetrassacarídeo, e assim por diante. Estes compostos podem ser obtidos através da extração direta de fontes naturais, a partir de síntese química e/ou enzimática e através de hidrólise química ou enzimática (DUCATTI, 2005).

O processo de hidrólise química pode ser vantajoso pelo seu baixo custo, entretanto, uma maior produção de monossacarídeos pode ser conseguida utilizando hidrólise enzimática. Existem vários parâmetros que afetam a produtividade de açúcar por hidrólise ácida, como qual é o ácido utilizado como catalisador, a concentração do ácido, razão do substrato com a solução ácida, a temperatura e o tempo de reação, entre outros. A hidrólise com ácido diluído é muito complexa, principalmente porque o substrato está na fase sólida e o catalisador está em fase líquida. Porém, um processo de hidrólise ácida em condições muito bem controladas, pode ser considerado um importante método para obtenção de oligossacarídeos. Dependendo das condições reacionais e da distribuição das ligações glicosídicas do composto empregado como matéria-prima, a despolimerização parcial pode gerar complexas misturas de oligossacarídeos com massa molecular relativamente baixa e, possivelmente, polissacarídeos parcialmente degradados (fragmentos resistentes) (DUCATTI, 2005).

O pré-tratamento e hidrólise de biomassa de algas vermelhas com o uso de catalisadores ácidos diluídos, em altas temperaturas, tem sido amplamente utilizado devido a capacidade de separar polímeros como a carragenana de estruturas

celulósicas e, de reduzir galactanas a monômeros de galactose. O ácido sulfúrico tem demonstrado maior eficiência de hidrólise quando comparado com outros ácidos, como o ácido clorídrico (KIM et al., 2011; DAROCH; GENG e WANG, 2013; SCHELIGA, 2013).

Diversos trabalhos científicos demonstram a hidrólise ácida de kappa-carragenana de algas vermelhas. A estrutura primária de kappa-carragenano é constituída por unidades repetidas de dissacárido de α (1-3) - D-galactose-4-sulfato e β (1,4) - 3,6-anidro de galactose ligadas por ligações glicosídicas. As temperaturas elevadas e o meio ácido são relatados para promover a hidrólise na ligação (1 \rightarrow 3) glicosídica. Também sabe-se que o sistema de anel de 3,6-anidrogactose facilita a hidrólise, ao passo que a porção de sulfato impede isso. Devido a kappa-carragenana possuir apenas uma unidade sulfatada, este polímero vem sendo objeto de estudo para obtenção de oligossacarídeos via hidrólise ácida (KHAMBHATY et al., 2012). No entanto, com base na relativa dificuldade de controlar a hidrólise ácida parcial de galactanas sulfatadas, um modo de reduzir a perda do derivado anidro de galactose é combinar a hidrólise ácida parcial com reações de oxidação ou redução. As unidades formadas neste processo podem ser então subsequentemente reduzidas e oxidadas, para a obtenção de oligossacarídeos na forma de alditóis. Ao final de ambos os processos de hidrólise e redução são gerados oligossacarídeos com unidades de 3,6-anidrogactitol na sua extremidade, enquanto os grupos sulfato são substancialmente retidos, como ilustra a figura 5 (GONÇALVES, 2001; DUCATTI, 2005 e 2009).

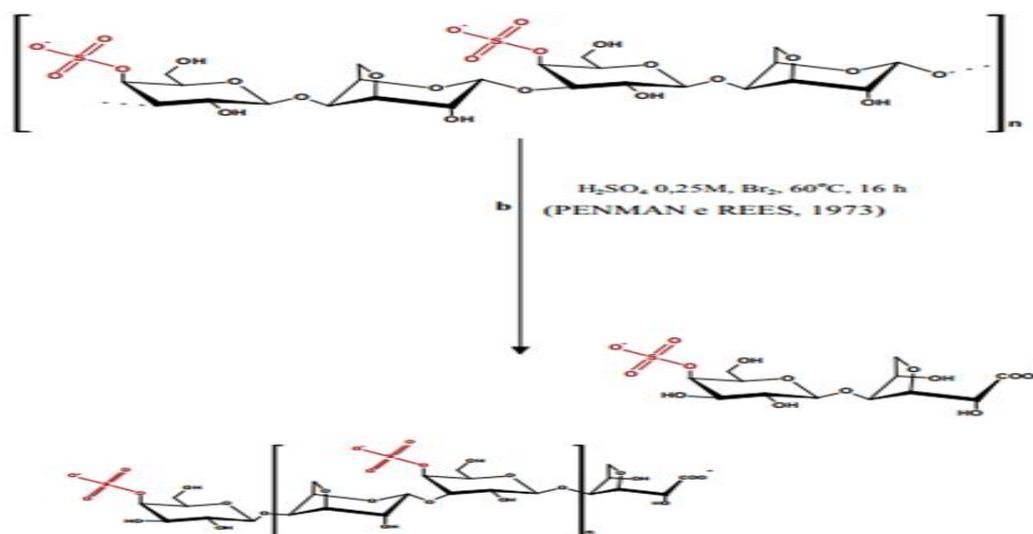


Figura 5 - Hidrólise ácida parcial (b) de kappa-carragenana.
Fonte: PENMAN e REES (1973) *Apud* Ducatti (2005).

Em relação as condições e estratégias mais adotadas no processo de hidrólise ácida de *Kappaphycus alvarezii*, merece destaque a exposição da biomassa seca a uma solução de ácido sulfúrico em concentrações de 0,1% a 3 % v/v, com temperaturas que variam de 100 a 130 °C, por 15 a 120 minutos (LEE et al., 2011; MEINITA, HONG e JEONG, 2012; DAROCH; GENG; WANG, 2013; SCHELIGA, 2013).

Entre os diferentes trabalhos publicados recentemente, está a pesquisa realizada por Meinita, Hong e Jeong (2012), onde a biomassa da alga marinha, após ser seca e triturada, foi submetida ao processo de hidrólise ácida para obtenção de açúcares fermentecíveis e produção de bioetanol. O processo foi realizado em autoclave, utilizando ácido sulfúrico e ácido clorídrico como catalisador em diferentes concentrações (0,1-1,0 M), diferentes concentrações de substratos (1,0-13,5%), com diferentes tempos de hidrólise (10-90 min) e temperaturas de reação (100-130° C). Foi observado alteração no conteúdo de galactose, glucose, açúcar redutor e açúcar total sob as diferentes condições de hidrólise. As condições ideais de hidrólise neste experimento, para uma conteúdo de 30 g L⁻¹ de substrato, foram alcançadas a uma concentração do ácido sulfúrico de 0,2 M, temperatura de 130°C e tempo de reação 15 minutos, onde obteve-se uma maior produção de açúcares totais, na ordem de aproximadamente 14g L⁻¹.

Scheliga (2013), também avaliou o processo de hidrólise ácida da carragenana bruta com o uso de ácido sulfúrico, onde os seguintes parâmetros reacionais foram avaliados: concentração da solução ácida (0,2, 0,5 e 0,8 %); concentração de substrato carragenana bruta (20, 60 e 100 g L⁻¹); temperatura (100, 110 e 121 °C); e tempo (20, 40 e 60 minutos). Os ensaios também foram conduzidos em autoclave. A maior eficiência de hidrólise ácida (76,39%), obtendo um conteúdo de galactose de 22,92 g L⁻¹, foi alcançada com o uso dos seguintes parâmetros: temperatura, 121°C; tempo, 60 minutos; ácido sulfúrico, 0,8%; e carragenana bruta, 100 g L⁻¹.

Além da *Kappaphycus alvarezii*, outra alga vermelha avaliada no processo de hidrólise ácida para obtenção de açúcares e síntese de bioetanol, é a *Gelidium amansii*. Segundo Park et al., (2012), em um processo contínuo de hidrólise ácida com proporção de 15% de sólido/líquido, uma solução 2% (v/v) de ácido sulfúrico, temperatura de 170 °C e tempo de reação de 240 minutos, obteve-se um conteúdo máximo de 25 g L⁻¹ de galactose.

Apesar da principal aplicação para a hidrólise ácida de galactanas ser a produção de matéria-prima para produção de bioetanol, existem diversas atividades biológicas relacionadas aos oligossacarídeos sulfatados e seus derivados, sintetizados neste processo que podem figurar como outras aplicações para estes compostos, como: antiviral (KATSURAYA et al., 1999), antitumoral (YUAN et al., 2006), antiinflamatória (SANDERS et al., 1999), anticoagulante (WALL et al., 2001) e antiangiogênica (KÄSBAUER; PAPER; FRANZ, 2001). Estas propriedades não estão apenas relacionadas com o grau de sulfatação da porção glicídica, mas também, com a regioquímica e estereoquímica dos grupos sulfatos presentes. As galactanas podem ser degradadas a oligossacarídeos naturalmente sulfatados, contendo um padrão de sulfatação conhecido e derivado do polissacarídeo de origem (DUCATTI, 2009).

Por fim além dessas características, outro benefício associado a hidrólise de kappa carragenana é a possível solubilização dessa biomassa no extrato líquido, já que após tal processo o material perde significativamente sua propriedade geleificante, o que permite a sua solubilização em meio aquoso, como por exemplo o próprio extrato líquido da macroalga *K. alvarezii*, garantindo fluidez e homogeneização quando forem aplicados em vegetais, seja via semente ou pulverização foliar.

3.5 LEGISLAÇÃO BRASILEIRA DE FERTILIZANTES

De acordo com a legislação brasileira de fertilizantes, regida pela Instrução Normativa nº 23 de 2007 e a nº 25 de 2009, o uso de extratos de algas marinhas que não atingem as exigências mínimas para registro como fertilizante mineral, orgânico ou organomineral, é reconhecido e autorizado pelo MAPA apenas como aditivos estabilizantes e complexantes para esses próprios produtos.

Com base nisso, existe uma significativa probabilidade do extrato líquido puro de *K. alvarezii* não ser reconhecido como um fertilizante no Brasil. Entretanto, devido o alto conteúdo de polissacarídeo da biomassa sólida de *Kappaphycus alvarezii* e, a possível mistura deste material com o extrato líquido da alga, este composto obtido pode atender os requisitos mínimos no que diz respeito a exigência legais de fertilizante orgânico.

Em meio aos parâmetros solicitados pelo MAPA, para registro dessa classe de produto, está o conteúdo de carbono orgânico, que é a soma do conteúdo de todos

os derivados de carbono presentes no meio. Para registro de fertilizante foliar orgânico, quando fluído, o conteúdo mínimo de carbono orgânico é de 8 % (oito por cento). Dentre outras exigências.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATÉRIA-PRIMA E PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

A matéria-prima avaliada trata-se da biomassa de *Kappaphycus alvarezii*, produzida no litoral brasileiro, com a tecnologia de produção comumente conhecida como rede tubular, em um ciclo vegetativo de aproximadamente 47 dias. Imediatamente após sua colheita, com base nas descrições realizadas por Eswaram et al., (2005), a alga fresca foi submetida aos seguintes processos, respectivamente: lavagem em água corrente, com o objetivo de retirar qualquer tipo de resíduo ou impureza marinha; trituração mecânica com triturador industrial, para romper a parede da célula e libertar a seiva; filtração da biomassa aquosa através de um pano de algodão, obtendo então duas biomassas, o extrato líquido e uma fase sólida úmida. A fase sólida úmida foi exposta ao sol por um período de aproximadamente 72 horas, até que o conteúdo de umidade atingisse um percentual (%) abaixo de 25 e, foi armazenada em embalagem e local adequado para sua conservação. E, ao extrato líquido foi adicionado um composto de benzoato de sódio, como conservante.

As duas frações da biomassa de *K. alvarezii*, o extrato líquido e a fase sólida (figura 6) são objetos de estudo do trabalho.

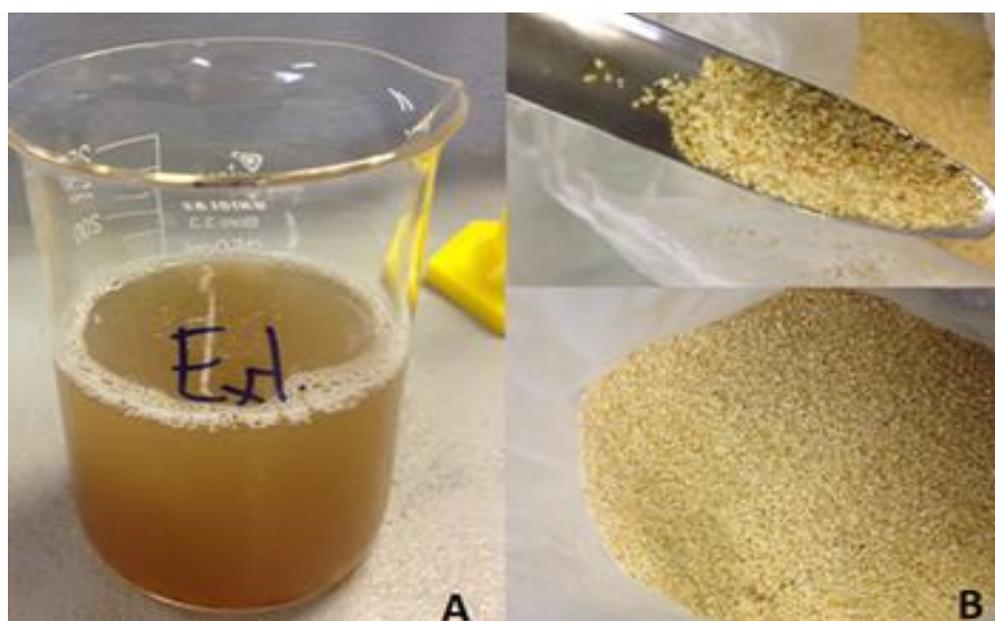


Figura 6 – Foto com o extrato líquido (A) e a biomassa sólida (B) de *K. Alvarezii*.
Fonte: Arquivo pessoal.

O extrato líquido utilizado no desenvolvimento do trabalho foi exatamente o mesmo descrito anteriormente, no entanto, a biomassa sólida seca foi submetida à trituração em moinho de jarros, obtendo-se duas granulometrias de acordo com a malha das peneiras usadas, sendo malhas 45 e 25 mesh. A fração utilizada para os ensaios foi a com a menor granulometria, obtida após a moagem e passagem pela peneira com malha de 25 mesh (Figura 7).

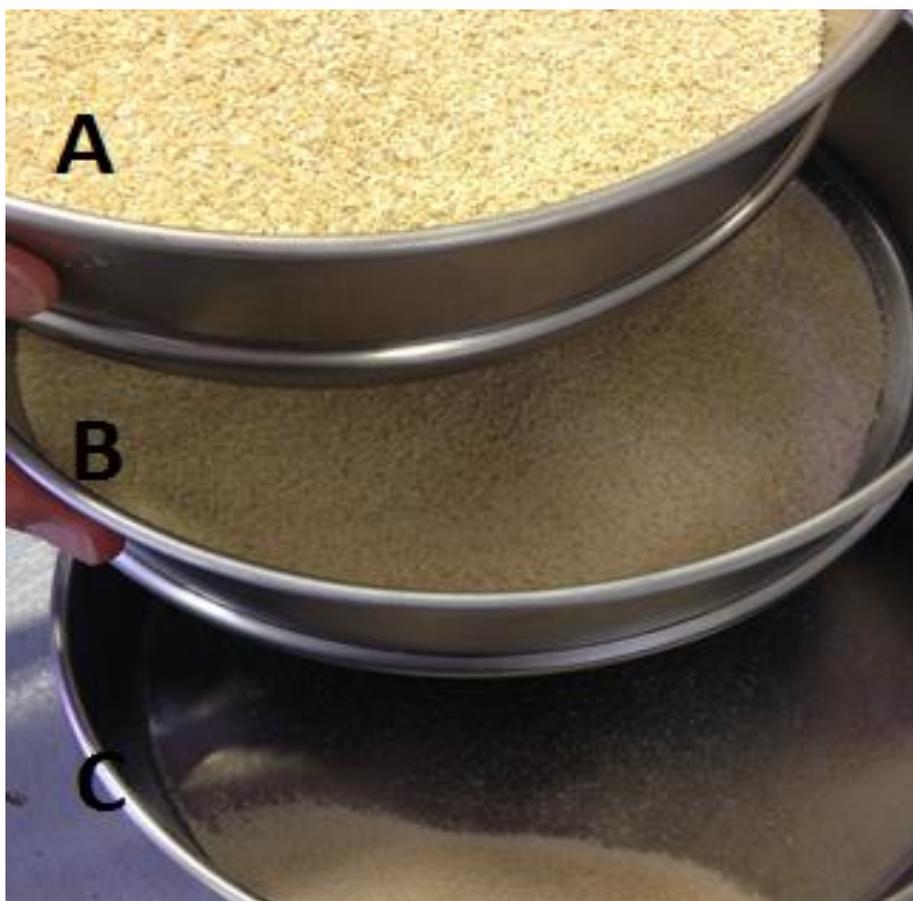


Figura 7 – Foto com a biomassa sólida bruta (A) e biomassa peneirada com malha 45(B) e 25(C) mesh. Fonte: Arquivo pessoal.

4.1.1 Hidrólise ácida redutiva parcial da biomassa sólida

A biomassa sólida após o processo de moagem e passagem pela peneira, foi submetida a hidrólise ácida. O processo foi realizado utilizando uma autoclave e frascos de vidros com capacidades de 500 mL. O volume de trabalho foi de aproximadamente 200 mL, empregando uma concentração de substrato de alga de 12g / 100 mL de solução de ácido sulfúrico.

O delineamento experimental empregado neste experimento foi inteiramente casualizado e os tratamentos foram dispostos em arranjo fatorial 2^3 , com 3 variáveis (concentração da solução ácida; temperatura; e tempo de reação) em 2 níveis (Tabela 2), para verificação de um modelo linear. Os ensaios foram realizados de forma aleatória e em duplicata. Por fim, analisou-se como resposta o conteúdo de carbono orgânico das amostras.

Tabela 2. Ensaios de hidrólise ácida da biomassa sólida de *Kappahycus alvarezii*

Ensaio	Solução ácida (M)	Temperatura (°C)	Tempo (m)
1	0,2	100	15
2	0,4	100	15
3	0,2	127	15
4	0,4	127	15
5	0,2	100	30
6	0,4	100	30
7	0,2	127	30
8	0,4	127	30

4.1.2 Análise de carbono orgânico

Após a reação de hidrólise foi avaliado o conteúdo de carbono orgânico das amostras, conforme a metodologia indicada para análise de carbono orgânico em fertilizantes orgânicos (Manual de Métodos Analíticos Oficiais para Fertilizantes, 2006). O método baseia-se na oxidação, por via úmida, do carbono orgânico contido na amostra com dicromato de potássio (0,2 M) em excesso e ácido sulfúrico concentrado, promovendo-se aquecimento externo. A determinação do dicromato remanescente por titulação com solução de sulfato ferroso amoniacal (0,5 M).

De modo geral o procedimento consistiu em: pesar uma massa da amostra, contendo entre 40 e 150 mg de carbono orgânico provável e transferir para erlenmeyer de 300 mL. Conduzir, em paralelo, duas replicatas de uma prova em branco que devem passar por todo o procedimento, omitindo-se a presença da amostra. Adicionar, em seguida, 50 mL da solução de $K_2Cr_2O_7$, medidos com exatidão e, acrescentar vagarosamente, 50 mL de H_2SO_4 concentrado, movimentando suavemente o conteúdo do erlenmeyer, que deve ser tampado com vidro de relógio e deixado em repouso até esfriar. Transferir o erlenmeyer tampado com o vidro de relógio para uma chapa aquecedora e ferver por 30 minutos, levando a temperatura a cerca de 140°C (evitar que ultrapasse 160 °C). Terminado o tempo de reação, retirar

o erlenmeyer da chapa e deixar esfriar, sempre coberto com o vidro de relógio. Lavar o vidro de relógio com água destilada, utilizando-se de uma pisseta, recolhendo a água no erlenmeyer e transferir quantitativamente para balão volumétrico de 250 mL. Completar o volume com água destilada, deixando esfriar antes de cada adição de água. Para determinação transfere-se uma alíquota de 50 mL do extrato da amostra e das provas em branco (duas) para erlenmeyer de 250 mL, fazer um volume de aproximadamente 100 mL com água destilada e acrescentar 10 mL de H₃PO₄. Titula-se com a solução de sulfato ferroso amoniacal, empregando 0,5 a 1 mL da solução de difenilamina como indicador, até a viragem para a coloração verde. Anotar os volumes gastos, em mL. Enfim, calcula-se o teor de Carbono Orgânico (C.O.) pela expressão da Figura 8, onde: C = concentração da solução de sulfato ferroso amoniacal; V_a = volume, em mL, da solução de sulfato ferroso amoniacal gasto na amostra; V_b = volume médio, em mL, da solução de sulfato ferroso amoniacal gasto nas replicatas da prova em branco; e G = massa inicial da amostra, em grama. O cálculo de teor de carbono orgânico é efetuado com base na premissa de que cada mol de K₂Cr₂O₇ consumido reagiu com 1,5 mol de carbono orgânico.

$$\% \text{C.O.} = \frac{9C(V_b - V_a)}{G}$$

Figura 8 – Expressão utilizada para cálculo da percentagem de carbono orgânico total das amostras. Fonte: Manual de Métodos Analíticos Oficiais para fertilizantes (2006).

Com os valores das médias, realizou-se análise de variância (ANOVA) com o software Action, como suplemento estatístico no Microsoft Excell 2013.

4.1.3 Solubilização da biomassa hidrolisada no extrato líquido

As bases amostrais avaliadas no trabalho englobam o extrato líquido puro e o extrato líquido com adição da biomassa hidrolisada. Tão logo, as duas amostras de biomassa sólida hidrolisada com o maior conteúdo de carbono orgânico foram utilizadas nos experimentos, as quais receberam os nomes de hidrolisado 1 e 2, respectivamente. Assim foram realizadas duas solubilizações para cada biomassa sólida hidrolisada, considerando a porcentagem da biomassa hidrolisada no extrato líquido em relação ao volume final da amostra, definidas então como 25% e 75%.

A Figura 9 ilustra as principais etapas do trabalho na obtenção e preparação da matéria-prima e, o desencadeamento dos experimentos agrícolas adotado.

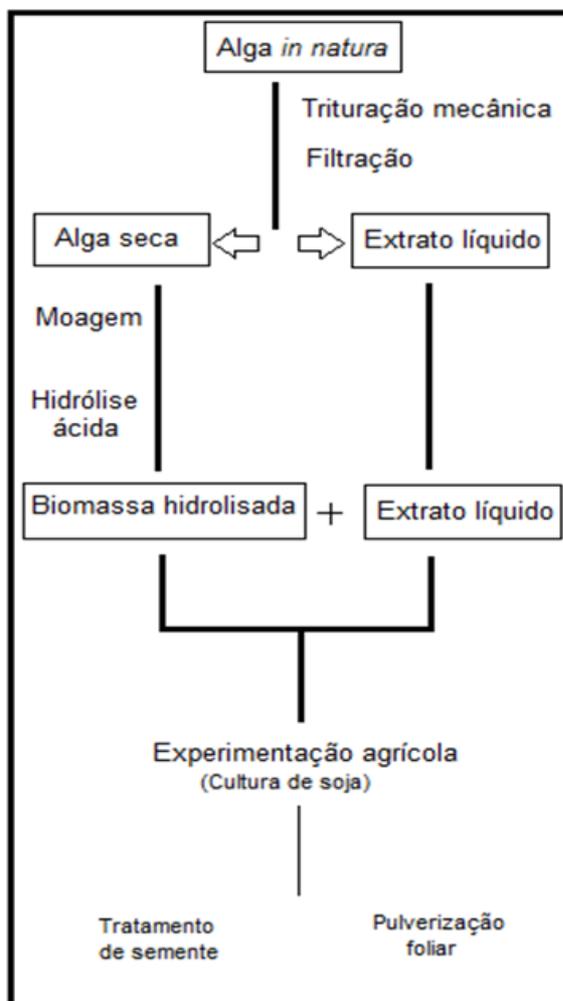


Figura 9 – Esquema com o resumo das etapas de obtenção e preparação das amostras da biomassa algal para experimentação agrícola.

4.2 DESCRIÇÃO DOS EXPERIMENTOS AGRÍCOLAS REALIZADOS

De maneira geral, as biomassas derivadas de *Kappaphycus alvarezii* foram submetidas a duas classes de experimentos agrícolas com base em sua tecnologia de aplicação, o tratamento de semente e a pulverização foliar, ambas na cultura da soja.

Foram conduzidos dois experimentos de tratamento de semente em laboratório, na Universidade Federal do Paraná – Setor Palotina. Os experimentos foram denominados experimento I e II, onde avaliou-se em cada um a qualidade

fisiológica das plântulas através dos seguintes testes e determinações: teste de percentagem de germinação; avaliação do comprimento das plântulas; e peso da biomassa massa seca das plântulas. O experimento I e II diferem exclusivamente na dosagem empregada, todavia os tratamentos utilizados são exatamente os mesmos.

Os experimentos de pulverização foliar foram conduzidos a campo em duas áreas de produção agrícola distintas, localizadas no Município de Palotina, situado na Região Oeste do Paraná (Experimento III e IV), na safra de 2014/15. Nestes experimentos foram avaliados parâmetros de produção, como: produtividade (kg hectare⁻¹) e peso de mil grãos. A dosagem empregada dos tratamentos em ambos os experimentos foi a mesma.

Os tratamentos utilizados em todos os experimentos englobam a testemunha negativa (nenhuma aplicação), a testemunha positiva, neste caso o produto comercial Stimulante®, um bioregulador sintético constituído de cinetina (0,009%), ácido giberélico (0,005%) e ácido indol-butírico (0,005%), além do extrato líquido puro e misturas entre o extrato líquido e as duas biomassas hidrolisadas selecionadas (hidrolisado 1 e 2). Estas misturas das biomassas aconteceram em duas concentrações (25 e 75%) e, para cada experimento, foram avaliadas sempre em duas dosagens (dose cheia e meia dose). Conforme descrito na Tabela 3.

Tabela 3. Tratamentos realizados em todos os experimentos agrícolas

Tratamentos	Diluição (% hidrolisado)
T0 - testemunha negativa	-
T1 – testemunha positiva (dose cheia)	-
T2 - extrato líquido puro (meia dose)	-
T3 - extrato líquido puro (dose cheia)	-
T4 - hidrolisado 1 + extrato líquido (meia dose)	25
T5 - hidrolisado 1 + extrato líquido (dose cheia)	25
T6 - hidrolisado 1 + extrato líquido (meia dose)	75
T7 - hidrolisado 1 + extrato líquido (dose cheia)	75
T8 - hidrolisado 2 + extrato líquido (meia dose)	25
T9 - hidrolisado 2 + extrato líquido (dose cheia)	25
T10 - hidrolisado 2 + extrato líquido (meia dose)	75
T11 - hidrolisado 2 + extrato líquido (dose cheia)	75

4.2.1 Tratamento de semente

O teste de percentagem de germinação foi realizado com quatro sub amostras (repetições) de 50 sementes cada, com substrato de papel, conforme indicações feitas

pelo MAPA, no Regras para Análise de Semente - RAS (BRASIL, 2009). Os rolos confeccionados foram colocados em germinador do tipo Mangelsdorf, a temperatura constante de $25 \pm 2^\circ\text{C}$.

Na avaliação do comprimento das plântulas, foram utilizadas 20 sementes para cada tratamento, colocadas para germinar nas mesmas condições do teste de germinação. As sementes foram distribuídas no sentido longitudinal das folhas, com o hilo voltado para a extremidade inferior do substrato. Os rolos confeccionados foram colocados em pé, no germinador, à temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$. Com o auxílio de régua milimetrada foram obtidas as medidas do comprimento da parte aérea (cm) e do comprimento da raiz primária (cm) das plântulas normais (Nakagawa, 1999).

Enfim, após a avaliação de comprimento, as plântulas normais foram colocadas em sacos de papel devidamente identificadas e secas, em estufa com circulação de ar forçada, ajustada a $80 \pm 2^\circ\text{C}$, por período de 24 h e, então, realizada a pesagem em balança analítica (0,0001 g) para determinação do peso da biomassa seca das plântulas (g plântula^{-1}) (Nakagawa, 1999).

No experimento I as dosagens utilizadas foram: 2,5 mL kilo de semente⁻¹ como meia dose e, 5 mL kilo de semente⁻¹ como dose cheia. Já, no experimento II as doses foram: 4 mL kilo de semente⁻¹ como meia dose e, 8 mL kilo de semente⁻¹ como dose cheia. Para aqueles tratamentos que tiveram um volume de calda menor que 8 mL kilo de semente⁻¹, foi adicionado água para complementação deste volume de calda e então realizado o tratamento.

Os tratamentos foram realizados com auxílio de pipetas e sacos plásticos com capacidade de 1 kg, que foram inflados com ar e agitados por 1 minuto para homogeneização. Cada tratamento foi conduzido com amostras de 120 g de semente do cultivo Monsoy - 5917.

4.2.2 Pulverização foliar

As áreas onde foram conduzidos os testes a campo de pulverização foliar, o experimento III e IV, apresentam altitude de aproximadamente 330 m, tendo o solo classificado como Latossolo Vermelho eutroférico típico (EMBRAPA, 2006).

Apesar de não ter sido realizado análise química e física do solo antes da instalação dos experimentos, obteve-se com os proprietários dos imóveis rurais a

última análise de solo que executaram, sendo em 01/03/2014 para o experimento III e 02/09/2014 para o experimento IV.

A análise de solo do experimento III apresentou os seguintes resultados: pH (CaCl_2) = 5,00; Al = 0,02 cmol dm^{-3} ; H+Al = 5,76 cmol dm^{-3} ; C = 16,53 g dm^{-3} ; P (Mehlich) = 20,77 mg dm^{-3} ; K = 0,34 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$; Ca = 5,64 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$; Mg = 1,70 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$; CTC = 13,44 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$ e V = 57,14%.

Já a análise de solo do experimento IV apresentou os seguintes resultados: pH (CaCl_2) = 4,9; Al = 0,0 cmol dm^{-3} ; H+Al = 5,76 cmol dm^{-3} ; C = 22,65 g dm^{-3} ; P (Mehlich) = 33,36 mg dm^{-3} ; K = 0,90 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$; Ca = 5,73 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$; Mg = 1,68 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$; S = 7,04 mg dm^{-3} ; CTC = 14,07 $\text{cmol}_c \text{dm}^{-3}$ e V = 59,06%.

Todavia, vale ressaltar que em ambas as áreas são cultivadas, principalmente, soja e milho a mais de 20 anos (informação verbal dos proprietários).

De acordo com a classificação de Koppen, o tipo climático predominante nas áreas desses experimentos é a Cfa – subtropical úmido mesotérmico. Caracterizado pela predominância de verões quentes, com tendência a concentração de chuvas neste período e, baixa frequência de geadas severas. (IAPAR, 1987).

Os dados de amplitude térmica e precipitação pluvial durante o período de condução dos experimentos em Palotina/PR, foram registrados diariamente pelo IAPAR de Palotina. Com estas informações, fornecidas pelo SIMEPAR, foi elaborado a Figura 10, que se refere aos dois experimentos conduzidos a campo.

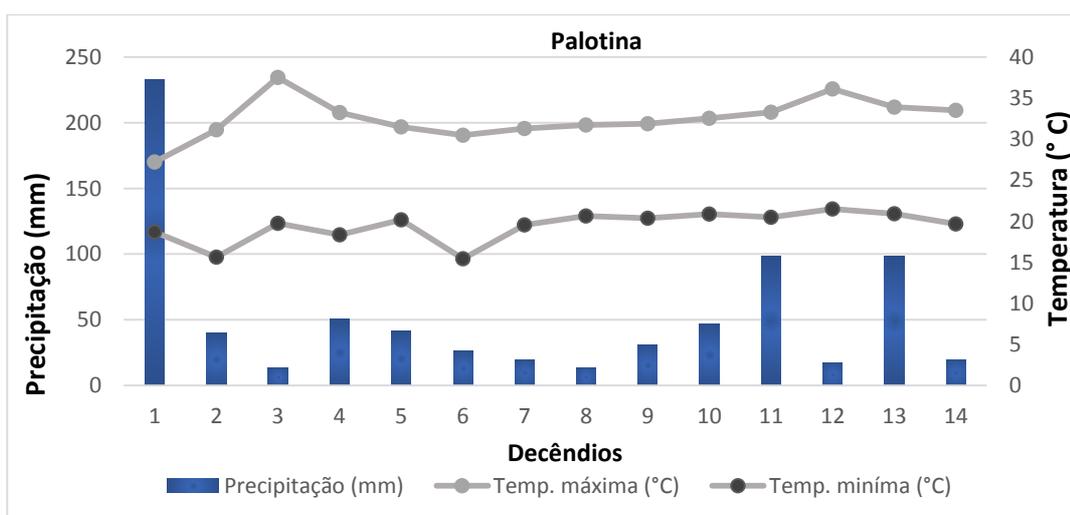


Figura 10 – Representação da precipitação e temperaturas (mín. e máx.) para o período referente ao ciclo da cultura de soja, no Município de Palotina, na safra 2014/15.

Fonte: SIMEPAR (2015).

O experimento III foi conduzido em uma propriedade rural situada nas proximidades da rodovia PR 364, km 22, com localização exata nos graus de latitudes e longitude, 24°22'22.2"S 53°41'35.8"W, respectivamente. A data de semeadura e colheita deste experimento foram: safra 2014/15, 05/10/2014 e 06/02/2015, respectivamente. O cultivar utilizado trata-se do SYN 1059 RR, com adubação no sulco de plantio de 300 kg hectare⁻¹ de 02-20-18. As sementes foram tratadas com Standak Top (5 mL kg semente⁻¹). Durante o desenvolvimento da cultura, o manejo fitossanitário foi conduzido pelos administradores da fazenda.

Já o experimento IV foi realizado na fazenda Santa Rosa situada próxima também à rodovia PR 364x, km 30, com localização exata nos graus de latitudes e longitude, 24°26'07.2"S 53°42'29.8"W respectivamente. A data de semeadura e colheita foram: safra 2014/15, 23/09/2014 e 05/02/2015, respectivamente; O cultivar utilizado trata-se do BMX Potência RR, com adubação no sulco de plantio de 250 kg hectare⁻¹ de 02-20-18. As sementes foram tratadas com Standak Top (5 mL kg semente⁻¹). Durante o desenvolvimento da cultura, o manejo fitossanitário foi conduzido pelos administradores da fazenda.

As parcelas empregadas em ambos experimentos foram constituídas de seis linhas de cinco metros de comprimento, com espaçamento entre linhas de 0,45 m. A área considerada útil em cada parcela possui 5,4 m², sendo as quatro fileiras centrais, descartando 1 metro para cada extremidade das fileiras.

Todas aplicações foliares dos tratamentos foram realizadas com pulverizador costal propelido a CO₂ à pressão constante de 2 BAR e vazão de 0,65 litro minuto⁻¹, equipado com barra contendo 6 ponta do tipo leque. Em velocidade de 1 metro segundo⁻¹ e com uma altura de aplicação de 50 centímetros do alvo, podendo atingir uma faixa aplicada de 50 centímetros de largura, propiciando um volume de calda de 200 litros ha⁻¹.

Em relação ao manejo das aplicações foliares dos tratamentos, foram conduzidas duas aplicações, sendo a primeira entre os estádios V5 e V6 e, a segunda em R3. Para os dois experimentos a meia dose foi considerada 250 mL hectare⁻¹ e, a dose cheia 500 mL hectare⁻¹.

As condições ambientais e datas das aplicações dos tratamentos, foram:

No experimento III, a primeira aplicação foi realizada dia 31/10/2014 (umidade relativa (UR) = 48%; velocidade do vento (vv) = 3 km h⁻¹; temperatura (T) = 25°C) e,

a segunda aplicação foi conduzida dia 26/11/2014 (umidade relativa (UR) = 63%; velocidade do vento (vv) = 4 km h⁻¹; temperatura (T) = 27°C).

No experimento IV, a primeira aplicação foi realizada dia 28/10/2014 (umidade relativa (UR) = 78%; velocidade do vento (vv) = 4 km h⁻¹; temperatura (T) = 24°C) e, a segunda aplicação foi conduzida dia 29/11/2014 (umidade relativa (UR) = 63%; velocidade do vento (vv) = 4 km h⁻¹; temperatura (T) = 28°C).

Por fim, foram avaliadas nos dois experimentos a produtividade, em kg hectare⁻¹ e, o peso de 1.000 (mil) grãos (Regras para Análise de Semente, 2009).

4.2.3 Delineamento e estatística

O delineamento experimental para estes experimentos foi em blocos casualizados, com quatro repetições. O objetivo do uso deste delineamento é eliminar a variação residual e variações de natureza de heterogeneidade do material experimental, isto é realizado subdividindo o material ou a área experimental em frações mais uniformes e aplicando em cada uma delas todos os tratamentos, que são conhecidas por controle local ou por blocos. Em todos os blocos os tratamentos são aleatorizados, onde cada bloco corresponde a uma repetição dos tratamentos (FERREIRA, 2000).

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (Teste F) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância, no programa computacional Sisvar (UFLA, 2015).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 HIDRÓLISE ÁCIDA E ANÁLISE DE CARBONO ORGÂNICO

O efeito da concentração da solução ácida, da temperatura e do tempo de reação foram investigados na hidrólise da biomassa sólida de *Kappaphycus alvarezii*, em uma concentração do substrato de 120 g L⁻¹ e, de acordo com a análise de regressão linear observou-se que os três fatores influenciaram significativamente na obtenção de carbono orgânico total (Tabela 4).

Tabela 4. Análise de regressão linear, tabela anova e desvio padrão dos resíduos para os ensaios de hidrólise

Fatores	GL	SQ	QM	Estat. F	Pr>F
Conc. Sol. ácida	1	12,075625	12,075625	16,69922213	0,00151
Temperatura	1	101,505625	101,505625	140,3707865	0,00056
Tempo	1	3,705625	3,705625	5,12445981	0,04292
Resíduos	12	8,6775	0,723125		
Desvio Padrão dos Resíduos	0,850367568				
R ²	0,931111475		R ² Ajustado	0,913889344	

O maior valor médio de carbono orgânico obtido foi de 12,6% média, observado no ensaio 3 (denominado hidrolisado 1) com a concentração de solução de ácido sulfúrico, temperatura e tempo de reação, 0,2 M, 127°C e 15 minutos, respectivamente. E, o segundo maior conteúdo de carbono orgânico, 11,6% em média foi alcançado no ensaio 7 (denominado hidrolisado 2) com a concentração de solução de ácido sulfúrico, temperatura e tempo de reação, 0,2 M, 127°C e 30 minutos, respectivamente. Estes valores podem ser observados na Tabela 5.

Tabela 5. Médias dos conteúdos de carbono orgânico total dos ensaios de hidrólise ácida da biomassa sólida de *Kappaphycus alvarezii*

Ensaio	Solução ácida (M)	Temperatura (°C)	Tempo (m)	Carb. Org. (%)
1	0,2	100	15	6,95
2	0,4	100	15	5,8
3	0,2	127	15	12,6
4	0,4	127	15	10,25
5	0,2	100	30	6
6	0,4	100	30	4,85
7	0,2	127	30	11,6
8	0,4	127	30	9,3

A variável que mais influenciou foi a temperatura. Os ensaios realizados com o maior nível de temperatura (127 °C), apresentaram os maiores resultados no conteúdo de carbono orgânico. As outras duas variáveis demonstraram efeito contrário em relação a média, onde nos menores nível os resultados de carbono orgânico foram maiores. O efeito da variável concentração da solução ácida teve mais influencia que a tempo de reação, todavia ambos não foram tão expressivo quanto o fator temperatura.

Possivelmente os resultados obtidos no trabalho coincidem com o relato de Meinita et al., (2012), onde em hidrólise da biomassa de *Kappaphycus alvarezii* o fator temperatura em gradiente ascendente, influenciou diretamente proporcional a obtenção de galactose e de açúcares totais, que em ponto máximo foram superior a 6,0 g L⁻¹ e 13,5 g L⁻¹, respectivamente. Ainda para Meinita, o efeito da concentração da solução de ácido sulfúrico apresentou-se superior na avaliação da quantidade de galactose e açúcares totais, quando utilizados em menores valores. E, a variável tempo de reação não demonstrou significativa diferença na identificação destes compostos, entre os níveis testados nos experimentos. Vale ressaltar que Meinita et al., (2012) alcançaram estes resultados utilizando 30 g L⁻¹ de substrato (biomassa sólida da alga).

Outro relato científico que também pode estar a favor dos resultados obtidos no trabalho é o de Scheliga (2013), que verificou uma maior influência do parâmetro temperatura na eficiência da hidrólise e na obtenção de galactose, em comparação com as variáveis tempo de reação, concentração de ácido sulfúrico e concentração do substrato (carragenana bruta). Os maiores efeitos foram observados nos ensaios realizados nas maiores temperaturas e, o ensaio ótimo foi observado em uma temperatura de 120 °C, tempo de 60 minuto, concentração de ácido sulfúrico de 0,8%, carragenana bruta em 100 g L⁻¹, que proporcionaram uma obtenção de 22,92 g L⁻¹ de galactose.

Apesar das temperaturas mais elevadas serem favoráveis, o planejamento deste estudo tem como nível máximo o valor de 127°C, devido aos relatos dos trabalhos prévios de Meinita, Hong e Jeong (2012), Meinita et al., (2012) e Tan, Lam e Lee, (2013), que realizaram a hidrólise ácida de carragenana de *Kappaphycus alvarezii* a 130°C por 15 minutos. Todavia devido limite físico da autoclave utilizada, a temperatura máxima dos experimentos foi de 127,5 °C.

Ainda que não tenha sido realizado a identificação das quantidades de oligossacarídeos e/ou monossacarídeos das biomassas hidrolisadas do presente trabalho, ao identificar o conteúdo de carbono orgânico total, sugere-se que um maior conteúdo de açúcares solúveis, como a galactose, estejam presentes. Isto pode acontecer devido a facilidade da coleta destes compostos, considerando que a fração solúvel esteja em maior proporção em relação a fração sólida não solúvel. Assim, os resultados obtidos apresentam relativa similaridade com os relatos de hidrólise ácida da biomassa de *K. alvarezii* disponíveis na literatura.

No contexto da presente pesquisa, existe a interpretação da tendência ao atendimento das exigências técnicas do MAPA para reconhecimento destes compostos como fertilizante orgânico, principalmente no que diz respeito ao conteúdo de carbono orgânico. Com base nos resultados obtidos, utilizando uma biomassa hidrolisada com aproximadamente 12% de carbono orgânico, em mistura com o extrato líquido com cerca de 1% de carbono orgânico, com 1/4 de biomassa hidrolisada (25% da mistura), pode-se obter um composto com 4% de carbono orgânico. E, com 3/4 da biomassa hidrolisada (75% da mistura) pode-se obter um composto com mais de 9% de carbono orgânico, o que pode supostamente poderia atender a legislação neste requisito.

Para além disso, outra questão em análise no trabalho e, que também auxiliou na determinação das porcentagens de dulçificantes da biomassa hidrolisada com o extrato líquido, é a possível atividade biológica em sistemas vegetais de compostos gerados neste processo, que podem apresentar-se em efeitos positivos e/ou negativos.

5.2 TRATAMENTO DE SEMENTE

Os tratamentos realizados não influenciaram significativamente ($P < 0,05$) a percentagem de germinação no experimento I e II (Tabela 6 e 7). Contudo, vale ressaltar que existem vários fatores que podem afetar a absorção de bioativos pelas sementes. Tratando-se de hormônios e reguladores vegetais, os resultados dependem fundamentalmente da concentração dos fitohormônios, a relação entre esses compostos, a superfície de contato da semente, a quantidade de água e a concentração da solução, além de fatores abióticos que podem influenciar nos efeitos

e eventos fisiológicos nas sementes (BUCHANAN et al., 2001; MOTERLE et al., 2011).

Tabela 6. Análise de variância para a variável percentagem de germinação, sob os tratamentos do experimento I

FV	GL	SQ	QM	F	Pr>Fe
Blocos	3	769.5833	256.5277		0.0397
Trat	11	266.2500	24.2045	0.293	0.9827
Erro	33	2725.4166	82.5838		
Total	47	3761.25			
Média	76.625				
CV (%)	11.86				

Tabela 7. Análise de variância para a variável percentagem de germinação, sob os tratamentos do experimento II

FV	GL	SQ	QM	F	Pr>Fe
Blocos	3	536.9166	178.9722		0.0400
Trat	11	204.9166	18.6287	0.323	0.9751
Erro	33	1906.0833	57.7601		
Total	47	2647.9166			
Média	76.2916				
CV (%)	9.96				

Os resultados do comprimento da parte aérea das plântulas no experimento I, de acordo com análise de variância, apresenta efeito positivo em algum dos tratamentos realizados (Tabela 8).

Tabela 8. Análise de variância para a variável comprimento da parte aérea do experimento I

FV	GL	SQ	QM	F	Pr>Fe
Blocos	3	4.5585	1.5195		0.029
Trat	11	18.3943	1.6722	6.295	0.000
Erro	33	8.7659	0.2656		
Total	47	31.7188			
Média	9.4864				
CV (%)	5.43				

Após a análise de comparação das médias no teste de Tukey, em relação ao tratamento controle T0 observa-se que, com excessão dos tratamento T1, T2 e T3, todos os tratamentos apresentaram diferença estatística, onde o tratamento T10

apresentou maior diferença numérica. Contudo, quando os tratamentos derivados de *Kappaphycus alvarezii* são comparados entre si, com exceção do tratamento T3 que difere do tratamento T10, todos os tratamentos não apresentam diferença estatística. Este resultado pode sugerir que as menores doses de extrato líquido desempenham melhores funções para esta variável, já que o tratamento T3 que possui a maior dose de extrato líquido apresentou o menor efeito e, o tratamento T10 que possui a menor dosagem real de extrato líquido, apresentou o maior efeito observado no experimento. A testemunha positiva, o tratamento T1 (Stimulate® - 5 mL kg⁻¹), não apresentou diferença estatística em relação a testemunha negativa e nenhum outro tratamento. Conforme pode-se observar na Figura 11, abaixo.

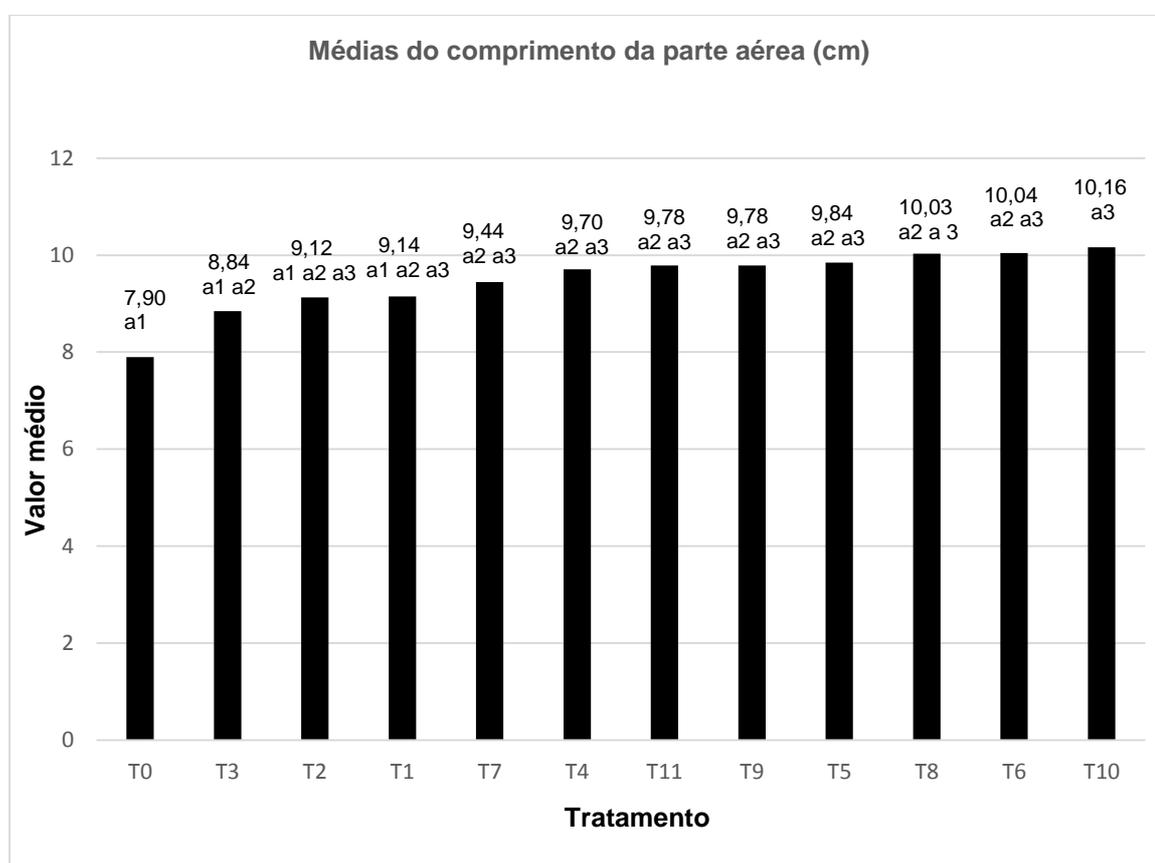


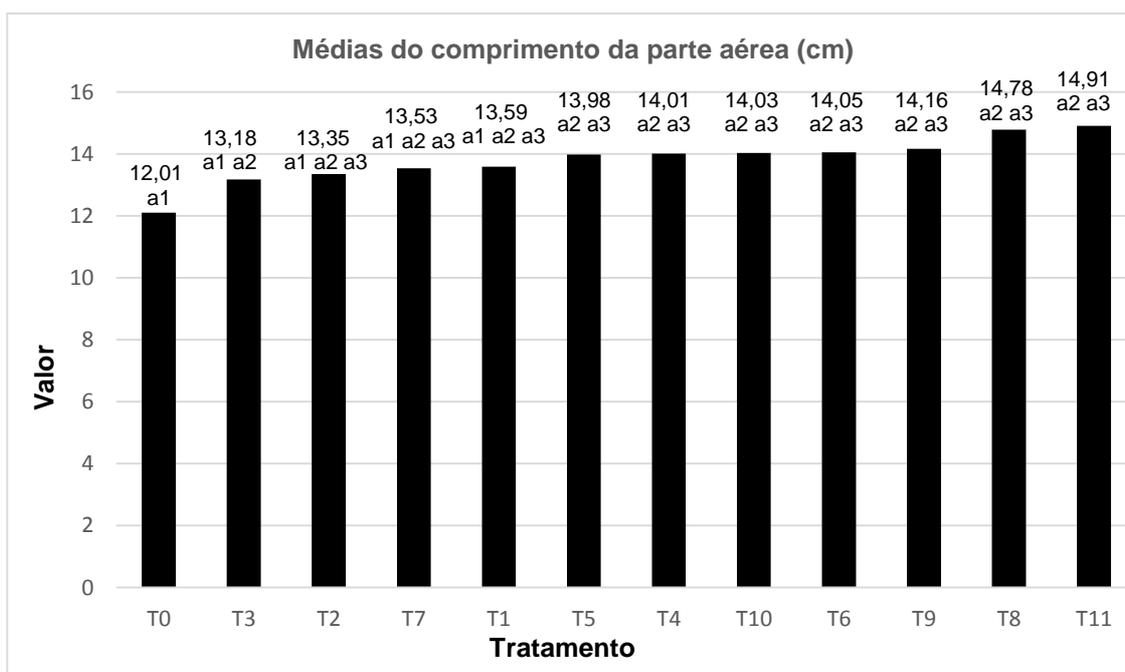
Figura 11 - Valores médios do comprimento de parte aérea (cm) de plântulas de soja, sob aplicações dos tratamentos do experimento I.

No experimento II os resultados dos comprimentos das partes aéreas das plântulas, de acordo com análise de variância, também demonstrou efeito positivo em algum dos tratamentos realizados, como pode ser observado na Tabela 9.

Tabela 9. Análise de variância para a variável comprimento da parte aérea do experimento II

FV	GL	SQ	QM	F	Pr>Fe
Blocos	3	1.7456	0.5818		0.2539
Trat	11	24.4314	2.2210	5.427	0.0001
Erro	33	13.5066	0.4092		
Total	47	39.6837			
Média	13.8120				
CV (%)	4.63				

Em análise de comparação entre as médias, no teste de tukey, o tratamento controle T0 apresenta-se diferente estatisticamente de todos os outros tratamentos, com exceção T1, T2, T3 e T7. Porém, quando os tratamentos derivados de *Kappaphycus alvarezii* são comparados entre si, nenhum dos tratamentos apresentam diferença estatística. Este resultado também pode sugerir que as menores doses de extrato líquido desempenham melhores incrementos para esta variável, já que o tratamento T3 que possui a maior dose de extrato líquido apresentou o menor efeito numérico quando comparados com outros tratamentos com menores doses de extrato e, não difere estatisticamente da testemunha negativa. A testemunha positiva, o tratamento T1 (Stimulate® - 8 mL kg⁻¹), não apresentou diferença estatística em relação a testemunha negativa e nenhum outro tratamento. Conforme pode-se observar na Figura 12, abaixo.

**Figura 12** - Valores médios do comprimento de parte aérea (cm) de plântulas de soja, sob aplicações dos tratamentos do experimento II.

No que se refere aos resultados das avaliações do comprimento da raiz primária no experimento I, de acordo com análise de variância, algum dos tratamentos realizados apresentou diferença estatística, conforme detalhado na Tabela 10.

Tabela 10. Análise de variância para a variável comprimento de raiz primária do experimento I

FV	GL	SQ	QM	F	Pr>Fe
Blocos	3	1.6853	0.5617		0.1522
Trat	11	14.9016	1.3546	4.532	0.0004
Erro	33	9.8637	0.2989		
Total	47	26.4506			
Média	17.7746				
CV (%)	3.08				

Após a análise de comparação das médias no teste de Tukey, com exceção dos tratamentos T6 e T10, todos os outros tratamentos não diferiram estatisticamente do tratamento testemunha negativa T0. Este resultado sugere que as menores doses de extrato líquido apresentam os melhores resultados para esta variável, já que o tratamento T6 e T10 são os dois tratamentos com menor dose real do extrato. O tratamento T1 (Stimulate® - 5 mL kg⁻¹) não apresentou diferença estatística com nenhum dos outros tratamentos. Conforme pode ser observado na Figura 13.

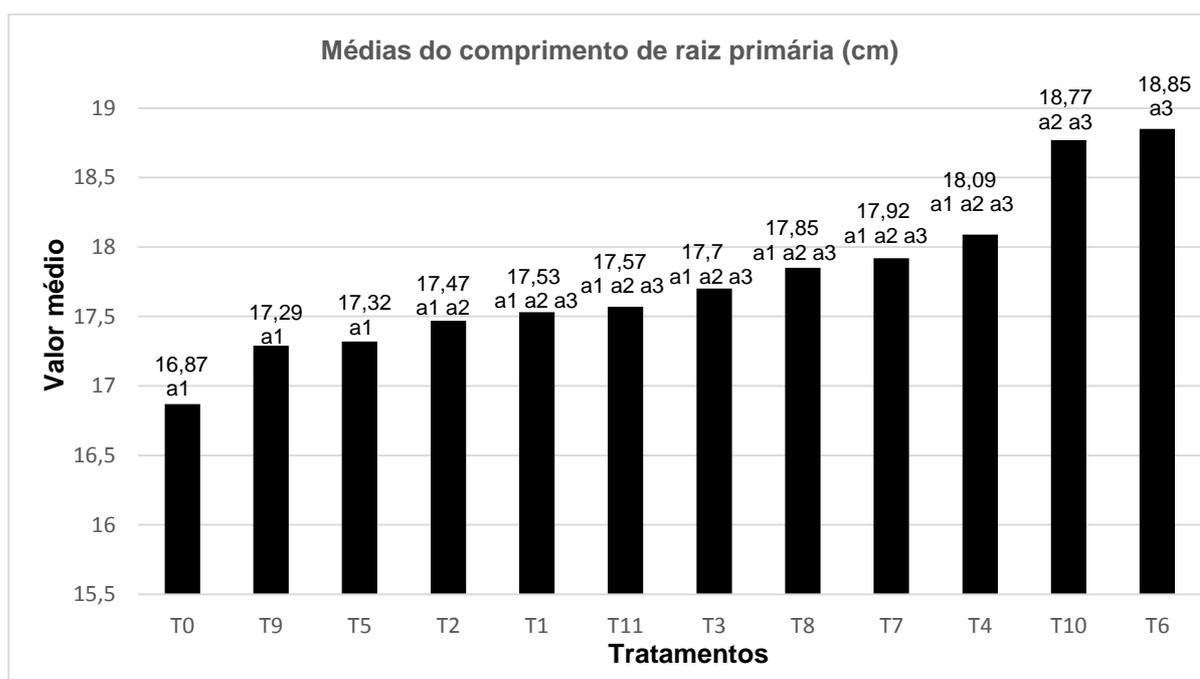


Figura 13 - Valores médios do comprimento da raiz primária (cm) de plântulas de soja, sob aplicações dos tratamentos do experimento I.

No experimento II, tratando-se da variável comprimento de raiz primária, de acordo com análise de variância, os tratamentos apresentam-se diferentes estatisticamente, conforme ilustrado na Tabela 11.

Tabela 11. Análise de variância para a variável comprimento de raiz primária do experimento II

FV	GL	SQ	QM	F	Pr>Fe
Blocos	3	7.01648	2.338829		0.1413
Trat	11	47.4212	4.311019	3.588	0.0021
Erro	33	39.64779	1.201448		
Total	47	94.0854			
Média	20.1793				
CV (%)	5.43				

Em análise de comparação das médias no teste de Tukey, com exceção dos tratamentos T1 e T2, todos os outros tratamentos não diferiram estatisticamente do tratamento testemunha negativa T0. Entre os tratamentos derivados de alga, os únicos tratamentos que diferem estatisticamente entre estes é o T3 que é o tratamento com maior dose de extrato líquido puro e, o T2 que é o tratamento com a menor dose de extrato líquido puro. Este resultado sugere que as menores doses de extrato líquido apresentam os melhores resultados para esta variável, já que o tratamento T2 apresenta-se numericamente maior que os outros tratamentos. O tratamento T1 (Stimulate® - 8 mL kg⁻¹) apresentou diferença estatística apenas em relação ao tratamento testemunha negativa T0. Conforme pode ser observado na Figura 13.

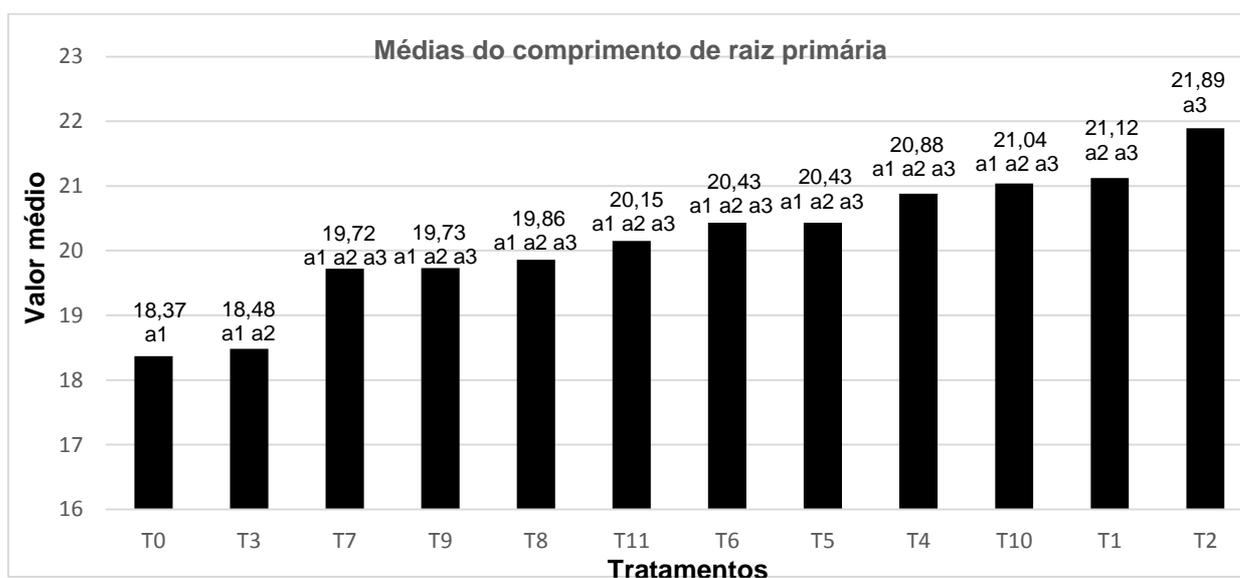


Figura 14 - Valores médios do comprimento da raiz primária (cm) de plântulas de soja, sob aplicações dos tratamentos do experimento II.

De maneira geral, não foi possível mensurar a influência dos tratamentos derivados misutra do extrato líquido com a biomassa hidrolisada nos parametros de crescimentos avalidados. Isto deve-se, principalmente, pela baixa variação dos resultados obtidos. Porém, foi possível observar que, em geral, os melhores resultados obtidos nestas variáveis, foram com os tratamentos que possuíam as menores doses de extrato líquido.

Considerando o conteúdo de giberelina e citocinina do extrato líquido, estes resultados vêm de encontro com o relato de Moterle et al., (2011) que verificaram o aumento do comprimento da parte aérea de plântulas de soja tratadas com Stimulate, nas doses de 291,1 e 355,2 mL/ kg de semente. Outro relato científico favorável é de Santos (2009), onde este mesmo biorregulador vegetal foi capaz de promover o crescimento inicial de plantas de soja, aumentando a altura média. E também de Wang et al., (2008), que observaram o retardamento da emergência e no desenvolvimento inicial de plântulas de soja quando tratadas em doses elevadas de giberelina e citocinina, o que pode estar relacionado com os melhores resultados em menores doses e conteúdo do extrato líquido.

Já de acordo com Leite, Roselem e Rodrigues (2003), a emergência das plantas de soja e o comprimento das raízes foram reduzidos com o tratamento de sementes com giberelina e citocinina, contudo com o decorrer do experimento a diferença no crescimento radicular desapareceu. E, Klahold (2005) relata que o bioregulador a base de citocinina, auxina e giberelina via semente não promoveu alterações nas variáveis de crescimento iniciais na cultura de soja.

Tratando-se do conteúdo de auxina do extrato líquido, Taiz e Zeiger (2004) citaram que esta classe de hormônio pode aumentar na taxa de crescimento celular. Isso acontece pela biossíntese e ação da auxina em enzimas sobre a pressão de turgor e afrouxamento bioquímico da parede celular, o que pode gerar uma maior expansão celular. Porém, eventualmente ao chegar o máximo comprimento de expansão celular possível, os biorreguladores contendo auxina podem provocar efeito tóxico, devido modulação positiva na biossíntese de etileno pela sua alta concentração na planta (MOTERLE et al., 2011).

Segundo Vieira (2005), existe relativamente pouca evidência de que tais substâncias reguladoras do crescimento funcionem como uma chave regulatória na emergência da raiz primária. Castro e colaboradores (2008) relatam que o tratamento

de sementes com bioestimulante não proporciona maior crescimento das raízes das plantas de soja.

No entanto, Mortele (2011) relatou que o bioregulador Stimulate® pode ter influenciado positivamente nas reações metabólicas e, de certa forma, estimulou o crescimento das radículas, principalmente nas doses mais elevadas, o que vem de encontro com o resultado do experimento II, para esta variável. De acordo com Coll e colaboradores (1992), a radícula geralmente, é o primeiro ponto de crescimento formado pela semente, além de ser sítio de síntese e de liberação de hormônios vegetais, como a auxina, à qual é muito sensível em baixas concentrações, e, segundo Vieira (2005), o crescimento e o desenvolvimento mais rápido do que o do hipocótilo, por isso pode apresentar mais facilidade em interagir com esta classe de produtos.

Uma possível resposta para a contradição desses resultados é a diferença na sensibilidade de cada cultivar, onde a auxina presente no biorregulador utilizado pode ter influenciado na formação das raízes secundárias, em detrimento do crescimento da raiz primária. (MORTELE et al., 2011). Desta forma, Hartmann e Kester (1983) também afirmaram que o uso de reguladores de crescimento para induzir o enraizamento difere em sua ação de acordo com a espécie e com o cultivar, enquanto algumas espécies enraízam muito melhor com a sua aplicação, outras respondem fracamente ou ainda adversamente.

Por fim, em relação a variável produção de biomassa seca não foi verificado diferença estatística em nenhum dos dois experimentos, conforme pode-se observar na Tabela 12 e 13, respectivamente.

Tabela 12. Análise de variância para a variável biomassa seca (g plântula⁻¹), sob os tratamentos do experimento I

FV	GL	SQ	QM	F	Pr>Fe
Blocos	3	0.000167	0.000056		0.1372
Trat	11	0.000319	0.000029	1.028	0.4449
Erro	33	0.000932	0.000028		
Total	47	0.001418			
Média	0.1489				
CV (%)	3.57				

Tabela 13. Análise de variância para a variável biomassa seca (g plântula⁻¹), sob os tratamentos do experimento II

FV	GL	SQ	QM	F	Pr>Fe
Blocos	3	0.000082	0.000027		0.2466
Trat	11	0.000201	0.000018	0.964	0.4959
Erro	33	0.000625	0.000019		
Total	47	0.000908			
Média	0.144577				
CV (%)	3.01				

Leite, Roselem e Rodrigues (2003), observaram que a adição via semente de giberelinas e citocininas exógenas em diferentes cultivares de soja, não contribuiu para o aumento da matéria seca da raiz e que a associação de giberelina e citocinina tendeu a diminuir os efeitos da giberelina. Da mesma forma, Valio e Schwabe (1978) observaram interação não harmoniosa entre a ácido giberélico e cinetina em tratamento de semente de soja para incrementação da massa seca.

Contudo, resultados obtidos por Santos (2009) relatam o fato contrário, onde o biorregulador aplicado diretamente na semente de soja proporciona incrementos significativos na massa seca de raiz das plântulas de soja. Para além disso resultados obtidos por Vieira e Castro (2001) demonstram que a dosagem de 4,1mL/ kg semente do biorregulador Stimulate em soja incrementou os valores de massa da matéria seca de plântulas.

O fato dos tratamentos com extrato de alga marinhas e do tratamento testemunha positiva (T1) não afetarem, neste caso, a percentagem de germinação e a biomassa seca, mas afetarem as variáveis de crescimento por exemplo, pode ser explicado pela sensibilidade dos tecidos e também pelo efeito cumulativo dos fitormônios. Também vale destacar que, em comparação com a germinação no solo, a planta aumenta sua superfície de contato e pode absorver, com maior eficiência, as substâncias diluídas na solução do solo (MORTELE et al., 2011).

Outra questão associada a desigualdade dos resultados em relação a outros trabalho, principalmente em comparação com o bioregulador Stimulate®, é a diferença na origem, no conteúdo e nas proporções de hormônios vegetais. Apesar de possuírem basicamente as mesmas classes de hormônios vegetais (citocininas, giberelinas e auxinas), o bioregulador utilizado como testemunha positiva nos ensaios

é de origem sintética e, o extrato de alga de origem orgânica. Para além disso, as quantidades e proporções entre esses compostos também são diferentes.

5.3 PULVERIZAÇÃO FOLIAR

Os resultados da variável peso de mil grãos (g) obtidos nos experimentos de pulverização foliar a campo (III e IV), de acordo com análise de variância, não apresentaram diferença estatística ($P < 0,05$), conforme detalhado nas Tabelas 14 e 15.

Tabela 14. Análise de variância para a variável peso de mil grãos (g), sob os tratamentos do experimento III

FV	GL	SQ	QM	F	Pr>Fe
Blocos	3	38.703465	12.901155		0.0119
Trat	11	12.510675	1.137334	0.376	0.9564
Erro	33	99.782406	3.023709		
Total	47	150.996546			
Média	150.6712				
CV (%)	1.15				

Tabela 15. Análise de variância para a variável peso de mil grãos (g), sob os tratamentos do experimento IV

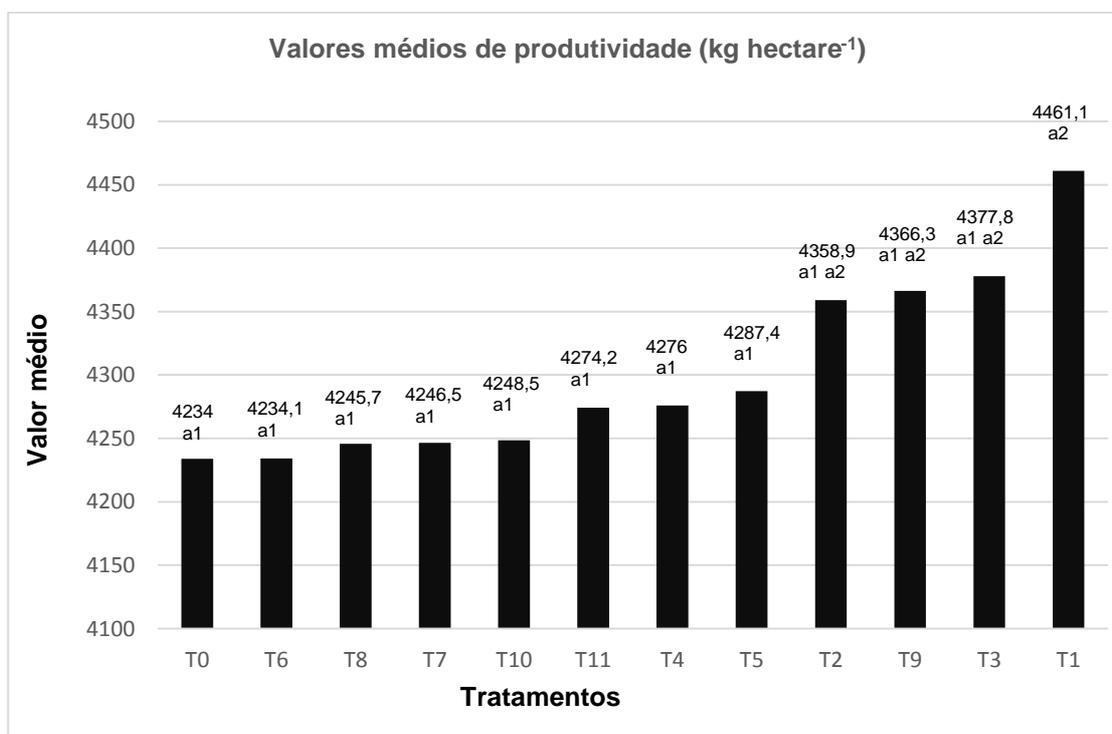
FV	GL	SQ	QM	F	Pr>Fe
Blocos	3	67.366386	22.455462		0.1386
Trat	11	58.114122	5.283102	0.462	0.9133
Erro	33	377.317940	11.433877		
Total	47	502.798448			
Média	139.2199				
CV (%)	2.43				

Em análise da variável produtividade (kg hectare^{-1}) no experimento III, alguns dos tratamentos realizados apresentaram diferença estatística ($P < 0,05$), como observado na Tabela 16.

Tabela 16. Análise de variância para a variável produtividade (kg hectare⁻¹), sob os tratamentos do experimento III

FV	GL	SQ	QM	F	Pr>Fe
Blocos	3	18269.041506	6089.680502		0.1661
Trat	11	233671.869323	21242.897211	6.284	0.0000
Erro	33	111554.217919	3380.430846		
Total	47	363495.128748			
Média	4300.9227083				
CV (%)	1.35				

Após a análise de comparação das médias no teste de Tukey, verificou-se que apenas o tratamento T1, testemunha positiva (Stimulate[®] - 500 mL hectare⁻¹) apresentou diferença estatística quando comparado com o tratamento T0, testemunha negativa. Porém, os tratamentos T2, T3 e T9 não apresentaram diferença estatística quando comparado com o tratamento T1. Este resultado pode sugerir que os tratamentos com maiores, possuem maior potencial para incremento de produtividade, no contexto deste experimento, já que T3 é o tratamento com maior dose de extrato líquido e o T9 dentre os tratamentos com mistura da biomassa hidrolisada, é um dos tratamentos com maior dose real de extrato líquido. Conforme pode-se observar na figura 15.

**Figura 15** - Valores médios de produtividade (kg/hectare), sob aplicações dos tratamentos do experimento III.

No experimento IV, de acordo com a análise de variância, alguns dos tratamentos realizados apresentam efeito na variável produtividade (kg hectare⁻¹), conforme apresentado na Tabela 17.

Tabela 17. Análise de variância para a variável produtividade (kg hectare⁻¹), sob os tratamentos do experimento IV

FV	GL	SQ	QM	F	Pr>Fe
Blocos	3	4605.4792	1535.1597		0.6733
Trat	11	178378.9434	16216.2675	5.464	0.0001
Erro	33	97946.03	2968.0615		
Total	47	280930.4526			
Média	3760.2827				
CV (%)	1.45				

Após a análise de comparação das médias no teste de Tukey, assim como no experimento anterior, verificou-se que apenas o tratamento T1, testemunha positiva (Stimulate[®] - 500 mL hectare⁻¹) apresentou diferença estatística quando comparado com o tratamento T0, testemunha negativa. Porém, os tratamentos T2, T3, T5 e T9 não apresentaram diferença estatística quando comparado com o tratamento T1. Este resultado também pode sugerir que os tratamentos com maiores, possuem maior potencial para incremento de produtividade, no contexto deste experimento, já que T3 é o tratamento com maior dose de extrato líquido e os tratamentos T5 e T9 são os tratamentos com mistura da biomassa hidrolisada com maior dose real de extrato líquido.

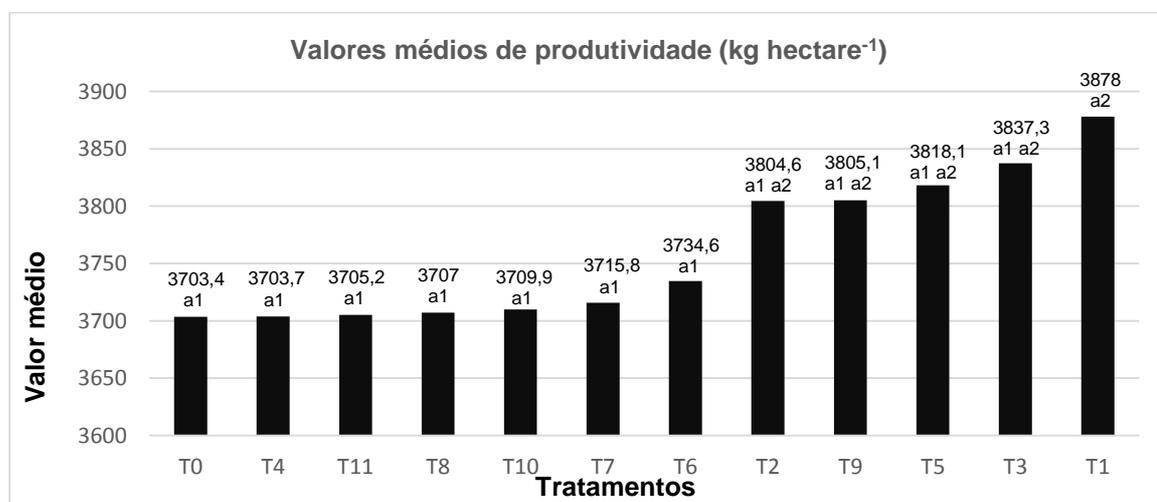


Figura 16 - Valores médios de produtividade (kg hectare⁻¹), sob aplicações dos tratamentos do experimento IV.

Em relação aos tratamentos derivados da misutra do extrato líquido com a biomassa hidrolisada, não foi possível mensurar a influência desses nos parâmetros de produção avaliados nos experimentos III e IV. Todavia, foi possível observar que, em geral, os melhores resultados obtidos nestas variáveis, foram com os tratamentos que possuíam as maiores doses de extrato líquido.

Diante dos resultados previamente discutidos, existe relativa similaridade em relação ao relato de Rathore e colaboradores (2009), onde estudaram o efeito da pulverização do extrato líquido de *Kappaphycus alvarezii* na cultura de soja em teste a campo e, o maior resultado no rendimento de grãos foi alcançado com o tratamento que possuía o maior conteúdo desta biomassa, sendo 15 % (v/v).

Outro trabalho compatível com os resultados obtidos nestes experimentos de pulverização foliar, é o elaborado por Zodape et al., (2009) quando avaliaram o extrato líquido da alga na cultura de trigo e, observaram um incremento do rendimento de grãos para aquele tratamento, também, com maior conteúdo desta biomassa líquida.

Além desses relatos, ainda mais recentemente, Pramanick et al., (2014) obtiveram um aumento do crescimento, produtividade e absorção de nutrientes pelas culturas de arroz, batata e grama verde, em sequência, também com o uso do tratamento com maior conteúdo de extrato líquido avaliado no estudo (15% v/v).

Comparando os resultados de incremento de produtividade obtidos no presente trabalho, com os relatos na literatura do uso via aplicação foliar do Stimulate[®], pode-se encontrar relativa similaridade. Isto pode ser observado no trabalho de Bortolin et al., (2010), que avaliaram a eficiência deste bioregulador na cultura de soja via foliar em três estádios de desenvolvimento, sendo um estágio vegetativo (V5) e, dois reprodutivos (R1 e R5) e, verificaram um incremento no número de vagens por planta e produtividade de grãos numa dosagem de 250 mL hectare⁻¹ do produto. E, segundo Carvalho, Viecelli e Almeida (2013), em avaliação da produtividade e o desenvolvimento da cultura da soja, através da aplicação do regulador de crescimento vegetal Stimulate[®] via foliar, nos mesmos estádios de desenvolvimento do trabalho citado anteriormente, a dosagem de 1,0 L hectare⁻¹ resultou na maior massa de 1000 grãos e produtividade (kg hectare⁻¹).

6. CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos, conclui-se que o extrato de *Kappaphycus alvarezii* pode auxiliar no incremento de parâmetros de crescimento quando usado via tratamento de semente na cultura de soja, onde aparentemente menores doses apresentam melhor eficiência. Dentre os tratamentos realizados no experimento I, os melhores incrementos de comprimento de parte aérea e raiz primária podem ser atribuídos aos tratamentos T6 e T10 (2,5 mL mL kg de semente⁻¹), que possuem dose real do extrato líquido de 0,625 mL kg de semente⁻¹. E, no experimento II para os mesmos parâmetros de crescimento, também destaca-se as menores doses como mais efetivas, pois apesar da maioria dos tratamentos com alga não apresentaram diferença estatística quando comparados com a testemunha negativa, numericamente o tratamento que apresentou menor incremento foi o T3, com maior dose de extrato líquido, sendo de 8 mL kg de semente⁻¹.

Na tecnologia de aplicação via pulverização foliar, o extrato de *Kappaphycus alvarezii* pode auxiliar no incremento de parâmetros de produção na cultura de soja, onde aparentemente maiores doses apresentam melhor eficiência. De acordo com os resultados obtidos nos experimentos III e IV na avaliação de produtividade, apesar dos tratamentos com biomassa de alga não apresentarem diferença estatística quando comparados com a testemunha negativa, numericamente os melhores resultados foram obtidos com o tratamento T3, com maior dose de extrato líquido, sendo de 500 mL hectare⁻¹. E, além disso, este tratamento não apresentou diferença estatística quando comparado com a testemunha positiva, tratamento T1, que foi o melhor resultado obtido no incremento de produtividade em ambos experimentos.

De maneira geral, não foi possível verificar a influência real da biomassa hidrolisada em mistura com o extrato líquido de *Kappaphycus alvarezii*.

Por fim, o uso do extrato líquido de puro de *Kappaphycus alvarezii*, cultivada no litoral brasileiro, apresentou-se interessante para um possível incremento no comprimento de plântulas de soja em seu desenvolvimento inicial. Contudo, faz-se necessário mais estudos para determinação da melhor posicionamento agrícola a ser adotado.

Espera-se que os dados obtidos neste trabalho sirvam como suporte para futuras pesquisas que objetivem a hidrólise ácida da biomassa de *Kappaphycus*

alvarezii e o uso agrícola deste material e do extrato líquido. Sobretudo, também é esperado que os resultados colaborem para o possível uso desta macroalga na agricultura brasileira, tornando-a mais sustentável ambiental e economicamente.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARECES, A. J. et al. Cultivo comercial de carragenófitas del genero *Kappaphycus* Doty. **Manual de Metodos Ficológicos**. Universidad de Concepción, p. 529-549, Chile, 1995.

BICUDO, C. E. M. e MENEZES, M. Introdução: As algas do Brasil. In: FORZZA, RC. org., et al. INSTITUTO DE PESQUISAS JARDIM BOTÂNICO DO RIO DE JANEIRO. **Catálogo de plantas e fungos do Brasil**, 2010.

Disponível em: <http://books.scielo.org/id/z3529/pdf/forzza-9788560035083-06.pdf>.
Acessado em: 04/11/2014.

BIXLER, H.J. & PORSE, H. (2011). A decade of change in the seaweed hydrocolloids industry. *Journal of Applied Phycology* 23: 321-335.

BORTOLIN, D. C. **Aumento da produtividade de soja com a aplicação de bioestimulantes**. Bragantia, Campinas, v.69, n.2, p.339-347, 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/brag/v69n2/11.pdf>. Acessado em: 06/04/2014.

CABRITA, M.T., VALE, C., RAUTER, A. P. **Halogenated compounds from marine algae**. Mar. Drugs, 8 (2010), pp. 2301–231.

Disponível em: <http://www.mdpi.com/1660-3397/8/8/2301>. Acessado em: 25/08/2014.

CARVALHO, M. E. A. Efeito do extrato de *Ascophyllum nodosum* sobre o desenvolvimento e produção de cultivos. **Dissertação (Mestrado em Ciências) Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2013.**

CARVALHO, J. C.; VIECELLI, C. A.; e ALMEIDA, D. K. Produtividade e desenvolvimento da cultura da soja pelo uso de regulador vegetal. **Acta Iguazu**, Cascavel, v.2, n.1, p. 50-60, 2013.

CRAIGIE, J. S. Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture. **Journal of Applied Phycology**, v. 23, p. 371-393, 2011.

DAROCH, M., GENG, S. e WANG, G., Recent advances in liquid biofuel production from algal feedstocks, **Applied Energy**, Volume 102, Pg. 1371-1381, 2013.

DOTY, M. S. The production of Eucheuma. In: M.S. Doty, J.F. Caddy, and B. Santelices (eds.), Rome, **Case studies of seven commercial seaweed resources.FAO Fish.Tech.Pap**, v. 281, p. 49-122, 1987.

DUCATTI, D. R. B. Hidrólise ácida de galactanas para produção de oligossacarídeos e *c*-glicosídeos: semi síntese de *n*-alquil e *c*-dihidropiridina glicosídeos. **Tese (Doutorado em Bioquímica e Biologia molecular), Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná**, Curitiba, 2009.

DUCATTI, D. R. B. Oligossacarídeos obtidos por hidrólise redutiva parcial de polissacarídeos de algas vermelhas: estudo de ressonância magnética nuclear. **Dissertação (Mestrado em Ciências – área bioquímica), Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná**, Curitiba, 2005.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006.

ESWARAN, K.; GHOSH, P. K.; SIDDHANTA, A. K.; PATOLIA, J. S.; PERIYASAMY, C.; MEHTA, A. S.; MODY, K. H.; RAMAVAT, B. K.; PRASAD, K.; RAJYAGURU, R. M.; REDDY, S. K. C. R.; PANDYA, J. B.; TEWARI, A. **Intregated method for production of carrageenan and liquid fertilizer from fresh seaweeds**, 17 mai 2005.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Fischer and Aquaculture Departament. **The state of world fisheries and aquaculture 2012**. Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/016/i2727e/i2727e.pdf>. Acessado em 16/07/2014.

FELÍCIO, R.; OLIVEIRA, A. L. L.; e DEBONSI, H. M. Bioprospecção a partir dos oceanos: conectando a descoberta de novos fármacos aos produtos naturais marinhos. **Ciência e Cultura**, v. 64, n. 3, p. 39-42, 2012.

FERREIRA, Daniel Furtado. **Manual do sistema Sisvar para análises estatísticas**. Lavras: UFLA, 2000. 66p.

FOLMER F. et al. Photosynthetic marine organisms as a source of anticancer compounds. **Phytochem Rev** 9: 557-579, 2010.

FUJII, M. T. et al. Overview of the taxonomy and of the major secondary metabolites and their biological activities related to human health of the Laurencia complex (Ceramiales, Rhodophyta) from Brazil. **Rev Bras Farmacogn** 21: 268-282, 2011.

GÓES H. G. e REIS R. P. Uma comparação inicial da rede tubular contra métodos tie-tie de cultivo de *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Solieriaceae) na costa sul do Rio de Janeiro, Brasil **J Appl Phycol**, v. 23. P. 607-613, 2011.

GONÇALVES, A. G. Oligossacarídeos piruvatados e sulfatados obtidos a partir de algas vermelhas (Rhodophyta). **Dissertação (Mestrado em Ciências, Bioquímica), Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná**, p. 102, 2001.

HARTMANN, H.T.; KESTER, D.E. Plant propagation: principles and practices. 4 ed. New Jersey: Prentice-Hall, 1983. 727p.

HARVEY, S. C.; LUO, J. e LAVERY, R. DNA stem-loop structures in oligopurine - oligopyrimidine triplexes. **Nucleic Acids Research** 16(24): 11795 -11809, 1998. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/nar/16.24.11795>. Acessado: 22/12/2014.

HERVÉ, R. A.; PERCEHAIS, S. Nouveau produit physiologique extrait d'algues et de plantes, procédé de préparation, appareillage d'extraction et applications. **French Patent** 2 555 45, 1983.

HERVÉ, R. A.; ROUILLIER, D. L. Method and apparatus for communiting (sic) marine algae and the resulting product. United States Patent 4,023,734, 1977.

HOLDT, S. L. e KRAAN, S. Compostos bioativos em algas: aplicações em alimentos funcionais e legislação. **J Appl Phycol**, v. 23, p. 543-597, 2011.

HONG, D. D. et al. Seaweeds from Vietnam used for functional food, medicine and biofertilizer. **J Appl Phycol**, v.19, p. 817–826, 2007.

IAPAR. Cartas climáticas básicas do Estado do Paraná. Londrina, 1987.

IDEO, H. et al. Caenorhabditis elegans glycolipid-binding galectin functions in host defense against bacterial infections. **J Biol Chem**, v. 284, n. 39, p. 26493–26501, 2009.

KÄSBAUER, C. W.; PAPER, D. H.; FRANZS, G. Sulfated –galacto-oligosaccharides and their effect on angiogenesis. **Carbohydr. Res.**, v. 330, p. 427-430, 2001.

KATSURAYA, H. et al. Synthesis of sulfated oligosaccharide glycosides having high anti-HIV activity and the relationship between activity and chemical structure. **Carbohydr. Res.**, v. 315, p. 234-242, 1999.

KHAMBHATY, Y. et al. *Kappaphychus alvarezii* as a source of bioethanol. **Bioresource Technology**, v. 103, n.01, p. 180-185, 2012.

KHAN, W. et al. Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 28, n. 04, p. 386-399, 2009.

KIM, N. J. et al. Ethanol production from marine algal hydrolysates using *Escherichia coli* KO11, **Bioresour Technol.** Volume 102 (16), Pg. 7466-9, 2011.

KLAHOLD. C. A. **Resposta da soja (*Glycine max* (L.) Merrill) a ação de bioestimulante.** Dissertação de mestrado apresentada à Universidade Estadual do

Oeste do Paraná, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2005. Disponível em: <http://tede.unioeste.br/tede/tde_arquivos/3/TDE-2006-07-01T154752Z-31/Publico/Celestina_A_Klahold.pdf>. Acessado em: 25/04/2014.

LEE, S. et al. Converting carbohydrates extracted from marine algae into ethanol using various ethanolic *Escherichia coli* strains. **Appl Biochem Biotechnol**, Volume 164, Pg. 878-88, 2011.

LEITE V. M, ROSELEM, C. A. e RODRIGUES, J. D. (Gibberellin and cytokinin effects on soybean growth. *Scientia Agricola*, 60:537-541, 2003.

LI, B. et al. Fucoidan: structure and bioactivity. **Molecules**, v. 13, p. 1671–1695, 2008.

MANUAL DE MÉTODOS ANALÍTICOS OFICIAIS PARA FERTILIZANTES, 2006. Disponível em: <<http://intranet.sescoops.coop.br/arquivos/arqs/20091217103616.pdf>>. Acessado em: 14/02/2014.

MAPA. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Disponível em: <www.agricultura.gov.br> Acessado em 22/06/2014.

MATANJUN, P. et al. Comparação dos efeitos protetores cardiovasculares de algas tropicais, *Kappaphycus alvarezzi*, *Caulerpa lentilifera* e *Sargassum polycystum* em lipídios / dieta rica em gordura em ratos. **J. Med Food**, v. 13, p. 792-800, 2010.

MC CLINTOCK, J.B. e BAKER, B.J. *Marine chemical ecology*. CRC Press, 610p., 2001.

MEENA, R.; PRASAD, K.; SIDDHANTA, A. K. Desenvolvimento de uma rede de hidrogel estável à base de agar-kappa carragenano misturada com genipina. **Alimentação hidrocolóide**, v. 26, p. 497-509, 2009.

MEINITA, M., HONG, Y-K., JEONG, G-T., Detoxification of acidic catalyzed hydrolysate of *Kappaphycus alvarezii* (cottonii), **Bioprocess and Biosystems Engineering**, Volume 35 (1), Pg. 93-98, 2012.

MEINITA, M. et al. Bioethanol production from the acid hydrolysate of the carrageenophyte *Kappaphycus alvarezii* (cottonii), **J Appl Phycol**, volume (24 (4)), Pg. 857-862, 2012.

METTING, B. et al. Agronomic uses of seaweed and microalgae. In: Akatsuka I (ed) **Introduction to applied phycology**. SPB, The Hague, p 589–628, 1990.

MILTON, R. F. Liquid seaweed as a fertilizer. **Proc Int Seaweed Symp**, v. 4, p. 428-431, 1964.

MYERS, S. P. et al. A combined phase I and phase II open label study on the effects of a seaweed extract nutrient complex on osteoarthritis. **Biologics Targets and Therapy**, v. 4, p. 33–44, 2010.

MOTERLE, L.M. et al. Efeito de biorregulador na germinação e no vigor de sementes de soja. *Revista Ceres*, v.58, n.3, p. 651-660. 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0034-737X2011000500017>>. Acessado em: 06/05/2014.

NAKAYASU, S. et al. Biological activities of fucose-containing polysaccharide ascophyllan isolated from the brown alga *Ascophyllum nodosum*. **Biosci Biotechnol Biochem**, v. 73, n. 4, p. 961–964, 2009.

NISIZAWA, K. **Algas kaiso: colheita abundante do mar**. SBN 90 75000 80 4, Reino Unido, 2006.

OLIVEIRA, A. L. L. de; FELÍCIO, R. da; DEBONSI, H. M. Marine natural products: chemical and biological potential of seaweeds and their endophytic fungi. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 22, n. 4, p. 906-920, 2012.

PÁDUA, M.; FONTOURA, P. S. G.; MATHIAS, A. L. Chemical composition of *Ulvaria oxysperma* (Kützinger) Bliding, *Ulva lactuca* (Linnaeus) and *Ulva fasciata* (Delile).

Brazilian Archives of Biology and Technology, v. 47, n. 1, p. 49-55, 2004.

PANORAMA DA AQUICULTURA. Disponível ALGAS MARINHAS. **Um recurso ainda pouco explorado pelo Brasil.**

Disponível em: <<http://www.panoramadaaquicultura.com.br>>. Acesso em: 23/07/2014).

PARK, J. H. et al. Use of *Gelidium amansii* as a promising resource for bioethanol: A practical approach for continuous dilute-acid hydrolysis and fermentation.

Bioresource Technology, Volume 108, Pg. 83-88, Março de 2012.

PICKERING, T. D. ; SKELTON, P. ; SULU, J. R. Introdução internacionais de algas marinhas exóticas exploradas comercialmente. **Bot Mar**, v. 50, p. 338-350, 2007.

PRAMANICK, B. et al. Foliar nutrient management through *Kappaphycus* and *Gracilaria* saps in rice-potato-green gram crop sequence. **Journal of Scientific & Industrial Research**, Vol. 73, September 2014, pp 613-617.

PRASAD, K. et al. Detection and qualification of some plant growth regulators in a seaweed-based foliar spray employing a mass spectrometric technique sans chromatographic separation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 08, p. 4594-4601, 2010.

RAVEN, P. H., EVERT, R. F., EICHHORN, S. E., **Biology of Plants**. 5a ed., Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, p. 735, 1996.

RAVEN, P. H. et al. *Biologia vegetal*. 7ª ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan. 856p, 2007

RATHORE, S. S. et al. Effect of seaweed extract on the growth, yield and nutrient uptake of soybean (*Glycine max*) under rainfed conditions. **South African Journal of Botany**, v. 75, p. 351-355, 2009.

RAYORATH, P. et al. Extracts of the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* induce gibberellic acid (GA3) – independent amylase activity in barley. **Journal of Plant Growth Regulation**, Secaucus, v.27, p.370-379, 2008a.

RAYORATH, P et al. Rapid bioassays to evaluate the plant growth promoting activity of *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jol using a model plant, *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. **Journal of Applied Phycology**, Dordrecht, v.20, p.423-429, 2008b.

REBOUÇAS, R. F. C. Estudo do teor de lipídios e avaliação dos resíduos das algas marinhas: *Gracilaria caudata*, *Gracilaria birdiae*, *Gracilaria domingensis* para preparação de biodiesel e biofertilizante. **Dissertação (Mestrado em Ciências Naturais), Programa de Pós-graduação em Ciências Naturais, Universidade do Estado do Rio Grande do Norte – UERN**, 2013.

REGRAS PARA ANÁLISE DE SEMENTE. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**, 2009.

Disponível em:

<http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/2946_regras_analise__sementes.pdf >

Acessado em: 22/01/2014.

SANDERS, W. J.; et al. Inhibition of L-selectin-mediated leukocyte rolling by synthetic glycoprotein mimics. **J. Biol. Chem.** v. 274, p. 5271-5278, 1999.

SANTOS, C. R. **Stimulate na germinação de sementes, vigor de plântulas e no crescimento inicial de soja**. 2009. 44p. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Centro de Ciências Agrárias e Ambientais. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.

SANTOS, V. M.; MELO, A. V.; CARDOSO, D. P.; SILVA, A. R.; BENÍCIO, L. P. F.; FERREIRA, E. A. Desenvolvimento de plantas de soja em função de bioestimulante em condições de adubação fosfatada. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 4, p. 1087-1094, July/Aug. 2014.

SCHELIGA, C. G. Avaliação de Crescimento de uma linhagem de *Saccharomyces cerevisiae* em meio contendo galactose oriunda do hidrolisado da macroalga *Kappaphycus alvarezii* visando à produção de etanol 3g. **Mestrado em Ciências, Programa de Pós Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos** da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2013.

STANEK, J.; CERNY, M.; PACAK, J. **The oligosaccharides**. First Edition. Academic Press, p. 567, New York, 1965.

STIRK, W. A.; VAN STADEN, J. Seaweed products as biostimulants in agriculture. In Critchley AT, Ohno M, Largo DB (eds) **World Seaweed Resources [DVD-ROM]**: ETI Information Services Ltd, Univ. Amsterdam, 2006.

WIJESEKARA, I. e KIM, S.K. Angiotensin-I-Converting Enzyme (ACE) Inhibitors from Marine Resources: Prospects in the Pharmaceutical Industry. **Marine drugs** 8: 1080-1093, 2010.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p.449-484.

UGARTE, R.; SHARP, G. J.; e MOORE, B. Changes in the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jol. plant morphology and biomass produced by cutter rake harvests in southern New Brunswick, Canada. **J Appl Phycol**, v. 18, p. 351–359, 2006.

VALIO, I. F. M. e SCHWABE, W. W. Correlative growth in seedling of *Phaseolus vulgaris* L.: Inhibition of stem growth by the primary leaves. *Annals of Botany*, 42:263-268, 1978.

VIDOTTI, E. C.; ROLLEMBERG, M. C. E. Algas: da economia nos ambientes aquáticos à biorremediação e à química analítica. **Química Nova**, v. 27, n. 1, p.139-145, 2004.

VIEIRA E. L. Stimulate 10 X na germinação de sementes, vigor de plântulas e crescimento inicial de plantas de algodoeiro. In: **V Congresso Brasileiro de Algodão, Salvador. Anais. Embrapa Algodão**. p.163-163, 2005.

VIEIRA E. L. e CASTRO P. R. C. Ação de bioestimulante na germinação de sementes, vigor de plântulas, crescimento radicular e produtividade de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, 23:222-228, 2001.

VIEIRA, E. L. e MONTEIRO, C. A. Hormônios vegetais. In: Introdução à fisiologia vegetal. Maringá, Eduem. p.79-104, 2002.

WALL, D. et al. Characterization of the anticoagulant properties of a range of structurally diverse sulfated oligosaccharides. *Thromb. Res.*, v. 103, p. 325-335, 2001.

WANG Y. et al. Effects of phlorotannins from *Ascophyllum nodosum* (brown seaweed) on *in vitro* ruminal digestion of mixed forage or barley grain. **Anim Feed Sci Technol**, v. 145, p. 375–395, 2008.

YOKOYA, N. S. **Bioprospecção e aplicações biotecnológicas das macroalgas marinhas**. Anais da 62ª Reunião Anual da SBPC - Natal, RN - Julho/2010.

Disponível em:

http://www.sbpcnet.org.br/livro/62ra/mesas_redondas/MR%20Nair%20Sumie%20Yokoya.pdf >. Acessado em: 14/12/2014.

YUAN, H.; et al. Immunomodulation and antitumor activity of κ -carrageenan oligosaccharides. **Cancer Lett.** v. 243, p. 228-234, 2006.

ZODAPE, S. T. et al. Effect of *Kappaphychus alvarezii* (Doty) Doty ex silva. extractact on grain quality, yield and some yield components of wheat (*Triticum aestivum*, L.).

International Journal of Plant Production, v. 3, n. 02, p. 97-101, 2009.