



2015

Avaliação do potencial dos extratos de algas marinhas *Sargassum muticum* e *Ascophyllum nodosum* (Phaeophyceae) como fertilizante agrícola

Luís Daniel Soares Silva



DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DA VIDA

FACULDADE DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Avaliação do potencial dos extratos de algas marinhas *Sargassum muticum* e *Ascophyllum nodosum* (Phaeophyceae) como fertilizante agrícola

Luís Daniel Soares Silva

2015



DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DA VIDA

FACULDADE DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Avaliação do potencial dos extratos de algas marinhas *Sargassum muticum* e *Ascophyllum nodosum* (Phaeophyceae) como fertilizante agrícola

Dissertação apresentada à Universidade de Coimbra para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Biodiversidade e Biotecnologia Vegetal, realizada sob a orientação científica do Professor Doutor Leonel Pereira (Departamento de Ciências da Vida da Universidade de Coimbra) e do Professor Doutor Kiril Bahcevandziev (Escola Superior Agrária de Coimbra)

Luís Daniel Soares Silva

2015

Agradecimentos

Ao fim de mais uma etapa na minha vida académica, não posso deixar de agradecer a todas as pessoas que me apoiaram e incentivaram nesta jornada que apesar de ter tido vários altos e baixos, acabou por ser mais um capítulo memorável na minha vida.

Antes de mais, agradeço ao meu orientador Professor Doutor Leonel Pereira por me ter sugerido o tema deste trabalho e por todos os conhecimentos transmitidos ao longo deste percurso, bem como pela disponibilidade e simpatia demonstrada. Agradeço também ao meu co-orientador Professor Doutor Kiril Bahcevandziev por toda a orientação, disponibilidade e pelos conhecimentos transmitidos ao longo do tempo.

Ao Sr. José Brandão pelo apoio dado no laboratório sempre que necessário e pelos conhecimentos transmitidos.

À Eng.^a Rosa e à D. Fátima pela simpatia e disponibilidade demonstrada ao longo da realização deste trabalho.

Ao Sr. José Borralho por toda a ajuda prestada durante os trabalhos de campo e em especial à D. Alice por toda a simpatia e disponibilidade para ajudar sempre que foi necessário.

À Eng.^a Leonor Pato e aos técnicos do laboratório de solos da Escola Superior Agrária de Coimbra, pela realização das análises necessárias durante o desenrolar deste trabalho

À empresa Nutrimondego, em especial ao Eng.º Fernando Piranha, por ter disponibilizado as estufas e o sistema hidropónico, bem como por toda a ajuda prestada e transmissão de conhecimentos no decorrer do trabalho prático.

À minha família e amigos que me apoiaram ao longo desta etapa, em especial ao Cláudio Maris Coelho pelo companheirismo e apoio demonstrado ao longo da minha jornada.

Índice	iv
Resumo	vi
Abstract	vii
1. Introdução	1
1.1 Considerações gerais	2
1.2. Macroalgas – aplicação como biofertilizantes	6
1.3 Contexto histórico em Portugal	9
1.4 <i>Ascophyllum nodosum</i>	12
1.5 <i>Sargassum muticum</i>	14
1.6 Agricultura em Portugal	16
1.7 Objetivo do trabalho	20
1.8 Caracterização do trabalho experimental	21
2. Material e Métodos	22
2.1 Material Vegetal	22
2.2 Material algal	22
a) Colheita do material algal	23
b) Preparação do material algal	24
2.3 Obtenção dos extratos líquidos algais	25
a) Obtenção do extrato aquoso processado	26
b) Obtenção do extrato aquoso bruto	26
2.4 Bioensaios de germinação	27
a) Percentagem de germinação;	28
b) Índice de velocidade de germinação (IVG);	29
c) Percentagem de matéria seca;	29
2.4 Bioensaios com plantas de arroz em vaso	30
2.5 Bioensaios de plantas de alface em vaso	31
a) Diâmetro da parte aérea;	32
b) Comprimento da raiz principal;	32
c) Biomassa fresca e seca total da parte aérea e radicular.	32
2.6 Bioensaios de plantas de alface em hidroponia	33
2.7 Análise do efeito dos extratos no solo após cultura de alface	34
3. Resultados	35
3.1 Bioensaios de germinação	36
a) Percentagem de germinação;	37
b) Índice de velocidade de germinação (IVG);	37
c) Percentagem de matéria seca;	

3.2 Bioensaios com plantas de arroz em vaso	40
3.3 Bioensaio de plantas de alface em vaso	42
3.4 Bioensaios de plantas de alface em hidroponia	44
3.5 Análise do efeito dos extratos no solo após cultura de alface	47
4. Discussão	50
4.1 Bioensaios de germinação	51
4.2 Bioensaio com plantas de arroz em vaso	52
4.3 Bioensaio de plantas de alface em vaso	53
4.4 Bioensaios de plantas de alface em hidroponia	54
4.5 Análise do efeito dos extratos no solo após cultura de alface	55
5. Conclusões e Perspetivas Futuras	57
6. Referências Bibliográficas	59

Resumo

Oceanos e mares formam uma grande massa de água que comporta uma vasta biodiversidade e representa uma importante fonte natural de recursos para o Homem, o que tem levado a que cada vez mais se invista em estudos para desenvolver mais a economia ligada ao mar.

Hoje em dia são vários os estudos que têm vindo a ser realizados com algas e os compostos que delas advêm, já que produzem diferentes compostos e metabolitos secundários com diversas aplicações em diferentes sectores como o alimentar, o agrícola, o farmacêutico, entre outros tantos. Apesar do recurso a estes organismos já ser ancestral, só recentemente se verificou um interesse mundial em se saber mais acerca das suas potencialidades, tendo a biotecnologia de algas tomado um papel importante na investigação.

Vários estudos realizados mostram que as algas têm vários compostos bioativos e constituintes que se mostram benéficos para o desenvolvimento vegetal, conferindo às algas um grande potencial como fertilizantes agrícolas. A adição de algas aos solos fornece não só matéria orgânica, minerais, oligoelementos, reguladores de crescimento vegetal, metabolitos, vitaminas e aminoácidos, como funciona como condicionador de solos.

Em Portugal o recurso a algas já é antigo, principalmente quando nos referimos à aplicação destas na agricultura. No passado, as populações que habitavam zonas costeiras dependiam das algas para a sua subsistência familiar, mas com o decorrer dos tempos o recurso a algas foi trocado por fertilizantes sintéticos.

Com este trabalho pretendeu-se avaliar a potencialidade que os extratos obtidos a partir das macroalgas castanhas *Ascophyllum nodosum* e *Sargassum muticum* (uma alga invasora na costa portuguesa) têm como fertilizante agrícola, numa tentativa de incentivo à dinamização da economia local das zonas costeiras e à criação de indústria produtora de fertilizantes líquidos.

A avaliação do potencial dos extratos das algas marinhas como fertilizante agrícola, realizou-se com plantas de arroz (*Oryza sativa* L.) e de alface (*Lactuca sativa* L.) em bioensaios de germinação, de cultura de plantas de arroz e de alface em vaso, e cultura de plantas de alface em hidroponia. Para estes bioensaios foram utilizados extratos algais líquidos (EAB e EAP) em diferentes concentrações nos diferentes bioensaios, onde se

conclui-o que extratos com menor concentração (25%) tem um efeito positivo na germinação e no desenvolvimento vegetal.

Palavras:Chave: Fertilizante; compostos bioativos; *Ascophyllum nodosum*; *Sargassum muticum*; *Oryza sativa* L.; *Lactuca sativa* L.

Abstract

Oceans and seas form a great body of water that contain a vast biodiversity, and to human kind represents a natural resource which makes this a subject of interest, promoting researches towards a development on the economy linked to it.

Nowadays there are many studies being made on algae and algae compounds, as they produce many compounds and secondary metabolites that apply to all kinds of sectors such as food sector, the agricultural, the pharmaceutical and many others. Despite the fact that these are ancestral resources, only recently it was notorious a global interest on knowing more about its potentials, where biotechnology plays a big role on the investigation.

Studies made show that seaweed has many bioactive compounds that show to be benefic to plant development, giving algae a great potential as an agricultural fertilizer. Adding algae to the soil not only provides organic material, minerals, trace elements, growth plant regulator, metabolites, vitamins and amino acids but it can also work as a soil conditioner.

In Portugal, the use of algae comes from afar, especially on the agricultural sector. In the past some populations that lived near or at the coastal zone depended on algae as a family subsistence, but throughout the years algae was replaced by synthetic fertilizers.

This essay aimed to evaluate the potential that the extracts obtained from *Ascophyllum nodosum* and from *Sargassum muticum* (an invasive algae in the portuguese coast) have as an agricultural fertilizer, in an attempt to encourage the reduction of the local economy of coastal areas and also the creation of industry production of liquid fertilizers.

The evaluation of the potential of algae extracts as agricultural fertilizer, was made with rice plants (*Oryza sativa* L.) and lettuce (*Lactuca sativa* L.), in germination bioassays, culture of rice and lettuce plants in pots, and culture of lettuce plants in hydroponics. On these bioassays were used algae liquid extracts (EAB and EAP) with different concentrations in different bioassays, where it was concluded that extracts with minor concentration (25%) have a positive effect on germination and plant development.

Keywords: Fertilizer; bioactive compounds; *Ascophyllum nodosum*; *Sargassum muticum*; *Oryza sativa* L.; *Lactuca sativa* L.

1. Introdução

1.1 Considerações gerais

A superfície do planeta terra é, maioritariamente, ocupada por grandes extensões de água salgada, que formam Oceanos e mares. Esta grande imensidão de massas de água, comporta uma vasta biodiversidade que, de certa forma, se encontra relacionada com a grande diversidade da flora biológica marinha (Safinaz *et al*, 2013; Gressler, 2010; Vidotti *et al*, 2004). A flora biológica marinha é bastante diversificada e é fundamental para a subsistência dos ecossistemas marinhos, sendo composta fundamentalmente por diferentes espécies de algas (Rocha *et al*, 2007; Gressler, 2010).

As algas são organismos bem adaptados a diferentes meios, tendo a capacidade de colonizar locais que disponibilizem luz e humidade tanto temporária como permanentemente e por isso podem ser encontradas em diversos tipos de habitats, desde habitats de água doce como de água salgada até habitats terrestres (Vidotti *et al*, 2004).

Compreendendo um de organismos bastante rico a nível de espécies, as algas podem apresentar tamanhos bastante diversificados indo desde espécies microscópicas unicelulares até espécies pluricelulares com cerca de cinquenta metros de comprimento. Esta variação de comprimento permite que se possa dividir este grupo em dois subgrupos, de acordo com as dimensões que cada espécie atinge. Desta forma pode-se subdividir o grupo em microalgas, onde se inserem as espécies de algas com dimensões microscópicas, e macroalgas, onde se inserem as espécies de algas com dimensões macroscópicas (Silva *et al*, 2009).

As macroalgas são organismos bentónicos, isto é, organismos que se encontram ligados a substratos sólidos, habitando desde águas costeiras pouco profundas até águas com cerca de 1800 metros de profundidade (Akila *et al*, 2010). Apesar de serem desprovidas de folhas, caules, raízes ou sistema vascular, as macroalgas são organismos fotossintéticos, ou seja, são produtores primários e, como tal, são uma das principais fontes de matéria orgânica para os ecossistemas aquáticos, desempenhando um papel crucial no ciclo de carbono já que o fixam por meio de um processo designado fotossíntese. Características que permitem fazer-se uma analogia entre a importância das macroalgas para os ecossistemas marinhos e as plantas superiores para os ecossistemas terrestres (Akila *et al*, 2010; Silva *et al*, 2009; Santino *et al* 2008).

De facto o seu papel nos ecossistemas marinhos é fundamental, para além de serem responsáveis pela produtividade primária dos ambientes costeiros, as macroalgas têm estruturas que providenciam refúgio e suporte para vários seres vivos, tanto animais como vegetais, bem como locais para oviposição (Valentin, 2010; Miranda *et al*, 2013).

Pertencentes ao Domínio Eukarya e aos Reinos Plantae (algas verdes e algas vermelhas) e Chromista (algas castanhas), as macroalgas não se encontram reunidas num grupo homogéneo, de acordo com a sua pigmentação e características químicas elas dividem-se em três Filos: Chlorophyta, Rhodophyta e Heterokontophyta (classe Phaeophyceae) (Pereira, 2009; Silva *et al*, 2009)

O Filo Chlorophyta compreende as macroalgas verdes, cerca de 1500 espécies, que atingem tamanhos reduzidos, desde poucos centímetros a um metro de comprimento, sendo organismos bastante abundantes nos ambientes marinhos. Ao nível de pigmentação, estas algas, para além de clorofila **a** e **b**, responsável pela sua coloração verde, possuem alguns carotenoides e reservas de amido nos seus cloroplastos. Existem teorias que defendem que a presença de clorofila **a** e **b** nestes organismos é indicativo que estes sejam ancestrais das plantas superiores (Pereira, 2009, Silva *et al*, 2009).

O Filo Rhodophyta é composto por macroalgas vermelhas, cerca de 4000 espécies, cujo comprimento varia entre um centímetro e um metro, encontrando-se normalmente em águas pouco frias. A sua pigmentação vermelha é conferida pelo pigmento acessório denominado ficoeritrina que mascara a cor dos outros pigmentos presentes como a clorofila **a**, carotenoides (β -caroteno, luteína e zeaxantina) e ficobilinas. A tonalidade destas algas pode variar entre um vermelho acastanhado ou púrpura, no entanto apesar desta variação continuam a ser classificados como algas vermelhas (Pereira, 2009; Silva *et al*, 2009; Vidotti *et al*, 2004)

O Filo Heterokontophyta (classe Phaeophyceae) é constituído pelas macroalgas castanhas, cerca de 2000 espécies, que vivem geralmente em águas frias e podem atingir proporções que vão desde alguns centímetros até cerca de 50 metros. A nível de pigmentos elas são constituídas por clorofila **a** e **c**, e carotenoides dos quais predomina a fucoxantina responsável pela cor castanha (Pereira, 2009; Silva *et al*, 2009; Vidotti *et al*, 2004).

Como todos os organismos vivos, as macroalgas necessitam proceder à transformação e conversão de compostos, através de um conjunto de processos que

constituem o metabolismo, de forma a poderem viver, crescer e se reproduzir (Gressler, 2010; Carvalho *et al*, 2013). De acordo com a importância dos produtos sintetizados pelo metabolismo, estes podem ser denominados por metabólitos primários ou por metabólitos secundários. Os metabólitos primários são aqueles que têm um papel essencial para a sobrevivência dos organismos, como é o caso de hidratos de carbono, proteínas, ácidos gordos, ácidos nucleicos, aminoácidos, entre outros. Os metabólitos secundários são metabólitos sintetizados por vias metabólicas não principais e que ocorrem apenas em alguns organismos ou grupo de organismos específicos, já que se tratam de compostos cuja presença não é essencial para a sobrevivência dos organismos (Gressler, 2010, Limberger *et al*, 2012)

Os metabólitos secundários são produzidos em resposta a diversos fatores ambientais, tanto bióticos como abióticos, como forma de adaptação das espécies ao meio circundante, tendo estes compostos uma natureza bioativa, isto é, capacidade de causar efeitos tanto no organismo que os produz como em outros organismos vivos (Gressler, 2010; Carvalho *et al*, 2013; Stain, 2011).

Como seres bentónicos, as macroalgas, estão normalmente expostas a diferentes variações de fatores ambientais ao longo das colunas de água, como é o caso da concentração de gases dissolvidos (CO₂ e O₂), intensidade luminosa, concentração mineral (salinidade e nutrientes), temperatura, raios ultravioleta, diversos poluentes, agentes patogénicos (fungos, vírus e bactérias) e predadores. Assim, torna-se imprescindível para estes organismos produzirem uma vasta diversidade de metabólitos secundários, de forma a garantirem a sua adaptação e sobrevivência (Gressler, 2010; Silva *et al*, 2009)

Na sua composição, de uma forma geral, as macroalgas são ricas em ácidos gordos polinsaturados, esteroides, terpenos, carotenoides, polissacarídeos sulfatados, hidroquininas sesquiterpénicas, micosporinas, acetogeninas, fenóis, derivados de aminoácidos, diversas vitaminas (A, B1, B12, C, D), entre muitos outros compostos bioquímicos (Gressler, 2010; Safinaz *et al*, 2013). Muitas destas moléculas apresentam diferentes atividades biológicas como antivirais, antibacterianas, antifúngicas, antitumorais, anticoagulantes, hipotensivas e antioxidantes, revelando o grande potencial que as macroalgas poderão ter para as diferentes vertentes industriais (Gressler, 2010; Limberger *et al*, 2012; Indy *et al*, no data).

Apesar de raro, alguns estudos mostram que existem espécies específicas de algas vermelhas, pertencentes ao Filo Rhodophyta, que têm na sua constituição compostos tóxicos como o ácido demoico, o ácido cainico e o ácido N-metil-D-aspartico, que têm atividade neurotóxica e, em concentrações elevadas, tornam-se fatais (Gressler, 2010).

Atualmente, as algas na sua generalidade, estão a tornar-se um foco importante no que diz respeito ao estudo dos seus metabolitos secundários, devido a estes serem diferentes dos encontrados em organismos vegetais terrestres e possuírem estruturas diferentes e combinações de grupos funcionais pouco comuns (Silva *et al*, 2009). Contudo, o recurso a estes organismos para satisfazer as necessidades da sociedade já vem desde há muitos séculos, existindo referências que pelo menos desde o século IV e o século VI as algas são utilizadas como fonte de alimentação e adubo orgânico no Japão e na China, respetivamente (McHugh, 2003; Pereira, 2010).

A indústria das algas providência uma vasta variedade de produtos para diversas áreas e indústrias, como a indústria alimentar, indústria farmacêutica e cosmética, na extração de ficocolóides, na produção agrícola (fertilizantes e condicionadores), tratamento de águas e efluentes, entre outras tantas que vão surgindo à medida que se vai conhecendo melhor as potencialidades dos compostos sintetizados por estes organismos (Pereira, 2010). Estima-se que anualmente são colhidas cerca de quatro milhões de toneladas de algas por ano em todo o mundo, estando este comércio relacionado principalmente com países como a China, o Japão, os Estados Unidos da América, o Canadá e a Noruega (McHugh, 2003).

Dos diversos produtos obtidos a partir da biomassa de algas, os hidrocolóides ou ficocolóides, substâncias não cristalinas com moléculas grandes solúveis em água tornando-a viscosa, são os produtos que mais destaque tem, sendo estes de três tipos: carragenanas, agar e alginatos. Estes ficocolóides são hidratos de carbono que usualmente são aplicados com o objetivo de aumentar a viscosidade de soluções aquosas, de forma a se obterem géis com diferentes graus de firmeza variáveis, criar películas solúveis em água, estabilizar e texturar alguns produtos, e até mesmo para a fixação de solos (a água gelificada permite manter os solos agregados até ao desenvolvimento de plantas fixadoras em taludes) (Pereira, 2010), McHugh, 2003).

1.2. Macroalgas – aplicação como biofertilizantes

O potencial fertilizante característico das macroalgas, principalmente das pertencentes à classe Phaeophyceae, vem sendo explorado desde há muitos séculos, principalmente pelos povos que habitam as zonas costeiras por todo o mundo (McHugh, 2003; Thirumaran *et al*, 2009).

Consoante a zona geográfica, as espécies de macroalgas utilizadas, bem como a forma como são processadas e aplicadas como fertilizante orgânico é variável. Nas Filipinas, os habitantes colhem grandes quantidades de *Sargassum* sp. (algas castanhas) cuja aplicação é feita tanto com as algas húmidas como após secagem ao sol, num processo que consiste em espalhar as algas nos terrenos agrícolas e misturá-las com o solo, deixando que ocorra a decomposição naturalmente. Já na Argentina, recolhem-se diferentes espécies de algas verdes que se vão amontoando nos areais, submetendo-as primeiro a um processo de compostagem e só depois são aplicadas nos solos, por norma na cultura de tomate (McHugh, 2003).

A adição de material algal aos solos tem um efeito benéfico no que diz respeito ao melhoramento das suas propriedades físico-químicas e biológicas (Bruno *et al*, 2007). Para além da matéria orgânica que fornece, a adição de biomassa algal aos solos, rica em hidratos de carbono e minerais, melhora a sua estrutura e promove o seu arejamento (atua como um condicionador), aumentando a capacidade de retenção de humidade, regula o pH dos solos e atua como fonte de oligoelementos e fertilizante natural (McHugh, 2003; Thirumaran *et al*, 2009). De acordo com McHugh, (2003) as macroalgas castanhas podem ser um grande aliado no combate à erosão de solos, prevenindo a perda da camada superior do solo e recuperando os solos erodidos. Esta capacidade das macroalgas e seus produtos deve-se à presença de hidratos de carbono de cadeias longas (ficocolóides), como é o caso do alginato, que na presença de cálcio formam géis fortes que após decomposição destes originam géis mais fracos com capacidade de agregar e reter as partículas do solo.

Na realidade ainda não se determinou exatamente como as algas e os seus compostos atuam nos processos fisiológicos das plantas, apenas se sabe que estes potenciam o seu desenvolvimento a vários níveis. A sua eficácia como fertilizante é muitas vezes atribuída aos oligoelementos que contêm, mas na realidade a contribuição destes é muito pequena comparada com as necessidades reais das plantas. Também há quem associe a presença de diferentes reguladores de crescimento vegetal a esses efeitos

benéficos, contudo a sua presença por si só não é suficiente para mostrar que estes compostos são responsáveis pelo aumento do rendimento (McHugh, 2003)

A nível do seu conteúdo mineral (N-K-P), em comparação com outros fertilizantes sintéticos e naturais, as macroalgas fornecem Azoto e Potássio em quantidades adequadas para as plantas, mas reduzidas de fosforo. Como fonte de oligoelementos, cuja presença é essencial para o bom desenvolvimento vegetal, fazem parte da sua composição: ferro (Fe), magnésio (Mg), cobre (Cu), zinco (Zn), molibdénio (Mo), cobalto (Co) e boro (B). O seu conteúdo em hormonas de crescimento (auxinas, giberelinas, citocininas e ácido abscísico), metabolitos, vitaminas e aminoácidos, juntamente com todos os seus demais constituintes, são a chave para o sucesso das macroalgas como promotores do crescimento e fortalecimento das estruturas vegetais (McHugh, 2003; Pise *et al*, 2010).

Para satisfazer as necessidades humanas de alimento, derivadas não só a um elevado aumento populacional como também à valorização do aspeto, sabor e composição nutricional, tornou-se imprescindível recorrer a elevadas quantidades de fertilizantes sintéticos e de reguladores de crescimento (Thirumaran *et al*, 2009). Este evento levou a um aumento dos custos de produção e a uma elevada acumulação de químicos tóxicos (como arsénio e cádmio) nos solos, que por sua vez são absorvidos pelas plantas que, ao serem consumidas, poderão provocar problemas de saúde a longo prazo (Bruno *et al*, 2007; Thirumaran *et al*, 2009).

O uso excessivo de fertilizantes sintéticos tem levantado várias questões sócio ambientais e económicas, numa altura em que a consciencialização da população para a preservação dos recursos naturais tem sido um foco de ação por diversas agências e organizações ambientais, levando assim a uma crescente popularidade da agricultura biológica ou de uma agricultura mais “verde” onde a preferência do recurso a fertilizantes sintéticos torna-se secundária face à preferência de adubos orgânicos (Bruno *et al*, 2007).

Assim sendo, as macroalgas podem ser a chave para uma agricultura mais biológica, pois podem ser usadas como fonte de reguladores de crescimento, como condicionadores de solos e como fonte de minerais, entre outros tantos compostos, aumentando a produção agrícola e reduzindo a quantidade de fertilizantes sintéticos e o recurso a moléculas sintetizadas em laboratório similares a reguladores de crescimento vegetais. Aleado ao facto de serem livres de sementes de plantas potencialmente

infestantes, como determinadas ervas-daninhas, e livres de fungos e bactérias patogênicas associadas a diferentes culturas (Thirumaran *et al*, 2009; Kaseker *et al*, 2014).

Nos últimos anos tem havido um aumento dos estudos acerca das aplicações de macroalgas como fertilizante agrícola, bem como a forma como podem ser aplicadas (inteiras, em pequenos pedaços ou em extratos líquidos) (Thirumaran *et al*, 2009).

No início do século XX surgiram algumas empresas de secagem e moagem de macroalgas com vista à sua aplicação como fertilizante orgânico, mas logo esta indústria perdeu mercado devido à popularidade e custos mais baixos dos fertilizantes sintéticos. Hoje em dia, já no século XXI, a tendência tem-se revertido e já começa a haver muita procura de adubos orgânicos, preferencialmente adubos obtidos a partir de algas marinhas. Contudo, os custos combinados da secagem e transporte da biomassa algal, contribuíram para que o grande crescimento desta área seja direcionado para a produção de fertilizantes líquidos concentrados à base de extratos de diferentes espécies de algas, onde a alga *Ascophyllum nodosum* (Phaeophyceae) tem tido principal destaque (McHugh, 2003; Sultana *et al*, 2010).

Muitas são as marcas e fertilizantes líquidos disponíveis no mercado que possuem na sua composição extratos de algas marinhas, onde a maioria destes extratos são obtidos a partir de algas castanhas (classe Phaeophyceae) (McHugh, 2003; Limberger *et al*, 2012). Os processos de extração aplicados atualmente são variáveis, alguns processos consistem em extrações alcalinas onde os componentes que não se dissolvem são removidos por filtração, outros consistem em reduzir o material algal a suspensões de partículas muito finas, e outros baseiam-se em congelar a biomassa algal a -25 °C e posteriormente proceder à sua moagem e homogeneização de forma a se obter todo o conteúdo das algas (McHugh, 2003).

Diversos estudos científicos têm sido realizados no sentido de se avaliar a eficácia dos extratos líquidos de algas marinhas, sendo que a maioria comprova os seus benefícios no aumento do rendimento de diferentes culturas, já que melhoram alguns processos fisiológicos das plantas, assim como a fotossíntese e absorção de nutrientes (G,McHugh, 2003). Segundo Thirumaran *et al* (2012), os fertilizantes líquidos de macroalgas são muito ricos, contendo micro e macronutrientes, todos os oligoelementos, aminoácidos, diversos reguladores de crescimento vegetais, vitaminas e metabolitos com diferentes propriedades, como é o caso das propriedades antibacterianas e antifúngicas. Verifica-se que os extratos

de macroalgas têm propriedades que potenciam a germinação de sementes e o crescimento de plantas e raízes, conferem resistência à congelação e a diferentes stresses bióticos (por exemplo, stress hídrico), aumentam a imunidade a agentes patogénicos e a capacidade de absorção de nutrientes, diminuindo o risco de pragas nas culturas (por exemplo, o ácaro vermelho e afídios) (Safinaz *et al*, 2013; Akila *et al*, 2010).

Existem autores que defendem que os produtos derivados de algas ou que contenham algas na sua constituição são uma mais-valia no incremento do rendimento da produção vegetal, onde correlacionam reguladores de crescimento com os seus possíveis efeitos: a) citocininas - aumento da divisão celular e desenvolvimento dos frutos; b) auxinas - controlo do crescimento do caule; c) giberelinas - elasticidade e plasticidade das células; d) Betaínas – redução dos efeitos do stress hídrico e ruras. (Fernandes *et al*, 2011)

A dúvida que fica no ar é se efetivamente os fertilizantes derivados de macroalgas são tanto economicamente como a nível de eficiência mais atrativos que os fertilizantes e reguladores de crescimento sintéticos. Porém, com os estudos que já se encontram publicados e com experiência que se tem observado com a aplicação de fertilizantes algais tanto a nível doméstico como a nível de produção agrícola, é de notar que apenas o uso de extratos líquidos de macroalgas não é compensatório, o ideal será utilizar estes extratos juntamente com os fertilizantes sintéticos em menores quantidades, de forma a se atingir um nível de exploração de recursos economicamente mais sustentável e “amigo do ambiente”. Excetuando-se quando se compara com outros métodos de agricultura biológica, onde as algas são preferíveis aos fertilizantes provenientes de animais como bovinos e suínos, cujo estrume pode conter níveis de antibióticos e de parasitas nocivos (McHugh, 2003, Akila *et al*, 2010)

1.3 Contexto histórico em Portugal

Em Portugal, a utilização de macroalgas como fertilizante agrícola é anterior ao século XIV e a sua utilização foi regulamentada pela primeira vez em 130McHugh, 2003 pelo rei D. Dinis. Até meados do século XX, o recurso a algas como biofertilizantes foi uma atividade económico-social bastante importante, mas atualmente é uma prática que

quase desapareceu e que se encontra praticamente restrita à zona Norte do país (Povoa de Varzim e Viana do Castelo) (Pereira, 2010).

As duas principais misturas de algas usadas tradicionalmente em Portugal foram o “moliço” nas zonas envolventes da Ria de Aveiro e o “sargaço” nas zonas do litoral minhoto (Pereira, 2010; Biored, 2014).

O moliço, também chamado de “estrume da Ria de Aveiro” pelos habitantes locais, é uma mistura de algas e plantas que constituem a vegetação submersa da Ria de Aveiro, onde predominam algas pertencentes aos géneros *Enteromorpha* (atualmente, todas transferidas para o género *Ulva*), *Ulva* e *Ceramium*, e plantas marinhas dos géneros *Zostera*, *Ruppia* e *Potamogeton* (Pereira, 2010; Biored, 2014)

Esta mistura, muito rica em matéria orgânica, nutrientes e outros compostos, permitiu transformar muitos areais estéreis em terrenos férteis e produtivos, levando a que se tenha tornado imprescindível a sua apanha para a continuação da sustentabilidade das famílias que habitavam as zonas em redor da Ria de Aveiro. A sua procura, por volta de 1990 era tal, que chegou a haver centenas de embarcações e homens, designados por moliceiros, por toda a extensão da Ria a extraírem este precioso fertilizante. A sua recolha tornou-se de tal modo excessiva que as autoridades concelhias viram-se forçadas a determinar épocas do ano em que a apanha era proibida. Com o decorrer dos tempos, e com o uso de fertilizantes sintéticos, o número de moliceiros bem como de pessoas à procura deste fertilizante foi diminuindo, sendo que atualmente, principalmente devido à poluição da Ria de Aveiro com agentes químicos tóxicos, a extração do moliço está extinta e os moliceiros que ainda se podem observar são apenas para fins recreativos turísticos (Lamy, 1985).

O Sargaço, também conhecido como “argaço e limos”, é uma mistura de diferentes algas marinhas que crescem nas rochas da plataforma continental do litoral minhoto, onde predominam as macroalgas *Saccorhiza polyschides*, *Laminaria*, *Fucus* sp., *Codium* sp., *Palmaria palmata*, *Gelidium* sp. e *Chondrus crispus* (Pereira, 2010; Biored, 2014).

Da mesma forma que o moliço, o Sargaço constitui uma mistura orgânica muito rica, que permitiu transformar terrenos de areia áridos, junto a sistemas dunares, em terrenos muito férteis e produtivos tornando-se assim um produto vital para a agricultura. A apanha destas algas era feita por homens, denominados sargaceiros, nas zonas beira-mar,

que após a apanha estendiam as algas ao sol até secarem e posteriormente colocavam-nas em palheiros para posterior utilização (Oliveira *et al*, 1990; Pereira, 2010; Biored, 2014).

Estas algas tiveram um grande impacto na economia local das regiões do litoral minhoto, criando uma atividade agro-marítima sustentável que tinha por base o aproveitamento das algas marinhas e caranguejos como fertilizante e corretivo de solos (Oliveira *et al*, 1990; Pereira, 2010; Biored, 2014).

A apanha do sargaço era uma prática realizada pelos lavradores locais, que recorriam a esta atividade não só para uso próprio nos seus terrenos mas também para venderem a outros agricultores, tornando-a fundamental para a subsistência económica familiar (Oliveira *et al*, 1990; Pereira, 2010; Biored, 2014).

Na realidade, a importância desta atividade agro-marítima era tal que, em 130McHugh, 2003, D. Dinis menciona no seu foral regulamentação em relação à apanha e uso de algas marinhas pela população, mais especificamente em relação à Povia de Varzim, mantida em 1515 por D. Manuel, onde refere que “todo o argaço que seja em termo da dicta pobra o aiam os pobradores dela”, esta primeira regulamentação mostra o quão importante a prática era para a subsistência daquelas famílias pois desta forma aqueles sargaceiros ficavam isentos de pagar dízimos das suas receitas com o sargaço (Oliveira *et al*, 1990)

A apanha do sargaço foi perdendo interesse devido não só ao crescente uso de fertilizantes químicos, mas principalmente devido ao aumento da emigração da população rural costeira, que levou ao declínio das culturas rurais. Apesar do abandono destas práticas, hoje em dia ainda é possível encontrar algumas famílias que perpetuam esta prática ancestral documentada desde o século XIV (Oliveira *et al*, 1990; Pereira, 2010; Biored, 2014).

A nível mundial, a utilização de macroalgas como fertilizantes também teve uma queda muito acentuada, sendo que atualmente, com a crescente popularidade da agricultura biológica devido aos efeitos dos produtos químicos no ambiente, esta tendência tem vindo a mudar e já são muitos os fertilizantes líquidos à base de estratos de algas marinhas disponíveis. Contudo em Portugal estes fertilizantes ainda não têm muita expressão, não sendo fácil encontrar estes produtos à venda em lojas da área (McHugh, 2003; Sultana *et al*, 2010)

1.4 *Ascophyllum nodosum*

O *Ascophyllum nodosum*, vulgarmente conhecido como Kelp Norueguês, é uma alga castanha (classe Phaeophyceae) da família Fucaceae, sendo a única espécie pertencente ao género *Ascophyllum* (Guiry *et al*, 2014).



Figura 1. *Ascophyllum nodosum*

É uma alga perene com crescimento lento, podendo viver até 15 anos em locais protegidos das ondas, onde forma maciços densos. Crescendo fixa a substratos rígidos, através de um disco basal, possui talos que podem atingir cerca de 60 centímetros de comprimento. As suas frondes são espessas, com coloração verde-azeitona e podem ter entre 0,5 a 2 metros de comprimento. Ao longo de todo o seu comprimento, em intervalos regulares, possuem vesículas aeríferas com formato ovoide cuja função é manter as frondes eretas durante a maré alta, para que captem maior quantidade de luz (Guiry *et al*, 2014; Fernandes *et al*, 2011).

O *Ascophyllum nodosum* cresce dentro da zona médiolitoral ao longo da costa do Atlântico e portanto pode ser encontrada na costa Norte de Portugal. Os seus limites de distribuição estão limitados pela sua capacidade de resistir a temperaturas elevadas e à dessecação (Guiry *et al*, 2014).

É uma alga com elevados teores em hidratos de carbono e outras substâncias como aminoácidos, hormonas naturais, alginatos, minerais, oligoelementos, entre outros, que lhe conferem propriedades bioestimulantes, e portanto, atua nos processos metabólicos das plantas, promovendo o fortalecimento das estruturas vegetais e raízes saudáveis (Fernandes *et al*, 2011; Plantytec, 2014).

Ao nível das plantas, vários trabalhos na literatura demonstram que fertilizantes à base de *Ascophyllum nodosum*, à semelhança de outras algas castanhas, apresentam importantes funções ao nível dos processos fisiológicos e bioquímicos, das quais se destacam: estimulação da divisão celular, controlo e promoção do crescimento apical, melhoramento da elasticidade e plasticidade celular, e maior capacidade de resistência a diversos fatores abióticos (Fernandes *et al*, 2011).

Atualmente são vários os fertilizantes líquidos que contêm na sua composição extratos de *Ascophyllum nodosum*, devido a esta alga ser a que apresenta melhores resultados como bioestimulante vegetal. De acordo com Kaseker *et al* (2014) foram conduzidos experimentos com diferentes plantas, como couve, batateira, alface, feijoeiro, cenoura e maracujá, onde, na maioria dos casos, verificou-se que os extratos desta alga promoveram o crescimento das plantas e aumentaram a sua produtividade.

Embora o conteúdo das macroalgas possa variar consoante a altura do ano, zona geográfica e diferentes condições bióticas e abióticas a que estas estão sujeitas, é possível determinar aproximadamente a sua composição mineral e nutricional (Tabela I e II) (FAO, 2014; Agrimer 2014).

Tabela I - Composição mineral da alga *Ascophyllum nodosum*. Valores expressos em mg/100g de alga seca.

Elemento mineral	<i>Ascophyllum nodosum</i>
Sódio	3500 ± 707,11
Potássio	2500 ± 707,11
Cálcio	2000 ± 1414,21
Magnésio	700 ± 282,8 4
Ferro	57,5 ± 60,10
Cobre	0,6 ± 0,00
Chumbo	–
Crómio	–
Níquel	0,35 ± 0,21
Cádmio	–
Zinco	12,5 ± 10,61
Manganês	30 ± 28,28

Tabela II - Composição nutricional da alga *Ascophyllum nodosum*. Valores * expressos relativamente à matéria seca (%).

Elemento	<i>Ascophyllum nodosum</i>
Humidade (%)	25 ± 7,07
Cinza (%)*	18,5 ± 2,12
Proteína (%)*	7,5 ± 3,54
Lípidos (%)*	3 ± 1,41
Hidratos de carbono (%)*	53 ± 9,90

1.5 *Sargassum muticum*

O *Sargassum muticum*, vulgarmente conhecido como “erva daninha Japonesa” ou “sargaço Japonês”, é uma alga castanha (classe Phaeophyceae), da família Sargassaceae, pertencente ao género *Sargassum* (Guiry *et al*, 2014; Guiry *et al*, 2014).

É uma alga pseudo-perene, com crescimento rápido e com grande capacidade de regeneração, podendo viver até 4 anos. Crescendo na zona superior do patamar infralitoral e mediolitoral, fixa ao substrato através de um disco, possui uma haste basal perene e ramos primários anuais, nos quais se dispõem ramos foliáceos em espiral. A sua coloração varia consoante a época do ano, indo desde o castanho-escuro até ao castanho amarelado. Ao longo dos seus ramos possui muitos



Figura 2. *Sargassum muticum*

aerocistos esféricos, cuja função é manter a alga ereta dentro de água e permitir que esta cresça à superfície, originando massas flutuantes (Guiry *et al*, 2014; Guiry *et al*, 2014).

É nativa do Japão, onde tem um crescimento controlado (atingindo 2 metros de comprimento), e encontra-se disseminada por vários países, onde é altamente invasiva (atingindo, por vezes, 16 metros de comprimento) (Guiry *et al*, 2014; Guiry *et al*, 2014).

Introduzida na Europa acidentalmente, por volta dos anos 1970, rapidamente se disseminou ao longo das zonas costeiras. De acordo com alguns estudos, o potencial invasivo e colonizador desta espécie é conferido pela sua grande capacidade reprodutiva e por ter um longo período fértil, aliado à sua capacidade de se desenvolver em substratos densamente ocupados por outras espécies de algas marinhas (Monteiro *et al*, 2009; Sánchez *et al*, 2005)

O *Sargassum muticum*, tal como outros organismos invasores, provoca impactes negativos para a biodiversidade nativa dos locais onde é inserida com sucesso, modificando a estrutura e funcionamento desses ecossistemas. A nível dos ecossistemas marinhos, sabe-se que a diminuição da biodiversidade e alteração da sua dinâmica natural está relacionada principalmente com as invasões biológicas (Englen *et al*, 2008; Davison, 2009; Sánchez *et al*, 2005).

Esta espécie de alga é bastante invasora, não só pela sua grande capacidade reprodutiva, mas também pela sua capacidade de se adaptar a diferentes condições ambientais e não possuir predadores (Englen *et al*, 2008; Davison, 2009). O tipo de crescimento dos indivíduos desta espécie origina massas flutuantes, que cobrem grandes porções da superfície do mar, o que provoca problemas a nível do tráfego de pequenos barcos de pesca e a nível da biodiversidade nativa. A presença destas massas flutuantes impede que uma grande parte da luminosidade solar, essencial para que ocorra fotossíntese, chegue às algas nativas que se encontram submersas, levando ao seu desaparecimento. Por sua vez, o desaparecimento da fauna nativa leva a uma diminuição acentuada da biodiversidade de herbívoros já que, devido à presença de metabolitos que reduzem a palatabilidade, os herbívoros não se alimentam do *Sargassum muticum* (Guiry *et al*, 2014; Davison, 2009; Coimbra, 2006).

A nível económico, espécies do género *Sargassum*, incluindo a espécie *Sargassum muticum*, são utilizadas como fonte de alginato e compostos com atividades antitumorais, antibacterianas, antioxidantes, antifúngicas e algicidas, que podem ser aplicados na indústria têxtil, alimentar e farmacêutica. Alguns autores referem que em determinadas zonas do globo, como nas Filipinas e Vietname, espécies deste género são empregues como fertilizantes agrícolas por habitantes locais (McHugh, 2003; Coimbra, 2006).

A nível do seu conteúdo nutricional e mineral, a par de todas as outras algas castanhas (classe Phaeophyceae), o *Sargassum muticum* é uma alga que apresenta propriedades nutricionais relevantes, como a sua elevada composição mineral (Tabela III e IV), mostrando assim o seu potencial como fonte de matéria-prima para a produção de extratos líquidos com vista à aplicação como fertilizantes agrícolas (Pedrosa *et al*, 2010).

Tabela III - Composição mineral da alga *Sargassum muticum*. Valores expressos em mg/100g de alga seca

Elemento mineral	<i>Sargassum muticum</i>
Sódio	1820 ± 78
Potássio	2229 ± 18
Cálcio	1206 ± 95
Magnésio	1535 ± 72
Ferro	14,83 ± 0,71
Cobre	0,64 ± 0,13
Chumbo	0,41 ± 0,09
Crómio	0,45 ± 0,08
Níquel	0,46 ± 0,00
Cádmio	0,02 ± 0,01
Zinco	1,80 ± 0,13
Manganês	1,14 ± 0,06

Tabela IV - Composição nutricional da alga *Sargassum muticum*. Valores * expressos relativamente à matéria seca (%)

Elemento	<i>Sargassum muticum</i>
Humidade (%)	90 ± 0,01
Cinza (%)*	183 ± 0,1
Proteína (%)*	13,3 ± 0,7
Lípidos (%)*	1,4 ± 0,2
Hidratos de carbono (%)*	57 ± 0,0

1.6 Agricultura em Portugal

A agricultura é uma prática ancestral que acompanha o Homem desde que este começou a alterar a sua forma de vida nómada para sedentária, por forma a garantir o seu alimento e subsistência. Apesar das mudanças e evolução constante que o Homem e a sociedade têm sofrido, a agricultura continua a desempenhar um papel fundamental pois é a partir dela que o Homem obtém a maioria dos seus alimentos (Girão *et al*, 2004).

Em Portugal as explorações agrícolas encontram-se muito ligadas ao tradicionalismo e cultura, sendo predominante um modelo de agricultura familiar, onde independentemente das explorações serem de grande ou pequena dimensão, a mão-de-obra predominante é familiar, cerca de 80% da mão-de-obra total agrícola (Girão *et al*, 2004).

O modelo de agricultura familiar, designado também como “agricultura familiar”, é uma prática que pode ter realidades diferentes de acordo com o país ou regiões onde está inserida, isto é, num país desenvolvido tecnologicamente será espetável que os rendimentos sejam elevados e o inverso em países subdesenvolvidos. De uma forma geral,

a agricultura em Portugal é maioritariamente composta por explorações agrícolas de pequenas dimensões com baixos rendimentos associados, no entanto têm um grande relevo no que diz respeito à subsistência económica de muitas famílias, cerca de 40% da população, e à sustentabilidade da economia das regiões rurais (Girão *et al*, 2004; DGE, 2004).

Há várias décadas que as famílias ligadas à exploração agrícola em Portugal enfrentam muitos desafios que colocam em causa a sua sustentabilidade, como é o caso do difícil acesso a terras com grandes dimensões, envelhecimento da população, dificuldades económicas para inovar e modernizar os sistemas e infraestruturas, e baixa capacidade de negociação com mercados internacionais (Girão *et al*, 2004; DGE, 2004).

Com vista a revitalizar a agricultura portuguesa e aumentar a sua rentabilidade, foi criado o serviço de aconselhamento agrícola (SAA) de forma a facilitar a introdução de novos conhecimentos e fatores de inovação, estruturar e delinear técnicas de gestão mais efetivas, e criar pontes de ligação entre pequenos produtores de forma a aumentar a sua capacidade de negociação com grandes mercados internacionais (Girão *et al*, 2004; DGE, 2004).

A introdução de novas práticas agrícolas bem como a introdução de novas tecnologias através o SAA, ainda que pouco expressiva, tiveram impactes bastante negativos para os recursos naturais e para a paisagem, já que promoveu o abate indiscriminado de florestas nativas para plantação de árvores de corte ou conversão em terrenos agrícolas e o uso excessivo de fertilizantes sintéticos e pesticidas que levou à erosão dos solos. A erosão dos solos com estes agentes químicos levou ao declínio da sua fertilidade, já que levou a perdas do conteúdo em matéria orgânica, da capacidade de retenção de água e alteração e perda das comunidades bióticas dos solos (Quercus – Agricultura industrializada).

Hoje em dia o tema “agricultura” tem sido o foco de vários debates tanto políticos como sociais, por se considerar que é uma prática importante sob o ponto de vista de ser essencial para que Portugal suporte e ultrapasse a crise económica em que se encontra mergulhado. No entanto, é essencial que o desenvolvimento agrícola no país siga uma via sustentável, promovendo a continuação de uma agricultura tradicional (montados e pastorícia) e a criação de um modelo agrícola biológico ou integrado, na medida em que se reduza o recurso a agentes químicos/sintéticos e se promova a utilização de fertilizantes

naturais e agentes biológicos aliados à inovação e tecnologia (Simões *et al*, 2008; Quercus – agricultura sustentável).

Portugal é um país rico em produtos tradicionais regionais que, por fazerem parte do nosso património cultural, têm uma elevada notoriedade perante os consumidores nacionais e internacionais. Desta forma, a união de práticas agrícolas mais biológicas com a recuperação de tradições ligadas ao mar, como é o caso do recurso a macroalgas como fertilizantes, para além de contribuir para a preservação e recuperação do ambiente também contribui para o dinamização e desenvolvimento das economias locais (Girão *et al*, 2004).

O caminho a percorrer no sector agrícola em Portugal ainda é longo, mas com o interesse a adesão de muitos jovens à agricultura, através de incentivos dados pelo Governo e pela União Europeia, vem facilitar a revitalização deste sector. Desta forma é fulcral que seja incutido aos novos agricultores a adoção de um modo de produção biológico tanto em explorações em solo como sem solo (hidroponia) (Martinho, 2013; Rosa, 1996). A hidroponia, numa visão geral, é uma técnica que tem vindo a ser amplamente difundida pelo mundo e consiste em cultivar as plantas num sistema fechado, sobre bancadas, em fluxo líquido com os nutrientes necessários. Este método de produção veio resolver vários problemas, que vão desde a utilização de espaços cujo solo se encontra bastante desequilibrado e poluído, à preservação do ambiente evitando a lixiviação de produtos (Martinho, 2013; Rosa, 1996).

A capacidade que o país tem de satisfazer as necessidades da população, em termos de produtos agrícolas, é cerca de 70%, no entanto a gama de produtos é bastante diversificada e de elevada qualidade, principalmente no que se refere a produtos vegetais. Os principais produtos vegetais produzidos são uvas (para produção de vinho), hortícolas (como o tomate, couve e alface) e culturas arvenses (como trigo, milho e arroz). Tendo em conta que atualmente o arroz representa uma das culturas arvenses mais exploradas em Portugal e com grande relevo na economia da zona centro do país, juntamente com a cultura de alface que é uma hortícola produzida amplamente tanto em culturas de solo como em culturas sem solo (hidroponia), por todo território nacional, torna-se importante realizar estudos que permitam aliar estas culturas à revitalização da tradição do uso de macroalgas (DGE, 2004; INE, 2014; OMAA *et al*, 2013)

O arroz cultivado em Portugal, designado cientificamente por *Oryza sativa L.*, é uma planta herbácea anual da família Poaceae, pertencente ao género *Oryza* e às subespécies Japónica ou Índica, consoante a altura da planta e tamanho do grão. Originária do sudeste Asiático, encontra-se disseminada por quase todo o mundo e é o segundo cereal mais consumido, por ser a base da alimentação da maioria da população humana (Pitombeira, 2006).

Esta espécie pode atingir entre 0,6 a 2 metros de altura e desenvolve um sistema radicular composto por longas e finas raízes fibrosas que lhe permitem fixar-se rapidamente ao solo e obter os nutrientes necessários para o seu desenvolvimento. A nível da parte aérea é composta por um colmo principal, formado por nós e entre nós, dando em cada nó uma folha oposta à anterior e uma gema que, quando associada aos nós inferiores, origina um perfilho. Assim cada colmo vai originando perfilhos sucessivamente, formando uma touceira que pode ter até 50 colmos. Cada colmo termina numa inflorescência conhecida como panícula de onde saem as flores e se formam as sementes (Pitombeira, 2006).

A alface, designada cientificamente por *Lactuca sativa L.* é uma hortaliça anual de porte herbáceo pertencente à família Astraceae e ao género *Lactuca*, que tem vindo a ser cada vez mais produzida em Portugal. Oriunda do continente europeu e asiático, esta hortícola é das mais consumidas no mundo e pode ser cultivada ao longo de todo o ano (Henz *et al*, 2009).

Morfologicamente esta planta pode ser separada em três grupos, de acordo com as características das folhas: um grupo que constitui as alfaces verdes de folhas lisas, outro composto por alfaces verdes com folhas frisadas e um grupo de alfaces cuja coloração das folhas é roxa. A parte aérea apresenta folhas dispostas em forma de roseta ou repolho, consoante a variedade, em torno do caule e a parte radicular apresenta raízes superficiais bastante finas e muito ramificadas (Henz *et al*, 2009).

1.7 Objetivo do trabalho

O *Sargassum muticum*, a par de outros organismos invasores, estabelece interações com espécies de algas existentes nos locais onde é inserida, originando mudanças nas espécies dominantes e afetando todo o ecossistema marinho local. Para além dos impactes ambientais sobre os ecossistemas marinhos, estas algas por formarem grandes massas flutuantes, trazem prejuízos para as atividades marinhas já que dificultam a navegabilidade de pequenas embarcações e interferem com o uso de canas e redes no exercício da atividade das pescas tanto recreativas como profissionais (McHugh, 2003).

Começa a ser essencial que se tomem medidas para combater a proliferação e adensamento destas macroalgas ao longo da costa portuguesa. Desta forma, o objetivo principal deste trabalho visa avaliar a potencialidade que os extratos obtidos a partir do *Sargassum muticum* têm como fertilizante agrícola, numa tentativa de incentivo à apanha/remoção desta alga aliado a uma possível dinamização da economia local com vista à criação de indústria produtora de fertilizantes líquidos.

Visto serem escassas as informações a cerca das potencialidades do *Sargassum muticum* como agente fertilizante, serão avaliados também extratos da alga *Ascophyllum nodosum*, não só como modelo de comparação com o *Sargassum muticum*, por ser uma alga muito estudada, mas também para avaliar o seu potencial fertilizante. Note-se que devido à composição do conteúdo das macroalgas ser variável consoante o meio onde se desenvolvem, é importante que ambas as algas sejam colhidas no mesmo local e condições e, apesar de vários estudos com a alga *Ascophyllum nodosum* a composição desta alga pode variar por se desenvolver na nossa costa e o seu potencial fertilizante ser aumentado ou diminuto em comparação com as que são colhidas em outras zonas geográficas e em diferentes alturas do ano.

De forma a ser possível concretizar-se os objetivos, procedeu-se á obtenção de diferentes extratos algais e a diversos ensaios em diferentes condições para se avaliar o potencial efeito sobre a germinação de sementes, crescimento e desenvolvimento das plantas, bem como o aumento do rendimento a nível de matéria seca e efeitos no solo.

1.8 Caracterização do trabalho experimental

A avaliação do potencial dos extratos das algas marinhas *Sargassum muticum* e *Ascophyllum nodosum* (Phaeophyceae) como fertilizante agrícola, foi realizado num trabalho de colaboração entre a Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra, com a orientação do Professor Doutor Leonel Pereira, e a Escola Superior Agrária de Coimbra, com a co-orientação do Professor Doutor Kiril Bahcevandziev.

Inicialmente procedeu-se à colheita e processamento do material algal, de forma a se obter dois extratos líquidos para cada alga. Um extrato proveniente dos resíduos resultantes de extrações com solventes para a obtenção de moléculas com interesse farmacêutico, designado por extrato aquoso processado (EAP), e outro extrato obtido pela redução das algas a partículas muito finas suspensas em água destilada, designado por extrato aquoso bruto (EAB).

As espécies vegetais utilizadas neste trabalho foram duas variedades de *Oryza sativa* L. (comummente denominada arroz) e duas variedades de *Lactuca sativa* L. (comummente denominada alface). Os bioensaios para avaliar o potencial dos extratos líquidos de ambas as algas decorreram em três etapas: a) uma primeira etapa correspondente à cultura de plantas de arroz em vaso, entre os meses Maio e Outubro de 2014; b) uma segunda etapa correspondente a bioensaios de germinação de sementes de arroz e sementes de alface em ambiente controlado, entre os meses de Dezembro 2014 e Fevereiro 2015; c) bioensaios de campo com plantas de alface em solo num sistema de vasos e em hidroponia, entre os meses de Março e Junho de 2015.

Com estes bioensaios pretendeu-se avaliar quais os efeitos que a adição dos extratos líquidos tem sobre a germinação de sementes, o crescimento e desenvolvimento de plantas de arroz e de alface, bem como o seu efeito nas propriedades químicas do solo ao fim de um ciclo de cultura de alface.

Para tratamento estatístico dos dados, realizou-se uma análise de variância (ANOVA) e as médias e desvios-padrão foram comparados usando o teste de Tukey para um nível de significância de $p < 0,05$, com recurso às ferramentas de análise estatística do Microsoft Excel e ao *software* PAST. Todos os resultados expressos em percentagens foram primeiro convertidos em valores de arco-seno e só depois realizados os tratamentos estatísticos.

2. Material e Métodos

2.1 Material Vegetal

O material vegetal utilizado nos bioensaios de germinação foi sementes das variedades ‘Sprint’ e ‘Ronaldo’ da espécie *Oryza sativa L.* subespécie japónica, provenientes do banco de sementes de arroz da DRABL, e das variedades ‘Maravilha de inverno’ (folha verde) e ‘Maravilha das quatro estações’ (folha roxa) da espécie *Lactuca sativa L.*, adquiridas no produtor e revendedor Casa César Santos.

Para o bioensaio com plantas de arroz cultivadas em vaso, utilizaram-se plantas obtidas pela germinação de sementes de *Oryza sativa L.* ‘Sprint’ em condições controladas na ESAC. Para tal, foram selecionadas cerca de 80 sementes e colocadas, duas a duas, em tubos de falcon com água destilada, tendo o cuidado de manter o nível de água constante para que as sementes se mantivessem sempre hidratadas e não houvesse risco de stress hídrico. Ao fim de quatorze dias as plantas apresentavam duas folhas verdadeiras para serem colocadas em vasos com terra agrícola esterilizada.

Para o bioensaio com as plantas de alface, tanto em solo como em hidroponia, utilizaram-se plantas obtidas pela germinação de sementes de *Lactuca sativa L.* ‘Maravilha de inverno’ e *Lactuca sativa L.* ‘Maravilha das quatro estações’, em estufa na ESAC. Para tal colocou-se uma mistura de turfa, perlite e vermiculite numa proporção de 1:1:1 em bandejas de sementeira de poliestireno de alta densidade, com 216 alvéolos (18cm x 12cm), e um total de três sementes por cada alvéolo. Para cada variedade semearam-se duas bandejas, que foram colocadas numa estufa do tipo túnel e mantidas húmidas durante 6 semanas, altura em que as plantas estavam com tamanho adequado para serem transplantadas (3 a 4 folhas).

2.2 Material algal

a) Colheita do material algal

O local escolhido para a colheita das algas marinhas *Sargassum muticum* e *Ascophyllum nodosum* foi a Praia Norte (GPS 41.693671 -8849445), situada no Concelho de Viana do Castelo (Fig. 2A). Trata-se de uma zona de costa rochosa, com uma grande área de rochas protegida da ondulação, onde existem uma das poucas populações de *Ascophyllum nodosum* em Portugal.

A colheita realizou-se durante a maré baixa, na zona médiolitoral abrigada da ondulação. Os exemplares foram colhidos manualmente com auxílio de luvas e uma faca, tendo-se o cuidado de lavar bem os talos no próprio local, de forma a libertar sujidades e organismos a eles aderidos.

Posteriormente, as algas de cada espécie foram devidamente embaladas em sacos plásticos identificados e acondicionadas numa mala isotérmica, para manter uma temperatura baixa constante e evitar a degradação das algas até chegarem ao laboratório.

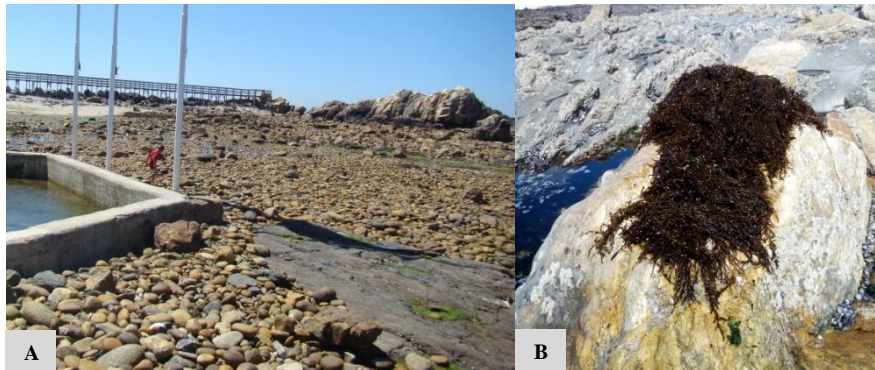


Figura 2. A) Praia Norte, Viana do Castelo; B) Colheita de *Sargassum muticum*

b) Preparação do material algal

Inicialmente procedeu-se à lavagem das algas com água do mar filtrada, para garantir que o material ficasse livre de contaminantes. De seguida separou-se o material em duas partes, uma para a obtenção do extrato aquoso bruto e outra para a obtenção do extrato aquoso processado.

O material com vista á extração aquosa bruta foi então lavado com água destilada, para remover a água salgada agregada à superfície das algas, e foram imediatamente utilizadas.

O material com vista à extração aquosa após extração com solvente, foi disposto em bandejas e colocado a secar numa estufa de secagem com ventilação de ar forçada, a 35°C (Fig. 4A), durante 48 horas. Após secagem, o material algal foi moído com recurso a um moinho de grãos, pesado e guardado em frascos de vidro devidamente identificados e hermeticamente fechados até o início da extração (Fig. 4B).



Figura 4. A) Colocação do material algal em estufa de secagem com ventilação forçada; B) Material algal moído e armazenado.

2.3 Obtenção dos extratos líquidos algais

a) Obtenção do extrato aquoso processado

Inicialmente foi delineado um protocolo de extração sequenciada, de acordo com Carvalho (2013), seguindo um protocolo utilizado para a obtenção de moléculas com propriedades farmacêuticas, cujo resíduo da extração por solventes é o material de partida para a obtenção do extrato aquoso processado. O protocolo inicial consistia numa extração sequencial, onde a mesma amostra é usada do início ao fim do processo e passa primeiramente por uma fase onde se procede a uma extração com hexano, outra onde se procede a uma extração com metanol e por fim uma extração com água destilada a 100 °C.

Como este protocolo acarreta custos elevados, devido aos volumes necessários de hexano e metanol, determinou-se que estes solventes seriam substituídos por etanol já que, teoricamente, o resíduo obtido nesta extração por solvente tem um conteúdo semelhante e, com recurso a um evaporador rotativo com bomba de vácuo, é possível reutilizar grande do etanol. Em cada extração foi obtido um volume de 2500 mL de extrato aquoso processado, sendo repetido este processo sempre que necessário mais quantidade deste.

Começando o processo, foram adicionados 25g de alga seca a 500 mL de etanol (proporção 1:20) num gobelé com um magneto, o qual se mantém em agitação durante 20 minutos à temperatura ambiente. Decorrido esse tempo, deixa-se a amostra repousar por 1 minuto e procede-se à sua filtração. A filtração é feita em vácuo, com o auxílio de filtros de sílica em funil com porosidade G3 acoplados a quitasatos. Assim, sob vácuo, verte-se o conteúdo do gobelé para o filtro, onde o solvente é recuperado para o quitasato e a amostra inicial fica retida no filtro de sílica. Transfere-se o solvente recuperado no quitasato para um frasco devidamente identificado e fechado com papel de filtro, de forma a evitar perdas de solvente. A amostra seca retida no filtro de sílica é novamente colocada no gobelé com

o magneto e submetida a nova extração com etanol, repetindo-se este processo até que a solução de etanol fique translúcida. Note-se que inicialmente a amostra tem uma coloração esverdeada bastante intensa mas à medida que se vai repetindo o processo ela vai ficando translúcida, isto deve-se ao facto do solvente remover grande parte dos compostos polares e apolares existentes na amostra, aos quais as clorofilas se encontram associadas e portanto a cor esverdeada vai “desaparecendo” à medida que a amostra vai ficando sem esses compostos.

Após a extração com etanol seguiu-se a etapa da extração aquosa, na qual se adiciona água destilada à amostra numa proporção de 1:100. Para tal recorre-se a uma proveta de vidro graduada para medir 2500 mL de água destilada que é vertida para um erlenmeyer. O erlenmeyer é colocado numa placa de aquecimento, até que a água destilada atinja 100°C.

Atingindo os 100°C, adicionou-se a amostra à água e deixa-se a esta temperatura durante 2 horas, com recurso a ligeira agitação, para que ocorra a extração. Findo desse tempo, deixa-se a solução arrefecer e procede-se à filtração a vácuo com recurso a um filtro de sílica com porosidade G2 acoplado a um quitasato (da mesma forma que se procedeu na extração com etanol). A parte da amostra que ficou retida no filtro de sílica foi descartada e a solução obtida no quitasato é o extrato aquoso processado, que foi armazenado a 4°C num frasco hermeticamente fechado.

Este protocolo foi aplicado para as duas algas em estudo, obtendo-se assim um extrato aquoso processado de *Ascophyllum nososum* e um extrato aquoso processado de *Sargassum muticum*.

b) Obtenção do extrato aquoso bruto

O extrato aquoso bruto é um extrato que consiste na redução do material algal a partículas de pequenas dimensões suspensas em água destilada, onde estão presentes todos os constituintes das algas.

Inicialmente procedeu-se ao corte das algas com recurso a uma tesoura de alimentos, de forma a reduzir o seu tamanho. Colocaram-se as algas num recipiente e adicionou-se água destilada na proporção de 1600 mL de água destilada por cada quilograma de alga. As algas juntamente com a água destilada foram então colocadas numa Bimby[®] até se obter um “sumo”, repetindo-se o processo até que todas as algas fiquem liquidificadas.

O “sumo” obtido foi novamente triturado, mas com recurso a uma varinha mágica com 750W de potência, e posteriormente filtrado por um conjunto de filtros composto por um coador de rede metálico e por dois coadores de pano acoplados de forma a remover as partículas de maiores dimensões. A solução filtrada obtida é então o extrato aquoso bruto das algas, este foi armazenado a uma temperatura entre 2 e 4°C em garrações de plástico devidamente identificados e selados com parafilme.

O protocolo foi aplicado para as duas algas em estudo, obtendo-se assim um extrato aquoso bruto de *Ascophyllum nososum* e um extrato aquoso bruto de *Sargassum muticum*.

1.1. Bioensaios de germinação

No bioensaio de germinação recorreu-se a sementes de duas variedades de alface (*Lactuca sativa L.*), uma variedade com folhas verdes (‘Maravilha de inverno’) e outra variedade com folhas roxas (‘Maravilha das quatro estações’), e duas variedades de arroz (*Oriza sativa L.*), a variedade ‘Sprint’ e a variedade ‘Ronaldo’. As foram armazenadas a uma temperatura próxima de 4°C às escuras até início dos experimentos.

Os extratos algais EAB e EAP de cada uma das algas foram considerados como sendo 100% concentrados, utilizando-se neste experimento, o extrato concentrado e diluído sequencialmente com água destilada, isto é, 75%, 25% e 0% (controle), sendo que para cada solução fizeram-se 4 repetições (Silveira, 2010).

Selecionaram-se caixas de petri com 140 mm de diâmetro, onde se colocou 1 folha de papel de filtro sobre algodão e procedeu-se à sua esterilização numa autoclave a 121°C durante 20 minutos. O diâmetro das caixas foi determinado de maneira a garantir que as sementes tenham área disponível e oxigénio;

Em cada caixa de petri foram adicionados 50mL do extrato a ser avaliado, de maneira a que o papel fique humedecido mas não haja formação de uma lâmina, evitando a restrição da aeração. Foram então distribuídas 25 sementes sobre o papel de filtro, à mesma distância umas das outras (Figura 5 A e B), e colocadas as caixas numa câmara de germinação a uma temperatura 25°C ± 2°C, durante 7 dias (Figura 5 C). O fotoperíodo não foi em condições controladas já que houve recurso a luz natural. Para cada uma das concentrações dos extratos e espécie/variedade de sementes foram realizadas quatro repetições.

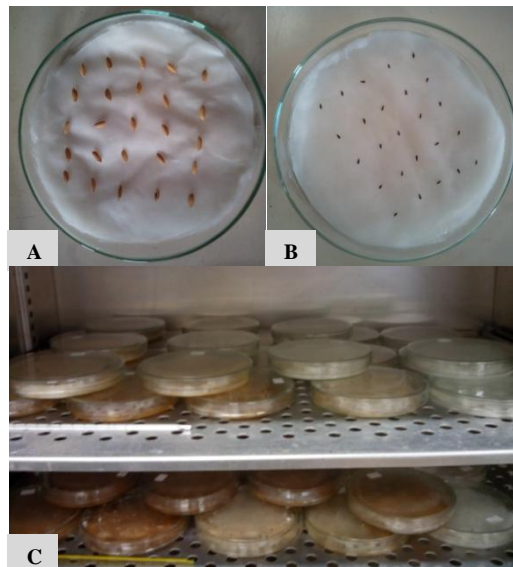


Figura 5. A) Sementes de arroz; B) Sementes de alface; C) Colocação na câmara de germinação

A avaliação dos potenciais efeitos dos extratos sobre a germinação, foi feita tendo em conta diferentes parâmetros:

a) Percentagem de germinação;

A percentagem de germinação é obtida pela contagem inicial das sementes ainda não germinadas e uma contagem final após decorrido o tempo necessário para a germinação das sementes utilizadas. Existem protocolos que determinam que a última contagem de sementes para a determinação da percentagem de germinação deve ao sétimo dia para sementes de alface e décimo quarto dia para sementes de arroz. No entanto, antes de iniciar o processo de germinação, determinou-se um protocolo adaptado às condições e sementes utilizadas, sendo que se verificou que ao fim de 2 dias as sementes de ambas as espécies já apresentavam sementes germinadas e a partir do sétimo dia não se verificou continuação da germinação.

É importante que a última contagem seja feita após a estabilização da germinação, de forma a evitar a ocorrência de resultados equivocados, uma vez que o número de sementes não germinadas nas placas pode ser em função do período de tempo insuficiente para que o processo germinativo ocorra e não em resposta aos tratamentos impostos. Desta forma ficou delineado que a contagem final seria no sétimo dia para ambas as espécies, considerando-se que ocorreu germinação assim que a radícula atingiu 1,5mm de comprimento.

b) Índice de velocidade de germinação (IVG):

O índice de velocidade de germinação permite-nos determinar a velocidade que determinada semente ou conjunto de sementes leva até que o processo germinativo esteja completo. Este será medido de acordo com a fórmula de Maguire (1962):

$$IVG = (G1 / N1) + (G2 / N2) + \dots + (Gn / Nn)$$

Onde,

G1 = número de sementes germinadas na primeira contagem

N1 = número de dias decorridos até a primeira contagem

G2 = número de sementes germinadas na segunda contagem

N2 = número de dias decorridos até a segunda contagem

n = última contagem

Neste trabalho, tendo em conta que as sementes atingem o período de estabilização do processo germinativo ao fim de sete dias, estabeleceu-se que a primeira contagem seria ao 3º e a segunda ao 7º dia após a colocação das sementes a germinar. Não foi tomado em conta o aparecimento de contaminações como fator inibidor de germinação já que só algumas sementes germinadas apresentavam pequenas contaminações.

c) Percentagem de matéria seca:

Para a determinação da percentagem de matéria seca é necessário obter a biomassa fresca e seca das plântulas de alface e arroz. Para tal foi necessário o recurso a uma balança analítica digital e a uma estufa de secagem com ventilação de ar forçada.

Como a massa total de plântulas em cada tratamento era bastante reduzida, juntaram-se todas as plântulas do mesmo tratamento numa bandeja. Inicialmente procedeu-se à pesagem das plântulas frescas, acabadas de retirar da placa de petri, e após registos colocaram-se estas numa estufa de secagem com ventilação de ar forçada (Fig. 6), a 65 °C durante 48h. Findo esse tempo, reduz-se a temperatura da estufa uma hora antes de abrir para 30 °C e só depois se retiram as placas, uma de cada vez, e fazendo-se imediatamente a

pesagem das plântulas secas. É necessário reduzir a temperatura antes de abrir a estufa, bem como evitar que as plântulas estejam expostas ao ar enquanto não são pesadas, de forma a evitar reidratação do material e alteração dos resultados.

A percentagem de matéria seca foi obtida através da fórmula:

$$\text{Percentagem de matéria seca} = \frac{\text{Biomassa Seca}}{\text{Biomassa Fresca}} \times 100$$

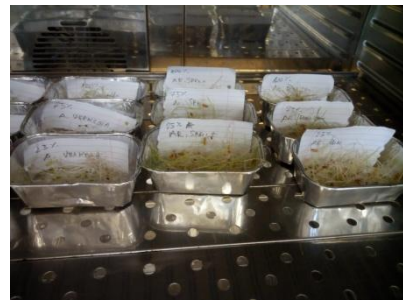


Figura 6. Colocação das plântulas na estufa de secagem

2.4 Bioensaios com plantas de arroz em vaso

As plantas de arroz, obtidas por germinação na ESAC, foram colocadas duas a duas em lados opostos, em vasos com 25 cm de diâmetro, com solo agrícola esterilizado. Os vasos são então colocados lado a lado (Fig. 7), mantendo-se uma distância entre cada um, para evitar que as plantas fiquem encostadas umas das outras. A duração deste experimento foi de 12 semanas de cultura ao ar livre.



Figura 7. Plantas de arroz

Os extratos algais EAB e EAP de cada uma das algas foram considerados como sendo 100% concentrados e aplicados sem adição de água destilada, desta forma foram adicionados 500 mL de extrato concentrado a 1500mL de água no vaso, ou seja, o equivalente ao extrato a 25% de concentração. A aplicação dos extratos é feita uma única vez, um dia após a transplantação das plantas para vasos.

Neste experimento fez-se quatro réplicas para cada tratamento, sendo os tratamentos aplicados: a) EAB de *Sargassum muticum*; b) EAP *Sargassum muticum*, c) EAB de *Ascophyllum nodosum*; d) EAP *Ascophyllum nodosum*; e) Adubo comercial NPK (Mg) 17+11+10 (+2); f) controlo com água.

Para se avaliar os efeitos dos diferentes tratamentos no desenvolvimento das plantas de arroz, procedeu-se ao registo semanal do número de folhas, número de nós, número de perfilhos, largura máxima e comprimento da folha principal, número de panículas.

No registo do número de perfilhos deve-se ter o cuidado de não contabilizar o mesmo mais do que uma vez e garantir que os parâmetros avaliados correspondem sempre ao mesmo colmo, é portanto necessário marcar cada colmo novo com uma linha de cor diferente. As medições da largura máxima e comprimento da folha principal foram feitas com recurso a uma régua graduada milimétrica, sendo que sempre que se procede a medições o vaso deve ser sempre colocado à mesma altura de forma a não influenciar erros nas medições.

2.5 Bioensaios de plantas de alface em vaso

Para este ensaio utilizaram-se as duas variedades de alface ‘maravilha de inverno’ (folha verde) e ‘Maravilha das quatro estações’ (folha roxa), e como substrato uma mistura composta por 80% de turfa profissional Siro® e 20% de areia lavada do rio.

Os extratos algais EAB e EAP de cada uma das algas foram aplicados a 25% de concentração, valor determinado em função do efeito observado durante os ensaios de germinação. A aplicação dos extratos foi efetuada ao fim de 10 e 24 dias após transplantação das plantas, adicionando-se de cada vez 100 mL em cada vaso. O controlo foi composto por vasos que apenas foram regados com água.

Inicialmente procede-se à colocação do substrato nos vasos, cerca de 4L de substrato por vaso, e em seguida à transplantação das plantas de alface, dos alvéolos para os vasos. Cada vaso ficou apenas com uma planta, e foram colocados dentro de uma estufa em túnel onde ficaram até ao final do ensaio.

Para cada extrato foram usados 5 vasos com quatro repetições, num total de 20 alfaces verdes e 20 alfaces vermelhas para cada um deles. Para garantir que não ocorrem erros na aplicação dos extratos e na recolha de dados, cada vaso foi numerado e identificado consoante o extrato que foi aplicado. As regas com água foram realizadas em dias alternados, tendo-se o cuidado de as suprimir durante os dois dias subsequentes à aplicação dos extratos. A duração deste experimento foi de 6 semanas de cultura em estufa.

A avaliação dos potenciais efeitos dos extratos sobre o desenvolvimento das alfaces em solo foi feita tendo em conta diferentes parâmetros:

d) Diâmetro da parte aérea:

O diâmetro da parte aérea foi obtido através da medição da largura ocupada pelas folhas, com recurso a uma régua graduada milimétrica.

De forma a se obter um valor mais fidedigno, visto que as folhas das alfaces não formam uma circunferência perfeita, é necessário proceder a várias medições e achar uma média cujo valor será o mais exato (Fig. 8 A). Para isso colocam-se as alfaces sobre um gobelé e, com a ajuda de uma régua graduada milimétrica, procede-se à medição e registo dos diâmetros.

e) Comprimento da raiz principal:

As alfaces têm um sistema radicular bastante ramificado e frágil, portanto para esta avaliação determinou-se que a raiz principal é aquela cujo comprimento é superior a todas as outras. Para proceder à medição colocam-se as alfaces sobre um acrílico branco e, com a ajuda de uma régua graduada milimétrica e uma pinça, procede-se à medição e registo do comprimento (Fig. 8 B).

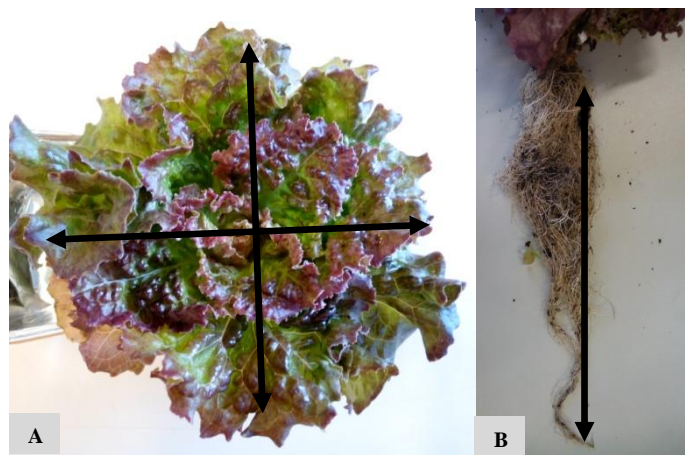


Figura 8. Imagens ilustrativas da medição: A) diâmetro da parte aérea; B) comprimento da raiz principal.

f) Biomassa fresca e seca total da parte aérea e radicular.

Para a determinação da biomassa fresca e seca foi necessário o recurso a uma balança analítica digital e a uma estufa de secagem com ventilação de ar forçada. Inicialmente procedeu-se à separação da parte aérea da parte radicular, através do corte do caule com uma tesoura de poda. Este processo permite-nos obter o peso da parte aérea e radicular separadamente e facilitar o processo de secagem.

A biomassa fresca foi então obtida pela pesagem das alfaces com uma balança analítica digital, sendo que à medida que se fez as pesagens separou-se cada alface (parte aérea e radicular) por bandejas devidamente identificadas. Após as pesagens, as bandejas são então colocadas numa estufa de secagem com ventilação de ar forçada, a 65°C até que o peso estabilize. Como as alfaces não têm todas a mesma dimensão e conteúdo de água, determinou-se que estas seriam mantidas dentro da estufa de secagem até que o peso delas se mante-se estável, sendo que para isso selecionaram-se algumas alfaces que foram pesadas de 24 em 24 horas até não se verificar alteração do seu peso.

Findo o processo de secagem, reduziu-se a temperatura da estufa uma hora antes de abrir para 30°C e só depois se retiram as bandejas, uma de cada vez, fazendo-se imediatamente a pesagem das alfaces. É necessário reduzir a temperatura antes de abrir a estufa, bem como evitar que biomassa seca esteja exposta ao ar de forma a evitar reidratação do material e alteração dos resultados.

2.6 Bioensaios de plantas de alface em hidroponia

O bioensaio com plantas de alface em hidroponia decorreu na empresa Nutrimondego, em Brasfemes, utilizando um sistema piloto de hidroponia NFT (Nutrient Film Technique), que consiste num sistema onde as plantas são colocadas em perfis de PVC e as suas raízes são expostas a um fluxo laminar de nutrientes periódico (Fig. 9) em estufa.

A duração deste experimento foi de 4 semanas de cultura em e o material vegetal utilizado foi as duas variedades de alface ‘Maravilha de inverno’ (alface verde) e ‘Maravilha das quatro estações’ (alface roxa).

Devido a questões de espaço e logística da estufa, só foi possível realizar ensaios com um único extrato, optando-se pelo EAB de *Sargassum muticum* a 25%. A escolha do extrato deveu-se a fatores como o *Sargassum muticum* ser a alga com maior relevo neste estudo, o extrato aquoso bruto ser aquele que possui todos os compostos da alga, e portanto dá uma ideia mais abrangente da sua potencialidade, e a concentração foi escolhida tendo por base os resultados obtidos nos bioensaios de germinação. Como modelo de comparação realizou-se também a cultura de alfaces utilizando a solução de fertirrega adotada pela empresa.

Para cada solução de rega utilizada, foram colocadas nos perfis de PVC 15 plantas de cada uma das variedades, deixando um intervalo entre elas para que tenham espaço suficiente para se desenvolverem. Como o EAB *Sargassum muticum* a 25% apresenta um valor de condutividade elétrica (CE) $5,2 \text{ dSm}^{-1}$, bastante elevado para a cultura de alfaces, optou-se por fazer um ensaio com o valor de CE corrigido para o intervalo de CE adequado a alfaces (entre 1 e 2 dSm^{-1}). As condições de solução de rega utilizadas foram então:

- a) Solução constituída por extrato aquoso bruto de *Sargassum muticum* a 25%;
- b) Solução constituída por extrato aquoso bruto de *Sargassum muticum* a 25%, com correção da condutividade elétrica com água destilada;
- c) Solução de fertirrega da empresa Nutrimondego.

A avaliação dos potenciais efeitos dos extratos sobre o desenvolvimento das alfaces em hidroponia foi feita da mesma forma que a descrita no subcapítulo 2.5 (Bioensaios de plantas de alface em vaso), tendo sido avaliados os mesmos parâmetros.



Figura 9. Sistema hidropónico com e sem plantas de alface

2.7 Análise do efeito dos extratos no solo após cultura de alface

A análise dos extratos líquidos e das amostras de solo antes e após da cultura de alface em vaso, foram realizadas pelo laboratório de solos da ESAC.

Para tal, fez-se uma extração foi com água, na proporção de 1/5 (v/v), 10ml de amostra seca a 38°C com 50 mL de água desmineralizada (ISO 3696:1987). Para tal colocou-se a amostra de solo com água desmineralizada em agitação durante duas horas, findo esse período obtém-se um extrato do qual se determina o teor em fósforo, sódio, potássio, cálcio e magnésio.

Material e Métodos

O teor em fósforo é determinado pelo método colorimétrico do molibdato de amónio em meio com ácido ascórbico, e teor em do sódio, potássio, cálcio e magnésio é determinado por espectrofotometria de absorção atómica.

O pH e a condutividade elétrica foram medidos após extração com água, na proporção de 1/5 (v/v), 10ml de amostra seca a 38 °C com 50 mL de água desmineralizada (ISO 3696:1987). Para tal colocou-se a amostra de solo com água desmineralizada em agitação durante uma hora, findo esse período obtém-se um extrato no qual, com recurso a um medidor de pH elétrico, se mede o valor de pH e em seguida procede-se à sua filtração para medição da CE.

3. Resultados

3.1 Bioensaios de germinação

Nos bioensaios de germinação de sementes foram aplicados os extratos algais EAB e EAP de cada uma das algas, com diferentes concentrações (100%, 75%, 25%), de forma a avaliar a sua influência em diferentes parâmetros como percentagem de germinação (**P.G**), o índice de velocidade de germinação (**IVG**) e a percentagem de matéria seca (**PMS**). No qual foi atribuída a seguinte nomenclatura para cada solução

- T0 – Água destilada (0% extrato algal);
- T1 – EAB *Ascophyllum nodosum*;
- T2 - EAB *Sargassum muticum*;
- T3 - EAB *Ascophyllum nodosum*;
- T4 - EAB *Sargassum muticum*;

a) Percentagem de germinação;

A percentagem de germinação foi avaliada para as diferentes espécies e variedades de sementes utilizadas. Observando a Tabela 4 e 5, correspondentes à variedade de alface verde e à variedade de alface roxas respetivamente, é possível verificar que a percentagem de germinação das sementes de ambas as variedades de alface tem os valores máximos para os meios com 25% de concentração dos diferentes tratamentos, bem como as percentagens de germinação mais baixas para os meios com 100% concentração. A Tabela 6 e a Tabela 7, relativamente às duas variedades de arroz (Ronaldo e Sprint), mostra que as sementes de arroz apresentam um comportamento semelhante às sementes de alface, à medida que aumenta a concentração do meio o valor da percentagem de germinação diminuí.

Comparando os valores obtidos para as sementes de alface e de arroz nos diferentes tratamentos, verifica-se que, sementes de alfases apresentam maior percentagem de germinação no tratamento T2 a 25% de concentração e as sementes de arroz apresentam valores de percentagem de germinação mais elevados no tratamento T4 a 25% de concentração. Comparando os valores obtidos nos tratamentos a 25% de concentração, os quais apresentaram valores mais elevados, com os valores obtidos no tratamento a 0% de

concentração (controle), observa-se que para as sementes de alface e de arroz, os valores da percentagem de germinação são bastante próximos.

b) Índice de velocidade de germinação (IVG):

O valor do índice de velocidade de germinação corresponde à velocidade que uma semente ou um conjunto de sementes leva até que o processo germinativo esteja completo. Nas Tabelas I, II, III e IV, pode-se observar o valor do IVG para cada tratamento e semente. Desta forma, ao comparar os diferentes valores, verifica-se que o índice de velocidade de germinação tanto das sementes de arroz como das sementes de alface varia da mesma forma que os valores da percentagem de germinação, tendo-se registado os valores mais elevados nos tratamentos com 25% de concentração e os valores mais baixos nos tratamentos com 100% de concentração.

Analisando os valores obtidos para as sementes de alface e de arroz nos diferentes tratamentos, verifica-se que, as sementes de alfaces apresentam maior IVG no tratamento T2 a 25% de concentração e as sementes de arroz apresentam valores IVG mais elevados no tratamento T4 a 25% de concentração. Comparando os valores obtidos nos tratamentos a 25% de concentração, os quais apresentaram valores mais elevados, com os valores obtidos no tratamento a 0% de concentração (controle), observa-se que para as sementes de alface e de arroz, os valores do IVG são bastante próximos.

c) Percentagem de matéria seca:

A percentagem de matéria seca obtida a partir dos valores da biomassa fresca e seca totais corresponde à percentagem de matéria seca acumulada nas plântulas após germinação, permitindo determinar a quantidade de água acumulada nas plântulas. Analisando as Tabelas I e II, correspondentes às sementes de alface, é possível verificar que a percentagem de massa seca de ambas as variedades de alface têm os valores máximos para os meios com 100% de concentração dos diferentes tratamentos, bem como as percentagens de massa seca mais baixas para os meios com 25% concentração. Através das Tabelas III e IV, relativamente às duas variedades de arroz, verifica-se que as sementes

de arroz apresentam um comportamento semelhante às sementes de alface, à medida de aumenta a concentração do meio a percentagem de matéria seca nas plântulas aumenta.

Analisando os valores obtidos para as sementes de alface e de arroz nos diferentes tratamentos, verifica-se que, as sementes de alface apresentam maior percentagem de matéria seca no tratamento T2 a 100% de concentração e as sementes de arroz apresentam valores percentagem de matéria seca mais elevados no tratamento T3 a 100% de concentração. Comparando os valores obtidos nos tratamentos a 100% de concentração, os quais apresentaram valores mais elevados, com os valores obtidos no tratamento a 0% de concentração (controlo), observa-se que para as sementes de alface e de arroz, o controlo apresenta valores mais baixos e, portanto, mostra que as plântulas têm maior quantidade de água acumulada. Desta forma, verifica-se que aumentando a concentração do tratamento, o teor de água nas plântulas vai diminuindo e portanto a percentagem de massa seca é superior.

Tabela I. Os dados da tabela correspondem à análise da percentagem de germinação; índice de velocidade de germinação (IVG) e percentagem de matéria seca para plantas de alface verdes

Tratamento		Germinação (%)	IVG	Matéria seca (%)
T0	0%	94	43,76	2,4
T1	100%	72	31,62	5,4
T1	75%	81	36,9	5
T1	25%	95	43,9	4,5
T2	100%	86	38,28	11,7
T2	75%	94	42,76	2,1
T2	25%	99	46,81	2,2
T3	100%	74	38,57	8,3
T3	75%	90	42,52	3
T3	25%	93	43,62	3,1
T4	100%	90	42,19	3,8
T4	75%	92	42,48	2,4
T4	25%	95	45,24	2,9

Tabela II. Os dados da tabela correspondem à análise da percentagem de germinação; índice de velocidade de germinação (IVG) e percentagem de matéria seca para plantas de alface roxas

Tratamento		Germinação (%)	IVG	Matéria seca (%)
T0	0%	93	42,95	2,5
T1	100%	87	39,43	6,2
T1	75%	93	40,9	4,8
T1	25%	94	42,95	3,5
T2	100%	88	40,9	5,7
T2	75%	89	41,05	4,2
T2	25%	95	44,57	3,3
T3	100%	79	37,62	4
T3	75%	79	36,95	2,7
T3	25%	92	43,48	2,9
T4	100%	89	41,71	3,7
T4	75%	93	42,95	2,2
T4	25%	93	43,95	2,0

Tabela III. Os dados da tabela correspondem à análise da percentagem de germinação; índice de velocidade de germinação (IVG) e percentagem de matéria seca para plantas de arroz da variedade Sprint

Tratamento		Germinação (%)	IVG	Matéria seca (%)
T0	0%	89	35,05	38,1
T1	100%	83	21,52	48,0
T1	75%	84	23,48	47,6
T1	25%	92	31,67	44,1
T2	100%	89	22,38	46,4
T2	75%	83	23,52	46,0
T2	25%	92	30,48	39,6
T3	100%	87	27,76	53,9
T3	75%	90	33,86	49,3
T3	25%	92	34,48	36,2
T4	100%	82	30,71	50,6
T4	75%	84	35	48,0
T4	25%	93	38,95	37,9

Tabela IV. Os dados da tabela correspondem à análise da percentagem de germinação; índice de velocidade de germinação (IVG) e percentagem de matéria seca para plantas de arroz da variedade Ronaldo

Tratamento		Germinação (%)	IVG	Matéria seca (%)
T0	0%	79	27,29	30,2
T1	100%	66	23,29	56,8
T1	75%	68	24,05	53,2
T1	25%	72	25,1	38,4
T2	100%	66	14,95	42,8
T2	75%	67	16,24	40,3
T2	25%	72	20,76	32,9
T3	100%	58	18,19	69,1
T3	75%	69	23,19	65,5
T3	25%	69	23,62	61,8
T4	100%	67	27,9	28,5
T4	75%	63	26,67	27,0
T4	25%	75	29,38	25,8

3.2 Bioensaios com plantas de arroz em vaso

Para se avaliar os efeitos dos diferentes extratos de algas no desenvolvimento das plantas de arroz, procedeu-se ao registo semanal e avaliação dos parâmetros: número de perfilhos, número de nós, número de folhas, comprimento e largura máxima da folha principal, e percentagem de panículas. Para facilitar a identificação das soluções utilizadas, atribuiu-se a seguinte nomenclatura para cada solução:

- T0 – Água destilada (0% extrato algal);
- T1 – EAB *Ascophyllum nodosum*;
- T2 - EAB *Sargassum muticum*;
- T3 - EAB *Ascophyllum nodosum*;
- T4 - EAB *Sargassum muticum*;
- T5 – Adubo comercial NPK (Mg) 17+11+10 (+2)

Na Tabela V estão registados os valores das medições e contagens efetuadas para os diferentes parâmetros, de forma a avaliar qual o efeito dos tratamentos no desenvolvimento das plantas. Assim verifica-se que apenas há diferenças significativas no que diz respeito ao número de perfilhos, onde as plantas tratadas com o T5 têm

significativamente mais perfilhos que as plantas tratadas com T0, T1, T2 e T3. Desta forma, as plantas tratadas com o T5 desenvolvem touceiras maiores.

Tabela V. Parâmetros observados para a avaliação do efeito dos extratos de algas no desenvolvimento de plantas de arroz.

Tratamento	Nº Rebentos	Nº Nós	Nº Folhas	Largura da folha principal (cm)	Comprimento da folha principal (cm)
T0	4.00 ± 2.27 a	3,62 ± 1.06 a	3.23 ± 0.33 a	1.11 ± 0.10 a	21.99 ± 2.61 a
T1	2.75 ± 1.58 a	3.50 ± 0.93 a	3.01 ± 0.41 a	1.08 ± 0.12 a	22.53 ± 5.29 a
T2	2.50 ± 2.07 a	3.41 ± 0.90 a	3.12 ± 0.26 a	1.04 ± 0.14 a	22.76 ± 2.62 a
T3	3.75 ± 2.31 a	3.44 ± 0.95 a	3.05 ± 0.29 a	1.05 ± 0.08 a	2.10 ± 2.44 a
T4	5.75 ± 1.83 ab	3.56 ± 1.22 a	3.00 ± 0.18 a	1.08 ± 0.14 a	21.93 ± 2.81 a
T5	14.63 ± 3.11 b	3.82 ± 1.37 a	3.43 ± 0.57 a	1.14 ± 0.14 a	22.66 ± 3.23 a

Os Valores das medições e contagens são a média ± erro padrão (n = 8). Na mesma coluna, valores com a mesma letra não são significativamente diferentes (teste de Tukey, $p < 0,05$).

No final do desenvolvimento vegetal, as plantas de arroz formam uma panícula de onde saem as flores e onde posteriormente se formam os grãos de arroz. A figura 10 mostra a percentagem de plantas com panículas nos diferentes tratamentos, onde se verifica que existem diferenças significativas entre alguns tratamentos.

Analisando os valores, o tratamento T0 apresenta a maior percentagem, 100%, diferindo de todos os outros enquanto o tratamento T3 é aquele que tem menor percentagem, 92,1%, e também é significativamente diferentes de todos os outros. Os tratamentos T1, T2, T4 e T5 apresentam valores semelhantes, não significativamente diferentes entre si.

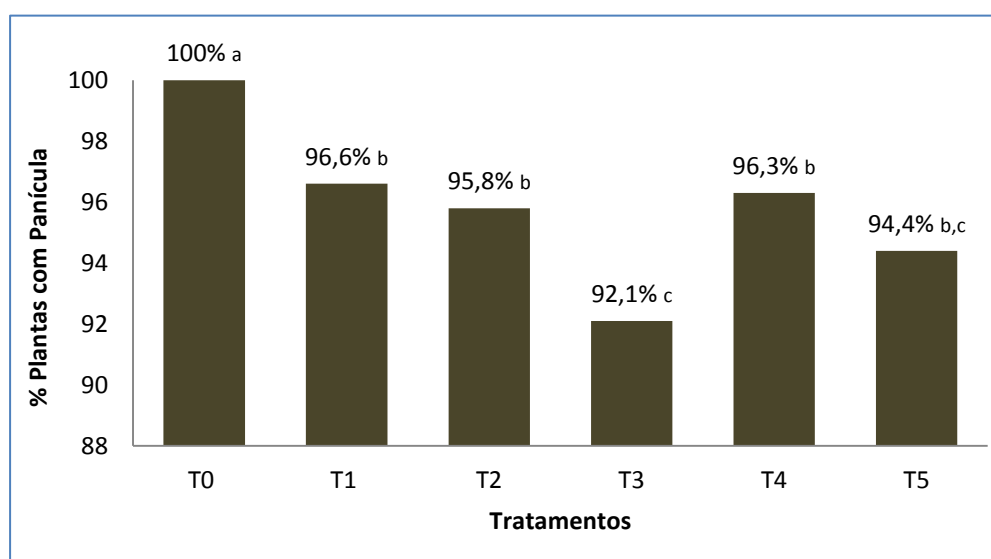


Figura 10. Percentagens de plantas de arroz com Panícula

3.3 Bioensaio de plantas de alface em vaso

No bioensaio de plantas de alface em vaso foram adicionados os diferentes extratos algais com 25% de concentração. Para se avaliar os seus efeitos no desenvolvimento das plantas, procedeu-se ao registo do diâmetro da parte aérea, comprimento da maior raiz, peso da massa seca e fresca da parte aérea e da parte radicular. Para facilitar a identificação das soluções utilizadas, atribuiu-se a seguinte nomenclatura para cada solução:

- T0 – Água destilada (0% extrato algal);
- T1 – EAB *Ascophyllum nodosum* 25%;
- T2 - EAB *Sargassum muticum* 25%;
- T3 - EAB *Ascophyllum nodosum* 25%;
- T4 - EAB *Sargassum muticum* 25%;
-

Na figura seguinte, é exposto o aspeto geral das plantas de alface cultivadas em vaso, numa estufa em túnel, no final do seu desenvolvimento (Fig. 11). No final do ensaio, de uma forma geral as plantas todas, independentemente do tratamento, apresentam um tamanho ligeiramente reduzido em comparação com as alfaces vulgarmente comercializadas, observando-se visualmente diferenças entre os tratamentos.



Figura 11. Plantas de alface no final do cultivo em solo

Após o desenvolvimento das plantas de alface em solo, adubadas com os diferentes tratamentos procedeu-se ao registo e análise dos diferentes parâmetros.

Observando-se a Tabela VI, referente às alfaces verdes, é possível verificar que existem diferenças significativas entre os diferentes tratamentos para os parâmetros

Resultados

avaliados, excetuando-se o comprimento da raiz que não é significativamente diferente entre os tratamentos.

Em relação ao Diâmetro observa-se que os tratamentos T1 25% e T2 25% são semelhantes entre si mas significativamente diferentes do tratamento T0, que apresenta um diâmetro com 26,30cm, superior aos outros tratamentos.

Nos valores de massa fresca aérea o tratamento T0 é aquele que apresenta um valor mais elevado, 78,5g, e o tratamento T4 25% o valor mais baixo. Em relação à massa fresca radicular, o tratamento com valor mais elevado foi o T4 25%, diferindo significativamente dos demais tratamentos.

Analisando a massa seca aérea e radicular, é possível verificar que o tratamento T4 25% é o que apresenta valor mais elevado, 12,07g e 24,79g respectivamente.

Tabela VI. Parâmetros observados para a avaliação do efeito dos extratos de algas no desenvolvimento de plantas de alface verde em solo

Tratamento	Diâmetro parte aérea	Comprimento Raiz (cm)	Massa Fresca		Massa Seca	
			Aérea (g)	Radicular (g)	Aérea (g)	Radicular (g)
T0	26.30 ± 5.25 a	35.30 ± 6.40 a	78.15 ± 14.38 b	83.03 ± 14.19 b	9.79 ± 1.55 a,b	19.03 ± 4.11 a,c
T1 25%	19.60 ± 3.03 b	36.70 ± 5.52 a	47.21 ± 3.62 a,c	56.36 ± 15.73 a	7.47 ± 2.19 a	11.67 ± 4.70 a,b
T2 25%	21.40 ± 2.91 b	40.15 ± 4.47 a	53.69 ± 15.77 a	49.24 ± 14.36 a	7.64 ± 1.95 a	10.94 ± 3.80 b
T3 25%	22.70 ± 3.56 a,b	36.90 ± 4.25 a	52.22 ± 13.58 a	52.70 ± 16.60 a	8.05 ± 2.03 a	11.93 ± 5.46 a,b
T4 25%	25.70 ± 2.26 a,b	36.80 ± 4.42 a	36.80 ± 4.42 c	105.99 ± 25.90 c	12.07 ± 2.05 b	24.79 ± 10.38 c

Os Valores das medições e contagens são a média ± erro padrão (n = 8). Na mesma coluna, valores com a mesma letra não são significativamente diferentes (teste de Tukey, $p < 0,05$).

Observando-se a Tabela VII, referente às alfaces roxas, é possível verificar que existem diferenças significativas entre os diferentes tratamentos para os parâmetros avaliados, excetuando-se o diâmetro da parte aérea e a massa fresca da parte aérea que não são significativamente diferente entre os tratamentos.

Avaliando os diferentes parâmetros, verifica-se que o tratamento T4 25% é aquele que apresenta valores mais elevados para a massa fresca radicular, 63,61g, e para a massa seca radicular, 12,29 g. Para a massa seca aérea o tratamento T1 25% é aquele que tem

maior resultado 7,51, embora não sendo significativamente diferente do tratamento T4 25%.

Em relação ao comprimento da raiz, observa-se que o tratamento T2 25% apresenta maior comprimento, 40 cm, e T4 25% é o que apresenta menor comprimento, 34,20. Embora estes tratamentos tenham valores significativamente entre si, são próximos dos valores dos restantes tratamentos.

Tabela VII. Parâmetros observados para a avaliação do efeito dos extratos de algas no desenvolvimento de plantas de alface roxa em solo

Tratamento	Diâmetro parte aérea	Comprimento Raiz (cm)	Massa Fresca		Massa Seca	
			Aérea (g)	Radicular (g)	Aérea (g)	Radicular (g)
T0	21.80 ± 1.32 a	36.30 ± 4.95 a,b	50.80 ± 8.17 a	43.54 ± 5.43 ac	5.47 ± 1.02 a	8.22 ± 1.78 c
T1 25%	21.10 ± 2.85 a	35.80 ± 2.82 a,b	55.64 ± 13.52 a	47.02 ± 8.22 a	7.51 ± 1.53b	9.64 ± 3.06 c,d
T2 25%	22.00 ± 2.31 a	40.00 ± 3.27 a	54.21 ± 9.37 a	38.03 ± 6.62 a,c	5.39 ± 0.95 a	7.50 ± 1.76 a,c
T3 25%	19.30 ± 2.71 a	37.00 ± 4.97 a,b	49.33 ± 6.65 a	34.68 ± 7.40 c	4.94 ± 1.01 a	5.35 ± 1.31 a
T4 25%	22.50 ± 3.60 a	34.20 ± 3.22 b	62.94 ± 9.66 a	63.61 ± 14.68 b	6.40 ± 1.26 a,b	12.29 ± 5.59 d

Os Valores das medições e contagens são a média ± erro padrão (n = 8). Na mesma coluna, valores com a mesma letra não são significativamente diferentes (teste de Tukey, $p < 0,05$).

3.4 Bioensaios de plantas de alface em hidroponia

No bioensaio de plantas de alface em hidroponia, foram colocadas 30 alfaces (15 verdes e 15 roxas) a crescer em três tratamentos diferentes (T2 25%, T2 C.E.R. e T7). De forma a avaliar o seu efeito no desenvolvimento de plantas, procedeu-se ao registo do diâmetro da parte aérea, comprimento da maior raiz, pesagem da massa seca e fresca da parte aérea e percentagem de massa seca. Para facilitar a identificação das soluções utilizadas, atribuiu-se a seguinte nomenclatura para cada solução:

- T2 25% – EAB *Sargassum muticum* 25%;
- T2 C.E.R. – EAB *Sargassum muticum* 25%, com correção da condutividade elétrica por adição de água destilada;
- T6 – Solução de fertirrega, formulação da empresa Nutrimondego

Na figura seguinte, é exposto o aspeto geral das plantas de alface em hidroponia dentro de estufa, ao fim de 4 semanas de desenvolvimento (Fig. 12). No final do ensaio, de uma forma geral, as plantas que se desenvolveram nos meios à base de alga, apresentam um tamanho reduzido em comparação com as alfaces desenvolvidas em solução de fertirrega. No entanto todas elas apresentam uma morfologia esperada, apesar de diâmetros reduzidos no caso das desenvolvidas em extratos de alga.



Figura 12. Alfaces no final da cultura em hidroponia em diferentes tratamentos

Após o desenvolvimento das plantas de alface em hidroponia, procedeu-se ao registo e análise dos diferentes parâmetros.

Observando-se a Tabela VIII, referente às alfaces verdes, é possível verificar que existem diferenças significativas entre os diferentes tratamentos para os parâmetros avaliados. Em relação aos diferentes parâmetros verifica-se que o tratamento T6 é o que tem valores mais elevados para todos eles e o tratamento T2 25% é o que apresenta os valores mais baixos, sendo estes dois significativamente diferentes entre si em todos os parâmetros.

O tratamento T2 C.E.R. apresenta valores intermédios entre o T6 e o T2 25% para todos os parâmetros. Os seus valores são significativamente diferentes dos do tratamento T6, no entanto só é significativamente diferente dos valores de T2 25% nos parâmetros comprimento da raiz e na massa seca aérea e radicular.

Resultados

Tabela VIII. Parâmetros observados para a avaliação do efeito dos extratos de algas no desenvolvimento de plantas de alface verde em hidroponia

Tratamento	Diâmetro parte aérea	Comprimento Raiz (cm)	Massa Fresca		Massa Seca	
			Aérea (g)	Radicular (g)	Aérea (g)	Radicular (g)
T2 25%	13.61 ± 1.39 a	6.05 ± 1.21 a	13.18 ± 3.81 a	8.79 ± 3.74 a	1.59 ± 0.44 a	1.19 ± 0.55 a
T2 25% C.E.	14.15 ± 1.99 a	13.08 ± 2.62 b	16.07 ± 3.70 a	19.37 ± 4.54 b	1.26 ± 0.28 a	1.84 ± 0.45 b
T6	29.54 ± 2.02 b	23.21 ± 4.26 c	106.24 ± 14.48 b	36.53 ± 7.24 c	6.53 ± 1.10 b	3.43 ± 0.47 c

Os Valores das medições e contagens são a média ± erro padrão (n = 8). Na mesma coluna, valores com a mesma letra não são significativamente diferentes (teste de Tukey, $p < 0,05$).

Observando-se a Tabela VIII, referente às alfaces roxas, é possível verificar que existem diferenças significativas entre os diferentes tratamentos para os parâmetros avaliados. Em relação aos diferentes parâmetros, o tratamento T6 é o que tem valores mais elevados para todos eles e o tratamento T2 25% é o que apresenta os valores mais baixos, sendo estes dois significativamente diferentes entre si em todos os parâmetros.

O tratamento T2 C.E.R. apresenta valores intermédios entre o T6 e o T2 25% para todos os parâmetros. Os seus valores são significativamente diferentes dos do tratamento T6, no entanto só é significativamente diferente dos valores de T2 25% nos parâmetros diâmetro da parte aérea e comprimento da raiz.

Tabela VIII. Parâmetros observados para a avaliação do efeito dos extratos de algas no desenvolvimento de plantas de alface roxa em hidroponia

Tratamento	Diâmetro parte aérea	Comprimento Raiz (cm)	Massa Fresca		Massa Seca	
			Aérea (g)	Radicular (g)	Aérea (g)	Radicular (g)
T2 25%	11.29 ± 1.39 a	5.26 ± 0.89 a	13.60 ± 2.91 a	10.65 ± 2.03 a	1.53 ± 0.25 a	1.50 ± 0.28 a
T2 25% C.E.	15.58 ± 2.79 b	12.73 ± 12.73 b	17.72 ± 6.49 a	12.01 ± 4.31 a	1.11 ± 0.40 a	1.20 ± 0.48 a
T6	26.71 ± 1.93 c	24.43 ± 24.43 c	72.83 ± 13.87 b	35.13 ± 6.13 b	4.96 ± 1.09 b	3.87 ± 0.43 b

Os Valores das medições e contagens são a média ± erro padrão (n = 8). Na mesma coluna, valores com a mesma letra não são significativamente diferentes (teste de Tukey, $p < 0,05$).

A figura 13 mostra a percentagem de matéria seca das alfaces verdes e roxas nos três tratamentos, T2 25%, T2 C.E.R. e T6. A percentagem de matéria corresponde à percentagem de matéria seca acumulada nas alfaces ao longo do seu desenvolvimento, permitindo determinar a quantidade de água acumulada nestas.

Observando os dados verifica-se que as alfaces verdes e roxas têm um comportamento semelhante entre elas nos diferentes tratamentos. Verifica-se que em ambas as variedades o tratamento para o qual as plantas têm maior percentagem de matéria seca é o T2 25%, que são significativamente diferentes dos outros tratamentos. Desta forma, observa-se que as alfaces que se desenvolveram no meio T2 25% têm maior acúmulo de matéria seca e portanto menor acúmulo de água. Comparando estes dados com os relativos ao diâmetro da parte aérea, nas Tabelas 11 e 12, verifica-se que para o tratamento T2 25% apresenta menores valores, logo o seu tamanho mais reduzido deverá estar relacionado com o menor teor em água.

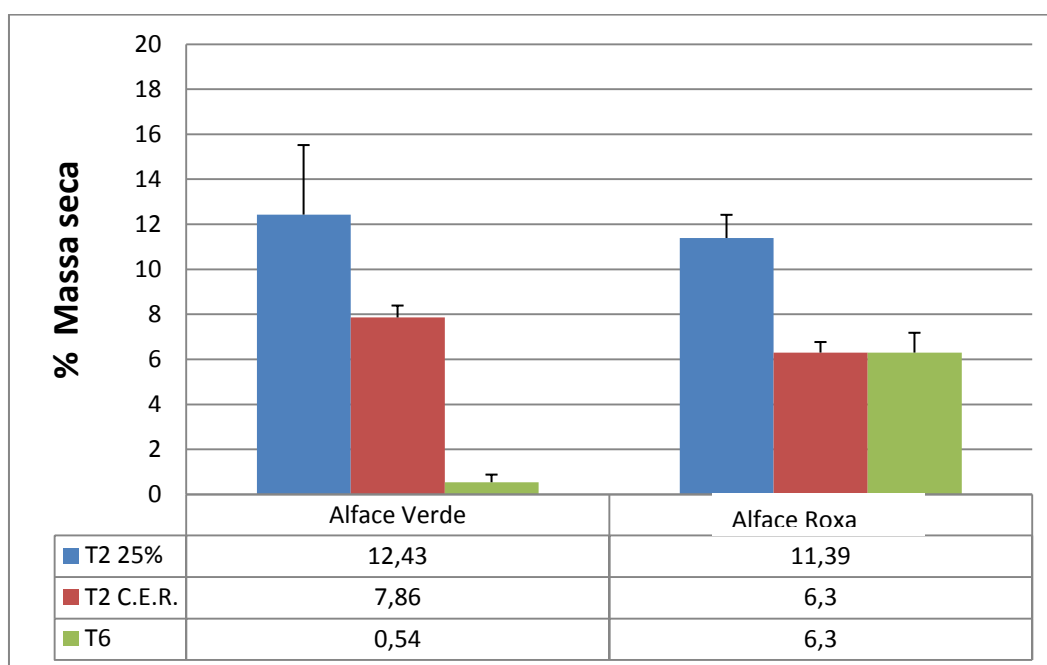


Figura 12. Percentagem de massa seca acumuladas nas alfaces após cultura em hidroponia.

3.5 Análise do efeito dos extratos no solo após cultura de alface

Na Tabela IX estão indicados os valores de percentagem de matéria orgânica, pH, condutividade elétrica (C.E.) e os teores de pentóxido de fósforo, óxido de potássio, óxido de cálcio e óxido de magnésio (mg/L), analisados em amostras de solo antes e após a cultura de alfaces em vaso.

Resultados

A análise das diferentes amostras de substrato permite verificar que a adição dos tratamentos aumentou ligeiramente o valor de pH e diminuiu os valores da C.E., enquanto na amostra do controlo (T0) não se verificaram alterações nos valores destes parâmetros.

A nível da percentagem de matéria orgânica presente nas amostras, é possível verificar-se que as amostras T0, T1 e T4 apresentam um valor semelhante à amostra inicial, enquanto as amostras T2 e T3 apresentam valores superiores.

Em relação ao conteúdo mineral, observa-se que as amostras T0, T1, T2, T3 e T4 têm menor quantidade de minerais que a amostra inicial. Comparando a quantidade de minerais presentes entre os tratamentos, é possível verificar que os tratamentos T0, T1 e T3 apresentam valores semelhantes entre si e superiores aos apresentados pelos tratamentos T2 e T4.

Tabela IX. Parâmetros analisados em amostras de solo antes da cultura de alface (Amostra inicial) e no final da cultura (T0, T1, T2, T3, T4)

Parâmetros	Amostra inicial		T0		T1		T2		T3		T4	
Matéria orgânica, %	26,42		26,51		24,40		34,78		31,53		26,06	
pH (H ₂ O)a	6,60	N	6,60	N	7,10	N	7,20	N	7,10	N	7,10	N
C. Elétr., mS cm ⁻¹	0,21	B	0,20	B	0,11	B	0,12	B	0,10	B	0,12	B
P ₂ O ₅ , mg/L	138,60	M	78,60	B	78,80	B	80,10	B	64,00	B	60,40	B
K ₂ O, mg/L	621,00	M	312,00	A	342,00	A	312,00	A	192,00	M	183,00	M
CaO, mg/L	87,50	B	76,90	B	70,00	B	65,80	B	61,60	B	44,10	M
MgO, mg/L	14,94	M	14,94	M	11,62	M	12,45	M	13,28	M	8,30	M
		B		A		B		B		B		B

N=Neutro; B=Baixo; M=Médio; MB=Muito Baixo; MA=Muito Alto

4. Discussão

4.1 Bioensaios de germinação

Os bioensaios de germinação, realizados em condições controladas, têm como objetivo avaliar o potencial germinativo das sementes quando submetidas a substratos compostos por EAB e EAP das algas *Ascophyllum nodosum* e *Sargassum muticum* em diferentes concentrações.

Neste ensaio determinou-se, a percentagem de germinação das sementes, corresponde à quantidade, em percentagem, de sementes germinadas em cada substrato. Verificou-se que as sementes de ambas as variedades de alface e de arroz tiveram um comportamento semelhante, tendo valores máximos para os substratos com 25% de concentração dos diferentes tratamentos, os valores mínimos de percentagens de germinação para os meios com 100% concentração. É de notar que os valores obtidos para os substratos com 25% de concentração são muito próximos dos valores registados para o controlo (T0).

Os valores de IVG, correspondentes à velocidade de germinação das sementes, foram também determinados, sendo um parâmetro importante já que permitem avaliar a velocidade do processo germinativo da semente ou grupo de sementes em determinadas condições [500]. Ao observar os dados verifica-se que os valores de IVG, à semelhança dos valores da percentagem de germinação, são mais elevados para os substratos com 25% de concentração e mais baixos para os substratos com 100% concentração.

A germinação é um processo que ocorre em três fases: a) a fase I, onde ocorre entrada de água para o interior da semente por diferença do potencial hídrico; b) a fase II, onde há a continuidade da absorção de água e ativação dos processos metabólicos responsáveis pelo desenvolvimento embrionário; c) a fase III, onde ocorre o alongamento da raiz primária. Durante este processo, o potencial osmótico das sementes é determinante para a capacidade do embrião absorver água, logo se uma semente for colocada num substrato osmótico é possível bloquear o processo de germinação na fase II. [506]

De acordo com **Ferreira (2004)** o pH das soluções, bem como a presença de substâncias como açúcares aminoácidos e ácidos orgânicos, compostos osmoticamente ativos, geralmente constituintes de extratos brutos, podem influenciar a germinação e processos fisiológicos. Tendo em conta que conforme aumenta a concentração do substrato

a percentagem de germinação e o IVG diminuem, depreende-se que estes parâmetros são influenciados negativamente pela presença de compostos osmoticamente ativos.

De facto, ao avaliar a percentagem de massa seca acumulada nas plântulas após germinação, tanto de alface como de arroz, verifica-se que os valores são mais elevados para os substratos com 100% de concentração e mais baixos para os substratos com 25% concentração, desta forma, quanto maior a concentração do substrato menor é o teor de água nas plantas. Isto deverá dever-se à dificuldade que as plântulas têm em absorver água devido à presença de maior concentração de compostos osmoticamente ativos em substratos mais concentrados.

Os resultados obtidos neste experimento são coincidentes com os resultados obtidos por **Craigie (2011)**, o qual verificou que pequenas quantidades de extrato de alga afetam o metabolismo celular vegetal, influenciando positivamente o desenvolvimento das estruturas vegetais.

Sirvasankari et al (2006) realizaram bioensaios de germinação com sementes de *Vigna sinensis* submetidas à aplicação de extrato aquoso de uma alga pertencente ao género *Sargassum* (*Sargassum wightii*). Neste bioensaio, verificaram que ocorrem variações significativas para os parâmetros avaliados, constatando que os extratos com menor concentração (20%) promoveram um aumento da percentagem de germinação, comprimento das raízes, comprimento da parte aérea e biomassa fresca e seca, bem como incremento no seu valor nutricional.

Cherian et al (2011), em bioensaios de germinação e crescimento de plântulas de arroz, utilizando tratamentos com extratos da alga *Nostoc commune* (cianobactéria) em diferentes concentrações (25%, 50%, 75% e 100%), verificaram que contrariamente ao que acontece com algas castanhas, para estas algas o extrato com 75% de concentração foi o que apresentou maiores benefícios. [510]

4.2 Bioensaio com plantas de arroz em vaso

No bioensaio com plantas de arroz pretendeu-se avaliar o efeito dos diferentes extratos, EAB e EAP das algas *Ascophyllum nodosum* e *Sargassum muticum*, no desenvolvimento das plantas.

Ao avaliar os diferentes parâmetros para cada tratamento, verifica-se que apenas há diferenças significativas no que diz respeito ao número de perfilhos por planta. Desta

forma, verifica-se que plantas tratadas com o tratamento T5 têm significativamente mais perfilhos que as plantas tratadas com os tratamentos T0, T1, T2 e T3. Contudo, apesar do tratamento T5 ser aquele que apresenta maior número de perfilhos, é o tratamento T0 (controlo) que apresenta maior percentagem de plantas com panícula. Tendo em conta que em todos os tratamentos a percentagem de plantas com panícula é elevada, pode-se depreender que a causa da percentagem de plantas com panícula não corresponder ao tratamento com maior número de perfilhos, é o facto de os perfilhos se terem desenvolvido tardiamente e não chegaram a produzir panícula por término do experimento.

Para se verificar qual a causa específica desta variação, seria necessário recorrer à análise do solo e do conteúdo nutricional das plantas de arroz. No entanto esta variação pode ocorrer por fatores que não os tratamentos aplicados.

São poucos os estudos com aplicação de extratos de *Ascophyllum nodosum* e inexistentes os estudos com aplicação de extratos de *Sargassum muticum* em plantas de arroz, no entanto começam a surgir vários experimentos com outras culturas.

Igna e Marchioro (2010) realizaram um experimento com o objetivo de avaliar o efeito de extratos de *Ascophyllum nodosum* na produtividade de plantas de trigo (*Triticum aestivum* L.), para tal avaliaram o número de espigas por metro linear e o rendimento de grãos para plantas de trigo (*Triticum aestivum* L.). No final do experimento concluíram que o extrato desta alga proporciona ganhos significativos no número de espigas e na produtividade de grãos. Estes resultados vão de encontro aos obtidos por **Mógor et al (2008)**, que obtiveram maior crescimento e rendimentos de grãos aplicando extrato da alga *Ascophyllum nodosum* na cultura do feijão.

4.3 Bioensaio de plantas de alface em vaso

Avaliando os diferentes parâmetros para as alfaces verdes e roxas, é possível verificar que existem diferenças significativas entre os diferentes tratamentos para alguns dos parâmetros avaliados. No entanto, nas alfaces verdes não se verificam diferenças significativas para o comprimento da raiz entre os diferentes tratamentos e nas alfaces roxas não se verificam diferenças significativas entre os valores dos diferentes tratamentos em relação ao diâmetro da parte aérea e à massa fresca radicular.

Comparando os valores dos diferentes parâmetros com os tratamentos aplicados nas alfaces, incluindo o controlo (T0), não se verifica que os extratos algais utilizados neste

bioensaio potencialmente o desenvolvimento vegetal. Estes resultados são concordantes com **Moreira et al (2006)** com a aplicação de extratos de *Ascophyllum nodosum* em culturas de alface, os quais não potenciaram diferenças significativas no desenvolvimento das plantas

Contrariamente, **Dantas et al (1998)** com a aplicação de extratos de *Sargassum vulgare* em culturas de alface e coentro, verificaram que as plantas tratadas com extrato a 25%, exibiram um crescimento significativo comparativamente com as plantas do controlo. **N. Vijayanand et al (2014) [520]** testaram o efeito de diferentes concentrações de extratos líquidos de *Sargassum wightii* no crescimento, composição bioquímica e de produtividade de feijoeiros, verificando que as plantas submetidas aos extratos apresentaram valores satisfatórios os parâmetros analisados.

4.4 Bioensaios de plantas de alface em hidroponia

Os bioensaios com plantas em hidroponia, realizados em estufa, têm como objetivo avaliar o potencial do EAB de *Sargassum muticum* a 25% de concentração como solução nutritiva para o desenvolvimento das plantas.

.Analisando os valores registados nas Tabelas 11 e 12 para cada parâmetro avaliado, tanto para as alfaces verdes como para as alfaces roxas, verifica-se que apesar dos valores diferirem entre as duas variedades, as diferenças observadas entre os 3 tratamentos são semelhantes. Desta forma observa-se que existem diferenças significativas entre o tratamento T6 e o tratamento T2 25%, sendo que o tratamento T6 apresenta os valores mais elevados para todos os parâmetros e o tratamento T2 25% é o que apresenta os valores mais baixos.

O tratamento T2 C.E.R. apresenta valores intermédios entre o T6 e o T2 25% para todos os parâmetros. Os seus valores são significativamente diferentes dos do tratamento T6, no entanto só é significativamente diferente dos valores de T2 25% nos parâmetros comprimento da raiz e na massa seca aérea e radicular. Esta similaridade deve estar relacionada com a presença de moléculas com potencial osmótico em quantidades elevadas nas algas.

De facto, ao avaliar a percentagem de massa seca acumulada nas plântulas após germinação, tanto de alface como de arroz, verifica-se que os valores são mais elevados para os substratos com 100% de concentração e mais baixos para os substratos com 25%

concentração, desta forma, quanto maior a concentração do substrato menor é o teor de água nas plantas. Isto deverá dever-se à dificuldade que as plântulas têm em absorver água devido à presença de maior concentração de compostos osmoticamente ativos em substratos mais concentrados.

Analisando os valores da percentagem de massa seca nas alfices verde e roxas, Gráfico 3, verifica-se que à semelhança do observado nos bioensaios de germinação, quanto mais concentrado é tratamento maior é a percentagem de matéria seca, ou seja, menor é o teor de água acumulado nas plantas. Isto tento em conta que o tratamento T2 C.E.R sofreu uma diluição, já que a condutividade elétrica é reduzida por adição de água destilada.

Mais uma vez, verifica-se que as plantas que se desenvolvem em tratamentos mais concentrados têm mais dificuldade em absorver água, devido à presença de maior concentração de compostos osmoticamente ativos nas algas.

Atualmente não se encontram artigos publicados relativamente à aplicação de extratos algais como meio nutritivo em culturas hidropónicas, pelo que trabalhos semelhantes a este podem contribuir não só com informação mas servir como fonte de estímulo para se pesquisar mais sobre as aplicações das algas em hidroponia.

4.5 Análise do efeito dos extratos no solo após cultura de alface

A análise das diferentes amostras de substrato mostra que a adição dos extratos algais diminui os valores da C.E., o que não é coerente com o descrito na bibliografia. De acordo com **Eyras et al (2008)** as macroalgas podem ser um problema no que se refere ao aumento da quantidade de sais nos solos já que estes promovem o aumento dos valores da C.E. para níveis superiores aos ideais para as plantas.

Relativamente à percentagem de matéria orgânica presente nas amostras, verifica-se que os tratamentos T2 e T3 apresentam valores superiores à amostra controlo, enquanto os restantes tratamentos apresentam valores semelhantes à amostra inicial. Desta forma verifica-se que apenas dois destes tratamentos são eficientes no que diz respeito ao incremento de matéria orgânica no solo.

A nível do conteúdo mineral, observa-se que as amostras de solo no final da cultura de alface apresentam menor quantidade de minerais que a amostra inicial. Comparando a

quantidade de minerais presentes nas amostras verifica-se que os tratamentos T0, T1 e T3 apresentam valores semelhantes entre si e superiores aos apresentados pelos tratamentos T3 e T4.

Ao comparar a diferenças da quantidade de minerais presentes nos tratamentos com os dados do desenvolvimento das plantas, verifica-se que apesar de não haver diferenças no desenvolvimento das plantas entre os diferentes tratamentos, a nível da quantidade de minerais os tratamentos T3 e T4 registaram valores mais baixos. Desta forma depreende-se que estes extratos devem ter compostos bioativos capazes de promover a absorção de minerais pelas plantas e por isso o conteúdo de minerais no solo é inferior.

5. Conclusões e Perspetivas Futuras

Conclusões e Perspetivas Futuras

Nos bioensaios de germinação, verificou-se que em todos os grupos de sementes o valor da P.G. e do IVG diminui à medida que a concentração dos extratos aumenta, contrariamente ao valor da %MS que aumenta à medida que a concentração também aumenta. Como a %MS nas plantas permite saber qual o seu teor em água, conclui-se que à medida que se aumenta a concentração as sementes e plântulas têm mais dificuldade em absorver água e portanto os processos germinativos são afetados negativamente.

Comparando os resultados diferentes, verifica-se que os melhores resultados foram obtidos em sementes germinadas em meios com 25% de concentração, mostrando que a baixas concentrações os extratos de algas potenciam a germinação. Neste sentido seria necessário realizar bioensaios com concentrações mais baixas de algas e se possível fazer estudos em campo, para analisar quais as vantagens das aplicações de extratos algais em sementeiras no campo.

Na cultura de arroz em vasos, utilizando plantas da variedade Ronaldo, não se verificou que os extratos das algas *Ascophyllum nodosum* e *Sargassum muticum* a 25% de concentração potenciem diferenças positivas no desenvolvimento das plantas. Ao registar e analisar parâmetros como o número de perfilhos, o número de nós e folhas, o comprimento e largura da folha principal, bem como a percentagem de plantas com panícula, observou-se que apenas o tratamento com adubo comercial teve maior número de perfilhos. No entanto, foi o controlo que obteve maior percentagem de plantas com panícula, apesar da percentagem de plantas com panícula em todos os tratamentos ser superior a 92%. Desta forma não é possível ter dados conclusivos para afirmar que os extratos aplicados tiveram efeito direto no desenvolvimento e produtividade das plantas de arroz. Seria necessário recorrer à análise dos constituintes químicos das diferentes partes das plantas e avaliar diferentes parâmetros como número de sementes por planta, bem como realizar testes semelhantes em campo, para se ter dados mais conclusivos quanto às potencialidades dos extratos neste tipo de produção.

Aplicando os extratos das algas a 25% de concentração, a alfaces verdes e a alfaces roxas cultivadas em vaso, e comparando os resultados obtidos com o controlo não se verifica que estes extratos tenham potenciado o desenvolvimento das plantas. No entanto, seria interessante fazer-se uma análise aos constituintes químicos das diferentes partes das plantas de forma a se avaliar se houve incremento nutricional as plantas expostas aos tratamentos com algas.

Conclusões e Perspetivas Futuras

Na cultura hidropónica plantas de alface em meio composto por EAB de *Sargassum muticum* a 25% de concentração, verifica-se que há um efeito negativo no desenvolvimento das plantas quando comparado com o desenvolvimento das plantas em meio de fertirrega específico. De forma a se verificar se o efeito é causado por diferenças de condutividade elétrica, já que os extratos brutos têm um valor elevado mesmo a 25% de concentração, usou-se um extrato com condutividade elétrica dentro de valores ideais para a alface. No entanto, apesar de registar valores mais satisfatórios o desenvolvimento das plantas foi inferior ao das desenvolvidas em meio fertirrega específico.

Quando analisada a %MS das plantas, foi possível observar que os valores mais elevados estavam associados aos extratos de alga, concluindo-se que existem compostos bioativos nas algas com efeitos negativos a nível da absorção de água, levando a um menor desenvolvimento vegetal e maior percentagem de matéria seca. Seria interessante analisar os constituintes químicos das folhas de alface e comparar o valor nutricional entre os tratamentos aplicados, para avaliar se os extratos potenciam o incremento de substâncias nutritivas.

5. Referências Bibliográficas

Agrimer. Site <http://www.agrimer.com/en/algues/2-brown/7-ascophyllum-nodosum.html>, consultada entre Junho e Julho de 2014

Akila N., Jeyadoss T. 2010. The potential of seaweed liquid fertilizer on the growth and antioxidant enhancement of *Helianthus annuus* L. *Oriental Journal of Chemistry*, Vol. 26(4), 1353-1360

Biored. 2014. Site - <http://www.biorede.pt/page.asp?id=1187>, consultado entre Maio e Junho de 2014

Bruno RLA; Viana JS; Silva VF; Bruno GB; Moura MF. 2007. Produção e qualidade de sementes e raízes de cenoura cultivada em solo com adubação orgânica e mineral. *Horticultura Brasileira* 25: 170-174.

Carmona R. 1997. Influence of pH on the action of chemicals on weed seeds.

Carvalho, G. L. 2013. Avaliação do potencial biotecnológico de micro e macroalgas da flora portuguesa. Dissertação de mestrado em Biodiversidade e Biotecnologia Vegetal, Universidade de Coimbra

Carvalho M.E. 2013. Efeitos do extrato de *Ascophyllum nodosum* sobre o desenvolvimento e produção de cultivos. Dissertação de mestrado em Fisiologia e Bioquímica de Plantas. Piracicaba.

Cherian K.J., Vishwakarma S., Shahare P.C. 2011. Effect of algal extract on the germination and seedling growth of rice seeds. Nagpur.

Coimbra, C. S. 2006. Inferências filogenéticas na ordem Fucales (Phaeophyceae), com ênfase no gênero *Sargassum* C. Agardh do Atlântico Sul. Dissertação de Doutorado em Ciências, Universidade de São Paulo

Costa P.C., Didone E.B., Sesso T.M., Cañizares K. A., Goto R. 2001. Electrical conductivity of nutrient solution and hidroponic crisp head lettuce yield. *Scientia Ag.*, v.58, n.3, p.595-597.

Referências Bibliográficas

Craigie J.S. 2011. Seaweed extract stimuli in plant science an agriculture. Journal of Applied Phycology, Dordrecht, v23, p.371-393.

Dantas N. P., Pinheiro J.F., Santos J.H. 1998. Effects of varying concentrations pf. *Sargassum vulgare* C, Agardh on growth of lettuce and coriander. Arquivos de Ciências do Mar.

Direção Geral de Agricultura (DGE). 2004 . Situação da Agricultura em Portugal. Portugal

Davison, D.M. (2009). *Sargassum muticum* in Scotland 2008: a review of information,issues and implications. Scottish Natural Heritage Commissioned Report No.324

Engelen, A. H., Espirito-Santo, C., Simões, T., Monteiro, C., Serrão, E. A., Pearson, G. A., Santos, R. O. P. 2008. Periodicity of propagule expulsion and settlement in the competing native and invasive brown seaweeds, *Cystoseira humilis* and *Sargassum muticum* (Phaeophyta). European Journal of Phycology

Erreira, A. G. Interferência: competição e alelopatia. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. Germinação : do básico ao aplicado. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 251-262

Eyras M. C., Defosse G.E. and Dellatorre F. 2008. Seaweed compost as an amendment for horticultural soils in Patagonia, Argentina. *Compost Science an Utilization* 16: 119-124.

Fao 2014. Site - <http://www.fao.org/docrep/x5819e/x5819e04.htm>, consultada entre Junho e Julho de 2014

Fernandes, A. L., Silva, R.O. 2011. Avaliação do Extrato de Algas (*Ascophyllum nodosum*) no Desenvolvimento Vegetativo e Produtivo do Cafeeiro Irrigado por Gotejamento e Cultivado em Condições de Cerrado. Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer - Goiânia, vol.7, N.13

Girão J.A. 2014. Direção Geral da Agricultura e Desenvolvimento Rural - Agricultura Familiar e Desenvolvimento Rural. Campo Pequeno, Portugal

Referências Bibliográficas

Gressler V. 2010. Composição química e potencial biológico das algas vermelhas marinhas *Laurencia filiformis*, *Laurencia intricata*, *Plocamium brasiliense* e *Ochtodes secundiramea* da costa brasileira. Tese de doutoramento, Universidade de São Paulo.

Guiry, M. 2014 Seaweed Site – Disponível em: http://www.seaweed.ie/descriptions/ascophyllum_nodosum.php, consultado entre Maio e Junho de 2014

Guiry, M. 2014 Seaweed Site. Disponível em: <http://www.seaweed.ie/sargassum/index.php>, consultado entre Maio e Junho de 2014

Henz G.P., Suinaga F. 2009. Tipos de alface cultivados no Brasil. Comunicado Técnico 75. Brasília, Brasil.

Indy, J. R., Yasui, H., Arias-Rodriguez, L., Alvarez-González, C. A., Conteras-Sanchez, W. M.(sem data). Seaweed: for Food, Medicine and Industry. Pag 31-37

Instituto Nacional de Estatística (INE). 2014. Estatísticas Agrícolas 2013, Edição 2014. Portugal

Júnior A.W., Negreiros J.R., Alexandre R.S, Pimentel L.D., Bruckner C.H.2006. Effect of water pH of soaking and of cracking of the seeds of the yellow passion fruit in the

Kaseker J.F., Bastos M.C., Consalter R., Mógor A.F. 2014.mChange in growth and nutrient content in carrots with the use of biofertilizer. Rev. Ceres, v. 61: 964-969.

Lamy A.S. 1985. A apanha do moliço em 1890. Tricanas de Ovar No.4. Ovar, Portugal

Lima J.E. 2014.Sistemas de comunicação e controlo para Hidroponia . Dissertação de Mestrado em Engenharia Mecatrónica, Universidade do Minho

Limberger P. A, Gheller j. A. 2012. Efeito da aplicação foliar de extrato de algas, aminoácidos e nutrientes via foliar na produtividade e qualidade de alface crespa. Revista Brasileira de Energias Renováveis, v. 1, p. 148 – 161.

Maguire J.D. 1962. Speed of germination: aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. Crop Science, Madison, v.2, p.76-177.

Referências Bibliográficas

Marini P., Lowe T.R., Moraes C.L., Moraes D.M., Lopes M.F. 2008. Physiological quality of seeds and growth seedlings of lettuce (*Lactuca sativa* L.) submit on nitrogen. Revista Brasileira de Sementes, vol. 31, nº 1, p.222-227.

Martinho J. 2013. Empreendedorismo na agricultura. Start&Go Nº3: 3-4.

McHugh, D. J. 2003. Guide to the Seaweed Industry. FAO Fisheries Technical Paper No.441

Mendonça A.V., Coelho E.A., Souza N.A., Balbinot E., Silva R.F., Barroso D.G. 2005. Effects of the embebiton and osmoconditioning in *ttriplaris mericana* seeds.

Miranda C.C., Souza D.M., Manhone P.R., Oliveira P.C., Breier T.B. 2012. Seed Germination of *Anadenanthera peregrina* (L.) Speg. with Different Substrates under Laboratory Conditions. Floresta e Ambiente; 19(1):26-31.

Miranda, S., Vargas, G. 2013. Licenciatura en Gestion Ambiental. Universidad de la Patagônia San Juan Bosco

Mógor Á.F., Ono E.O., Rodrigues, J.D., Mógor G. 2008. Aplicação foliar de extrato de alga, ácido l-glutâmico e cálcio em feijoeiro. Scientia Agraria, Curitiba, v.9, n.4, p.431-437-

Mondo V.H., Brancalion P.H., Cicero S.M., NOVENBRE A.D., Neto D.D. 2008. Germination test of seed sof *Parapiptadenia rigida* (Benth.) Brenan(Fabaceae). Revista Brasileira de Sementes, vol. 30, nº 2, p.177-183.

Monteiro C., Engelen A.H., Serrão E., Santos R. 2009.habitat differences in the timing of reproduction of the invasive alga *Sargassum muticum* (phaeophyta, sargassaceae) over tidal and lunar cycles. Phycological Society of America 45, 1–7.

Moreira G.C., Haber L.L.,Tonin F.B., Goto r.; Valente M.C. 2006. Efeito de diferentes épocas de aplicação da alga marinha *Ascophyllum nodosum* no desenvolvimento da al face. XLVI CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA. Goiânia, Brasil.

Observatório de mercados agrícolas e das importações Agro-alimentares (OMAA). 2013. Produção de alface em Portugal.

Oliveira E.V, Galhano F., Pereira B. 1990. Atividades agro-marítimas em Portugal. Publicações Dom Quixote. Portugal.

Referências Bibliográficas

Pedrosa A., Somingues V., Jordão M., Pereira L., Cardoso S.M. Composição nutricional das macroalgas *Bifurcaria bifurcata* e *Sargassum muticum* da costa litoral Portuguesa. 12º Encontro de Química dos Alimentos. Portugal.

Pereira, L. 2009. Guia Ilustrado das Macroalgas – conhecer e reconhecer algumas espécies da flora portuguesa. Imprensa da Universidade de Coimbra

Pereira, L. 2010. Algas – Os seus usos na agricultura, indústria e alimentação. Camara Municipal de Viana do Castelo

Pereira, L. 2014. Chapter 6 - Seaweed Flora of the European North Atlantic and Mediterranean. In Se-Kwon Kim (Ed.), 1800p. Handbook of Marine Biotechnology, Part II. Springer. ISBN 978-3-642-53970-1.

Pise, N.M., Sabale, A.B. 2010. Effect of Seaweed Concentrates on the Growth and Biochemical Constituents of *Trigonella Foenum-Graecum* L. Journal of Phytology. Disponível em: www.journal-phytology.com

Pitombeira J.B. 2006 Site - <http://www.ebah.com.br/content/ABAAA4VO4AJarroz>, consultado entre Janeiro e Junho 2015

Plantytec, 2014. Disponível em: <http://www.plantytec.com.br/noticias-interna.php?id=4494>, consultado entre Maio e Junho de 2014

Quercus-Associação Nacional da Conservação da Natureza. Agricultura industrializada. Site - <http://www.quercus.pt/artigos-agricultura-sustentavel/3116-a-agricultura-industrializada>, consultado em Junho de 2015

Quercus - Associação Nacional da Conservação da Natureza. Agricultura sustentável em Portugal. Site - [<http://www.quercus.pt/artigos-agricultura-sustentavel/3118-agricultura-sustentavel-em-portugal>], consultado em Junho de 2015

Rocha F.D., Pereira R.C., Kaplan M. A., Teixeira V. L. 2007. Natural products from marine seaweeds and their antioxidant potential. Journal of Pharmacognosy 17(4): 631-639.

Rosa A.J. 1996. Direção Regional de Agricultura do Algarve – Culturas hidropónica. Patação, Portugal.

Referências Bibliográficas

Safinaz A.F., Ragaa A.H. 2013. Effect of some red marine algae as biofertilizers on growth of maize (*Zea mays* L.) plants. *International Food Research Journal* 20(4): 1629-1632.

Sánchez I., Fernández C. 2005. Impact of the invasive seaweed *Sargassum muticum* (phaeophyta) on an intertidal macroalgal assemblage. *Phycological Society of America*, 41, 923–930.

Santino M.B., Gouvêa S.P., Bianchini Jr. I., Vieira A.H. 2008. Oxygen uptake during mineralization of photosynthesized carbon from phytoplankton of the Barra Bonita Reservoir: a mesocosm study. *Journal of Biology Br*, 68(1): 115-122.

Silva P.M. 2009. Atividades biológicas de extratos de algas marinhas brasileiras. Dissertação de mestrado em Bioquímica. Universidade de São Paulo.

Silveira P.F. 2010. Allelopathic effect of the aqueous extract of the jurema-preta (*Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir.) on seed germination and seedling growth of lettuce (*Lactuca sativa*). Thesis (MS in Plant Science) –UFERSA. Mossoró-RN.

Simões O., Lopes A., Ferreira J. 2008. Variedades regionais e agricultura biológica (Ed 1). Coimbra, Portugal.

Sivasankari S., Venkatesalu V., Anantharaj M., Chandrasekaran M. 2006, Effect of seaweed extracts on the growth and biochemical constituents of *Vigna sinensis*. *Bioresour Technol*, 97(14):1745-51.

Stain, M. S. 2011. Avaliação das atividade biológicas e composição química dos extratos de algas vermelhas do gênero *Laurencia* (Rhodomelaceae, Ceramiales) do litoral do Espírito Santo, Brasil. Dissertação de mestrado em Ciências, Universidade de São Paulo

Sultana, V., Baloch, G. N., Ara, J., Ehteshamul-Haque, S., Tariq, R. M., Athar, M. 2010. Seaweeds as an alternative to chemical pesticides for the management of root diseases of sunflower and tomato. *Journal of Applied Botany and Food Quality* 84

Thirumaran G, Arumugam M., Arumugam R., Anantharaman P. 2009. Effect of Seaweed Liquid Fertilizer on Growth and Pigment Concentration of *Abelmoschus esculentus* (L) medikus. *American-Eurasian Journal of Agronomy* 2 (2): 57-66

Referências Bibliográficas

Valentin, Y, Y. 2010. Macroalgas Marinhas e Biotecnologia, Companheiras Inseparáveis. Anais da 62ª Reunião Anual da SBPC. Universidade Federal do Rio de Janeiro

Vidotti E.C., Rollemberg M.C. 2004. Algae: from aquatic environment economy to bioremediation and analytical chemistry. *Quim. N.*, Vol. 27, No. 1, 139-145.

Vijayanand N., Ramya S.S., Rathinavel S. 2014. Potential of liquid extracts of *Sargassum wightii* on growth, biochemical and yield parameters of cluster bean plant. *Asian Pacific Journal of Reproduction*, 3(2): 150-155.