

Universidade Federal de São Carlos
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Departamento de Botânica
Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais

**USO DE BIOMASSA DE ALGAS PARA A PELETIZAÇÃO DE SEMENTES
E DESENVOLVIMENTO DE PLÂNTULAS DE *Bowdichia virgilioides* KUNTH**

Graziela Cristina Montanhim

São Carlos
Agosto de 2013

Universidade Federal de São Carlos
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Departamento de Botânica
Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais

Graziela Cristina Montanhim

**USO DE BIOMASSA DE ALGAS PARA A PELETIZAÇÃO DE SEMENTES
E DESENVOLVIMENTO DE PLÂNTULAS DE *Bowdichia virgilioides* KUNTH**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais (PPGERN) como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ecologia e Recursos Naturais.

Orientadora: Prof^a Dr^a Maria Inês Salgueiro Lima

São Carlos
Agosto de 2013

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

M764us

Montanhim, Graziela Cristina.

Uso de biomassa de algas para a peletização de sementes e desenvolvimento de plântulas de *Bowdichia virgilioides* Kunth / Graziela Cristina Montanhim. -- São Carlos : UFSCar, 2013.
75 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2013.

1. Ecologia. 2. Sementes - fisiologia. 3. Alga. 4. Sucupira do cerrado. I. Título.

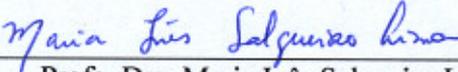
CDD: 574.5 (20^a)

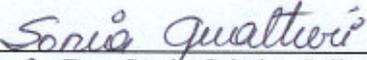
Graziela Cristina Montanhim

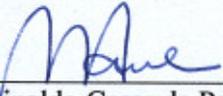
Dissertação apresentada à Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ecologia e Recursos Naturais.

Aprovada em 14 de agosto de 2013

BANCA EXAMINADORA

Presidente 
Profa. Dra. Maria Inês Salgueiro Lima
(Orientadora)

1º Examinador 
Profa. Dra. Sônia Cristina Juliano Gualtieri
PPGERN/UFSCar

2º Examinador 
Prof. Dr. Rinaldo Cesar de Paula
UNESP/Jaboticabal-SP

Dedico este trabalho a Deus, que me permitiu chegar até aqui.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus pelo dom da vida e por permitir que eu realizasse o sonho de ser mestre.

Aos meus pais, Vera e Pedro, os quais são e sempre serão meu alicerce.

Ao meu irmão Gabriel e à minha Belinha, que tanto me divertem.

Aos meus amigos do querido e eterno grupo JOVIC.

Ao meu namorado, Ricardo, por sempre me apoiar e me ajudar várias vezes com digitações e leitura de dados.

Aos meus tios, primos e avós, cujos nomes não estão aqui (por serem muitos), mas sim em meu coração.

À Fernanda e à Raquel, por suportarem meus momentos de mau humor e desânimo perante as dificuldades e por serem tão companheiras.

Aos amigos dos Laboratórios de Fisiologia de Sementes e de Ecologia Química (DB, UFSCar).

À prof. Maria da Graça G. Melão e seus alunos.

Aos técnicos Maristela Imatomi, Marco A. Bertini, Ademir de Paula, Antônio Luiz Sartori, Luiz Ferraz e Ofélia de Oliveira pelo apoio, ajuda e aprendizagem. Ao técnico Carlos Casali (sem palavras...).

Aos funcionários do departamento de Botânica e às pessoas que cuidam da limpeza, pela paciência.

À “família científica”, Adriano Evandir Marchello, Alexsandro Claudino dos Santos, Andréa Cristina Moralez, Bruna H. Vieira, Camila Cândido, Daniela Mariano, Jaqueline Carmo, Dra. Renata Natsumi Haneda, Eduardo C. Camargo, Imyra M. M. de Souza, Maria Augusta Machado, Mônica Bonini, Thaís F. Massocato e Viviane de C. Pereira.

À professora Dr^a Ana Teresa Lombardi, por tudo que me ensinou e pela abertura das portas do laboratório de Biotecnologia de Algas para que eu pudesse realizar parte desse trabalho de mestrado.

À minha orientadora, Dr^a Maria Inês Salgueiro Lima, que me deixou mal acostumada por ser tão paciente, humana e pela ajuda incondicional.

Às professoras Dr^a Odete Rocha, Sônia C. J. Gualtieri e Marcela B. da C. Santino, pelas contribuições para a melhoria do trabalho de qualificação.

À professora Dr^a Andréa L. T. de Souza e seus alunos do curso de Gestão Ambiental, por toda a ajuda, especialmente em estatística.

Ao CNPq, pelo apoio financeiro.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais, que me acolheu.

Ao Instituto Nacional de Meteorologia, pelos dados fornecidos.

À AGRONELLI, que doou parte do material utilizado.

A todas as formas de vida, que sempre me instigam e incentivam a continuar buscando respostas.

RESUMO GERAL

Microalgas tem sido alvo em estudos que visam à captação de dióxido de carbono. Esses microrganismos também vêm sendo utilizados como fonte de lipídios para produção de biocombustíveis e estudos relatam sua biomassa como potenciais fertilizantes de solo. Mas, pouco se sabe sobre a interação de tais organismos com vegetais superiores. O objetivo geral desse trabalho foi reutilizar a biomassa de *Selenastrum capricornutum* Printz (classe Chlorophyceae) e *Chlorella sorokiniana* Shihira e Krauss (classe Trebouxiophyceae) na peletização de sementes de *Bowdichia virgilioides* (sucupira preta, sucupira do cerrado), espécie nativa do cerrado brasileiro que está classificada como ameaçada de extinção e cuja madeira possui atributos para a indústria moveleira, além das propriedades medicinais já relatadas em vários trabalhos. Primeiramente, as sementes foram semeadas em casa de vegetação, com os seguintes tratamentos: a) sementes nuas (sem pélete); b) sementes peletizadas com cola branca à base de acetato de polivinila diluída a 8% em água e gesso agrícola; c) sementes peletizadas com cola branca à base de acetato de polivinila diluída a 8% em biomassa algal úmida de *S. capricornutum* e gesso agrícola; d) sementes peletizadas com cola branca à base de acetato de polivinila diluída a 8% com biomassa algal úmida de *C. sorokiniana* e gesso agrícola. Ao gesso agrícola foram acrescentados fungicida e inseticida. Tempo médio de emergência (dias), peso (g) seco e fresco, comprimento (cm) das partes aéreas e radiculares e o número de indivíduos contendo nódulos fixadores de nitrogênio nas raízes não apresentaram diferença estatística significativa entre os tratamentos. Contudo, as plântulas de sementes peletizadas com *C. sorokiniana*, como constituinte do material cimentante, apresentaram porcentagem de emergência equivalente ao tratamento convencional (nua). Observamos que quanto mais elevados forem os valores bioquímicos intracelulares da alga, há mais chances de obtermos resultados satisfatórios, já que a semente pode utilizar tais compostos em seu desenvolvimento. Em um segundo momento, a semeadura de sementes peletizadas foi realizada em uma área do cerrado situada no *campus* da Universidade Federal de São Carlos (21°57' S, 47°52' W, a 863 m de altitude), cidade de São Carlos-SP. Os tratamentos foram: a) sementes nuas (sem pélete); b) sementes peletizadas com cola branca à base de acetato de polivinila diluída a 8% em água e gesso agrícola; c) sementes peletizadas com cola branca à base de acetato de polivinila diluída a 8% em biomassa úmida de *S. capricornutum* e gesso agrícola; d) sementes peletizadas com cola branca à base de acetato de polivinila diluída a 8% em água com silicato para uso agrícola; e) sementes peletizadas

com cola branca à base de acetato de polivinila diluída a 8% em biomassa úmida de *S. capricornutum* e silicato para uso agrícola. Ao silicato e gesso para uso agrícola foram acrescentados fungicida e inseticida segundo as recomendações dos fabricantes. Para este experimento em campo, observou-se que o tratamento somente com gesso agrícola proporcionou uma porcentagem de emergência significativamente menor do que o tratamento “sementes nuas”, sendo o silicato considerado um material mais eficiente como revestimento no processo de peletização de sementes de sucupira do cerrado cultivadas em campo. Assim, a alga *C. sorokiniana* mostrou-se um material cimentante eficiente no processo de peletização e o silicato para uso agrícola mostrou-se um material de revestimento promissor, em se tratando de plantio em campo.

Palavras-chave: Peletização. biomassa algal. sucupira do cerrado.

ABSTRACT

Algae are organisms with which studies have been made on the uptake of carbon dioxide, as a source of lipids for research on biofuels such as fertilizers and soil. But little is known about the interaction of such organisms with higher plants. Thus, the general objective of this master thesis was to reuse the algal biomass of *Selenastrum capricornutum* Printz (Chlorophyceae class) e *Chlorella sorokiniana* Shihira e Krauss (Trebouxiophyceae class) in pelleting seed *Bowdichia virgilioides*, native to the Brazilian Savanna that are classified as threatened with extinction and whose wood has attributes for the furniture industry, besides the medicinal properties already reported in other studies. First, the seeds were grown in a greenhouse, with the following treatments: a) seeds naked; b) pelleted seeds with white glue based on polyvinyl acetate diluted to 8% at water and gypsum; c) seeds pelleted with glue based white polyvinyl acetate diluted to 8% at wet algal biomass of *Selenastrum capricornutum* and gypsum; d) pelleted seeds with white glue based polyvinyl acetate diluted to 8% at wet algal biomass of *Chlorella sorokiniana* and gypsum. Fungicide and insecticide were added to the silicato and gypsum for agricultural according to industry directions. The parameters mean emergence time (days), weight (g) dry and cool, length (cm) of aerial and root portions and number of nitrogen fixing nodules in the roots don't showed statistically significant difference between treatments. The variable "emergency percentage" showed that pelleted seeds with *C. sorokiniana* biomass as a cement material constituent showed value equivalent to conventional treatment (naked), paving the way for new studies pelleting with agal biomass of that species. As higher be the algae intracellular biochemical values, higher be the chances to achieve satisfactory results, because the seed can be use algae biochemical components at its development. In a second stage, there was pelleted seed sown in an area of brazilian savanna and the treatments were: a) naked seed; b) pelleted seeds with white glue based on polyvinyl acetate diluted to 8% at water and gypsum; c) pelleted seeds with white glue based on polyvinyl acetate diluted to 8% at wet algal biomass of *Selenastrum capricornutum* and gypsum with fungicide and insecticide; d) pelleted seeds with white glue based on polyvinyl acetate diluted to 8% at water and silicate for agricultural; and e) pelleted seeds with white glue based on polyvinyl acetate diluted to 8% at wet algal biomass of *Selenastrum capricornutum* and silicate for agricultural. Fungicide and insecticide were added to the silicato and gypsum for agricultural according to industry directions. For this experiment hood, it was observed that treatment with only gypsum had a significantly lower percentage of emergence. The

treatment with silicate was considered as an effective material coating to the sucupira seed pelleting process, cultivating in savanna field. Thus, the alga *Chlorella sorokiniana* showed to be an efficient cementing material for pelleting process and silicate for agricultural a promising coating material, when it comes to planting in the field.

Key-words: Pelleting. algae biomass. savanna sucupira.

SUMÁRIO

Título	Página
Introdução geral	12
Referências	16
Capítulo 1 - Uso de biomassa de algas para a peletização de sementes de <i>Bowdichia virgilioides</i> Kunth	18
Resumo	18
Abstract	19
1. Introdução	20
2. Materiais e métodos	22
2.1 Cultura de <i>Selenastrum capricornutum</i>	22
2.2 Cultura de <i>Chlorella sorokiniana</i>	23
2.3 Análises bioquímicas	24
2.4 Processo de peletização	24
2.5 Análise estatística	27
3. Resultados	27
4. Discussão	33
5. Conclusões	37
6. Referências	37
Capítulo 2 – Emergência de plântulas obtidas de sementes peletizadas e desenvolvimento inicial de <i>Bowdichia virgilioides</i> Kunth em casa de vegetação e no campo	40
Resumo	40
Abstract	41
1. Introdução	42
2. Objetivos	45
3. Metodologia	45
3.1 Cultura de <i>Selenastrum capricornutum</i>	45
3.2 Origem e tratamento das sementes de <i>Bowdichia virgilioides</i>	46
3.3 Umidade do solo	47
3.4 Processo de peletização	47
3.5 Plantio em casa de vegetação	48
3.6 Plantio em condições de campo	48
3.7 Análises estatísticas	50
4. Resultados e discussão	50
4.1 Características da massa algal utilizada no processo de peletização	51
4.2 Características das sementes	53
5. Conclusões	61
6. Referências	61
Considerações finais	65
Anexo	68

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Tópico	Página
Introdução geral	
Figura 1. Indivíduo adulto com flores de coloração lilás e sementes de <i>Bowdichia virgilioides</i> .	15
Capítulo 1	
Tabela 1. Qualidade da biomassa algal utilizada no processo de peletização. Teores de proteínas, carboidratos, lipídios e clorofila <i>a</i> das culturas de <i>S. capricornutum</i> e <i>C. sorokiniana</i> .	28
Figura 1. a) Porcentagem média de emergência e b) tempo médio de emergência de plântulas oriundas de sementes peletizadas de <i>Bowdichia virgilioides</i> .	29
Figura 2. Médias obtidas de comprimento (cm) de a) parte aérea e b) parte radicular de plântulas de sementes peletizadas de <i>Bowdichia virgilioides</i> .	30
Figura 3. Média dos valores de peso fresco e de peso seco de a) e c) parte aérea e b) e d) parte radicular de plântulas oriundas de sementes peletizadas de <i>Bowdichia virgilioides</i> .	31
Figura 4. a) Densidade celular média; b) densidade óptica (nm); c) clorofila <i>a</i> das culturas de <i>Selenastrum capricornutum</i> e <i>Chlorella sorokiniana</i> ; d) potencial hidrogeniônico da cultura de <i>S. capricornutum</i> ; e) porcentagem das classes lipídicas de <i>S. capricornutum</i> e f) porcentagem das classes lipídicas de <i>C. sorokiniana</i> .	32
Capítulo 2	
Figura 1. Área de plantio das sementes peletizadas, mostrando em a) – “área tampão” deixada como borda e em b) a identificação dos tratamentos no plantio direto.	50
Figura 2. a) Densidade celular (células mL ⁻¹) e b) taxa de crescimento (ln) da cultura de <i>Selenastrum capricornutum</i> utilizada como constituinte do material cimentante no processo de peletização.	51
Tabela 1. Teores de proteínas, carboidratos, lipídios e clorofila <i>a</i> da cultura de <i>S. capricornutum</i> .	52
Figura 3. Classes lipídicas presentes na amostra de <i>Selenastrum capricornutum</i> utilizada como material cimentante no processo de peletização de sementes. A tabela 3 dos anexos descreve as classes lipídicas.	52
Figura 4. a) Porcentagem e b) tempo médio de emergência de plântulas oriundas de sementes peletizadas de <i>B. virgilioides</i> em desenvolvimento em cerrado após 100 dias de semeadura.	54
Figura 5. a) Porcentagem e b) tempo médio (dias) de emergência de plântulas oriundas de sementes peletizadas de <i>B. virgilioides</i> em desenvolvimento em cerrado e em casa de vegetação após 100 dias de semeadura.	55
Figura 6. Médias dos valores de comprimento (cm) das partes aéreas das plântulas oriundas de sementes peletizadas de <i>B. virgilioides</i> em desenvolvimento em cerrado e em casa de vegetação após 100 dias de semeadura.	57

Figura 7. Porcentagem de sobrevivência de plântulas oriundas de sementes peletizadas de <i>B. virgilioides</i> em desenvolvimento em cerrado e em casa de vegetação após 100 dias de semeadura.	58
Figura 8. Temperatura média (°C) durante 100 dias em uma área de cerrado (21°57' S , 47°52' W, a 863 m de altitude) do <i>campus</i> da Universidade Federal de São Carlos, São Carlos-SP, onde o experimento foi realizado.	59
Figura 9. Porcentagem da umidade relativa do ar durante 100 dias em uma área de cerrado (21°57' S , 47°52' W, a 863 m de altitude) do <i>campus</i> da Universidade Federal de São Carlos, São Carlos-SP, onde o experimento foi realizado.	59
Figura 10. Precipitação (mm) durante 100 dias em uma área de cerrado (21°57' S , 47°52' W, a 863 m de altitude) do <i>campus</i> da Universidade Federal de São Carlos, São Carlos-SP, onde o experimento foi realizado.	60
Anexo	
Tabela 1. Sais componentes da solução hidropônica e suas concentrações para confecção de 100 litros em ordem de diluição.	68
Figura 1. a) Densidade celular (células mL ⁻¹); b) taxas de crescimento e c) clorofila <i>a</i> (mg mL ⁻¹) de <i>Selenastrum capricornutum</i> em dois diferentes meios de cultura.	70
Tabela 2. Soluções e respectivas concentrações componentes do meio de cultura L. C. Oligo (AFNOR, 1980).	71
Tabela 3. Classes lipídicas, as quais foram usadas como padrões em relação às amostras algais do presente trabalho.	72
Figura 2. Biorreatores com culturas de <i>Selenastrum capricornutum</i> . 1: 20 cm.	72
Figura 3. Biorreatores com culturas de <i>Chlorella sorokiniana</i> . 1: 20 cm.	73
Figura 4. Materiais utilizados no processo de peletização. a) PVA diluído a 8% em biomassa de alga; b) PVA diluído a 8% em água; c) gesso e d) silicato para uso agrícola, ambos acrescidos de inseticida e fungicida. 1: 3 cm.	74
Figura 5. Tubetes com sementes peletizadas. 1:20 cm	75

INTRODUÇÃO GERAL

A busca por alternativas ao uso de combustíveis fósseis, assim como por processos que possam mitigar a concentração de carbono atmosférico apresenta importância prioritária no contexto sócio-ambiental da atualidade.

Uma das formas mais eficientes de captura de CO₂ atmosférico é a fotossíntese. Entre os organismos fotossintetizantes, aqueles que fornecem maior quantidade de oxigênio líquido para a atmosfera são as algas. Segundo Bilanovic et al. (2009), microalgas marinhas podem captar, aproximadamente, 513 toneladas de CO₂ por ano.

As microalgas são organismos mais eficientes fotossinteticamente do que os vegetais superiores, pois liberam mais oxigênio líquido para a atmosfera, já que possuem apenas a parte fotossintetizante, diferentemente dos vegetais superiores, que também possuem órgãos muitas vezes não fotossintetizantes, como raízes e caules. Nesse sentido, o cultivo de microalgas em grande escala tem sido altamente visado para a captura de CO₂, além do fato de as microalgas possuírem propriedades atraentes para a indústria química, farmacêutica, alimentícia e cosmética, como produção de antioxidantes, por exemplo.

Muitas soluções inovadoras têm sido propostas para a utilização de microalgas, como o tratamento de esgoto, regeneração atmosférica e na medicina, como por exemplo, estudos envolvendo o funcionamento de órgãos artificiais, como pâncreas e pulmão (BLOCH e VARDI, 2009).

A extração de biodiesel produzido a partir de culturas de algas pode gerar grande quantidade de biomassa (CHADER et al., 2011). Assim, a reutilização dessa biomassa residual se faz necessária, já que sua decomposição poderia emitir significativa quantidade de CO₂ (LAGUNA, 2012), pois se trata da decomposição de matéria orgânica, altamente rica em carbono.

Uma das exigências para o sucesso do cultivo de algas em grandes quantidades é a construção de estruturas fortes a fim de que sejam eficientes, fáceis de operar, tenham alta durabilidade e necessitem de baixo investimento. Assim, tamanho, forma, o material utilizado e a forma de agitação da cultura a ser empregada são pontos importantes no cultivo de microalgas em larga escala (BECKER, 2008). O cultivo de microalgas em grandes quantidades para a produção de biocombustíveis é atualmente uma das metas de vários países. As microalgas produzem, além de biomoléculas como os lipídios (de grande interesse na indústria da bioenergia), carboidratos e proteínas. Estes compostos podem

agregar valor à biomassa residual, aumentando atualmente, as possibilidades de se dar uma utilidade a este material.

Durante a curta história do cultivo em massa de algas, diferentes formas de cultivo têm sido desenvolvidas e operadas em experimentos, projetos pilotos e em indústrias. Duas grandes abordagens têm sido estudadas para os cultivos em grande escala. Uma delas são biorreatores fechados e sofisticados para cultivo de cepas específicas para a produção de bioquímicos como enzimas, citocromos, toxinas, compostos radioativos, farmacêuticos, antioxidantes, etc. A outra abordagem diz respeito a unidades abertas (ou semi-fechadas) que possuem baixo valor financeiro, são fáceis de manipular e competem com outros métodos para a produção de compostos oriundos do metabolismo das algas, ou dos constituintes celulares (BECKER, 2008).

No presente trabalho, a segunda abordagem descrita pelo autor citado acima foi empregada no cultivo das algas *Selenastrum capricornutum* e *Chlorella sorokiniana*.

Algumas aplicações para biomassa algal e seus derivados são amplamente conhecidas, como produtos alimentícios, medicamentos e de controle de poluição (BLOCH e VARDI, 2009).

Outra possível aplicação para a biomassa residual é a peletização de sementes. Este é um processo no qual se faz o revestimento de sementes com camadas sucessivas e alternantes de um material cimentante solúvel em água com a aplicação do material de revestimento (SILVA, 1997; SILVA e NAKAGAWA, 1998a) e tal técnica é a proposta do presente trabalho. Geralmente, o processo de peletização de sementes objetiva a melhoria fisiológica das sementes e a redução dos investimentos econômicos (SILVA e NAKAGAWA, 1998a). Porém, se o material de revestimento utilizado possuir granulometria muito fina, suas partículas podem ocupar os poros, dificultando as trocas gasosas entre a semente e o ambiente externo. Consequentemente, há um atraso no processo de emergência e/ou germinação (SILVA e NAKAGAWA, 1998b).

No presente trabalho utilizaram-se as espécies *Selenastrum capricornutum* e *Chlorella sorokiniana* como fonte de biomassa algal para a peletização de sementes pelo fato de que ambas as espécies podem ser facilmente cultivadas em laboratório e *S. capricornutum* ser uma espécie recomendada para uso em testes de toxicidade. Além disso, as algas sintetizam biomoléculas como carboidratos, proteínas e lipídios (BERTOLDI, SANT'ANNA e OLIVEIRA, 2008; BECKER, 2008), as quais podem conferir propriedade higroscópica às sementes. Pressupõe-se que os compostos bioquímicos sintetizados pelas algas possam levar a um mais significativo desenvolvimento de plântulas, pois, de acordo

com Ávila e Albrecht (2010), que realizaram um estudo sobre a qualidade de sementes de soja, tais sementes são capazes de absorver nutrientes do meio externo que influenciam seu desenvolvimento.

Selenastrum capricornutum é uma alga Chlorophyceae unicelular (40 a 60 μm^3), comum em águas doces. Sua morfologia uniforme facilita a contagem de células. Ela não forma cadeias, o que facilita o seu manuseio. Seu crescimento ocorre com rapidez a ponto de duplicar o número de células após 72 horas. A espécie é moderadamente sensível a substâncias tóxicas (HALL e GOLDING, 1998). Por apresentar distribuição cosmopolita, sua utilização é recomendada em protocolos nacionais e internacionais em estudos de ecotoxicidade. É muito utilizada em trabalhos e estudos de biomonitoramentos e como biomarcadores (JONSSON e AOYAMA, 2009).

Chlorella sorokiniana é uma microalga verde, unicelular, cosmopolita em ambientes de água doce e tem sido usada em pesquisas para a produção de biomassa, devido ao seu rápido crescimento.

A espécie vegetal selecionada para a peletização de suas sementes com biomassa das duas espécies de algas referidas acima foi *Bowdichia virgilioides* Kunth. Trata-se de uma angiosperma, dicotiledônea, da família Fabaceae. *Bowdichia major* Mart e *Bowdichia pubescens* Benth podem ser sinônimos botânicos, segundo Carvalho (2006). As árvores de indivíduos adultos atingem cerca de 15 metros de altura e 60 cm de DAP (diâmetro à altura do peito, partindo de 1,30 m do solo). Apresenta ramificação dicotômica, casca do tronco com até 1,5 cm de espessura e suas folhas são compostas e pinadas (CARVALHO, 2006). A figura 1 ilustra um indivíduo adulto e sementes de *B. virgilioides*.



1 cm

Figura 1. Indivíduo adulto com flores de coloração lilás e sementes de *Bowdichia virgilioides*.

A seleção da espécie vegetal baseou-se no fato de que ela, atualmente, está em risco de extinção e é uma nativa do Cerrado, já que um de nossos objetivos foi realizar a semeadura em uma área desse bioma, sendo importante a seleção de uma espécie adaptada a ele. Além disso, trata-se de uma espécie cujas estruturas possuem propriedades medicinais (FERRONATO, 1999; MACEDO e FERREIRA, 2004; ALMEIDA et al., 2006).

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, J.R.G.S. et al. Antimicrobial activity of the essential oil of *Bowdichia virgilioides* Kunt. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16 (Supl.), p. 638-641, 2006.

ÁVILA, M.R.; ALBRECHT, L.P. Isoflavonas e a qualidade das sementes de soja. **Informativo Abrates**, v. 20, p. 15-29, 2010.

BECKER, E. W. Microalgae: biotechnology and microbiology. **Cambridge University Press**. 293 p., New York, 2008.

BERTOLDI, F. C.; SANT'ANNA, E.; OLIVEIRA, J. L. B. Revisão: biotecnologia de microalgas. **Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**. Curitiba v. 26, n. 1, p. 9-20, 2008.

BILANOVIC, D. et al. Freshwater and marine microalgae sequestering of CO₂ at different C and N concentrations – Response surface methodology analysis. **Energy Conversión and Management**, v. 50, n. 2, p. 262–267, 2009.

BLOCH, K.; VARDI, P. Microalgae as photosynthetic oxygen generators for pollution control, life support systems and medicina. In: **Algae: Nutrition, Pollution Control and Energy Sources**. Editor Kristian N. hagen, p. 3-11. Nova Science Publishers, Inc. ed. 2009.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, DF. Embrapa Florestas, Colombo, PR. 627 p. Il. Color., coleção espécies Arbóreas Brasileiras, v. 2, 2006.

CHADER, S. et al. Biodiesel production using *Chlorella sorokiniana* a green microalga. **Revue des Energies Renouvelables**, v. 14, n. 1, p. 21-26, 2011.

FERRONATO, A. **Análise de sementes de (*Bowdichia virgilioides* H.B.K.) e (*Cybistax antisiphilitica* M.)**. 1999. 80 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical) – Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, MT, 1999.

HALL, J.A.; GOLDING, L.A. Standard methods for whole effluent toxicity testing: development and application. Report no. MFE80205. **NIWA report for the Ministry for the Environment**, Wellington, New Zealand, 1998.

JONSSON, C. M.; AOYAMA, H. Extraction, partial characterization and susceptibility to Hg²⁺ of acid phosphatase from the microalgae *Pseudokirchneriella subcapitata*. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 66, n. 5, p. 634-642, 2009.

LAGUNA, V. G. **Chuvas provocam aumento de algas na piscina, contaminando a água e a saúde do usuário**. Sibrape, news, 2012. Disponível em: <http://www.sibrape.com.br/news> Acesso em 02 de abril de 2013.

MACEDO, M.; FERREIRA, A.R. Plantas hipoglicemiantes utilizadas por comunidades tradicionais na Bacia do Alto Paraguai e Vale do Guaporé. Mato Grosso-Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia** 14 (Supl. 1), 45–47. 2004.

SILVA, J.B.C. **Avaliação de métodos e materiais para peletização de sementes**. Tese de doutorado (Doutorado em Agronomia) UNESP, 127 p. Botucatu, 1997.

SILVA, J. B. C.; NAKAGAWA, J. Métodos para avaliação de materiais de enchimento utilizados na peletização de sementes. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.16, n.1, p.44-49, 1998a.

SILVA, J.B.C.; NAKAGAWA, J. Metodologia para avaliação de materiais cimentantes para peletização de sementes. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.16, n.1, p.31-37, 1998b.

Capítulo 1

USO DE BIOMASSA DE ALGAS PARA A PELETIZAÇÃO DE SEMENTES de *Bowdichia virgilioides* Kunth

Graziela Cristina Montanhim¹, Renata Natsumi Haneda², Ana Teresa Lombardi²,
Maria Inês Salgueiro Lima³

RESUMO – O material cimentante para o processo de peletização de sementes de *Bowdichia virgilioides* foi obtido a partir do cultivo de *Selenastrum capricornutum* e *Chlorella sorokiniana*, objetivando a utilização da biomassa das espécies referidas como constituinte do material cimentante. Os parâmetros de análises foram: emergência e desenvolvimento das plântulas e ocorrência de nódulos fixadores de nitrogênio. Os tratamentos utilizados foram: semente nua (sem pélete, controle do processo), semente com gesso agrícola (controle), semente com gesso e *S. capricornutum* e semente com gesso e *C. sorokiniana*. Sementes com gesso e *C. sorokiniana* apresentaram porcentagem de emergência (76%) estatisticamente igual às sementes nuas (86%) e mais elevadas do que as sementes peletizadas com gesso (60%) e com gesso e *S. capricornutum* (62%). Tal resultado pode estar embasado no fato de *C. sorokiniana* ter apresentado maiores valores de lipídios e carboidratos totais (11,38 e 25,00 mg L⁻¹, respectivamente) em relação a *S. capricornutum* (2,21 e 0,31 mg L⁻¹). Os parâmetros tempo médio de emergência, comprimento (cm) e peso fresco e seco (g) da parte aérea e radicular não apresentaram diferenças estatísticas entre os tratamentos (p>0,05). No processo de peletização, melhores resultados foram obtidos com a biomassa oriunda de *C. sorokiniana*, em relação à porcentagem média de emergência, sendo essa biomassa um promissor constituinte do material cimentante.

Palavras-chave: Sementes peletizadas, sucupira do cerrado, *Chlorella sorokiniana*, *Selenastrum capricornutum*.

¹ Programa de Pós-graduação em Ecologia e Recursos Naturais.

² Laboratório de Biotecnologia de Algas – DB- UFSCar.

³ Laboratório de Sistemática Vegetal e Ecologia Química – DB -UFSCar

ALGAE BIOMASS USE FOR *Bowdichia virgilioides* Kunth SEEDS PELLETIZATION

ABSTRACT- The production of microalgae on a large scale for either the mitigation of CO₂ or biofuel production can generate significant amounts of residual biomass. One possible application is its use in seed pelleting. In this process a coating is made by successive layers of dry inert material alternating water-soluble glue spraying with the application of filler material to the seed. In this study, the cement material for the pelleting process *Bowdichia virgilioides* seeds was made from the algal biomass from cultures of *Chlorella sorokiniana* and *Selenastrum capricornutum*. Several seeds were pelletized and their effect on the seed germination was evaluated in the following treatments: naked seeds (process control), seeds with agricultural gypsum (control), seeds with gypsum and *S. capricornutum* and seeds with gypsum and *C. sorokiniana*. Seeds with gypsum and *C. sorokiniana* showed emergence percentage (76%) statistically similar to that of the naked seeds (86%) and higher than the pelleted seeds with gypsum (60%) and seeds with gypsum and *S. capricornutum* (62%). This result may be grounded on the fact that *C. sorokiniana* showed higher values of total carbohydrates and lipids (11,38 and 25 mg L⁻¹) than *S. capricornutum* (2,21 and 0,31 mg L⁻¹, respectively). The other parameters analysed were average time of emergence (day), length (cm) and fresh and dry weight (g) of the root and aerial portions. No parameter showed statistical differences among treatments (p>0,05). In the pelleting process, best results were obtained with the biomass deriving *C. sorokiniana*, in relation to the average percentage of emergency, this being an efficient biomass constituent of a glue.

Key words: Pelleted seeds, savanna sucupira, *Chlorella sorokiniana*, *Selenastrum capricornutum*.

1. INTRODUÇÃO

A busca por alternativas ao uso de combustíveis fósseis, assim como por processos que possam mitigar a concentração de carbono atmosférico apresenta importância prioritária no contexto sócio-ambiental da atualidade.

Uma das formas mais eficientes de captura de CO₂ atmosférico é a fotossíntese. Entre os organismos fotossintetizantes, aqueles que fornecem maior quantidade de oxigênio líquido para a atmosfera são as algas. Segundo Bilanovic et al. (2009), microalgas marinhas podem captar, aproximadamente, 513 toneladas de CO₂ por ano.

O cultivo de microalgas em larga escala objetivando a produção de biocombustíveis é atualmente uma das metas de vários países. As microalgas produzem, além de biomoléculas como os lipídios, de grande interesse na indústria da bioenergia, carboidratos e proteínas. Tais compostos podem agregar valor à biomassa residual, aumentando, atualmente, as possibilidades de se dar uma utilidade a este material.

A extração de biodiesel a partir de culturas de algas pode gerar grande quantidade de resíduos (CHADER et al., 2011). Assim, a reutilização dessa biomassa residual se faz necessária, já que a decomposição desses resíduos poderia emitir significativa quantidade de CO₂, segundo Laguna (2012).

Uma possível aplicação para a biomassa residual de algas é a peletização de sementes. Este é um processo no qual se faz o revestimento de sementes com camadas sucessivas e alternantes de um material cimentante solúvel em água com a aplicação do material de revestimento (SILVA, 1997; SILVA e NAKAGAWA, 1998; ALMEIDA, 2004). Proporciona formato e massa adequados ao manuseio, facilitando o plantio, principalmente no que se refere a sementes extremamente pequenas, pilosas, ou deformadas (LOPES e NASCIMENTO, 2012). Os autores afirmam que apesar de algumas indicações, qualquer semente pode ser peletizada, de acordo com o objetivo.

Dentre as vantagens da utilização de sementes peletizadas, destacam-se a redução dos custos de produção de mudas, redução do trabalho manual de distribuição das sementes, incorporação de nutrientes e reguladores de crescimento (SILVA, SANTOS e NASCIMENTO, 2002; LOPES e NASCIMENTO, 2012).

Entretanto, há algumas dificuldades descritas para a utilização de sementes peletizadas em comparação às sementes sem péletes, como o atraso no tempo de germinação, menor emergência das plântulas e plântulas com aspectos atípicos (MILLIER

e SOOTER⁴, citados por CORASPE, IDIARTE e MINAMI, 1993). O atraso no processo de germinação pode ocorrer devido à formação de uma barreira às trocas gasosas entre a semente e o meio externo. Tal barreira pode se formar a partir da ocupação dos poros do tegumento da semente pelos compostos de granulometria fina constituintes do material de revestimento (OLIVEIRA, BRUNO e ALVES, 2001).

Sabe-se que quando algumas plantas estão sob deficiências de nutrientes nitrogenados há a possibilidade de criação de uma associação das raízes com bactérias do gênero *Rhizobium* (ADLER, 1995). Em sementes peletizadas, é criada uma barreira física e química, a qual pode impedir a absorção de nutrientes (OLIVEIRA, BRUNO e ALVES, 2001), podendo gerar condições para o desenvolvimento de nódulos fixadores de nitrogênio.

Vários são os processos adotados para a peletização e, além do material cimentante, pode-se utilizar gesso agrícola, que influencia positivamente o enraizamento de plantas em solos profundos. Sabe-se que tal comportamento se deve ao cálcio solúvel presente no gesso, pois solos profundos contêm baixa concentração de cálcio, e a presença deste elemento facilita o enraizamento. O sulfato, também presente no gesso agrícola, forma um complexo com alumínio, o qual também estimula o enraizamento de plantas (AGRONELLI, 2011). A utilização de gesso agrícola é recomendada para solos do tipo do Cerrado (SOUSA, LOBATO e REIN, 2005).

Considerando que as microalgas possuem grande quantidade de material mucilaginoso higroscópico constituído principalmente de polissacarídeos, além de proteínas e lipídios (BERTOLDI, SANT'ANNA e OLIVEIRA, 2008) sua incorporação na peletização de sementes pode contribuir para o desenvolvimento das plantas, além de fornecer materiais orgânicos biodegradáveis ao solo, como ocorre com o biofertilizante produzido por algas marinhas - principalmente do gênero *Lithothamnium*-, chamado de granulado bioclástico. Este repõe os minerais e condiciona o solo, agregando dezenas de nutrientes importantes para o desenvolvimento de culturas como cana-de-açúcar, incluindo cálcio, silício e magnésio (VASCONCELOS, 2012).

A hipótese deste trabalho é de que a peletização de sementes pode ser um destino eficiente para biomassa residual de cultivos de microalgas, incrementando a germinação e

⁴ MILLIER, W.F.; SOOTER, C. Improving emergence of pelleted vegetable seed. **Transactions of the ASAE**, St. Joseph, v.10, n.5, p.658-666, 1967.

o desenvolvimento das plântulas, sendo isso aqui testado com *Chlorella sorokiniana* e *Selenastrum capricornutum*.

Diante de tais informações, o presente trabalho buscou o uso de biomassa residual de *C. sorokiniana* e *S. capricornutum* na peletização de *B. virgilioides*, a fim de favorecer o poder germinativo e o crescimento inicial das plântulas dessa espécie vegetal.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

A biomassa necessária para o processo de peletização das sementes foi obtida por meio do cultivo de duas espécies de algas verdes: *Selenastrum capricornutum* e *Chlorella sorokiniana* e a seleção destas espécies baseou-se no fato de que ambas podem ser facilmente cultivadas em laboratório e *S. capricornutum* é uma espécie recomendada para uso em testes de toxicidade.

Para o estabelecimento das condições mais adequadas de crescimento das algas foram feitos pré-testes com as duas espécies em casa de vegetação e laboratório. A taxa de crescimento mais elevada para *S. capricornutum* ocorreu em condições controladas de temperatura e luminosidade em laboratório, enquanto *C. sorokiniana* apresentou taxa de crescimento mais elevada em condições semi-controladas em casa de vegetação (110 a 330 $\mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$ e 15 a 45° C).

2.1 Cultura de *Selenastrum capricornutum*

Uma alíquota de 300 mL contendo 10^6 células mL^{-1} de *Selenastrum capricornutum* foi inoculada em três biorreatores contendo, cada um deles, três litros de meio de cultura L.C. Oligo modificado (AFNOR, 1980) a fim de se obter uma concentração final de 10^5 células mL^{-1} . Todas as soluções tiveram suas concentrações duplicadas e a solução de bicarbonato de sódio teve sua concentração quadruplicada. As soluções do meio L. C. Oligo e suas respectivas concentrações estão ilustradas na tabela 2 dos anexos.

A cultura foi mantida nas dependências do Laboratório de Biotecnologia de Algas, Departamento de Botânica da Universidade Federal de São Carlos sob intensidade luminosa ($166 \mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$, com fotoperíodo de 12h/12h) e temperatura externa constantes de 23 °C. O crescimento das algas foi acompanhado, diariamente, por meio da contagem de células (hemacitômetro do tipo Fuchs-Rosenthal) e também por medidas da concentração de clorofila *a in vivo*, através de um fluorímetro digital (Turner Designs, Model Trilogy - USA), do pH (LOGEN SCIENTIFIC, LSXXX-HH, São Paulo, Brasil) e

da densidade óptica (a 570 e 684 nm com um espectrofotômetro digital Femto, 800 XI, São Paulo, Brasil).

Atingida a concentração de 10^6 células mL^{-1} , as culturas foram diluídas para a concentração inicial com meio de cultura L.C. Oligo (AFNOR, 1980) modificado, para a preparação de 10 litros. O mesmo procedimento foi adotado até que cada um dos três biorreatores contivessem 20 L de cultura (figura 2, anexo) e os mesmos parâmetros de avaliação foram utilizados, diariamente. Em cada biorreator, foi colocada uma bomba de agitação, a fim de que as células não se depositassem umas sobre as outras e para evitar o auto sombreamento entre as células, otimizando a capacidade fotossintética; um aerador também foi introduzido nos biorreatores, para se evitar a elevação do potencial hidrogeniônico e a proliferação de microrganismos patogênicos anaeróbicos.

O experimento foi encerrado aos 33 dias de cultivo, quando as células se encontravam na fase estacionária de crescimento. A decantação das células ocorreu após a vedação do biorreator, a fim de que o processo fotossintético fosse evitado. O sobrenadante foi retirado e a densidade celular da biomassa foi aferida.

A biomassa úmida oriunda de um único fotobiorreator com cultura de *S. capricornutum* seria suficiente para o objetivo de utilizá-la como constituinte do material cimentante para peletizar sementes; mas, a fim de se obter reprodutibilidade experimental e também uma margem de segurança, o cultivo desta espécie de clorofícea foi executado em réplicas.

2.2 Cultura de *Chlorella sorokiniana*

A cepa de *Chlorella sorokiniana* utilizada é mantida no Laboratório de Biotecnologia de Algas do Departamento de Botânica na Universidade Federal de São Carlos. Culturas dessa microalga foram mantidas sob condições controladas de laboratório (intensidade luminosa de $160 \mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$, fotoperíodo 12/12h - claro/escuro e temperatura de $23 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$). Para o cultivo e manutenção da cepa, utilizou-se o meio de cultura L.C. Oligo (modificado de AFNOR, 1980). Este meio de cultura (tabela 2 dos anexos) foi modificado para a produção de biomassa experimental, tendo a concentração de todos os nutrientes duplicada, exceto bicarbonato de sódio, que teve sua concentração quadruplicada por ser fonte de carbono.

Para a produção de biomassa experimental, requerida em grande quantidade, as culturas foram mantidas em casa de vegetação sob condições semi-controladas (controle de temperatura promovido por sistema de refrigeração úmido e exaustores, com iluminação

natural entre os dias 1 e 10 de outubro de 2012). A intensidade luminosa quantificada foi de $110 \mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$ às 8:00 h e um máximo de $330 \mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$ às 13:00 h. Diariamente o pH era ajustado para 6,0 com adição de mistura CO_2/ar 3%, ar comprimido. Para essas culturas, usaram-se fotobiorreatores planares híbridos de 200 L de capacidade com 180 L de meio (figura 3 dos anexos). Foi usado um inóculo de 20 L em fase exponencial de crescimento, cultivado sob condições controladas de laboratório. A cultura foi iniciada com 10^5 células mL^{-1} em fase exponencial de crescimento.

As culturas foram monitoradas diariamente por meio da contagem de células (hemacitômetro do tipo câmara de Fuchs-Rosenthal), determinação da concentração de clorofila *a in vivo* (Turner Designs, Model Trilogy - U.S.A.), temperatura, pH (Hanna Instruments, HI 8424, USA) e densidade óptica em 570 e 684 nm usando-se um espectrofotômetro FEMTO, 800 XI, São Paulo, Brasil. A concentração de clorofila *a* foi determinada por meio de equação de regressão linear obtida através de uma curva de calibração, plotando-se a intensidade de fluorescência *versus* a concentração de clorofila *a* extraída de culturas de *Chlorella sorokiniana* em diferentes densidades (Laboratório de Biotecnologia de Algas, DB, UFSCar).

Após 10 dias de cultivo, a biomassa em fase estacionária de crescimento foi obtida e o cultivo finalizado. As células foram deixadas para decantar, o sobrenadante foi retirado e, no material decantado foi aferida a densidade celular.

2.3 Análises bioquímicas

Para ambas as culturas de algas, as células foram analisadas para a composição bioquímica celular considerando as concentrações de proteínas, carboidratos e lipídios, além da concentração de clorofila *a* no último dia experimental, imediatamente antes da coleta da biomassa para o experimento de peletização. Para a determinação de proteínas intracelulares utilizou-se metodologia descrita em Bradford (1976), para carboidratos intracelulares seguiu-se o método descrito em Liu, Wong e Dutka (1973), e lipídios totais foram extraídos de acordo com o método de Folch, descrito e modificado por Parrish (1987) e quantificados por cromatografia de camada fina com detector de ionização de chama de acordo com TLC/FID – Iatroscan.

2.4 Processo de peletização

Para os testes de peletização foi utilizada uma espécie típica do cerrado brasileiro, *Bowdichia virgilioides*. Ela ocorre em várias regiões do Brasil e é popularmente conhecida

como sucupira do cerrado e sucupira preta. Pode ser utilizada no paisagismo, além do aproveitamento de sua madeira para a indústria moveleira (SILVA JÚNIOR, 2012). Seus frutos apresentam-se em forma de vagem e a polinização é feita por abelhas. A dispersão ocorre pelos ventos.

Segundo a Resolução SMA 48, de 21 de setembro de 2004, publicada no Diário Oficial do Estado, em 22 de junho de 2004, *Bowdichia virgilioides* vem apresentando redução acelerada no número populacional, devido à exploração comercial desordenada e dormência exógena, levando a uma redução sensível da porcentagem de germinação e emergência. Assim, é considerada uma espécie ameaçada de extinção em categoria vulnerável, de acordo com a IUCN (International Union for Conservation of Nature).

Utilizamos para a quebra de dormência da espécie a metodologia citada por Smiderle e Sousa (2003) que recomendam a escarificação química com ácido sulfúrico concentrado por 5 minutos. Após a escarificação, as sementes foram imersas em solução de hipoclorito (20%) com uma gota de Tween® 80, a fim de retardar a proliferação de fungos endofíticos. Após passar por esses tratamentos, as sementes foram armazenadas secas em câmara de germinação do tipo B.O.D. (TECNAL, TE-390) a 27 °C por 24 horas, antes de serem peletizadas, a fim de que a secagem fosse completa.

Para o aferimento da qualidade das sementes foram medidas a porcentagem de germinação, o teor de água e a condutividade elétrica. A porcentagem de germinação de sementes nuas (sem pélete) em condições controladas laboratoriais (27 °C, fotoperíodo de 12h/12h em câmara de germinação) foi aferida simultaneamente ao experimento com sementes peletizadas.

Seis placas de Petri de 9 cm de diâmetro foram esterilizadas juntamente com duas folhas de papel filtro (CRUZ et al., 2012). As placas foram umedecidas com água destilada num volume que correspondia a três vezes o peso (g) do substrato, segundo recomendações das Regras de Análises de Sementes (BRASIL, 2009). Quinze sementes previamente tratadas foram postas nas placas de Petri, vedadas com filme PVC, o qual foi perfurado com cinco furos com agulha previamente esterilizada. As réplicas foram mantidas sob condições controladas laboratoriais (27 °C, fotoperíodo de 12h/12h em câmara de germinação, do tipo B.O.D.) e a porcentagem de germinação, dessa forma, foi aferida simultaneamente ao experimento com sementes peletizadas em casa de vegetação, até que houvesse a estabilização germinativa (CRUZ et al., 2012).

A determinação do teor inicial de água das sementes foi realizada pesando-se, uma amostra de 50 g subdividida em cinco sub-amostras, que foram secas em estufa a 105 °C ±

3 °C durante 24 horas (BRASIL, 2009). A determinação da condutividade elétrica foi realizada com sub-amostras equivalentes, às quais foram adicionados 75 mL de água deionizada em recipientes plásticos, que foram vedados com PVC. O experimento foi mantido em câmara de germinação do tipo B.O.D. a 27 °C por 24 horas.

Quatro tratamentos, descritos abaixo, foram utilizados para a peletização de sementes.

a) Sementes nuas (controle 1). b) Sementes peletizadas com cola branca à base de acetato de polivinila (CONCEIÇÃO e VIEIRA, 2008) diluída a 8% em água e gesso agrícola com fungicida Cerconil® (0,01 g para cada 5 g de gesso agrícola) e inseticida Diazinon® (0,025 g para cada 5 g de gesso agrícola), constituindo o controle 2. c) Sementes peletizadas com cola branca à base de acetato de polivinila diluída a 8% em biomassa algal úmida de *Selenastrum capricornutum* e gesso agrícola com fungicida e inseticida. d) Sementes peletizadas com cola branca à base de acetato de polivinila diluída a 8% em biomassa algal úmida de *Chlorella sorokiniana* e gesso agrícola com fungicida e inseticida.

As sementes previamente tratadas foram imersas em solução de acetato de polivinila diluída a 8% em água/alga por dois minutos. Em seguida, a mistura de gesso agrícola, inseticida e fungicida foi pulverizada nas sementes, as quais permaneceram intocadas por 24 horas, quando o processo foi repetido. Esperaram-se mais 24 horas para a manipulação das sementes peletizadas para que fosse realizada a sementeira.

A figura 4 dos anexos ilustra os materiais utilizados para o processo de peletização.

As sementes peletizadas tiveram a espessura aferida, por meio de um paquímetro digital.

Foram semeadas 100 sementes para cada tratamento em tubetes com substrato organo-arenoso e areia fina (na proporção 3:1) a 1,5 cm da superfície. Estes foram mantidos em casa de vegetação, distribuídos aleatoriamente. Foram realizadas seis regas ao dia, durante cinco minutos, através de um sistema de aspersão de microgotas (figura 5 dos anexos). O experimento foi mantido sob luminosidade média de 960 $\mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}$ e temperatura média de 38 °C (horário de leituras: 12-13h). Diariamente, foi registrado o número de sementes emergentes, a emergência da primeira e segunda folha, até que não houvesse nenhuma emergência durante três dias consecutivos (totalizando 43 dias de leituras).

2.5 Análises estatísticas

A influência da presença de algas nos péletes sobre a emergência de *B. virgilioides* foi avaliada através da Análise de Regressão Logística (JACCARD, 2001). O modelo incluiu a resposta binária (emergência ou não de cada semente) como variável resposta e os níveis de tratamentos foram usados como variável explicativa. O tratamento “semente nua” foi usado como controle. O tratamento “gesso” foi usado como referência com intervalo de confiança de 95% e valor de $p=0,05$. Para análise estatística de dados com valores contínuos, utilizou-se ANOVA para dados paramétricos e Kruskal-Wallis quando os dados foram não paramétricos.

As análises estatísticas foram realizadas para as seguintes variáveis: emergência das plântulas, comprimentos (cm) de parte aérea e radicular (aferidas com paquímetro digital) e peso (g) fresco e seco das partes aérea e radicular, além do número de nódulos fixadores de nitrogênio.

3. RESULTADOS

Os dados das taxas de crescimento, absorvância e clorofila *a* mostraram que uma das réplicas (ou biorreator) de *S. capricornutum* apresentou maior densidade celular fotossintética, sendo esta utilizada nos experimentos com peletização de *Bowdichia virgilioides*.

Selenastrum capricornutum e *Chlorella sorokiniana* cresceram exponencialmente até o 2º dia ($9,13 \times 10^5$ células mL^{-1} e taxa de crescimento $0,759 \text{ dia}^{-1}$) e 4º dia ($3,17 \times 10^6$ células mL^{-1} e taxa de crescimento $0,993 \text{ dia}^{-1}$), respectivamente. As culturas cresceram até o trigésimo terceiro dia (*S. capricornutum* com $2,56 \times 10^6$ células mL^{-1} e $1,7 \times 10^8$ células mL^{-1} da biomassa úmida) e décimo dia (*C. sorokiniana* com $1,56 \times 10^7$ células mL^{-1} e $2,5 \times 10^8$ células mL^{-1} da biomassa úmida), quando se obteve a biomassa algal úmida pela retirada do sobrenadante.

Os valores dos componentes intracelulares das biomassas das duas espécies de algas verdes estão ilustrados na tabela 1.

Tabela 1. Qualidade da biomassa algal utilizada no processo de peletização. Teores de proteínas, carboidratos, lipídios e clorofila *a* das culturas de *S. capricornutum* e *C. sorokiniana*.

Table 1. Algal biomass quality used in the pelleting process. Values of proteins, carbohydrates, lipids and chlorophyll in *S. capricornutum* and *C. sorokiniana* cultures.

Cultura	Proteínas (mg L ⁻¹)	Carboidratos (mg L ⁻¹)	Lipídios (mg L ⁻¹)	Clorofila <i>a</i> (mg L ⁻¹)
<i>S. capricornutum</i>	1,53	0,31	2,21	1,31
<i>C. sorokiniana</i>	2,50	25,00	11,38	1,64

O peso de 1000 sementes foi 39 g, havendo 25641 sementes kg⁻¹. As médias dos valores de espessura (cm) das sementes foram significativamente diferentes entre sementes nuas e com gesso e *S. capricornutum* (p=0,042). Também houve diferença estatística entre sementes nuas e com gesso (p=0,004) e entre sementes nuas e com gesso e *C. sorokiniana* (p=0,018). As sementes peletizadas foram mais espessas, de modo geral.

As sementes apresentaram teor médio de água de 8,1%.

O valor médio de condutividade elétrica inicial foi 39,8 μS cm⁻¹ g⁻¹, sendo que após 120 dias esse valor passou para 52,5 μS cm⁻¹ g⁻¹. Considerando-se que a mesma metodologia e equipamentos foram utilizados, durante esse intervalo pôde-se constatar uma diferença estatística significativa entre os valores de condutividade elétrica, com valor de p=0,005.

A porcentagem e tempo médio de emergência das plântulas obtidas de sementes peletizadas estão ilustrados na figura 1.

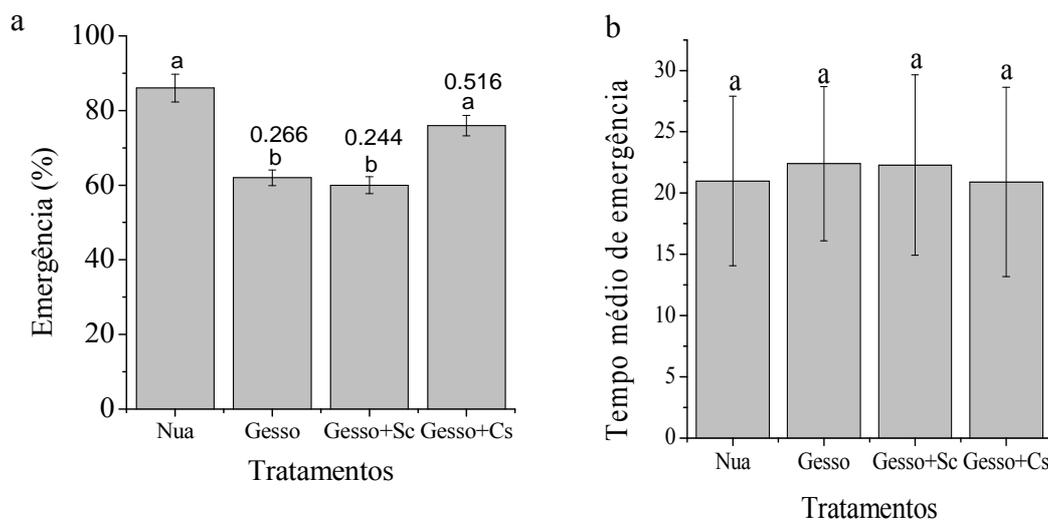


Figura 1. a) Porcentagem média de emergência e b) tempo médio de emergência de plântulas oriundas de sementes peletizadas de *Bowdichia virgilioides*. Sc: *Selenastrum capricornutum*. Cs: *Chlorella sorokiniana*. 95% de intervalo de confiança, com $p=0,05$. Letras diferentes significam diferenças entre tratamentos, estatisticamente. Os valores descritos acima das barras no gráfico de porcentagem de emergência significam quantas vezes a probabilidade de emergência de plantas para o tratamento “sementes nuas” é maior do que a probabilidade para os demais tratamentos. Tal análise foi realizada por regressão logística.

Figure 1. a) Percentage and b) average emergence of seedlings from *Bowdichia virgilioides* pelleted seeds. Sc: *Selenastrum capricornutum*. Cs: *Chlorella sorokiniana*. 95% confidence interval, with $p = 0,05$. Different letters means differences between treatments statistically. The values described on above bars in the graph of the percentage of emergency means how many times the chances of the emergence of plants to the treatment "naked seeds" is greater than the probability for the other treatments. Such an analysis was performed by logistic regression.

O tratamento com gesso e *Chlorella sorokiniana* mostrou uma porcentagem superior de plântulas emergentes (76%), diferentes estatisticamente, em relação à porcentagem de plântulas oriunda do tratamento “gesso” (62%) com valor de $p= 0,033$. Já as sementes peletizadas com *Selenastrum capricornutum* apresentaram porcentual de germinação (60%), estatisticamente igual ao de plântulas emergentes do tratamento “gesso” ($p= 0,772$).

A figura 2 ilustra os valores médios de comprimento (cm) das partes aérea e radicular e a figura 3 mostra os valores médios de peso fresco e seco (g).

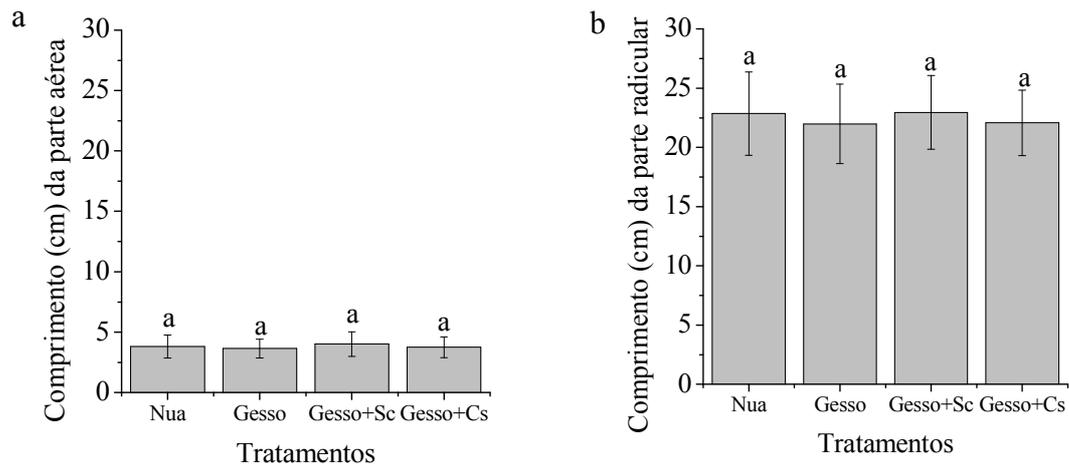


Figura 2. Média dos valores de comprimento (cm) de a) parte aérea e b) parte radicular de plântulas de sementes peletizadas de *Bowdichia virgilioides*. Sc: *Selenastrum capricornutum*. Cs: *Chlorella sorokiniana*. 95% de intervalo de confiança, com $p=0,05$.

Figure 2. Average values for length (cm) of a) shoot and b) the root of seedlings from *Bowdichia virgilioides* pelleted seeds. Sc: *Selenastrum capricornutum*. Cs: *Chlorella sorokiniana*. 95% confidence interval, with $p=0,05$.

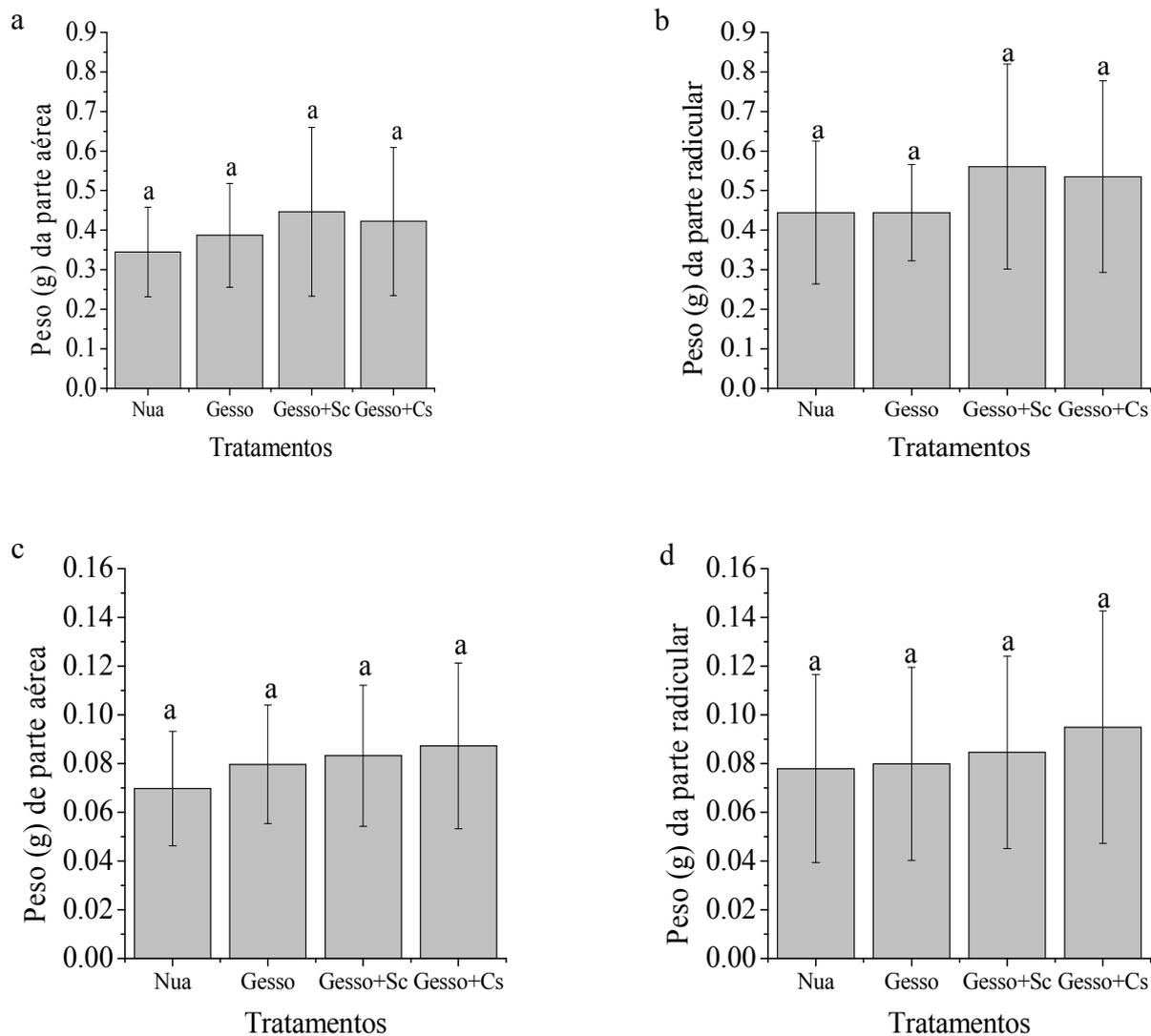


Figura 3. Média dos valores de peso fresco e de peso seco de a) e c) parte aérea e b) e d) parte radicular de plântulas oriundas de sementes peletizadas de *Bowdichia virgilioides*. Sc: *Selenastrum capricornutum*. Cs: *Chlorella sorokiniana*. 95% de intervalo de confiança, com $p=0,05$.

Figure 3. Average values of fresh and dry weight of a) and c) aerial portion and b) and d) root portion of seedlings from *Bowdichia virgilioides* pelleted seeds. Sc: *Selenastrum capricornutum*. Cs: *Chlorella sorokiniana*. 95% confidence interval, with $p = 0,05$.

A figura 4 ilustra os dados obtidos do cultivo de *Selenastrum capricornutum* e *Chlorella sorokiniana*.

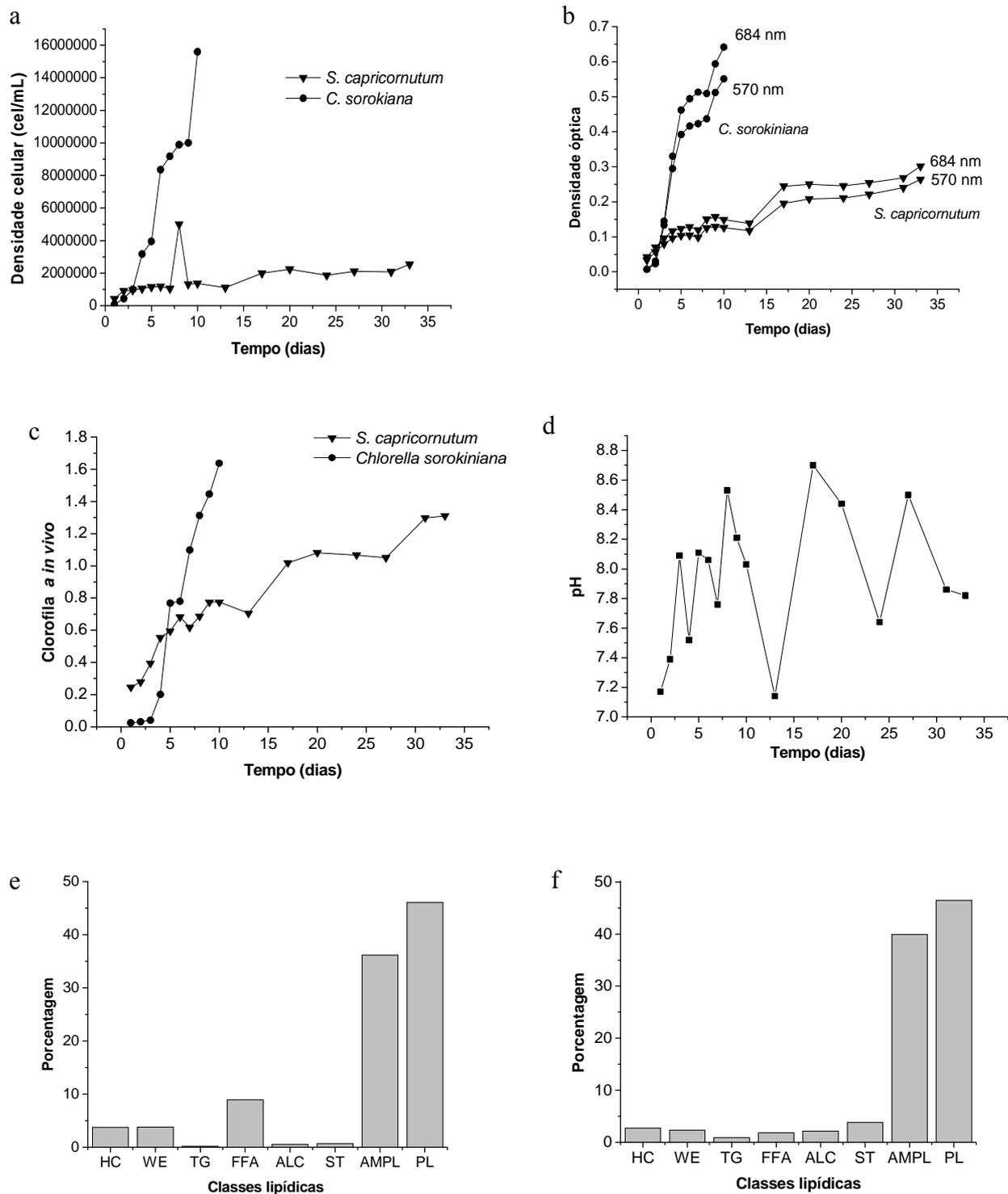


Figura 4. a) Densidade celular média; b) densidade óptica (nm); c) clorofila *a* das culturas de *Selenastrum capricornutum* e *Chlorella sorokiniana*; d) potencial hidrogeniônico da cultura de *S. capricornutum*; e) porcentagem das classes lipídicas de *S. capricornutum* e f) porcentagem das classes lipídicas de *C. sorokiniana*. HC: hidrocarboneto alifático; WE: wax éster; TG: triacilglicerol; FFA: ácidos graxos livres; ALC: álcool alifático livre; ST: esteroil livre; AMPL: acetone móbil polar lipídios; PL: fosfolipídios.

Figure 4. a) Average cell density; b) optical density (nm); c) chlorophyll *a* in *Selenastrum capricornutum* and *Chlorella sorokiniana* cultures; d) hydrogen potential of *S. capricornutum* culture; e) percentage of lipid classes of *Selenastrum capricornutum* and f) percentage of lipid classes of *C. sorokiniana*. HC: aliphatic hydrocarbon; WE: wax éster; TG: triacylglycerol; FFA: free fatty acids; ALC: free aliphatic alcohol; ST: free sterol; AMPL: acetone móbile polar lipids; PL: phospholipids.

As medidas de comprimento das partes aérea e radicular, assim como seus pesos fresco e seco não apresentaram diferença estatística significativa entre os tratamentos (figura 2 e 3).

4. DISCUSSÃO

Características do material algal

Os carboidratos e lipídios presentes na biomassa das algas poderiam auxiliar a constituição do material cimentante do pélete, devido à presença de celulose na parede celular, a qual se une a outros polissacarídeos e confere consistência gelatinosa (BARROSO, 2010), proporcionando aderência à semente. A biomassa de *S. capricornutum* apresentou menor teor de carboidratos totais (tabela 1) quando comparada com a biomassa de *C. sorokiniana* e isto pode ter influenciado na menor porcentagem de emergência das sementes peletizadas com *S. capricornutum*. Além disso, a biomassa de *C. sorokiniana* continha uma concentração de lipídios totais cinco vezes maior do que a biomassa de *S. capricornutum*.

Ávila e Albrecht (2010) realizaram uma revisão sobre isoflavonas e a qualidade de sementes de soja, a partir da qual determinaram que essas sementes são capazes de absorver nutrientes, inclusive proteínas e lipídios.

Thompson e Couture (1991) realizaram um estudo para investigar a resposta do crescimento de *S. capricornutum* à exposição ao cádmio. O meio de cultura utilizado foi o AAP (CHIAUDANI e VIGHI⁵, 1978, citados por THOMPSON e COUTURE, 1991) e no 5º dia de cultivo do tratamento controle as algas apresentaram densidade celular na ordem de 10⁶, assim como no presente trabalho, apesar da diferença de composição do meio de cultura.

⁵ Chiaudani, G. and M. Vighi, 1978. The use of *Selenastrum capricornutum* batch cultures in toxicity studies. Mitt. Int. Verein. Limnol. 21,316-329.

Neste mesmo trabalho, a razão encontrada para proteínas intracelulares/carboidratos, foi igual a 7 para o tratamento controle após 6 horas do início do experimento e com $2,5 \times 10^4$ células mL^{-1} . No presente trabalho, a cultura em fotobiorreator apresentou uma razão igual a 5, considerando que a cultura estava com 33 dias de cultivo. Essa divergência nos valores das razões proteína/carboidrato intracelulares pode ser explicada pelas diferenças de composição do meio de cultura e condições de cultivo, como temperatura e luminosidade, além da origem da cepa. Porém, pelo valor desta razão pode-se inferir, ou ter uma ideia, de quão saudável a cultura está, pois quanto mais alto este valor, menos estressadas estão as células.

Entretanto, a razão proteína/carboidrato intracelulares para os dados de *C. sorokiniana* tem valor igual 0,1, indicando o estado estressante em que a cultura se encontrava, já que se esperava que os valores intracelulares protéicos fossem mais elevados do que os valores referentes a carboidratos.

Os dados de densidade óptica e clorofila *a in vivo* corroboram os dados de densidade celular e taxa de crescimento, pois as curvas são sobreponíveis.

Ho et al. (2012) realizaram um estudo com *Chlorella vulgaris* e investigaram, primeiramente, a cepa que produz maior porcentagem de carboidratos, com o objetivo de produzir bioetanol. Nesse trabalho, obtiveram 12,16% de carboidratos em relação à biomassa seca total para a cepa que possuía taxa de crescimento igual 0,99. No presente trabalho, a alga pertencente ao mesmo gênero (*C. sorokiniana*) apresentou 35,71% de carboidratos em relação à biomassa total, sendo que a taxa de crescimento e o tempo de cultivo (10 dias) foram os mesmos reportados por Ho et al. (2012). Esta diferença pode ser explicada pelas diferenças existentes entre os meios de cultivo, luminosidade e temperatura, além da concentração de nitrogênio, que foi de 90% no meio de cultivo de *C. vulgaris*.

Sob estresse as algas excretam mais carboidratos, o que foi observado na cultura de *C. sorokiniana*, já que houve grande variação de luminosidade de temperatura no local de cultivo.

A cepa de *C. vulgaris* reportada por Ho et al. (2012) apresentou 11,61% de lipídios e 60,38% de proteínas em relação à biomassa seca total. Já o cultivo de *C. sorokiniana* apresentou 15,17% de lipídios e 1,22% de proteínas.

Características das sementes de *B. virgilioides* utilizadas

O peso de 1000 sementes foi 39 g, havendo 25641 sementes kg^{-1} . Gonçalves et al. (2008) encontraram 21,2 g para mil sementes da mesma espécie e 47175 sementes kg^{-1} , diferindo dos nossos resultados. As diferenças entre o tamanho, peso de mil sementes e o número de sementes kg^{-1} encontradas entre os dados do presente trabalho e os da literatura citada, podem ser explicadas por meio de variações genéticas e ambientais entre as populações (BIANCHETTI, 1991; AZEREDO et al., 2003).

Smiderle e Sousa (2003) encontraram 90% de germinação para *B. virgilioides* escarificadas com ácido sulfúrico durante cinco minutos sendo que tal experimento foi realizado em câmara de germinação a 25 °C. No presente trabalho, o valor médio de porcentagem de germinação em condições laboratoriais foi de 79% e 86% em casa de vegetação.

As sementes apresentaram teor médio de água de 8,1%, assemelhando-se aos valores obtidos por Gonçalves et al. (2008), os quais obtiveram 9,1% para o teor médio de água. De acordo com as Regras de Análises de Sementes (BRASIL, 2009) o valor 8,1% obtido no presente trabalho é considerado adequado para o armazenamento de sementes e desenvolvimento de experimentos, já que o valor máximo de tolerância entre as réplicas (0,5%) não foi atingido. O teste de condutividade elétrica neste trabalho apontou um valor médio de $52,5 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$, contrastando com o valor médio obtido há 120 anteriores ao experimento ($39,8 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$), o que significa que a semente estava liberando compostos para o meio externo. Porém, os testes de umidade e germinação apontaram que as sementes estavam em bom estado para a continuidade do experimento.

Millier e Sooter (citados por CORASPE, IDIARTE e MINAMI, 1993), afirmam que sementes peletizadas apresentam menor taxa de emergência em comparação a sementes nuas. Mas os resultados do presente trabalho não corroboram esta afirmação, já que o tratamento com gesso e *C. sorokiniana* resultou em maior porcentagem de emergência ($p < 0,05$) do que seu controle (gesso) e foi igual ao controle do processo (semente nua).

Durante a análise dos resultados das partes subterrâneas de *B. virgilioides* percebeu-se o surgimento de nódulos fixadores de nitrogênio nas raízes de todos os tratamentos, correspondente a 30% dos indivíduos, independentemente do tratamento. Aparentemente, a nodulação não é prejudicada pelo processo de peletização.

A fixação biológica de nitrogênio pelas plantas leguminosas pode suprir a adubação mineral dependendo da espécie e do sistema de cultivo. Aqui, a planta-alvo foi uma

espécie nativa do cerrado e o fato de ter ocorrido associação com bactérias fixadoras de nitrogênio pode ser um diferencial em se tratando de reflorestamento.

Gonçalves et al. (2008) realizaram um trabalho de pré-embebição em água com *B. virgilioides* a 12, 24, 36 e 48h e o tratamento controle (aqui denominado tratamento da semente nua), sem embebição, foi o que resultou em menor porcentagem média de emergência, contrastando com o resultado encontrado no presente trabalho, no qual o tratamento controle foi o que apresentou maior porcentagem média de emergência, estatisticamente igual ao tratamento com gesso e *C. sorokiniana*.

Pradella et al. (1989) realizaram um estudo de viabilidade da peletização utilizando gel hidrofílico alginato de sódio geleificado em solução de cloreto de cálcio em sementes de espécies vegetais nativas da Serra do Mar. As sementes peletizadas apresentaram desempenhos diversos quanto ao poder germinativo e problemas quanto ao armazenamento, mas o processo de peletização assegurou condições propícias para sua germinação e posterior desenvolvimento das plântulas no solo. A técnica testada por estes autores (alginato de sódio e cloreto de cálcio, utilizados na peletização) serviu de incentivo ao seu uso para fins agrícolas e florestais, especialmente para as espécies que produzem sementes de tamanho reduzido.

Silva, Santos e Nascimento (2002) peletizaram sementes de alface utilizando microcelulose e areia fina como materiais de revestimento e bentonita e acetato de polivinila, uma espécie de cola, como materiais cimentantes. Neste caso, os resultados de germinação não foram significativamente diferentes daqueles obtidos para a germinação de sementes nuas. Os valores de emergência diferiram significativamente para os tratamentos com 25 e 50% de cola à base de acetato de polivinila. Os autores consideraram esses resultados como satisfatórios. Todas as formulações utilizadas na peletização causaram redução na velocidade de germinação; exceto quando semeadas em substrato orgânico e cultivadas em casa de vegetação.

Berger et al. (1995) testaram o efeito da peletização no feijão com rizóbio, molibdênio e carbonato de cálcio, sendo o material cimentante a goma arábica diluída em água a 40%. O rizóbio não teve efeito positivo, e o carbonato de cálcio na peletização não foi o mais adequado. Já o tratamento com molibdênio resultou em mais elevadas porcentagens de germinação em solos pobres em nutrientes.

Os materiais utilizados no tratamento gesso com *C. sorokiniana* não interferiram significativamente na emergência das plântulas, o que representa um resultado positivo, uma vez que juntamente com estes materiais podem ser agregadas substâncias protetoras

das sementes tais como fungicidas e inseticidas, que as protegem permitindo a sua melhor conservação no solo.

5. CONCLUSÕES

Os melhores resultados obtidos para a porcentagem média de emergência foram aqueles para as sementes peletizadas com biomassa residual de *C. sorokiniana*, embora este tratamento não tenha apresentado diferentes resultados do controle (sementes nuas).

O tempo médio de emergência não diferiu entre os tratamentos.

A peletização de sementes pode vir a ser um destino eficiente para biomassa residual do cultivo de *C. sorokiniana*, se a cultura contiver consideráveis valores de componentes bioquímicos intracelulares.

6. REFERÊNCIAS

ADLER, T. Getting to the root of nodule formation. *Science News*, 1995, p. 102. Academic OneFile. Disponível em: <http://www.sciencenews.org> Acesso em 02 de abril de 2013.

AFNOR - **Association Française de Normalisation**. Essais des eaux. Détermination de l'inhibition de *Scenedesmus subspicatus* par une substance. Norme expérimentale T90-304. 1980.

AGRANELLI. **INSUMOS AGRÍCOLAS**. 2011. Acessado em: <http://www.agronelliagricola.com.br/> Acesso em 21 de setembro de 2011.

ALMEIDA, N.O. de;. Implantação de matas ciliares por plantio direto utilizando-se sementes peletizadas. Tese (Doutorado em Ciências Florestais) – Universidade Federal de Lavras, Lavras/MG. 269 p., 2004.

ÁVILA, M. R.; ALBRECHT, L. P. Isoflavonas e a qualidade das sementes de soja. **Informativo Abrates**, v. 20, p. 15-29, 2010.

AZEREDO, G. A.; et al. O. Germinação em sementes de espécies florestais da Mata Atlântica (Leguminosae) sob condições de casa de vegetação. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 33, n. 1, p. 11-16, 2003.

BARROSO, E. Procariontes e protistas fotossintetizantes. **Universidade Estadual do Maranhão**. Departamento de Química e Biologia, 2010. Disponível em: <http://pt.scribd.com/doc/88000102/ALGASPROTISTAS> Acesso em 02 de abril de 2013.

BERGER, P. G.; et al. Peletização de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) com carbonato de cálcio, rizóbio e molibdênio. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 42, n. 243, p. 562-574, 1995.

BERTOLDI, F. C.; SANT'ANNA, E.; OLIVEIRA, J. L. B. Revisão: biotecnologia de microalgas. **Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**. Curitiba v. 26, n. 1, p. 9-20, 2008.

BIANCHETTI, A. Tratamentos pré-germinativos para sementes florestais. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE SEMENTES FLORESTAIS, 2., 1989, Atibaia, SP. **Anais...** São Paulo: Instituto Florestal, 1991. p. 237-246.

BILANOVIC, D. et al. Freshwater and marine microalgae sequestering of CO₂ at different C and N concentrations – Response surface methodology analysis. **Energy Conversion and Management**, v. 50, n. 2, p. 262–267, 2009.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**. V. 72, n.1, p. 248-254, 1976.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF: SNDA/DNDV/CLAV, 2009. 398 p.

CHADER, S. et al. Biodiesel production using *Chlorella sorokiniana* a green microalga. **Revue des Energies Renouvelables**, v. 14, n. 1, p. 21-26, 2011.

CONCEIÇÃO, P. M.; VIEIRA, H. D. Qualidade fisiológica e resistência do recobrimento de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**. Brasília, v.30, n. 3, p.48-53, 2008.

CORASPE, H.M.; IDIARTE, H.G.; MINAMI, K. Avaliação do efeito da peletização sobre o vigor de sementes de alface (*Lactuca sativa* L.). **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 50, n. 3, p. 349-354, 1993.

CRUZ, A. F.; et al. Métodos para análise de sementes de *Bowdichia virgilioides* Kunth. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 40, n. 93, p. 77-84, 2012.

GONÇALVES, J. V. F.; et al. Caracterização física e avaliação da pré-embebição na germinação de sementes de sucupira-preta (*Bowdichia virgilioides* KUNTH). **Revista Cerne**, Lavras, v. 14, n. 4, p. 330-334, 2008.

HO, S.H.; et al. Characterization and optimization of carbohydrate production from an indigenous microalga *Chlorella vulgaris* FSP-E. **Bioresour. Technol.**, 2012, <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2012.10.100>.

JACCARD, J. Interaction effects in logistic regression. Sage university papers series on quantitative application in the social sciences. Thousand Oaks, 2001.

LAGUNA, V. G. **Chuvas provocam aumento de algas na piscina, contaminando a água e a saúde do usuário**. Sibrape, news, 2012. Disponível em: <http://www.sibrape.com.br/news> - Acessado em 02 de abril de 2013.

LOPES, A.C.A.; NASCIMENTO, W.M. Peletização em sementes hortaliças. Embrapa Hortaliças. **Ministério da agricultura, pecuária e desenvolvimento**. Documentos 137. Brasília, DF, 28 p., 2012.

LIU, D; WONG, P. T. S.; DUTKA, B. J. Determination of carbohydrate in lake sediment by a modified phenol-sulfuric acid method. **Water Research**, Grã Bretanha, v. 7, p. 741-746, 1973.

OLIVEIRA, A.P.; BRUNO, R.L.A.; ALVES, E.U. Influência do substrato e da temperatura na germinação de sementes peletizadas de tomate. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 23, n. 2, p.72-77, 2001.

PARRISH, C. C. Separation of aquatic lipid classes by chromarod thin-layer chromatography with measurement by Iatroscan Flame Ionization Detection. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science**. Canadá, v. 44, p.722-731, 1987.

PRADELLA, D. Z. A.; et al. Peletização de sementes em gel hidrofílico. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 11, n.1, p. 43-52, 1989.

SILVA, J.B.C. **Avaliação de métodos e materiais para peletização de sementes**. Tese de doutorado (Doutorado em Agronomia) UNESP, 127 p. Botucatu, 1997.

SILVA, J.B.C.; NAKAGAWA, J. Confecção e avaliação de péletes de sementes de alface, **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 16, n. 2, p. 151-158, 1998.

SILVA, J.B.C.; SANTOS, P.E.C.; NASCIMENTO, W.M. Desempenho de sementes peletizadas de alface em função do material cimentante e da temperatura de secagem dos péletes. **Horticultura brasileira**, Brasília, v. 20, n. 1, p. 67-70, 2002.

SILVA JÚNIOR, M.C. **100 árvores do cerrado – sentido restrito**. Brasília: ed. Rede de Sementes do Cerrado, 304p. Il, 618 fotos, 2012.

SMIDERLE, O.J.; SOUZA, R.C.P. Dormência em sementes de paricarana (*Bowdichia virgilioides* Kunth - Fabaceae - papilionidae). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 25, n. 1, p.72-75, 2003.

SOUSA, D. M. G., LOBATO, E.; REIN, T. A. Uso de gesso agrícola nos solos do cerrado. Circular Técnica 32. Embrapa Cerrados. Planaltina, DF, 18 p., 2005.

THOMPSON, P. A.; COUTURE, P. Short and long term changes in growth and biochemical composition of *Selenastrum capricornutum* populations exposed to cadmium. **Aquatic Toxicology**, v. 21, n.1, p. 135-144, 1991.

VASCONCELOS, Y. Fertilizante marinho. Uso de algas calcárias como adubo em lavouras de cana pode elevar a produtividade em até 50%. **Revista Pesquisa FAPESP**, edição 197, p.62-65, 2012.

CAPÍTULO 2

EMERGÊNCIA DE PLÂNTULAS OBTIDAS DE SEMENTES PELETIZADAS E DESENVOLVIMENTO INICIAL DE *Bowdichia virgilioides* Kunth EM CASA DE VEGETAÇÃO E NO CAMPO

Graziela Cristina Montanhim⁶, Renata Natsumi Haneda⁷, Ana Teresa Lombardi⁷,
Maria Inês Salgueiro Lima⁸, Andréa Lúcia Teixeira de Sousa⁹

RESUMO

Grandes áreas no Brasil vêm sendo ocupadas por cultivo de eucalipto, sendo que parte delas deve ter a sua vegetação nativa recomposta para atender à legislação em vigor. Nesse sentido, o enriquecimento do sub-bosque através do plantio de espécies de cerrado pode acelerar o processo de regeneração natural. Neste trabalho, esperamos contribuir com o conhecimento de metodologias capazes de tornar viáveis trabalhos de enriquecimento de sub-bosques de eucalipto através da sementeira direta. Sementes peletizadas de *Bowdichia virgilioides* Kunth (sucupira do cerrado) com biomassa algal, gesso ou silicato para uso agrícola, foram testadas quanto à porcentagem e tempo médio de emergência (dias) em condições de casa de vegetação e no campo. Trabalhos relatam que as sementes dessa espécie apresentam dormência tegumentar e a emergência das plântulas é considerada epígea. Além disso, o desenvolvimento das plântulas é considerado lento. Os tratamentos utilizados foram: a) sementes nuas (primeiro controle do processo); b) sementes peletizadas com cola branca à base de acetato de polivinila diluída a 8% em água (segundo controle); c) sementes peletizadas com cola branca à base de acetato de polivinila diluída a 8% em água e gesso agrícola; d) sementes peletizadas com cola branca à base de acetato de polivinila diluída a 8% em água com silicato para uso agrícola; e) sementes peletizadas com cola branca à base de acetato de polivinila diluída a 8% em biomassa algal úmida de *Selenastrum capricornutum* e gesso agrícola; f) sementes peletizadas com cola branca à base de acetato de polivinila diluída a 8% em biomassa algal úmida de *Selenastrum capricornutum* e silicato para uso agrícola. Ao silicato e gesso para uso agrícola foi acrescentado fungicida e inseticida. Com sementes de cada tratamento (exceto o tratamento que continha apenas acetato de polivinila) foram semeadas, aleatoriamente, em tubetes e mantidos em casa de vegetação sob um sistema de irrigação. Com sementes de cada tratamento foram semeadas em uma área do cerrado com cultivo de eucalipto na cidade de São Carlos – SP, com 20 réplicas para cada tratamento, tendo 5 sementes em cada uma das réplicas. A biomassa algal úmida continha com $1,5 \times 10^8$ células mL⁻¹. Após 100 dias, o comprimento da parte aérea e porcentagem de sobrevivência foram aferidos e os resultados mostraram que a parte aérea foi maior em casa de vegetação, porém a sobrevivência das plântulas foi maior em campo. Além disso, em se tratando de porcentagem de emergência, o tratamento “gesso” foi o que proporcionou valores menores, tendo o silicato desempenhado um papel mais eficiente como material cimentante.

Palavras-chave: cerrado, peletização, reflorestamento.

⁶ Programa de Pós-graduação em Ecologia e Recursos Naturais.

⁷ Laboratório de Biotecnologia de algas – DB- UFSCar.

⁸ Laboratório de Sistemática Vegetal e Ecologia Química – DB -UFSCar

⁹ Departamento de Ciências Ambientais - UFSCar

ABSTRACT

Large areas in Brazil are being occupied by eucalyptus plantations, which aims to be regenerate with native vegetation to attend the current legislation . In this sense, the enrichment of the understory by planting brazilian savanna species can accelerate the natural regeneration process. In this work, we hope to contribute to the knowledge of methodologies to make viable enrichment works of eucalyptus sub-forests through direct seeding of seeds. Pelleted seeds of *Bowdichia virgilioides* Kunth (sucupira) using algal biomass, silicate or agricultural gypsum were tested for percentage and mean emergence time (days) under conditions of greenhouse and field. Several studies report that the seeds of this species have dormancy cutaneous and seedling emergence is considered epigeal. In addition, seedling development is considered slow. The treatments were: a) naked seeds (first process control); b) pelleted seeds with white glue based on polyvinyl acetate diluted to 8% in water (second control); c) pelleted seeds with white glue based on polyvinyl acetate diluted to 8% with water and gypsum; d) pelleted seeds with white glue based on polyvinyl acetate diluted to 8% silicate for agricultural use; e) pelleted seeds with white glue based on polyvinyl acetate diluted to 8% with wet algal biomass of *Selenastrum capricornutum* and gypsum; f) pelleted seeds with white glue based on polyvinyl acetate diluted to 8% with wet algal biomass of *Selenastrum capricornutum* and silicate for agricultural. Fungicide and insecticide were added to the silicato and gypsum for agricultural according to industry directions. One hundred seeds of each treatment (except treatment containing only polyvinyl acetate) were sown randomly in tubes and kept in a greenhouse under an irrigation system. One hundred seeds from each treatment were planted in an area of brazilian savanna under a eucalyptus plantation in the city of São Carlos - SP, with 20 replicates for each treatment, with 5 seeds in each replicas. The wet algal biomass contained with $1,5 \times 10^8$ cells mL⁻¹. After 100 days, the length of the shot part and survival percentage were measured and the results showed that the air portion was higher in the greenhouse, but seedling survival was higher at field. Moreover, when it comes to percentage of emergency treatment "plaster" showed the lowest values for this variable, with silicate played a more efficient as a glue.

Key-words: savanna, pelleting, reforestation.

1. INTRODUÇÃO

Extensas áreas de cerrado vêm sendo ocupadas no Brasil por plantios de eucalipto. Alguns trabalhos sobre plantações de *Eucalyptus* e *Pinus* caracterizam a formação de sub-bosque de espécies nativas, a partir de regeneração natural (NERI et al., 2005). O estabelecimento dessas espécies pode se dar a partir de diásporos de vegetação vizinha dos plantios, do banco de sementes ou do brotamento de órgãos subterrâneos gemíferos, principalmente em solos de Cerrado. A regeneração natural dos sub-bosques pode apresentar estreita dependência de formações florestais vizinhas, como fonte de diásporos. Outros fatores também podem exercer influência marcante, tais como a ecologia da dispersão de cada espécie regenerante, os efeitos de borda e de clareiras, práticas de manejo, vizinhança de pastagens, sentido predominante dos ventos e possíveis efeitos alelopáticos (AUBERT e OLIVEIRA FILHO, 1994).

Silva Júnior, Scarano e Cardel (1995) demonstraram que quando indivíduos jovens de eucalipto não aparecem no estrato inferior do sub-bosque, as espécies nativas têm maior sucesso na regeneração natural e que *Eucalyptus grandis* ao desenvolver o papel de pioneira favorece o desenvolvimento de uma comunidade jovem com característica de estágios avançados de sucessão. Dario, Vicenzo e Almeida (2002), estudando o efeito da fragmentação sobre determinados grupos de aves, encontraram em plantios de *Eucalyptus* apenas espécies de aves que possuem boa adaptação aos ambientes que passaram por ação antrópica. Aquelas tipicamente florestais e que tiveram alta frequência nos fragmentos florestais não foram observadas no povoamento homogêneo. Isto demonstra que o plantio de *Eucalyptus*, mesmo com sub-bosque bem desenvolvido, constitui uma barreira para espécies da avifauna. O mesmo autor relata ainda que, com o avanço da sucessão e com o aumento da densidade de espécies nativas, em detrimento das espécies plantadas, os talhões apresentam não só aumento da diversidade de espécies vegetais, mas também maior variedade de nichos. O aumento da complexidade da estrutura da vegetação possibilita novas estratégias de exploração do ambiente, elevando também a diversidade de fauna.

Nesse sentido, o enriquecimento do sub-bosque através do plantio de espécies de Cerrado pode acelerar o processo de regeneração natural, recuperando em menor período de tempo as condições necessárias para o aumento da riqueza de fauna.

Neste trabalho, esperamos contribuir com o conhecimento de métodos capazes de tornar viáveis trabalhos de enriquecimento de sub-bosques de eucalipto através da semeadura direta de sementes peletizadas.

A espécie escolhida para nossos testes foi *Bowdichia virgilioides* Kunth. Ela ocorre em várias regiões do Brasil e é popularmente conhecida como sucupira do cerrado e sucupira preta. As flores de coloração lilás tornam essa espécie utilizada no paisagismo, além do aproveitamento de sua madeira para a indústria moveleira. Seus frutos apresentam-se em forma de vagem e a polinização é feita por abelhas. A dispersão ocorre pelo vento. Trata-se de uma espécie nativa do cerrado brasileiro e é considerada de pioneira a secundária tardia (CARVALHO, 2006; SILVA JÚNIOR, 2012).

A sucupira preta também é alvo de estudos quanto a seus aspectos químicos e farmacológicos por ser considerada espécie com propriedades medicinais (FERRONATO, 1999; MACEDO e FERREIRA, 2004), com foco em pesquisas relacionadas à diabetes. Almeida et al. (2006) realizaram um estudo com o óleo essencial das folhas de *B. virgilioides* e constataram sua ação antimicrobiana contra alguns microrganismos patogênicos, como *Candida albicans*.

Segundo a Resolução SMA 48, de 21 de setembro de 2004, publicada no Diário Oficial do Estado, em 22 de junho de 2004, *Bowdichia virgilioides* vem apresentando redução acelerada no número populacional, devido à exploração comercial desordenada e dormência exógena, a qual reduz sensivelmente a porcentagem de germinação e emergência. Assim, é considerada uma espécie ameaçada em categoria vulnerável, pela IUCN (International Union for Conservation of Nature).

Tendo em vista a sua vulnerabilidade e a importância econômica que a espécie apresenta, estudos que buscam melhorar o desenvolvimento e potencial germinativo no campo tornam-se interessantes. Uma das possíveis técnicas para o alcance de tal objetivo seria a peletização das sementes de sucupira preta.

A peletização é um processo no qual se faz o revestimento de sementes com camadas sucessivas e alternantes de um material cimentante solúvel em água com a aplicação do material de revestimento (SILVA, 1997; SILVA e NAKAGAWA, 1998; ALMEIDA, 2004). Proporciona formato e massa adequados ao manuseio, facilitando o plantio, principalmente no que se refere a sementes extremamente pequenas, pilosas, ou deformadas (LOPES e NASCIMENTO, 2012).

Dentre as vantagens da utilização de sementes peletizadas, destacam-se a redução dos custos de produção de mudas, pois o pélete confere proteção à semente, podendo-se investir em semeadura direta e mecanizada; redução do trabalho manual de distribuição das sementes; incorporação de nutrientes e reguladores de crescimento (SILVA, SANTOS e NASCIMENTO, 2002; LOPES e NASCIMENTO, 2012).

Entretanto, há algumas dificuldades descritas para a utilização de sementes peletizadas, em comparação às sementes sem péletes, como o atraso no tempo de germinação, menor emergência das plântulas e plântulas com aspectos atípicos (MILLIER e SOOTER, citados por CORASPE, IDIARTE e MINAMI, 1993; LOPES e NASCIMENTO, 2012).

Vários são os processos adotados para a peletização e, como material de revestimento pode-se utilizar gesso agrícola, que influencia positivamente o enraizamento de plantas em solos profundos. Sabe-se que tal comportamento se deve ao cálcio solúvel presente no gesso, pois solos profundos contêm baixa concentração de cálcio, e a presença deste elemento facilita o enraizamento. O sulfato, também presente no gesso agrícola, forma um complexo com alumínio, o qual também estimula o enraizamento de plantas (AGRANELLI, 2011). A utilização de gesso agrícola é recomendada para solos do tipo do Cerrado (SOUSA, LOBATO e REIN, 2005).

Além do gesso agrícola, um possível material de revestimento seria o silicato para uso agrícola, oriundo da frústula de diatomáceas.

Muitos agricultores relatam alcançarem cultivos mais produtivos e plantas mais vigorosas e menos suscetíveis ao ataque de patógenos após a utilização do silício como insumo no manejo do solo (LIMA FILHO, 2013).

Segundo esse autor, fontes comerciais de silício são um subproduto da produção do ferro e aço da indústria siderúrgica, e são chamadas escórias. Estas contêm cálcio e magnésio e podem ser utilizadas como corretivos do solo, já que possuem propriedade básica. Vários estudos demonstram o efeito do silício na fisiologia e bioquímica da planta, melhorando o metabolismo e ativando genes envolvidos na síntese de fenóis e enzimas relacionadas com os mecanismos de defesa da planta (LIMA FILHO, 2013).

Considerando que as microalgas possuem grande quantidade de material mucilaginoso higroscópico constituído principalmente de polissacarídeos, além de proteínas e lipídios (BERTOLDI, SANT'ANNA e OLIVEIRA, 2008), sua incorporação na peletização de sementes pode contribuir para o desenvolvimento das plantas, além de fornecer materiais orgânicos biodegradáveis ao solo, como ocorre com o biofertilizante produzido por algas marinhas - principalmente do gênero *Lithothamnium*-, chamado de granulado bioclástico. Este repõe os minerais e condiciona o solo, agregando dezenas de nutrientes importantes para o desenvolvimento das culturas, a exemplo da cana-de-açúcar, incluindo cálcio, silício e magnésio (VASCONCELOS, 2012).

Nossa hipótese de trabalho: a peletização das sementes de *B. virgilioides* com biomassa residual de cultivos de microalgas deve favorecer a emergência e o desenvolvimento inicial das plântulas em condições de campo.

2. OBJETIVOS

Avaliar a porcentagem e tempo médio de emergência (dias) de sementes de *B. virgilioides*, peletizadas com biomassa residual de *S. capricornutum* quando cultivadas em casa de vegetação e no campo, testando-se dois tipos de materiais de revestimento (gesso e silicato para uso agrícola).

3. METODOLOGIA

3.1 Cultura de *Selenastrum capricornutum*

Uma alíquota de 300 mL contendo 10^6 células mL^{-1} de *Selenastrum capricornutum* foi inoculada em três biorreatores contendo, cada um deles, três litros de meio de cultura L.C. Oligo modificado (AFNOR, 1980) a fim de se obter uma concentração final de 10^5 células mL^{-1} . Todas as soluções tiveram suas concentrações duplicadas e a solução de bicarbonato de sódio teve sua concentração quadruplicada. As soluções do meio L. C. Oligo e suas respectivas concentrações estão ilustradas na tabela 2 (anexo).

A cultura foi mantida nas dependências do Laboratório de Biotecnologia de Algas, Departamento de Botânica da Universidade Federal de São Carlos sob intensidade luminosa ($166 \mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$, com fotoperíodo de 12h/12h) e temperatura externa constantes de 23 °C. O crescimento das algas foi acompanhado, diariamente, por meio da contagem de células (hemacitômetro do tipo Fuchs-Rosenthal) e também por medidas da concentração de clorofila *a in vivo*, através de um fluorímetro digital (Turner Designs, Model Trilogy - USA), do pH (LOGEN SCIENTIFIC, LSXXX-HH, São Paulo, Brasil) e da densidade óptica (a 570 e 684 nm com um espectrofotômetro digital Femto, 800 XI, São Paulo, Brasil).

Atingida a concentração de 10^6 células mL^{-1} , as culturas foram diluídas para a concentração inicial com meio de cultura L. C. Oligo (AFNOR, 1980) modificado, para a preparação de 10 litros em cada biorreator. O mesmo procedimento foi adotado até que cada biorreator atingisse 20 L de cultura (figura 2, anexo) e os mesmos parâmetros de avaliação foram utilizados, diariamente. Em cada biorreator, foi colocada uma bomba de agitação, a fim de que as células não se depositassem umas sobre as outras e para evitar o

auto sombreamento entre as células, otimizando a capacidade fotossintética; um aerador também foi introduzido nos biorreatores, para se evitar a elevação do potencial hidrogeniônico e a proliferação de microrganismos patogênicos anaeróbicos.

O experimento foi encerrado aos 33 dias de cultivo, quando a cultura se encontrava na fase estacionária de crescimento. A decantação das células ocorreu após a vedação do biorreator, a fim de que o processo fotossintético fosse evitado. O sobrenadante foi retirado e a densidade celular da biomassa foi aferida.

A biomassa úmida oriunda de um único fotobiorreator com cultura de *S. capricornutum* seria suficiente para sua utilização como material cimentante para peletizar sementes, mas, a fim de se obter reprodutibilidade experimental e também uma margem de segurança, o cultivo desta espécie de clorofícea foi executado em triplicata.

3.2 Origem e tratamento das sementes de *Bowdichia virgilioides*

As sementes de *Bowdichia virgilioides* foram compradas do Instituto Florestal, procedentes de uma área de cerrado em Assis-SP.

Utilizamos para a quebra de dormência de *B. virgilioides* a metodologia recomendada por Smiderle e Sousa (2003), cuja escarificação química é realizada com ácido sulfúrico concentrado por 5 minutos. Após a escarificação, as sementes foram imersas em solução de hipoclorito (20%) com uma gota do emulsificante Tween® 80, a fim de retardar a proliferação de fungos endofíticos, já que se trata de uma espécie nativa. Após passar por tais tratamentos, as sementes foram armazenadas secas em câmara de germinação do tipo B.O.D. (TECNAL, modelo TE-390) a 27 °C por 24 horas, antes de serem peletizadas, a fim de que a secagem fosse completa.

Para o aferimento da qualidade das sementes foi determinada a porcentagem de germinação em câmara de germinação (B.O.D.), o teor de água (BRASIL, 2009) e a condutividade elétrica 26 meses após a colheita. A porcentagem de germinação de sementes nuas em condições controladas laboratoriais (27 °C, fotoperíodo de 12h/12h em câmara de germinação do tipo B.O.D., TECNAL, TE-390) foi aferida simultaneamente ao experimento com sementes peletizadas em campo.

Seis placas de Petri de 9 cm de diâmetro foram esterilizadas juntamente com duas folhas de papel filtro (substrato). As placas foram umedecidas com água destilada num volume que correspondia a três vezes o peso (g) do substrato, segundo recomendações das Regras de Análises de Sementes (BRASIL, 2009). Quinze sementes previamente tratadas foram postas em cada placa, as quais foram vedadas com filme PVC, o qual foi perfurado

com agulha previamente esterilizada. As réplicas foram mantidas sob condições controladas laboratoriais (27 °C, fotoperíodo de 12h/12h em câmara de germinação, do tipo B.O.D.) e a porcentagem de germinação, dessa forma, foi aferida simultaneamente ao experimento com sementes peletizadas em campo.

A determinação do teor inicial de água das sementes foi realizada pesando-se, uma amostra de 50 g subdividida em cinco sub-amostras, que foram secas em estufa a $105\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$ durante 24 horas (BRASIL, 2009). A determinação da condutividade elétrica foi realizada com sub-amostras equivalentes, às quais foram adicionados 75 mL de água deionizada em recipiente plástico vedado com PVC; o experimento foi mantido em câmara de germinação do tipo B.O.D. a 27°C por 24 horas.

3.3 Umidade do solo

Para se determinar o teor de umidade do solo no dia da semeadura das sementes peletizadas, que ocorreu em 20 de fevereiro de 2013, seguiu-se o método descrito por Bernardo (2006), conhecido como método gravimétrico. Duzentos gramas de solo foram retirados do local do plantio. Em seguida, a amostra total foi sub-dividida em 10 amostras de 20 g, as quais foram devidamente pesadas em balança digital de precisão, juntamente com as placas de Petri, onde as sub-amostras foram postas. As 10 placas de Petri juntamente com o solo foram postas em estufa a $100\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$ durante 24 horas. Após esse tempo, as amostras foram postas em dessecador contendo sílica, por 30 minutos e foram pesadas na mesma balança, a fim de se detectar a umidade do solo.

3.4 Processo de peletização

Foram utilizados seis tratamentos, descritos a seguir, para a peletização de sementes.

a) Sementes nuas (controle do processo).

b) Sementes peletizadas com cola branca à base de acetato de polivinila (CONCEIÇÃO e VIEIRA, 2008) diluída a 8% em água e gesso agrícola com fungicida Cerconil® (0,01 g para cada 5 g de gesso agrícola) e inseticida Diazinon® (0,025 g para cada 5 g de gesso agrícola), constituindo o controle dos tratamentos.

c) Sementes peletizadas com cola branca à base de acetato de polivinila diluída a 8% em biomassa algal úmida de *Selenastrum capricornutum* e gesso agrícola com fungicida e inseticida.

d) Sementes peletizadas com cola branca à base de acetato de polivinila diluída a 8% em água com silicato para uso agrícola com fungicida e inseticida.

e) Sementes peletizadas com cola branca à base de acetato de polivinila diluída a 8% em biomassa algal úmida de *Selenastrum capricornutum* e silicato para uso agrícola com fungicida e inseticida.

f) Sementes peletizadas com cola branca à base de acetato de polivinila diluída a 8% em água. Este tratamento foi testado a fim de se verificar se o acetato de polivinila diluído a 8% em água poderia ser uma barreira física para a emergência da plântula.

As sementes previamente tratadas foram imersas em solução de acetato de polivinila diluída a 8% em água/alga por dois minutos. Em seguida, o material de revestimento (gesso ou silicato para uso agrícola) acrescido de inseticida e fungicida foi pulverizado nas sementes, que permaneceram intocadas por 24 horas, quando o processo foi repetido. Esperou-se mais 24 horas para a manipulação das sementes peletizadas para a semeadura. O diâmetro das sementes utilizadas foi aferido com o auxílio de um paquímetro digital. A figura 4 dos anexos ilustra os materiais utilizados no processo de peletização.

3.5 Semeadura em casa de vegetação

Foram semeadas 100 sementes de cada tratamento, em tubetes com substrato organo-arenoso (LORENZI, 2002) e areia fina (na proporção 3:1) a 1,5 cm da superfície. O substrato organo-arenoso utilizado foi o Bioplant®, que contém fibras de coco, serragem, vermiculita, casca de arroz, gesso agrícola, carbonato de cálcio, magnésio e termofosfato magnésiano. Os tubetes foram mantidos em casa de vegetação, distribuídos aleatoriamente (figura 5 dos anexos). Foram realizadas regas seis vezes ao dia, durante cinco minutos, através de um sistema de aspersão de microgotas, nos seguintes horários: 7, 10, 12, 14, 16 e 18h.

O experimento foi mantido sob luminosidade média de 56 Klux e temperatura média de 38 °C (horário de leituras:12-13h). Diariamente, foi registrado o número de sementes emergentes, a emergência da primeira e segunda folha, até que não houvesse nenhuma emergência durante três dias consecutivos (totalizando 43 dias de leituras). O início desse experimento foi no dia 20 de dezembro de 2012 e o término foi em 29 de março de 2013, totalizando 100 dias, quando se determinou o comprimento da parte aérea por meio de um paquímetro digital.

3.6 Semeadura em condições de campo

Em uma área de cerrado, com cultivo de eucalipto (*Eucalyptus urophylla* S.T. Blake), cujas árvores têm em torno de 12 anos, situada no *campus* da Universidade Federal

de São Carlos (21°57' S, 47°52' W, a 863 m de altitude), cidade de São Carlos-SP, o solo foi sulcado entre as fileiras de eucalipto para o plantio direto, sem adubação, retirando-se parte da brachiaria (*Urochloa decumbens* (Stapf) R.D.Webster) presente na área. A seguir foram semeadas 100 sementes de cada tratamento distribuídas em 20 réplicas, cada uma contendo 5 sementes coletadas há 28 meses, distantes 10 cm umas das outras, a 1,5 cm da superfície. A distância mínima entre as sementes foi estabelecida para que se evitasse a competição nos estágios iniciais de desenvolvimento. Entre as réplicas a distância foi de 1 m em forma de sulcos, que foram mantidos abertos de modo que a água das chuvas pudesse ser mantida por mais tempo na área. As réplicas foram plantadas de forma aleatória (com sorteio). A figura 1 ilustra a área de plantio do experimento com as réplicas aleatorizadas.

Semanalmente, foi registrado o número de plântulas emergentes, até que a porcentagem de emergência se estabilizasse, já que a espécie de trabalho não é padronizada pelas Regras de Análises de Sementes (CRUZ et al., 2012). A partir de então, as leituras foram feitas quinzenalmente. O experimento teve início em 20 de fevereiro de 2013. Aos 100 dias, o comprimento da parte aérea das plântulas foi aferido com paquímetro digital, a fim de se comparar esses resultados com o experimento realizado em casa de vegetação.

A intensidade luminosa média no local onde as sementes foram plantadas foi de 8.65 Klx.

Foi calculado o índice de emergência em campo (IEC), conforme proposto por Egli e Tekrony (1995)¹⁰, citados por Borba Filho (2006), segundo a fórmula: $IEC = (\mu EC / \mu PG) \times 100$. μEC : porcentagem média de emergência em campo; μPG : porcentagem média de germinação em laboratório. No presente trabalho, μPG foi considerado como a porcentagem média de emergência em casa de vegetação. O IEC permite uma avaliação adicional do vigor das sementes.

Os dados foram apresentados partindo do pressuposto de que valores próximos de 100 indicam que as condições de campo estão mais próximas das ideais para a germinação e emergência das plântulas.

¹⁰ EGLI, D.B.; TEKRONY, D.M. Soybean seed germination, vigor and field emergence. **Seed science and technology**, v. 23, p. 595-607, 1995.



Figura 1. Área de plantio das sementes peletizadas, mostrando em a) – “área tampão” deixada como borda e em b) a identificação dos tratamentos no plantio direto.

3.7 Análises estatísticas

A influência da massa algal nos péletes sobre a emergência de *B. virgilioides* foi avaliada através da Análise de Regressão Logística (JACCARD, 2001). O modelo incluiu a resposta binária (emergência ou não de cada semente) como variável resposta e os níveis de tratamentos foram usados como variável explicativa. O tratamento “semente nua” foi usado como controle. Os tratamentos “gesso” e “silicato” foram usados como referência com intervalo de confiança de 95% e probabilidade de 5%. Para análise estatística de dados contínuos, utilizou-se ANOVA para dados paramétricos e Kruskal-Wallis quando os dados foram não paramétricos.

As análises estatísticas foram realizadas para os seguintes parâmetros: porcentagem de emergência das plântulas, tempo médio de emergência, comprimento (cm) da parte aérea e porcentagem de sobrevivência.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados a seguir consideram as características da massa algal utilizada para processo de peletização, a qualidade das sementes utilizadas e a comparação entre a emergência e o crescimento inicial das plântulas de *Bowdichia virgilioides* em condições de casa de vegetação e de campo.

4.1. Características da massa algal utilizada no processo de peletização

A figura 2 expressa as curvas de densidade celular e taxa de crescimento da cultura de *S. capricornutum*, cuja biomassa foi utilizada na peletização de sementes para serem semeadas em uma área de cerrado.

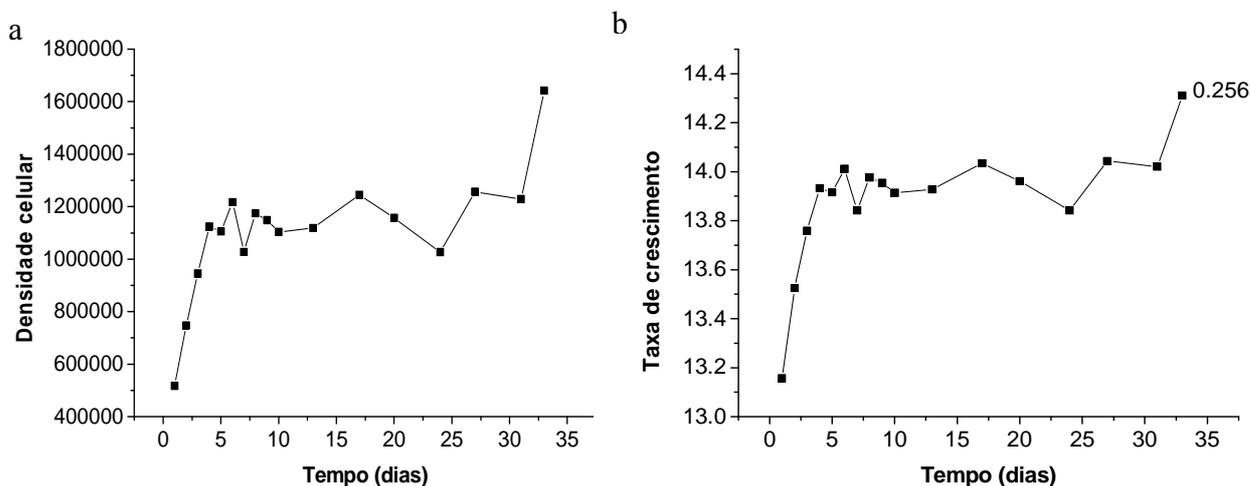


Figura 2. a) Densidade celular (células mL⁻¹) e b) taxa de crescimento (ln) da cultura de *Selenastrum capricornutum* utilizada como constituinte do material cimentante no processo de peletização.

Thompson e Couture (1991) realizaram um ensaio com *S. capricornutum* em relação à sua sensibilidade ao cádmio. Dentre as análises realizadas para o controle, encontraram uma razão proteínas intracelulares/carboidratos igual a 7 para o tratamento controle após 6 horas do início do experimento e densidade celular $2,5 \times 10^4$ células mL⁻¹. No presente trabalho, a cultura apresentou uma razão com valor igual a 3,6 e com 1×10^4 células mL⁻¹. Além do fato de que a cultura estava com 33 dias de cultivo, essa divergência nos valores das razões proteína/carboidrato intracelulares pode ser explicada pelas diferenças de composição do meio de cultura e condições de cultivo, como temperatura e luminosidade, além da origem da cepa. Porém, pelo valor de da razão proteínas/carboidratos intracelulares pode-se inferir quão saudável a cultura está, pois quanto mais alto tal valor, menos estressadas estão as células e quanto maior a quantidade de proteínas em relação a de carboidrato, mais saudável está a cultura.

A tabela 1 ilustra os valores das classes de compostos intracelulares obtidos na biomassa da cultura de *S. capricornutum*.

Tabela 1. Teores de proteínas, carboidratos, lipídios e clorofila *a* da cultura de *S. capricornutum*.

Cultura	Proteínas (mg/L)	Carboidratos (mg/L)	Lipídios totais (mg/L)	Clorofila <i>a</i> (mg/L)
<i>S. capricornutum</i>	1,25	0,35	0,68	1

A figura 3 expressa as porcentagens de oito classes lipídicas presentes na biomassa de *S. capricornutum*.

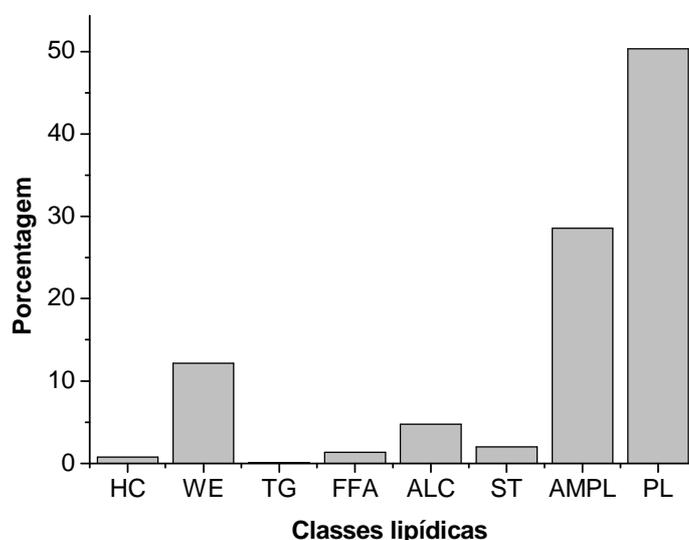


Figura 3. Classes lipídicas presentes na amostra de *Selenastrum capricornutum* utilizada como material cimentante no processo de peletização de sementes. A tabela 3 dos anexos descreve as classes lipídicas. HC: hidrocarboneto alifático; WE: wax éster; TG: triacilglicerol; FFA: ácidos graxos livres; ALC: álcool alifático livre; ST: esteroil livre; AMPL: acetone móbile polar lipids; PL: fosfolipídios.

A quantidade de hidrocarbonetos (HC) para *S. capricornutum* foi de 0,77% e está de acordo com Souza (2011) e Lombardi e Wangerski (1991), ambas menores do que 3% em relação ao total de lipídios produzido. Os ésteres de cera (WE) apresentaram quantidade mais elevada (12,1%) do que os reportados por Souza (2011) e Illijas et al. (2009), cujos valores foram abaixo de 3% da composição total.

Os triacilglicerídeos (TG) têm o papel de reserva energética, isolamento térmico e controle de flutuação. No presente trabalho, a porcentagem desse elemento foi de 0,08% em relação ao total. Khozin-Goldberg e Cohen (2006) realizaram um estudo com *Monodus subterraneus* sob deficiência de fosfato e a porcentagem de TG aumentou de 6,5 para 39,3.

Lombardi e Wangersky (1991) observaram aproximadamente 1 a 2% de níveis de ALC e FFA em células da diatomácea marinha *Chaetoceros gracilis* deficientes e saudáveis em fosfato e silicato. Em nosso trabalho, *Selenastrum capricornutum* apresentou 1,35% de FFA e 4,76% de ALC, sendo este valor mais elevado do que o encontrado pelos autores.

Os esteróis livres (ST) representaram 2% em relação ao total.

Fosfolipídios (PL) são os principais constituintes das membranas celulares e AMPL é um componente dos lipídios algais, ao qual a clorofila *a* está associada. Essas classes somadas resultam em 79% do total de lipídios produzidos e Souza (2011) encontrou 60% para a soma dessas classes.

4.2 Características das sementes

O valor médio de condutividade elétrica foi de $52,5 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$. 120 dias antes esse valor era de $39,8 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$, considerando-se que o mesmo método e equipamentos foram utilizados. Durante esse intervalo, pôde-se constatar que houve diferença estatística significativa entre os valores, com valor de $p=0,005$. Isso significa que as sementes estavam liberando compostos para o meio externo. Porém, os testes de umidade e germinação apontaram que as sementes estavam em bom estado para a continuidade do experimento.

As sementes apresentaram teor médio de água de 8%. De acordo com as Regras de Análises de Sementes (BRASIL, 2009) o valor 8% obtido no presente trabalho é considerado adequado para o armazenamento de sementes e desenvolvimento de experimentos, assim como o valor obtido por Gonçalves et al. (2008), de 9,1% para o teor médio de água.

O peso de 1000 sementes foi 39 g, havendo 25641 sementes kg^{-1} . Gonçalves et al. (2008) encontraram 21,2 g para mil sementes da mesma espécie e 47175 sementes kg^{-1} , diferindo dos nossos resultados. As diferenças entre os dados da literatura citada e os encontrados no presente trabalho pode ser explicada por meio de variações genéticas e ambientais entre as populações (BIANCHETTI, 1991; AZEREDO et al., 2003).

O solo do cerrado onde o experimento foi realizado apresentou 2,8% de água no dia da semeadura.

A figura 4 expressa os valores médios de porcentagem e tempo médio de emergência de plântulas obtidas de sementes peletizadas que foram semeadas numa área de cerrado.

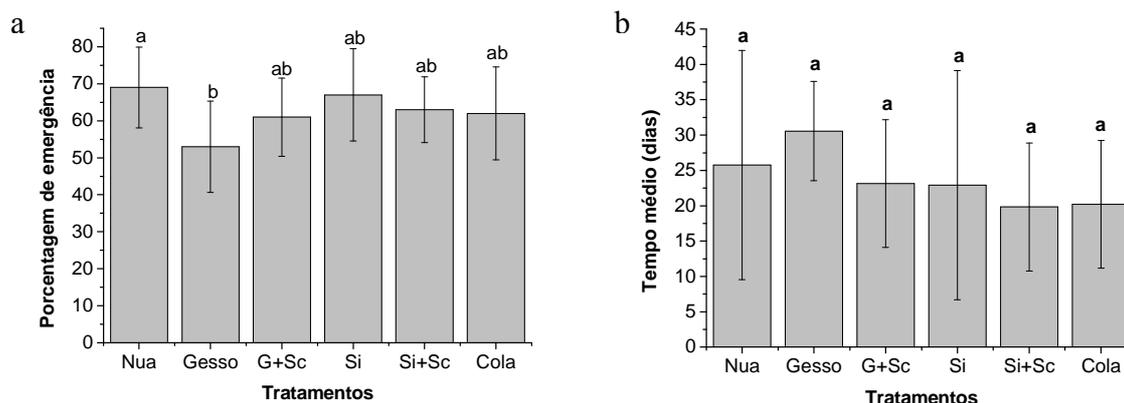


Figura 4. a) Porcentagem e b) tempo médio de emergência de plântulas oriundas de sementes peletizadas de *B. virgilioides* em desenvolvimento em cerrado após 100 dias de semeadura. Semente nua (controle), Gesso (peletizada com gesso agrícola, G+ Sc (Gesso agrícola + *S. capricornutum*), Si (peletizada com silicato para uso agrícola) e Si+Sc (peletizada com silicato para uso agrícola + *S. capricornutum*). Letras diferentes significam diferença significativa entre os tratamentos, considerando 5% de probabilidade. A letra “a” representa o valor mais elevado.

O tratamento que continha apenas gesso agrícola teve sua porcentagem de emergência menor (figura 4) do que as sementes nuas. Porém, as sementes que continham gesso e *S. capricornutum* tiveram sua porcentagem média de emergência equivalente ao tratamento com sementes nuas. Assim, esta espécie de alga poderia ter levado a uma maior emergência das sementes se contivesse maiores valores de proteínas, carboidratos e lipídios intracelulares.

No presente trabalho, houve 76% de emergência para as sementes nuas em câmara de germinação do tipo B.O.D. Em campo, esta porcentagem foi de 69%. Tal diferença pode ser explicada pela ausência de controle de luminosidade, temperatura e pluviosidade em campo. Entre ambos os valores de porcentagem de germinação, não houve diferença estatística significativa ($p=0,074$). Em casa de vegetação, 86% das sementes nuas emergiram.

Na figura 5 estão expressos os valores médios de porcentagem e tempo médio de emergência contrastando os ambientes cerrado e casa de vegetação.

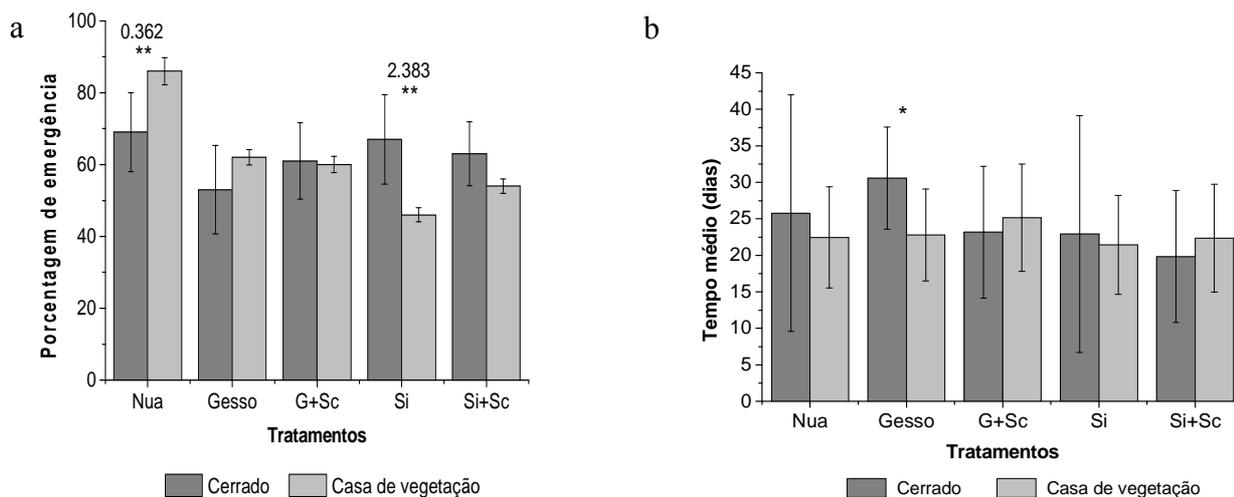


Figura 5. a) Porcentagem e b) tempo médio (dias) de emergência de plântulas oriundas de sementes peletizadas de *B. virgilioides* em desenvolvimento em cerrado e em casa de vegetação após 100 dias de semeadura. Semente nua (controle), Gesso (peletizada com gesso agrícola, G+ Sc (Gesso agrícola + *S. capricornutum*), Si (peletizada com silicato para uso agrícola) e Si+Sc (peletizada com silicato para uso agrícola + *S. capricornutum*). Asteriscos representam diferença significativa sendo que *, ** e *** representam, respectivamente, valores \geq a 5; 1 e 0,1% de probabilidade. Os valores descritos acima das barras no gráfico de porcentagem de emergência significam quantas vezes a probabilidade de emergência de plantas para um tratamento é maior do que a probabilidade para outro tratamento, considerando que tal análise foi realizada por regressão logística.

Sementes nuas tiveram porcentagem de emergência mais elevada e menor tempo de emergência em casa de vegetação. Sementes que continham somente silicato como material de revestimento apresentaram porcentagem mais elevada de emergência e maior tempo médio de emergência em campo.

Oliveira, Vieira e Almeida (2010) peletizaram sementes de *Schizolobium amazonicum* (Paricá), *Enterolobium contortisiliquum* (Tamboril) e *Enterolobium schomburgkii* (Orelha-de-macaco) com areia, serragem, palha de buriti, argila e água. As sementes foram semeadas em caixas plásticas e em campo. Paricá apresentou maior porcentagem de emergência em caixas plásticas (71,1% contra 31,8% em campo). Orelha de macaco e tamboril apresentaram baixa porcentagem de emergência, não sendo aconselhável sua utilização para projetos de regeneração de áreas degradadas por semeadura direta. No presente trabalho, as sementes nuas de *B. virgilioides* apresentaram menor porcentagem de emergência em campo.

Santos et al. (2012) semearam sementes de *B. virgilioides* em uma área de pastagem (coberta com plantas invasoras e herbáceas e utilizada como pasto para alguns animais) e

em um subsistema agrícola (anteriormente utilizada para produção de cana-de-açúcar, que foi substituída pelo cultivo de mandioca e batata e antes da implantação do experimento se encontrava em um pousio de dois anos). Os valores mais elevados de porcentagem de emergência e comprimento da parte aérea ocorreram em subsistema agrícola quando comparados com a área de pastagem, tendo o solo um protetor físico. Tais valores foram 96% de emergência e 2,14 cm de comprimento de parte aérea. No presente trabalho, houve 69% de emergência e o valor médio de comprimento da parte aérea foi de 2,74 cm. Esta diferença pode ser explicada por meio da procedência e origem das sementes, além de serem áreas de experimentação diferentes.

O IEC para os tratamentos foram: nua – 80,232; gesso – 85,483; gesso e *S. capricornutum* - 101,666; sílica – 145,652 e sílica e *S. capricornutum* – 116,666. De modo geral, os valores não sofreram variações drásticas, indicando significativa correspondência entre os dados obtidos em campo e em casa de vegetação. Assim, o tratamento com gesso e *S. capricornutum* apresentou o valor de IEC mais próximo de 100, indicando que, para este tratamento, as condições de campo estão mais próximas das ideais para o desenvolvimento de plântulas de *B. virgilioides*.

A figura 6 expressa as médias de comprimento das partes aéreas de plântulas de *B. virgilioides* obtidas de sementes peletizadas, contrastando-se dois ambientes onde a semeadura foi realizada: uma área de cerrado e casa de vegetação.

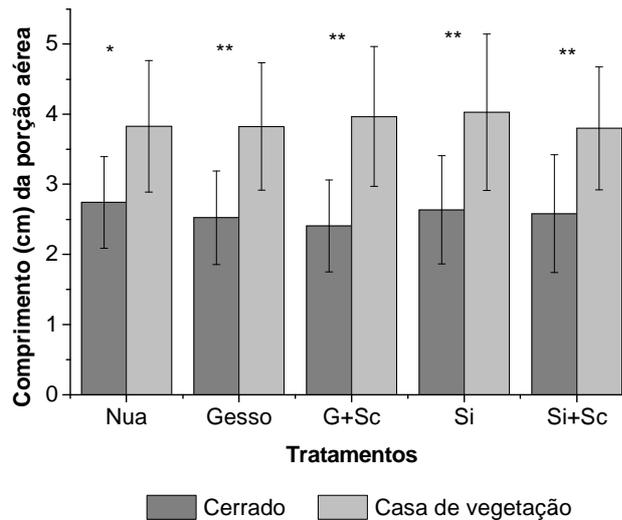


Figura 6. Médias dos valores de comprimento (cm) das partes aéreas das plântulas oriundas de sementes peletizadas de *B. virgilioides* em desenvolvimento em cerrado e em casa de vegetação após 100 dias de semeadura. Semente nua (controle), Gesso (peletizada com gesso agrícola, G + Sc (Gesso agrícola + *S. capricornutum*), Si (peletizada com silicato para uso agrícola) e Si+Sc (peletizada com silicato para uso agrícola + *S. capricornutum*). Asteriscos representam diferença significativa sendo que *, ** e *** representam, respectivamente, valores \geq a 5; 1 e 0,1% de probabilidade.

Comparando-se os valores de comprimento (cm) das partes aéreas das plântulas de sementes peletizadas em campo e em casa de vegetação, observa-se que, para todos os tratamentos, os valores em casa de vegetação foram mais elevados.

Segundo o rótulo da embalagem das sementes vindas do Instituto Florestal, *B. virgilioides* é uma espécie secundária tardia. Mas, segundo Carvalho (2006) e os dados de comprimento de parte aérea do presente trabalho, tal espécie pode ser classificada como pioneira a secundária tardia. Dessa forma, o fator luz não deve ter sido limitante para o crescimento das plântulas, mas sim os teores de nutrientes, que estavam presentes apenas no substrato orgânico-arenoso utilizado no experimento em casa de vegetação. Assim, tal diferença não deve ser atribuída à luminosidade, a qual foi mais intensa na casa de vegetação. Além disso, em casa de vegetação a irrigação foi controlada, diferentemente do que aconteceu em cerrado.

A figura 7 expressa os valores de porcentagem de sobrevivência das plântulas obtidas de sementes peletizadas de *B. virgilioides* após 100 dias da semeadura, contrastando-se os ambientes cerrado e casa de vegetação.

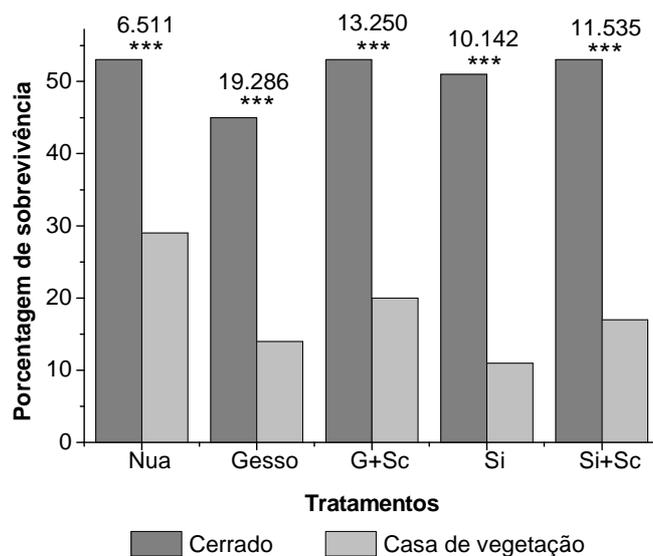


Figura 7. Porcentagem de sobrevivência de plântulas oriundas de sementes peletizadas de *B. virgilioides* em desenvolvimento em cerrado e em casa de vegetação após 100 dias de semeadura. Semente nua (controle), Gesso (peletizada com gesso agrícola, G+ Sc (Gesso agrícola + *S. capricornutum*), Si (peletizada com silicato para uso agrícola) e Si+Sc (peletizada com silicato para uso agrícola + *S. capricornutum*). Asteriscos representam diferença significativa sendo que *, ** e *** representam, respectivamente, valores \geq a 5; 1 e 0,1% de probabilidade. Os valores descritos acima das barras no gráfico de porcentagem de emergência significam quantas vezes a probabilidade de emergência de plantas para um tratamento é maior do que a probabilidade para outro tratamento, considerando que tal análise foi realizada por regressão logística.

Pela comparação entre os valores de comprimento (cm) de parte aérea das plântulas em casa de vegetação e em uma área do cerrado (figura 6), observa-se que para todos os tratamentos houve diferença significativa e os valores foram estatisticamente mais elevados quando a plântula era oriunda de casa de vegetação. Porém, mais suscetível ao ataque fúngico e à mortalidade.

A maior dificuldade de se realizar os testes de germinação em incubadora e em casa de vegetação foi a ocorrência de proliferação de fungos nas plântulas, que não foram observados em campo, fato que provavelmente levou à mais elevada porcentagem média de sobrevivência em uma área de cerrado.

A diferença significativa entre os valores de comprimento das porções aéreas sob as duas condições testadas pode se basear no estresse hídrico sofrido pelas plantas em cerrado, tendo em vista que a umidade relativa do ar na casa de vegetação variou de 80 a 100% enquanto no campo variou de 65 a 80% (figura 9), as temperaturas variaram de 25 a 40 °C na casa de vegetação e no campo 18 a 22 °C (figura 8). A pluviosidade média no

campo manteve-se em torno de 0,5 mm, até meados de maio, período após o qual houve aumento para 1,5 mm (figura 10).

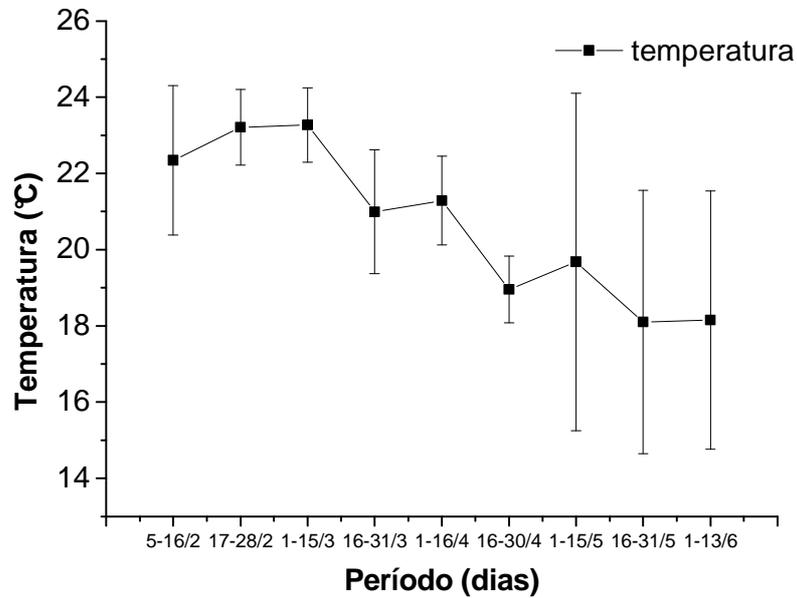


Figura 8. Temperatura média (°C) durante 100 dias em uma área de cerrado (21°57' S , 47°52' W, a 863 m de altitude) do *campus* da Universidade Federal de São Carlos, São Carlos-SP, onde o experimento foi realizado.

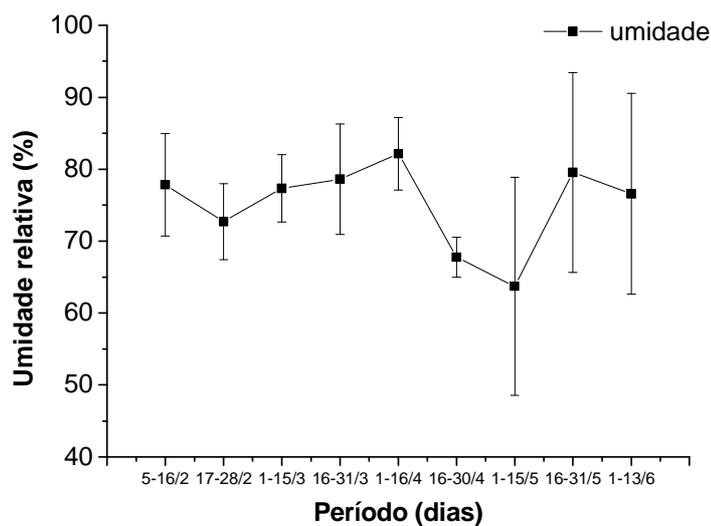


Figura 9. Porcentagem da umidade relativa do ar durante 100 dias em uma área de cerrado (21°57' S , 47°52' W, a 863 m de altitude) do *campus* da Universidade Federal de São Carlos, São Carlos-SP, onde o experimento foi realizado.

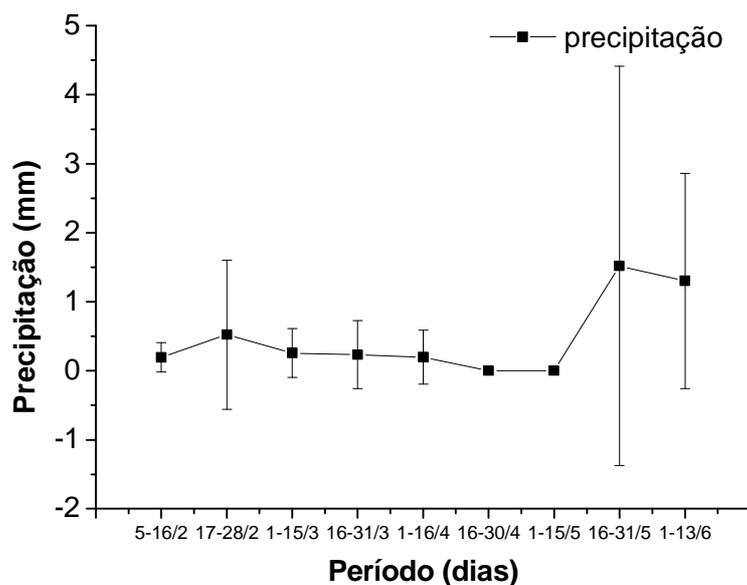


Figura 10. Precipitação (mm) durante 100 dias em uma área de cerrado (21°57' S , 47°52' W, a 863 m de altitude) do *campus* da Universidade Federal de São Carlos, São Carlos-SP, onde o experimento foi realizado.

Para o cultivo em casa de vegetação as sementes nuas (controle) apresentaram maior porcentagem de emergência. Em todos os outros tratamentos, com os diversos tipos de peletização, houve uma emergência menor. No entanto, para o plantio em uma área de cerrado, não houve diferença significativa entre a emergência das plântulas de sementes nuas e as peletizadas, com exceção das sementes peletizadas somente com gesso agrícola.

Millier e Sooter, citados por Coraspe, Idiarte e Minami, (1993) apontam algumas dificuldades para a utilização de sementes peletizadas, em comparação às sementes sem péletes, como o atraso no tempo de germinação, menor emergência das plântulas e plântulas com aspectos atípicos. No caso aqui estudado, para o cultivo em casa de vegetação, a porcentagem de emergência das plântulas sofre uma diminuição quando as sementes são peletizadas com gesso e gesso com *S. capricornutum*. Já a porcentagem de emergência em campo não apresenta diferenças significativas entre o controle e as sementes peletizadas, o que parece indicar uma compensação do processo de peletização, pois, inicialmente, a absorção de água é dificultada, mas uma vez que a semente é embebida, a umidade ao seu redor é mantida igualando o tempo médio de germinação entre as sementes peletizadas na casa de vegetação e em campo.

Desta forma a peletização não seria indicada para a formação de mudas em casa de vegetação, nem em relação à porcentagem de emergência nem em relação ao tempo médio

de emergência (Figuras 5 a e 5 b). Em condições de campo, não existem diferenças significativas entre a porcentagem de emergência de sementes peletizadas e não peletizada (com exceção do tratamento “gesso”), (Figura 4 a).

Em relação aos materiais de revestimento: em campo, ambos os tratamentos com gesso agrícola e silicato não apresentaram diferença estatística para a porcentagem de emergência em campo entre si; porém, o tratamento com silicato tem maior probabilidade (2,83) de emergir em campo do que em casa de vegetação (figura 5 a). Para a variável “tempo médio” o tratamento com silicato não apresentou diferença entre os ambientes (cerrado e casa de vegetação) e entre o tratamento com gesso; porém, as plântulas oriundas deste tratamento (gesso) emergem mais rapidamente em casa de vegetação do que em cerrado, mas sobrevivem 19,286 (figura 7) vezes mais no cerrado.

As diferenças entre os resultados utilizando gesso agrícola e silicato podem se dever ao fato de que o silicato agrícola é um material de granulometria mais fina que gesso agrícola, retendo mais água no interior do pélete.

5. CONCLUSÕES

A semeadura direta de *B. virgilioides* se mostrou um método mais eficiente em relação à sobrevivência das plântulas do que seu cultivo em condições semi-controladas de casa de vegetação.

Para uma melhor porcentagem de emergência, o silicato demonstrou ser um material de revestimento mais eficiente do que o gesso agrícola para a semeadura em campo.

6. REFERÊNCIAS

AFNOR - **Association Française de Normalisation**. Essais des eaux. Determination de l'inhibition de *Scenedesmus subspicatus* par une substance. Norme expérimentale T90-304. 1980.

ALMEIDA, N.O. de;. Implantação de matas ciliares por plantio direto utilizando-se sementes peletizadas. Tese (Doutorado em Ciências Florestais) – Universidade Federal de Lavras, Lavras/MG. 269 p. 2004

ALMEIDA, J.R.G.S. et al. Antimicrobial activity of the essential oil of *Bowdichia virgilioides* Kunt. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16 (Supl.), p. 638-641, 2006.

AGRONELLI. **INSUMOS AGRÍCOLAS**. 2011. Disponível em: <http://www.agronelliagricola.com.br/> Acesso em 21 de setembro de 2011.

AUBERT, E.; OLIVEIRA FILHO, A. T. Análise multivariada da estrutura fitossociológica do sub-bosque de plantios experimentais de *Eucalyptus* spp. e *Pinus* spp. Em Lavras, MG. *Revista Árvore*, v. 18, n. 3, p. 194-214, 1994.

AZEREDO, G. A.; et al. O. Germinação em sementes de espécies florestais da Mata Atlântica (Leguminosae) sob condições de casa de vegetação. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 33, n. 1, p. 11-16, 2003.

BERNARDO, S., SOARES, A. A. MANTOVANI, E. C. **Manual de Irrigação**. Viçosa: Ed. UFV, 625 p., 2006.

BERTOLDI, F. C.; SANT'ANNA, E.; OLIVEIRA, J. L. B. Revisão: biotecnologia de microalgas. **Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**. Curitiba v. 26, n. 1, p. 9-20, 2008.

BIANCHETTI, A. Tratamentos pré-germinativos para sementes florestais. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE SEMENTES FLORESTAIS, 2., 1989, Atibaia, SP. **Anais...** São Paulo: Instituto Florestal, 1991. p. 237-246.

BORBA FILHO, A. B. Aspectos da germinação e da conservação de sementes de espécies do gênero *Tabebuia* (Bignoniaceae). Tese de doutorado. Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais, UFSCar, São Carlos/SP, 100 p., 2006.

BRASIL. **Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Regras para análise de sementes**. Brasília, DF: SNDA/DNDV/CLAV, 398 p, 2009.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, DF. Embrapa Florestas, Colombo, PR. 627 p. Il. Color., coleção espécies Arbóreas Brasileiras, v. 2, 2006.

CONCEICÃO, P. M.; VIEIRA, H. D. Qualidade fisiológica e resistência do recobrimento de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**. Brasília, v.30, n. 3, p.48-53, 2008.

CORASPE, H.M.; IDIARTE, H.G.; MINAMI, K. Avaliação do efeito da peletização sobre o vigor de sementes de alface (*Lactuca sativa* L.). **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 50, n. 3, p. 349-354, 1993.

CRUZ, A. F.; et al. Métodos para análise de sementes de *Bowdichia virgilioides* Kunth. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 40, n. 93, p. 77-84, 2012.

DARIO, F. R.; VICENZO, M. C. V.; ALMEIDA, A. F. Avifauna em fragmentos da Mata Atlântica. **Ciência Rural**. V. 32, n. 6, p. 989-996, 2002.

FERRONATO, A. **Análise de sementes de (*Bowdichia virgilioides* H.B.K.) e (*Cybistax antisiphilitica* M.)**. 1999. 80 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical) – Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, MT, 1999.

GONÇALVES, J. V. F.; et al. Caracterização física e avaliação da pré-embebição na germinação de sementes de sucupira-preta (*Bowdichia virgilioides* KUNTH). **Revista Cerne**, Lavras, v. 14, n. 4, p. 330-334, 2008.

ILLIJAS M.I.; et al. Lipid class and fatty acid composition of a little-known and rarely collected alga *Exophyllum wentii* Weber-van Bosse from Bali Island, Indonesia. **Journal of Oleo Science**. v. 58, n. 3, p. 103-110, 2009.

JACCARD, J. Interaction effects in logistic regression. Sage university papers series on quantitative application in the social sciences. Thousand Oaks, 2001.

KHOZIN-GOLDBERG, I.; COHEN, Z. The effect of phosphate starvation on the lipid and fatty acid composition of the fresh water eustigmatophyte *Monodus subterraneus*. **Phytochemistry** v. 67, p. 696-701, 2006.

LIMA FILHO, O. F. Silício: produtividade com qualidade na lavoura. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa Dourados, MS. Disponível em: <http://www.cpa0.embrapa.br/portal/artigos/artigos/artigo1.html> 2013. Acesso em 02 de junho de 2013.

LOMBARDI, A.T.; WANGERSKY, P. Influence of phosphorus and silicon on lipid class production by the marine diatom *Chaetoceros gracilis* grown in turbidostat cage cultures. **Marine Ecology Prog. Ser.**, v. 77, p. 39-47, 1991.

LOPES, A.C.A.; NASCIMENTO, W.M. Peletização em sementes hortaliças. Embrapa Hortaliças. Ministério da agricultura, pecuária e desenvolvimento. Documentos 137. Brasília, DF, 28 p., 2012.

LORENZI, H. Árvores brasileiras: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 4 ed., v.1, 384 p., Nova Odessa/SP, Instituto Plantarum, 2002.

MACEDO, M.; FERREIRA, A.R. Plantas hipoglicemiantes utilizadas por comunidades tradicionais na Bacia do Alto Paraguai e Vale do Guaporé. Mato Grosso-Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia** 14 (Supl. 1), 45–47. 2004.

OLIVEIRA, R.G.; VIEIRA, G.; ALMEIDA, N.O. Viabilidade da utilização de sementes peletizadas em projetos de restauração ecológica. **III Reunião Científica da Rede CTPetro Amazônia**, Manaus, 4-5/11/2010.

NERI, A. V.; et al. Regeneração de espécies nativas lenhosas sob plantio de *Eucalyptus* em área de Cerrado na Floresta Nacional de Paraopeba, MG, Brasil. **Acta botânica brasílica**, v. 19, n. 2, p. 369-376, 2005.

SANTOS, P. L.; et al. Estabelecimento de espécies florestais nativas por meio de semeadura direta para recuperação de áreas degradadas. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v. 36, n. 2, p. 237-245, 2012.

SILVA, J.B.C. **Avaliação de métodos e materiais para peletização de sementes**. Tese de doutorado (Doutorado em Agronomia) UNESP, 127 p. Botucatu, 1997.

SILVA, J.B.C.; NAKAGAWA, J. Confeção e avaliação de péletes de sementes de alface, **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 16, n. 2, p. 151-158, 1998.

SILVA, J.B.C.; SANTOS, P.E.C.; NASCIMENTO, W.M. Desempenho de sementes peletizadas de alface em função do material cimentante e da temperatura de secagem dos péletes. **Horticultura brasileira**, Brasília, v. 20, n. 1, p. 67-70, 2002.

SILVA JÚNIOR, M.C.; SCARANO, F. R.; CARDEL, F. S. Regeneration of na Atlantic formation in the understory of a Eucalyptus grandis plantation in south-eastern Brazil. **Journal of Tropical Ecology**, v. 11, p. 147-152, 1995.

SILVA JÚNIOR, M.C. **100 árvores do cerrado – sentido restrito**. Brasília: ed. Rede de Sementes do Cerrado, 2012. 304p. Il, 618 fotos.

SMIDERLE, O.J.; SOUZA, R.C.P. Dormência em sementes de paricarana (*Bowdichia virgilioides* Kunth - Fabaceae - papilionidae). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 25, n. 1, p.72-75, 2003.

SOUSA, D. M. G., LOBATO, E.; REIN, T. A. Uso de gesso agrícola nos solos do cerrado. Circular Técnica 32. Embrapa Cerrados. Planaltina, DF, 18 p., 2005.

SOUZA, I. M. M. A influência do fósforo na toxicidade de cobre e composição bioquímica de *Chlorella vulgaris*. Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais, UFSCAR, São Carlos. Dissertação (Mestrado), 59 f., 2011.

THOMPSON, P. A.; COUTURE, P. Short and long term changes in growth and biochemical composition of *Selenastrum capricornutum* populations exposed to cadmium. **Aquatic Toxicology**, v. 21, n.1, p. 135-144, 1991.

VASCONCELOS, Y. Fertilizante marinho. Uso de algas calcárias como adubo em lavouras de cana pode elevar a produtividade em até 50%. **Revista Pesquisa FAPESP**, edição 197, p.62-65, 2012.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A peletização de sementes tem sido pouco utilizada como recurso para a incorporação de elementos que tragam - não apenas proteção à semente contra o ataque de fungos (fungicidas), insetos (fungicidas) e outros organismos presentes no solo - mas também que possam agregar outros componentes como nutrientes e substâncias hidrofílicas.

Há muitos trabalhos que estudaram a peletização das sementes de eucalipto (KANASHIRO, KAGEYAMA, MÁRQUEZ, 1978), feijão (BERGER et al., 1995) e alface (SILVA, SANTOS e NASCIMENTO, 2002), dentre diversas hortaliças e plantas com interesse comercial.

Os trabalhos sobre peletização de espécies nativas são escassos, sendo um deles com três espécies da serra do mar: *Leandra cardiophylla*, *Tibouchina holosericea* e *Tibouchina pulchra* (PRADELLA et al., 1989).

Do ponto de vista econômico, o reflorestamento com espécies nativas é bastante lento e custoso. O preço de formação das mudas é caro devido, muitas vezes, ao tempo de permanência da muda no viveiro até que ela atinja um tamanho ideal para o seu plantio; além disso, outro fator que encarece o processo é o crescimento lento de algumas espécies, principalmente as consideradas espécies clímax. Atualmente as mudas com um porte entre 30 cm a 50 cm são comercializadas a R\$ 3,50 (até 1000 mudas), R\$ 3,00 (acima de 1000) e 2,50 (a partir de 5000). Assim, a semeadura direta seria uma alternativa financeiramente mais viável, frente ao alto custo da semeadura manual e produção de mudas.

No mercado, 1000 sementes de alface peletizadas são vendidas a, aproximadamente, R\$ 26,00. 1000 sementes de *B. virgilioides* peletizadas de maneira descrita no presente trabalho apresentam custo de, aproximadamente, R\$ 15,00. Deve-se considerar que a biomassa de algas obtida de 20 L de cultura e 200 g de gesso ou silicato para uso agrícola são suficientes para peletizar 300 sementes de *B. virgilioides*.

Dentre outras dificuldades encontradas para se reflorestar estão: conseguir um número de espécies para o desenvolvimento de um reflorestamento com riqueza adequada para garantir a biodiversidade local e buscar as espécies adaptadas para o ecossistema que se está tentando recuperar.

Assim, o uso de sementes nativas peletizadas com qualidade seria interessante, além de poder oferecer àqueles que desejam executar trabalhos de reflorestamento, pacotes contendo uma mistura de sementes ideais para o ecossistema em questão.

Nesse sentido, a produção de sementes peletizadas pode conferir diversas vantagens sobre as sementes nuas, uma vez que na composição do pélete podem ser agregados diversos elementos que favorecem a diminuição da predação, dentre outros benefícios da técnica.

No capítulo 1 mostramos que um número maior número de plântulas de *B. virgilioides* emergiram a partir de sementes peletizadas com biomassa da microalga *C. sorokiniana*, em comparação ao controle (gesso agrícola) e esse número foi igual à porcentagem de plântulas emergentes de sementes nuas. Comparando-se a utilização das espécies algais como componente do material cimentante, observamos que sementes revestidas com *C. sorokiniana* apresentaram maior porcentagem de emergência do que aquelas revestidas com *S. capricornutum*. Esse fato nos leva a deduzir que os componentes bioquímicos intracelulares das algas apresentam grande importância para o processo de germinação, emergência e desenvolvimento de plântulas obtidas de sementes peletizadas, já que *C. sorokiniana* continha quantidades mais elevadas desses compostos.

No capítulo 2 a presença da alga não interferiu na ocorrência das variáveis analisadas. Porém, acredita-se que se a espécie utilizada contiver mais elevados valores bioquímicos intracelulares, o resultado pode ser diferente.

Verificamos que houve diferença estatística para o tratamento que continha somente gesso agrícola como constituinte do material de revestimento para a variável “porcentagem de emergência”; o silicato demonstrou ser um material de revestimento mais eficiente do que o gesso agrícola em campo. Os resultados mostraram que, apesar da porcentagem de emergência não ter sido a esperada, a técnica da peletização é bem empregada quando o objetivo é a redução de custos (BENTO, 2010), em se tratando da semeadura direta.

A semeadura direta de sementes peletizadas de *B. virgilioides* se mostrou um método mais eficiente em relação à sobrevivência das plântulas do que seu cultivo em casa de vegetação (condições semi-controladas).

Lacerda e Figueiredo (2009) mostraram que *Triplaris surinamensis* e *Enterolobium contortisiliquum* são mais indicadas para reflorestamento a partir da semeadura direta, enquanto *Anadenanthera macrocarpa* e *Tabebuia* sp são mais indicadas para reflorestamento a partir de plantio de mudas, considerando-se uma densidade significativamente maior de plantas.

Esses resultados parecem indicar que a escolha do método de formação de mudas ou de semeadura direta, com ou sem peletização das sementes depende de algumas características intrínsecas a elas, como por exemplo: tamanho das sementes; presença ou

não de dormência; fatores bióticos como ocorrência de patógenos ou fitófagos no solo; herbívoros que se alimentam das plantas jovens; fatores abióticos: tipo de solo ou substrato, umidade do ar, pluviosidade, temperatura, entre outros.

Segundo Lopes e Nascimento (2012) mais estudos que permitam a comparação de diferentes composições dos péletes e com espécies diversas são necessários, já que há deficiência de métodos padronizados de avaliação da qualidade fisiológica das sementes peletizadas, e discordâncias nos resultados de pesquisas. É preciso verificar até que ponto a peletização afeta o estabelecimento e desenvolvimento inicial das plântulas no campo.

REFERÊNCIAS

BENTO, R.A. 2010. Custeio baseado em atividades das técnicas de restauração de área degradadas na Amazônia Central. **Dissertação (Mestrado em Ciências de Florestas Tropicais)** – Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia, Manaus/AM. 108 p.

BERGER, P. G.; et al. Peletização de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) com carbonato de cálcio, rizóbio e molibdênio. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 42, n. 243, p. 562-574, 1995.

KANASHIRO, M., KAGEYAMA, P. Y; MÁRQUEZ, F.C. M. Peletização de sementes de *Eucalyptus* spp. **IPEF** n.17, p.67-73, 1978.

LACERDA, D.M.A; FIGUEIREDO, P. S. D. Restauração de matas ciliares do rio Mearim no município de Barra do Corda-MA: seleção de espécies e comparação de metodologias de reflorestamento. **Acta Amazônica**. V. 39(2): 295 – 304, 2009.

LOPES, A.C.A.; NASCIMENTO, W.M. Peletização em sementes hortaliças. Embrapa Hortaliças. **Ministério da agricultura, pecuária e desenvolvimento**. Documentos 137. Brasília, DF, 28 p., 2012.

PRADELLA, D. Z. A.; et al. Peletização de sementes em gel hidrofílico. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 11, n.1, p. 43-52, 1989.

SILVA, J.B.C.; SANTOS, P.E.C.; NASCIMENTO, W.M. Desempenho de sementes peletizadas de alface em função do material cimentante e da temperatura de secagem dos péletes. **Horticultura brasileira**, Brasília, v. 20, n. 1, p. 67-70, 2002.

ANEXO

Testes preliminares de *Selenastrum capricornutum* em meio hidropônico

400 mL de meio L. C. Oligo (AFNOR, 1980) foram confeccionados e postos em dois erlenmeyers com capacidade para 500 mL, pois era necessário que houvesse um espaço para trocas gasosas entre meio interno e externo. Após a correção do pH para 7, os erlenmeyers contendo os meios de cultura foram vedados com tampões confeccionados com algodão e gase, os quais foram tampados com papel alumínio. Em seguida, os meios de cultura foram autoclavados. Após o esfriamento dos frascos, os alumínio foram cuidadosamente removidos e somente após 24 horas o inóculo algal foi realizado.

O mesmo procedimento foi adotado com relação ao meio hidropônico, que é uma solução nutritiva contendo nutrientes dispersos em forma de íons e em proporções adequadas (COMETTI, 2006), os quais são necessários à planta. Soluções hidropônicas são amplamente utilizadas na produção de hortaliças, já que dispensam o uso de solo e otimizam a área de trabalho de pequenos e grandes produtores. Mas, um dos inconvenientes do uso de tais soluções é a proliferação de microalgas oportunistas e grandes competidoras. Assim, decidiu-se realizar um teste entre o meio de cultivo proposto e estabelecido pela ABNT (2005) para testes de ecotoxicidade, que é o meio L. C. Oligo (AFNOR, 1980) e o meio hidropônico, cujos sais componentes estão descritos em ordem de diluição na tabela 1. Vale ressaltar que o teste foi realizado com o meio hidropônico diluído a 10%.

Tabela 1. Sais componentes da solução hidropônica e suas concentrações para confecção de 100 litros em ordem de diluição.

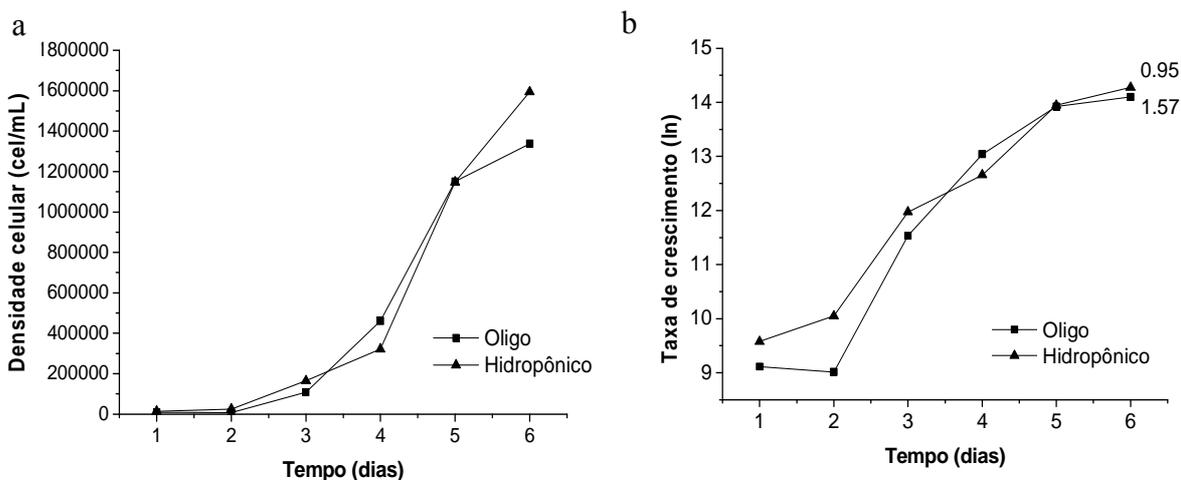
SAIS	Quantidade (g) para 100L
Rexolim M48 (Fe Edd HMa) Yara	1,5
Calcinit (Nitrato de Cálcio)	64,0
Crista K (Nitrato de Potássio)	40,0
Sulfato de Magnésio	34,0
Crista MAP (Fosfato monoamônio)	8,0
KSC mix Roullier (micronutrientes)	2,0

Em cada erlenmeyer foram inoculados 10^4 células mL^{-1} da alga *Selenastrum capricornutum*, cuja cepa foi oriunda do banco de algas do Laboratório de Biotecnologia de Algas, Departamento de Botânica (UFSCar, SP). O inóculo foi realizado em cabine de fluxo, após todo o material – previamente esterilizado- a ser utilizado ter sido exposto por 20 minutos à luz ultravioleta.

O crescimento das algas foi acompanhado, diariamente e por seis dias, por meio da contagem de células (hemacitômetro do tipo Fuchs-Rosenthal) e também por medidas da concentração de clorofila *a in vivo*, através de um fluorímetro digital (Turner Designs, Model Trilogy - USA).

Os erlenmeyers foram mantidos a $130 \mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$ e fotoperíodo de 12 horas de claro e 12 horas de escuro temperatura externa constante de $23 \text{ }^\circ\text{C}$ na sala de cultivo do Laboratório de Biotecnologia de Algas (DB, UFSCar, SP).

A figura 1 ilustra os resultados referentes ao teste inicial de desenvolvimento de *S. capricornutum* em meio L. C. Oligo e meio hidropônico.



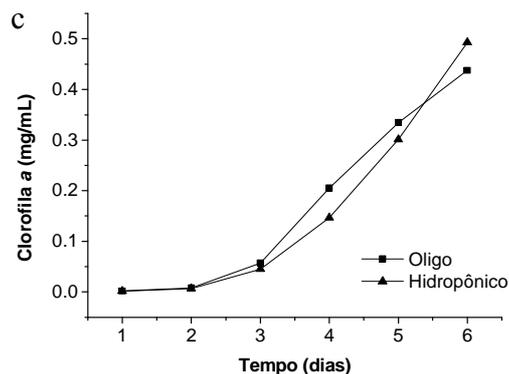


Figura 1. a) Densidade celular (células mL⁻¹); b) taxas de crescimento e c) clorofila *a* (mg mL⁻¹) de *Selenastrum capricornutum* em dois diferentes meios de cultura.

As médias das taxas de crescimento passaram por um teste de normalidade que, após constatada, passaram pelo teste de variância ANOVA, num intervalo de confiança de 95%. Considerando tal intervalo, a taxa de crescimento das algas em meio Oligo foi estatisticamente igual ao meio hidropônico ($p=0,28$). Assim, os experimentos que envolviam algas do presente trabalho foram efetuados com meio de cultura L. C. Oligo, recomendado pela ABNT.

Porém, é válido ressaltar que, até o dia em que o teste foi executado, o meio hidropônico levou à densidade celular praticamente equivalente ao do meio Oligo. Portanto, o meio hidropônico pode ser uma boa alternativa para redução de custos quando o objetivo for produção de biomassa, já que o meio Oligo possui valor financeiro mais elevado.

Em meio L. C. Oligo modificado, ambas as espécies de algas aqui testadas podem chegar a densidade celular desejável para que se tornem constituintes do material cimentante para o processo de peletização de sementes.

REFERÊNCIAS

AFNOR - **Association Française de Normalisation**. Essais des eaux. Détermination de l'inhibition de *Scenedesmus subspicatus* par une substance. Norme expérimentale T90-304. 1980.

COMETTI, N. N., et al. Soluções nutritivas: formulação e aplicações. In: Nutrição mineral de plantas. Manlio SF (Ed.). Viçosa, MG: Sociedade brasileira de ciência do solo, p. 89-114, 2006.

Tabela 2. Soluções e respectivas concentrações componentes do meio de cultura L. C. Oligo (AFNOR, 1980).

Solução	Reagente	Peso molecular	Estoque (g L ⁻¹)	[final] mol L ⁻¹
1	NaNO ₃	85	80	4,7x10 ⁻⁴
2	NH ₄ NO ₃	80	80	5x10 ⁻⁴
3	Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	236,15	80	1,7x10 ⁻⁴
4	MgSO ₄ .H ₂ O	138,48	33,72	1,2x10 ⁻⁴
5	K ₂ HPO ₄	174,18	80	2,3x10 ⁻⁴
6	CuSO ₄ .5H ₂ O	249,68	0,030	6x10 ⁻⁸
	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	1235,86	0,06	2,4x10 ⁻⁸
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	287,56	0,06	1x10 ⁻⁷
	CoCl ₂ .6H ₂ O	237,93	0,06	1,26x10 ⁻⁷
	Mn(SO ₄).H ₂ O	169,01	0,04	1,2x10 ⁻⁷
	H ₃ BO ₃	61,83	0,06	4,9x10 ⁻⁷
7	FeCl ₃ .6H ₂ O	270,20	1,24	3,14x10 ⁻⁶
	FeSO ₄ .7H ₂ O	277,91	1,24	2,24x10 ⁻⁶
	C ₆ H ₅ FeO ₇ .5H ₂ O	334,85	3,24	2,9X10 ⁻⁶
8	NaHCO ₃	84	30	1,79x10 ⁻⁶

Tabela 3. Classes lipídicas, as quais foram usadas como padrões em relação às amostras algais do presente trabalho.

Classe	Abreviação	Principal componente representativo
Hidrocarboneto alifático	HC	n-nonadecano
Wax Éster	WE	Octadecil-hexadecanoato
Ketone	KET	Hexadecano – 3
Triacilglicerol	TG	Glicerol trihexadecanoato
Ácidos graxos livres	FFA	Ácido hexadecanóico
Álcool alifático livre	ALC	Hexadecano-1-ol
Esterol livre	ST	Colesterol
Acetone mobile polar lipids	AMPL	Gliceril-1-mono-hexadecanoato
Fosfolipídios	PL	Phospatidyl choline



Figura 2. Biorreatores com culturas de *Selenastrum capricornutum*. 1: 20 cm. (MONTANHIM, 2013)



Figura 3. Biorreatores com culturas de *Chlorella sorokiniana*. 1: 20 cm. (Foto: MONTANHIM, 2013)

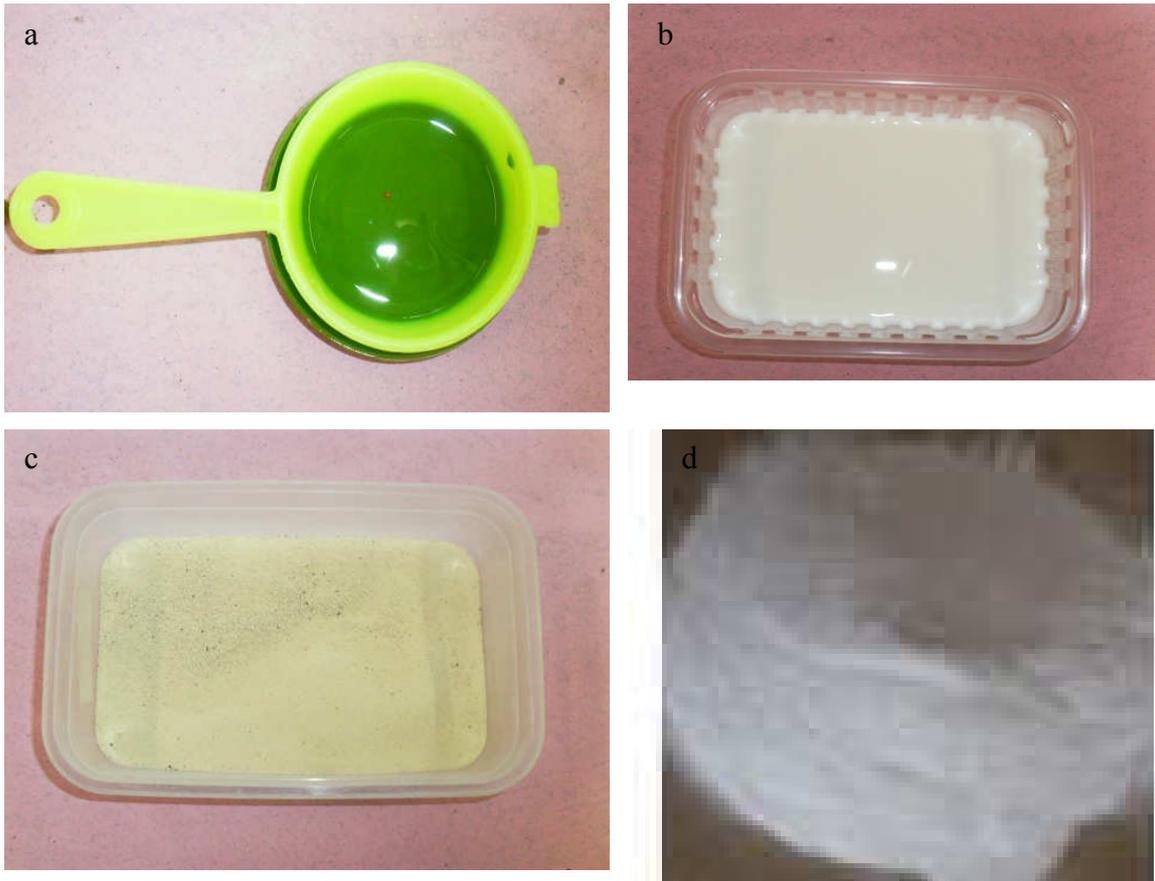


Figura 4. Materiais utilizados no processo de peletização. a) PVA diluído a 8% em biomassa de alga; b) PVA diluído a 8% em água; c) gesso e d) silicato para uso agrícola, ambos acrescidos de inseticida e fungicida. 1: 3 cm. (Foto: MONTANHIM, 2013).



Figura 5. Tubetes com sementes peletizadas, cujos tratamentos estão aleatorizados e sob irrigação por aspersão de microgotas. 1: 20 cm. (Foto: MONTANHIM, 2013)