

AVALIAÇÃO DO EFEITO DO EXTRATO DE MICROALGAS (*Chlorella* sp.) NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE ALFACE CRESPA (*Lactuca Sativa* L.)

Gabriely Lima Mascarenhas¹, Sinara Alves Marinho da Paz Paiva², Rubens Tomio Honda³

RESUMO:

O uso de microalgas como bioestimulantes agrícolas tem despertado crescente interesse devido à presença de compostos bioativos capazes de influenciar processos fisiológicos das plantas. O presente estudo teve como objetivo identificar e caracterizar comunidades de microalgas em ambientes aquáticos urbanos, desenvolver um método seletivo de cultivo e avaliar o efeito do extrato aquoso de *Chlorella* sp. na germinação de sementes de alface crespa (*Lactuca sativa* L.). As amostras foram coletadas em quatro áreas do Lago de Palmas (TO), onde foram identificadas 28 espécies distribuídas em diferentes ordens, com variações qualitativas e quantitativas associadas ao grau de eutrofização dos ambientes. O cultivo seletivo das microalgas foi realizado com diferentes concentrações de NPK (10-10-10), sendo a concentração de 1 g L⁻¹ a que apresentou melhor desempenho para o crescimento de *Chlorella* sp. Após o cultivo, o extrato aquoso foi obtido e aplicado em testes de germinação conduzidos sob condições controladas, avaliando-se porcentagem de germinação (%G), índice de velocidade de germinação (IVG) e tempo médio de germinação (TMG). Os resultados indicaram que, após 12 dias, o extrato aquoso de microalgas promoveu aumento significativo na germinação das sementes em comparação ao controle, especialmente quando aplicado por reaplicação, resultando em maior %G, maior IVG e menor TMG. Em contraste, a imersão prolongada das sementes no extrato apresentou efeito negativo sobre a velocidade de germinação. Os resultados sugerem que o extrato aquoso de *Chlorella* sp. atua como bioestimulante vegetal, com efeito dependente da forma de aplicação, destacando o potencial das microalgas como alternativa sustentável para o uso na agricultura.

Palavras-chave: Ambientes aquáticos urbanos, eutrofização, bioestimulante vegetal.

EVALUATION OF THE EFFECT OF MICROALGAL EXTRACT (*Chlorella* sp.) ON THE GERMINATION OF CRISP LETTUCE SEEDS (*Lactuca sativa* L.)

ABSTRACT:

The use of microalgae as agricultural biostimulants has gained increasing attention due to the presence of bioactive compounds capable of influencing plant physiological processes. This study aimed to identify and characterize microalgal communities from urban aquatic environments, develop a selective cultivation method, and evaluate the effect of an aqueous extract of *Chlorella* sp. on the germination of crisp lettuce (*Lactuca sativa* L.) seeds. Samples were collected from four sites in Lago de Palmas (Tocantins, Brazil), where 28 microalgal species were identified, with qualitative and quantitative variations associated with the degree of environmental eutrophication. Selective cultivation was optimized using different concentrations of NPK (10-10-10), with 1 g L⁻¹ providing the most favorable conditions for *Chlorella* sp. growth. The resulting aqueous extract was applied in germination assays under controlled conditions to assess germination percentage (%G), germination speed index (GSI/IVG), and mean germination time (MGT/TMG). After 12 days, seeds treated with the microalgal extract showed a significant increase in germination compared to the control. This effect was most pronounced when the extract was applied via reapplication, resulting in higher %G and GSI and lower MGT. Conversely, prolonged seed immersion in the extract negatively impacted germination speed. These findings indicate that the aqueous extract of *Chlorella* sp. acts as an effective plant

¹Graduanda em Engenharia Agrônômica da Universidade Estadual do Tocantins, Palmas-TO; <https://orcid.org/0009-0006-0823-1585>. ² Engenheira Ambiental, Palmas-TO; <https://orcid.org/0009-0007-6243-4727>. ³ Professor Adjunto na Universidade Estadual do Tocantins, Palmas-TO, rubens.th@unitins.br, <https://orcid.org/0000-0003-2331-2106>.

biostimulant, though its efficacy is strictly dependent on the mode of application, highlighting the potential of microalgae as a sustainable alternative for modern agriculture.

Palavras-chave: Urban aquatic environments, eutrophication, plant biostimulant

INTRODUÇÃO

A busca por alternativas sustentáveis aos fertilizantes químicos tem impulsionado o desenvolvimento e a aplicação de insumos biológicos na agricultura moderna. O uso excessivo de fertilizantes sintéticos, além de elevar os custos de produção, está associado a impactos ambientais negativos, como a contaminação do solo e da água e alterações na microbiota edáfica (Ritika e Utpal, 2014). Nesse cenário, os biofertilizantes e bioestimulantes de origem microbiana têm se destacado por sua capacidade de promover o crescimento vegetal e melhorar o desempenho fisiológico das plantas, especialmente nas fases iniciais de desenvolvimento (Gül et al., 2008; Dobrojan et al., 2017).

Biofertilizantes são definidos como preparações contendo microrganismos ou seus produtos metabólicos capazes de estimular processos biológicos nas plantas, favorecendo a absorção de nutrientes e o crescimento vegetal (Dobrojan et al., 2017). Mais recentemente, tem-se ampliado o conceito para incluir também extratos microbianos, que, embora não contenham células viáveis, apresentam elevada concentração de compostos bioativos com potencial bioestimulante. Esses produtos vêm sendo estudados principalmente por sua ação direta sobre processos fisiológicos, como germinação, alongamento celular e desenvolvimento radicular.

Entre os microrganismos de interesse agrícola, as microalgas e cianobactérias ocupam posição de destaque devido à sua elevada diversidade metabólica e capacidade de produzir substâncias biologicamente ativas, incluindo fitormônios, aminoácidos, vitaminas, polissacarídeos e compostos antioxidantes (Ronga et al., 2019; Guo et al., 2020). Esses metabólitos podem atuar de forma sinérgica na estimulação do metabolismo vegetal, influenciando diretamente a germinação de sementes e o vigor inicial das plântulas (Guo et al., 2020).

As microalgas verdes eucarióticas, como espécies do gênero *Chlorella*, têm sido amplamente investigadas em sistemas agrícolas devido à facilidade de cultivo, elevada produtividade de biomassa e composição bioquímica favorável. Estudos demonstram que aplicações de biomassa ou extratos de *Chlorella* podem promover melhorias significativas na germinação e no crescimento inicial de diversas culturas agrícolas (Faheed e Fattah, 2008;

Bumandalai e Tserennadmid, 2019). Esses efeitos são atribuídos principalmente à presença de reguladores de crescimento vegetal, como auxinas e citocininas, além de nutrientes prontamente assimiláveis (Mazepa et al. 2021; Santos et al. 2021).

A fase de germinação é considerada crítica para o estabelecimento das culturas, pois determina, em grande parte, a uniformidade e o desempenho inicial das plantas no campo. Fatores que interferem positivamente nesse estágio podem resultar em plântulas mais vigorosas, com maior capacidade de absorção de água e nutrientes. Nesse contexto, o uso de extratos de microalgas surge como uma estratégia promissora, uma vez que esses produtos podem atuar diretamente sobre as sementes, estimulando processos metabólicos associados à ativação enzimática, divisão celular e alongamento dos tecidos embrionários (Ronga et al. 2019).

A aplicação de biomassa seca de *Chlorella vulgaris* ao solo resultou em melhorias no crescimento e no desempenho fisiológico de plantas de alface (Faheed e Fattah, 2008). Da mesma forma, Bumandalai e Tserennadmid (2019) observaram aumento no comprimento de raízes e brotos de tomate e pepino tratados com soluções de microalgas em baixas concentrações. Resultados semelhantes foram reportados para outras espécies hortícolas, indicando que os efeitos bioestimulantes das microalgas não se restringem a uma única cultura (Tian et al., 2022).

Além da espécie utilizada, a forma de aplicação das microalgas exerce influência significativa sobre sua eficiência agrônoma. Biomassa fresca, seca ou extratos apresentam diferentes níveis de disponibilidade de compostos bioativos, o que pode impactar diretamente a resposta das plantas (Alvarez et al., 2021). O uso de extratos, em particular, tem sido apontado como uma abordagem vantajosa, pois permite maior padronização, facilidade de aplicação e rápida assimilação dos compostos pelas sementes ou plântulas.

Apesar do número crescente de estudos sobre o uso de microalgas na agricultura, ainda existem lacunas quanto à compreensão de seus efeitos específicos durante a germinação de sementes, especialmente para culturas hortícolas de ampla importância econômica, como a alface (*Lactuca sativa*). A maioria dos trabalhos concentra-se no crescimento vegetativo ou na produtividade final, havendo menor número de estudos direcionados

exclusivamente à fase germinativa e ao uso de extratos de microalgas.

Dessa forma, torna-se relevante aprofundar a investigação sobre a bioatividade de extratos de microalgas na germinação de sementes, buscando compreender seu potencial como bioestimulantes naturais e sustentáveis. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do extrato aquoso de microalgas (*Chlorella* sp.) na germinação de sementes de alface crespa (*Lactuca sativa* L.).

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta das microalgas

As microalgas foram coletadas no Reservatório Luís Eduardo Magalhães nas proximidades da cidade de Palmas - TO no período da manhã (9h às 11h) entre os meses de setembro e outubro, e envolveu quatro locais distintos, Praia das Arnos, localizada no Plano Diretor Norte de Palmas

(10° 09'37" S e 48° 21'47" W); Praia do Prata, localizada no Plano Diretor Sul de Palmas (10° 14'41" S e 48° 23'38" W); Praia da Graciosa também localizada no Plano Diretor Sul da cidade (10° 11'33" S e 48° 21'32" W) e Praia de Luzimangues localizado na margem oposta da cidade de Palmas (10° 11'22" S e 48° 26'33" W) (Figura 1).

A coleta ocorreu com auxílio de rede de plâncton e caiaque. O arraste da rede de plâncton ocorreu cerca de 50 metros da margem a uma profundidade entre 30 e 100 cm e envolveu um perímetro de 220 m. Este procedimento foi repetido 5 vezes em cada local de coleta. No final, as 5 amostras coletadas foram misturadas constituindo volume total 1,0 L para cada localidade. Esta amostra foi armazenada em frasco de vidro com tampa e transportados até o laboratório, onde foram acondicionadas em ambiente refrigerado à 10°C, analisadas e preparadas para cultivo no intervalo de 4 dias.



Figura 1. Localização da área de coleta das amostras das microalgas. a) Praia da Graciosa; b) Praia do Prata; c) Praia da Arnos e d) Praia de Luzimangues. Imagem: Google maps.

Identificação das microalgas

A identificação das microalgas foi obtida com auxílio de microscópio óptico binocular, com aumento de 10x/ 40x e 10x/ 10x. A contagem das algas ocorreu por toda extensão vertical e horizontalmente da lâmina contendo 100 µL de amostra. Este procedimento foi realizado em triplicata para cada localidade. Para espécies de difícil visualização, contamos com auxílio de Câmara de Neubauer para auxiliar na contagem.

A identificação das microalgas foi realizada comparando suas características morfológicas com as da literatura especializada (Atlas de cianobactérias e microalgas de águas continentais brasileiras – Tucci et al., 2019).

Cultivo das microalgas

O cultivo das microalgas foi realizado em meio enriquecido com 1 g de NPK L⁻¹ (NPK 10-10-10) Silva-Benavides (2016). Nessa concentração, as

microalgas apresentaram melhor desempenho no cultivo, promovendo maior crescimento da biomassa e favorecendo a dominância do gênero *Chlorella*.

O cultivo definitivo das microalgas consistiu na mistura de 0,5 L da amostra coletada na Praia dos Arnos com 1,5 L da solução nutritiva contendo 1 g de NPK L⁻¹. A mistura foi mantida por um período de cinco dias em câmara de germinação tipo BOD (MOD 347 CDG), sob fotoperíodo controlado de 12 horas, utilizando lâmpadas fluorescentes brancas com intensidade luminosa de 2.500 lux, aeração constante e temperatura de 26 ± 2 °C (Silva-Benavides, 2016, com modificações; Abdulsamad, Varghese e Thajudeen, 2019).

Decantação, lavagem, contagem e obtenção do extrato das microalgas

Após o quinto dia de cultivo, as microalgas foram submetidas ao processo de decantação em tubos de 15 mL por meio de centrifugação durante 10 minutos a 2.000 rpm. Em seguida, o sobrenadante foi removido e adicionou-se 5 mL de água destilada para a lavagem das amostras. Esse procedimento foi repetido três vezes para todas as amostras, até que fosse atingida uma condutividade elétrica inferior a 200 µS cm⁻¹, conforme metodologia descrita por Puglisi et al. (2018).

Após as etapas de lavagem, a concentração celular final obtida foi de 235.000 células mm⁻³. As amostras foram fracionadas em alíquotas de 1 a 2 mL, congeladas e mantidas à temperatura de -20 °C até o momento da utilização.

O extrato aquoso das microalgas foi obtido a partir da mistura de 250 µL da suspensão de microalgas (na concentração de 235.000 células mm⁻³) com 250 µL de água destilada, em tubos de ensaio. Posteriormente, a solução foi submetida a banho-maria por 45 minutos e, em seguida, centrifugada a 3.000 rpm por 10 minutos para nova decantação e retirada do sobrenadante, que foi utilizado nos testes de germinação.

Teste de germinação

Foram conduzidos três testes independentes de germinação a fim de avaliar o efeito do extrato aquoso de microalgas (*Chlorella* sp.) sobre a germinação das sementes da alface crespa (*Lactuca sativa* L.). O primeiro teste envolveu: 1. Controle; 2. Sementes na presença do extrato aquoso de microalgas autoclavado (Semente + 10µL de extrato aquoso autoclavado); 3. Sementes na presença do

extrato aquoso de microalgas (Semente + 10µL extrato aquoso sem autoclavar); 4. Sementes esterilizadas na presença do extrato aquoso de microalgas (Semente esterilizada + 10µL extrato aquoso sem autoclavar). Este teste foi conduzido durante 5 dias de observação. O segundo teste seguiu as mesmas condições do teste anterior, porém o tempo foi conduzido durante 12 dias de observação. O terceiro teste envolveu: 1. Controle; 2. Sementes submetidas à imersão em extrato de microalgas por 5 horas; 3. Sementes submetidas a três reaplicações de extrato aquoso autoclavado. O experimento foi conduzido com observações ao longo de seis dias.

As sementes esterilizadas foram obtidas submetendo as sementes à solução de hipoclorito de sódio a 0,25% por 3 minutos, seguido de tríplice lavagem com água destilada e a imersão das sementes foi obtido submetendo as sementes em 500 µL de extrato aquoso autoclavado durante 5 horas.

Todos os testes foram realizados em caixas tipo Gerbox, utilizando papel germinativo previamente autoclavado, disposto em duas folhas por caixa, conforme metodologia preconizada pelas Regras para Análise de Sementes – RAS (Brasil, 2009; Brasil, 2025). O papel foi umedecido com água destilada e autoclavada em volume equivalente a 2,5 vezes a massa do papel seco. As caixas foram mantidas em câmara tipo BOD, sob temperatura constante de 26 ± 2 °C, ausência de luz direta e umidade controlada do ambiente, conforme recomendações para a espécie (Brasil, 2009; 2025).

Cada tratamento de cada teste foi composto por 20 sementes em cada caixa de Gerbox e cada tratamento envolveu 5 repetições, totalizando 100 sementes por tratamento.

No final do período de observação dos testes envolvendo 5 e 12 dias de observação, foi determinada a porcentagem de germinação (%G), calculada pela expressão matemática: $G = (N/A) \times 100$, em que N corresponde ao número de sementes germinadas e A ao número total de sementes (Labouriau, 1983).

No final do período experimental do teste que envolveu imersão das sementes, foram avaliados: Porcentagem de germinação (%G); Índice de velocidade de germinação (IVG), obtido pela fórmula $IVG = \Sigma (ni/ti)$, onde: ni = quantidade de sementes que germinaram no tempo “i”; ti = tempo após início do teste; e tempo médio de germinação (TMG): $TMG = (\Sigma niti) / \Sigma ni$, onde: ni = número de sementes

germinadas por dia; t_i = tempo de incubação (Labouriau, 1983).

Para cada teste, após atender os pressupostos de normalidade e homogeneidade, procedeu-se o teste de ANOVA de uma via e para comparação das médias foi realizada teste Tukey ($p \leq 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Identificação e composição das comunidades de microalgas

Nos quatro pontos de coleta analisados (Praia da Graciosa, Praia do Prata, Praia das Arnos e Praia de Luzimangues), foram identificadas 28 espécies distribuídas em quatro ordens principais: *Chroococcales*, *Oscillatoriales*, *Chlorococcales* e *Chlorellales* (Tabela 1). A predominância de representantes das ordens *Chroococcales*, *Oscillatoriales* e *Chlorellales* especialmente dos gêneros *Pseudanabaena*, *Radiocystis*, *Sphaerocavum* e *Chlorella* é comumente associada a ambientes aquáticos com diferentes graus de eutrofização e aporte de matéria orgânica (Chapman, 2013; Duarte et al., 2018).

As variações qualitativas e quantitativas observadas entre os locais de coleta refletem

diretamente as características ambientais de cada área, em especial a intensidade da descarga de efluentes orgânicos. Ambientes com maior aporte de nutrientes, como a Praia das Arnos (Esta região está localizada próximo a uma estação de tratamento de esgoto), apresentaram maior abundância de espécies oportunistas, enquanto a Praia de Luzimangues (Localizado no lado oposto ao local das outras coletas), é caracterizada por menor carga orgânica (Nesta região não há ponto de lançamento de esgoto), apresentou menor diversidade e abundância. Esse padrão já foi descrito para comunidades microalgais em ambientes eutrofizados, nos quais determinadas espécies apresentam elevada capacidade competitiva e rápida proliferação (Guo et al., 2020).

Essas diferenças na composição das comunidades microalgais são relevantes, pois influenciam diretamente o perfil metabólico das algas presentes e, conseqüentemente, a composição dos extratos obtidos, incluindo a concentração de compostos bioativos com potencial efeito fisiológico sobre as plantas (Ronga et al., 2019). Considerando estes aspectos, a amostra da Praia das Arnos foi utilizada para cultivo das microalgas (maior diversidade, abundância com maior concentração de compostos bioativos) (Tabela 1).

Tabela 1. Espécies de microalgas coletadas e identificadas na região da Praia da Graciosa, Praia do Prata e Praia das Arnos.

Localidade	Ordem	Espécie	Quantidade
Praia da Graciosa	Chroococcales	<i>Asterocapsa submersa</i>	27
		<i>Aphanocapsa delicatissima</i>	9
		<i>Coelosphaerium evidenter-marginatum</i>	12
		<i>Microcystis panniformis</i>	5
		<i>Microcystis wesenbergii</i>	2
		<i>Radiocystis fernandoi</i>	10
		<i>Sphaerocavum brasiliense</i>	18
	Oscillatoriales	<i>Leptolyngbya perelegans</i>	9
		<i>Oscillatoria limosa</i>	1
		<i>Pseudanabaena mucicola</i>	6
		<i>Pseudanabaena galeata</i>	162
	Chlorococcales	<i>Kirchneriella aperta</i>	25
		<i>Kirchneriella contorta</i> var. <i>elongata</i>	1
		<i>Monactinus simplex</i>	37
		<i>Parapediastrum biradiatum</i>	9
		<i>Pediastrum duplex</i> var. <i>duplex</i>	1
	Chlorellales	<i>Chlorella</i> sp.	28
Praia do prata	Chroococcales	<i>Aphanocapsa delicatissima</i>	12
		<i>Asterocapsa submersa</i>	46
		<i>Coelosphaerium evidentermarginatum</i>	1.156
		<i>Radiocystis fernandoi</i>	58
		<i>Sphaerocavum brasiliense</i>	12
		<i>Snowella lacustris</i>	22
	Oscillatoriales	<i>Oscillatoria limosa</i>	26
		<i>Pseudanabaena galeata</i>	138
	Chlorococcales	<i>Actinastrum aciculare</i> var. <i>aciculare</i> f.	96
		<i>Ankistrodesmus bibraianus</i>	14
		<i>Coelastrum pulchrum</i> var. <i>pulchrum</i>	60
		<i>Kirchneriella aperta</i>	472
		<i>Kirchneriella lunaris</i>	22
		<i>Monactinus simplex</i>	24
		<i>Pediastrum angulosum</i>	6
		<i>Pediastrum argentiniense</i>	2
		<i>Pediastrum duplex</i> var. <i>duplex</i>	244
		Chlorellales	<i>Chlorella</i> sp.
	Praia das Arnos	Chroococcales	<i>Aphanocapsa delicatissima</i>
<i>Radiocystis fernandoi</i>			138
<i>Sphaerocavum brasiliense</i>			407
<i>Snowella lacustris</i>			9
<i>Microcystis panniformis</i>			50
Oscillatoriales		<i>Oscillatoria limosa</i>	8
		<i>Pseudanabaena galeata</i>	632
Chlorococcales		<i>Actinastrum aciculare</i> var. <i>Aciculare</i> f.	1
		<i>Kirchneriella aperta</i>	1
		<i>Monactinus simplex</i>	673
		<i>Pediastrum duplex</i> var. <i>duplex</i>	35

Continuação da Tabela 1.

Localidade	Ordem	Espécie	Quantidade
		<i>Stauridium tetras</i>	50
	Chlorellales	<i>Chlorella sp.</i>	64
Praia de Luzimanges	Chroococcales	<i>Coelosphaerium evidenter-marginatum</i>	1
		<i>Radiocystis fernandoi</i>	7
		<i>Synechocystis aquatilis</i>	5
	Oscillatoriales	<i>Pseudanabaena mucicola</i>	1
		<i>Pseudanabaena galeata</i>	20
	Chlorococcales	<i>Dichotomococcus curvatus</i>	1
		<i>Dictyosphaerium pulchellum</i>	1
		<i>Monactinus simplex</i>	4
		<i>Pediastrum duplex var. duplex</i>	2

Efeito do extrato de microalgas na germinação de sementes

Durante os primeiros cinco dias de observação, não foram detectadas diferenças significativas na germinação das sementes de alface cresa entre os tratamentos controle, extrato aquoso autoclavado, extrato aquoso e sementes esterilizadas ($p > 0,05$) (Figura 2.A). Esse comportamento é consistente com a fisiologia da germinação, uma vez que as etapas iniciais do processo são predominantemente controladas por mecanismos físicos de embebição e reorganização celular, com limitada influência de compostos bioativos exógenos.

Estudos anteriores com extratos de microalgas e outros bioestimulantes naturais também relatam ausência de resposta imediata na germinação, indicando que os efeitos positivos tendem a se manifestar apenas após a ativação metabólica das sementes, quando há intensificação da atividade enzimática e início da mobilização das reservas energéticas (Dineshkumar et al., 2019; Santos et al., 2021).

Dessa forma, a inexistência de diferenças significativas nos primeiros dias sugere que o extrato de microalgas não atua como um agente osmótico ou indutor químico precoce da germinação, mas sim como um modulador fisiológico de processos metabólicos subsequentes, o que corrobora os resultados observados após 12 dias de incubação.

Após 12 dias de observação, as sementes submetidas ao tratamento com extrato aquoso de microalgas apresentaram aumento significativo no número de germinações em comparação ao controle ($p \leq 0,05$) (Figura 2.B), evidenciando que o efeito bioestimulante do extrato se manifesta de forma progressiva ao longo do tempo. Esse padrão sugere que os compostos presentes no extrato não atuam apenas como indutores imediatos da germinação, mas modulam processos fisiológicos associados às fases iniciais do desenvolvimento da plântula, como a ativação metabólica, a reorganização celular e a mobilização de reservas endógenas (Santos et al. 2021).

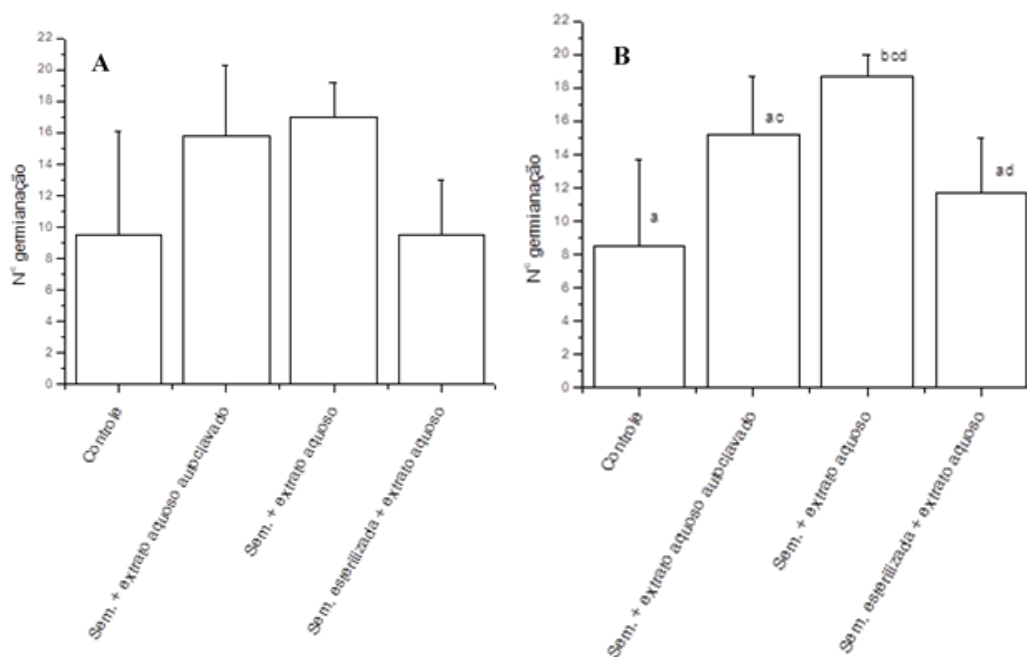


Figura 2. Número germinação das sementes da alface crespa (*Lactuca sativa*) com 5 dias (A) e 12 dias (B) de observação. Controle; Sementes na presença do extrato aquoso de microalgas autoclavado (Semente + 10 μ L de extrato aquoso autoclavado); Sementes na presença do extrato aquoso de microalgas (Semente + 10 μ L extrato aquoso); Sementes esterilizadas na presença do extrato aquoso de microalgas (Semente esterilizada + 10 μ L extrato aquoso); ($p \leq 0,05$).

A ação gradual observada pode estar relacionada à presença de aminoácidos livres, vitaminas, polissacarídeos e reguladores de crescimento vegetal produzidos por microalgas, os quais são amplamente descritos como agentes bioestimulantes capazes de intensificar a atividade enzimática, favorecer a síntese de proteínas e estimular a divisão celular durante a germinação (Ördög et al., 2004; Mazepa et al., 2021). Polissacarídeos extracelulares, em particular, podem contribuir para a retenção hídrica e a melhoria da hidratação das sementes, fator determinante para a uniformidade e eficiência da germinação.

A ausência de diferenças significativas entre o extrato aquoso autoclavado e o não autoclavado indica que os compostos responsáveis pela bioatividade apresentam elevada estabilidade térmica (Ronga et al., 2019). Esse resultado sugere que a resposta fisiológica observada não está associada à ação de enzimas ou proteínas termolábeis, mas provavelmente a metabólitos secundários não proteicos, como fitormônios (auxinas e citocininas), polissacarídeos e compostos fenólicos de baixa massa molecular, os quais mantêm sua atividade mesmo após tratamento térmico (Ördög et al., 2004; Ronga et al., 2019).

Resultados semelhantes têm sido descritos em estudos que utilizam extratos de microalgas e algas marinhas aplicados a sementes e plantas cultivadas, nos quais os efeitos positivos são atribuídos à ação combinada desses compostos bioativos sobre o metabolismo inicial das plantas, promovendo maior eficiência fisiológica sem a necessidade de insumos químicos convencionais (Crouch et al. 1990). Assim, os dados obtidos reforçam o potencial do extrato de *Chlorella* sp. como bioestimulante natural, especialmente quando considerado seu efeito cumulativo ao longo do tempo.

A análise conjunta da porcentagem de germinação (%G), do índice de velocidade de germinação (IVG) e do tempo médio de germinação (TMG) evidenciou que a forma de aplicação do extrato de microalgas exerceu influência decisiva sobre a resposta fisiológica das sementes. A reaplicação do extrato resultou em maior porcentagem de germinação ($97 \pm 4,47\%$) e menor TMG (1,60) quando comparada ao controle ($91 \pm 4,18\%$; TMG = 1,69), indicando um processo germinativo mais rápido, uniforme e eficiente (Figura 3).

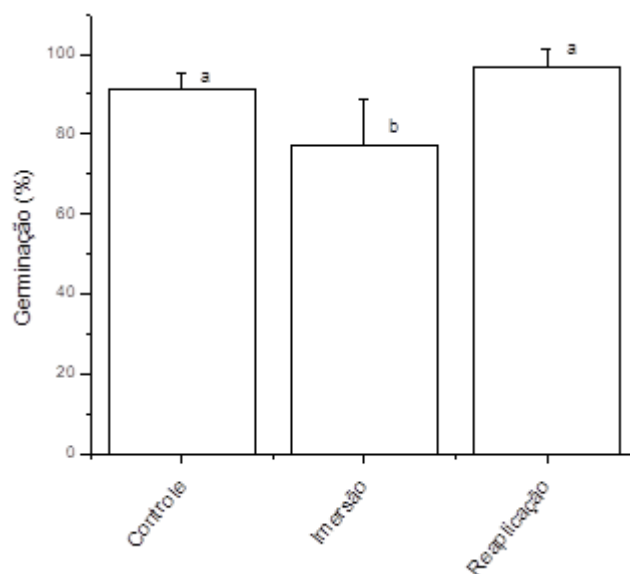


Figura 3. Porcentagem de germinação (%G) das sementes da alface crespa (*Lactuca sativa*) submetidas a imersão (5 h) e reaplicação de 10 μ L extrato de aquoso de microalgas (3 x). 6 dias de observação; ($p \leq 0,05$).

Em contraste, a imersão prolongada das sementes no extrato aquoso promoveu redução expressiva do IVG (-21,16%) e aumento do TMG (1,94), sugerindo que a exposição contínua a concentrações elevadas de compostos bioativos pode desencadear efeitos fisiológicos adversos, possivelmente associados a estresse osmótico, desequilíbrio hormonal ou inibição transitória da atividade enzimática envolvida na mobilização das reservas (Ördög et al., 2004; Ronga et al. 2019).

A reaplicação, por sua vez, pode ter favorecido uma absorção gradual dos compostos bioativos presentes no extrato, como aminoácidos, vitaminas e reguladores de crescimento vegetal, permitindo uma sinalização metabólica mais equilibrada durante a fase de ativação germinativa. Esse padrão é consistente com estudos que demonstram que bioestimulantes à base de microalgas apresentam resposta dependente da dose, do tempo de exposição e da forma de aplicação, promovendo efeitos positivos apenas dentro de uma faixa fisiológica adequada (Ronga et al., 2019; Dineshkumar et al., 2019).

Os resultados obtidos reforçam que a eficiência de extratos de microalgas na germinação de sementes não está associada apenas à sua composição química, mas também à dinâmica de aplicação, sendo a reaplicação uma estratégia mais adequada para potencializar os efeitos bioestimulantes sem induzir estresse às sementes.

CONCLUSÃO

O extrato aquoso de *Chlorella* sp. influenciou a germinação de sementes de alface crespa (*Lactuca sativa* L.), promovendo aumento na porcentagem de germinação, no índice de velocidade de germinação e redução no tempo médio de germinação ao longo do período de avaliação. Os resultados indicam que o efeito do extrato depende da forma de aplicação, com respostas positivas sob reaplicação controlada e efeito negativo quando submetidas à imersão prolongada.

AGRADECIMENTOS

GLM recebeu bolsa do CNPq (PIBIC-Af/CNPq) e RTH recebeu bolsa da UNITINS (Nº 007/2023).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abdulsamad, J.K., Varghese, S.A., Thajudeen, J., (2019). Cost effective cultivation and biomass production of green microalga *Desmodesmus subspicatus* mb. 23 in NPK fertilizer medium. **Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences**, 9, 599–604. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2019/20.9.3.599-604>

Alvarez, A. L., Weyers, S. L., Goemann, H. M., Peyton, B. M., Gardner, R. D. (2021). **Microalgae, soil and plants: A critical review of microalgae as**

- renewable resources for agriculture.** Algal Reserch. 54, 102200. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102200>
- Bumandalai, O. and Rentsenkhand T. (2019). "Effect of *Chlorella vulgaris* as a Biofertilizer on germination of tomato and cucumber seeds." **International Journal of Aquatic Biology**, 7(2): 95–99.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília : Mapa/ACS, 2009.
- BRASIL. **Ministério da Agricultura e Pecuária. Secretaria de Defesa Agropecuária. Regras para análise de sementes.** Brasília, DF: MAPA/SDA, 2025. Disponível em: https://wikisda.agricultura.gov.br/pt-br/Laborat%C3%B3rios/Metodologia/Sementes/RAS_2025/RAS_2024_Cap_10_Mistura_rev_1. Acesso em: 27/01/2026.
- Chapman, R.L. (2013). **Algae: The world's most important "plants"-an introduction.** Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change. 18, 5–12. <https://doi.org/10.1007/s11027-010-9255-9>
- Crouch, I. J., Beckett, R. P. and Van Staden, J. (1990). Effect of seaweed concentrate on the growth and mineral nutrition of nutrient-stressed lettuce. **Journal of Applied Phycology**, v. 2, n. 3, p. 269–272.
- Dineshkumar, R., Rasheeq, A. A., Arumugam, A. (2019). Marine microalgal extracts on cultivable crops as a considerable bio-fertilizer: A review. **Indian Journal of Traditional Knowledge**, v. 18, n. 4, p. 849–854.
- Dobrojan, S., Şalaru, V., Stratulat, I., and Dobrojan, G. (2017). Administration of algal bio-fertilizers to cultivation of tomatoes (*Lycopersicum esculentum* L.) under greenhouse conditions. Scientific Papers. **Series A. Agronomy** (Basel) LX, 73–76.
- Duarte, I., Hernández, S., Ibañez, A., Canto, A. (2018). Macroalgae as Soil Conditioners or Growth Promoters of *Pisum sativum* (L). **Annual Research Review in Biololgy**. 27, 1–8. <https://doi.org/10.9734/arrb/2018/43272>
- Faheed, F.A., and Fattah, Z.A. (2008). Effect of *Chlorella vulgaris* as bio-fertilizer on growth parameters and metabolic aspects of lettuce plant. **Journal of Agriculture and Social Sciences**, 4, 165–169.
- Gül, A., Kıdoğlu, F., and Tuzel, Y. (2008). Effects of nutrition and *Bacillus amyloliquefaciens* on tomato (*Solanum lycopersicum*) growing in perlite. **Spanish Journal Agricultural Research**. 6 (3), 422–429. <https://doi.org/10.5424/sjar/2008063-335>
- Guo, S., Wang, P., Wang, X., Zou, M., Liu, C., Jihong, H. (2020). **Microalgae as Biofertilizer in Modern Agriculture**, in: *Microalgae Biotechnology for Food, Health and High Value Products*. pp. 397–411.
- Labouriau, L. G. (1983). A germinação das sementes. Secretaria Geral da OEA, Washington, 173 p.
- Mazepa, E., Malburg, B. V., Mógor, G., de Oliveira, A. C., Amatussi, J. O., Corrêa, D. O., Lemos, J. S., Ducatti, D. R. B., Duarte, M. E. R., Mógor, A. F. and Nosedá, M. D. (2021). **Plant growth biostimulant activity of the green microalga *Desmodesmus subspicatus***. *Algal Research*, v. 59, p. 102434.
- Ördög, V., Stirk, W. A., Lenobel, R., Baníová, M., Strnad, M., van Staden, J., Szigeti, J. and Németh, L. (2004). Screening microalgae for some potentially useful agricultural and pharmaceutical secondary metabolites. **Journal of Applied Phycology**, v. 16, n. 4, p. 309–314.
- Puglisi, I., Barone, V., Sidella, S., Coppa, M., Broccanello, C., Gennari, M., Baglieri, A. (2018). Biostimulant activity of humic-like substances from agro-industrial waste on *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus quadricauda*. **European Journal of Phycology**. 53, 433–442. <https://doi.org/10.1080/09670262.2018.1458997>
- Ritika, B., Utpal, D. (2014). Biofertilizer, a way towards organic agriculture: A review. **African Journal Microbiology Research**. 8, 2332–2343. <https://doi.org/10.5897/ajmr2013.6374>
- Ronga, D., Biazzi, E., Parati, K., Carminati, D., Carminati, E. and Tava, A. (2019). Microalgal Biostimulants and Biofertilisers in Crop Productions. **Agronomy**, v. 9, p. 1–22.

- Santos, N. H. S., Silveira, A. C. D., Fernandes, V. O. and Machado, L. P. (2021). Efeito do extrato de algas no desempenho germinativo e crescimento radicular em sementes de feijão BRS Estilo em resposta a diferentes métodos de aplicação. **Hoehnea**, v. 48.
- Silva-Benavides, A.M. (2016). Evaluación de fertilizantes agrícolas en la productividad de la microalga *Chlorella sorokiniana*. *Agronomía Mesoamericana*, 27, 265. <https://doi.org/10.15517/am.v27i2.24361>
- Tian, S. L, Khan, A., Zheng, W. N., Song, L., Liu, J. H. and Wang, X. Q. (2022). Effects of *Chlorella* extracts on growth of *Capsicum annuum* L. seedlings. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 1–8.
- Tucci, A., Sant’Anna, C. L., Azevedo, M. T. P., Malone, C. F. S.; Werner, V. R., Rosini, E. F., Gama, W. A., Hentschke, G. S., Osti, J. A. S., Dias, A. S., Jacinavicius, F. R., Santos, K. R. S. (2019). **Atlas de Cianobactérias e Microalgas de Águas Continentais Brasileiras**. Publicação eletrônica, Instituto de Botânica, Núcleo de Pesquisa em Ficologia. www.ibot.sp.gov.br