



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Tiago Miguel Marques Sousa

**USO DO “SARGAÇO” COMO BIOESTIMULANTE E
BIOFERTILIZANTE NATURAL**

Dissertação no âmbito do Mestrado de Biodiversidade e Biotecnologia Vegetal, realizada sob orientação científica do Professor Doutor Leonel Pereira e coorientada pelo Professor Doutor Kiril Bahcevandziev, apresentada ao Departamento de Ciências da Vida, Universidade de Coimbra.

Outubro de 2020

Uso do "Sargaço" como Bioestimulante e Biofertilizante Natural

Departamento de Ciências da vida
Faculdade de Ciências e Tecnologia

Uso do “Sargaço” como bioestimulante e biofertilizante natural

Tiago Miguel Marques Sousa

Dissertação no âmbito do Mestrado de Biodiversidade e Biotecnologia Vegetal, realizada sob orientação científica do Professor Doutor Leonel Pereira e coorientada pelo Professor Doutor Kiril Bahcevandziev, apresentada ao Departamento de Ciências da Vida, Universidade de Coimbra.

Outubro 2020



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Uso do "Sargaço" como Bioestimulante e Biofertilizante Natural

Agradecimentos

Tenho de agradecer ao meu orientador, o Prof. Dr. Leonel Pereira, por me ter aceitado como aluno e sempre ter me ajudado e ensinado a ter um pensamento e resposta científica. Também tenho de agradecer por me ter apresentado o magnífico mundo das algas pelo qual ganhei entusiasmo. Obrigado pelo conhecimento, ajuda e disposição na orientação do trabalho desenvolvido e também, por me confiar a utilização do Laboratório de Macroalgas Marinhas do Departamento de Ciências da Vida, da Universidade de Coimbra.

Agradeço também ao meu coorientador, o Prof. Dr. Kiril Bahcevandziev, pela oportunidade de realizar este estudo na ESAC, e pelo conhecimento e ajuda prestada ao longo deste ano de estudo.

Obrigado à Dra. Andreia Miguel, e à ADP-Fertilizantes, S.A., pelo fornecimento de todo o material necessário e pela sua disponibilidade para ajudar.

Quero agradecer também aos meus pais e à minha família, por esta oportunidade de estudar na universidade e todo o apoio que me deram ao longo dos anos e por terem acreditado em mim.

Ao João Cotas por todo o auxílio prestado no laboratório de Algas Marinhas e toda a ajuda e conhecimento que me transmitiu.

Ao Professor Felipe Melo da ESAC por toda a ajuda disponibilizada enquanto o ensaio decorreu na estufa da ESAC.

À Doutora Rosinda Pato e aos funcionários dos laboratórios de análises químicas pela ajuda nas análises do material vegetal.

Quero também agradecer aos meus colegas de curso, tanto de licenciatura, como de mestrado por me terem ajudado neste longo percurso e me proporcionarem grandes momentos de convívio e de estudo.

Resumo

O sargaço é a mistura de várias macroalgas que crescem nas rochas na costa norte de Portugal e que possuem vários metabolitos, que auxiliam o crescimento e o desenvolvimento das plantas.

A preparação dos extratos líquidos de sargaço foi realizada com água destilada, com e sem o processo de lavagem das macroalgas. Deste processo, resultou o substrato extrativo de macroalgas (SEM), que na realidade não se aproveita, não promovendo assim a economia circular e a sustentabilidade ambiental. Deste modo, procurou-se avaliar o efeito do SEM na germinação de sementes.

Usou-se sementes de feijão cultivar Torino (*Phaseolus vulgaris* L.) e couve cultivar Couve greleiro (*Brassica oleracea* var. *acephala* L.), aplicando os seguintes tratamentos: água destilada como controlo (C), sargaço recolhido em 2017 e 2018, com e sem o processo de lavagem (CL e SL, respetivamente). Durante o ensaio, foi estudada a taxa de emergência, a taxa de germinação e as diferenças de peso total. No final do ensaio, o comprimento da raiz, da parte aérea, e o peso fresco das plântulas foram avaliados.

No feijão, o tratamento com sargaço com lavagem de 2018 (S18CL) foi o único a apresentar germinação além do controlo. O S18CL obteve inclusive, resultados superiores no peso radicular em relação ao controlo. Na couve, apenas o sargaço com lavagem de 2017 (S17CL) apresentou uma taxa de germinação semelhante ao controlo e um peso total superior. No final, ficou claro que os SEM têm potencial para estimular a germinação das sementes, mas apenas os resíduos resultantes dos extratos que sofreram o processo da lavagem.

Também se realizaram ensaios de germinação de sementes (feijão e couve), mas com os extratos líquidos (EL) de sargaço à concentração de 1,2%. Os tratamentos utilizados foram o C, sargaço 2017 (CL e SL), sargaço 2018 (CL e SL), e o PROFERTIL (fertilizante comercial). Em ambas as espécies, verificou-se que os EL com lavagem possuem um potencial de germinação, pois apresentaram uma taxa de germinação superior aos restantes tratamentos.

Este trabalho também teve como objetivo testar a aplicação de diferentes extratos do sargaço como biofertilizantes e bioestimulantes na cultura da alface (*Lactuca sativa* L.) e avaliar o efeito destes no rendimento da cultura. Foi efetuado um ensaio em vasos aplicando diferentes extratos: sargaço de 2017 e 2018, com e sem lavagem (numa concentração de 1,2% e 2,5%); e um produto comercial equivalente (PROFERTIL). O sargaço e o PROFERTIL foram fornecidos pela ADP-Adubos de Portugal, S.A. Os parâmetros físicos analisados foram a altura, diâmetro da planta, peso fresco e seco da parte aérea e da raiz das plantas e nos parâmetros químicos foi analisada a composição nutricional das plantas.

Após a análise dos resultados verificou-se que nos parâmetros físicos não houve benefícios na utilização dos extratos, e na análise nutricional das alfaces verificou-se somente diferenças significativas, na concentração dos minerais zinco, manganês e sódio.

Palavras-chave: Macroalgas, Sargaço, Bioestimulantes, Biofertilizantes, *Lactuca sativa*.

Abstract

The “sargaço” is a mixture of seaweeds that grow on the rocks of the Portuguese coast that produce several metabolites that help in the growth and development of the plants.

The extracts were prepared with distilled water, with and without the seaweed washing process. From this process, results the extractive residues of seaweeds (SEM), which are not used, not promoting circular economy and environmental sustainability. Thus, it is expected to evaluate the effect of SEM on seed germination.

Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and kale (*Brassica oleracea* var. *acephala* L.) seeds were used applying the following treatments: distilled water as control (C), seaweed collected in 2017 and 2018, with and without the washing process (CL and SL, respectively). During the experiment, the emergence rate, the germination rate and the total weight difference, were recorded. At the end, the root and shoot length were measured as well as fresh plantlet weight.

In beans, “sargaço” 2018 with washing (S18CL) treatment was the only one to show germination beyond the control. The S18CL even obtained superior results in root weight compared to control. In kale, only “sargaço” 2017 with washing (S17CL) presented a germination rate similar to the control and a higher total weight. In the end, it became clear that SEM have the potential to stimulate seed germination, but only the residues resulting from extracts that have undergone the washing process.

Seed germination tests (beans and kale) were also made with liquid extracts (EL) of “sargaço” at the concentration of 1.2%. The treatments used were C, “sargaço” 2017 (CL and SL), “sargaço” 2018 (CL and SL), and PROFERTIL (commercial fertilizer). For both species, the liquid extracts with washing have a germination potential, as they presented a higher germination rate than the other treatments.

This study also aimed to test the application of different seaweed extracts as biofertilizers and biostimulants in lettuce (*Lactuca sativa* L.) and to evaluate their effect on the crop yield. A test was carried out on pots using different extracts: “sargaço” from 2017 and 2018, with and without washing (1,2%; 2,5%); and a commercial fertilizer (PROFERTIL). The “sargaço” and PROFERTIL were supplied by ADP- Adubos de Portugal, S.A. The physical parameters analyzed were the height, diameter of the plant, fresh and dry weight of the aerial part and root of the plants and in the chemical parameters the nutritional composition of the plants was analyzed.

After the analysis of the results it was found that in the physical parameters there were no benefits in the use of the seaweed extracts, and in the nutritional analysis of the lettuces there were also no very significant differences, except for zinc, manganese and sodium.

Keywords: Seaweeds, “Sargaço”, Biostimulants, Biofertilizers, *Lactuca sativa*.

Índice

Agradecimentos.....	v
Resumo.....	vii
Abstract.....	ix
Índice.....	xi
Lista de publicações e comunicações científicas relacionadas com esta tese.....	xiii
Lista de tabelas.....	xiv
Lista de figuras.....	xv
Lista de abreviaturas.....	xvi
1.Introdução.....	1
1.1. Histórico da utilização das algas.....	3
1.2. Sargaço.....	4
1.2.1. <i>Chondrus crispus</i>	4
1.2.2. <i>Codium</i>	5
1.2.3. <i>Gelidium corneum</i>	6
1.2.4. <i>Gigartina pistillata</i>	6
1.2.5. <i>Gracilaria gracilis</i>	7
1.2.6. <i>Laminaria ochroleuca</i>	7
1.2.7. <i>Porphyra</i>	8
1.2.8. <i>Saccharina latissima</i>	8
1.2.9. <i>Saccorhiza polyschides</i>	9
1.2.10. <i>Ulva</i>	9
1.3. Composição química das algas.....	10
1.4. Potencial dos extratos de algas na agricultura.....	12
1.5. Espécies agrícolas de elevado interesse.....	15
1.5.1. <i>Brassica oleracea</i>	15
1.5.2. <i>Phaseolus vulgaris</i>	16
1.5.3. <i>Lactuca sativa</i>	17
1.6. A importância da economia circular.....	20
1.7. Objetivos.....	21
2. Materiais e métodos.....	23
2.1. Colheita do sargaço.....	23
2.2. Preparação dos extratos.....	23
2.2.1. Análise do pH e condutividade elétrica dos extratos.....	24

2.3. Ensaio de germinação	24
2.3.1. Ensaio de germinação com os substratos extrativos de macroalgas (SEM)	24
2.3.2. Ensaio de germinação com os extratos líquidos (EL) de sargaço	25
2.4. O cultivo das alfaces	26
2.4.1. Instalação da cultura	26
2.4.2. Delineamento experimental (distribuição dos vasos)	28
2.4.3. Aplicação dos extratos.....	29
2.4.4. Controlo de infestantes e cuidados fitossanitários.....	29
2.4.6. Análises físicas durante a cultura	30
2.5. Colheita	30
2.6. Análises químicas.....	30
2.6.1. Análise do N	30
2.6.2. Análise do Cu, Zn, Mn, Fe, Ca, Mg, K, Na e P	31
2.6.3. Humidade	32
2.7. Análise estatística.....	32
3. Resultados e discussão	33
3.1. Caracterização do sargaço	33
3.2. Valores de pH e condutividade elétrica dos extratos de sargaço	33
3.3. Ensaio de germinação com os SEM.....	34
3.3.1. Taxa de emergência e germinação da couve com os SEM	34
3.3.2. Comprimento e peso fresco das plântulas de couve com os SEM	35
3.3.3. Taxa de emergência e germinação do feijão com os SEM	36
3.3.4. Comprimento e peso fresco das plântulas de feijão com os SEM	38
3.4. Ensaio de germinação com os EL	39
3.4.1. Taxa de emergência e germinação da couve com os EL.....	39
3.4.2. Comprimento e peso fresco das plântulas de couve com os EL.....	40
3.4.3. Taxa de emergência e germinação do feijão com os EL.....	41
3.4.4. Comprimento e peso fresco das plântulas de feijão com os EL.....	42
3.5. Ensaio na estufa com alfaces.....	44
3.5.1. Clima	44
3.5.2. Ensaio na estufa com alfaces (análises físicas).....	45
3.5.3 Ensaio na estufa com alfaces (análises químicas)	49
4. Conclusão	53
Bibliografia.....	55

Lista de publicações e comunicações científicas relacionadas com esta tese

Publicações

- Sousa, T., Cotas, J., Bahcevandziev, K. & Pereira, L. (2020a). Atualização científica da tradição: Revisitação científica aos métodos tradicionais de fertilização com macroalgas em Portugal. *Associação Portuguesa de Horticultura*. 136, 38-41.
- Sousa, T., Cotas, J., Bahcevandziev, K. & Pereira, L. (2020b). Effects of “sargaço” extraction residues on seed germination. *Millenium-Journal of Education, Technologies, and Health*, (13), 29-37.
- Melo, P.C.D., Collela, C.F., Sousa, T., Pacheco, D., Cotas, J., Gonçalves, A.M., Bahcevandziev, K. & Pereira, L. (2020). Seaweed-Based Products and Mushroom β -Glucan as Tomato Plant Immunological Inducers. *Vaccines*, 8(3), 524.

Comunicações

- Sousa, T., Cotas, J., Bahcevandziev, K., Pereira, L. (2020). Effects of “sargaço” extraction residues on seed germination. Congresso Nacional das Escolas Superiores Agrárias, 14 e 15 novembro 2020, Viseu, Portugal.
- Sousa, T., Cotas, J., Bahcevandziev, K., Pereira, L. (2020). Effects of “sargaço” liquid extracts as a seed germination biostimulant. Seaweed for Health Virtual Conference, 24 e 25 de agosto 2020.

Lista de tabelas

Tabela 1 - Orientação dos vasos na estufa.....	28
Tabela 2- Análise do pH e da Condutividade elétrica (CE)	33
Tabela 3- Análise do pH e da Condutividade elétrica (CE)	34
Tabela 4- Comprimento da parte aérea e raiz (mm).....	36
Tabela 5- Comprimento da parte aérea e raiz (mm).....	38
Tabela 6- Comprimento da parte aérea e raiz (mm).....	40
Tabela 7- Comprimento da parte aérea e raiz (mm).....	42
Tabela 8- Análises químicas (N, P, Mg, K, Na, Cu, Fe,	49

Lista de figuras

Figura 1- Preparação dos extratos de sargaço	23
Figura 2- Substrato extrativo de macroalgas	24
Figura 3- Dia 0 da cultura das alfaces (<i>Lactuca sativa</i>)	26
Figura 4- Vista lateral do exterior da estufa.....	28
Figura 5- Pulverização semanal das alfaces (<i>Lactuca sativa</i>) com os extratos	29
Figura 6- Remoção das folhas de alface contaminadas	29
Figura 7- Medição semanal da altura (cm) e diâmetro (cm) de cada alface.....	30
Figura 8- Taxa de emergência (%) da couve (<i>Brassica oleracea</i>)	34
Figura 9- Taxa de germinação (%) da couve (<i>Brassica oleracea</i>)	35
Figura 10- Taxa de emergência (%) do feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i>)	37
Figura 11- Taxa de germinação (%) do feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i>)	37
Figura 12- Taxa de emergência (%) da couve (<i>Brassica oleracea</i>)	39
Figura 13- Taxa de germinação (%) da couve (<i>Brassica oleracea</i>)	40
Figura 14- Taxa de emergência (%) do feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i>)	41
Figura 15- Taxa de germinação (%) do feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i>)	41
Figura 16- Temperaturas máximas e mínimas registadas.....	45
Figura 17- Diâmetro (cm) das alfaces (<i>Lactuca sativa</i>)	45
Figura 18- Altura (cm) das alfaces (<i>Lactuca sativa</i>)	46
Figura 19- Peso fresco (g) da parte aérea das alfaces (<i>Lactuca sativa</i>)	46
Figura 20- Peso seco (g) da parte aérea das alfaces (<i>Lactuca sativa</i>)	47
Figura 21- Peso fresco (g) da raiz das alfaces (<i>Lactuca sativa</i>)	47
Figura 22- Peso seco (g) da raiz das alfaces (<i>Lactuca sativa</i>)	48

Lista de abreviaturas

ADP – Adubos de Portugal, S.A.

°C – Graus Celsius;

C – Controlo;

Ca – Cálcio;

CE – Condutividade Elétrica;

CL – Com Lavagem;

cm – centímetro;

Cr – Crómio;

Cu – Cobre;

cv – Cultivar;

EL – Extrato líquido;

Fe – Ferro;

g – Gramas;

h – Horas;

INE – Instituto Nacional de Estatística;

IPMA – Instituto Português do Mar e da Atmosfera;

K – Potássio;

L – Linnaeus;

m – Metros;

MADRP – Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas;

Mg – Magnésio;

mm – Milímetros;

mS – Milisemens;

Mn – Manganês;

N – Azoto;

n – Tamanho da amostra;

Na – Sódio;

P – Fósforo;

SEM – Substrato Extrativo de Macroalgas;

SL – Sem Lavagem;

Zn – Zinco;

1. Introdução

Os oceanos são reconhecidos como um dos mais importantes recursos da humanidade com importância a nível social, económico e ecológico. A sua importância social está no transporte global e no elemento unificador dos países costeiros, a nível económico contribuem para o bem-estar humano, direta e indiretamente, e a nível ecológico, pois 71% da superfície do planeta é coberta pelos oceanos que atuam como reguladores do clima e como um vasto reservatório de CO₂. Os ambientes costeiros (estuários, zonas húmidas costeiras, leitos de algas e algas marinhas, recifes de coral e plataformas continentais) têm um valor ecologicamente elevado ao cobrirem apenas 6,3% da superfície terrestre, mas representarem 43% do valor estimado dos serviços de ecossistema a nível global (Costanza, 1999). O valor dos bens e serviços do ecossistema fornecidos pelos oceanos ganhou um novo significado e exige um esforço a nível internacional para juntar valor aos oceanos no processo político. A visão padrão de crescimento contínuo e ilimitado do consumo de material é inerentemente insustentável (Kildow & McIlgorm, 2010).

As algas marinhas são organismos fotossintéticos e uma das principais fontes de matéria orgânica nos ecossistemas aquáticos, desempenhando um papel fundamental no ciclo do carbono ao fixá-lo durante a fotossíntese (Silva *et al.*, 2019), e estão ligadas normalmente a substratos sólidos (rochosos), entre águas costeiras rasas e os 90 m de profundidade (Pereira & Correia, 2015). As algas são muito sensíveis e a sua sobrevivência, crescimento e reprodução dependem de vários fatores dependentes do clima como a temperatura, pH, salinidade, ondulação, concentração de dióxido de carbono e o fornecimento de nutrientes por “upwelling”. As algas marinhas apresentam um grande valor para o ser humano devido ao seu fornecimento de bens e serviços aos ecossistemas, que variam desde alimentos a medicamentos (Harley *et al.*, 2012). Existem cerca de 10000 espécies de macroalgas no planeta e com base na pigmentação estas são classificadas nos seguintes filos: Chlorophyta (algas verdes), Rhodophyta (algas vermelhas) e Ochrophyta, Phaeophyceae (algas castanhas) (Sangha *et al.*, 2014). Além da pigmentação, estas algas marinhas diferem em vários aspetos, como características estruturais e bioquímicas, pigmentos fotossintéticos, substâncias de reserva, composição das paredes celulares, flagelos (presença e ausência), conexões entre as células adjacentes e estrutura dos cloroplastos (Rindi *et al.*, 2012). Em Portugal, a costa é bastante abundante em algas marinhas. Existem mais de 60 espécies de macroalgas verdes, 250 de macroalgas vermelhas e mais de 100 macroalgas castanhas (Silva *et al.*, 2015).

O filo Chlorophyta pertence ao Reino Planta tendo a clorofila *a* como principal pigmento e à semelhança das plantas terrestres também têm os cloroplastos envolvidos numa dupla membrana, os tilacoides empilhados e outros pigmentos acessórios como xantofilas e carotenos. Outra particularidade das algas verdes, é que têm o amido como polissacarídeo de reserva que é depositado no interior dos plastídeos, e a maioria destas algas possui paredes celulares com matrizes de fibras de celulose (Friedl, 1997). As algas

verdes além de serem organismos abundantes e diversos nos ambientes aquáticos e em alguns habitats terrestres por todo o planeta (Robic *et al.*, 2008), desempenham um papel importantíssimo no ecossistema global desde há centenas de milhões de anos, inclusive quando a partir de um ancestral destas algas se deu a evolução para as plantas terrestres (Leliaert *et al.*, 2012).

O filo Rhodophyta (algas vermelhas) é um dos grupos mais antigos de organismos eucarióticos (com os notáveis 1,2 mil milhões de anos de idade do fóssil de *Bangiomorpha pubescens*) (Saunders & Hommersand, 2004). Este grupo de organismos conta com mais de 6135 espécies (predominantemente espécies de águas marinhas), representando grande parte da biodiversidade das florestas de algas. As Rhodophyta pertencem ao Reino Planta e atualmente estão divididas em três subfilos (Cyanidiophytina, Eurhodophytina e Proteorhodophytina) e sete classes (Cyanidiophyceae, Bangiophyceae, Compsopogonophyceae, Florideophyceae, Porphyridiophyceae, Rhodellophyceae e Stylonematophyceae) (Guiry & Guiry, 2020; Rindi *et al.*, 2012). As algas vermelhas têm características que as diferem das outras algas eucariotas porque são as únicas sem flagelos e centríolos em todo o seu ciclo de vida. Estas são geralmente pluricelulares, e possuem uma camada interna de microfibrilas de celulose e uma matriz amorfa composta por polissacarídeos e mucilagens (agar e carragenana). Os seus pigmentos fotossintéticos, clorofila *a*, ficocianina e ficoeritrina, estão armazenados em plastídeos (rodoplastos) envolvidos por duas membranas e organizados em ficobilissomas localizados na superfície dos tilacoides para capturar a energia luminosa para a clorofila *a* e a substância de reserva destas algas, ao contrário das algas verdes é o amido florideano que é depositado no citoplasma (Yoon *et al.*, 2010).

As algas castanhas são um vasto grupo de algas multicelulares da classe Phaeophyceae, filo Ochrophyta (ou Heterokontophyta), Reino Chromista. Habitam normalmente oceanos frios e temperados e estão distribuídas por todo o hemisfério Norte desde o Pacífico Norte ao Atlântico Norte (Sun *et al.*, 2014). As algas castanhas variam de espécies filamentosas como o *Ectocarpus*, a espécies mais complexas que podem atingir grandes comprimentos como os kelps gigantes da costa californiana (*Macrocystis*) (Cavalier-Smith & Chao, 2006). Atualmente existem mais de 1500 espécies conhecidas, distribuídas por cerca de 285 géneros, dos quais apenas 6 de água doce (Jia *et al.*, 2014). Os pigmentos destas algas são a clorofila *a* e clorofila *c* (vários tipos) e carotenoides (sobretudo fucoxantina), responsável pela coloração castanha (Pereira, 2015). Estas algas não possuem clorofila *b*, e a sua substância de reserva é a laminarina. A parede celular além de ter uma camada (interior) de celulose, contém clorotáninos e uma segunda camada (exterior) reforçada com ácido alginico, substância a qual, apresenta uma importância económica porque, ao ser extraída, tem uso como agente gelificante e emulsionante em várias indústrias (Maneveldt & Keats, 2003).

As algas do filo Ochrophyta também apresentam quatro membranas (duas camadas extra provenientes do retículo endoplasmático) em volta dos plastídeos, o que é indicativo de um evento de endossimbiose secundária, em que as algas verdes ou

vermelhas foram assimiladas por outros hospedeiros eucariotas, e por esta razão é que estão classificados em Reinos diferentes. Os tilacoides estão empilhados em grupos de três (lamelas) e outra característica destas algas é possuírem no estágio de esporo e gâmeta dois flagelos inseridos lateralmente, um direcionado anteriormente e o outro direcionado posteriormente. O flagelo anterior (direcionado para a frente) é do tipo “flimmer” (com uma fileira bilateral de pelos tubulares tripartidos) enquanto que o flagelo posterior (direcionado para trás) é liso (Blackwell, 2009; Jia *et al.*, 2014; Maneveldt & Keats, 2003).

1.1. Histórico da utilização das algas

As algas marinhas são usadas pelo ser humano desde os tempos mais antigos. Os antigos gregos usavam as algas marinhas como fertilizante. Os romanos também tinham como prática usar as algas como adubo, como recomendava o escritor romano L.J.M. na segunda metade do Séc. I (ano 600 d.C.), ao cobrir e adubar as raízes do repolho com algas marinhas (Battacharyya *et al.*, 2015). Os britânicos pré-romanos também aplicavam algas no solo como adubo. Apesar de se usar as algas em áreas agrícolas junto à costa, na Irlanda chegava-se a transportar as algas para os campos do interior por vários quilómetros. Na Bretanha, França, as algas castanhas eram colhidas pelos agricultores e usadas nos seus campos agrícolas e o mesmo na Argentina, mas com as algas verdes que dão à costa no verão (Chatzissavvidis & Therios, 2014).

O uso de algas marinhas como fonte de ficocolóides está registado desde 1658 no Japão, quando descobriram as propriedades de gelificação do agar extraído de *Gelidium amansii* (Rhodophyta) (Marinho-Soriano, 2017). Em 1690 a indústria de algas marinhas nos países ocidentais começou com o carbonato de sódio. Em 1875 os principais géneros de algas foram descritos por botânicos profissionais (Indergaard, 2017). Na década de 1950 a indústria do agar usou o pré-tratamento alcalino que melhorou a qualidade do gel extraído de espécies do género *Gracilaria* (Rhodophyta), até então considerada de baixa qualidade (Marinho-Soriano, 2017). Em 1952 ocorreu em Edimburgo, Escócia, o primeiro simpósio internacional de algas marinhas (Indergaard, 2017).

As algas marinhas também tiveram um papel importante nos dois maiores conflitos do Século XX. Durante a Primeira Guerra Mundial, as algas marinhas foram exploradas para fornecer potássio (para fertilizante e pólvora negra) e acetona (pólvora livre de fumo; cordite) pelos Estados Unidos. Após a guerra, apenas restou a produção de farinha a partir de algas marinhas no ocidente (Indergaard, 2017). Com o aproximar da Segunda Guerra Mundial, as algas marinhas ganharam novamente destaque ao serem fornecedoras dos materiais necessários à camuflagem de aeronaves, fábricas e outros alvos potencialmente importantes para o esforço de guerra. Foram construídas fábricas na Escócia para extrair alginato e produzir o “rayon” (fibra) para as redes de camuflagem. No entanto, as redes fracassaram porque as fibras de alginato de cálcio e berílio se degradavam e dissolviam com o clima húmido (Craigie, 2011).

Nos países orientais como a China e Japão as algas são colhidas para servirem de ingrediente numa grande variedade de pratos como “sushi”, saladas ou sopas. As principais algas marinhas com importância alimentar destes países asiáticos pertencem ao género *Undaria*, *Porphyra/Pyropia/Neopyropia* e *Laminaria* (Gupta *et al.*, 2010). Nos países ocidentais como os Estados Unidos da América, Irlanda ou França, o consumo, produção e comercialização de algas marinhas tem vindo a aumentar, embora o principal uso das algas nestes países seja como fonte de ficocolóides (alginatos, carragenana e agar) e agentes espessantes e gelificantes, também com vista à aplicação na indústria alimentar. A França foi inclusive o primeiro país europeu a regulamentar o uso de algas no consumo humano como vegetais e condimentos (Ruperez & Saura-Calixto, 2001).

1.2. Sargaço

O sargaço é um conjunto exclusivo de macroalgas marinhas, entre as quais os géneros *Chondrus*, *Codium*, *Gelidium*, *Gigartina*, *Gracilaria*, *Laminaria*, *Porphyra*, *Saccharina*, *Saccorhiza* e *Ulva*, que crescem nas rochas do litoral Minhoto (Pereira & Correia, 2015). O sargaço utilizava-se em Portugal como melhorador do solo e composto vegetal desde o Século XIV, mais particularmente nos campos agrícolas próximos do mar. Como a colheita do “sargaço” na altura era uma atividade económica bastante importante para o melhoramento do solo, o rei D. Dinis em 1309 chegou a regulamentar essa atividade comercial. A tradicional apanha do sargaço consiste na recolha, na praia ou na beira-mar, das macroalgas que se desprendem dos rochedos com o movimento das ondas e depois são espalhadas na praia para secarem. No fim são recolhidas e armazenadas em estruturas específicas (“medas” ou “palheiros”) para posteriormente serem aplicadas no solo como fertilizante nos campos agrícolas (denominados “campos de maceira”) para melhorar as condições do solo e assim evitar que este empobrecesse entre culturas. Hoje o uso de sargaço como fertilizante está restringido à zona Norte, em particular nos campos hortícolas da Zona de Póvoa de Varzim e Viana do Castelo (Pereira, 2019; Pereira & Cotas, 2019). Os extratos de sargaço estão agora a ter os primeiros estudos.

1.2.1. *Chondrus crispus*

O *Chondrus crispus* (muito conhecido por “Irish moss”; Musgo Irlandês) é uma alga vermelha que vive nas zonas intertidais e sublitorais, e está distribuída pelas costas rochosas do Atlântico Norte (oriental e ocidental) e no Pacífico Norte (Collén *et al.*, 2006). Possuem uma estipe estreita, com o talo espesso e bifurcado em cima (Johnson, 2001). A sua parede celular contém carragenana (até 74,7% do peso seco da alga) que é muito importante comercialmente como espessante, gelificante, emulsionante e estabilizante para as indústrias, no entanto não se sabe bem qual o papel ecofisiológico da carragenana nas algas (Azeredo *et al.*, 2015; Carrington *et al.*, 2001; Collén *et al.*, 2006). É uma alga perene com duas fases de vida: gametófito e tetrasporófito. A fase tetrasporófito é diploide, formada pelos carposporos diploides que depois sofrem

meiose e formam tetrasporos haploides que formam os gametófitos (dioicos) masculino e feminino. Na fase gametófita, os gametófitos masculinos libertam os gâmetas masculinos não móveis que vão fertilizar o carpogónio no gametófito feminino, formando depois os carpósporos diploides (Krueger-Hadfield *et al.*, 2011). As duas fases de vida diferem na composição dos ficocolóides, com os gametófitos a produzirem mais carragenana do tipo kappa (κ), mu (μ) e iota (ι), enquanto os tetrasporófitos produzem carragenana do tipo lambda (λ), alfa (α) e theta (θ). (Carrington *et al.*, 2001). A qualidade destas carragenanas comerciais depende de diversos fatores, tais como: as condições da cultura de algas, estação da colheita, estado de maturidade da alga, estado de saúde ou doenças que a alga tenha e o armazenamento pós-colheita. O *Chondrus crispus* é cultivado de forma a satisfazer a crescente necessidade de carragenana no mercado alimentar, cosmético e farmacêutico (Azeredo *et al.*, 2015). Esta alga possui ainda atividade antitumoral e antiviral (Liu *et al.*, 2013).

1.2.2. *Codium*

O género *Codium*, que pertencem à família das Codiaceae, são algas marinhas verde escuro que se encontram na zona intertidal. Estas zonas entre marés são ambientes agressivos, onde as algas são submetidas a imersões e emersões devido à flutuação das marés. Com isto, as algas são expostas ao ar periodicamente onde sofrem stresses ambientais como limitação de nutrientes, maior intensidade luminosa, maior flutuação da temperatura, stresse osmótico e dessecação, o que leva à formação de radicais livres e outros agentes oxidantes. No entanto, a ausência de dano oxidativo na estrutura das algas sugere que as suas células têm sistemas de defesa de proteção antioxidante (Valentão *et al.*, 2010). O *Codium* é constituído por “tubos” ramificados entrelaçados constituídos por uma medula central composta por filamentos entrelaçados incolores que terminam em extremidades mais volumosas (utrículos) (Gagnon *et al.*, 2015). São algas que são conhecidas por serem invasores dos ecossistemas marinhos por todo o planeta, com todos os efeitos ecológicos que isso implica (Lapointe *et al.*, 2005; Ortiz *et al.*, 2009). Em Portugal o *Codium tomentosum*, que é uma espécie nativa, pode ser confundido com o *Codium fragile* subsp. *fragile* que é uma espécie invasora (Pereira, 2014). Este género também tem polissacarídeos com propriedades anticoagulantes e com propriedades terapêuticas para a trombose (Matsubara *et al.*, 2000; Matsubara *et al.*, 2001). A nível nutricional apresenta um conteúdo alto de proteínas e aminoácidos essenciais (valores semelhantes a cereais como o trigo e a aveia), carboidratos e alginato e carragenana que podem atuar como uma fibra dietética. Ainda têm um baixo teor em lípidos semelhante aos cereais como o arroz e o centeio que possuem menos de 2% de gordura (Kasimala *et al.*, 2015; Ortiz *et al.*, 2009). Estes fatores todos combinados podem potenciar o valor destas algas como alimento humano e expandir no futuro o seu mercado alimentar (Valentão *et al.*, 2010).

1.2.3. *Gelidium corneum*

A *Gelidium corneum* é uma alga vermelha que está presente desde o Atlântico Norte até ao Norte de África na zona do Estreito de Gibraltar e que cresce nos patamares mediolitoral e infralitoral (Díaz *et al.*, 2019). É uma alga perene com um talo vermelho escuro, cartilaginoso e rígido (Pereira, 2009). Esta alga tem vindo a sofrer uma redução de biomassa nos últimos 20 anos devido à combinação da diminuição das horas de luz solar e o aumento significativo da altura das ondas que provoca a separação das algas ao substrato (Borja *et al.*, 2018). A *Gelidium corneum* (Rhodophyta) é conhecida pela sua elevada quantidade de agarose (tem um teor de carboidratos de agarose superior a 90%), atividade antimicrobiana e antioxidante, e um alto teor em fibras alimentares, cálcio e ferro, que permitem aplicações práticas como alimentos processados, meios de cultura e produtos farmacêuticos (Díaz *et al.*, 2019; Hong *et al.*, 2009; Ku *et al.*, 2008). O seu gel de agar é transparente, flexível e forte e é usado em farmacologia, biotecnologia, biomedicina e outras áreas específicas quando o gel tem um grau de pureza muito elevado (Lim *et al.*, 2010; Santos & Melo, 2018). Um exemplo prático das películas comestíveis que a *Gelidium corneum* proporciona são as salsichas enlatadas com estas películas que apresentam menos oxidação lipídica e prolongam assim a vida útil do produto (Ku *et al.*, 2008). Estas películas também apresentaram uma atividade antimicrobiana melhorada, quando incorporados com extratos de sementes de toranja ou de chá verde em lombos de porco durante o seu armazenamento, o que significa uma maior segurança alimentar dos alimentos, impedindo assim que as bactérias patogénicas deteriore a carne de porco e causem doenças aos seres humanos, quando consumida a carne (Hong *et al.*, 2009).

1.2.4. *Gigartina pistillata*

A *G. pistillata* é uma alga vermelha que vive nas rochas do mediolitoral e infralitoral e está distribuída pelo Nordeste Atlântico (do Sul da Irlanda à Mauritânia), Mediterrâneo, Açores e Madeira (Hommersand *et al.*, 1992; Sánchez & Sánchez, 2012). O seu talo é vermelho escuro, cartilaginoso, elástico, parcialmente achatado e com ramificações dicotómicas que normalmente alcançam um tamanho entre 0,30 a 0,60 cm (Pereira, 2009). Possui um ciclo de vida trigenético isomórfico, com as plantas masculinas a terem os gâmetas superficiais que ao fertilizar as plantas femininas, estas desenvolvem os cistocarpos que irão formar milhares de carpósporos (Sánchez & Sánchez, 2012). O crescimento desta alga é mais ativo na primavera e no verão (entre abril e agosto), no entanto a quantidade de cistocarpos é menor, enquanto que no inverno com o crescimento reduzido, os cistocarpos existem em maior quantidade. No verão as algas também são mais pesadas e mais ramificadas por causa das altas temperaturas e luminosidade, enquanto que no inverno as algas alongam mais por terem uma maior quantidade de nutrientes disponível (Amimi *et al.*, 2007; Mouradi *et al.*, 2007). As diferentes fases reprodutivas da *G. pistillata* produzem diferentes tipos de carragenanas, com a fase gametofítica a sintetizar carragenana do tipo κ e ι , enquanto a fase tetrasporófitica sintetiza mais carragenana do tipo λ (Amimi *et al.*, 2001). As carragenanas desta alga podem ser usadas como agentes naturais para alimentos

(lacticídeos, geleias e molhos), formulações farmacológicas, cosméticos, lubrificantes e compostos poliméricos para a biomedicina devido às propriedades anti-tumorais que esta carragenana possui (Cotas *et al.*, 2020).

1.2.5. *Gracilaria gracilis*

A *G. gracilis* ou em português “Cabelo-de-velha” como é conhecida, é uma alga vermelha que está em praias arenosas normalmente das zonas intertidais e sublitorais do Nordeste Atlântico desde o Sul da Noruega até Portugal (Destombe *et al.*, 2010; Steentoft & Farnharn, 1997). Esta alga é uma agarófita de consistência cartilaginosa e cor púrpura que pode atingir os 50 a 60 cm de comprimento (Pereira, 2009). Esta alga tem um ciclo de vida haplodiplonte, em que se observam facilmente os quatro estádios do desenvolvimento: gametófito masculino, gametófito feminino, cistocarpo e tetrasporófito. Os tetrasporófitos sofrem meiose, onde originam tetrasporos que irão originar os gametófitos. Estes formam os gâmetas por mitose, e depois ocorre a fertilização dos gâmetas originando o cistocarpo que se desenvolve no talo feminino. No fim o cistocarpo produz os carposporos que irão dar origem aos tetrasporófitos (Engel *et al.*, 2001). A *G. gracilis* possui um teor lipídico entre os 1,12% e 1,98%, um teor de proteína entre os 31% e 45% e um teor de carboidratos entre os 24,8% e os 34,1%. Estes carboidratos possuem vários efeitos benéficos para a saúde humana devido ao seu efeito pré-biótico, atividade antioxidante e anti-inflamatória. Esta alga apesar de ser uma fonte de multiprodutos com aplicações em diversas indústrias, é mais utilizada para a extração de agar, contudo a sobre-exploração deste recurso natural contribui para uma redução da alga na Natureza (Francavilla *et al.*, 2013).

1.2.6. *Laminaria ochroleuca*

A alga castanha *Laminaria ochroleuca* é uma espécie de clima temperado/quente, o que é incomum na distribuição geral deste género, que está distribuída de Marrocos até ao sul de Inglaterra e com populações no Mediterrâneo e nos Açores (Izquierdo *et al.*, 2002; Smale *et al.*, 2015). É uma espécie perene com vida relativamente longa, que habita zonas de maré baixa, onde pode formar povoações densas, e zonas de maior profundidade (100 m) (Roleda *et al.*, 2004). É uma espécie perene devido ao tempo do esporófito macroscópico. Nas espécies anuais, os esporófitos macroscópicos apenas são encontrados durante uma parte do ano, ao invés das espécies perenes que têm o esporófito macroscópico com uma expectativa de vida superior a um ano (Pereira *et al.*, 2011). Nesta espécie, o crescimento dos esporófitos ocorre durante as estações Inverno-Primavera. Durante o verão o crescimento da lâmina reduz, e no início de Outono o esporófito atinge a maturidade e entra em período fértil e produz os esporos, que encerram os zoósporos, visíveis no centro da lâmina (Pereira *et al.*, 2011). Esta alga ainda apresenta uma parede celular bastante complexa

quimicamente e estruturalmente, composta por polissacarídeos sulfatados e ramificados associados a proteínas (Fradinho *et al.*, 2020). A *Laminaria ochroleuca* é comestível (possui 7,49% de teor proteico, 29,47% de cinza e 0,92% de teor lipídico) e detém compostos como fucoidanas que têm propriedades antioxidantes, antimicrobianas e anti-tumorais; laminarina que inibe o crescimento de células de adenocarcinoma do cólon humano diminuindo a proliferação celular e induz a apoptose; clorotatinos e outros polissacarídeos que podem induzir a produção de citocinas ou apresentar atividade anti-inflamatória (Díaz *et al.*, 2019; Fradinho *et al.*, 2020; Sánchez-Machado *et al.*, 2004).

1.2.7. *Porphyra*

As algas do género *Porphyra* pertencem ao grupo das algas vermelhas e habitam nas zonas intertidais desde os mares tropicais ao polar (Broom *et al.*, 2002). Geralmente, são conhecidas por “Nori” e constituem uma fonte de alimento em algumas partes do globo, principalmente nos países do Leste Asiático. Também é bastante utilizada como medicamento na medicina tradicional chinesa (Kazłowska *et al.*, 2010). São de cor roxa com consistência cartilaginosa e nas suas paredes celulares têm um polissacarídeo sulfatado característico, a porfirana (Zhang *et al.*, 2003). A *Porphyra* pode-se reproduzir assexuadamente ou sexualmente. Na reprodução de forma sexuada, ocorre a formação dos gâmetas femininos e masculinos nos respetivos talos, e ao ocorrer a fertilização, forma-se o carpogónio. O carpogónio através de mitoses forma os carposporos que ao assentarem no substrato, germinam e formam novas lâminas diploides. No fim, estas lâminas formam uma estrutura denominada conchosporângio, que dá origem aos conchosporos através de meioses, que irão formar o talo haploide. Estas algas possuem um alto teor em vitaminas (nomeadamente a vitamina B12), proteínas (25%-30%), fibras alimentares, carotenoides, aminoácidos e minerais. Estudos efetuados neste género demonstram que possuem atividades antioxidantes, regulação imunológica, efeito anti-hiperglicémico, antitumoral e anticoagulante. Todas estas propriedades fitoquímicas e fito-farmacológicas tornam estas algas excelentes para o uso nutricional e medicinal, fazendo com que a sua cultura tenha o valor económico de 1,3 mil milhões de dólares anualmente (Blouin *et al.*, 2011; Cao *et al.*, 2016).

1.2.8. *Saccharina latissima*

A *Saccharina latissima* é uma alga castanha que também é conhecida pelo nome de “Sugar Kelp” devido ao sabor doce que contém por causa das elevadas quantidades de manitol (Sappati *et al.*, 2019). É uma alga grande que está distribuída nas águas frias do hemisfério Norte pela Europa, de Portugal à Noruega, e também pelo Noroeste Atlântico e Pacífico Norte. Prevê-se que com o aumento da temperatura da água devido às alterações climáticas a distribuição desta alga seja afetada, com uma mudança para Norte nos seus limites de distribuição (Moy & Christie, 2012). Esta alga habita a zona intertidal, mas também zonas mais profundas onde a luminosidade é menor, o que sugere uma flexibilidade da alga para as variações de temperatura e luz. É uma alga

perene de vida curta com um desenvolvimento sazonal. Na primeira metade do ano apresentam um período de crescimento máximo, seguido de um crescimento menor no verão. No final do outono e início de inverno, o esporófito maduro torna-se fértil e forma os esporângios (soros) que vão libertar os gametófitos na primavera. A taxa de crescimento desta alga é maior durante as estações frias do que nas estações quentes, o que leva a uma diferenciação de camadas no estipe durante as diferentes estações do ano (Handå *et al.*, 2013). Os esporófitos adultos têm normalmente uma vida útil entre os 2 e 4 anos. Esta alga é comestível e tem um teor de proteínas de 7,1%, 1,5% de azoto, um teor de cinzas variável entre os 22,85% e os 29,79%, e um teor em carboidratos de 63,1% (Sappati *et al.*, 2019; Schiener *et al.*, 2015). Esta alga possui atividades diversas atividades como anticoagulantes, antioxidantes e anti-inflamatórias, e um potencial de biorremediação em áreas de cultivo comercial IMTA por assimilar e remover os nutrientes, principalmente o azoto (Bilan *et al.*, 2010; Marinho *et al.*, 2015).

1.2.9. *Saccorhiza polyschides*

A *Saccorhiza polyschides* é uma alga marinha, pertencente ao grupo das algas castanhas, que habita nos substratos rochosos das zonas intertidais nas águas costeiras ou em recifes rochosos submarinos das zonas temperadas e polares (Fernández, 2011). Esta alga apresenta uma distribuição desde a Noruega até às águas costeiras da Península Ibérica, e é uma das algas mais abundantes desta região (Martins *et al.*, 2013). É uma alga de crescimento rápido, oportunista, com um ciclo de vida anual, onde os esporófitos crescem muito rápido durante a primavera e o verão, sofrendo uma diminuição do crescimento no outono quando começam a frutificar, sendo arracada do substrato durante as tempestades de inverno (Fernández, 2011; Silva *et al.*, 2015). É uma alga com grande importância por ser rica em polissacarídeos, principalmente em alginato, que tem aplicações no processamento de alimentos, na indústria da biotecnologia e na indústria farmacêutica (Silva *et al.*, 2015). A *S. polyschides* também tem potenciais aplicações na biossorção (acumulação de metais pesados) por ter o processo mais rápido entre várias algas o que providencia tempos de adsorção mais curtos, económicos e eficientes (Lodeiro *et al.*, 2005). Apesar desta alga possuir um menor teor proteico que as outras algas castanhas, possui um maior teor de carboidratos (Huebbe *et al.*, 2017). É um excelente alimento para a dieta humana, quer seja como produto fresco ou como um ingrediente alimentar processado, que pode ajudar a resolver problemas como a carência de minerais, particularmente Ca, K, Mg e Fe, uma vez que são boas fontes destes elementos (Garcia *et al.*, 2016; Rodrigues *et al.*, 2015).

1.2.10. *Ulva*

As algas do género *Ulva* (Chlorophyta) têm mais de 50 espécies identificadas. entre elas a *Ulva lactuca*, também chamada “alface-do-mar”. A *Ulva* é muito comum nas áreas estuarinas e a sua coloração varia do verde claro ao verde normal, dependendo se está submersa em água ou não. Suporta as variações de salinidade dos estuários devido

às marés, tem altas taxas de crescimento e contem elevados níveis de carboidratos, mais ácidos graxos, minerais e aminoácidos (Bruhn *et al.*, 2011; Tabarsa *et al.*, 2012; Yu-Qing *et al.*, 2016). Estas algas são estruturalmente simples, com apenas duas camadas celulares grossas e têm o talo em forma de folha, o que representa uma grande área superficial. A parede celular é constituída por celulose mais proteínas ligadas a polissacarídeos (Henriques *et al.*, 2017). Quimicamente, estas algas têm uma matéria seca variável entre os 9,6% e 20,4%, proteínas que variam entre os 9,5% e 27%, lípidos entre os 0,3% e 7,9%, 62% de carboidratos e um teor em fibras de 54% (hemicelulose, celulose, lignina) (Bruhn *et al.*, 2011; Yaich *et al.*, 2001; Yu-Qing *et al.*, 2016). Estes aspetos tornam estas algas excelentes para aplicações alimentares e biomédicas. Têm muitos macro e micronutrientes, e compostos bioativos que proporcionam atividade antioxidante, antimicrobiana, antiviral, antitumoral e anti-inflamatória. O seu alto teor em polissacarídeos tem aplicação em medicamentos também (Yu-Qing *et al.*, 2016).

Estas algas também são usadas em biorremediação porque a poluição por metais pesados representa um problema ambiental devido aos seus efeitos nefastos para toda a cadeia alimentar e consequentemente, o ser humano. A poluição da água por crómio (Cr) é um exemplo. O Cr³⁺ não é tóxico e é essencial para os mamíferos porque ajuda o organismo a controlar os níveis de açúcar no sangue quando presente em concentrações baixas, mas é tóxico para os peixes em concentrações na água acima de 5 mg/L. O Cr⁶⁺ é muito tóxico para muitas plantas, animais, bactérias e é cancerígeno para o ser humano (El-Sikaily *et al.*, 2007). A biossorção é um processo alternativo aos tradicionais no tratamento para a remoção dos iões metálicos de soluções aquosas (Henriques *et al.*, 2017). As algas marinhas, como a *Ulva lactuca*, constituem um adsorvente eficaz e económico para remover os iões de Cr⁶⁺, o que torna este processo favorável ao meio ambiente porque as macroalgas enquanto crescem podem remover em simultâneo os metais pesados das águas, além de reduzir a quantidade de descargas de efluentes das indústrias (El-Sikaily *et al.*, 2007).

1.3. Composição química das algas

A composição química das algas varia de acordo com a espécie, habitat, maturidade e condições ambientais (Wong & Cheung, 2000). As algas são uma excelente fonte de fibra alimentar devido ao alto teor em polissacarídeos na sua parede celular (33%-50% em peso seco da alga) não digeríveis pelo ser humano (Ruperez & Saura-Calixto, 2001). Os polissacarídeos podem ser fibras solúveis como alginatos, fucoidanas, carragenanas e exo-polissacarídeos (Raposo *et al.*, 2016). As algas são também uma excelente fonte de minerais, graças à sua capacidade de absorver substâncias inorgânicas dos meios aquáticos e armazenamento nos seus tecidos, de proteína que se encontram em elevadas quantidades principalmente nas algas vermelhas, de vitaminas e lípidos (Cofrades *et al.*, 2010; Ratana-arporn & Chirapart, 2006).

Por isto, as algas são consideradas uma fonte valiosa de compostos bioativos, pois são capazes de produzir uma grande variedade de metabólitos secundários responsáveis por atividades biológicas com potenciais aplicações industriais, incluindo na cosmética, onde os produtos naturais têm mais valor no mercado, alimentar e nutricional (Gupta *et al.*, 2010; Sanjeewa *et al.*, 2016). Compostos bioativos são metabólitos secundários que têm efeitos benéficos ou prejudiciais em organismos consoante a sua concentração. Dos cerca de 1 milhão de compostos bioativos produzidos pelos organismos terrestres e marinhos, mais de 20% mostraram propriedades antimicrobianas, antifúngicas, antiprotzoárias, anti-helmínticas, anticancerígenas, antivirais ou anti-inflamatórias (Buseti *et al.*, 2017).

De todas as macroalgas, as algas verdes são as que têm menos compostos conhecidos. Apenas se conhecem cerca de 300 metabólitos secundários e muito poucos são descobertos após cada ano. Os compostos das algas verdes são semelhantes aos das algas vermelhas, principalmente em diterpenóides e sesquiterpenóides, mas sem a extensa halogenação dos compostos que algas vermelhas têm (Maschek & Baker, 2008). As algas vermelhas são responsáveis pela produção de mais de 1500 metabólitos secundários, e produzem sobretudo derivados de isoprenóides e acetogenina, mas também derivados de aminoácidos, chiquimatos e ácidos nucleicos. As algas castanhas também produzem bastantes metabólitos secundários, mais de 1140 conhecidos, entre os quais diterpenos, clorotanimos (exclusivos das algas castanhas), e pequenas acetogeninas (Buseti *et al.*, 2017). Mais de metade dos metabólitos secundários conhecidos das algas são isoprenóides (Maschek & Baker, 2008).

As algas podem ser consumidas frescas, secas ou como ingredientes, como alginatos, agar e carragenanas (Ruperez & Saura-Calixto, 2001). O consumo destas algas na alimentação traz inúmeras vantagens ao ser humano como o crescimento e proteção da flora intestinal e os efeitos anti-hipertensivos e hipocolesterolémico ao consumir as fibras de algas, a redução do risco de aterosclerose, doenças cardíacas coronárias, doenças inflamatórias e até distúrbios comportamentais através do consumo de lípidos das algas como ácidos gordos poli-insaturados ómega-3 de cadeia longa, e a atividade antioxidante conhecida dos carotenoides, polifenóis e tocoferóis (Cofrades *et al.*, 2010; Gupta *et al.*, 2010; Ratana-arporn & Chirapart, 2006).

A carragenana é um agente gelificante que pode ser usado como emulsionante, aglutinante e estabilizante de produtos nas indústrias de processamento de alimentos, farmacêutica e cosmética (Valderrama *et al.*, 2015). Existem 3 tipos de carragenana com grande importância: kappa, iota e lambda. A kappa é mais utilizada como aditivo em alimentos e géis mais rígidos, a iota em produtos mais elásticos e a lambda é mais utilizada em laticínios com uma sensação cremosa (Ferdouse *et al.*, 2018). As carragenanas são compostas por unidades alternadas de β -D-galactopiranosose e 3,6-anidro-galactose (3,6-AG) (com diferentes graus de sulfatação) unidas por ligações α -1,3 e β -1,4-glicosídicas. O tipo de carragenana varia com os grupos de éster de sulfato que contém e 3,6-AG. Quanto mais éster de sulfato a carragenana tiver, menor será a sua força de gelificação e temperatura de solubilização. A carragenana kappa contém entre

25 a 30% de éster de sulfato, a iota entre 28 a 35% e a lambda entre 32 a 39% (Pereira, 2013; Rodríguez *et al.*, 2009). O código Europeu de aditivo da carragenana é o E407 (Featherstone, 2015).

O agar é um biopolímero constituído por agarose e agarpectina. A agarose é contêm unidades repetidas de β -D-galactopiranosose e 3,6-anidro-L-galactopiranosose (ligadas no carbono 4). A agarpectina é composta por unidades alternadas de D-galactose e L-galactose modificados com grupos sulfatos, metoxil e piruvatos na cadeia polisacáridica. O tipo, grau e padrão de substituição determina as propriedades gelificantes do agar. A diferença entre as carragenanas e o agar é se as unidades de β -D-galactose se ligam a configurações D (carragenana) ou L (agar) (Montaño *et al.*, 1999; Rodríguez *et al.*, 2009). Os géis de agar têm aplicações médicas, farmacêuticas, industriais e alimentar (Villanueva *et al.*, 2010). O número de aditivo do agar é o E406 (Featherstone, 2015).

Os alginatos são polímeros lineares compostos de unidades de ácido- β -D-manurómico e α -L-gluluronato unidos por ligações β -1,4 (Huebbe *et al.*, 2017). Os alginatos podem ser usados em sobremesas, gelados e emulsionante de bebidas. Os códigos Europeus sobre os aditivos alimentares dos alginatos são os seguintes: E400, ácido alginico; E401, alginato de sódio; E402, alginato de potássio; E403, alginato de amónio; E404, alginato de cálcio; E405, alginato de propano-1,2-diol (Featherstone, 2015).

Os clorotaninos são formados pela polimerização de monómeros de floroglucinol (1,3,5-trihidroxibenzeno) e sintetizado pela via do acetato-malonato. São compostos hidrofílicos que podem ser classificados em 4 subclasses de acordo com os meios de ligação: “fuhalols” e “phlorethols” (clorotaninos com uma ligação éter), “fucols” (uma ligação fenil), “fucophloroethols” (uma ligação éter e fenil) e os “eckols” (com uma ligação dibenzodioxina). São compostos com várias atividades de interesse farmacológico devido às suas propriedades antimicrobianas, antivirais, antidiabéticas, antioxidantes, antitumoral, antialérgica, entre outras (Buseti *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2011).

Os fucoidanas são heteropolímeros com fucose sulfatada (Huebbe *et al.*, 2017). Estes polissacarídeos além de serem constituídos por grupos éster de L-fucose e sulfato, contêm outros monossacarídeos (manose, galactose, glicose, xilose, etc.), proteínas, e grupos acetil consoante a espécie. Os fucoidanos possuem diversas atividades biológicas como atividade anticoagulante, antitrombótica, antiviral, antitumoral, anti-inflamatória, atividade redutora de lípidos no sangue, antioxidante, efeitos protetores gástricos, entre outras atividades (Li *et al.*, 2008).

1.4. Potencial dos extratos de algas na agricultura

Os extratos de algas marinhas exibem várias atividades bioestimulantes nas produções agrícolas onde são aplicados, quer no solo quer na folhagem (Chatzissavvidis & Therios, 2014). Estes induzem vários efeitos benéficos nas plantas como a germinação

e estabelecimento precoce de sementes, um melhor desempenho e rendimento das culturas, uma resistência elevada ao stresse abiótico e biótico e um maior tempo de vida útil aos produtos após a colheita (Khan *et al.*, 2009; Sousa *et al.*, 2020a). Nas frutas, hortaliças e flores, os extratos conferem um melhor vigor, um maior rendimento, uma maior absorção de nutrientes do solo, uma maior resistência a pragas e doenças, um maior tempo de vida útil às frutas e uma defesa melhor contra os stresses abióticos (Chatzissavvidis & Therios, 2014; Ramarajan *et al.*, 2012). Os extratos também podem estimular a divisão celular e os mecanismos de defesa das plantas por terem polissacarídeos (laminarina) envolvidos na síntese de poliaminas que estimulam essas atividades (Chatzissavvidis & Therios, 2014). Ao nível do solo, as algas marinhas também melhoram a estrutura deste e melhoram a sua capacidade de retenção de humidade devido aos carboidratos (López-Mosquera *et al.*, 2011; Thirumaran *et al.*, 2009a).

As algas marinhas, sendo um produto orgânico geram um maior interesse devido à restrição do uso de pesticidas e fertilizantes químicos nas leis nacionais dos vários países em todo mundo (Verkleij, 1992). A utilização dos fertilizantes químicos na União Europeia (UE) tem vindo a ser mais regulada através alterações na disponibilização no mercado destes fertilizantes como o Regulamento (UE) 2019/1009 do Parlamento Europeu e do Conselho Europeu, de 5 de junho, que estabelece regras quanto aos fertilizantes no mercado europeu. Este regulamento tem como objetivo incentivar a produção de fertilizantes em grande escala a partir de matérias-primas orgânicas ou secundárias nacionais, alinhado assim com o modelo de economia circular, transformando resíduos em nutrientes para as culturas. Por outro lado, o referido Regulamento fixa também limites harmonizados para uma série de contaminantes, tais como o cádmio, presentes nos adubos minerais. Neste sentido, as novas regras estimularão a produção e utilização de adubos orgânicos e de adubos fosfatados com baixo teor de cádmio e proporcionarão uma maior variedade de escolha aos agricultores orientados para uma agricultura mais sustentável (Regulation EU 2019/1009 of the European Parliament and of the Council, 2019). Em Portugal, decorridos 20 anos sobre a publicação do primeiro Código de Boas Práticas Agrícolas em 1997, também se tem vindo a proceder à sua revisão, pelo Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I. P., com a coordenação conjunta deste Instituto com a Direção-Geral de Agricultura e Desenvolvimento Rural, ouvida a Agência Portuguesa do Ambiente, I. P., os competentes serviços do Ministério da Agricultura, Florestas e Desenvolvimento Rural e as organizações do setor agrícola. Este código tem como objetivo auxiliar os agricultores e empresários agrícolas na tomada de medidas que visem racionalizar a prática das fertilizações e de todo um conjunto de operações e de técnicas culturais que, direta ou indiretamente, interferem na dinâmica do azoto e do fósforo nos ecossistemas agrários. Atualiza a informação sobre o impacte do azoto na agricultura, fornece informação sobre a dinâmica do fósforo e o impacte resultante da sua aplicação aos solos e efetuam-se recomendações de boas práticas agrícolas que visam a redução das perdas de azoto e de fósforo do solo. Estas medidas e técnicas culturais têm em conta a mais recente informação científica disponível no nosso país (Despacho no 1230/18 de 5 de fevereiro do Ministério do Ambiente, Florestas e Desenvolvimento Rural, 2018).

A aplicação de algas marinhas como fertilizante nas culturas tem vindo a substituir os fertilizantes químicos e a reduzir o custo de produção das culturas (Silva *et al.*, 2019; Thirumaran *et al.*, 2009b). Estes biofertilizantes são considerados superiores aos sintéticos por terem elevados níveis de matéria orgânica, macro e microelementos, vitaminas, ácidos graxos e reguladores de crescimento (Sathya *et al.*, 2010; Thirumaran *et al.*, 2009b). Os extratos líquidos de algas marinhas são aplicados na forma de *spray* foliar nas culturas de modo a alcançar uma maior produtividade (Pise & Sabale, 2010; Ramarajan *et al.*, 2012).

Estes extratos de algas marinhas contêm várias substâncias orgânicas ativas que atuam na regulação e no crescimento das plantas como citocininas, auxinas, betaínas, giberelinas, carboidratos, vitaminas, polissacarídeos, alginatos, aminoácidos e oligoelementos (Fe, Cu, Zn, Co, Mo, Mn e Ni) (Chatzissavidis & Therios, 2014; Pise & Sabale, 2010; Silva *et al.*, 2019; Thirumaran *et al.*, 2009a). Os mecanismos de ação destas substâncias das algas marinhas são complexos e ainda não se sabe ao certo porque são eficazes, mas é possível que estas substâncias em conjunto exibam uma atividade sinérgica (Khan *et al.*, 2009). Estes mecanismos só agora estão a ser estudados através da biologia molecular, metabolómica e genómica. Como se está a sequenciar os genomas de várias plantas, depois será possível observar os efeitos dos extratos das algas sobre o genoma das plantas para se compreender melhor os mecanismos de ação dos extratos (Chatzissavidis & Therios, 2014). Existem vários estudos práticos, como o uso de extratos da alga *Sargassum muticum* (Phaeophyceae) realizados a 25 °C que levaram a uma maior produção de biomassa (parte aérea) de alfaces (*Lactuca sativa*) comparativamente ao extrato realizado a 80 °C e ao controlo (sem aplicação do extrato). Nas análises químicas, o extrato da alga também levou a um aumento da concentração de macronutrientes importantes para a planta como cálcio (Ca), potássio (K) e fósforo (P) (Lopes, 2018). Noutro estudo com a aplicação do extrato de *S. muticum* a 25 °C em Pimento (*Capsicum annuum*), as plantas apresentaram melhorias nos níveis de fotossíntese e uma produção significativamente superior à dos restantes tratamentos e controlo (Nunes 2018). Miranda (1985), estudou a aplicação das algas marinhas do género *Lithothamnion* (Rhodophyta), algas calcárias usadas tipicamente para a correcção do pH do solo ou para combater a falta de cálcio no solo, e conclui que a aplicação desta alga apresentava efeitos positivos e que a sua aplicação era de facto viável para a correcção do pH do solo (Miranda, 1985). Outro exemplo prático da aplicação de um extrato aquoso e dos seus benefícios nas plantas é por exemplo o uso de *Sargassum wightii* (Phaeophyceae) que quando aplicado como *spray* foliar em *Ziziphus mauritiana* (Angiospérmica) aumentou a produtividade e qualidade dos seus frutos (Rama Rao, 1991). Existem muitos outros casos em que as aplicações foliares de extratos de algas proporcionaram benefícios às plantas, como o aumento na produção de feijão, a produção precoce de uma variedade de pepino em estufa ou o aumento do peso total do tomate de estufa (Csizinszky, 1984; Crouch & Van Staden, 1992).

Os extratos de algas marinhas são comercializados há vários anos como aditivos de fertilizantes. Alguns destes produtos comerciais disponíveis no mercado são o Maxicrop, Algifert, Goemar, Kelpak, Seaspray, Seasol, SM3, Cytex e o Seacrop (Pise & Sabale, 2010). A maioria dos extratos comerciais para aplicação na agricultura usa macroalgas castanhas como o *Ascophyllum nodosum*, *Fucus* sp., *Laminaria* sp., *Sargassum* sp., *Ecklonia maxima* e *Durvillaea* sp. (Craigie, 2011; Sangha *et al.*, 2014). Os

extratos comercializados são líquidos com cores, odor, viscosidade e conteúdo bastante diverso. Apesar dos métodos de produção dos extratos raramente serem publicados, mantendo-se como informação restrita dos proprietários, os métodos de fabrico são em geral feitos com água, ácidos ou alcalinos, ou métodos físicos para romper as paredes celulares a baixas temperaturas para obter uma suspensão de partículas finas de cor esverdeada a castanho-esverdeado que são ligeiramente ácidas (Craigie, 2011; Rodriguez-Jasso *et al.*, 2011). Como alternativa as células das paredes celulares podem ser rompidas por aparelhos de pressão elevada e os componentes citosólicos solúveis são recuperados no líquido filtrado. Os processos físicos evitam o uso de solventes orgânicos, ácidos ou alcalinos, o que os torna mais ecológicos, económicos e compatíveis com os alimentos (Craigie, 2011; Fradinho *et al.*, 2020; Godlewska *et al.*, 2016). Os métodos de extração das algas também podem ser realizados a diferentes temperaturas. Alguns estudos realizados com extratos de *Sargassum muticum* a 25 e 80 °C demonstraram nos resultados que o método realizado à temperatura ambiente foram os que obtiveram melhores resultados nas plantas, quer a nível físico como químico (Lopes, 2018; Nunes, 2018).

Outros processos alternativos são a extração de fluidos com o CO₂ como solvente, a extração por “Soxhlet” (mais antiga), ou a extração assistida por micro-ondas. A extração com o CO₂ é utilizada nas indústrias alimentares e farmacêuticas por ser um solvente não tóxico, não inflamável, barato, facilmente separável dos extratos e permite a extração dos compostos das algas sem degradação porque o processo não é efetuado a temperaturas muito elevadas. A eficiência das extrações é reduzida devido à presença da parede celular, que pode ser afetada pelo solvente utilizado, temperatura, tempo e pH. Existem vários solventes que podem ser utilizados como a acetona, etanol, metanol, butanol, éter de petróleo e diclorometano, mas o uso destes solventes encarece o processo de extração além de serem tóxicos (Cheung *et al.*, 1998; Godlewska *et al.*, 2016). Os extratos no final do processo apresentam uma cor intensa (de incolor a preto acastanhado) derivado do elevado conteúdo de polifenóis ou dos clorotanninos presentes nas algas castanhas em grande quantidade, mas também presentes nas algas vermelhas. Os extratos podem ser enriquecidos com fertilizantes e outros micronutrientes de forma a tirar proveito das propriedades quelantes naturais dos extratos de algas marinhas, que impedem a precipitação de iões metálicos (Craigie, 2011).

1.5. Espécies agrícolas de elevado interesse

1.5.1. *Brassica oleracea*

A couve (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*) é um vegetal pertencente à família Brassicaceae, um grupo taxonómico que inclui o repolho, brócolo, couve-flor, couve de Bruxelas, entre outros (Beecher, 1994; Schmidt *et al.*, 2010; Sikora & Bodziarczyk, 2012). É cultivada desde a antiguidade o que resultou numa grande variedade genética e um grande número de populações locais por todo planeta. Esta variabilidade pode ter sido

resultado das seleções e adaptações por parte do agricultor por causa das condições ecológicas locais, ou uma polinização cruzada das plantas. Esta variedade genética tem influência na morfologia da planta e nos metabolitos produzidos pela planta (Balkaya & Yanmaz, 2005; Šamec *et al.*, 2019). Em Portugal também há variedades específicas como a (1) Couve Tronchuda portuguesa (*Brassica oleracea* var. *tronchuda* Bailey syn .var. *costata* De Candolle, Couve Tronchuda); (2) couve Galega portuguesa (*B. oleracea* var. *acephala* De Candolle, Couve Galega); e (3) outras couves economicamente menos importantes, como as couves do Algarve (*B. oleracea* var. *capitata* L., Couve do Algarve ou a *B. oleracea* var. *sabauda* L., Couve Repolho-lombarda do Algarve) (Dias *et al.*, 1993).

As espécies de *Brassica* são culturas muito importantes na agricultura da Península Ibérica, principalmente as couves (*Brassica oleracea* var. *acephala*) por causa das suas folhas e botões de flores. Normalmente as folhas são para consumo humano, mas também são utilizadas para a alimentação animal. As couves são colheitas semestrais, e o consumo das suas folhas começa a partir dos 3 meses de idade (Velasco *et al.*, 2007).

A couve possui um valor nutritivo elevado devido à sua riqueza em fitoquímicos, com alta concentração de vitaminas, minerais, fibra alimentar, glicosinolatos e compostos antioxidantes (Olsen *et al.*, 2009). Também possui um elevado valor em humidade (aproximadamente 86%), o que impossibilita a sua preservação por muitos dias em condições ambientais de temperatura ambiente (Mwithiga & Olwal, 2005).

Os vegetais são alimentos importantes para uma dieta saudável e o seu consumo ajuda a prevenir certas doenças, como cancro ou doenças cardiovasculares. Estas propriedades benéficas estão associadas à presença dos fitoquímicos, como os glicosinolatos ou os flavonoides, no entanto os mecanismos exatos destes efeitos benéficos ainda estão por se descobrir (Olsen *et al.*, 2009; Schmidt *et al.*, 2010; Velasco *et al.*, 2007).

A produção da couve aumentou significativamente nos últimos anos, principalmente nos Estados Unidos, mas também na Europa e Ásia, por causa destes vegetais serem fáceis de cultivar, baratos e tolerantes a condições climáticas desfavoráveis como salinidade, temperatura e geadas (Šamec *et al.*, 2019). Uma das principais causas da inibição do crescimento da couve ou a sua morte está associada aos altos níveis de condutividade eléctrica (CE) no substrato, que pode ser causada pela presença excessiva de nutrientes, atingindo níveis tóxicos. A condutividade eléctrica é proporcional ao conteúdo total de iões, portanto, uma diminuição na CE é acompanhada por uma diminuição proporcional na quantidade total de iões disponíveis para absorção pelas raízes. No entanto, diferentes saís têm condutividades eléctricas diferentes (Brito, 1999; Domingues *et al.*, 2012; Drost, 2020; Smith *et al.*, 2011).

1.5.2. *Phaseolus vulgaris*

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma leguminosa com origem no continente americano e é cultivado um pouco por todo o globo, sendo a leguminosa

mais produzida no planeta. Em Portugal, o feijão é um alimento importante, contudo a sua produção diminuiu desde 2001, principalmente devido à redução da área cultivada, consequência da mudança dos hábitos de consumo da população portuguesa e das modificações nos sistemas de produção (Coelho *et al.*, 2009). A produção localiza-se maioritariamente no Norte, nas regiões do Entre Douro e Minho e Beira Litoral (Rodiño *et al.*, 2001). O feijão pertence à família Leguminosae, e é uma herbácea anual, com flores brancas, rosas ou roxas. Os feijoeiros são predominantemente autopolinizados, mas também pode ocorrer polinização cruzada (1% a 8%) dentro de variedades da mesma espécie, influenciadas pelo tipo de cultivar, fatores ambientais (vento e temperatura), tipos de polinizadores, distância entre variedades e factores regionais (Coelho *et al.*, 2009; Graham & Ranalli, 1997). As sementes podem ser redondas, elípticas, achatadas, mais alongadas e diversas nas cores. A germinação do feijão requer normalmente 5 a 7 dias, e surgem raízes adventícias logo de seguida que vão dominar a raiz, que não ultrapassa os 15 cm de comprimento (Graham & Ranalli, 1997). A temperatura também é um dos fatores ambientais mais importantes para a germinação de sementes, pois altas temperaturas inibem fortemente a germinação das sementes de feijão (Neto *et al.*, 2006).

O feijão para o seu desenvolvimento necessita de bastante N, P, K, S, Ca e Mg. O feijão é um mau fixador de azoto, mas graças à associação com as bactérias *Rhizobium* sp., consegue fixar o azoto nas suas raízes através dos nódulos fixadores de azoto (Graham & Ranalli, 1997; Singh *et al.*, 1991). Embora o rendimento do feijão não seja muito elevado devido à suscetibilidade a stresses bióticos e abióticos, este constitui a principal fonte de proteína em muitos países. As suas sementes têm um teor médio de 23% de proteína (Coelho *et al.*, 2009).

O feijão também possui uma grande diversidade de funções biológicas, como atividade antipatogénica, antifúngica, antiviral, antibacteriana, antitumoral e antioxidante (Cardador-Martínez *et al.*, 2002; Fang *et al.*, 2011).

1.5.3. *Lactuca sativa*

A alface (*Lactuca sativa* L.) pertence à família Asteraceae. É considerada uma hortícola muito importante entre os vegetais folhosos. É quase exclusivamente consumida como um vegetal fresco em saladas e é produzida comercialmente em vários países e também é bastante cultivada em hortas domésticas. Esta espécie é uma planta anual e autogâmica com uma raiz fina e folhas dispostas em espiral que lhe confere a forma de roseta (Křístková *et al.*, 2008). Na fase reprodutiva, o caule alonga-se e forma uma haste floral ramificada. As flores são formadas numa panícula densa composta por vários capítulos, cada um composto por um conjunto de pequenas flores amarelas, sendo o número de flores é variável. O fruto é um aquénio com 3 a 5 mm de comprimento, de cor branca, creme, castanha, cinzenta ou preta (Kim *et al.*, 2016; Křístková *et al.*, 2008). A espécie *L. sativa* é caracterizada por uma alta diversidade genética devido ao seu processo de domesticação e cultivo em diversas regiões do globo. Existem seis tipos principais de alface de acordo com o seu formato, tamanho,

textura formação da cabeça e tipo do caule: (1) alface *iceberg* (var. *capitata* L. *nidus jaggeri* Helm), (2) alface bola de manteiga (var. *capitata* L. *nidus tenerrima* Helm), (3) alface romana (var. *longifolia* Lam., var. *romana* Hort. in Bailey), (4) alface de folha (var. *acephala* Alef., syn. var. *secalina* Alef., syn. var. *crispa* L.), (5) alface aspargo (var. *angustana* Irish ex Bremer, syn. var. *asparagina* Bailey, syn. *L. angustana* Hort. In Vilm.), e a (6) alface latina (sem nome científico correspondente) (Kim *et al.*, 2016; Křístková *et al.*, 2008). A planta da alface é muito rica em água (95%), mas também apresenta bons níveis de vitaminas assim como fibras e minerais como o ferro, fósforo e o potássio. Possui um teor baixo em calorias. Também tem presente compostos bioativos, tais como carotenoides e compostos fenólicos (Kim *et al.*, 2016).

Os fertilizantes orgânicos superam os inorgânicos em termos da qualidade do solo, aparência do produto e na acumulação de nitrato. Os fertilizantes inorgânicos quando aplicados, aumentam frequentemente a condutividade elétrica do solo, e consequentemente, tem impactos negativos no crescimento da alface. A aplicação de fertilizantes nitrogenados também influencia a concentração de nitratos nas partes comestíveis da alface (folhas). O conteúdo de nutrientes nas folhas pode fornecer informações sobre a saúde das plantas (por exemplo a detecção de um déficit de nutrientes) (Liu *et al.*, 2014). Além da importância do nitrogênio para as culturas, nutrientes como o carbono, hidrogênio, oxigênio, fósforo, potássio, enxofre, cálcio, magnésio, manganês, ferro, zinco, boro, cobre e cloro também são essenciais para o crescimento e produção das plantas (Domingues *et al.*, 2012).

A alface pode ser cultivada em diferentes períodos do ano. Pode ser semeada em fevereiro ou ser plantada nos finais de março, com a colheita a realizar-se no início de maio. Também pode ser semeada em finais de abril ou plantada no início de junho, com a colheita a meados de agosto e por último pode ser semeada no início de julho, plantada a meados de agosto e ser colhida no final de setembro (Koudela & Petříková, 2008). A alface foi utilizada nesta experiência por ser um modelo de cultura e devido ao seu rápido crescimento e valor comercial que apresenta no mercado, além do impacto benéfico que proporciona na saúde humana (Delaide *et al.*, 2016; Koudela & Petříková, 2008). A alface é uma planta bastante sensível à seca, pelo que necessita de água em quantidades suficientes para não ocorrer uma deficiência hídrica. A disponibilidade da água é muito importante para o crescimento e desenvolvimento desta espécie. Os substratos com boa aeração também influenciam a planta, pois permitem uma maior difusão de oxigênio para as raízes, baixa resistência à penetração das raízes e uma maior retenção de água (Manfron *et al.*, 2005).

A alface desenvolve-se melhor com temperaturas ótimas a rondar os 23 °C de dia, e 7 °C pela noite, pelo que valores da temperatura muito inferiores ou superiores são prejudiciais à planta. Com temperaturas muito altas a alface vai ficar mais amarga e pode ficar com a cabeça solta. Com temperaturas inferiores, o crescimento é reduzido e as folhas exteriores nas alfaces mais maduras são afetadas (Smith *et al.*, 2011). A alface também é muito sensível à salinidade, que em excesso leva a um crescimento reduzido e uma menor germinação das suas sementes. Os níveis de pH e a condutividade elétrica

da cultura também são importantes (Domingues *et al.*, 2012; Drost, 2020; Smith *et al.*, 2011). Se a condutividade elétrica for demasiado elevada, levará a um decréscimo no rendimento da produção da alface. É preciso assim um equilíbrio de nutrientes para uma melhor qualidade nos produtos finais, caso contrário, com aplicações superiores aos níveis ideais (1,5 mS/cm), o produto terá uma qualidade inferior. Estes impactos negativos podem ser causados pela captação excessiva de nutrientes por parte das raízes, níveis de nutrientes que causam toxicidade, ou outros desequilíbrios na planta (Abou-Hadid *et al.*, 1995; Garibaldi *et al.*, 2012).

A produção de alface, onde se inclui a chicória, realiza-se sobretudo nas zonas temperadas do Hemisfério Norte. Os principais produtores são a China e os Estados Unidos da América. Relativamente à Europa, o país com maior produção é a Espanha, seguida pela Itália e Alemanha (FAOSTAT, 2018). Em Portugal a produção de alface é umas das principais culturas hortícolas do país, quer pela sua diversidade de variedades que possibilita a sua produção por todo território, quer pelo seu valor comercial. É cultivada principalmente ao ar livre, sob as mais diversas condições atmosféricas o que origina alterações na área de produção. Esta situação tem levado a uma maior produção em estufas. A alface é produzida sobretudo nas zonas do Douro e Minho, e do Ribatejo e Oeste do território nacional (MADRP, 2007). Segundo o Instituto Nacional de Estatística (INE), foram cultivados em Portugal 1934 hectares de alface e chicória em 2018, com uma produção de 45219 toneladas de alface e chicória, uma ligeira diminuição face a 2017 (2284 hectares de cultivo e 56345 toneladas). Na balança comercial a alface tem um peso positivo, com mais de 6000 toneladas a serem exportadas, representando um valor de mais de 9 milhões de euros. O preço anual (€/100kg) do produtor de alface tem sido algo instável ao longo dos últimos anos, e em 2018 foi de 60,68 (€/100kg) (INE, 2018).

A alface tem também uma grande propensão a pragas e doenças, que podem causar perdas significativas na cultura, o que leva também a perdas económicas ou à aplicação de pesticida. Em toda a região mediterrânea, doenças como míldio e a podridão cinzenta tendem a ser mais problemáticas no inverno, enquanto a pressão das pragas é mais significativa durante a primavera e o outono (Barrière *et al.*, 2014). As principais doenças da alface são causadas por fungos, como o míldio causado pelo *Bremia lactucae* (Chromista, Oomycota), a esclerotínia causada pela *Sclerotinia sclerotiorum* e *Sclerotinia minor* (causam a queda da alface) e a podridão causada pelo fungo *Botrytis cinerea*. Os ataques dos fungos variam consoante a estação do ano. As bactérias também afetam as culturas de alface. *Pseudomonas cichorii* é a bactéria responsável pela chamada “mancha de verniz” e a *Xanthomonas campestris* é responsável pela mancha bacteriana das folhas das alfaves. Ambas as bactérias se desenvolvem em condições húmidas e com temperaturas entre os 20 e 28 °C. A alface também está suscetível a pragas, como os pulgões (*Nasonovia ribisnigri*, *Myzus persicae*, *Aulacorthum solani*, *Macrosiphum euphorbiae* e *Hyperomyzus lactucae*) que causam danos na parte inferior das folhas, onde se alimentam, levando ao enrugamento das folhas. Além dos danos causados à planta, os pulgões também são vetores de transmissão de alguns vírus, como o vírus do mosaico da alface. As lesmas (*Deroceras*

sp. e *Arion* sp.) também causam danos às alfaces ao comer as suas folhas. A alface pode ainda ser atacado por moscas-brancas (*Trialeurodes vaporariorum*) e nematodes (*Meloidogyne* sp.), entre outras pragas (Barrière *et al.*, 2014; Chen *et al.*, 2016; Sunpapao, 2019).

1.6. A importância da economia circular

As crescentes pressões causadas pelo ser humano como a perda de biodiversidade, poluição da água, do ar e do solo e o esgotamento dos recursos naturais estão a levar aos limites os sistemas de suporte à vida na Terra e é neste âmbito que surge a economia circular como uma abordagem promissora para ajudar a reduzir as nossas pressões globais (Andersen, 2007; Bocken *et al.*, 2016; Geissdoerfer *et al.*, 2017). Existem várias definições para este conceito de economia circular, como “uma economia industrial que é restauradora ou regenerativa por intenção e design” por parte da Fundação Ellen MacArthur (MacArthur, 2013), “a realização de um fluxo de material em circuito fechado em todo o sistema económico” segundo Geng e Doberstein (2008), ou “o núcleo da economia circular é o fluxo circular fechado de materiais e o uso de matérias-primas e energia através de múltiplas fases” segundo Yuan (Yuan *et al.*, 2008). Com base nestes conceitos diferentes, pode-se dizer que a economia circular é um sistema regenerativo, no qual a entrada de recursos, o desperdício, a emissão e a retirada de energia são minimizados pela desaceleração, fecho e estreitamento de *loops* de materiais e energia através de manutenções, reparos, reutilização, remanufatura, reciclagem, utilização de energias renováveis entre outros métodos (Bocken *et al.*, 2016; Geissdoerfer *et al.*, 2017; Korhonen *et al.*, 2018). Este tópico tem vindo a ser mais estudado durante a última década, e tem como foco a economia industrial, prosperidade económica e um melhoramento da qualidade ambiental através de estratégias para a prevenção de resíduos, criação regional de empregos, eficiência de recursos e desmaterialização da economia industrial (Geissdoerfer *et al.*, 2017; Kirchherr *et al.*, 2017). A Europa e a China têm a economia circular como parte das suas estratégias futuras (Bocken *et al.*, 2016; Korhonen *et al.*, 2018). A comissão europeia planeia por exemplo aumentar a reciclagem, impedir a perda de materiais valiosos, criação de empregos e crescimento económico com novos modelos de negócios, design ecológico e simbiose industrial (European Commission, 2018). A economia circular contrasta com o atual modelo de negócios de produção linear de materiais de uso único e com o sistema industrial muito dependente dos combustíveis fósseis (Bocken *et al.*, 2016). Contudo a economia circular terá desafios pela frente, tais como a organização governamental e entre setores para os fluxos físicos de matéria e energia, os resíduos e emissões libertadas nos sistemas cíclicos ou o impacto que o conceito resíduo tem socialmente (Korhonen *et al.*, 2018).

1.7. Objetivos

Este estudo teve como objetivo avaliar os substratos extrativos de macroalgas (SEM) e os extratos líquidos (EL) de sargaço em testes de germinação com sementes de couve (*Brassica oleracea* var. *acephala*) e feijão (*Phaseolus vulgaris*) para avaliar o potencial efeito dos SEM e EL na germinação de sementes e desenvolvimento inicial da planta. O estudo com os SEM também teve o objetivo de utilizar e aproveitar os resíduos gerados, numa solução apoiada na economia circular.

Este estudo também teve o objetivo de avaliar o efeito da utilização dos diferentes extratos de macroalgas marinhas (sargaço) na produtividade e constituição química na cultura de alface (*Lactuca sativa* L.). Para este ensaio a cultura escolhida foi a alface por ser uma cultura hortícola em que o aproveitamento comercial são as folhas e porque é uma cultura de produção rápida com elevadas necessidades de azoto (N) e, por isso, todos os nutrientes têm de ser disponibilizados em pouco tempo (Lopes, 2018). Este ensaio foi realizado numa estufa na ESAC, Instituto Politécnico de Coimbra, Portugal, em parceria com a empresa ADP-Fertilizantes, S.A. e o Departamento Ciências da Vida, Faculdade Ciências e Tecnologia, Universidade de Coimbra, Portugal.

2. Materiais e métodos

2.1. Colheita do sargaço

As macroalgas foram recolhidas na praia da Apúlia, situada no concelho de Esposende, distrito de Braga, nos anos 2017 e 2018 (por Sargaceiros de uma associação na Apúlia), pela empresa ADP e posteriormente fornecidas ao laboratório MARE – Centro de Ciências do Mar e Ambiente. Esta colheita de macroalgas consiste na recolha manual do material na praia ou na beira-mar das macroalgas que se desprendem dos rochedos com o movimento das ondas.

2.2. Preparação dos extratos

Para a elaboração dos extratos de sargaço, pesou-se os diferentes grupos de algas de acordo com a sua representação na amostra total e lavou-se as macroalgas com água destilada para remover os sais, sedimentos e epífitas existentes. De seguida, cortou-se as macroalgas em pequenos pedaços e adicionou-se o conteúdo à liquidificadora (*Moulinex LM811D11*) juntamente com água destilada de modo a ter-se uma concentração de 0,12g/mL e deixa-se a trituração durante 3 min (Figura 1).



Figura 1- Preparação dos extratos de sargaço: trituração do sargaço na liquidificadora juntamente com a água destilada.

No fim os extratos são filtrados numa rede de nylon de 1 mm dobrada num funil de Büchner para um Kitasato com recurso a uma bomba de vácuo. Os extratos ficam líquidos e são armazenados a 4 °C para posteriormente serem diluídos antes de serem aplicados nas culturas. Deste processo resulta na rede de nylon o substrato extrativo de macroalgas (SEM) usados nos ensaios de germinação (Figura 2).



Figura 2- Substrato extrativo de macroalgas resultante do processo da elaboração dos extratos.

Foram elaborados extratos sem o processo de lavagem também, sendo que o restante processo foi igual. Os extratos de sargaço obtidos foram: sargaço 2017 com lavagem (S17CL), sargaço 2017 sem lavagem (S17SL), sargaço 2018 com lavagem (S18CL) e sargaço 2018 sem lavagem (S18SL).

Os extratos de macroalgas foram preparados no Laboratório de Macroalgas Marinhas, Departamento Ciências da Vida, Universidade de Coimbra nos dias 24/06/2019 e 12/09/2019.

2.2.1. Análise do pH e condutividade elétrica dos extratos

Os níveis de pH e da condutividade elétrica dos extratos de sargaço foram registados. O pH foi medido com recurso de um medidor de pH (*pH meter 3310 Jenway*) e a CE através de um equipamento portátil medidor da condutividade elétrica (*Portable conductivity meter ProfiLine Cond 3310 WTW*).

2.3. Ensaio de germinação

2.3.1. Ensaio de germinação com os substratos extrativos de macroalgas (SEM)

Neste ensaio foram utilizadas sementes de couve cv. Couve greleiro (*Brassica oleracea* var. *acephala*) e feijão cv. Torino (*Phaseolus vulgaris*) da Flora Lusitana (3060-156 Cantanhede, Portugal). As sementes foram esterilizadas à superfície num gobelet com uma solução de hipoclorito de sódio a 2% durante 1 minuto, e posteriormente, lavadas três vezes em água destilada (Rayorath *et al.*, 2008). O ensaio decorreu em placas de petri de 14 cm com as sementes de cada espécie (n=25) colocadas nos seguintes tratamentos: controlo, sargaço 2017 com lavagem, sargaço 2017 sem lavagem, sargaço 2018 com lavagem e sargaço 2018 sem lavagem. Os tratamentos consistiram em colocar o substrato extrativo de macroalgas (2 frascos de amostra de 50

ml por tratamento) de maneira a cobrir o fundo da caixa de petri para depois aplicar as sementes de cada espécie, enquanto no controlo foi aplicado algodão e por cima 1 folha de papel de filtro (*Whatman™ 10300112 Ashless Grade 589/2, 15cm, Pore Size: 4-12µm*) mais 70 mL de água destilada de modo a humedecer o papel de filtro. Depois colocou-se as sementes nos respetivos tratamentos e selou-se as caixas de petri com parafilme (*parafilm neenah, wi 54956*) para irem para a estufa (*Heraeus B5090E Inkubator*) à temperatura e luminosidade de ambiente natural.

Durante o ensaio registou-se a taxa de emergência (número de sementes emergidas / número total de sementes), a taxa de germinação (número de sementes germinadas / total de sementes) e o peso total das placas de Petri (para obter a evolução do peso das sementes). Para a taxa de emergência foi considerado o desenvolvimento do hipocótilo e para a taxa de germinação foi considerado o primeiro par de folhas (folha embrionária). No final do experimento, mediram-se o comprimento das raízes e parte aérea e o peso das plântulas frescas (Sousa *et al.*, 2020b).

O tempo limite de duração do ensaio foi de 408 h (17 dias) para avaliar a germinação / emergência das sementes.

Os ensaios decorreram nos laboratórios da ESAC entre os dias 9 de julho de 2019 e 26 de julho de 2020.

2.3.2. Ensaios de germinação com os extratos líquidos (EL) de sargaço

Neste ensaio foram utilizadas sementes de couve cv. Couve greleiro (*Brassica oleracea* var. *acephala*) e feijão cv. Torino (*Phaseolus vulgaris*) da *Flora Lusitana* (3060-156 Catanhede, Portugal). As sementes foram esterilizadas à superfície num gobelé com uma solução de hipoclorito de sódio a 2% durante 1 minuto, e posteriormente, lavadas três vezes em água destilada (Rayorath *et al.*, 2008). O ensaio decorreu em placas de petri de 14 cm com as sementes de cada espécie (n=25) colocadas nos seguintes tratamentos: controlo, sargaço 2017 com lavagem, sargaço 2017 sem lavagem, sargaço 2018 com lavagem, sargaço 2018 sem lavagem e PROFERTIL (fertilizante comercial). Nas caixas de petri foi colocado algodão e por cima 1 folha de papel de filtro (*Whatman™ 10300112 Ashless Grade 589/2, 15cm, Pore Size: 4-12µm*) mais 70 mL do respetivo extrato líquido de cada tratamento à concentração de 1,2% (diluição com água destilada a partir dos extratos líquidos brutos de sargaço) de modo a humedecer o papel de filtro, exceto no controlo que foi aplicado 70 mL de água destilada. Depois colocou-se as sementes nos respetivos tratamentos e selou-se as caixas de petri com parafilme (*parafilm neenah, wi 54956*) para irem para a estufa (*Heraeus B5090E Inkubator*) à temperatura e luminosidade de ambiente natural. Foi escolhida a concentração de 1,2%, para os tratamentos de sargaço terem a mesma concentração que o PROFERTIL, quando aplicado a baixa concentração.

Durante o ensaio registou-se a taxa de emergência (número de sementes emergidas / número total de sementes), a taxa de germinação (número de sementes germinadas / total de sementes) e o peso total das placas de Petri (para obter a evolução

do peso das sementes). Para a taxa de emergência foi considerado o desenvolvimento do hipocótilo e para a taxa de germinação foi considerado o primeiro par de folhas (folha embrionária). No final do experimento, mediram-se o comprimento das raízes e parte aérea e o peso das plântulas frescas.

O tempo limite de duração do ensaio foi de 336 h (14 dias) para avaliar a germinação / emergência das sementes.

Os ensaios decorreram nos laboratórios da ESAC entre os dias 20 de novembro de 2019 e 4 de dezembro de 2020.

2.4. O cultivo das alfaces

2.4.1. Instalação da cultura

Neste ensaio foram utilizadas plantas jovens de alface tipo alface de folha crespa (*Lactuca sativa* var. *crispa*) adquiridas na *PombalVerde Lda*, (3105-151 Louriçal – Pombal, Portugal). O ensaio foi realizado em vasos de forma a se controlar as variáveis para um melhor controlo do mesmo, no qual se colocou a mesma quantidade em cada um dos vasos de substrato profissional SIRO com pH (CaCl_2) de 5,0-6,0, granulometria fina 0-8 mm, uma condutividade elétrica de 150-200 $\mu\text{S}/\text{cm}$ e matéria orgânica acima dos 70% (*Big Bag 2,3 m³, SIRO Germinação*). Este substrato é composto por húmus de casca de pinho certificado, turfa loira de Sphagnum, Coco peat e enriquecido com adubo mineral genérico que favorece a componente nutricional na fase inicial de desenvolvimento das plantas. O substrato também possui uma fertilização mineral de NPK de 13-40-13 ($1\text{kg}/\text{m}^3$) respetivamente. A instalação da cultura foi efetuada por transplantação.

O cultivo das alfaces foi realizado no dia 26/1/2020 (Figura 3).



Figura 3- Dia 0 da cultura das alfaces (*Lactuca sativa*) em vasos na Escola Superior Agrária.

Utilizaram-se os seguintes tratamentos: controlo, sargaço 2017 com lavagem (1,2% e 2,5%), sargaço 2017 sem lavagem (1,2% e 2,5%), sargaço 2018 com lavagem (1,2% e 2,5%), sargaço 2018 sem lavagem (1,2% e 2,5%) e PROFERTIL (1,2%) (C = Controlo; F = PROFERTIL; S17CL1,2 = Sargaço 2017 com lavagem a 1,2%; S17CL2,5 = Sargaço 2017 com lavagem a 2,5%; S17SL1,2 = Sargaço 2017 sem lavagem a 1,2%; S17SL2,5 = Sargaço 2017 sem lavagem a 2,5%; S18CL1,2 = Sargaço 2018 com lavagem a 1,2%; S18CL2,5 = Sargaço 2018 com lavagem a 2,5%; S18SL1,2 = Sargaço 2018 sem lavagem a 1,2%; S18SL2,5 = Sargaço 2018 sem lavagem a 2,5%). Foram utilizadas estas concentrações de 1,2 e 2,5% por causa dos valores de condutividade elétrica (Tabela 3) não serem demasiado elevados para essas concentrações, e não prejudicarem assim o desenvolvimento da planta. O PROFERTIL (Embalagem de 5L, EP – 287 – 083, ADP FERTILIZANTES, S. A.) é constituído por 9,0% de matéria orgânica, 3,0% de óxido de potássio (K₂O), 20,0% de *Ascophyllum nodosum* (Phaeophyceae), 1,1% de manitol, 2,5% de ácido algínico, pH de 9,6 e uma condutividade elétrica de 60 mS/cm (Díptico PROFERTIL: www.adp-fertilizantes.pt/media/834160/adp_profertil_diptico_app.pdf). Este biofertilizante tem um alto rendimento devido à sinergia entre todos os compostos orgânicos que possui como macro e micronutrientes, hidratos de carbono solúveis, colóides, elicitadores, fitohormonas, fatores de crescimento anti-oxidantes aminoácidos e vitaminas. O PROFERTIL permite assim uma melhor absorção foliar, maior vigor no desenvolvimento radicular e vegetativo, melhor floração, fecundação e vingamento dos frutos, fortalecimento geral das defesas naturais, uma maior resistência a condições ambientais adversas (geada, seca) e aumento da produção e da qualidade (calibre, sabor, cor e poder de conservação).

A rega foi realizada 3 vezes por semana. No início do ensaio foi realizado um teste, regando um vaso com substrato, até começar a ocorrer escorrência de água em baixo desse vaso. Depois aguardou-se cerca de 10 minutos e determinou-se o volume de água escorrida, e pela diferença da água usada obtivemos a capacidade de retenção da água. Usámos 200 mL de água por vaso, mas ajustando a quantidade de água por rega em condição das temperaturas e perda das plantas por evapotranspiração, evitando sempre a lixiviação do substrato no vaso.

O volume dos vasos utilizados foi de 14,54 dm³ (base maior: 18 cm; base menor: 14cm; altura: 18 cm) (Khan Academy, 2019).

$$V = \frac{\pi * h}{3} * (R^2 + Rr + r^2)$$

$$V = 14,54 \text{ dm}^3$$

V- Volume;

π- Valor de Pi (3,14);

H- Altura (18 cm);

R- Base maior (18 cm);

r- Base menor (14 cm);

O ensaio foi realizado na ESAC, numa estufa coberta de plástico, não climatizada. Esta situa-se a 40°12`54.8``de latitude e 8°27`12.5``de longitude (Figura 4).



Figura 4- Vista lateral do exterior da estufa onde decorreram os ensaios na ESAC.

2.4.2. Delineamento experimental (distribuição dos vasos)

Foi estabelecido o ensaio em vasos, com 6 repetições por tratamento. O controlo não sofreu qualquer aplicação de extrato de algas, somente a água da rega. Os vasos foram distribuídos da seguinte forma (Tabela 1):

Tabela 1 - Orientação dos vasos na estufa (C= controlo, F= PROFERTIL, 17CL1,2= Sargaço 2017 com lavagem a 1,2%, 17CL2,5= Sargaço 2017 com lavagem a 2,5%, 17SL1,2= Sargaço 2017 sem lavagem a 1,2%, 17SL2,5= Sargaço 2017 sem lavagem a 2,5%, 18CL1,2= Sargaço 2018 com lavagem a 1,2%, 18CL2,5= Sargaço 2018 com a vagem a 2,5%, 18SL1,2= Sargaço 2018 sem lavagem a 1,2%, 18SL2,5= Sargaço 2018 sem lavagem a 2,5%).

C-1	F-1	C-4	F-4
C-2	F-2	C-5	F-5
C-3	F-3	C-6	F-6
17CL1,2-1	17CL2,5-1	17CL1,2-4	17CL2,5-4
17CL1,2-2	17CL2,5-2	17CL1,2-5	17CL2,5-5
17CL1,2-3	17CL2,5-3	17CL1,2-6	17CL2,5-6
17SL1,2-1	17SL2,5-1	17SL1,2-4	17SL2,5-4
17SL1,2-2	17SL2,5-2	17SL1,2-5	17SL2,5-5
17SL1,2-3	17SL2,5-3	17SL1,2-6	17SL2,5-6
18CL1,2-1	18CL2,5-1	18CL1,2-4	18CL2,5-4
18CL1,2-2	18CL2,5-2	18CL1,2-5	18CL2,5-5
18CL1,2-3	18CL2,5-3	18CL1,2-6	18CL2,5-6
18SL1,2-1	18SL2,5-1	18SL1,2-4	18SL2,5-4
18SL1,2-2	18SL2,5-2	18SL1,2-5	18SL2,5-5
18SL1,2-3	18SL2,5-3	18SL1,2-6	18SL2,5-6

2.4.3. Aplicação dos extratos

Duas semanas após o cultivo para ocorrer a adaptação das plântulas ao substrato, foram aplicados na cultura, através de uma pulverização semanal, os tratamentos de sargaço 2017 (com e sem lavagem) e sargaço 2018 (com e sem lavagem) com as seguintes diluições para cada tratamento: 1,2% e 2,5%. Também se testou o fertilizante comercial PROFERTIL à concentração de baixo volume (1,2L/hL) (Díptico PROFERTIL www.adp-fertilizantes.pt/media/834160/adp_profertil_diptico_app.pdf).

As pulverizações foram realizadas com um pulverizador (*ISOLAB Laborgerate bottle spraying 500 mL PET, 062.11.500*) e feitas de modo a não humedecer demasiado as folhas de modo a simular o que acontece nas grandes produções agrícolas (Figura 5). No controlo não se fez qualquer aplicação de extrato ou fertilizante líquido.



Figura 5- Pulverização semanal das alfaces (*Lactuca sativa*) com os extratos: A. Sargaço 2017 com lavagem a 1,2%; B. PROFERTIL.

2.4.4. Controlo de infestantes e cuidados fitossanitários

Durante o ensaio procedeu-se à manutenção da cultura através da remoção de pequenas ervas daninhas que aparecessem nos vasos das plantas para não absorverem os nutrientes do substrato. Durante a rega também se evitou molhar as folhas inferiores de forma a evitar um ambiente húmido propício a doenças.

Durante alguns dias houve condições meteorológicas desfavoráveis de chuva e grande humidade atmosférica. Devido à presença da alta humidade, removeram-se todas as folhas com indícios de fungos (Figura 6).



Figura 6- Remoção das folhas de alface contaminadas com podridão.

2.4.5. Fertilização

Para além dos extratos, foi utilizado um adubo complexo NPK com a fórmula 7-14-14 (Ca-7%; Mg-2%; S-9%) com Boro (0,02%) no dia 02/03/2020 (<https://www.adp-fertilizantes.pt/media/605694/ampor-7-14-14-481-4051-5.pdf>). Utilizou-se o adubo granulado AMPOR comercializado pela ADP em todas as plantas. Fez-se esta aplicação com o adubo porque como os vasos não tinham prato por baixo, quando se realizavam as regas, estas lixiviam o solo, empobrecendo-o em nutrientes essenciais para o desenvolvimento da planta.

2.4.6. Análises físicas durante a cultura

Durante a cultura das alfaces foi efetuado o registo uma vez por semana, da altura (cm) e diâmetro de cada planta de alface (Figura 7).



Figura 7- Medição semanal da altura (cm) e diâmetro (cm) de cada alface.

2.5. Colheita

No dia da colheita 23/03/2020, cortou-se o caule de cada alface com uma faca, separando assim a raiz da parte aérea. A parte aérea foi pesada (peso fresco) e colocada na estufa, para secar. As raízes foram lavadas 2 vezes em recipientes diferentes com água para remover todo o sedimento agarrado a esta. Passado 60 minutos pesaram-se as raízes (peso fresco) e depois colocaram-se também na estufa. O material ficou a secar durante 48h a 60°C para determinar o peso seco da parte aérea e da parte radicular.

2.6. Análises químicas

2.6.1. Análise do N

A determinação de azoto total decorreu utilizando o método de *Kjeldahl* que deteta o azoto sob a forma de amónio, nitritos, nitrato e compostos orgânicos (Bremnen, 1965; Póvoas & Barral, 1992). Neste método, a amostra é digerida com ácido sulfúrico concentrado e na presença do catalisador (*Kjeldahl Catalyst* (Cu) (6.25% in CuSO₄.5H₂O, SE 174428.1211, *PanReac AppliChem, ITW reagents*). O ácido atua sobre

os constituintes azotados orgânicos do material vegetal, transformando-os em amónio (NH_4^+), que é fixado pelo excesso de ácido, sob a forma de sulfato de amónio. A digestão da amostra ocorre em tubos especiais (tubos de *Kjeldahl*) durante 2 horas a 400 °C num digeridor (Digestion Block, Model MACRO 4000508, *JP Selecta*) colocado numa “hotte” bem ventilada, com um sistema de exaustão acoplado e ligado a uma trompa de água. Depois faz-se a destilação por arrastamento do vapor amoniacal formado na digestão, por ação de uma solução concentrada de hidróxido de sódio mais a adição de água desmineralizada, o que provoca a libertação de amoníaco, que é recebido numa solução de ácido bórico 2% na presença de um indicador misto. A destilação ocorre num destilador de *Kjeldahl* (*Kjeldahl distillation unit* UDK 129, *VELP Scientifica*). Titula-se em seguida com ácido clorídrico de título conhecido com uma microbureta automática de sensibilidade 0,01 ml. A partir da quantidade de amoníaco libertado, calcula-se o teor em azoto da amostra (Bremnen, 1965; Póvoas & Barral, 1992).

$$N (\%) = \frac{[HCl] * (V_{amostra} - V_{branco}) * 0,014 * 100}{m_{amostra}}$$

N (%)= teor em azoto (% m/m);

[HCl]= Normalidade da solução de HCl;

$V_{amostra}$ = volume de HCl gasto na titulação da amostra (ml);

V_{branco} = volume de HCl gasto na titulação do branco (ml);

0,014= valor (g) de N que reage com 1 ml de HCl 1 mol dm^{-3} .

2.6.2. Análise do Cu, Zn, Mn, Fe, Ca, Mg, K, Na e P

Esta análise foi feita seguindo a metodologia descrita por Ribas *et al.*, (1998). Pesou-se 0,500 g da amostra para um cadinho de quartzo de 50 ml e colocou-se na mufla (Forno industrial 650 °C, LAB 20, *INDUZIR*) a uma temperatura de 500 °C durante 14 horas. Após o arrefecimento dos cadinhos, adicionou-se 5 ml de HCl 20%, colocou-se um vidro de relógio a cobrir o cadinho com a concavidade voltada para cima e levou-se os cadinhos ao banho-maria (*Memmert*) a 100 °C durante 30 minutos, para dissolver os sais. Depois filtra-se para balões volumétricos de 50 ml, com funis e filtros de papel (*Flat filter quantitatie analysis*, diam. 150 mm, ref. A1506600, *Prat Dumas*) e lava-se com água desmineralizada para se arrastar bem os cloretos. Na solução mãe quantificou-se diretamente os teores de Cu, Zn, Mn e Fe por espectrofotometria de absorção atómica (*PinAAcle 900T Atomic Absorption Spectrometer*, *PerkinElmer*), após a calibração das respetivas curvas padrão. Para quantificar o Ca, Mg, K e Na mediu-se 2,5 ml da solução mãe para balões volumétricos de 25 ml (diluição 1:10), e juntou-se 2,5 ml de cloreto de estrôncio 0,75%. Aferiu-se com água desmineralizada e homogeneizou-se o conteúdo do balão volumétrico. Por fim os teores de Ca, Mg, K e NA são quantificados por espectrofotometria de absorção atómica, após a calibração das respetivas curva padrão. Para quantificar o P pipetou-se 5 ml da solução-mãe para balões volumétricos de 50 ml e juntou-se 10 ml da solução de molibdato-vanadato de amónio em meio nítrico e

acertou-se o volume com água destilada. No equipamento de espectrofotometria de absorção molecular (*Pye-Unicam SP6-350 visible spectrophotometer.*), efetuou-se as leituras da curva de calibração do fósforo e das amostras numa absorvância de 470 nm (Lucas & Sequeira, 1976; Ribas *et al.*, 1998).

2.6.3. Humidade

A metodologia utilizada para esta análise é a descrita por Póvoas & Barral (1992). A amostra foi seca a 105 °C durante 24h numa estufa (*Memmert*, mod. UFB 500) com ventilação forçada de ar, até peso constante. O teor de humidade foi determinado através da perda de massa a 105 °C e o resultado expresso em percentagem mássica ((NP 84, 1965); Póvoas & Barral, 1992).

$$H = \frac{m_2 - m_3}{m_2 - m_1} * 100$$

H= teor em humidade (g g⁻¹);

m1= massa do recipiente seco a 105 °C (g);

m2= massa do recipiente e da amostra antes da secagem (g);

m3= massa do recipiente e da amostra seca a 105 °C (g).

2.7. Análise estatística

Após a obtenção dos dados, estes foram avaliados através da análise de variância com 1 fator (*one-way ANOVA*), seguido do teste de Tukey para avaliar diferenças significativas ($p < 0,05$). Alguns dados foram tratados com o *T-test*, seguidos do *F-test* para avaliar o significado estatístico (quando apenas comparado dois tratamentos). As diferenças estatísticas significativas foram consideradas com o valor de 5%. Os testes estatísticos decorreram no *software GraphPad Prism* versão 6.00 para *Windows*, *GraphPad Software*, La Jolla California USA, www.graphpad.com.

3. Resultados e discussão

3.1. Caracterização do sargaço

A constituição do Sargaço de 2017 difere do Sargaço 2018. Esta diferença é causada pelas variações da temperatura, clima, salinidade, ondulação, concentração de dióxido de carbono, pH e o fornecimento de nutrientes por “upwelling” (Harley *et al.*, 2012).

O Sargaço 2017 apresenta 1,43% de algas verdes (*Codium sp.*, *Ulva sp.*), 57,45% de algas castanhas (*Cystoseira baccata*, *Fucus sp.*, *Laminaria ochroleuca*, *Saccharina latissima*, *Saccorhiza polyschides*), 33,11% de algas musgo vermelho (*Gelidium corneum*) e 8,01% de algas vermelhas (*Ahnfeltia plicata*, *Ahnfeltiopsis devoniensis*, *Caliblepharis sp.*, *Chondrus crispus*, *Dilsea carnosa*, *Gigartina pistillata*, *Grateloupia turuturu*, *Mastocarpus stellatus*, *Plocamium cartilagineum*).

O Sargaço 2018 apresenta 5,19% de algas verdes (*Codium sp.*, *Ulva sp.*), 80,88% de algas castanhas (*Cystoseira baccata*, *Fucus sp.*, *Laminaria ochroleuca*, *Saccharina latissima*, *Saccorhiza polyschides*), 3,43% de algas musgo vermelho (*Gelidium corneum*) e por último 10,50% de algas vermelhas (*Ahnfeltia plicata*, *Ahnfeltiopsis devoniensis*, *Caliblepharis sp.*, *Chondrus crispus*, *Dilsea carnosa*, *Gigartina pistillata*, *Gracilaria gracilis*, *Grateloupia turuturu*, *Mastocarpus stellatus*, *Plocamium cartilagineum*, *Porphyra sp.*).

A caracterização do sargaço foi realizada pelo Professor Doutor Leonel Pereira, visualmente com o auxílio de uma lupa e do Guia Ilustrado das Macroalgas (Pereira, 2009).

3.2. Valores de pH e condutividade elétrica dos extratos de sargaço

Os valores de pH e a condutividade elétrica do SEM na fase líquida bruta das preparações do extrato foram registados. Os extratos sem o processo de lavagem, obtidos em diferentes anos (2017 e 2018), apresentaram valores semelhantes de pH (6,7 e 6,8) e CE (30,2 e 24,4), respetivamente. Quando a lavagem foi aplicada, os valores, do mesmo ano, foram menores, exceto o pH nas amostras de 2017 (S17CL), onde o pH foi 7 (Tabela 2):

Tabela 2- Análise do pH e da Condutividade elétrica (CE) da fase líquida resultante da extração da fase líquida bruta do sargaço.

Extratos	pH (21°C)	CE (mS/cm) (21°C)
S17CL	7,0	11,68
S17SL	6,7	30,2
S18CL	6,2	4,98
S18SL	6,8	24,4

Os valores do pH e da condutividade elétrica dos extratos de sargaço diluídos (1,2% e 2,5%) e do PROFERTIL (1,2%), usados no ensaio do cultivo das alfaces e no ensaio

de germinação com os EL (apenas as concentrações de 1,2% neste último), também foram verificados (Tabela 3). Verificou-se que os extratos de sargaço diluídos possuem um pH entre o 6,5-6,6 o que é excelente para a cultura e valores de condutividade elétrica abaixo dos 1,04 mS/cm. O PROFERTIL registou um valor mais elevado de pH (9,0) e de CE (1,34 mS/cm).

Tabela 3- Análise do pH e da Condutividade elétrica (CE) dos extratos de sargaço a concentrações de 1,2% e 2,5% e PROFERTIL a 1,2%.

Amostra	pH (21°C)	CE (mS/cm) (21 °C)
S17CL 1,2%	6,6	0,28 mS/cm
S17SL 1,2%	6,5	0,56 mS/cm
S18CL 1,2%	6,6	0,18 mS/cm
S18SL 1,2%	6,6	0,47 mS/cm
S17CL 2,5%	6,6	0,46 mS/cm
S17SL 2,5%	6,6	1,04 mS/cm
S18CL 2,5%	6,5	0,25 mS/cm
S18SL 2,5%	6,6	0,85 mS/cm
Profertil 1,2%	9,0	1,34 mS/cm

Estes valores de condutividade elétrica estão perto dos valores ideais para a alface. Caso a CE fosse superior nos extratos de sargaço, a produção da alface (peso) seria menor (Abou-Hadid *et al.*, 1995; Samarakoon *et al.*, 2006).

3.3. Ensaio de germinação com os SEM

3.3.1. Taxa de emergência e germinação da couve com os SEM

O controlo apresentou ao longo do ensaio a melhor taxa de emergência, atingindo a emergência total (100%) às 72h do ensaio (Figura 8). O S17CL foi o melhor dos tratamentos com uma taxa de emergência de 76% e no S18CL o valor foi de 4%. Nas sementes tratadas com o sargaço sem lavagem não foi observada a emergência.

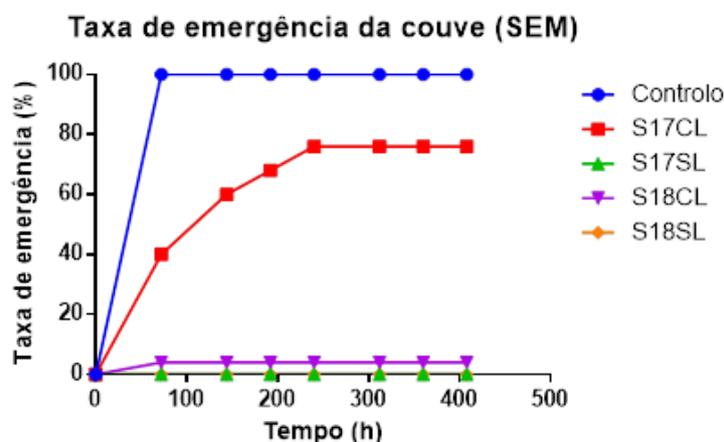


Figura 8- Taxa de emergência (%) da couve (*Brassica oleracea*) com os tratamentos do SEM durante 408 h (azul - Controlo; vermelho - S17CL; verde - S17SL; roxo - S18CL; laranja - S18SL).

Na germinação, o controlo obteve a melhor taxa de germinação no final do ensaio (80%), seguido do S17CL que obteve uma germinação de 64%. A germinação ocorreu após 192 h decorridas no ensaio (Figura 9). Os tratamentos sem lavagem (S17SL e S18SL) tiveram uma germinação nula, e o S18CL teve uma germinação de 4%, apenas 240 horas após o início do ensaio.

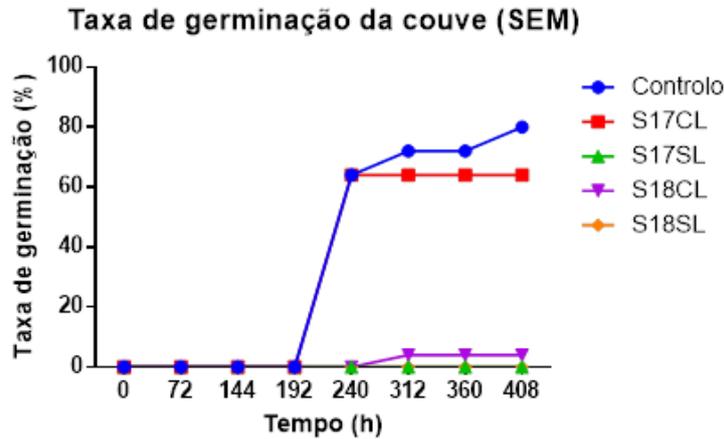


Figura 9- Taxa de germinação (%) da couve (*Brassica oleracea*) com os tratamentos do SEM durante 408 h (azul - Controlo; vermelho - S17CL; verde - S17SL; roxo - S18CL; laranja - S18SL).

Verificou-se assim que alguns dos extratos de sargaço tiveram influência na emergência e germinação das sementes de couve. A falta de germinação que ocorreu nas sementes de couve com os tratamentos dos SEM sem lavagem é possivelmente devido aos elevados valores de condutividade elétrica (S17SL: 30,2 mS/cm; S18SL: 24,4 mS/cm) que as respetivas fases líquidas apresentam (extrato em bruto). Nos tratamentos com o SEM com lavagem, em que a condutividade elétrica é mais baixa (S17CL: 11,68 mS/cm; S18CL: 4,98 mS/cm), a taxa de germinação foi maior. Os valores de pH, como se encontram muito próximos do valor neutro (7), não tiveram influência sobre o ensaio.

O sargaço de 2017 e 2018 reagiram de maneiras diferentes porque o sargaço de 2017 foi lavado pela chuva durante mais tempo que o sargaço de 2018 que tinha sido recolhido mais recentemente, além das diferenças na composição que muda a cada ano.

3.3.2. Comprimento e peso fresco das plântulas de couve com os SEM

Na Tabela 4, estão apresentados os valores do comprimento da parte aérea e da raiz, respetivamente, das plântulas de couve no final do ensaio (408h).

Uso do “Sargaço” como Bioestimulante e Biofertilizante Natural

Tabela 4- Comprimento da parte aérea e raiz (mm) e peso fresco da parte aérea e raiz (g) das sementes de couve (*Brassica oleracea* var. *acephala*) com os vários tratamentos de SEM. Os Valores das medições estão expressos em média \pm erro padrão (n = 25). Na mesma linha, valores com a mesma letra não são significativamente diferentes (teste de Tukey, $p < 0,05$). O S18CL não foi analisado estatisticamente para estes parâmetros.

	Controlo	S17CL	S17SL	S18CL	S18SL
Comprimento da parte aérea (mm)	47.48 \pm 19,75	45.00 \pm 17,12	-	12.00	-
Comprimento da raiz (mm)	51.40 \pm 19,32 ^a	9.79 \pm 4,77 ^b	-	6.00	-
Peso fresco da parte aérea (g)	0.00200 \pm 0,0014 ^a	0.00970 \pm 0,011 ^b	-	0.00100	-
Peso fresco da raiz (g)	0.000584 \pm 0,00022	0.000495 \pm 0,0001	-	0.000500	-

No comprimento da parte aérea das plântulas (Tabela 4), o controlo e o S17CL apresentaram comprimentos bastante semelhantes (47,48 mm e 45,00 mm, respetivamente). Não houve diferenças significativas entre estes dois tratamentos neste parâmetro. No comprimento da raiz (Tabela 4) das plântulas de couve, o controlo (51,4 mm) obteve um valor cerca de cinco vezes superior ao do S17CL (9,8 mm). Este atraso no comprimento das raízes nos tratamentos do S17CL em relação ao controlo pode-se dever aos valores da CE do S17CL (11,68 mS/cm). Para este parâmetro o resultado foi significativamente diferente ($p < 0,0001$) entre o controlo e o S17CL. O S18CL não foi incluído na análise estatística por apenas 1 semente ter germinado.

No peso fresco da parte aérea da couve (Tabela 4), o tratamento S17CL obteve os valores mais pesados (C= 0.00200 g, S17CL= 0.00970 g), apesar de terem tido comprimentos similares, com o controlo a apresentar uma diferença estatística do S17CL ($p = 0,0018$). É de notar que este melhoramento de peso no tratamento do S17CL levou a um melhor vigor da plântula, o que pode resultar num aumento de sucesso da cultura. Para o peso fresco das raízes das plântulas de couve, ambos os tratamentos obtiveram resultados semelhantes (C= 0.000584 g, S17CL= 0.000495 g), apesar do controlo ter as raízes cinco vezes mais compridas que o S17CL. O controlo não apresentou uma diferença significativa em comparação ao tratamento do sargaço 2017 com lavagem.

3.3.3. Taxa de emergência e germinação do feijão com os SEM

No final do ensaio, todas os tratamentos demonstraram uma taxa de emergência acima dos 60% para as sementes do feijão. Os tratamentos demonstraram valores idênticos ao do controlo (C = 84%; S17CL = 80%; S17SL = 84%; S18CL = 80%), exopto o tratamento com o sargaço 2018 sem lavagem que apresentou a menor taxa de emergência (64%) (Figura 10).

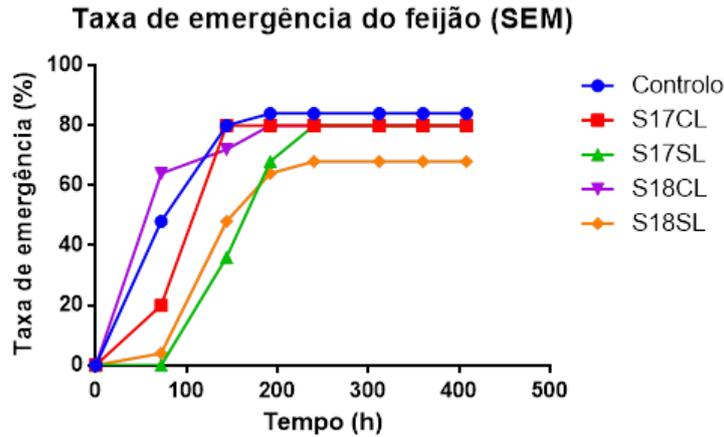


Figura 10- Taxa de emergência (%) do feijão (*Phaseolus vulgaris*) com os tratamentos do SEM durante 408h (azul - Controlo; vermelho - S17CL; verde - S17SL; roxo - S18CL; laranja - S18SL).

Durante o tempo de realização do ensaio é possível observar que os tratamentos obtiveram um desenvolvimento linear idêntico ao controlo, que estabilizou por volta das 192h. A emergência do tratamento S17CL (144h) estabilizou mais cedo que o controlo, embora a taxa de emergência tenha sido menor. O tempo de estabilização para os restantes tratamentos foi de 360 h para o S17SL, 192h para o S18CL e 240 h para o tratamento do S18SL (Figura 10). A estabilização da taxa de emergência nas sementes de feijão com os SEM com lavagem provou ser mais rápida que os tratamentos sem lavagem. Em relação à couve, as sementes de feijão com os tratamentos com SEM estabilizaram mais rápido do que as sementes de couve, adaptando-se melhor à EC.

Na germinação, os tratamentos sem lavagem (S17SL e S18SL) e o S17CL não apresentaram qualquer germinação. A germinação começou a decorrer 144h após o início do de ensaio (controlo). Verificou-se que os extratos sem lavagem não possuem um potencial de germinação para as sementes de feijão, contudo o S18CL que apresentou resultados positivos 312h após início do ensaio (Figura 11). O tratamento S18CL foi o único (32%), além do controlo que apresentou um melhor resultado (60%)

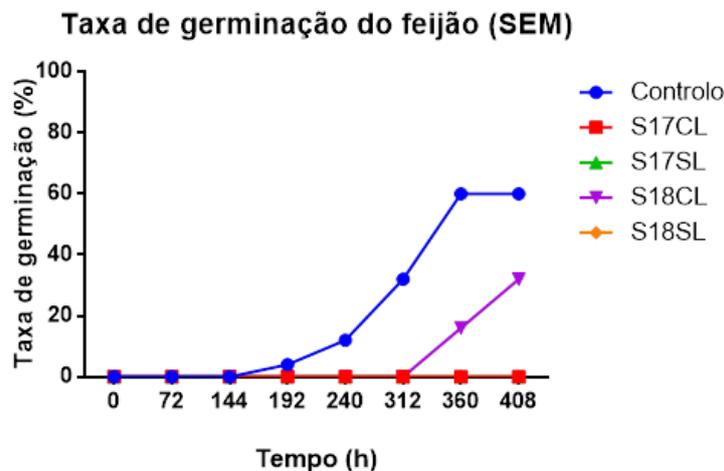


Figura 11- Taxa de germinação (%) do feijão (*Phaseolus vulgaris*) com os tratamentos do SEM durante 408h (azul - Controlo; vermelho - S17CL; verde - S17SL; roxo - S18CL; laranja - S18SL).

de germinação das sementes. Esta baixa taxa de germinação (60%) é considerada não interessante para comercialização das sementes.

A falta de germinação ocorrida nas sementes de feijão com os tratamentos dos SEM, principalmente nos tratamentos sem lavagem, deve-se provavelmente à elevada CE que as respectivas fases líquidas apresentam (S17SL: 30,2 mS/cm; S18SL: 24,4 mS/cm) (extrato em bruto). O tratamento do SEM com lavagem de 2017 também não apresentou qualquer germinação com uma CE de 11,68 mS/cm. O tratamento de 2018 com lavagem, que possui a menor CE (S18CL: 4,98 mS/cm), foi o único a apresentar germinação nas sementes. Os valores de pH como se encontram muito próximos do valor neutro (7), não influenciaram o ensaio.

3.3.4. Comprimento e peso fresco das plântulas de feijão com os SEM

Na Tabela 5, estão apresentados os valores do comprimento da parte aérea e da raiz, respetivamente, das plântulas de feijão no final do ensaio (408h).

Tabela 5- Comprimento da parte aérea e raiz (mm) e peso fresco da parte aérea e raiz (g) das sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris*) com os vários tratamentos de SEM. Os Valores das medições estão expressos em média \pm erro padrão (n = 25). Na mesma linha, valores com a mesma letra não são significativamente diferentes (teste de Tukey, p <0,05).

	Controlo	S17CL	S17SL	S18CL	S18SL
<i>Comprimento da parte aérea (mm)</i>	101.5 \pm 50,52 ^a	15.57 \pm 5,37 ^b	-	61.00 \pm 23,03 ^c	-
<i>Comprimento da raiz (mm)</i>	73.17 \pm 45,30 ^a	63.80 \pm 31,04 ^a	28.52 \pm 7,31 ^b	36.10 \pm 11,41 ^b	12.94 \pm 5,99 ^b
<i>Peso fresco da parte aérea (g)</i>	1.469 \pm 0,55 ^a	0.319 \pm 0,14 ^b	-	0.780 \pm 0,32 ^c	-
<i>Peso fresco da raiz (g)</i>	0.035 \pm 0,035	0.140 \pm 0,069	0.11 \pm 0,033	0.299 \pm 0,12 ^a	0.132 \pm 0,16

Embora alguns tratamentos (S17CL, S17SL, S18SL) não tenham demonstrado germinação (1^o par de folhas), as sementes chegaram a desenvolver a parte aérea. No comprimento da parte aérea (Tabela 5), o controlo apresentou o maior valor (C = 101,5 mm; S17CL = 15,57 mm; S18CL = 61,00 mm). Neste parâmetro, os 3 tratamentos apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre si. No comprimento da raiz (Tabela 5) das plântulas de feijão, o controlo obteve de novo o valor mais elevado face aos restantes tratamentos (C= 73.17 mm, S17CL= 63.80 mm, S17SL= 28.52 mm, S18CL= 36.10 mm, S18SL= 12.94 mm). O controlo apresentou diferenças estatisticamente significativas em relação aos tratamentos sem lavagem (S17SL e S18SL) e ao S18CL.

No peso fresco da parte aérea (Tabela 5), o controlo teve os valores mais elevados (C = 1.469 g, S17CL = 0.319 g, S18CL = 0.780 g) em comparação com os outros tratamentos. As amostras foram estatisticamente diferentes entre si. Para o peso fresco das raízes, os tratamentos de sorgo com lavagem obtiveram melhores resultados que

o controlo e os tratamentos sem lavagem (C= 0.035 g, S17CL= 0.140 g, S17SL= 0.114 g, S18CL= 0.299 g, S18SL= 0.132 g). As raízes no tratamento do controlo apresentam este baixo peso porque já começavam a apresentar algum decaimento face à falta de nutrientes. Como germinou muita semente no controlo, os nutrientes esgotaram-se mais rápido. Neste teste, o controlo só apresentou diferenças para o tratamento de S18CL. Este resultado no peso da raiz do S18CL demonstra uma melhoria na captação de nutrientes e de água por parte da raiz, tornando a planta mais resistente no geral (Sousa *et al.*, 2020b).

3.4. Ensaio de germinação com os EL

3.4.1. Taxa de emergência e germinação da couve com os EL

Na Figura 12 e 13, estão apresentados os valores da taxa de emergência e germinação, respetivamente, das sementes de couve durante o ensaio com os EL à concentração de 1,2%.

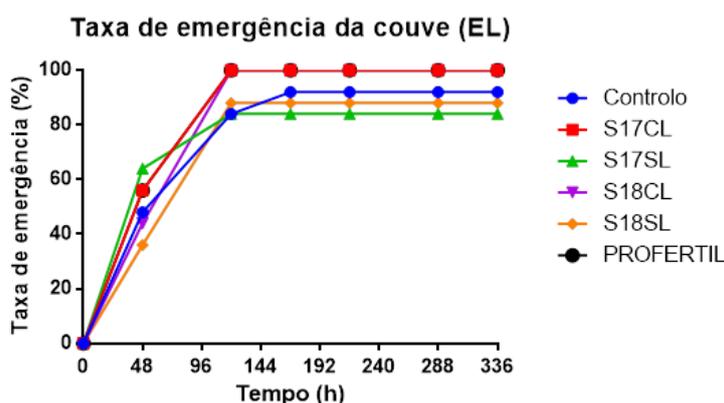


Figura 12- Taxa de emergência (%) da couve (*Brassica oleracea*) com os tratamentos dos EL de sargaço durante 336h (azul - Controlo; vermelho - S17CL 1,2%; verde - S17SL 1,2%; roxo - S18CL 1,2%; laranja - S18SL 1,2%; preto – PROFERTIL 1,2%).

Todos os tratamentos apresentaram uma emergência semelhante ao longo do ensaio, contudo apenas os extratos com lavagem (S17CL e S18CL) e o PROFERTIL apresentaram uma emergência de 100%. O controlo teve uma emergência de 92% e os extratos sem lavagem obtiveram a emergência mais baixa (S17SL =84%, S18SL =88%).

Na germinação, os tratamentos do sargaço com lavagem e o PROFERTIL apresentaram uma germinação total (100%) igual aos dados relativos à emergência e os tratamentos sem lavagem apresentaram uma menor germinação que o controlo (C =92%, S17SL =84%, S18SL =80%). A germinação ocorreu após 120h decorridas da experiência e manteve-se sem alterações até ao final do ensaio. Através destes

resultados é possível verificar que os extratos líquidos de sargaço com lavagem à concentração de 1,2% demonstram potencial na germinação de sementes.

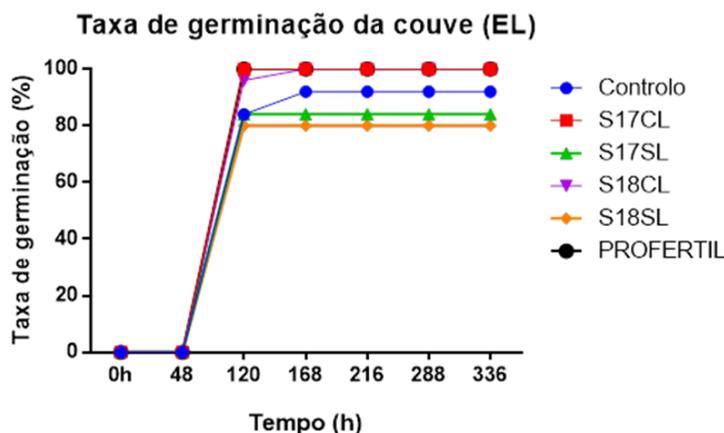


Figura 13- Taxa de germinação (%) da couve (*Brassica oleracea*) com os tratamentos dos EL de sargaço durante 336h (azul - Controlo; vermelho - S17CL 1,2%; verde - S17SL 1,2%; roxo - S18CL 1,2%; laranja - S18SL 1,2%; preto – PROFERTIL 1,2%).

3.4.2. Comprimento e peso fresco das plântulas de couve com os EL

Na Tabela 6, estão apresentados os valores do comprimento da parte aérea e da raiz, respetivamente, das plântulas de couve no final do ensaio que durou 336 h.

Tabela 6- Comprimento da parte aérea e raiz (mm) e peso fresco da parte aérea e raiz (g) das sementes de couve (*Brassica oleracea* var. *acephala*) com os vários tratamentos de EL a 1,2%. Os Valores das medições estão expressos em média \pm erro padrão (n = 25). Na mesma linha, valores com a mesma letra não são significativamente diferentes (teste de Tukey, p <0,05).

	Controlo	S17CL	S17SL	S18CL	S18SL	PROFERTIL
Comprimento da parte aérea (mm)	53,39 \pm 9,74 ^a	53,64 \pm 13,28 ^{abc}	62,33 \pm 13,54 ^a	50,6 \pm 14,88 ^a	69,36 \pm 18,20 ^{bc}	68,00 \pm 16,07 ^c
Comprimento da raiz (mm)	77,13 \pm 24,14 ^a	76,64 \pm 18,47 ^a	72,67 \pm 21,02 ^{ab}	54,3 \pm 28,66 ^b	71,73 \pm 29,15 ^{ab}	62,04 \pm 23,26 ^{ab}
Peso fresco da parte aérea (g)	0,0214 \pm 0,0055	0,0259 \pm 0,0086	0,0541 \pm 0,066	0,023 \pm 0,0073	0,0577 \pm 0,094	0,0315 \pm 0,013
Peso fresco da raiz (g)	0,0006 \pm 0,0004 ^{ab}	0,001 \pm 0,00096 ^{ab}	0,0008 \pm 0,0004 ^a	0,002 \pm 0,0004 ^b	0,0005 \pm 0,0004 ^a	0,0014 \pm 0,0007 ^b

No comprimento da parte aérea (Tabela 6), foram os extratos sem lavagem, juntamente com o PROFERTIL (P) a apresentarem os maiores valores (S17SL= 62,33 mm; S18CL= 69,36 mm; P= 68,00 mm). Apesar da menor germinação verificada nos extratos sem lavagem, estes apresentaram um maior desenvolvimento em relação aos extratos com lavagem. Os tratamentos do S18SL e PROFERTIL apresentaram uma diferença estatística significativa em relação ao controlo para este parâmetro. Em relação ao comprimento das raízes das plântulas (Tabela 6), os resultados foram semelhantes exceto para os tratamentos do S18CL e do PROFERTIL que apresentaram um valor inferior aos demais (S18CL= 0,002 mm, P= 62,04 mm), contudo no teste estatístico ANOVA, apenas o S18CL se revelou estatisticamente diferente do controlo.

Para o peso fresco da parte aérea (Tabela 6), os tratamentos com o maior comprimento detiveram também o maior peso (S17SL =0.0541 g, S18SL =0.0577 g, PROFERTIL = 0,0315 g). As amostras não tiveram uma diferença estatística entre si. No peso fresco das raízes (Tabela 6), o S18CL e Profertil apresentaram os maiores pesos (C =0.0006 g, S17CL =0,001 g, S17SL =0,0008 g, S18CL =0,002 g, S18SL =0,0005 g, PROFERTIL= 0,0014 g) entre os tratamentos e apresentaram inclusive uma diferença significativa em relação ao controlo. Apesar das raízes dos tratamentos do S18CL e Profertil apresentarem comprimentos inferiores, tiveram os maiores pesos. Isto pode ser devido à planta estar satisfeita a nível de nutrientes e ao acumular mais nutrientes, a planta não necessita de prolongar demasiado a raiz.

Os tratamentos com os EL de sargaço a 1,2% foram superiores no global aos tratamentos com SEM para a germinação das sementes de couve. A taxa de emergência e germinação foi superior para todos os tratamentos com os EL. Nos parâmetros do comprimento e peso da plântula (parte aérea e raiz) os tratamentos com os EL também demonstraram ser superiores ao SEM, com as plântulas a apresentarem um maior peso e tamanho, indicativo de um maior vigor. Isto pode-se dever aos níveis de CE serem mais adequados à germinação e desenvolvimento das plântulas nos tratamentos com EL.

3.4.3. Taxa de emergência e germinação do feijão com os EL

Neste ensaio, as sementes nos extratos líquidos de sargaço à concentração de 1,2% com lavagem apresentaram uma emergência superior (S17CL =64%, S18CL= 92%) aos restantes tratamentos (C =52%, S17SL =8%, S18SL =52%, PROFERTIL =48%) (Figura 14).

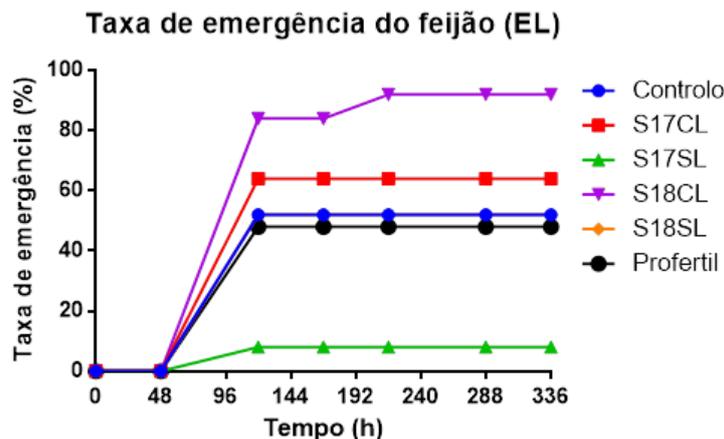


Figura 14- Taxa de emergência (%) do feijão (*Phaseolus vulgaris*) com os tratamentos dos EL de sargaço durante 336h (azul - Controlo; vermelho - S17CL 1,2%; verde - S17SL 1,2%; roxo - S18CL 1,2%; laranja - S18SL 1,2%; preto – PROFERTIL 1,2%).

Na germinação (Figura 15), os tratamentos do sargaço com lavagem apresentaram uma germinação superior ao controlo, PROFERTIL, e tratamentos sem lavagem (C =24%, S17CL =32%, S18CL =56%). Os tratamentos do PROFERTIL e extratos de sargaço sem lavagem tiveram uma germinação de 0%. Embora estes tratamentos não tenham demonstrado germinação, as sementes desenvolveram a parte aérea, mas com

um desenvolvimento muito pequeno. A germinação ocorreu após as 168h desde o início do ensaio.

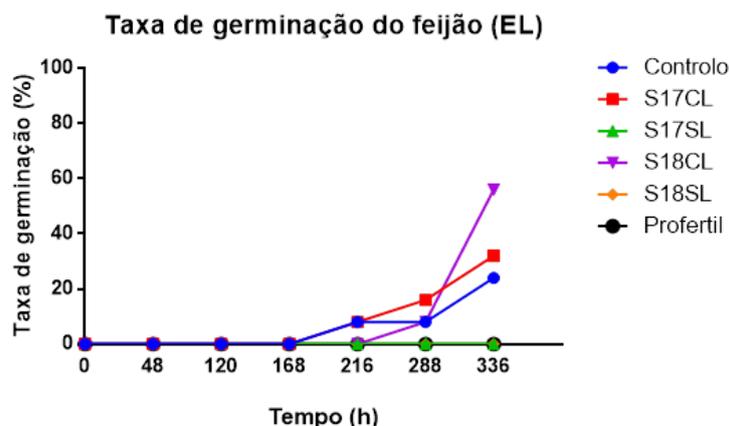


Figura 15- Taxa de germinação (%) do feijão (*Phaseolus vulgaris*) com os tratamentos dos EL de sargaço durante 336h (azul - Controlo; vermelho - S17CL 1,2%; verde - S17SL 1,2%; roxo - S18CL 1,2%; laranja - S18SL 1,2%; preto – PROFERTIL 1,2%).

Verificou-se que os EL sem lavagem não possuem um potencial de germinação para as sementes de feijão, semelhante aos resultados com o SEM. Os extratos com lavagem aparentam ter potencial para a germinação destas sementes.

3.4.4. Comprimento e peso fresco das plântulas de feijão com os EL

Na Tabela 7, estão apresentados os valores do comprimento da parte aérea e da raiz, respetivamente, das plântulas de feijão no final do ensaio (336h).

Tabela 7- Comprimento da parte aérea e raiz (mm) e peso fresco da parte aérea e raiz (g) das sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris*) com os vários tratamentos de EL a 1,2%. Os Valores das medições estão expressos em média \pm erro padrão (n = 25). Na mesma linha, valores com a mesma letra não são significativamente diferentes (teste de Tukey, p <0,05).

	Controlo	S17CL	S17SL	S18CL	S18SL	PROFERTIL
Comprimento da parte aérea (mm)	93,46 \pm 67,60 ^a	85,5 \pm 55,48 ^a	16,5 \pm 3,5 ^{ab}	75,09 \pm 38,73 ^a	18,54 \pm 5,42 ^b	15,00 \pm 5,41 ^b
	62,46 \pm 51,09 ^{ab}	84,5 \pm 46,47 ^a	17,00 \pm 3,00 ^{ab}	81,22 \pm 35,29 ^a	40,77 \pm 14,19 ^b	29,17 \pm 13,82 ^b
Peso fresco da parte aérea (g)	1,124 \pm 0,62 ^a	1,311 \pm 1,08 ^a	0,050 \pm 0,02 ^{ab}	0,998 \pm 0,59 ^a	0,15 \pm 0,05 ^b	0,087 \pm 0,03 ^b
	0,222 \pm 0,10 ^{ac}	0,303 \pm 0,18 ^c	0,052 \pm 0,009 ^{ab}	0,227 \pm 0,07 ^{ac}	0,073 \pm 0,03 ^b	0,080 \pm 0,05 ^b

No comprimento da parte aérea (Tabela 7), foram os extratos com lavagem e o controlo, à semelhança da taxa de germinação, a apresentarem uma parte aérea mais comprida (C =93,46 mm; S17CL =85,5 mm; S18CL =75,09 mm). O tratamento S17SL, S18SL e PROFERTIL, apesar de não terem apresentado germinação (1º par de folhas), apresentaram parte aérea, mas com um desenvolvimento muito reduzido (S17SL =16,5 mm; S18SL =18,54 mm; PROFERTIL =15,00 mm). Os tratamentos do S18SL e PROFERTIL apresentaram uma diferença estatística significativa em relação ao controlo para este parâmetro. No comprimento das raízes das plântulas (Tabela 7), os resultados foram

bastante semelhantes entre os dois extratos com lavagem, que obtiveram as maiores raízes em média na experiência (S17CL =84,5 mm; S18CL =81,22 mm), inclusive maiores que o controle. No entanto, no teste estatístico não se verificou nenhum resultado estatisticamente significativo em relação ao controle, mas os tratamentos do com lavagem foram estatisticamente diferentes do PROFERTIL e do S18SL.

Para o peso fresco da parte aérea (Tabela 7), os tratamentos com o maior comprimento detiveram também o maior peso como expectável (C =1,124 g; S17CL =1,311 g, S18CL =0,998 g). Mais uma vez o PROFERTIL e o S18SL tiveram uma diferença estatística em relação aos 2 extratos com lavagem, e também o controle.

No peso fresco das raízes (Tabela 7), voltou-se a verificar a condição dos mesmos três tratamentos apresentarem os melhores valores (C =0,222 g, S17CL =0,303 g, S18CL =0,227 g). Nos testes estatísticos, o PROFERTIL e S18SL voltaram a ser significativamente diferentes do controle, S17CL e S18CL.

As plântulas de feijão tratadas com o SEM apresentaram melhores resultados que a dos extratos líquidos de sargaço na taxa de emergência, contudo os EL foram superiores ao apresentarem uma maior germinação (ambos os tratamentos com lavagem germinaram ao invés de um), e nos parâmetros físicos também tiveram melhores resultados nos comprimentos e pesos da parte aérea, que os SEM.

De acordo com Silva (2015), a presença compostos osmoticamente ativos, geralmente constituintes de extratos brutos, podem ter influência na germinação e nos processos fisiológicos das plantas. O autor utilizou extratos de algas (*Ascophyllum nodosum* e *Sargassum muticum*) a 0%, 25%, 75% e 100% em sementes de alface e arroz e verificou que quanto maior era a concentração do substrato, menor era a germinação das sementes. Depreende-se que neste ensaio prático os tratamentos sem lavagem (maior teor em sais e maior condutividade elétrica) influenciaram negativamente a germinação e desenvolvimento das plântulas devido à presença de compostos osmoticamente ativos à semelhança do que se passou no estudo do autor. Este efeito dever-se à dificuldade que as plântulas têm em absorver água na presença de uma maior concentração de compostos osmoticamente ativos em substratos mais concentrados.

Sivasankari et al (2006), também elaboraram estudos de germinação com sementes de feijão (*Vigna sinensis*) postos em placas de petri com o extrato aquoso *Sargassum wightii* à concentração de 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50% e 100%. Neste ensaio, também se verificou uma maior germinação nos extratos com menor concentração (20%), mas também se verificaram outros efeitos positivos como o comprimento das raízes e da parte aérea, a biomassa fresca e seca e o valor nutricional.

Os resultados obtidos neste ensaio, principalmente no estudo do feijão e couve com os extratos líquidos, também se assemelham aos estudos de Craigie (2011), que verificou que pequenas quantidades de extrato de alga apresentam benefícios no metabolismo celular vegetal, e conseqüentemente no desenvolvimento das plântulas.

Os tratamentos do “sargaço” colhidos em 2017 e 2018 com o processo de lavagem foram mais eficazes do que os tratamentos sem lavagem (S17SL e S18SL), com

ambas as espécies e em todos os ensaios (EL e SEM). As amostras não lavadas, ao não sofrerem um processo de lavagem, apresentam uma maior condutividade elétrica devido ao seu maior teor em minerais e sais derivados da água do mar, o que leva a uma inibição na germinação das sementes.

3.5. Ensaio na estufa com alfaces

3.5.1. Clima

O período agrícola de 2020 no qual decorreu o ensaio de campo (16 de janeiro a 18 de março) caracterizou-se meteorologicamente por um inverno seco. Segundo o Instituto Português do Mar e da Atmosfera (IPMA), o mês de janeiro de 2020, em Portugal continental, classificou-se como quente e seco. Na região de Coimbra, a média da temperatura mínima registada foi de 7,2 °C e a média da temperatura máxima foi de 14,0 °C (IPMA, 2020a). O mês de fevereiro foi classificado de extremamente quente e extremamente seco para Portugal continental. Foi o mês de fevereiro mais quente desde 1931. A região de Coimbra registou uma média de temperatura mínima de 9,2 °C e uma média de temperatura máxima de 17,6 °C (IPMA, 2020b). O mês de março foi caracterizado como quente em relação à temperatura do ar em Portugal continental. A região de Coimbra neste mês teve valores de precipitação superiores ao normal e registou uma média de temperatura mínima de 8,2 °C e uma média de temperatura máxima de 17,4 °C (IPMA, 2020c). Como a estufa onde decorreu o ensaio não é aclimatizada, no período em que decorreu o cultivo, desde o dia inicial até à colheita, foram registadas as temperaturas máximas e mínimas todos os dias para a região de Coimbra (distrito: Coimbra, cidade: Coimbra) de acordo com a temperatura prevista pelo IPMA. É possível observar que através das temperaturas registadas inicialmente entre os dias 4 e 12 (30 de janeiro e 7 de fevereiro), durante o período do cultivo, que as condições climatéricas não foram as mais favoráveis ao crescimento e desenvolvimento da alface. A partir do dia 18 voltou-se a registar uma quebra acentuada na temperatura, e o mesmo se sucedeu no dia 30 e 46 (25 de fevereiro e 10 de março). Mesmo as temperaturas máximas registadas não estiveram de acordo com a temperatura ótima da alface, o que provocou um desenvolvimento da planta mais lento (Figura 16).

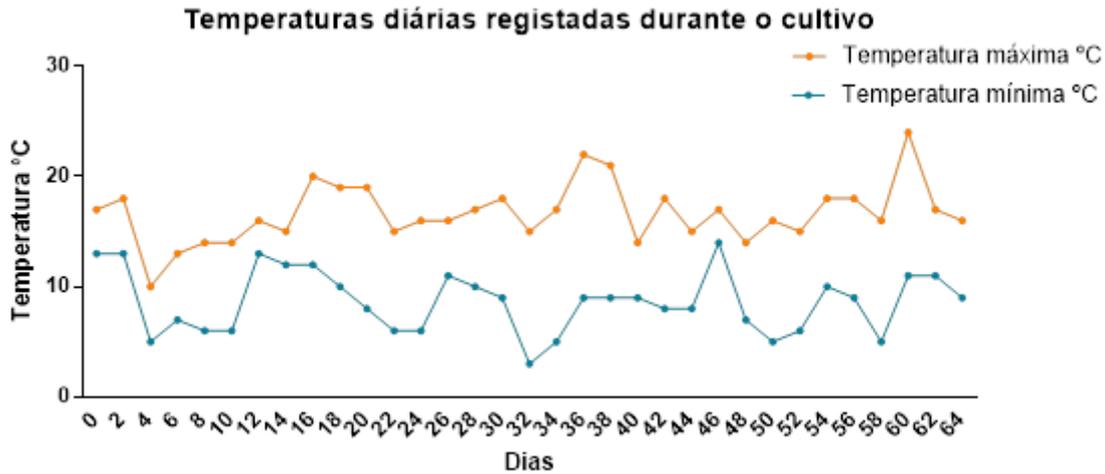


Figura 16- Temperaturas máximas e mínimas registadas durante o período do cultivo da alface dia 0 (16 janeiro 2020); até o dia 64, (18 março 2020) para a região de Coimbra (distrito: Coimbra, cidade: Coimbra) de acordo com o IPMA.

3.5.2. Ensaio na estufa com alfaces (análises físicas)

Nas Figuras 17 e 18, estão apresentados os valores da taxa do diâmetro e altura das alfaces, respetivamente, durante o ensaio do cultivo das alfaces, decorrido na estufa da ESAC, que se prolongou por 9 semanas. O diâmetro e altura das alfaces foi registado 1 vez por semana.

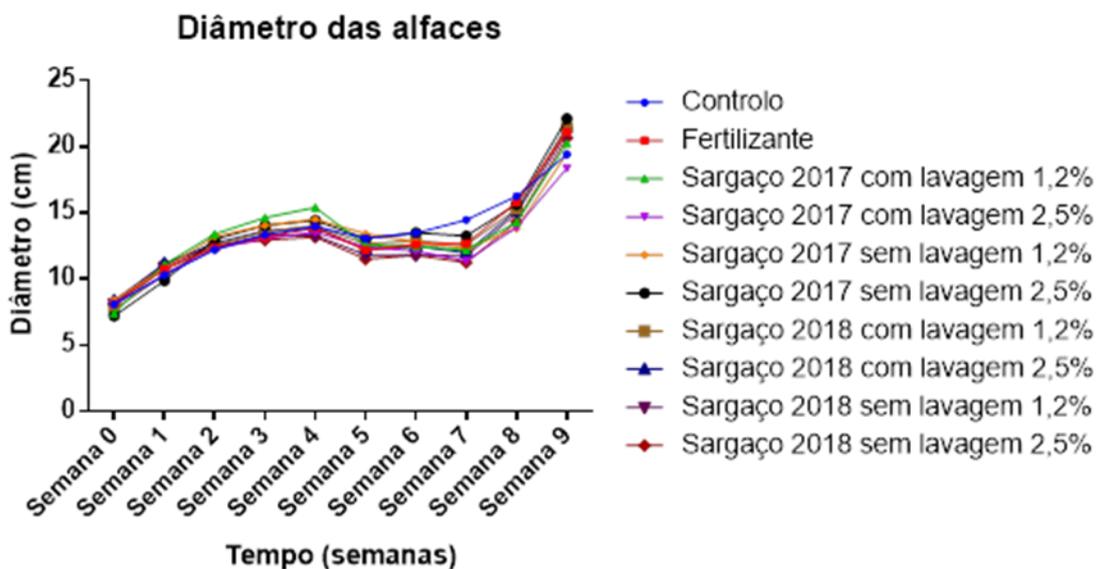


Figura 17- Diâmetro (cm) das alfaces (*Lactuca sativa*) com os tratamentos dos extratos líquidos de sargaço durante 9 semanas (azul– Controlo; vermelho– Fertilizante 1,2% (PROFERTIL) ; verde– sargaço 2017 com lavagem 1,2%; roxo– sargaço 2017 com lavagem 2,5%; laranja- sargaço 2017 sem lavagem 1,2%; preto- sargaço 2017 sem lavagem 2,5%; castanho– sargaço 2018 com lavagem 1,2%; azul escuro- sargaço 2018 com lavagem 2,5%; violeta- sargaço 2018 sem lavagem 1,2%; vermelho carmim- sargaço 2018 sem lavagem 2,5%). Os Valores das medições estão expressos em média \pm erro padrão (n = 6).

O diâmetro das alfaces sofreu desenvolvimentos semelhantes entre os tratamentos ao longo dos ensaios. Desde o 1 dia até à semana 4 de ensaio as alfaces apresentaram um desenvolvimento positivo, contudo na semana 4 registou-se uma diminuição no diâmetro das alfaces devido à queda das temperaturas mínimas

registadas, que levaram a uma inibição no desenvolvimento das plantas. A partir da sétima semana as alfaces voltaram a apresentar bons índices de desenvolvimento (Figura 17). A altura das alfaces manteve-se bastante constante até à semana 7 do ensaio, onde a partir daí apresentou um grande crescimento. A altura das plantas também foi bastante uniforme entre os tratamentos, à semelhança do resultado do diâmetro da planta (Figura 18).

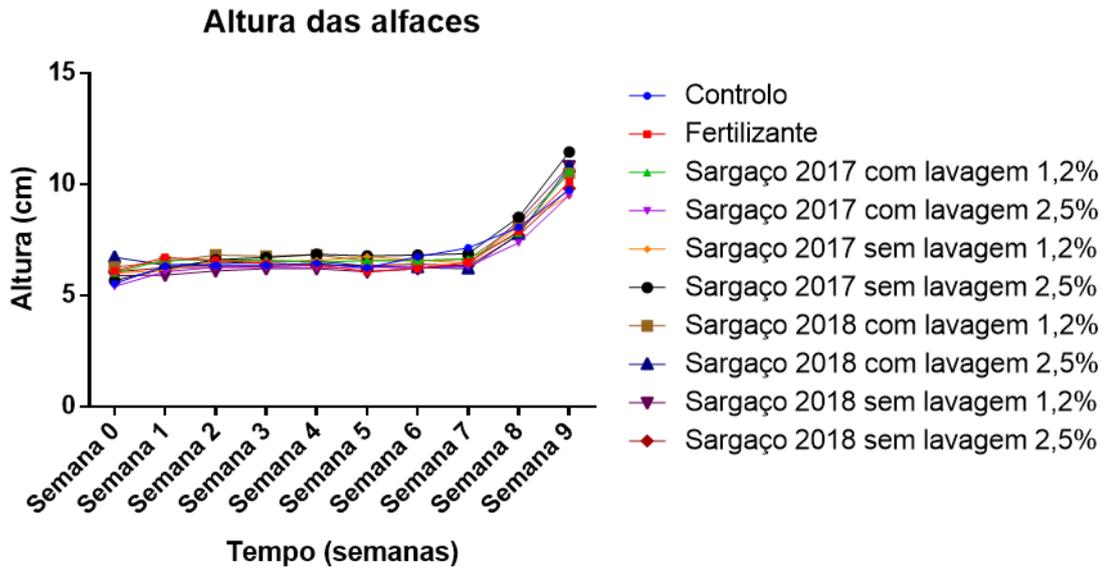


Figura 9- Atura (cm) das alfaces (*Lactuca sativa*) com os tratamentos dos extratos líquidos de sargaço durante 9 semanas (azul– Controlo; vermelho– Fertilizante 1,2% (PROFERTIL) ; verde– sargaço 2017 com lavagem 1,2%; roxo– sargaço 2017 com lavagem 2,5%; laranja– sargaço 2017 sem lavagem 1,2%; preto– sargaço 2017 sem lavagem 2,5%; castanho– sargaço 2018 com lavagem 1,2%; azul escuro– sargaço 2018 com lavagem 2,5%; violeta– sargaço 2018 sem lavagem 1,2%; vermelho carmim– sargaço 2018 sem lavagem 2,5%). Os Valores das medições estão expressos em média ± erro padrão (n = 6).

Nas Figuras 19 e 20, estão apresentados os valores do peso fresco e seco da parte aérea das plantas registado no final do ensaio.

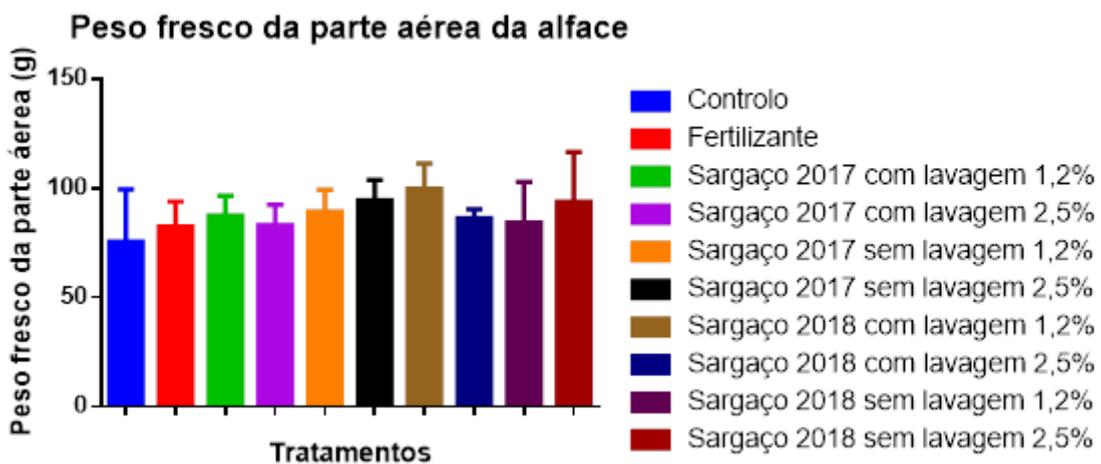


Figura 19- Peso fresco (g) da parte aérea das alfaces (*Lactuca sativa*) com os tratamentos dos extratos líquidos de sargaço durante 9 semanas (azul– Controlo; vermelho– Fertilizante 1,2% (PROFERTIL) ; verde– sargaço 2017 com lavagem 1,2%; roxo– sargaço 2017 com lavagem 2,5%; laranja– sargaço 2017 sem lavagem 1,2%; preto– sargaço 2017 sem lavagem 2,5%; castanho– sargaço 2018 com lavagem 1,2%; azul escuro– sargaço 2018 com lavagem 2,5%; violeta– sargaço 2018 sem lavagem 1,2%; vermelho carmim– sargaço 2018 sem lavagem 2,5%). Os Valores das medições estão expressos em média ± erro padrão (n = 6).

No peso fresco da parte aérea das alfaces, não se observou diferenças significativas, no entanto é possível observar que todos os tratamentos tiveram resultados superiores ao controlo. O tratamento que apresentou a maior biomassa no final do ensaio foi o sargaço 2018 com lavagem à concentração de 1,2%. Os tratamentos S17 e S18 sem lavagem 2,5% também obtiveram valores mais elevados face aos outros tratamentos. No peso seco da parte aérea da planta, o S17SL 2,5% e o S18CL 1,2% apresentaram a melhor biomassa, entre todos os tratamentos.

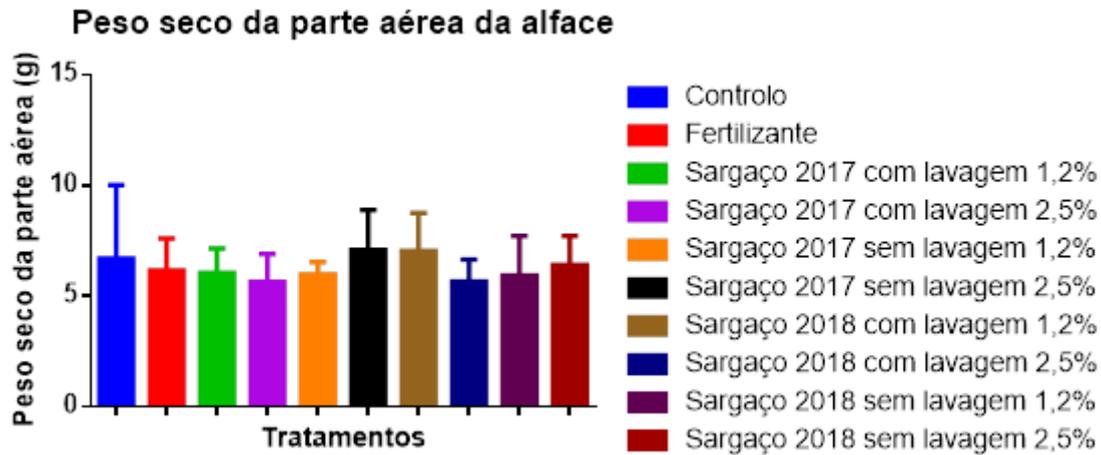


Figura 20- Peso seco (g) da parte aérea das alfaces (*Lactuca sativa*) com os tratamentos dos extratos líquidos de sargaço durante 9 semanas (azul- Controlo; vermelho- Fertilizante 1,2% (PROFERTIL) ; verde- sargaço 2017 com lavagem 1,2%; roxo- sargaço 2017 com lavagem 2,5%; laranja- sargaço 2017 sem lavagem 1,2%; preto- sargaço 2017 sem lavagem 2,5%; castanho- sargaço 2018 com lavagem 1,2%; azul escuro- sargaço 2018 com lavagem 2,5%; violeta- sargaço 2018 sem lavagem 1,2%; vermelho carmim- sargaço 2018 sem lavagem 2,5%). Os Valores das medições estão expressos em média \pm erro padrão (n = 6).

No peso fresco da raiz das alfaces (Figura 21), foram os tratamentos do controlo, PROFERTIL (fertilizante) e do sargaço 2017 sem lavagem 1,2% e 2,5% a terem os melhores resultados neste parâmetro. Os tratamentos com o sargaço 2018 deram todos resultados bastantes próximos, e os tratamentos do sargaço 2017 com lavagem deram valores ligeiramente superiores aos de 2018. Neste parâmetro também não se verificou qualquer diferença significativa.

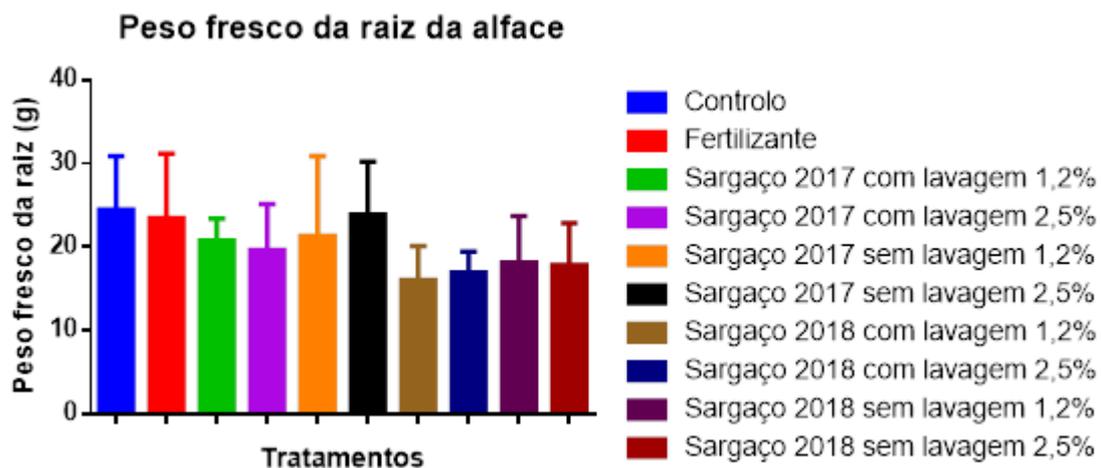


Figura 21- Peso fresco (g) da raiz das alfaces (*Lactuca sativa*) com os tratamentos dos extratos líquidos de sargaço durante 9 semanas (azul- Controlo; vermelho- Fertilizante 1,2% (PROFERTIL) ; verde- sargaço 2017 com lavagem 1,2%; roxo- sargaço 2017 com lavagem 2,5%; laranja- sargaço 2017 sem lavagem 1,2%; preto- sargaço 2017 sem lavagem 2,5%; castanho- sargaço 2018 com lavagem 1,2%; azul escuro- sargaço 2018 com lavagem 2,5%; violeta- sargaço 2018 sem lavagem 1,2%; vermelho carmim- sargaço 2018 sem lavagem 2,5%). Os Valores das medições estão expressos em média \pm erro padrão (n = 6).

Para o peso seco da raiz das plantas, o controlo teve os maiores valores (o que pode ser indicativo que as raízes cresceram mais na procura de nutrientes), seguido do fertilizante e do S17SL 2,5% e do S17CL 1,2%. Os restantes tratamentos obtiveram valores parecidos entre eles. Para este parâmetro, o tratamento do S17CL 1,2% e o S18SL 2,5% apresentaram uma diferença significativa (Figura 22).

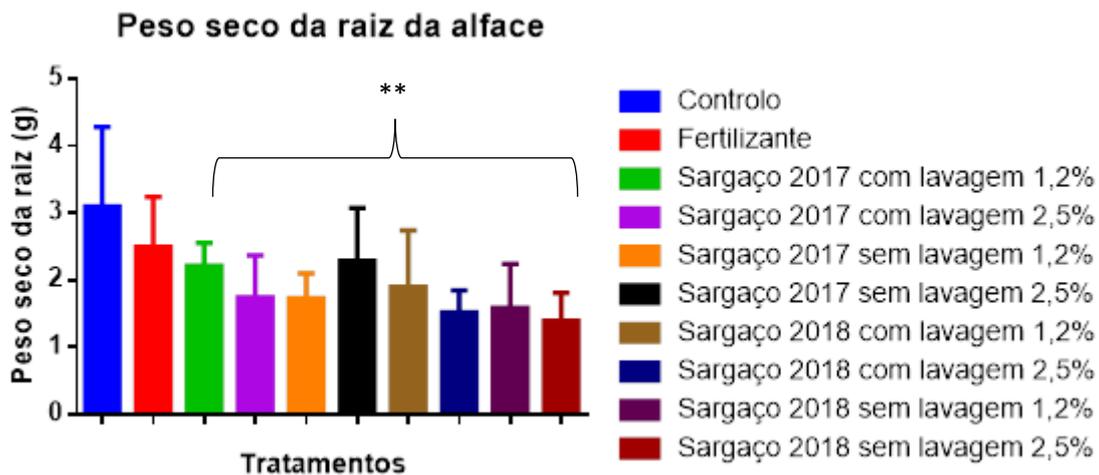


Figura 22- Peso seco (g) da raiz das alfaces (*Lactuca sativa*) com os tratamentos dos extratos líquidos de sargaço durante 9 semanas (azul– Controlo; vermelho– Fertilizante 1,2% (PROFERTIL) ; verde– sargaço 2017 com lavagem 1,2%; roxo- sargaço 2017 com lavagem 2,5%; laranja- sargaço 2017 sem lavagem 1,2%; preto- sargaço 2017 sem lavagem 2,5%; castanho– sargaço 2018 com lavagem 1,2%; azul escuro- sargaço 2018 com lavagem 2,5%; violeta- sargaço 2018 sem lavagem 1,2%; vermelho carmim- sargaço 2018 sem lavagem 2,5%). Os Valores das medições estão expressos em média \pm erro padrão (n = 6). Valores com (*) são significativamente diferentes (teste de Tukey, $p < 0,05$).

Di Mola *et al* (2019) também estudaram a aplicação de um extrato de alga (*Kelpak*) em alface. O *kelpak* contém principalmente fitohormonas (auxinas e citocininas), carboidratos, aminoácidos, vitaminas, macro e micronutrientes. As alfaces tratadas com o *kelpak* através de pulverizações foliares obtiveram um melhor crescimento, em relação ao controlo, e produtividade ao alcançarem folhas maiores (com maior área). A eficiência fotoquímica das plantas também melhorou com o *kelpak*. Mógor *et al* (2008), também realizaram um ensaio em que aplicaram extratos da alga *Ascophyllum nodosum* em feijão (*Phaseolus vulgaris*). Os resultados obtidos neste ensaio foram um maior crescimento nas plantas e uma maior produção de feijões. O extrato da alga mostrou ser benéfico para a planta, e neste ensaio, apesar de não ter diferenças significativas, verifica-se um maior peso fresco na parte aérea das plantas de alface quando expostas aos tratamentos com extratos de algas, em relação ao controlo à semelhança do estudo referido.

Sandepogu *et al* (2019), também estudaram a aplicação do extrato de *A. nodosum* e ácido húmico em alface e espinafre, e registaram um potencial bioestimulante ao estimularem o crescimento inicial das plantas (principalmente o peso fresco e seco) e o prolongamento pós-colheira da alface e no espinafre. As alfaces apresentaram mais peso com o extrato de *A. nodosum* a 0,25% e quando se conjugavam os dois tratamentos (0,25% do extrato de *A. nodosum* e 0,20% de ácido húmico). A aplicação do extrato da alga também reduziu a peroxidação lipídica no espinafre durante

o seu armazenamento (após a colheita). Neste estudo, apesar de não se verificar uma diferença significativa no tamanho das plantas entre os tratamentos, foi possível observar que alguns extratos (S18CL 1,2%, S17SL 2,5% e S18SL 2,5%) também levaram a um aumento da biomassa na alface.

3.5.3 Ensaio na estufa com alfaces (análises químicas)

Foi realizada a determinação química da parte aérea das alfaces em relação aos diferentes tratamentos. Os dados relativos a estes parâmetros estão na Tabela 8.

Tabela 8- Análises químicas (N, P, Mg, K, Na, Cu, Fe, Zn, Mn, Ca e humidade) das alfaces (*Lactuca sativa*) com os tratamentos dos extratos líquidos de sargaço durante 9 semanas (azul- Controlo; vermelho- Fertilizante 1,2% (PROFERTIL) ; verde- sargaço 2017 com lavagem 1,2%; roxo- sargaço 2017 com lavagem 2,5%; laranja- sargaço 2017 sem lavagem 1,2%; preto- sargaço 2017 sem lavagem 2,5%; castanho- sargaço 2018 com lavagem 1,2%; azul escuro- sargaço 2018 com lavagem 2,5%; violeta- sargaço 2018 sem lavagem 1,2%; vermelho carmim- sargaço 2018 sem lavagem 2,5%). Os Valores das medições estão expressos em média \pm erro padrão (n = 4). Na mesma coluna, valores com a mesma letra não são significativamente diferentes (teste de Tukey, p <0,05).

	N (%)	P (%m/m)	Mg (%m/m)	K (%m/m)	Na (%)	Cu (mg/kg)	Fe (mg/kg)	Zn (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Ca (%)	Humidade (%)
Controlo	2,52	0,58 \pm	0,29 \pm	5,90 \pm	0,13	5,18 \pm	141,99	47,24 \pm	83,79 \pm	1,14	14,21 \pm
	\pm	0,10	0,02	0,43	\pm	0,92	\pm 26,40	5,95 ^a	18,68 ^{ab}	\pm	1,67
	0,24				0,00					0,14	
					4 ^{ab}						
Fertilizante	2,71	0,58 \pm	0,31 \pm	6,33 \pm	0,10	4,35 \pm	129,19	60,31 \pm	88,82 \pm	1,27	14,25 \pm
	\pm	0,05	0,04	0,22	\pm	0,85	\pm 5,20	3,69 ^{ab}	7,01 ^{ab}	\pm	0,40
	0,16				0,03					0,11	
					0 ^a						
S17CL 1,2%	2,68	0,57 \pm	0,33 \pm	6,20 \pm	0,10	4,05 \pm	119,91	53,93 \pm	99,69 \pm	1,30	13,72 \pm
	\pm	0,05	0,03	0,48	\pm	0,83	\pm 7,73	5,94 ^{ab}	14,60 ^{ab}	\pm	0,73
	0,26				0,01					0,07	
					9 ^a						
S17CL 2,5%	2,77	0,61 \pm	0,33 \pm	6,69 \pm	0,09	3,52 \pm	164,37	68,72 \pm	105,70	1,26	13,49 \pm
	\pm	0,03	0,02	0,21	\pm	0,39	\pm 56,69	10,55 ^b	\pm 4,88 ^b	\pm	0,53
	0,19				0,01					0,07	
					2 ^a						
S17SL 1,2%	2,92	0,62 \pm	0,34 \pm	6,35 \pm	0,10	4,23 \pm	140,16	56,78 \pm	92,87 \pm	1,29	14,17 \pm
	\pm	0,02	0,02	0,43	\pm	1,04	\pm 15,21	2,39 ^{ab}	7,64 ^{ab}	\pm	1,11
	0,09				0,04					0,06	
					5 ^a						
S17SL 2,5%	2,80	0,60 \pm	0,33 \pm	6,50 \pm	0,12	4,15 \pm	200,00	60,52 \pm	83,82 \pm	1,22	14,35 \pm
	\pm	0,04	0,03	0,51	\pm	1,40	\pm 39,87	1,83 ^{ab}	10,70 ^{ab}	\pm	0,57
	0,21				0,02					0,10	
					1 ^{ab}						
S18CL 1,2%	2,88	0,63 \pm	0,31 \pm	6,15 \pm	0,12	3,66 \pm	204,42	56,65 \pm	82,95 \pm	1,13	14,75 \pm
	\pm	0,05	0,03	0,69	\pm	1,21	\pm 70,30	5,02 ^{ab}	10,29 ^{ab}	\pm	0,51
	0,18				0,02					0,14	
					4 ^{ab}						
S18CL 2,5%	2,81	0,62 \pm	0,31 \pm	6,69 \pm	0,15	3,62 \pm	165,78	54,89 \pm	84,34 \pm	1,19	13,45 \pm
	\pm	0,05	0,03	1,14	\pm	0,15	\pm 16,32	7,95 ^{ab}	10,03 ^{ab}	\pm	0,91
	0,30				0,04					0,06	
					3 ^{ab}						
S18SL 1,2%	2,64	0,58 \pm	0,29 \pm	5,72 \pm	0,11	4,05 \pm	164,88	56,74 \pm	73,85 \pm	1,05	13,33 \pm
	\pm	0,03	0,02	0,58	\pm	0,40	\pm 24,29	6,46 ^{ab}	4,57 ^a	\pm	0,71
	0,24				0,03					0,05	
					2 ^{ab}						
S18SL 2,5%	2,74	0,61 \pm	0,31 \pm	6,51 \pm	0,19	3,70 \pm	170,55	65,24 \pm	83,99 \pm	1,16	13,08 \pm
	\pm	0,06	0,05	0,49	\pm	0,32	\pm 11,08	6,91 ^b	10,53 ^{ab}	\pm	0,59
	0,39				0,03					0,11	
					5 ^b						

Relativamente ao N, a maior concentração aconteceu com a aplicação de sargaço 2017 sem lavagem 1,2%. O controlo apresentou os resultados mais baixos quando comparado com os outros tratamentos. Os valores do sargaço 2017 sem lavagem foram superiores aos com lavagem, enquanto que nos tratamentos com o sargaço 2018 se registou o contrário. Para este parâmetro não houve diferenças significativas.

Para os parâmetros de P e Mg os valores obtidos foram bastante semelhantes em todos os tratamentos, não sendo assim registada qualquer diferença significativa também. No K, o controlo e o S18SL 1,2% apresentaram as piores concentrações de potássio. Os tratamentos onde se verificou os maiores valores de K foram ambos os tratamentos de sargaço com lavagem com 2,5% (S17CL 2,5% e S18CL 2,5%).

Para o Na, o tratamento que apresentou os melhores valores foi o S18SL 2,5% seguido do S18CL 2,5%. Estatisticamente, o S18SL 2,5% foi significativamente diferente do tratamento com o fertilizante, S17CL 1,2%, S17CL 2,5% e do S17SL 1,2%.

No Cu, o controlo apresentou os valores mais elevados sobre todos os outros tratamentos, contudo não houve diferenças significativas. No Fe também não houve resultados significativos. Para o Zn, o tratamento que deu a melhor concentração foi o S17CL 2,5%, com o controlo a dar o valor mais baixo. O controlo foi significativamente diferente do S17CL 2,5% e do S18CL 2,5%.

Nas análises químicas do Mn, o S17CL 2,5% registou o melhor valor entre os tratamentos e teve uma diferença significativa para com o S18SL 1,2%. No Ca, foram os tratamentos com o sargaço 2017 (com e sem lavagem) mais o fertilizante que registaram os valores mais elevados. Para o teor em água (humidade) todos os tratamentos foram semelhantes. Para estes dois últimos parâmetros também não se observou diferenças estatísticas.

No ensaio de Lopes (2018), a humidade e o macronutriente Mg também não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos aplicados nas folhas de alface.

Chrysargyris *et al* (2018), investigaram os efeitos da deficiência do K na alface e examinaram a eficácia das aplicações foliares do extrato de *Ascophyllum nodosum* para aliviar os impactos da deficiência de K no crescimento da planta, rendimento, conteúdo mineral e desempenho na vida útil da alface durante o seu armazenamento. A deficiência de potássio reduziu o rendimento e a capacidade antioxidante da alface, com efeitos negativos significativos durante o armazenamento desta verdura. De modo a superar a deficiência de K, a aplicação foliar do extrato de alga aumentou o rendimento e manteve a qualidade dos produtos frescos durante o processamento e armazenamento. No presente estudo, todos os tratamentos, exceto o S18SL 1,2%, obtiveram valores de K superiores ao controlo, o que pode ser indicativo de um melhor desempenho no tempo pós-colheita (armazenamento) da alface, contudo os melhoramentos no crescimento da planta ao longo no ensaio não se verificaram no presente estudo.

Silva *et al* (2019) estudaram os efeitos dos extratos de *Ascophyllum nodosum* e *Sargassum muticum* como biofertilizante em duas variedades comerciais de *Lactuca sativa* (alface verde e roxa). O extrato aquoso processado de *S. muticum* (25%) demonstrou ser o tratamento mais eficaz no ensaio geral quando comparado com os outros tratamentos. O extrato aquoso de *S. muticum* também demonstrou, após análise do solo, que a alface foi capaz de assimilar mais minerais (P, K, Ca, Mg) do solo, quando comparada com a testemunha ou os outros extratos. Esses resultados demonstram que o tratamento com algas marinhas influenciou positivamente o desenvolvimento das estruturas vegetais.

Xu & Leskovar (2015), estudaram os efeitos da aplicação do extrato de *Ascophyllum nodosum* (modo foliar ou rega) em espinafre sob condições de irrigação diferentes (irrigação total e stresse hídrico). Os extratos foram aplicados a cada 4 dias. Sob irrigação total, o extrato da alga não apresentou qualquer efeito no crescimento da folha, fisiologia e valor nutricional do espinafre, contudo sob stresse hídrico a aplicação do *Ascophyllum nodosum* levou a um aumento da área foliar, peso fresco e seco, e o conteúdo de água da folha. A inibição das trocas gasosas e o aumento da limitação estomática induzida pelo stresse hídrico foi reduzido pela aplicação do extrato da alga, ou seja, sob condições de stresse hídrico moderadas, o *Ascophyllum nodosum* aumentou o crescimento do espinafre ao melhorar as relações hídricas nas folhas. Quanto ao valor nutricional, foram quantificados os compostos fenólicos totais, os carotenoides e os flavonoides. Sob stresse hídrico, o extrato de algas não teve efeito no conteúdo fitoquímico e apenas diminuiu o teor de compostos fenólicos e flavonoides.

Polat *et al* (2008) também estudaram os efeitos no rendimento da alface com extratos líquidos de algas (*kelpak*). Nos resultados não houve diferenças estatisticamente significativas para a altura e o diâmetro das alfaces. Nas análises do valor nutricional do alimento, não houve diferenças significativas, contudo para os elementos minerais Fe e Zn, as plantas tratadas com os extratos líquidos das algas apresentaram valores superiores ao controlo. Neste ensaio os valores de Zn nas alfaces tratadas com o sargaço também foram superiores ao controlo e para o Fe com os tratamentos com o sargaço de 2018 e o sargaço de 2017 com as concentrações de 2,5%, à semelhança do estudo de Polat *et al* (2008).

4. Conclusão

Devido ao aumento da população mundial, a produção de alimentos está a ser cada vez mais ameaçada devido aos stresses ambientais. A biotecnologia vegetal tem um papel fundamental neste aspeto para desenvolver novos produtos com aplicação de biofertilizante sustentável, de modo a evitar o uso dos fertilizantes sintéticos e a consequente aplicação de químicos nos solos. As algas marinhas já fazem parte desse processo, mas ainda têm potencial para crescer e contribuir muito mais. A aplicação dos extratos de algas marinhas nas doses e concentrações adequadas, apresenta efeitos benéficos nas plantas. Isto deve-se aos constituintes que as algas possuem como as hormonas vegetais, carboidratos, vitaminas, polissacarídeos, alginatos, aminoácidos e oligoelementos.

O uso dos seus extratos em concentrações mais baixas (extratos diluídos) melhora as culturas em diversos aspetos (germinação, crescimento e produtividade), pelo que é cada vez mais importante estudar este recurso natural de modo a aproveitá-lo em nosso benefício e nas nossas culturas agrícolas tornando-as mais eficientes e saudáveis.

O presente estudo com vista à promoção da economia circular destacou a eficiência e o rendimento dos SEM com lavagem nos ensaios da germinação. As sementes tratadas com este estimulador biológico mostraram uma maior taxa de emergência e germinação. Será importante a realização de mais estudos com o SEM para verificar melhor a sua influência na germinação e efeitos nas culturas. Os tratamentos com o SEM com lavagem podem ter um potencial como condicionador de solo para a germinação de sementes (ao contrário das amostras dos SEM não lavadas), mas serão necessários mais ensaios. Este é o primeiro estudo em que se utiliza o SEM de sargaço em estudos de germinação de sementes. Futuramente, pretende-se analisar a constituição química dos resíduos extrativos de macroalgas e aplicá-los num ensaio de germinação em mistura com solo para otimizar este recurso natural subvalorizado. Também será importante testar o substrato em culturas de modo a estudar a sua influência na produção.

Nos ensaios com os extratos líquidos de sargaço (1,2%), os extratos com o processo de lavagem provaram ser benéficos para a germinação das sementes de feijão e couve. Os parâmetros físicos também tiveram melhores resultados em geral, o que indica que a utilização destes extratos líquidos pode ter grandes benefícios nas plântulas.

O ensaio realizado com os extratos líquidos de sargaço na alface não promoveu grandes diferenças nos parâmetros físicos analisados da cultura em relação ao controlo. Apesar de todos os tratamentos apresentarem um peso fresco da parte aérea superior ao do controlo, não foram valores significativos. Nas análises químicas das alfaces verificaram-se diferenças entre tratamentos no zinco, manganês e sódio. Para os restantes nutrientes não se verificaram diferenças muito significativas. As análises

demonstraram ainda que o controlo apresentou algumas das concentrações mais baixas para o N, P, K, Mg e Zn.

Numa perspetiva futura, será interessante estudar estes extratos a diferentes concentrações, de modo a encontrar a concentração mais adequada para o desenvolvimento das plantas, assim como estudar melhor o potencial biotecnológico destes extratos com testes antibacterianos, anti-inflamatórios ou antifúngicos por exemplo.

Em conclusão, podemos constatar que as algas são um excelente produto de investigação para a biotecnologia com potencial bioestimulante e biofertilizante das espécies vegetais. No entanto, são necessários mais estudos para otimizar esses efeitos.

Bibliografia

- Abou-Hadid, A. F., Abd-Elmoniem, E. M., El-Shinawy, M. Z., & Abou-Elsoud, M. (1995). Electrical conductivity effect on growth and mineral composition of lettuce plants in hydroponic system. *Strategies for Market Oriented Greenhouse Production 434*, 59-66.
- Amimi, A., Mouradi, A., Bennasser, L., & Givernaud, T. (2007). Seasonal variations in thalli and carrageenan composition of *Gigartina pistillata* (Gmelin) Stackhouse (Rhodophyta, Gigartinales) harvested along the Atlantic coast of Morocco. *Phycological Research*, 55(2), 143-149.
- Amimi, A., Mouradi, A., Givernaud, T., Chiadmi, N., & Lahaye, M. (2001). Structural analysis of *Gigartina pistillata* carrageenans (Gigartinales, Rhodophyta). *Carbohydrate Research*, 333(4), 271-279.
- Andersen, M. S. (2007). An introductory note on the environmental economics of the circular economy. *Sustainability science*, 2(1), 133-140.
- Balkaya, A., & Yanmaz, R. (2005). Promising kale (*Brassica oleracea* var. *acephala*) populations from Black Sea region, Turkey. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 33(1), 1-7.
- Barrière, V., Lecompte, F., Nicot, P. C., Maisonneuve, B., Tchamitchian, M., & Lescourret, F. (2014). Lettuce cropping with less pesticides. A review. *Agronomy for sustainable development*, 34(1), 175-198.
- Battacharyya, D., Babgohari, M. Z., Rathor, P., & Prithviraj, B. (2015). Seaweed extracts as biostimulants in horticulture. *Scientia Horticulturae*, 196, 39-48.
- Beecher, C. W. (1994). Cancer preventive properties of varieties of *Brassica oleracea*: a review. *The American journal of clinical nutrition*, 59(5), 1166S-1170S.
- Bilan, M. I., Grachev, A. A., Shashkov, A. S., Kelly, M., Sanderson, C. J., Nifantiev, N. E., & Usov, A. I. (2010). Further studies on the composition and structure of a fucoidan preparation from the brown alga *Saccharina latissima*. *Carbohydrate research*, 345(14), 2038-2047.
- Blackwell, W. (2009). Chromista revisited: a dilemma of overlapping putative kingdoms, and the attempted application of the botanical code of nomenclature. *Phytologia*, 91(2), 191-225.
- Blouin, N. A., Brodie, J. A., Grossman, A. C., Xu, P., & Brawley, S. H. (2011). *Porphyra*: a marine crop shaped by stress. *Trends in plant science*, 16(1), 29-37.
- Bocken, N. M., De Pauw, I., Bakker, C., & van der Grinten, B. (2016). Product design and business model strategies for a circular economy. *Journal of Industrial and Production Engineering*, 33(5), 308-320.
- Borja, A., Chust, G., Fontan, A., Garmendia, J. M., & Uyarra, M. C. (2018). Long-term decline of the canopy-forming algae *Gelidium corneum*, associated to extreme wave events and reduced sunlight hours, in the southeastern Bay of Biscay. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 205, 152-160.
- Brito, L. M. (1999). Lettuce (*Lactuca sativa* L.) and cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L.) growth in soil mixed with municipal solid waste compost and paper mill sludge composted with bark. In *International Conference on Environmental Problems Associated with Nitrogen Fertilisation of Field Grown Vegetable Crops 563* (pp. 131-137).

- Broom, J. E., Nelson, W. A., Yarish, C. A. J. W., Jones, W. A., Rosas, R. A., & Rosas, L. A. (2002). A reassessment of the taxonomic status of *Porphyra suborbiculata*, *Porphyra carolinensis* and *Porphyra lilliputiana* (Bangiales, Rhodophyta) based on molecular and morphological data. *European Journal of Phycology*, 37(2), 227-235.
- Bruhn, A., Dahl, J., Nielsen, H. B., Nikolaisen, L., Rasmussen, M. B., Markager, S., Olesen, B., Arias, C., & Jensen, P. D. (2011). Bioenergy potential of *Ulva lactuca*: biomass yield, methane production and combustion. *Bioresource technology*, 102(3), 2595-2604.
- Buseti, A., Maggs, C. A., & Gilmore, B. F. (2017). Marine macroalgae and their associated microbiomes as a source of antimicrobial chemical diversity. *European journal of phycology*, 52(4), 452-465.
- Cao, J., Wang, J., Wang, S., & Xu, X. (2016). *Porphyra* species: a mini-review of its pharmacological and nutritional properties. *Journal of medicinal food*, 19(2), 111-119.
- Cardador-Martínez, A., Loarca-Piña, G., & Oomah, B. D. (2002). Antioxidant activity in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(24), 6975-6980.
- Carrington, E., Grace, S. P., & Chopin, T. (2001). Life history phases and the biomechanical properties of the red alga *Chondrus crispus* (Rhodophyta). *Journal of Phycology*, 37(5), 699-704.
- Cavalier-Smith, T., & Chao, E. E. (2006). Phylogeny and megasystematics of phagotrophic heterokonts (kingdom Chromista). *Journal of molecular evolution*, 62(4), 388-420.
- Chatzissavvidis, C., & Therios, I. (2014). Role of algae in agriculture. *Seaweeds (Ed. Pomin VH)*. Nova Science Publishers, Inc, 1-37.
- Cheung, P. C., Leung, A. Y., & Ang, P. O. (1998). Comparison of supercritical carbon dioxide and Soxhlet extraction of lipids from a brown seaweed, *Sargassum hemiphyllum* (Turn.) C. Ag. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(10), 4228-4232.
- Chen, X., Pizzatti, C., Bonaldi, M., Saracchi, M., Erlacher, A., Kunova, A., Berg, G., Cortesi, P. (2016). Biological control of lettuce drop and host plant colonization by rhizospheric and endophytic Streptomyces. *Frontiers in microbiology*, 7, 714.
- Chrysargyris, A., Xylia, P., Anastasiou, M., Pantelides, I., & Tzortzakis, N. (2018). Effects of *Ascophyllum nodosum* seaweed extracts on lettuce growth, physiology and fresh-cut salad storage under potassium deficiency. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(15), 5861-5872.
- Coelho, R. C., Faria, M. A., Rocha, J., Reis, A., Oliveira, M. B. P., & Nunes, E. (2009). Assessing genetic variability in germplasm of *Phaseolus vulgaris* L. collected in Northern Portugal. *Scientia horticultrae*, 122(3), 333-338.
- Cofrades, S., López-Lopez, I., Bravo, L., Ruiz-Capillas, C., Bastida, S., Larrea, M. T., & Jiménez-Colmenero, F. (2010). Nutritional and antioxidant properties of different brown and red Spanish edible seaweeds. *Food Science and Technology International*, 16(5), 361-370.
- Collén, J., Hervé, C., Guisle-Marsollier, I., Léger, J. J., & Boyen, C. (2006). Expression profiling of *Chondrus crispus* (Rhodophyta) after exposure to methyl jasmonate. *Journal of Experimental Botany*, 57(14), 3869-3881.
- Costanza, R. (1999). The ecological, economic, and social importance of the oceans. *Ecological economics*, 31(2), 199-213.

- Cotas, J., Marques, V., Afonso, M. B., Rodrigues, C. M., & Pereira, L. (2020). Antitumour Potential of *Gigartina pistillata* Carrageenans against Colorectal Cancer Stem Cell-Enriched Tumourspheres. *Marine Drugs*, 18(1), 50.
- Craigie, J. S. (2011). Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture. *Journal of Applied Phycology*, 23(3), 371-393.
- Crouch, I. J., & Van Staden, J. (1992). Effect of seaweed concentrate on the establishment and yield of greenhouse tomato plants. *Journal of Applied Phycology*, 4(4), 291-296.
- Csizinszky, A.A. (1984). Response of tomatoes to seaweed based nutrient sprays. *Proc. Fla. State Hort. Sco.* 97:151-157.
- Delaide, B., Goddek, S., Gott, J., Soyeurt, H., & Jijakli, M. H. (2016). Lettuce (*Lactuca sativa* L. var. *Sucriner*) growth performance in complemented aquaponic solution outperforms hydroponics. *Water*, 8(10), 467.
- Despacho no 1230/18 de 5 de fevereiro do Ministério do Ambiente, Florestas e Desenvolvimento Rural- Gabinetes dos Secretários de Estado do Ambiente e das Florestas e do Desenvolvimento Rural. Diário da República: II série, No 25 (2018). Acedido a 14 jan. 2020. Disponível em www.dre.pt.
- Destombe, C., Valero, M., & Guillemain, M. L. (2010). Delineation of Two Sibling Red Algal Species, *Gracilaria Gracilis* and *Gracilaria Dura* (Gracilariales, Rhodophyta), Using Multiple DNA Markers: Resurrection of the Species *G. Dura* Previously Described in the Northern Atlantic 200 Years Ago 1. *Journal of Phycology*, 46(4), 720-727.
- Di Mola, I., Cozzolino, E., Ottaiano, L., Giordano, M., Roupheal, Y., Colla, G., & Mori, M. (2019). Effect of vegetal-and seaweed extract-based biostimulants on agronomical and leaf quality traits of plastic tunnel-grown baby lettuce under four regimes of nitrogen fertilization. *Agronomy*, 9(10), 571.
- Dias, J. S., Monteiro, A. A., & Lima, M. B. (1993). Numerical taxonomy of Portuguese Tronchuda cabbage and Galega kale landraces using morphological characters. *Euphytica*, 69(1-2), 51-68.
- Díaz, R. T. A., Arrojo, V. C., Agudo, M. A., Cárdenas, C., Dobretsov, S., & Figueroa, F. L. (2019). Immunomodulatory and Antioxidant Activities of Sulfated Polysaccharides from *Laminaria ochroleuca*, *Porphyra umbilicalis*, and *Gelidium corneum*. *Marine Biotechnology*, 21(4), 577-587.
- Domingues, D. S., Takahashi, H. W., Camara, C. A., & Nixdorf, S. L. (2012). Automated system developed to control pH and concentration of nutrient solution evaluated in hydroponic lettuce production. *Computers and electronics in agriculture*, 84, 53-61.
- Drost, D. (2020). Lettuce in the Garden. Acedido a 2 de Mai. Disponível em https://digitalcommons.usu.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1248&context=extension_cultural
- El-Sikaily, A., El Nemr, A., Khaled, A., & Abdelwehab, O. (2007). Removal of toxic chromium from wastewater using green alga *Ulva lactuca* and its activated carbon. *Journal of hazardous materials*, 148(1-2), 216-228.
- Engel, C., Åberg, P., Gaggiotti, O. E., Destombe, C., & Valero, M. (2001). Population dynamics and stage structure in a haploid-diploid red seaweed, *Gracilaria gracilis*. *Journal of Ecology*, 89(3), 436-450.

- European Commission, 2018. Circular Economy: Implementation of the Circular Economy Action Plan. Available at: <https://ec.europa.eu/environment/circular-economy/>. (Accessed January 2020).
- Fang, E. F., Pan, W. L., Wong, J. H., Chan, Y. S., Ye, X. J., & Ng, T. B. (2011). A new *Phaseolus vulgaris* lectin induces selective toxicity on human liver carcinoma Hep G2 cells. *Archives of toxicology*, 85(12), 1551-1563.
- FAOSTAT. (2018). Food and Agriculture Organization of the United Nations. Acedido a 1 de Mai. 2020. Disponível em <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>.
- Featherstone, S. (2015). Ingredients used in the preparation of canned foods. In *A complete course in canning and related processes. Microbiology, Packaging, HACCP and Ingredients*, 147-211.
- Ferdouse, F., Holdt, S. L., Smith, R., Murua, P., & Yang, Z. (2018). *The global status of seaweed production, trade and utilization*. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Fernández, C. (2011). The retreat of large brown seaweeds on the north coast of Spain: the case of *Saccorhiza polyschides*. *European Journal of Phycology*, 46(4), 352-360.
- Fradinho, P., Flórez-Fernández, N., Sousa, I., Raymundo, A., Domínguez, H., & Torres, M. D. (2020). Environmentally friendly processing of *Laminaria ochroleuca* for soft food applications with bioactive properties. *Journal of Applied Phycology*, 1-11.
- Francavilla, M., Franchi, M., Monteleone, M., & Caroppo, C. (2013). The red seaweed *Gracilaria gracilis* as a multi products source. *Marine drugs*, 11(10), 3754-3776.
- Friedl, T. (1997). The evolution of the green algae. In *Origins of Algae and their Plastids*. Springer, Vienna, 87-101.
- Gagnon, K., McKindsey, C. W., & Johnson, L. E. (2015). Roles of dispersal mode, recipient environment and disturbance in the secondary spread of the invasive seaweed *Codium fragile*. *Biological invasions*, 17(4), 1123-1136.
- Garcia, J. S., Palacios, V., & Roldán, A. (2016). Nutritional potential of four seaweed species collected in the barbante estuary (Gulf of Cadiz, Spain). *J Nutr Food Sci*, 6(3).
- Garibaldi, A., Gilardi, G., Cogliati, E. E., & Gullino, M. L. (2012). Silicon and increased electrical conductivity reduce downy mildew of soilless grown lettuce. *European journal of plant pathology*, 132(1), 123-132.
- Geissdoerfer, M., Savaget, P., Bocken, N. M., & Hultink, E. J. (2017). The Circular Economy—A new sustainability paradigm?. *Journal of cleaner production*, 143, 757-768.
- Geng, Y., & Doberstein, B. (2008). Developing the circular economy in China: Challenges and opportunities for achieving 'leapfrog development'. *The International Journal of Sustainable Development & World Ecology*, 15(3), 231-239.
- Godlewska, K., Michalak, I., Tuhy, Ł., & Chojnacka, K. (2016). Plant growth biostimulants based on different methods of seaweed extraction with water. *BioMed research international*, 2016.
- Graham, P. H., & Ranalli, P. (1997). Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Field Crops Research*, 53(1-3), 131-146.

- Guiry, M. D., & Guiry, G. M. (2020) AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. Acedido a 25 Mai. 2020. Disponível em: https://www.algaebase.org/pub_taxonomy/?id=97240.
- Gupta, S., Rajauria, G., & Abu-Ghannam, N. (2010). Study of the microbial diversity and antimicrobial properties of Irish edible brown seaweeds. *International journal of food science & technology*, 45(3), 482-489.
- Handå, A., Forbord, S., Wang, X., Broch, O. J., Dahle, S. W., Størseth, T. R., Reitan, K., Olsen, Y., & Skjermo, J. (2013). Seasonal-and depth-dependent growth of cultivated kelp (*Saccharina latissima*) in close proximity to salmon (*Salmo salar*) aquaculture in Norway. *Aquaculture*, 414, 191-201.
- Harley, C. D., Anderson, K. M., Demes, K. W., Jorve, J. P., Kordas, R. L., Coyle, T. A., & Graham, M. H. (2012). Effects of climate change on global seaweed communities. *Journal of Phycology*, 48(5), 1064-1078.
- Henriques, B., Rocha, L. S., Lopes, C. B., Figueira, P., Duarte, A. C., Vale, C., Pardal, M., & Pereira, E. (2017). A macroalgae-based biotechnology for water remediation: Simultaneous removal of Cd, Pb and Hg by living *Ulva lactuca*. *Journal of environmental management*, 191, 275-289.
- Hommersand, M., Fredericq, S., & Cabioch, J. (1992). Developmental morphology of *Gigartina pistillata* (Gigartinaceae, Rhodophyta). *Phycologia*, 31(3-4), 300-325.
- Hong, Y. H., Lim, G. O., & Song, K. B. (2009). Physical properties of *Gelidium corneum*–gelatin blend films containing grapefruit seed extract or green tea extract and its application in the packaging of pork loins. *Journal of food science*, 74(1), C6-C10.
- Huebbe, P., Nikolai, S., Schloesser, A., Herebian, D., Campbell, G., Glüer, C. C., Zeyner, A., Demetrowitsch, T., Schwarz, K., Metges, C., Roeder, T., Schultheiss, G., Ipharraguerre, I., & Rimbach, G. (2017). An extract from the Atlantic brown algae *Saccorhiza polyschides* counteracts diet-induced obesity in mice via a gut related multi-factorial mechanisms. *Oncotarget*, 8(43), 73501.
- Indergaard, M. (2017). The First International Seaweed Symposium held in Edinburgh, UK, 1952: applied seaweed science coming of age. *Journal of Applied Phycology*, 29(5), 2165-2173.
- INE. (2018). Instituto Nacional de Estatística - Estatísticas Agrícolas: 2018. Lisboa: INE, 2019. Acedido a 1 de Mai. 2020. Disponível em www.ine.pt/xurl/pub/358629204. ISSN 0079-4139. ISBN 978-989-25-0495-7.
- IPMA. (2020a). Instituto Português do Mar e da Atmosfera – Boletim Climatológico, janeiro 2020. Lisboa, IPMA, 2020. Acedido a 13 Mai. 2020. Disponível em http://www.ipma.pt/resources/www/docs/im.publicacoes/edicoes.online/20200214/BEGzqweyksCjzjUAIARQ/cli_20200101_20200131_pcl_mm_co_pt.pdf.
- IPMA. (2020b). Instituto Português do Mar e da Atmosfera – Boletim Climatológico, fevereiro 2020. Lisboa, IPMA, 2020. Acedido a 13 Mai. 2020. Disponível em http://www.ipma.pt/resources/www/docs/im.publicacoes/edicoes.online/20200317/YDtMPXJqwCRMxZXdHKh/cli_20200201_20200229_pcl_mm_co_pt.pdf.
- IPMA. (2020c). Instituto Português do Mar e da Atmosfera – Boletim Climatológico, março 2020. Lisboa, IPMA, 2020. Acedido a 13 Mai. 2020. Disponível em

http://www.ipma.pt/resources.www/docs/im.publicacoes/edicoes.online/20200414/TpvHRgQAbBhQFDygCNSr/cli_20200301_20200331_pcl_mm_co_pt.pdf.

- Izquierdo, J., Pérez-Ruzafa, I. M., & Gallardo, T. (2002). Effect of temperature and photon fluence rate on gametophytes and young sporophytes of *Laminaria ochroleuca* Pylaie. *Helgoland Marine Research*, 55(4), 285-292.
- Jia, S., Wang, X., Li, T., Qian, H., Sun, J., Wang, L., Yu, J., Li, X., Yin, J., Liu, T., & Wu, S. (2014). Phylogenomic analysis of transcriptomic sequences of mitochondria and chloroplasts of essential brown algae (Phaeophyceae) in China. *Acta Oceanologica Sinica*, 33(2), 94-101.
- Johnson, A. S. (2001). Drag, drafting, and mechanical interactions in canopies of the red alga *Chondrus crispus*. *The Biological Bulletin*, 201(2), 126-135.
- Kasimala, M. B., Mebrahtu, L., Magoha, P. P., Asgedom, G., & Kasimala, M. B. (2015). A review on biochemical composition and nutritional aspects of seaweeds. *Caribbean Journal of Science and Technology*, 3, 789-97.
- Kazłowska, K., Hsu, T., Hou, C. C., Yang, W. C., & Tsai, G. J. (2010). Anti-inflammatory properties of phenolic compounds and crude extract from *Porphyra dentata*. *Journal of ethnopharmacology*, 128(1), 123-130.
- Khan Academy, (2019). Acedido em 01 Dez. 2019. Disponível em www.khanacademy.org.
- Khan, W., Rayirath, U. P., Subramanian, S., Jithesh, M. N., Rayorath, P., Hodges, D. M., Critchley, A., Craigie, J., Norrie, J., & Prithviraj, B. (2009). Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. *Journal of Plant Growth Regulation*, 28(4), 386-399.
- Kildow, J. T., & McIlgorm, A. (2010). The importance of estimating the contribution of the oceans to national economies. *Marine Policy*, 34(3), 367-374.
- Kim, M. J., Moon, Y., Tou, J. C., Mou, B., & Waterland, N. L. (2016). Nutritional value, bioactive compounds and health benefits of lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Journal of Food Composition and Analysis*, 49, 19-34.
- Kirchherr, J., Reike, D., & Hekkert, M. (2017). Conceptualizing the circular economy: An analysis of 114 definitions. *Resources, conservation and recycling*, 127, 221-232.
- Korhonen, J., Honkasalo, A., & Seppälä, J. (2018). Circular economy: the concept and its limitations. *Ecological economics*, 143, 37-46.
- Koudela, M., & Petříková, K. (2008). Nutrients content and yield in selected cultivars of leaf lettuce (*Lactuca sativa* L. var. *crispa*). *Horticultural Science*, 35(3), 99-106.
- Křístková, E., Doležalová, I., Lebeda, A., Vinter, V., & Novotná, A. (2008). Description of morphological characters of lettuce (*Lactuca sativa* L.) genetic resources. *Horticultural Science*, 35(3), 113-129.
- Krueger-Hadfield, S. A., Collen, J., Daguin-Thiébaud, C., & Valero, M. (2011). Genetic population structure and mating system in *Chondrus crispus* (Rhodophyta) 1. *Journal of phycology*, 47(3), 440-450.

- Ku, K. J., Hong, Y. H., & Song, K. B. (2008). Mechanical properties of a *Gelidium corneum* edible film containing catechin and its application in sausages. *Journal of Food Science*, 73(3), C217-C221.
- Lapointe, B. E., Barile, P. J., Littler, M. M., Littler, D. S., Bedford, B. J., & Gasque, C. (2005). Macroalgal blooms on southeast Florida coral reefs: I. Nutrient stoichiometry of the invasive green alga *Codium isthmocladum* in the wider Caribbean indicates nutrient enrichment. *Harmful algae*, 4(6), 1092-1105.
- Leliaert, F., Smith, D. R., Moreau, H., Herron, M. D., Verbruggen, H., Delwiche, C. F., & De Clerck, O. (2012). Phylogeny and molecular evolution of the green algae. *Critical reviews in plant sciences*, 31(1), 1-46.
- Li, B., Lu, F., Wei, X., & Zhao, R. (2008). Fucoïdan: structure and bioactivity. *Molecules*, 13(8), 1671-1695.
- Li, Y. X., Wijesekara, I., Li, Y., & Kim, S. K. (2011). Phlorotannins as bioactive agents from brown algae. *Process Biochemistry*, 46(12), 2219-2224.
- Lim, G. O., Jang, S. A., & Song, K. B. (2010). Physical and antimicrobial properties of *Gelidium corneum*/nano-clay composite film containing grapefruit seed extract or thymol. *Journal of Food Engineering*, 98(4), 415-420.
- Liu, C. W., Sung, Y., Chen, B. C., & Lai, H. Y. (2014). Effects of nitrogen fertilizers on the growth and nitrate content of lettuce (*Lactuca sativa* L.). *International journal of environmental research and public health*, 11(4), 4427-4440.
- Liu, J., Hafting, J., Critchley, A. T., Banskota, A. H., & Prithiviraj, B. (2013). Components of the cultivated red seaweed *Chondrus crispus* enhance the immune response of *Caenorhabditis elegans* to *Pseudomonas aeruginosa* through the pmk-1, daf-2/daf-16, and skn-1 pathways. *Appl. Environ. Microbiol.*, 79(23), 7343-7350.
- Lodeiro, P., Cordero, B., Barriada, J. L., Herrero, R., & De Vicente, M. S. (2005). Biosorption of cadmium by biomass of brown marine macroalgae. *Bioresource Technology*, 96(16), 1796-1803.
- Lopes, J. (2018). Estudo da influência do uso de extratos de macroalgas na produção de alface (*Lactuca sativa*). Relatório de estágio profissionalizante em Licenciatura em Engenharia Agro-Pecuária. *Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Coimbra*, 41-53.
- López-Mosquera, M. E., Fernández-Lema, E., Villares, R., Corral, R., Alonso, B., & Blanco, C. (2011). Composting fish waste and seaweed to produce a fertilizer for use in organic agriculture. *Procedia Environmental Sciences*, 9, 113-117.
- Lucas, M. D., & Sequeira, E. M. (1976). Determinação do Cu, Zn, Mn, Fe, Ca, Mg, K, e Na totais das plantas por espectrofotometria de absorção atômica e fotometria de chama. *Pedologia*, 11(1). 163-169.
- MacArthur, E. (2013). Towards the circular economy. *Journal of Industrial Ecology*, 2, 23-44.
- Maneveldt, G. W., & Keats, D. W. (2003). Chromista. In eLS. John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1038/npg.els.0001960>
- Manfron, P. A., Medeiros, S. L. P., Neto, D. D., Martin, T. N., Bonnacarrère, R. A. G., dos Santos, O. S., Müller, L., & Torres, M. E. G. (2005). Água disponível para plantas de alface após cultivos sucessivos em estufa plástica. *Revista da FZVA*, 12(1).

- Marinho, G. S., Holdt, S. L., Birkeland, M. J., & Angelidaki, I. (2015). Commercial cultivation and bioremediation potential of sugar kelp, *Saccharina latissima*, in Danish waters. *Journal of applied phycology*, 27(5), 1963-1973.
- Marinho-Soriano, E. (2017). Historical context of commercial exploitation of seaweeds in Brazil. *Journal of Applied Phycology*, 29(2), 665-671.
- Martins, R., Magalhaes, L., Peter, A., San Martín, G., Rodrigues, A. M., & Quintino, V. (2013). Diversity, distribution and ecology of the family Syllidae (Annelida) in the Portuguese coast (Western Iberian Peninsula). *Helgoland marine research*, 67(4), 775.
- Maschek, J. A., & Baker, B. J. (2008). The chemistry of algal secondary metabolism. In *Algal chemical ecology*. Springer, Berlin, Heidelberg, 1-24.
- Matsubara, K., Matsuura, Y., Bacic, A., Liao, M. L., Hori, K., & Miyazawa, K. (2001). Anticoagulant properties of a sulfated galactan preparation from a marine green alga, *Codium cylindricum*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 28(5), 395-399.
- Matsubara, K., Matsuura, Y., Hori, K., & Miyazawa, K. (2000). An anticoagulant proteoglycan from the marine green alga, *Codium pugniformis*. *Journal of Applied Phycology*, 12(1), 9.
- Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas (MADRP). (2007). Horticultura. Gabinete de Planeamento e Políticas. Acedido a 1 de Mai. 2020. Disponível em <http://www.isa.utl.pt/files/pub/destaques/diagnosticos/Horticultura.pdf>.
- Miranda, L. N. (1985). Utilização de calcários marinhos como corretivos de acidez do solo. *Revista brasileira de ciência do solo*, 9(3), 245-248.
- Mógor, Á. F., Ono, E. O., Rodrigues, J. D., & Mógor, G. (2008). Aplicação foliar de extrato de alga, ácido L-glutâmico e cálcio em feijoeiro. *Scientia Agraria*, 9(4), 431-437.
- Montaño, N. E., Villanueva, R. D., & Romero, J. B. (1999). Chemical characteristics and gelling properties of agar from two Philippine *Gracilaria* spp. (Gracilariales, Rhodophyta). *Journal of Applied Phycology*, 11(1), 27.
- Mouradi, A., Amimi, A., El Omari, F., Mouradi, A. A., & Givernaud, T. (2007). Biological cycle of *Gigartina pistillata* (GMELIN) STACKHOUSE on Nations beach, Morocco. *Algological Studies*, 123(1), 73-93.
- Moy, F. E., & Christie, H. (2012). Large-scale shift from sugar kelp (*Saccharina latissima*) to ephemeral algae along the south and west coast of Norway. *Marine Biology Research*, 8(4), 309-321.
- Mwithiga, G., & Olwal, J. O. (2005). The drying kinetics of kale (*Brassica oleracea*) in a convective hot air dryer. *Journal of Food engineering*, 71(4), 373-378.
- Neto, N. B. M., Prioli, M. R., Gatti, A. B., & Cardoso, V. J. M. (2006). Temperature effects on seed germination in races of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Acta Scientiarum. Agronomy*, 28(2), 155-164.
- NP 84. (1965). Solos (Ed. 1). Determinação do teor em água. Norma Portuguesa Definitiva, Port. N.º 21472 de 16/8/1965. Laboratório Nacional de Engenharia Civil, Lisboa. Editorial Império, Lda. 2p.
- Nunes, J. (2018). Influência do uso de extratos de macroalgas na produção de pimento (*Capsicum annuum*). Relatório de estágio profissionalizante em Licenciatura em Biotecnologia. *Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Coimbra*, (4), 23-32.

- Olsen, H., Aaby, K., & Borge, G. I. A. (2009). Characterization and quantification of flavonoids and hydroxycinnamic acids in curly kale (*Brassica oleracea* L. convar. *acephala* var. *sabellica*) by HPLC-DAD-ESI-MS n. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(7), 2816-2825.
- Ortiz, J., Uquiche, E., Robert, P., Romero, N., Quitral, V., & Llantén, C. (2009). Functional and nutritional value of the Chilean seaweeds *Codium fragile*, *Gracilaria chilensis* and *Macrocystis pyrifera*. *European journal of lipid science and technology*, 111(4), 320-327.
- Pereira, T. R., Engelen, A. H., Pearson, G. A., Serrao, E. A., Destombe, C., & Valero, M. (2011). Temperature effects on the microscopic haploid stage development of *Laminaria ochroleuca* and *Sacchoriza polyschides*, kelps with contrasting life histories. *CBM-Cahiers de Biologie Marine*, 52(4), 395.
- Pereira, J. R. C. (2014). *Codium tomentosum*: Avaliação do seu potencial de cultivo num sistema IMTA e do seu potencial biotecnológico (*Unpublished master's thesis*). Departamento de Ciências da vida – Universidade de Coimbra, Coimbra. 11 pp.
- Pereira, L. (2009). Guia ilustrado das Macroalgas. *Imprensa da Universidade de Coimbra/Coimbra University Press*. p. 57-65.
- Pereira, L. (2013). Population studies and carrageenan properties in eight Gigartinales (Rhodophyta) from western coast of Portugal. *The Scientific World Journal*, 2013.
- Pereira L. (2015) Seaweed Flora of the European North Atlantic and Mediterranean. In: Kim SK. (eds) Springer Handbook of Marine Biotechnology. *Springer Handbooks*. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Pereira, L. (2019). Traditional Use of Seaweed in Agriculture in Mainland Portugal. *The Silk Road Universities Network Web Magazine: Issue 01 Winter 2019*, 1. 49-54.
- Pereira, L., & Correia, F. (2015). Algas Marinhas da Costa Portuguesa - Ecologia, Biodiversidade e Utilizações. *Nota de Rodapé Edições*, Paris. p. 340.
- Pereira, L., & Cotas, J. (2019). Historical Use of Seaweed as an Agricultural Fertilizer in the European Atlantic Area. In L. Pereira, K. Bahcevandziev, & N. H. Joshi (Eds.), *Seaweeds as Plant Fertilizer, Agricultural Biostimulants and Animal Fodder 1st Edition*, pp. 1–22. Boca Raton, FL: *CRC Press*. <https://doi.org/10.1201/9780429487156>
- Pise, N. M., & Sabale, A. B. (2010). Effect of seaweed concentrates on the growth and biochemical constituents of. *Journal of Phytology*.
- Polat, E., Demir, H., & Onus, A. N. (2008). Comparison of some yield and quality criteria in organically and conventionally-grown lettuce. *African Journal of Biotechnology*, 7(9).
- Póvoas, I., & Barral, M. F. (1992). Métodos de análise de solos. Comunicações do Instituto de Investigação Científica Tropical. *Série de Ciências Agrárias* N. ° 10. Lisboa. Portugal.
- Rama Rao, K., (1991). Effect of seaweed extract on *Zyziphus mauratiana* Lamk. *Journal of Indian Botanical Society*, 71, 19–21.
- Ramarajan, S., Joseph, L. H., & Ganthi, A. S. (2012). Effect of seaweed liquid fertilizer on the germination and pigment concentration of soybean. *Journal of Crop Science and Technology*, 1(2), 1-5.
- Raposo, J., M., de Moraes, A., & de Moraes, R. (2016). Emergent sources of prebiotics: seaweeds and microalgae. *Marine drugs*, 14(2), 27.

- Ratana-arporn, P., & Chirapart, A. (2006). Nutritional evaluation of tropical green seaweeds *Caulerpa lentillifera* and *Ulva reticulata*. *Kasetsart J. (Nat. Sci.)*, 40(Suppl.), 75-83.
- Rayorath, P., Jithesh, M. N., Farid, A., Khan, W., Palanisamy, R., Hankins, S. D., Critchley, A., & Prithiviraj, B. (2008). Rapid bioassays to evaluate the plant growth promoting activity of *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jol. using a model plant, *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. *Journal of applied phycology*, 20(4), 423-429.
- Regulation (EU) 2019/1009 of the European Parliament and of the Council of 5 June 2019 laying down rules on the making available on the market of EU fertilising products and amending Regulations (EC) No 1069/2009 and (EC) No 1107/2009 and repealing Regulation (EC) No 2003/2003 (Text with EEA relevance). PE/76/2018/REV/1. OJ L 170, 25.6.2019, p. 1–114. Accessed in <http://data.europa.eu/eli/reg/2019/1009/oj>
- Ribas, M. C.; Veiga, M. E.; Curto, A.; Oliveira, E.; Barbeitos, M. M.; Ferreira, M.; Pacheco, C.; Peralta, M. F. & Duarte, M. L. (1998). Métodos de análise de material vegetal e terras. MAPA- INIA – Laboratório Químico agrícola Rebelo da Silva, Secção de Nutrição das culturas, Lisboa, Portugal, 58p.
- Rindi, F., Soler-Vila, A., & Guiry, M. D. (2012). Taxonomy of marine macroalgae used as sources of bioactive compounds. In *Marine bioactive compounds* (pp. 1-53). Springer, Boston, MA.
- Robic, A., Sassi, J. F., & Lahaye, M. (2008). Impact of stabilization treatments of the green seaweed *Ulva rotundata* (Chlorophyta) on the extraction yield, the physico-chemical and rheological properties of ulvan. *Carbohydrate Polymers*, 74(3), 344-352.
- Rodiño, A. P., Santalla, M., Montero, I., Casquero, P. A., & De Ron, A. M. (2001). Diversity of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) germplasm from Portugal. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 48(4), 409-417.
- Rodrigues, D., Freitas, A. C., Pereira, L., Rocha-Santos, T. A., Vasconcelos, M. W., Roriz, M., Rodríguez-Alcalá, L., Gomes, A., & Duarte, A. C. (2015). Chemical composition of red, brown and green macroalgae from Buarcos bay in Central West Coast of Portugal. *Food Chemistry*, 183, 197-207.
- Rodríguez, M. C., Matulewicz, M. C., Nosedá, M. D., Ducatti, D. R. B., & Leonardi, P. I. (2009). Agar from *Gracilaria gracilis* (Gracilariales, Rhodophyta) of the Patagonic coast of Argentina—Content, structure and physical properties. *Bioresource technology*, 100(3), 1435-1441.
- Rodriguez-Jasso, R. M., Mussatto, S. I., Pastrana, L., Aguilar, C. N., & Teixeira, J. A. (2011). Microwave-assisted extraction of sulfated polysaccharides (fucoidan) from brown seaweed. *Carbohydrate Polymers*, 86(3), 1137-1144.
- Roleda, M. Y., Hanelt, D., Kräbs, G., & Wiencke, C. (2004). Morphology, growth, photosynthesis and pigments in *Laminaria ochroleuca* (Laminariales, Phaeophyta) under ultraviolet radiation. *Phycologia*, 43(5), 603-613.
- Ruperez, P., & Saura-Calixto, F. (2001). Dietary fibre and physicochemical properties of edible Spanish seaweeds. *European Food Research and Technology*, 212(3), 349-354.
- Samarakoon, U. C., Weerasinghe, P. A., & Weerakkody, W. A. P. (2006). Effect of electrical conductivity (EC) of the nutrient solution on nutrient uptake, growth and yield of leaf lettuce (*Lactuca sativa* L.) in stationary culture.

- Šamec, D., Kruk, V., & Ivanišević, P. (2019). Influence of Seed Origin on Morphological Characteristics and Phytochemicals Levels in *Brassica oleracea* var. *acephala*. *Agronomy*, 9(9), 502.
- Sánchez, M. D. R. S., & Sánchez, R. A. S. (2012). Aspectos ecológicos y distribución Geográfica de carrangenophytas. *Revista Luna Azul*, (35), 266-281.
- Sánchez-Machado, D. I., López-Cervantes, J., Lopez-Hernandez, J., & Paseiro-Losada, P. (2004). Fatty acids, total lipid, protein and ash contents of processed edible seaweeds. *Food chemistry*, 85(3), 439-444.
- Sandepogu, M., Shukla, P. S., Asiedu, S., Yurgel, S., & Prithviraj, B. (2019). Combination of *Ascophyllum nodosum* Extract and Humic Acid Improve Early Growth and Reduces Post-Harvest Loss of Lettuce and Spinach. *Agriculture*, 9(11), 240.
- Sangha, J. S., Kelloway, S., Critchley, A. T., & Prithviraj, B. (2014). Seaweeds (macroalgae) and their extracts as contributors of plant productivity and quality: the current status of our understanding. In *Advances in botanical research* (Vol. 71, pp. 189-219). Academic Press.
- Sanjeewa, K. K. A., Kim, E. A., Son, K. T., & Jeon, Y. J. (2016). Bioactive properties and potentials cosmeceutical applications of phlorotannins isolated from brown seaweeds: a review. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 162, 100-105.
- Santos, R., & Melo, R. A. (2018). Global shortage of technical agars: back to basics (resource management). *Journal of applied phycology*, 30(4), 2463-2473.
- Sappati, P. K., Nayak, B., VanWalsum, G. P., & Mulrey, O. T. (2019). Combined effects of seasonal variation and drying methods on the physicochemical properties and antioxidant activity of sugar kelp (*Saccharina latissima*). *Journal of Applied Phycology*, 31(2), 1311-1332.
- Sathya, B., Indu, H., Seenivasan, R., & Geetha, S. (2010). Influence of seaweed liquid fertilizer on the growth and biochemical composition of legume crop, *Cajanus cajan* (L.) Mill sp. *Journal of Phytology*.
- Saunders, G. W., & Hommersand, M. H. (2004). Assessing red algal supraordinal diversity and taxonomy in the context of contemporary systematic data. *American Journal of Botany*, 91(10), 1494-1507.
- Schiener, P., Black, K. D., Stanley, M. S., & Green, D. H. (2015). The seasonal variation in the chemical composition of the kelp species *Laminaria digitata*, *Laminaria hyperborea*, *Saccharina latissima* and *Alaria esculenta*. *Journal of Applied Phycology*, 27(1), 363-373.
- Schmidt, S., Zietz, M., Schreiner, M., Rohn, S., Kroh, L. W., & Krumbein, A. (2010). Genotypic and climatic influences on the concentration and composition of flavonoids in kale (*Brassica oleracea* var. *sabellica*). *Food Chemistry*, 119(4), 1293-1299.
- Sikora, E., & Bodziarczyk, I. (2012). Composition and antioxidant activity of kale (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*) raw and cooked. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 11(3), 239-248.
- Silva, L. D. S. (2015). Avaliação do potencial dos extratos de algas marinhas *Sargassum muticum* e *Ascophyllum nodosum* (Phaeophyceae) como fertilizante agrícola. Dissertação da Tese de Mestrado em Mestrado de Biodiversidade e Biotecnologia Vegetal. Departamento de Ciências da Vida, Universidade de Coimbra, 51-52. Disponível em:

https://estudogeral.sib.uc.pt/bitstream/10316/32863/1/Dissertação_Mestrado_Luis_D_S_Silva.pdf

- Silva, L. D., Bahcevandziev, K., & Pereira, L. (2019). Production of bio-fertilizer from *Ascophyllum nodosum* and *Sargassum muticum* (Phaeophyceae). *Journal of Oceanology and Limnology*, 37(3), 918-927.
- Silva, M., Gomes, F., Oliveira, F., Morais, S., & Delerue-Matos, C. (2015). Microwave-assisted alginate extraction from portuguese *saccorhiza polyschides*– Influence of acid pretreatment. *International Journal of Chemical, Nuclear, Materials and Metallurgical Engineering*, 9(1), 30-33.
- Singh, S. P., Gepts, P., & Debouck, D. G. (1991). Races of common bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae). *Economic Botany*, 45(3), 379-396.
- Sivasankari, S., Venkatesalu, V., Anantharaj, M., & Chandrasekaran, M. (2006). Effect of seaweed extracts on the growth and biochemical constituents of *Vigna sinensis*. *Bioresource technology*, 97(14), 1745-1751.
- Smale, D. A., Wernberg, T., Yunnice, A. L., & Vance, T. (2015). The rise of *Laminaria ochroleuca* in the Western English Channel (UK) and comparisons with its competitor and assemblage dominant *Laminaria hyperborea*. *Marine ecology*, 36(4), 1033-1044.
- Smith, R., Cahn, M., Daugovish, O., & Koike, S. (2011). Leaf lettuce production in California. *UCANR Publications*. 2-5.
- Sousa, T., Cotas, J., Bahcevandziev, K., & Pereira, L. (2020a). Atualização científica da tradição: Revisitação científica aos métodos tradicionais de fertilização com macroalgas em Portugal. *Associação Portuguesa de Horticultura*. 136, 38-41.
- Sousa, T. M., Cotas, J., Bahcevandziev, K., Pereira, L. (2020b). Effects of “sargaço” extraction residues on seed germination. *Millenium-Journal of Education, Technologies, and Health*, (13), 29-37.
- Steenftoft, M., & Farnham, W. F. (1997). Northern distribution boundaries and thermal requirements of *Gracilaria* and *Gracilariopsis* (Gracilariales, Rhodophyta) in Atlantic Europe and Scandinavia. *Nordic Journal of Botany*, 17(1), 87-94.
- Sun, J., Wang, L., Wu, S., Wang, X., Xiao, J., Chi, S., Liu, C., Ren, L., Zhao, Y., Liu, T., & Yu, J. (2014). Transcriptome-wide evolutionary analysis on essential brown algae (Phaeophyceae) in China. *Acta Oceanologica Sinica*, 33(2), 13-19.
- Sunpapao, A. (2019). Chapter-3 New Checklist of Lettuce Diseases in Thailand Including Emergence Diseases and the Biological Control Approach. *Current Research and Innovations in Plant Pathology*, 51.
- Tabarsa, M., Rezaei, M., Ramezanpour, Z., & Waaland, J. R. (2012). Chemical compositions of the marine algae *Gracilaria salicornia* (Rhodophyta) and *Ulva lactuca* (Chlorophyta) as a potential food source. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(12), 2500-2506.
- Thirumaran, G., Arumugam, M., Arumugam, R., & Anantharaman, P. (2009). Effect of seaweed liquid fertilizer on growth and pigment concentration of *Abelmoschus esculentus* (l) medikus. *American-Eurasian Journal of Agronomy*, 2(2), 57-66.
- Thirumaran, G., Arumugam, M., Arumugam, R., & Anantharaman, P. (2009). Effect of seaweed liquid fertilizer on growth and pigment concentration of *Cyamopsis tetragonolaba* (L) Taub. *American-Eurasian Journal of Agronomy*, 2(2), 50-56.

- Valderrama, D., Cai, J., Hishamunda, N., Ridler, N., Neish, I., Hurtado, A., Msuya, F., Krishnan, M., Narayanakumar, R., Kronen, M., Robledo, D., Gasca-Leyva, E., & Fraga, J. (2015). The economics of *Kappaphycus* seaweed cultivation in developing countries: a comparative analysis of farming systems. *Aquaculture Economics & Management*, 19(2), 251-277.
- Valentão, P., Trindade, P., Gomes, D., de Pinho, P. G., Mouga, T., & Andrade, P. B. (2010). *Codium tomentosum* and *Plocamium cartilagineum*: Chemistry and antioxidant potential. *Food chemistry*, 119(4), 1359-1368.
- Velasco, P., Cartea, M. E., González, C., Vilar, M., & Ordás, A. (2007). Factors affecting the glucosinolate content of kale (*Brassica oleracea acephala* group). *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(3), 955-962.
- Verkleij, F. N. (1992). Seaweed extracts in agriculture and horticulture: a review. *Biological Agriculture & Horticulture*, 8(4), 309-324.
- Villanueva, R. D., Sousa, A. M. M., Gonçalves, M. P., Nilsson, M., & Hilliou, L. (2010). Production and properties of agar from the invasive marine alga, *Gracilaria vermiculophylla* (Gracilariales, Rhodophyta). *Journal of Applied Phycology*, 22(2), 211-220.
- Wong, K. H., & Cheung, P. C. (2000). Nutritional evaluation of some subtropical red and green seaweeds: Part I—proximate composition, amino acid profiles and some physico-chemical properties. *Food chemistry*, 71(4), 475-482.
- Xu, C., & Leskovar, D. I. (2015). Effects of *A. nodosum* seaweed extracts on spinach growth, physiology and nutrition value under drought stress. *Scientia Horticulturae*, 183, 39-47.
- Yaich, H., Garna, H., Besbes, S., Paquot, M., Blecker, C., & Attia, H. (2011). Chemical composition and functional properties of *Ulva lactuca* seaweed collected in Tunisia. *Food chemistry*, 128(4), 895-901.
- Yoon, H. S., Zuccarello, G. C., & Bhattacharya, D. (2010). Evolutionary history and taxonomy of red algae. In *Red algae in the genomic age* (pp. 25-42). Springer, Dordrecht.
- Yu-Qing, T., Mahmood, K., Shehzadi, R., & Ashraf, M. F. (2016). *Ulva lactuca* and its polysaccharides: Food and biomedical aspects. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*, 6(1), 140-151.
- Yuan, Z., Bi, J., & Moriguichi, Y. (2008). The circular economy: A new development strategy in China. *Journal of Industrial Ecology*, 10(1-2), 4-8.
- Zhang, Q., Yu, P., Li, Z., Zhang, H., Xu, Z., & Li, P. (2003). Antioxidant activities of sulfated polysaccharide fractions from *Porphyra haitanensis*. *Journal of applied phycology*, 15(4), 305-310.

