

JACKELINE DE SIQUEIRA CASTRO

**BIOFILME DE MICROALGAS NO SOLO: EMISSÃO DE GASES
DE EFEITO ESTUFA, VOLATILIZAÇÃO DE AMÔNIA E
CRESCIMENTO DE *Pennisetum glaucum***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, para obtenção do título de Magister Scientiae.

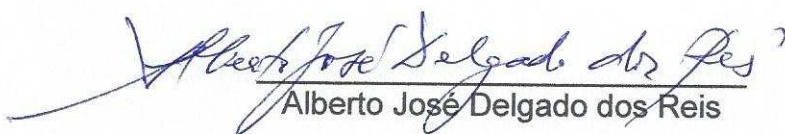
VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2016

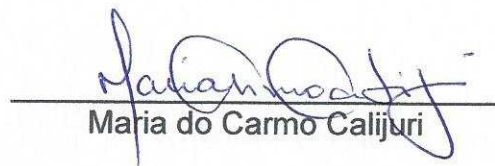
JACKELINE DE SIQUEIRA CASTRO

**BIOFILME DE MICROALGAS NO SOLO: EMISSÃO DE GASES DE
EFEITO ESTUFA, VOLATILIZAÇÃO DE AMÔNIA E CRESCIMENTO DE
*Pennisetum glaucum***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 16 de fevereiro de 2016.


Alberto José Delgado dos Reis


Maria do Carmo Calijuri


Igor Rodrigues de Assis
(Co-orientador)


Maria Lúcia Calijuri
(Orientadora)

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

C355b
2016
Castro, Jackeline de Siqueira, 1990-
Biofilme de microalgas no solo : emissão de gases de efeito estufa, volatilização de amônia e crescimento de *Pennisetum glaucum* / Jackeline de Siqueira Castro. – Viçosa, MG, 2016. xvii, 93f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Maria Lúcia Calijuri.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Solos - Efeito de compostos orgânicos. 2. Solos - Teor de nitrogênio. 3. Solos - Umidade. 4. Biofilme. 5. Microalgas. 6. Gases estufa. 7. Aquecimento global. 8. *Pennisetum glaucum*.
I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Engenharia Civil. Programa de Pós-graduação em Engenharia Civil.
II. Título.

CDD 22. ed. 631.4

**Aos meus pais Clério e Teresinha;
Às minhas irmãs, Francielle e Danielle;
E ao meu amado, Vinícius.
Dedico.**

Se não fossem as algas, que saberíamos da alegria?

(Maria Azenha - Poema)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, agora e todos os dias, pela oportunidade de viver e realizar esse sonho;

Agradeço à professora Maria Lúcia Calijuri, exemplo de ser humano e profissional, pela orientação durante todo o mestrado e pela amizade e confiança depositada em mim;

Agradeço ao professor Igor Rodrigues de Assis, pela disponibilidade em me co-orientar neste trabalho e pela paciência no esclarecimento das minhas inúmeras dúvidas.

Aos Professores Dr. Alberto José Delgado dos Reis e Maria do Carmo Calijuri por terem sido parceiros durante a execução do projeto e por terem aceitado participar da banca examinadora e darem suas valiosas contribuições.

Agradeço a todos os professores, pela amizade e pelos ensinamentos e à Universidade Federal Viçosa (UFV), pelo ensino de qualidade, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, pela oportunidade de realização deste curso;

Aos meus pais, por todo amor, pelos ensinamentos e incentivo, por acreditarem em mim e por proporcionarem todos os meios para que eu chegasse até aqui. Às minhas irmãs Francielle e Danielle, pelo carinho e pelo conforto de saber que tenho sempre com quem contar;

Agradeço ao Vinícius, um presente de Deus na minha vida, por ser amor e amigo, pela ajuda em todos os momentos, por me incentivar sempre e principalmente, pela paciência.

Agradeço à doutoranda Paula Peixoto Assemany, por ter se disponibilizado sempre em conversar e trocar ideias durante a realização do mestrado e pelas sugestões e contribuições que foram imprescindíveis para execução e conclusão deste trabalho.

Agradeço às alunas de iniciação científica, Priscila Rezende e Paula Borges, por terem me auxiliado na condução dos experimentos. Obrigada por terem contribuído, por terem sido companhia e por me darem a oportunidade de aprender com vocês.

Às meninas: Letícia Rodrigues de Assis, Luma Soares Costa e Taynan de Oliveira Costa, por terem junto comigo formado um quarteto fantástico. E aos meus

colegas do nPA: Eduardo, Mauro, Sabrina, Mariana, Mateus, Juliana, por terem me recebido tão bem nessa casa, pelo companheirismo e pelas diversas trocas de conhecimento. E aos colegas do Laboratório de Engenharia Sanitária e Ambiental: Priscila, Júlio, Carlos, Capelão e Agostinho, por serem meus companheiros de experimento, tornando meus dias mais leves e alegres.

Agradeço aos funcionários do laboratório de Isótopos Estáveis (LIE) do Departamento de Solos da UFV, D. Sc. João José de Miranda Milagres e Humberto Teixeira Rosado por dedicarem um pouco do seu tempo me orientando nos trabalhos com a cromatografia gasosa. E ao Professor Ivo Ribeiro da Silva por ter cedido o espaço deste laboratório para que eu pudesse trabalhar.

Agradeço ao Professor D. Sc. André Cordeiro Alves dos Santos e à equipe do Laboratório de Microbiologia Ambiental – LAMA, da Universidade Federal de São Carlos campus Sorocaba, pelo auxílio na realização das análises fitoplanctônica.

À CAPES - Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior, pela concessão de bolsa de auxílio aos estudos;

Enfim, a todos que não foram citados, nominalmente, mas que contribuíram para que o meu objetivo fosse alcançado.

BIOGRAFIA

Jackeline de Siqueira Castro, filha de Clério Vicente de Castro e Teresinha Maria de Siqueira Castro, nasceu na cidade Patos de Minas-MG, em 08 de abril de 1990. Coursou ensino médio na Escola Estadual “Coronel Cristiano”, em Lagoa Formosa-MG, concluindo-o em 2007. Ingressou, em 2009 no Centro Universitário de Patos de Minas – UNIPAM, para ser formar Engenheira Ambiental e Sanitarista em 2013. Em fevereiro de 2016 defende sua dissertação de mestrado no programa de pós-graduação em Engenharia Civil da Universidade Federal de Viçosa - UFV.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	ix
LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE EQUAÇÕES	xi
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	xii
RESUMO	xiv
ABSTRACT	xvi
1 APRESENTAÇÃO	1
2 INTRODUÇÃO GERAL	2
3 HIPÓTESES DA PESQUISA	5
4 OBJETIVOS GERAIS	5
4.1 Objetivos específicos	6
5 REVISÃO DE LITERATURA	7
5.1 Potencialidade das algas	7
5.1.1 Biodiesel	10
5.1.2 Biogás	11
5.1.3 Processos Termoquímicos	13
5.1.4 Fertilizantes	14
5.2 Diversidade das Algas	17
5.2.1 Divisão Cyanophita	19
5.2.2 Divisão Chlorophyta	20
5.2.3 Divisão Ochrophyta	22
5.3 Algas no solo e interferências nos ciclos do carbono e nitrogênio.....	23
5.3.1 Ciclo do C no solo	23
5.3.2 Ciclo do N no solo	25
5.3.3 Biofilme de microalgas no solo	29
5.4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30
6 CAPÍTULO I: DOSES DE NITROGÊNIO E VARIAÇÃO DA UMIDADE NO ESTABELECIMENTO DE BIOFILME DE MICROALGAS NO SOLO	40
Resumo	41
6.1 Introdução	42
6.2 Material e Métodos	42
6.2.1 Preparação do solo	42
6.2.2 Preparação e separação das microalgas	43
6.2.3 Efeito do nitrogênio no estabelecimento do biofilme de microalgas	44
6.2.4 Efeito do nitrogênio e umidade do solo no estabelecimento do biofilme de microalgas	46
6.2.5 Análise da comunidade fitoplanctônica na biomassa algal e no solo	47
6.2.6 Clorofila-a no solo	47
6.2.7 Análise estatística	48
6.3 Resultados e discussão	48
6.3.1 Efeito do nitrogênio no estabelecimento do biofilme de microalgas	48
6.3.2 Efeito do nitrogênio e umidade do solo no estabelecimento do biofilme de microalgas	54
6.4 Conclusões	57
6.5 Referências	58

7	CAPÍTULO II: BIOFILME DE MICROALGAS NO SOLO: EMISSÃO DE GASES DE EFEITO ESTUFA, VOLATILIZAÇÃO DE AMÔNIA E CRESCIMENTO DE <i>Pennisetum glaucum</i>	61
	Resumo	61
	7.1 Introdução	62
	7.2 Material e Métodos	63
	7.2.1 Produção e separação da biomassa algal	63
	7.2.2 Parcelas experimentais	64
	7.2.3 Amostragem e medição de gases de efeito estufa	66
	7.2.4 Volatilização de amônia	67
	7.2.5 Análises no solo	69
	7.2.6 Análise da planta	69
	7.2.7 Análise estatística	70
	7.3 Resultados e discussão	70
	7.3.1 Emissão de GEE	70
	7.3.2 Volatilização de amônia	76
	7.3.3 Alterações das características químicas e biológicas do solo	78
	7.3.4 Crescimento das plantas	80
	7.4 Conclusão	83
	7.5 REFERÊNCIAS	83
8	CONCLUSÃO GERAL	90
9	SUGESTÕES PARA PESQUISAS FUTURAS	91
10	REFERÊNCIAS GERAIS	92

LISTA DE TABELAS

6.1 - Valores médios de clorofila-a ($\mu\text{g g}^{-1}$), nitrogênio e matéria orgânica no solo para as respectivas doses	54
6.2 - Resultado da análise fitoplanctônica ao final do experimento com relação às umidades aplicadas	56
7.1 - Emissões acumuladas (g m^{-2}) dos GEEs pelas aplicações das diferentes fontes nitrogenadas no solo	72
7.2 - Coeficientes da equação logística, determinação e tempo necessário para atingir a metade da produção máxima de CH_4 , CO_2 e N_2O ($t_{1/2} = -b/c$) em período de 48 dias, para as diferentes fontes nitrogenadas e para a parcela controle	20
7.3 - Coeficientes de correlação entre as variáveis ambientais e emissão de GEE	77
7.4 - Volatilização de N-NH_3 (kg ha^{-1}) pelo solo pela aplicação de fontes nitrogenadas	78
7.5 - Coeficientes da equação logística, determinação e tempo necessário para atingir a metade da produção máxima de N-NH_3 ($t_{1/2} = -b/c$) em período de 41 dias, para aplicação de diferentes fontes nitrogenadas no solo	79
7.6 - Comunidade fitoplanctônica na biomassa aplicada, do solo antes da aplicação dos tratamentos e amostra de solo final de cada parcela após a condução do experimento	81
7.7 - Médias de massa de matéria seca da parte aérea (MSPA) e de folha (MSF) e teores de cálcio (Ca), magnésio (Mg), fósforo (P), potássio (K), nitrogênio (N) e conteúdo de N para diferentes fontes de N	88
7.8 - Caracteres produtivos para o milho cultivar BRS 1501, em seis diferentes épocas de observação do experimento	89

LISTA DE FIGURAS

5.1 - Ciclo do carbono, mostrando as contribuições aeróbias e anaeróbias. Adaptado de Maier (2000)	24
5.2 - Ciclo do nitrogênio (Adaptado de GREGORICH et al., 2015)	26
6.1 - Comportamento médio para precipitação e temperatura média para os meses do ano, no período citado	45
6.2 - Dados de temperatura máxima e mínima (°C) e precipitação na área experimental durante o período de condução.....	45
6.3 - Esquema experimental e vista da superfície após a aplicação da biomassa algal na superfície do solo. a) Dose 75; b) Dose 150; c) Dose 225; d) Dose 300 kg ha ⁻¹ e e) Tratamento controle	46
6.4 - Produção de clorofila-a ao longo da condução do experimento	49
6.5 - Aspecto do biofilme de microalgas após 13 dias da aplicação dos tratamentos: a- 75; b- 150 kg ha ⁻¹ ; c- 225 e d- 300 kg ha ⁻¹	50
6.6 - Abundância relativa das espécies presentes na biomassa bruta e nos tratamentos ao final do experimento	52
6.7 - Representação gráfica do comportamento da clorofila-a (µg g ⁻¹) aos 15 e 30 dias em função das doses testadas e suas respectivas equações	54
6.8 - Resultados da análise de regressão quadrática múltipla para os dias 15, 30 e 60 e respectivas superfícies de resposta	56
7.1 - Dados de temperatura máxima e mínima e precipitação na área experimental durante o período de condução	68
7.2 - Câmara coletora de N-NH ₃ semiaberta livre estática (SALE). Fonte: Araújo et al. (2009)	70
7.3 - Emissão de GEEs para diferentes fontes nitrogenadas e em parcela controle ao longo do período estudado	74

LISTA DE EQUAÇÕES

6.1 - Equação para cálculo de clorofila-a no solo	47
7.1 - Cálculo da umidade de saturação ou porosidade preenchida por água (%PPA)	67
7.2 - Cálculo da porosidade total (g g^{-1})	68
7.3 - Taxas de emissão de CH_4 , CO_2 e N_2O a partir do solo	68
7.4 - Equação logística $Y = a/1+e^{-(b+cx)}$	71

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

Al ³⁺	Alumínio.
ANOVA	Análise de variância.
BSC	Biological soil crusts.
C	Carbono.
C:N	Relação carbono/nitrogênio.
Ca ²⁺	Cálcio.
CH ₂ O	Metanal.
CH ₄	Metano.
Chl-a	Clorofila-a.
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.
CO ₂	Dióxido de Carbono.
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento.
COP	Conference of Parties.
COS	Carbono orgânico do solo.
CTC	Capacidade de troca catiônica.
CuSO ₄	Sulfato de cobre.
CV	Coefficiente de variação.
Da	Densidade da água.
DAP	Dias após o plantio.
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio.
DIC	Delineamento inteiramente casualizado.
DO	Dose.
Dp	Densidade de partículas.
Ds	Densidade do solo.
FV	Fatores de variação.
GEE	Gases de efeito estufa.
GL	Graus de liberdade.
H	Hidrogênio.
H ₂	Hidrogênio (fórmula molecular)
H ₂ O	Água.
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio.
H ₂ SO ₄	Ácido sulfúrico.
ha	Hectare.
HTL	Liquefação hidrotérmica.
INMET	Instituto Nacional de Meteorologia.
IPCC	Intergovernmental Panel on Climate Change.
K	Potássio (elemento).
K	Kelvin (unidade de temperatura).
LAT	Lagoa de Alta Taxa.
LESA	Laboratório de Engenharia Sanitária e Ambiental.
M	Peso molecular do gás.
MG	Minas Gerais.
Mg ²⁺	Magnésio.
MOS	Matéria orgânica do solo.
MSF	Massa seca de folha.
MSPA	Massa seca de parte aérea.
N	Nitrogênio.

N:P	Relação nitrogênio/fósforo
N ₂	Nitrogênio atmosférico.
N ₂ O	Óxido nitroso.
Na ₂ SO ₄	Sulfato de sódio.
NaOH	Hidróxido de sódio.
Ncont.	Conteúdo de nitrogênio.
NH ₃	Amônia.
nm	Nanômetros.
N-NH ₄ ⁺	Nitrogênio amoniacal.
NO ₂	Óxido nítrico.
NO ₂ ⁻	Nitrito.
NO ₃ ⁻	Nitrato.
NO _x	Óxidos de nitrogênio.
ns	Não significativo.
NTK	Nitrogênio Total Kjeldahl.
O ₂	Oxigênio.
°C	Graus Celsius.
ONU	Organização das Nações Unidas.
P	Fósforo (elemento).
P	Pressão.
PET	Poli(Tereftalato de Etileno).
pH	Potencial hidrogeniônico.
PPA	Porosidade preenchida por água.
Pt	Porosidade total.
PVC	Policloreto de vinila.
SALE	Semiaberto livre estático.
SO _x	Óxidos de enxofre.
T	Temperatura.
t ^{1/2}	Tempo de meia vida.
TFSA	Terra fina seca ao ar.
UFV	Universidade Federal de Viçosa.
Ug	Umidade gravimétrica.
UM	Umidade.
V	Volume.
v/v	Volume por volume.
W	Watt.
xg	Força centrífuga máxima.
α	Coefficiente angular da reta ajustada.
ΔQ/Δt	Varição na quantidade do gás dentro da câmara no intervalo de tempo.

RESUMO

CASTRO, Jackeline de Siqueira, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2016. **BIOFILME DE MICROALGAS NO SOLO: EMISSÃO DE GASES DE EFEITO ESTUFA, VOLATILIZAÇÃO DE AMÔNIA E CRESCIMENTO DE *Pennisetum glaucum***. Orientador: Maria Lúcia Calijuri. Coorientador: Igor Rodrigues de Assis.

A biomassa algal produzida em lagoas de alta taxa (LATs) tem propriedades que permitem sua utilização para diversos fins. No presente estudo, enfoque foi dado à aplicação da biomassa algal rica em nutrientes, no solo com vistas à otimizar a formação de um biofilme de microalgas no solo e posterior avaliação do efeito desta prática na emissão de gases de efeito estufa (GEE), volatilização de amônia, crescimento de *Pennisetum glaucum* e influência nos teores de nitrogênio (N) e matéria orgânica (MO) no solo. O trabalho foi constituído de dois estudos, sendo o primeiro formado por experimentos em ambiente controlado (60 dias) e em vasos dispostos em área externa ao laboratório (31 dias), onde o principal objetivo foi otimizar a produção do biofilme de microalgas no solo quando da variação da dose de nitrogênio aplicada e umidade do solo. Valores de clorofila-a foram medidos a fim de fornecer uma medida de biomassa algal. As doses de 150, 225 e 300 kg ha⁻¹ de N (na forma de NTK) diferiram significativamente do tratamento controle com relação à produção de clorofila-a. Porém, a aplicação de 300 kg ha⁻¹ de N fez com que o biofilme apresentasse quebra e não coesão com a superfície do solo. A aplicação da biomassa algal no solo não culminou com acréscimo no teor de matéria orgânica, porém influenciou no aumento do teor de N no solo. A espécie predominante no solo foi *Chlorella vulgaris*. Já no segundo estudo o objetivo foi avaliar a emissão de gases de efeito estufa (GEE), a volatilização de amônia e o crescimento de *Pennisetum glaucum* quando da aplicação da biomassa de microalgas no solo em comparação com a ureia, fertilizante nitrogenado comumente utilizado na agricultura e um tratamento controle sem adição de fonte fertilizante. Foram medidos a emissão de gases de efeito estufa e volatilização de amônia por meio de câmaras estáticas, além de avaliação das propriedades químicas do solo e crescimento de *Pennisetum glaucum*. A emissão de metano foi igual para os três tratamentos ($p > 0,07$). Quando se trata da emissão de dióxido de carbono os tratamentos foram diferentes entre si ($p < 0,01$). O biofilme de microalgas foi responsável pelas maiores emissões de dióxido de carbono e óxido nitroso, sendo que

neste último o tratamento controle e com aplicação de ureia foram iguais ($p < 0,01$). Quanto à volatilização de $N-NH_3$, as perdas observadas foram 4,63%, 18,98% e 0,82% para biofilme de microalgas, ureia e controle, respectivamente. Houve diferença significativa no incremento de nitrogênio no solo causado pela aplicação de biomassa algal e também foi significativo o aumento da capacidade de troca catiônica (CTCTotal) ($p < 0,01$), em ambos, o tratamento submetido a aplicação da biomassa algal apresentou valores superiores em comparação com o tratamento controle e adubação com ureia, sendo que estes últimos não diferiram entre si. Já para o teor de matéria orgânica do solo, os três tratamentos se diferiram significativamente ($p < 0,05$), sendo que o tratamento com biomassa algal foi o que acrescentou maior quantidade de matéria orgânica do solo. A espécie de microalga predominante no solo foi *Chlorella vulgaris*. Não foi observada diferença estatística para teores de nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca^{2+}) e magnésio (Mg^{2+}) na parte aérea das plantas. Para matéria seca de folhas (MSF), todos os tratamentos se diferiram entre si, sendo que a ordem crescente foi a seguinte: Ureia > Biomassa algal > Controle. Para matéria seca de parte aérea (MSPA) e conteúdo de N (Ncont) foram observadas diferenças significativas dos tratamentos em que foram aplicadas fontes nitrogenadas para o tratamento controle.

ABSTRACT

CASTRO, Jackeline de Siqueira, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2016. **MICROALGAE BIOFILM IN SOIL: GREENHOUSE GAS EMISSIONS, NITROGEN LOSS AND GROWTH OF *Pennisetum glaucum***. Adviser: Maria Lúcia Calijuri. Co-adviser: Igor Rodrigues de Assis.

The algal biomass produced in ponds of high rate (HRAPs) has properties that allow their use for various purposes. In this study, a focus was given to the application of algal biomass in soil rich in nutrients, with a view to optimize the formation of a biofilm of microalgae in the soil and subsequent evaluation of the effect of this practice on the emission of greenhouse gases (GHG), volatilization of ammonia, growth of *Pennisetum glaucum* and influence on levels of nitrogen (N) and organic matter (OM) in the soil. The work was composed of two studies, the first being formed by experiments in a controlled environment (60 days) and vessels arranged in the external area to the lab (31 days), where the primary objective was to optimize the production of biofilm of microalgae in the soil when the variation of the amount of nitrogen applied and soil moisture. Values of chlorophyll-a were measured in order to provide a measure of algal biomass. The doses of 150, 225 and 300 kg ha⁻¹ N (TKN) differed significantly from the control treatment in relation to the production of chlorophyll-a. However, the application of 300 kg ha⁻¹ N made the biofilm present breaks and no cohesion with the soil surface. The application of algal biomass in the soil led to increased organic matter content, but influenced the increase of the levels of N in the soil. The predominant species in the soil was *Chlorella vulgaris*. In the second study, the objective was to evaluate the emission of greenhouse gases (GHG), the volatilization of ammonia and the growth of *Pennisetum glaucum* when the application of biomass of microalgae in the soil compared to urea, nitrogen fertilizer commonly used in agriculture and a control treatment without added fertilizer source. Were measured the emission of greenhouse gases and ammonia volatilization through static cameras, in addition to evaluation of chemical properties of soil and growth of *Pennisetum glaucum*. The three treatments did not show significant difference for emission of carbon dioxide (CO₂) and methane (CH₄). Biofilm treatment of microalgae presented flow of nitrous oxide (N₂O) significantly higher than treatment with urea which was also higher than the control. As for the volatilization of ammonia, the losses observed were 4.63 percent, 18.98% and 0.82% to biofilm of microalgae, urea and

control, respectively. There was no significant difference in the increase of nitrogen in the soil caused by the application of algal biomass, and was also active mean increasing the capacity of cationic exchange (CECTotal). The predominant soil microalgae was *Chlorella vulgaris*. In both the treatment subject to application of algal biomass showed higher values compared to the control treatment and fertilizer with urea, being that the latter did not differ among themselves. To the soil organic matter content, the three treatments if differed significantly ($p < 0,05$), whereas treatment with algal biomass was added as much soil organic matter. No statistical difference was observed for concentrations of nitrogen (N), phosphorus (P), potassium (K), calcium (Ca^{2+}) and magnesium (Mg^{2+}) in aerial part of plants. For dry matter (LDM), all treatments if they differed among themselves, and the ascending order was as follows: Urea > Algal Biomass > Control. To dry the shoot (APDM) and contents of N (Ncont) significant differences were observed in treatments applied nitrogenous sources to the control treatment.

1. APRESENTAÇÃO

Esta proposta teve como ponto de partida, o projeto “Biofilme de microalgas: tecnologia inovadora para mitigação das mudanças climáticas e desenvolvimento sustentável no setor agropecuário”, Processo n° 37/2013 – Mudanças Climáticas, aprovado em 2013, financiado pelo CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, que tem como objetivo, desenvolver e avaliar tecnologia inovadora para a redução de emissões e aumento da produtividade agrícola a partir da ação de microalgas.

No presente estudo, ênfase foi dada na otimização do desenvolvimento do biofilme de microalgas e cianobactérias no solo e avaliação da contribuição desse biofilme na redução da emissão de gases de efeito estufa (GEE), no potencial aumento do crescimento de *Pennisetum glaucum* e redução de perdas de amônia por volatilização, quando comparado com fertilizantes tradicionalmente utilizados na agricultura.

Este documento foi organizado, além de uma introdução geral e das considerações finais, em três capítulos, sendo que um trata-se de uma revisão de literatura, onde o principal foco foi mostrar o potencial das microalgas em diferentes rotas de aproveitamento, além de apresentar os motivos pelos quais este trabalho foi idealizado. O segundo com o objetivo de estudar maneiras para otimizar a adaptação do biofilme de microalgas no solo, onde foram realizados experimentos em ambiente controlado e em vasos dispostos em ambiente aberto. E o terceiro tratou-se da aplicação da biomassa algal na superfície do solo em área experimental, no qual foram realizadas análises para quantificação da emissão de GEE, volatilização de amônia e crescimento de *Pennisetum glaucum*, além de avaliar algumas propriedades químicas do solo.

Foram apresentadas também, ao final do documento, as perspectivas e sugestões para pesquisas futuras, que surgiram da experiência adquirida durante a execução dos trabalhos.

2 INTRODUÇÃO GERAL

A atividade agropecuária possui grande importância para o desenvolvimento do país, sendo que o Brasil possui uma das maiores áreas agrícolas do mundo. Segundo dados da CONAB (2014), o Brasil possuía em 2005 uma área com plantio de grãos de aproximadamente 47,9 milhões de hectares e uma produtividade de grãos de 2,56 t ha⁻¹. Para o ano de 2014 as estimativas para área plantada atingiram 56,3 milhões de hectares e a produtividade em grãos foi estimada para 3,40 t ha⁻¹. Na última década, a contribuição da agricultura para a economia do país tem sido essencial. Em 2011, 22,15 % do PIB, aproximadamente 40 % dos empregos e 45 % das exportações vieram do setor de agronegócio. Em dados divulgados pela CONAB em 2015, do total gasto com as lavouras na safra de verão 2015/2016 em Minas Gerais, o custo de fertilizantes correspondeu a 41% na cultura do milho, 38,3 % na cultura do feijão e 36,7 % na cultura da soja.

As atividades agrícolas podem originar diversos impactos ambientais negativos, com consequências tanto para o meio ambiente quanto para a produtividade das culturas. Juntas, a agricultura e a pecuária respondem por um quarto das emissões nacionais brutas de gases de efeito estufa (GEE) (GOUVELLO, 2010). No caso dos fertilizantes nitrogenados a maior parte das emissões resultam primeiramente do processo Haber-Bosch, que utiliza o gás natural ou as vezes o carvão como fonte de hidrogênio para reduzir o N atmosférico em amônia. Após sua aplicação no solo tanto os fertilizantes minerais quanto os orgânicos emitem N₂O (CREWS; PEOPLES, 2004; HAKALA et al., 2012).

De acordo com o Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC), o aquecimento global aumentado em 2 °C teria consequências graves, tais como aumento do número de eventos climáticos extremos. Em Copenhague, em 2009, os países declararam sua determinação de limitar o aquecimento global a 2 °C até 2100. Para alcançar este objetivo, especialistas em clima estimam que os gases de efeito estufa precisam ser reduzidos de 40-70 % até 2050 e que a neutralidade de carbono (C) (emissões zero) deve ser alcançada, o mais tardar, até o final do século (COP21, 2015).

Mais recentemente, na Conferência das Nações Unidas sobre mudanças climáticas, foi firmado o primeiro acordo de extensão global para frear as emissões de gases de efeito estufa e para lidar com os impactos da mudança climática. O acordo

determina que seus 195 países signatários ajam para que a temperatura média do planeta sofra uma elevação "abaixo de 2 °C", mas "reunindo esforços para limitar o aumento de temperatura a 1,5 °C" em relação a era pré-industrial. Os países mais ricos se comprometeram a ajudar os mais pobres com financiamento de 100 bilhões de dólares por ano e transferência de tecnologia (COP21, 2015).

Além das emissões atmosféricas, práticas de cultivo, se realizadas de forma inadequada, podem causar efeitos deletérios em cursos d'água e em solos. No primeiro caso, pode-se citar como impactos ambientais negativos o assoreamento e a eutrofização, que ainda podem ser agravados pelo lançamento de efluentes sem tratamento. Já os solos, quando expostos a fatores intempéricos, têm suas propriedades físicas, químicas e biológicas afetadas, podendo sofrer erosão (CASSOL; LIMA, 2003) e diminuição e ou perda de seu potencial produtivo. Além disso, a maioria dos fertilizantes nitrogenados, especialmente sulfato de amônio e menos intensamente o nitrato de amônio, acidifica o solo, embora isso possa ser menos acentuado em alguns deles. O uso de resíduos orgânicos, poderiam não evitar a acidificação, mas poderiam reduzir a velocidade do processo (ISHERWOOD, 2000).

Países como a Dinamarca e o Butão tem-se destacado no incentivo aos agricultores para promover o país como 100 % orgânico. A primeira meta, a ser alcançada até 2020 é a de se duplicar a quantidade atual de terra cultivada organicamente. Atualmente, a Dinamarca já é o país com maior desenvolvimento e amplitude do comércio de produtos orgânicos e, em 2015, pretende investir mais de 53 milhões de euros para ampliar esta agricultura. Como primeiro objetivo, o país pretende oferecer às escolas, cantinas e hospitais até 60 % de alimentos de origem orgânica (BRANCO, 2015).

No Brasil, segundo a Lei 10.831 de 23 de dezembro de 2003 que dispõe sobre a agricultura orgânica e dá outras providências, considera-se como sistema orgânico todo aquele em que se adotam técnicas específicas, mediante a otimização do uso dos recursos naturais e socioeconômicos disponíveis e o respeito à integridade cultural das comunidades rurais, tendo por objetivo a sustentabilidade econômica e ecológica, a maximização dos benefícios sociais, a minimização da dependência de energia não-renovável, empregando, sempre que possível, métodos culturais, biológicos e mecânicos, em contraposição ao uso de materiais sintéticos, a eliminação do uso de organismos geneticamente modificados e radiações ionizantes, em qualquer fase do

processo de produção, processamento, armazenamento, distribuição e comercialização, e a proteção do meio ambiente.

Dos nove tópicos que definem a finalidade dessa legislação em relação aos benefícios da agricultura orgânica para o meio ambiente, sete deles são abordados no presente trabalho.

Nesse sentido, o desenvolvimento de alternativas inovadoras que atuem de forma integrada é de fundamental importância para o avanço do setor agropecuário, na melhoria do solo, no uso racional e sustentável de recursos hídricos e, sobretudo no que diz respeito ao atendimento das metas de redução de emissões de GEE estipuladas e ao atingimento dos Objetivos de Desenvolvimento do Milênio, especificamente o objetivo 7: Garantir a Sustentabilidade Ambiental (ONU, 2013).

Diante disso, o biofilme de microalgas no solo surge como uma tecnologia promissora. As microalgas apresentam taxa fotossintética até 50 % maior que de outras espécies vegetais (WANG et al., 2008) e, portanto, assimilam maiores quantidades de CO₂. Além disso, as microalgas também consomem outros gases de efeito estufa, como óxidos de nitrogênio (NO_x) e óxidos de enxofre (SO_x). Algumas espécies de cianobactérias têm a capacidade de fixar nitrogênio atmosférico, aspecto que pode culminar na melhoria da fertilidade do solo e, conseqüentemente, na produtividade dos cultivos, pastagens e formações florestais.

Diversas atividades agroindustriais, como a indústria de laticínios, a suinocultura, os abatedouros, dentre outras, geram efluentes com concentrações de poluentes maiores que as encontradas no esgoto doméstico. Esses efluentes podem ser utilizados para o cultivo de biomassa algal que, além de contribuir com o aumento do sequestro de carbono e com o tratamento deste efluente, possui uma ampla possibilidade de aproveitamento, sobretudo para a produção de bioenergia e para fins agrícolas, como a aplicação de biomassa de microalgas e cianobactérias edáficas em pastagens degradadas (ANTUNES; SILVA, 2010). De acordo com Jahnke; Priefer (2002), desde que haja umidade em equilíbrio, a superfície do solo torna-se rapidamente colonizada por comunidades algais, incluindo cianobactérias em associação com bactérias e fungos.

O uso desses materiais como fertilizantes orgânicos, entretanto, deve ser norteado por critérios, de modo a atender as necessidades agrícolas e não degradar o meio ambiente, visto que o N aplicado e não aproveitado pelas culturas, pode ser

perdido por lixiviação, eutrofizando os corpos hídricos ou volatilização, sofrendo deposição em outros ambientes; e principalmente por meio da emissão de NO e N₂O, que contribuem para a redução da camada de ozônio e para o aumento do efeito estufa (GALLOWAY et al., 2004). Além disso, a definição de uma frequência de aplicação ideal de efluente no solo pode fornecer nutrientes e umidade em condições adequadas para o estabelecimento do biofilme de microalgas e cianobactérias, além de influenciar na interação entre estes microrganismos no solo.

Diante do exposto, o objetivo deste estudo será a aplicação de efluente agroindustrial no solo, na busca pela otimização do estabelecimento de um biofilme de microalgas e cianobactérias, avaliando-se o efeito dessa prática na emissão de gases de efeito estufa (CH₄, CO₂ e N₂O) para a atmosfera, perdas de nitrogênio por volatilização e crescimento de *Pennisetum glaucum*.

3 HIPÓTESES DA PESQUISA

- A aplicação do efluente contendo biomassa algal em umidade e dose de nitrogênio ideais otimizará o estabelecimento do biofilme de microalgas no solo;
- O biofilme de microalgas e cianobactérias no solo poderá contribuir com menor emissão de CH₄, CO₂ e N₂O em comparação com fertilizantes nitrogenados convencionais;
- Por tratar-se de um efluente rico em material orgânico, espera-se menores perdas de nitrogênio por volatilização quando comparado a fertilizantes tradicionais, fato que poderá culminar na incorporação de N (nitrogênio) e MO (matéria orgânica) no solo;
- A aplicação da biomassa algal rica em nutrientes no solo poderá contribuir para o crescimento de *Pennisetum glaucum*, podendo substituir total ou parcialmente os fertilizantes convencionais.

4 OBJETIVOS GERAIS

Avaliar a aplicação de efluente agroindustrial, contendo biomassa algal em suspensão no estabelecimento de biofilme de microalgas e cianobactérias no solo,

avaliando-se o efeito dessa prática na emissão de GEE (CH_4 , CO_2 e N_2O), nas perdas de nitrogênio por volatilização e crescimento de *Pennisetum glaucum*.

4.1 Objetivos específicos

- Verificar a dose de nitrogênio a partir da biomassa algal e umidade ideais para o estabelecimento do biofilme de microalgas e cianobactérias na superfície do solo de forma sustentável;
- Avaliar a emissão de CH_4 , CO_2 e N_2O pelo biofilme de microalgas e cianobactérias desenvolvido no solo em comparação com fertilizantes nitrogenados convencionais.
- Avaliar as perdas de nitrogênio por meio da volatilização de amônia (NH_3) por parte do biofilme em comparação com fertilizante nitrogenado convencional;
- Avaliar o crescimento de *Pennisetum glaucum* quando da aplicação da biomassa algal no solo em comparação com o fertilizante nitrogenado;
- Verificar o efeito da aplicação do material orgânico na elevação dos teores de N e MO no solo a curto prazo.
- Identificar espécies de microalgas presentes na biomassa algal que se adaptam à superfície do solo.

5 REVISÃO DE LITERATURA

5.1 Potencialidade das algas

Em relação à conservação da água, as microalgas podem ser utilizadas de diferentes formas, a se destacar a biorremediação de efluentes e o condicionamento de solos erodidos. Esses microrganismos necessitam de água e nutrientes para se desenvolverem, ambos presentes em diferentes tipos de efluentes. Enquanto crescem, as microalgas removem os nutrientes e geram biomassa para ser aproveitada.

O cultivo de algas em efluentes apresenta vantagens como o aproveitamento dos nutrientes presentes no esgoto para a produção de biomassa - fazendo com que não haja a necessidade do aporte externo de nutrientes-, produção durante todo o ano e elevada eficiência fotossintética, representando um dos melhores tratamentos biológicos no futuro (KEBEDE-WESTHEAD et al., 2004). As algas como seres fotoautotróficos realizam a fotossíntese e assim, liberam O₂. O oxigênio é utilizado pelas bactérias para a degradação aeróbia da matéria orgânica. As bactérias em sua respiração liberam CO₂ que será utilizado como fonte de carbono para o crescimento das algas, que também utilizam outros nutrientes já presentes no efluente para seu crescimento, como nitrogênio e fósforo.

Diante disso, diversos estudos têm avaliado o cultivo de algas em sistemas de tratamento de águas residuárias a partir da ótica da eficiência de remoção de nutrientes. Martínez et al. (2000) obtiveram significativa remoção de fósforo e nitrogênio utilizando a microalga *Scenedesmus obliquus*. Para fósforo, atingiram 98% de remoção, enquanto que para nitrogênio amoniacal foi alcançada a remoção completa, isso para tempos de detenção hidráulica de 94 e 183 horas, respectivamente. Gomez Villa et al. (2005), trabalhando também com *S. obliquus*, obtiveram remoções de 47 % e 45 % de nitrogênio e fósforo, respectivamente, no inverno, enquanto que no verão essas remoções foram de 79 % e 73 %. Já Wei et al. (2008), trabalhando em escala de laboratório com produção de microalgas em sistemas de crescimento aderido, obtiveram redução na concentração de fósforo total de 98 %, enquanto a redução de nitrogênio total foi de 87 %.

Em trabalho realizado por Lu et al. (2015), foram utilizados cinco tipos de águas residuárias de uma fábrica de processamento de carne em diferentes etapas para

cultivar algas. Entre os objetivos, o principal era determinar as relações entre o crescimento de algas e a remoção de nutrientes. *Chlorella* sp. foi a estirpe mais robusta de algas para o tratamento de águas residuárias de processamento de carne e a falta de um ou mais nutrientes foi considerado como o gargalo ao crescimento das algas em efluentes originados de cada processo individualmente. Quando os autores utilizaram efluentes mistos, observaram efeitos sinérgicos positivos sobre o crescimento das algas e por isso concluíram que a mistura de águas residuárias é uma maneira econômica e eficiente para equilibrar o nível de nutrientes, melhorando o crescimento das algas e a eficiência da remoção de nutrientes na água residuária em questão.

Outras pesquisas mostraram resultados referentes à produção de biomassa mediante o tratamento de esgotos. Para sistemas de lagoas de alta taxa (LATs) e fotobiorreatores tubulares, a produção varia de 10 a 45 g m⁻² dia⁻¹ (GONZÁLEZ et al., 2008; LUNDQUIST et al., 2010). Já para sistemas de crescimento aderido, a produção pode variar de 2,2 a 5,5 g m⁻² dia⁻¹ (GUZZON et al., 2008; JOHNSON; WEN, 2010). Para atender satisfatoriamente à produção de biocombustíveis, Li et al. (2011) afirmam que as cepas de microalgas devem atender a alguns requisitos para que o cultivo seja justificado, sendo eles, a capacidade de sobrevivência em águas residuárias e, a capacidade de se desenvolver em um consórcio de microrganismos.

Uma vez que os nutrientes para o crescimento da biomassa já estão presentes no meio, a geração de microalgas tendo o esgoto sanitário como meio de cultivo pode representar uma forma de reduzir os custos de produção de biocombustíveis. Além disso, as diferentes formas de se obter energia, como a extração de lipídeos para o biodiesel, a fermentação de carboidratos para o bioetanol e a digestão anaeróbia para o biogás, podem tornar o processo sustentável economicamente (PARK et al., 2011).

No caso das LATs, também chamadas de raceways, as quais possuem profundidade de 0,2 a 1,0 m, a mistura do efluente no interior da lagoa é realizada por uma estrutura de pás, que conferem velocidade horizontal que deve estar na faixa de 0,15 a 0,3 m s⁻¹ (CRAGGS, 2005). Em lagoas com essa configuração, a adição de CO₂ para suprir a demanda das algas deve ser realizada no sentido contrário ao fluxo do efluente, gerando turbulência no interior da lagoa e facilitando a dissolução do gás (PARK et al., 2011). Durante seu desenvolvimento nas LATs, as microalgas assimilam os nutrientes existentes no meio, e quando são coletadas, conseqüentemente, ocorre a remoção dos nutrientes do efluente.

As LATs, geralmente fazem parte de um sistema completo de tratamento. Quando esse conjunto de lagoas é dimensionado com base na remoção de DBO, possuem um requisito de área, aproximadamente, cinquenta vezes maior que um sistema de lodos ativados. No entanto, os custos de construção não passam da metade, e os gastos de operação são apenas um quinto do que é necessário no sistema de lodos ativados (CRAGGS et al., 2011).

O custo de operação de um sistema de LAT para produção de microalgas pode ser ainda menor diante da inclusão da digestão anaeróbia da biomassa, antes ou após a extração de lipídeos, a depender do conteúdo lipídico. Esse processo gera biogás rico em gás metano, que pode ser utilizado na geração da energia necessária à operação do próprio sistema (SIALVE et al., 2009). Park et al. (2011) afirmam que além dos custos de operação da produção e colheita de biomassa algal a partir do tratamento de esgotos por LATs serem reduzidos, ainda existem significativas vantagens como a não captação de água para a produção de algas, e a produção de energia renovável. Além disso, os mesmos autores ainda mencionam a possibilidade de utilizar a biomassa digerida anaerobiamente como fertilizante, reduzindo ainda mais os custos de operação.

Os sistemas de lagoas são amplamente utilizados em todo mundo, todavia, as LATs são menos numerosas que as lagoas facultativas e as lagoas de maturação, por exemplo. Entretanto, com a exigência cada vez maior por parte da legislação para a remoção de nutrientes e a busca intensificada por fontes alternativas de energia, é provável que sua utilização se amplie cada vez mais em um futuro próximo (PARK et al., 2011).

Uma das principais alternativas para a viabilização da produção e aproveitamento de microalgas é a estratégia da biorrefinaria (OLGUÍN, 2012; UGGETTI et al., 2014). Essa abordagem consiste na combinação de tecnologias de tal forma que o resíduo de um processo de produção torne-se a matéria prima de outro, ou seja aproveitada para outro fim. Com isso, forma-se um ciclo fechado de produção, onde os resíduos possuem valor e não são desperdiçados (RAWAT et al., 2013). A ideia é transformar um modelo linear em um modelo circular de produção no qual os materiais retornam ao ciclo produtivo ao invés de serem descartados como resíduo.

5.1.1 Biodiesel

A utilização de microalgas como matéria-prima para a produção de biocombustíveis tem recebido atenção considerável devido às suas vantagens em relação a plantas superiores e outros organismos (GONG; JIANG, 2011). Entre esses biocombustíveis, estudos recentes têm focado no desenvolvimento de tecnologias para a produção de biodiesel, um combustível biodegradável derivado de biomassa, utilizado para substituir parcial ou totalmente o diesel.

O biodiesel pode ser produzido a partir da transesterificação ou alcoólise dos triacilgliceróis, reação na qual esses compostos reagem com metanol ou etanol, resultando em ésteres de cadeia longa e uma molécula de glicerol (CHISTI, 2007; SONG et al., 2008). Além de ser renovável, o biodiesel possui vantagens sobre o diesel de petróleo como a menor emissão de gases na sua queima, não contribuindo para as mudanças climáticas e a não emissão de compostos aromáticos, reduzindo os impactos ambientais negativos (MENG et al., 2009).

Vários tipos de lipídeos têm sido escolhidos para a produção de biodiesel, como os óleos vegetais, gorduras animais e óleo de fritura. Entre as plantas oleaginosas mais utilizadas na produção de biodiesel, destacam-se a soja, o algodão, a palma e a canola. Já entre os microrganismos capazes de armazenar óleos, que são alternativas para o conflito com a produção de alimentos, podemos citar as microalgas, fungos, leveduras e bactérias. As microalgas sobressaem-se em relação aos demais pela sua capacidade de produção de lipídio semelhante às plantas oleaginosas e por utilizarem como fonte de carbono o CO₂ (TAKAGI; YOSHIDA, 2005; MENG et al., 2009).

Um dos principais entraves dessa rota de aproveitamento energético diz respeito à extração do conteúdo lipídico das células de microalgas. Vários métodos vêm sendo avaliados, tais como tratamento por micro-ondas, autoclave, “bead beating” e ultrassom (SOUZA SILVA et al., 2014). Natarajan et al. (2014) afirmam que dentre as tecnologias estudadas para o rompimento de células de microalgas e extração de lipídeos, o ultrassom é a que recebe maior atenção devido a maior facilidade técnica para aumento de escala. No entanto, independente da tecnologia de extração, os custos ainda representam um problema quando se pensa em produção em escala real.

Um número crescente de empresas está envolvido em testes para desenvolvimento de combustíveis para aviação à base de biocombustível de algas, mas

até agora todos os testes têm sido feitos, quer com uma mistura de combustíveis fósseis e biocombustíveis, ou com biocombustível de produtos alimentícios.

No Brasil, a empresa Algae Biotecnologia tem foco especial na produção de biodiesel e potencial de sequestro de carbono pelas microalgas, a empresa acompanha os desenvolvimentos tecnológicos nesta área, com a expectativa de que a paridade com o custo de combustíveis fósseis ocorra dentro de uma década (ALGAE, 2015). A empresa Claeff Engenharia e Produtos Químicos Ltda., localizada em Pernambuco, possui uma unidade de produção instalada especialmente para o cultivo e extração de microalgas (*Chlorella*, *Spirulina*, *Scenedesmus* e *Haematococcus*) adaptadas às condições da região Nordeste, visando a produção de insumos úteis às indústrias de alimentos e cosméticos (CLAEFF, 2015).

Dentre as formas de aproveitamento da biomassa algal para energia, a digestão anaeróbia e a liquefação hidrotérmica surgem como grande alternativa, já que o beneficiamento teria o custo reduzido pelo fato de que a biomassa não teria que passar por processo de secagem. Outra vantagem é o pouco acúmulo de óleo da biomassa produzida no esgoto, inviabilizando a produção de biodiesel a partir dessa fonte.

5.1.2 Biogás

Este processo de degradação da matéria orgânica ocorre por meio de quatro reações principais:

- i) hidrólise – polímeros orgânicos complexos são decompostos em monômeros como açúcares, ácidos orgânicos e aminoácidos por bactérias hidrolíticas;
- ii) acidogênese – monômeros orgânicos são convertidos em hidrogênio, bicarbonato, ácidos acético, propiônico e butírico e outros compostos orgânicos, tais como etanol e ácido lático por bactérias acidogênicas;
- iii) acetogênese – oxidação de compostos orgânicos reduzidos gerando acetato ou hidrogênio e dióxido de carbono por ação de bactérias acetogênicas;
- iv) metanogênese – fermentação acetoclástica por archaeas metanogênicas acetoclásticas, produzindo metano.

Reações paralelas também ocorrem, como por exemplo, a oxidação de compostos orgânicos reduzidos a hidrogênio, e oxidação do hidrogênio, através da

redução de bicarbonato pelas archeas metanogênicas hidrogenotróficas, gerando metano (VIANNA, 2011).

A conversão de matéria orgânica em biogás por meio da digestão anaeróbica produz essencialmente metano e dióxido de carbono, além de pequenas quantidades de outros gases, como sulfetos e gás hidrogênio (BRENNAN; OWENDE, 2010). No processo tradicional, realizado em um estágio, concentrações de gás hidrogênio não são usualmente encontradas, uma vez que o mesmo é consumido durante a metanogênese para a produção de metanos e gás carbônico como produtos finais (UENO et al., 2007; WARD et al., 2008). Todavia, processos de dois estágios têm sido utilizados para a produção de biogás e consistem essencialmente nas fases acidogênicas e metanogênicas, focando na produção de hidrogênio e metano, respectivamente.

A matéria orgânica submetida à digestão anaeróbica precisa atender à determinadas condições para que o rendimento do processo seja satisfatório. O teor de umidade, por exemplo, é necessário que esteja entre 80 e 90 % (MCKENDRY, 2002), o que pode ser obtido com a biomassa algal. Uma das principais limitações do uso da biomassa algal na digestão anaeróbia é a difícil biodegradabilidade e toxicidade anaeróbia, que podem ser justificadas respectivamente, pela presença de espécies com parede celular composta de celulose e lignina, componentes de difícil degradação; e pela baixa relação C:N com possível inibição da digestão pelo acúmulo de amônia. Nesse caso, de acordo com Brennan; Owende (2010), a solução pode ser a co-digestão com produtos que possuem elevada relação C/N. Yen; Brune (2007) obtiveram significativo incremento na produção de metano através da adição de resíduos de papel à biomassa algal. Eles conseguiram praticamente dobrar a produção de metano com a co-digestão mencionada, em uma razão de 1/1 entre resíduo de papel e biomassa algal ($1,17 \text{ mL.L}^{-1} \text{ dia}^{-1}$, contra $0,57 \text{ mL L}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ da digestão da biomassa algal pura). Ehinem et al. (2009), que por sua vez, fizeram a recuperação energética da biomassa algal após a extração de lipídeos e transesterificação, por co-digestão com glicerol, também obtiveram resultados satisfatórios.

Ainda são poucas as pesquisas que visam a produção de biogás através de biomassa algal, sobretudo em nível nacional. A digestão anaeróbica da biomassa algal após a extração de lipídeos, em conjunto com a otimização da produção de lipídeos e a utilização de tecnologias de secagem da biomassa, pode ser essencial para melhorar

a viabilidade econômica da produção de biodiesel a partir das microalgas (EHIMEN et al., 2011). De acordo com Sialve et al. (2009), a extração lipídica da biomassa contendo menos que 40% de lipídeos combinada com a digestão da biomassa residual não é efetiva em termos energéticos, tampouco em termos de custos. Nesse caso, segundo os autores, a digestão anaeróbia de toda a biomassa parece ser a estratégia ótima em termos de balanço energético.

5.1.3 Processos Termoquímicos

Nos sistemas de utilização de microalgas como combustíveis, há uma série de tecnologias de conversão que ainda precisam ser exploradas para que se possa chegar à comercialização. De acordo com Bennion et al. (2015), várias tecnologias surgiram como opções viáveis para a extração e a conversão de biomassa em bio-combustível que inclui, mas não se limita a pirólise, liquefação hidrotérmica (HTL) e extração de lipídios. Sendo que duas tecnologias termoquímicas, HTL e pirólise, têm demonstrado experimentalmente serem processos viáveis para a conversão de microalgas em bio-óleo. Ambas as tecnologias têm o benefício de converter termoquimicamente, constituintes não lipídicos de microalgas em um bio-óleo.

Entre estes métodos, a liquefação hidrotérmica é considerada como sendo um método promissor para converter biomassa em biocombustíveis. Este processo é vantajoso pelo fato de a secagem da matéria-prima não ser necessária, uma vez que a biomassa de microalgas geralmente tem alto teor de umidade e o processo de secagem exigiria grande quantidade de energia (ZOU et al., 2010).

Por outro lado, na pirólise, a remoção da umidade requer energia considerável. Estudos realizados por Bennion et al. (2015) mostraram que a pirólise não é um processo energeticamente e ambientalmente favorável para conversão de biomassa microalgal em biocombustível, principalmente devido à secagem da biomassa.

Miao et al. (2004) realizou testes de pirólise rápida de microalgas em reator de leito fluidizado e verificou que o bio-óleo a partir da pirólise rápida de microalga tem um alto valor de aquecimento de 29 MJ kg^{-1} , o que é cerca de 1,4 vezes maior que o da madeira. O conteúdo de oxigênio mais baixo de bio-óleo de microalgas fará com que ele tenha uma melhor estabilidade na armazenagem do que a madeira. Os combustíveis líquidos de pirólise rápida a partir de microalgas podem ser utilizados

em muitas aplicações como substitutos diretos para os combustíveis convencionais, ou como fonte de produtos químicos.

Outra opção é o tratamento prévio da biomassa algal, com a realização da torrefação que pode ser entendida como um processo de pré-carbonização, onde ocorrem mudanças nas características da matéria prima. De acordo com Chen et al. (2015), estas mudanças são atribuídas à degradação térmica da biomassa, de modo que os constituintes lignocelulósicos, estruturas e grupos funcionais variem de forma permanente.

Enfim, existem ainda alguns problemas a serem resolvidos no processo de produção de combustíveis a partir de microalgas. Um exemplo do que ainda precisa ser alvo de estudos é a colheita da biomassa de microalgas de uma maneira eficaz a um custo economicamente viável.

5.1.4 Fertilizantes

Diante de todas as limitações das demais formas de aproveitamento da biomassa algal, a utilização da mesma para aplicação no solo surge como uma alternativa promissora, principalmente quando se trata do benefício de fechar o ciclo dessa cadeia em sistemas agrícolas ou agroindustriais.

A aplicação das microalgas no solo pode melhorar a capacidade dos mesmos de capturar dióxido de carbono e, portanto, aumentar seu conteúdo de matéria orgânica. Esse fato pode contribuir para a melhoria da estrutura do solo, elevando sua capacidade de retenção de água, o que representa uma maneira de recuperar áreas com solo degradado ou que estejam erodidas, minimizando o assoreamento de corpos d'água.

A biomassa algal possui nutrientes (nitrogênio, fósforo, carbono, dentre outros micro e macro nutrientes) que podem ser utilizados como fertilizantes agrícolas ou como substrato alimentício para ração animal. Stephens et al. (2010), defendem que o mercado para produtos derivados de óleo das microalgas será facilmente saturado se a produção de biocombustíveis oriundos de algas aumentar vertiginosamente. Reforçando ainda mais a necessidade da destinação correta da biomassa depois de sua utilização para a produção de biocombustíveis.

O uso de biomassa algal como condicionante de solo e como biofertilizante no cultivo do arroz foi descrito por Metting (1990) e Metting (1996). Estudos mais recentes, como Mulbry et al. (2005), apresentam resultados do uso da biomassa como fertilizante agrícola para culturas de pepino e milho. Nesse experimento, a biomassa algal foi cultivada em esterco de bovinocultura anaerobiamente tratado, apresentando como resultado a disponibilidade de 33 % do nitrogênio da biomassa algal para a demanda de nitrogênio da planta em 21 dias. O crescimento das culturas, em termos de peso seco da planta e do conteúdo de nutrientes, foi equivalente quando comparados fertilizantes oriundos de biomassa algal e de fertilizantes comercialmente usados.

Os primeiros trabalhos relacionados à utilização de algas como bio-fertilizantes datam da década de 30 e ainda, nos dias atuais, estão em fase de pesquisa e desenvolvimento. De (1936), sugeriu pela primeira vez, que cianobactérias poderiam ser usadas como biofertilizante em plantações de arroz aumentando a fertilidade do solo, e posteriormente descobriu que o bio-fertilizante de algas poderia manter alta produção de arroz, mesmo na ausência de outro fertilizante (WANG et al., 2015).

De (1939), em seu trabalho que investigou o papel das cianobactérias na fixação de nitrogênio em arrozais, mostrou que houve fixação de nitrogênio pelas algas e efeito da decomposição de algas cultivadas aumentando o conteúdo de nitrogênio total no solo. Afirmou ainda que as algas podem crescer e fixar nitrogênio no solo, independentemente da presença de bactérias ou fungos. Também, com o objetivo de aprofundar nesses estudos, Fogg (1941) realizou testes isolando uma espécie de *Anabaena* e comprovou que estas eram realmente capazes de fixar nitrogênio atmosférico.

Ainda sobre a influência da inoculação de cianobactérias como bio-fertilizantes, Venkataraman; Goyal (1968), realizaram um experimento em arrozais em Vasudevanallur in Madras State, na Índia contendo três tratamentos, sendo eles: (i) tratamento controle, (ii) uma mistura de fertilizante com superfosfato e (iii) molibdato de sódio e uma mistura de fertilizantes suplementado com cianobactérias. Os autores concluíram que na mistura onde o fertilizante foi suplementado com cianobactérias, a produção de grãos foi significativamente maior (em nível de 5 %), sendo o rendimento de 15,76 % maior do que quando a mistura de fertilizantes foi aplicada sozinha.

Além destes, estudos foram realizados no Senegal entre 1973 e 1975 (ROGER; REYNAUD, 1978), onde as variações qualitativas e quantitativas na fixação de N₂

pelas cianobactérias foram estudadas durante o ciclo de cultivo do arroz. A redução do acetileno foi utilizado para medir a atividade específica da biomassa algal quanto a sua capacidade de fixar nitrogênio e para avaliar o modo como ela varia com a intensidade da luz solar. Os mesmos autores em 1979 realizaram um levantamento de estudos sobre o desenvolvimento da biomassa algal e sua capacidade de fixar N, durante o ciclo de cultivo de arroz, onde os mesmos citam que a escassez de estudos semelhantes retarda o progresso da investigação nesta área. Os autores citaram que as principais metodologias para determinar a abundância de algas são: técnicas de plaqueamento, análise de pigmentos e observação direta.

As pesquisas continuaram se aprofundando e em 1980, Saha; Mandal, investigaram a eficiência da inoculação de três culturas de cianobactérias, no aumento da quantidade de grãos, rendimento de palha e no conteúdo de nitrogênio no grão e no solo, sob cultivo de arroz. O experimento foi realizado em estufa com presença e ausência de aplicação de nitrogênio via ureia. A inoculação de cianobactérias aumentou significativamente o rendimento de grão e palha de arroz e de absorção de nitrogênio no grão, mas a eficiência da inoculação diminuiu gradualmente com o aumento dos níveis de aplicação de ureia. O teor de nitrogênio no solo após a colheita da cultura registrou um aumento significativo devido a inoculação, mas após a secagem do solo ao ar, foi observada uma diminuição acentuada, o que indicava segundo os autores, que a maior parte do nitrogênio adicionado ao solo por cianobactérias por meio da fixação não persistiu após a secagem do solo ao ar (SAHA; MANDAL, 1980).

Além das melhorias químicas causadas pela inoculação de cianobactérias no solo, Roychoudhury et al. (1983), realizaram pesquisa visando determinar o efeito das cianobactérias na estabilidade de agregados do solo e rendimento de arroz sob diferentes níveis de irrigação e doses de nitrogênio. Os resultados mostraram que a inoculação desses organismos aumentou a proporção de agregados estáveis em água em todos os níveis de irrigação e aplicação de ureia e que houve uma interação positiva entre as cianobactérias e os níveis de umidade e cianobactérias e níveis de ureia, resultando em aumento de produtividade das culturas.

Além deste, Puskas; Esen (1989), utilizaram efluente das lagoas de alta taxa, rico em algas como um condicionador do solo. Os autores utilizaram um método alternativo para remoção de algas por filtração lenta. Para este efeito, vários filtros de

areia com uma secção de 1x1 m, foram preenchidos por cascalho a uma profundidade de 0,2 m, em seguida, encheram-se por solo arenoso por um mais de 0,40 m. O efluente da lagoa contendo microalgas foi filtrado através deste sistema, poucos centímetros do leito do filtro foram raspados e o material utilizado como condicionante de solos.

Taylor et al. (1988), realizaram um experimento em câmara de crescimento para quantificar a produção de biomassa, remoção de N e fixação de N₂ de um meio sintético de *Chlamydomonas reinhardtii* e *Anabaena flos-aquae*, sendo a primeira uma alga verde e a segunda uma cianobactéria. Neste estudo, o meio sintético utilizado, se mostrou promissor potencial para a produção de biomassa de algas, sob condições controladas, resultando em uma biomassa com um teor relativamente elevado de N. As duas espécies foram cultivadas com sucesso em meio sintético. Uma quantidade substancial de N por meio da biomassa de cianobactérias foi adquirida da atmosfera.

5.2 Diversidade das algas

O termo alga é desprovido de valor taxonômico, pelo fato de designar organismos muito distintos entre si no que diz respeito à origem, composição química e morfologia. Enquanto as macroalgas são quase sempre bentônicas, a maioria das microalgas tem hábito planctônico, embora haja também muitas espécies bentônicas e terrestres (LOURENÇO, 2006).

O ‘fitoplâncton’ refere-se ao conjunto de algas microscópicas que vivem em suspensão na coluna d’água. As microalgas planctônicas de dado local constituem o fitoplâncton, ou seja, são componentes fotoautotóficos do plâncton. Os termos “fitoplâncton” e “microalgas”, portanto não são sinônimos (LOURENÇO, 2006). Em ficologia aplicada, o termo microalga é utilizado de uma forma geral para designar algas eucarióticas e cianobactérias procarióticas, microorganismos fotossintéticos filamentosos ou unicelulares (MASOJÍDEK et al., 2010).

Apesar de serem geralmente de vida livre, um certo número de microalgas vive em associação simbiótica com uma variedade de outros organismos e possuem um mecanismo fotossintético bastante semelhante às plantas terrestres (RICHMOND, 2004). Porém, diferentemente das plantas, as microalgas não têm embriões verdadeiros, raízes, caules e folhas, mas têm competência para usar água, luz solar e CO₂ para sintetizar biomassa através da fotossíntese. Em termos de biomassa, elas

formam o maior grupo mundial de produtores primários (PRIYADARSHANI et al., 2011). Geralmente, a composição das microalgas é $C_{0,48}H_{1,83}N_{0,11}P_{0,01}$ (GROBBELAAR, 2004) além de outros componentes, incluindo principalmente lipídeos (7-23 %), carboidratos (5-23 %), e proteínas (6-52 %). A composição química das microalgas é principalmente dependente da espécie e das condições de cultivo (ZHU, 2015).

As microalgas se reproduzem mais comumente vegetativamente ou assexuadamente (divisão celular vegetativa ou reprodução vegetativa). Por outro lado, muitas microalgas são também capazes de se reproduzir sexuadamente, permitindo a troca genética e a manutenção da variabilidade genética dentro de uma determinada população. Isto pode aumentar a sobrevivência e sucesso evolutivo de uma espécie (MAYNARD SMITH, 1976), o que poderia ser definitivo quando se trata da adaptação em superfícies, como por exemplo, o solo.

As microalgas podem ser encontradas em ambientes marinhos, de água doce (PRIYADARSHANI et al., 2011), e também na superfície de todos os tipos de solos (RICHMOND, 2004). São denominadas algas epilíticas as que vivem sobre substrato rochoso (SCHWARZBOLD et al., 2013).

Além de atuarem como dreno de CO_2 , Killham (1994), cita que o desenvolvimento de microalgas no solo é importante no estabelecimento de processos de formação do solo, de maneira especial em áreas áridas vulcânicas, solos desérticos e paredes rochosas, sendo o metabolismo das algas fundamental para a formação do solo, pois além de fornecerem uma entrada de carbono através da fotossíntese, elas produzem e liberam ácido carbônico, o que contribui causando agregação das partículas.

De acordo com Maier et al. (2000), as populações de algas do solo geralmente exibem variações sazonais, porém o autor cita quatro grupos principais de algas que geralmente são encontrados no solo. Visando uma avaliação a respeito da formação de um biofilme no solo, a seguir são detalhadas algumas divisões com características que mostram a possibilidade do estabelecimento das algas na superfície do solo.

5.2.1 Divisão Cyanophita

Acredita-se que as cianobactérias estejam entre os organismos vivos mais antigos do mundo. As espécies atuais são muito similares a registros fósseis do período Proterozoico ($2,5 \times 10^9$ até $5,70 \times 10^8$ anos atrás) (PAINTER, 1993). Nessa época, a Terra era um ambiente hostil, com extrema flutuação de temperatura, baixa concentração de oxigênio na atmosfera e elevada salinidade no mar primitivo (PAINTER, 1993). A hipótese de as cianobactérias possuírem ligação com as espécies fossilizadas do Proterozoico, que possui tais condições extremas, ajuda a entender a habilidade desses organismos de colonizarem diversos ambientes hoje em dia.

As cianobactérias como organismos fotossintéticos procariontes, comuns em todos os ambientes aquáticos, bem como em ambientes terrestres úmidos. Muitas espécies tem hábitos bentônicos e são capazes de formar biofilmes sobre sedimentos e rochas, sendo componentes importantes do chamado microfítobentos (LOURENÇO, 2006).

Em sistemas aquáticos utilizados para a captação de água, a preocupação com a proliferação de cianobactérias existe devido a capacidade de produzir compostos com gosto e odor, além de causar a colmatação de filtros e aumento da frequência da lavagem dos mesmos, significando aumento nos custos do tratamento (AWWA, 2010). Somado a isso, as cianobactérias ainda podem liberar toxinas, que podem ser prejudiciais para diversos organismos, inclusive o homem, tornando-se importante o estudo de outras possibilidades de destinação do efluente utilizado para a produção de biomassa algal, ao invés da destinação em corpos hídricos.

Cianobactérias podem crescer em ampla faixa de razão N:P, mas uma relação baixa favorece a remoção de nutrientes (CAI et al., 2013). Laliberté et al. (1997), encontraram remoção de fosfato cerca de 8,5 vezes maior a partir da redução da razão N:P de 6 para 1, a partir do crescimento de *Phormidium bohneri* em efluente doméstico após tratamento secundário. Phang et al. (2000) corroboraram com a afirmação, em estudo que avaliou o cultivo de *Arthospira platensis* em lagoas de alta taxa. O efluente possuía elevado conteúdo de carbono e a relação C:N:P foi de 24:0,14:1. As remoções de nutrientes foram de 99,9 e 99,4 % para nitrogênio amoniacal e fosfato, respectivamente.

Olguín et al. (2003), estudaram a produção de *Arthrospira maxima* em lagoas de alta taxa utilizando efluente de suinocultura tratado em digestor anaeróbio. Os autores afirmaram que a remoção de nutrientes foi elevada, no entanto, variou de acordo com a profundidade da lagoa e a estação do ano. A remoção de nitrogênio amoniacal variou de 84-96% e a remoção de fósforo variou de 72-87 %.

As cianobactérias ocorrem em uma enorme diversidade de habitats, água doce e marinhos, como o plâncton e o perifíton (anexado a superfícies) (MAIER et al., 2000), sendo que em relação à sua aplicação no solo, o interesse existe devido a sua capacidade de fixar nitrogênio atmosférico. Essa capacidade existe pela presença de heterocitos, que fornecem um ambiente anaeróbico em que a fixação de nitrogênio pode ocorrer via complexo enzimático nitrogenase. Algumas cianobactérias que não produzem heterocitos são capazes de fixar nitrogênio, mas apenas sob condições anóxicas ou em microambientes anaeróbios (AWWA, 2010). A fixação de nitrogênio pode reduzir a demanda por fertilizantes químicos e conseqüentemente reduzir os custos da cultura.

Geralmente, as cianobactérias são as primeiras colonizadoras. Elas possuem filamentos que são cercados por bainhas de polissacarídeos pegajosas que ligam às partículas do solo e contribuem para a formação de agregados. Uma vez que a superfície do solo está estabilizada por cianobactérias, fungos e pequenos líquens pioneiros aparecem. Nos estágios posteriores, líquens e maiores musgos colonizam (BELNAP, 2006; LÁZARO et al., 2008).

Além disso, alguns estudos relataram que cianobactérias podem interferir positivamente nas características físicas, químicas e biológicas do solo, por melhorarem a estruturação, aumentarem a agregação das partículas, aeração, pela capacidade de retenção de água, sendo que sua aplicação pode ser de grande importância para a recuperação de solos (ROGERS; BURNS, 1994; DE-CAIRE et al., 1997; HEGDE et al., 1999).

5.2.2 Divisão Chlorophyta

As clorofíceas são organismos eucariontes fotossintéticos, muito abundantes em todo o planeta. Essa classe é amplamente diversificada, com centenas de gêneros e milhares de espécies que habitam ambientes de água doce, salobra e marinha, além

de ambientes terrestres, e podem crescer aderidas a algum tipo de substrato ou em suspensão na coluna d'água (AWWA, 2010).

Muitas espécies de clorofíceas são heterotróficas ou mixotróficas, podendo consumir formas orgânicas de carbono, além de nutrientes inorgânicos. Esse fato pode representar uma vantagem quando o meio de cultivo utilizado é algum efluente com elevado conteúdo de carbono como efluentes oriundo da criação de animais (CAI et al., 2013) e agroindústrias.

Dentre as clorofíceas, espécies do gênero *Chlorella* sp. tem sido utilizadas eficientemente no tratamento de efluentes, com elevadas remoções de nutrientes. Hernández et al. (2013), cultivaram *Chlorella sorokiniana* em efluente de suinocultura tratado por separação de sólidos-líquido por coagulação e processo de nitrificação-desnitrificação. Após esse pré-tratamento, a carga aplicada de $N-NH_4^+$ foi de $1,2 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ de N. Foi utilizado fotobiorreator tubular. O estudo obteve 82 % de remoção de nitrogênio amoniacal. Li et al. (2011), avaliaram o crescimento de *Chlorella* sp. em efluente doméstico bruto e autoclavado, em reatores em escala de bancada. Os autores obtiveram 93 e 94 % de remoção de nitrogênio amoniacal no esgoto autoclavado e no bruto, respectivamente. Para fósforo, as remoções obtidas foram de 79 % no meio autoclavado e 81 % no efluente bruto. No entanto, os autores observaram que o pH chegou a valores superiores a 9, e, portanto, parte dessa remoção pode ser atribuída à precipitação química do fósforo. Wang et al. (2010) obtiveram remoção de 100 % de nitrogênio amoniacal em cultivo de *Chlorella* sp. em efluente da criação de animais digeridos anaerobicamente. Segundo os autores, esses resultados mostraram que as espécies presentes são tolerantes à elevadas concentrações de $N-NH_4^+$. A remoção de fósforo total nesse estudo variou entre 62,5 e 74,7 %.

Outros gêneros de clorofíceas são mencionados na literatura com eficientes remoções de nutrientes em efluentes. de Godos et al. (2010), utilizando efluente de suinocultura em lagoas de alta taxa, obtiveram 96 % de remoção de $N-NH_4^+$, sendo que o gênero dominante foi *Scenedesmus* sp. Sutherland et al. (2014), obteve até 79 % de remoção de $N-NH_4^+$ no tratamento de efluente doméstico primário em lagoa de alta taxa, com dominância de 90 % de *Micractinium pusillum*. Santiago et al. (2013), em lagoas de alta taxa com efluente de reator UASB, observaram dominância de *Desmodesmus* sp., além de *Chlorella* sp., e obtiveram remoção de nitrogênio amoniacal e fósforo solúvel de 71 % e 14 %, respectivamente.

A aplicação da biomassa algal no solo, portanto, se trata de uma possibilidade de incremento de nutrientes no solo. Inúmeras pesquisas relatam a importância da aplicação de cianobactérias no solo devido à sua capacidade de fixação de nitrogênio atmosférico. Mas pouco tem sido relatado a respeito da importância das clorofíceas no que diz respeito ao aproveitamento de nutrientes e melhoria das características físicas e químicas do solo.

5.2.3 Divisão Ochrophyta

Essa divisão inclui diferentes grupos de algas, como as diatomáceas, as eustigmatofíceas, as rafdofíceas, as pelagofíceas, os silicoflagelados, os pedinelídeos, dentre outros grupos. As diatomáceas são organismos eucariotas pertencentes ao Filo Heterokontophyta e à classe Bacillariophyceae. A principal característica morfológica que distingue as diatomáceas são as suas frústulas silicosas, as quais representam caráter importantíssimo para sua classificação devido a seus ricos detalhes de forma e ornamentação (LOURENÇO, 2006; RODRIGUES, 2007).

Assim como as algas verdes e as cianobactérias, as diatomáceas são ubíquas, ou seja, ocorrem no mar, em água salobra, em água doce e em ambientes terrestres úmidos. O papel das diatomáceas na ecologia de sedimentos é de extrema importância, pois elas podem ser as principais espécies constituintes do microfítobentos em vários locais (LOURENÇO, 2006).

Zamalloa et al. (2013), avaliaram um sistema combinado de tratamento químico-biológico, com a produção de microalgas em um reator de membrana instalado no telhado de uma residência. Apesar de o sistema ter sido inoculado com a espécie *Scenedesmus obliquus*, ao final do experimento observou-se a dominância dos gêneros *Phormidium* sp. e *Oscillatoria* sp. na superfície do biofilme, além da presença de diatomáceas, outras cianobactérias e bactérias.

As diatomáceas fitobentoônicas e perifíticas vivem associadas a substratos. Abundantes no perifíton, as diatomáceas são eficientes colonizadoras e apresentam estruturas especializadas em fixação como estratégias de adesão, tais como: a rafe, campo de poros apicais e rimopórtulas por onde secretam mucilagem, material polissacarídeo pelo qual se aderem a substratos (ROUND et al., 1990).

Há também que se destacar, dentro da divisão das Ochrophyta a classe Chrysophyceae (algas douradas), nanoflagelados heterotróficos que podem ocorrer em diferentes ambientes (BOENIGK et al., 2006) e estão entre os grupos mais comuns e abundantes no solo (MAIER et al., 2000).

5.3 Algas no solo e interferências nos ciclos do carbono e nitrogênio

5.3.1 Ciclo do C no solo

Os organismos fotossintéticos, também são conhecidos como produtores primários e incluem plantas e microrganismos, tais como algas, cianobactérias, algumas bactérias e alguns protozoários (MAIER et al., 2000) e sua habilidade em realizar fotossíntese permitindo que a energia solar seja capturada e armazenada.

Sabe-se que as plantas superiores têm um papel importante no ciclo de carbono, porém, microalgas aquáticas são reconhecidas por fixarem dióxido de carbono (CO₂) biocataliticamente (OHSE et al., 2007), ou seja, as microalgas são muito mais eficientes no uso do CO₂ do que as plantas superiores, podendo fixar quantidades muito maiores de CO₂ por área de solo (BROWN; ZEILER, 1993). Características como elevada eficiência fotossintética quando comparadas com plantas superiores (PIRES et al., 2012), taxas de proliferação rápida, grande variedade de tolerância a ambientes extremos e a sua capacidade de cultivos intensivos, prometem ser eficazes na redução do CO₂ atmosférico (KURANO et al., 1995).

A possibilidade de utilização das microalgas na fixação biológica de CO₂, torna-se um processo de grande importância visto que o aumento da concentração desse gás na atmosfera terrestre é considerado uma das principais causas do agravamento do aquecimento global. Segundo Cheng et al. (2013), a captura do CO₂ biológico usando microalgas através da fotossíntese é uma opção ambientalmente sustentável e não há necessidade de posterior eliminação de CO₂ capturado.

Em ambiente aeróbio, os produtores primários realizam a captura de C através da fotossíntese, processo natural de transferência do CO₂ atmosférico para a matéria orgânica do solo e posteriormente o CO₂, ora fixado como um resultado da atividade fotoautotrófica, fica disponível para consumo ou respiração de animais ou microrganismos heterotróficos. Mais tarde, com a degradação da matéria orgânica do

solo (MOS), ocorre a liberação de CO_2 (Figura 5.1). No caso do metano (CH_4) embora seja um gás com potencial de efeito estufa de 20 a 30 vezes maior que o CO_2 em base molar, sua ocorrência ou impacto está mais relacionada às áreas baixas e alagadas (zonas anaeróbicas) e à influência de animais ruminantes (URQUIAGA et al., 2010).

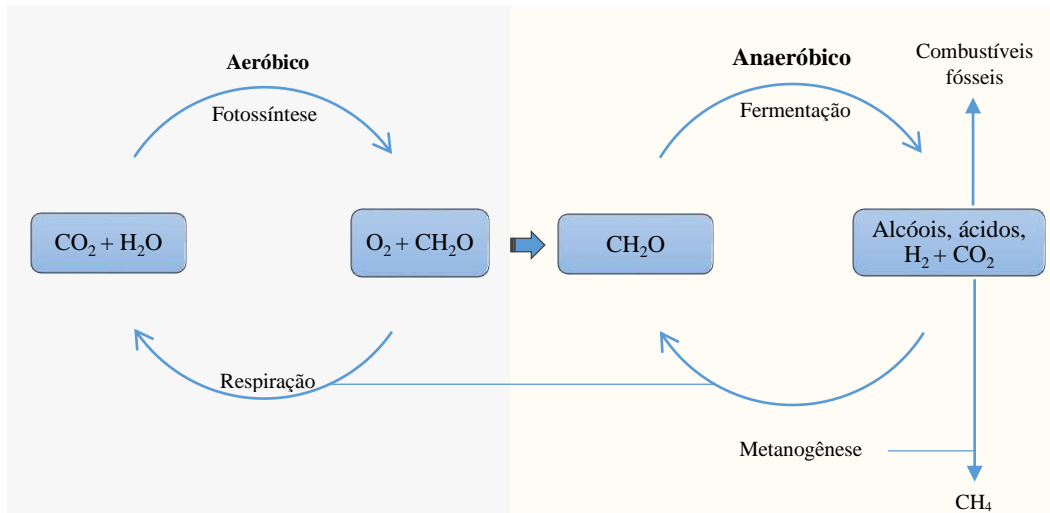


Figura 5.1. Ciclo do carbono, mostrando as contribuições aeróbicas e anaeróbicas. Adaptado de Maier et al. (2000).

O manejo do solo e a disposição em sua superfície de materiais ricos em nutrientes, pode causar alterações que interferem no balanço das emissões de CO_2 e CH_4 . No que diz respeito à biomassa algal rica em nutrientes tais como N e C, as principais alterações podem estar relacionadas à emissão ou captura de C no solo. Segundo Urquiaga et al. (2010), um dos principais mecanismos de sequestro de C no solo é através do aumento do conteúdo da MOS no mesmo. Mas esse incremento deve ser norteado por critérios. Deve-se conhecer a natureza dessa MOS e posteriormente estudar alternativas de modo que condições favoráveis sejam criadas.

Os principais constituintes da MOS são o C e o N orgânico e somente será possível aumentar o conteúdo da MOS, ou o sequestro de carbono orgânico do solo (COS), quando o sistema apresentar um balanço positivo de N, que significa, que a quantidade de N que ingressa no sistema deve ser superior à saída do nutriente com os produtos da colheita e perdas naturais de N do solo, visto que a MOS apresenta, entre outras características, uma relação C:N estável, variando ao redor de 10 ou 12, independentemente das condições edafoclimáticas, do conteúdo de N e da natureza da vegetação. Diante disso, pode-se afirmar que, entre os principais nutrientes, para que ocorra o sequestro de C nos solos agrícolas o N é elemento essencial (URQUIAGA et al., 2005; JANTALIA et al., 2006).

Garcia-Franco et al. (2015) avaliaram os efeitos do manejo sustentável do solo na relação entre C orgânico e agregação do solo e nas respostas sobre os mecanismos de sequestro de C em agroecossistemas semiáridos sob diferentes práticas de gestão. Os tratamentos consistiram de um preparo reduzido com adubação verde e outro tratamento com plantio direto. Os autores concluíram que a combinação de preparo reduzido e incorporação de adubos verdes mostrou-se como uma boa opção para a mitigação e adaptação às alterações climáticas, devido ao aumento observado no sequestro de C no solo e a melhoria da estrutura do solo. Roberts et al. (2010) relataram que 30 % das emissões de GEE poderia ser reduzida com a aplicação de biochar ao solo, que é um tipo de carvão produzido a partir de biomassa, que permite não só reduzir a presença de CO₂ na atmosfera, como também melhorar o solo e gerar energia limpa durante a sua fabricação.

5.3.2 Ciclo do N no solo

Entre os macronutrientes, o N é um elemento de baixa eficiência de aproveitamento por ser muito dinâmico no solo (ocorre de várias formas químicas e possui grande variação de estado de oxidação), e pode sofrer perdas por volatilização, lixiviação, desnitrificação, escoamento superficial e remoção pelas culturas (DE DATTA, 1981).

Em muitas situações, o solo é incapaz de suprir todo o requerimento de N das culturas, o que obriga a utilização de fertilizantes para a obtenção de maior produtividade pelas culturas. As perdas por desnitrificação têm sido estimadas em menos de 10 % na cultura do milho, porém, as perdas de NH₃ por volatilização, podem atingir de 31 a 78 % do total de N aplicado. Perdas por lixiviação acontecem devido ao NO₃⁻ ter baixa interação química com os minerais do solo (LARA CABEZAS et al., 1997). Além disso, a predominância de cargas negativas do solo e a baixa interação química do NO₃⁻ com os minerais da fração argila fazem com que esse ânion esteja em grande parte sujeito à lixiviação, podendo atingir águas subsuperficiais ou até mesmo o lençol freático (RATKE et al., 2011), culminando em futuros problemas de eutrofização.

Os principais processos relacionados ao ciclo do nitrogênio estão representados na figura que segue (Figura 5.2):

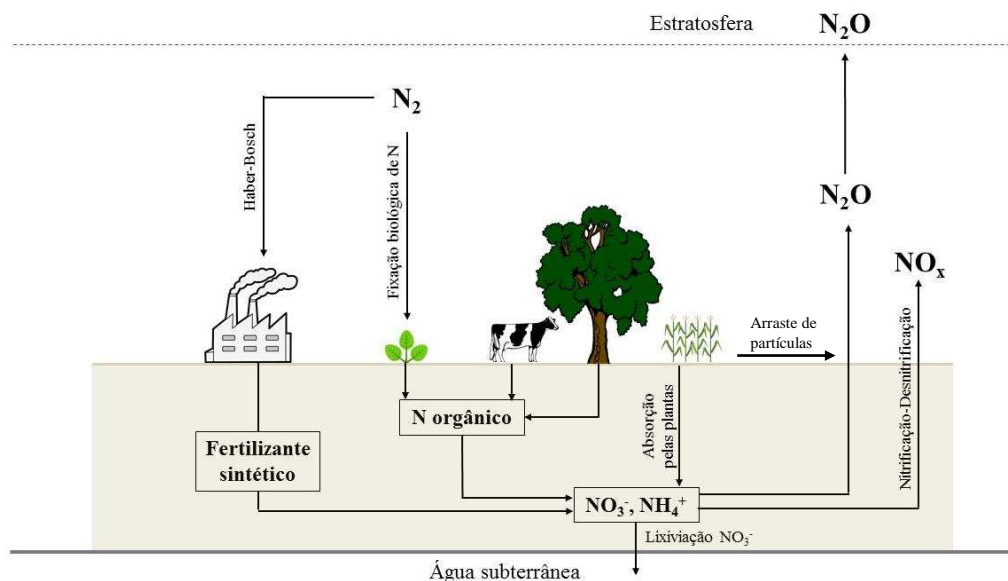


Figura 5.2. Ciclo do nitrogênio (Adaptado de GREGORICH et al., 2015).

A fixação biológica é a relação simbiótica entre bactérias do gênero *Rhizobium* e uma variedade de leguminosas e permite que o N₂ seja convertido em formas disponíveis de N para plantas (MIKKELSEN; HARTZ, 2008). Vale salientar que alguns microrganismos e plantas actinorrízicas também são capazes de fixação biológica de N. Um exemplo disso, são espécies de cianobactérias que possuem células especializadas, chamadas de heterocistos. Heterocistos, são especializados na fixação de N molecular (N₂), sendo dotados de nitrogenases em grandes concentrações (LOURENÇO, 2006).

A capacidade das cianobactérias não se restringe apenas à fixação de N e de P, mas também ao metabolismo de CO₂, H₂ e O₂ (WHITTON, 2000; HAVEN et al. 2003; WILSON, 2006; SAADANTIA; RIAHI, 2009). Tais organismos podem interferir no ciclo do N, visto que normalmente são encontrados em diversos habitats, sendo de vida livre, bem como em associação simbiótica com plantas, fungos e animais (ADAMS, 2000).

Há também a possibilidade da fixação industrial. No início dos anos 1900, Haber e Bosch desenvolveram uma maneira prática para conversão industrial de N₂ em formas reativas de N, o que deu condições ao aumento da produtividade agrícola diminuindo as deficiências de N pelas plantas (SMIL, 2001). O processo de combinação do N₂ atmosférico com hidrogênio para formar NH₃, foi o precursor para a maioria dos fertilizantes de N fabricados (MIKKELSEN; HARTZ, 2008). Porém, tais fertilizantes quando manejados incorretamente tornam-se uma grande ameaça

ambiental, pois grande parte do N aplicado é perdido por sistemas agrícolas. Para estudar essas várias possibilidades de perdas e com o objetivo de melhorar o manejo dessas fontes de N, diversos autores (MENDONÇA et al., 2007; CIVARDI et al., 2011; SILVA et al., 2012) realizaram trabalhos tendo como enfoque principal os fertilizantes nitrogenados com tecnologia agregada.

Além destes meios de fixação, certos minerais de argila (tais como mica, ilite e vermiculita) são capaz de reter cátions NH_4^+ dentro das camadas de argila expandida. Esse fenômeno também pode ocorrer com potássio (K). A magnitude deste processo varia consideravelmente em função da mineralogia da fração argila (MIKKELSEN; HARTZ, 2008).

Quando microrganismos do solo assimilam N inorgânico, tornando-o indisponível para absorção pelas plantas o processo é denominado imobilização. Já a mineralização é a liberação de N inorgânico a partir de MO (proteínas, açúcares aaminados, e ácidos nucleicos), após a sua decomposição pelos microrganismos do solo (MIKKELSEN; HARTZ, 2008). A taxa de mineralização é influenciada por inúmeros fatores ambientais e de gestão, o que torna difícil prever com precisão. A mineralização do N orgânico ocorre principalmente por uma reação de aminação, e logo depois, amonificação (CANTARELA et al., 2008). A relação C:N de materiais orgânicos adicionados é um bom parâmetro para se prever se há possibilidade de ocorrência de imobilização de N (razão C:N > 25:1) ou mineralização (razão C:N < 25:1 (CANTARELA et al., 2008). Além disso, a relação C:N do solo pode ser utilizada para refletir a interação entre carbono orgânico do solo e nitrogênio total (N total). Diante disso, a aplicação de fontes com elevado teor de MOS influenciaria na mineralização ou imobilização do N e consequente disponibilização do mesmo em uma forma assimilável pelas plantas.

Já a nitrificação ocorre com a oxidação bacteriana em dois estágios, de NH_4^+ para NO_2^- e, em seguida, para NO_3^- com NO e N_2O sendo subprodutos metabólicos liberados para a atmosfera (GREGORICH et al., 2015). Este processo requer oxigênio e é mais rápido em condições favoráveis para o crescimento das culturas.

Já em condições de escassez de oxigênio no solo, muitas bactérias são capazes de reduzir NO_3^- para gases como NO_2 , N_2O e N_2 . Esse processo é conhecido como desnitrificação, que é a redução de NO_3^- em condições anaeróbicas ou com baixo teor de oxigênio (CANTARELA et al., 2008). Os microrganismos que realizam a

desnitrificação são heterotróficos e, principalmente, anaeróbios facultativos (CANTARELA et al., 2008). Esses organismos podem obter oxigênio a partir de NO_2 e NO_3 , resultando na liberação de N e N_2O (KNOWLES, 1982).

A perda de NH_3 a partir do solo é conhecida como volatilização e é principalmente uma função do ambiente químico. Num ambiente alcalino, NH_4^+ muda para a forma de NH_3 gasoso e pode ser facilmente perdido para a atmosfera a partir do solo ou materiais orgânicos. Tem-se ainda que as temperaturas elevadas e condições de seca tendem a acelerar as reações de volatilização (MIKKELSEN; HARTZ, 2008). Além das perdas anteriormente citadas, o arraste de partículas pode culminar em eventuais perdas de nutriente. De forma que, caso a deposição ocorra em corpos hídricos, problemas futuros relacionados à eutrofização são prováveis.

No Brasil, a principal fonte de N utilizada na agricultura é a ureia, que apresenta como principal vantagem, a alta concentração de N. Esta característica contribui para menor custo de transporte, estocagem e aplicação por unidade de N. Possui, ainda, alta solubilidade, menor corrosividade e compatibilidade com outros fertilizantes.

A ureia apresenta algumas desvantagens como por exemplo: elevada higroscopicidade; possibilidade de presença de biureto, elemento fitotóxico; possibilidade de perdas por lixiviação devido a sua alta solubilidade, ainda que inferiores às fontes nítricas e, principalmente, possibilidade de elevadas perdas por volatilização de NH_3 , uma vez que, depois de aplicada ao solo, sofre hidrólise enzimática, ocorrendo liberação de NH_3 (CANTARELLA, 2007).

Esforços tecnológicos têm sido realizados para diminuir a magnitude da volatilização de NH_3 e aumentar a recuperação do N-fertilizante. Atualmente, as utilizações de novas tecnologias têm sido baseadas em duas concepções básicas: uma de natureza agrônômica, relacionada com o manejo do fertilizante no solo e outra de natureza industrial, relacionada com a tecnologia de fabricação do fertilizante. Entre as alternativas de caráter tecnológico estão aquelas para o desenvolvimento de adubos com liberação lenta de N, mistura de materiais orgânicos com adubos minerais (fertilizantes organominerais) e a utilização de produtos que interferem com a atividade biológica no solo, inibidores de urease e de nitrificação (SANTOS, 1991).

A utilização de novas tecnologias para a produção de fertilizantes nitrogenados, pode ser uma alternativa para diminuir a emissão de GEE e a magnitude da

volatilização de NH_3 . Entretanto, pesquisas devem ser realizadas com essas fontes diferenciadas de N, verificando a real eficiência das mesmas com relação às culturas.

5.3.3 Biofilme de microalgas no solo

Muitas espécies de microalgas/cianobactérias podem se desenvolver no solo, e assim, como componentes de sua microflora, representar reserva de nutrientes para as plantas, influenciar na estrutura do solo e na atividade de outros microrganismos, além de agir na incorporação de carbono orgânico e nitrogênio através da fotossíntese e da fixação de N_2 (METTING, 1981).

A principal característica das microalgas edáficas é o fato de elas suportarem o crescimento em valores muito reduzidos de potencial hídrico. Polímeros de carboidratos excretados pelas células possuem papel importante nesse aspecto, por retardarem a perda de água pelas células das microalgas, e também por formar uma proteção contra choques mecânicos (PAINTER, 1993).

De forma geral, as microalgas e cianobactérias edáficas possuem grande capacidade de se adaptarem a diferentes ambientes, e podem crescer a poucos centímetros da superfície do solo, inclusive em regiões áridas e condições salinas. Essas características fazem com que esses microrganismos tenham vasta aplicação (SUBASHCHANDRABOSE et al., 2013).

Metting Jr. (1996) afirma que a utilização de espécies filamentosas dos gêneros *Anabaena*, *Nostoc*, *Aulosira*, *Tolypothrix* e *Scytonema* é comum em países como China, Índia e outros países asiáticos, onde chegam a fornecer 20 kg ha^{-1} de N por ano por meio da fixação de N_2 , o que é o equivalente a um terço da demanda do cultivo de arroz, muito comum nesses locais. O mesmo autor menciona ainda, que em pequena escala, microalgas do gênero *Chlamydomonas* são utilizadas como condicionante de solo na América do Norte.

Trejo et al. (2012) avaliaram a aplicação no solo de biomassa constituída por *Chlorella sorokiniana* e a bactéria promotora do crescimento de plantas *Azospirillum brasilense*, cultivadas em esgoto sintético, com o intuito de verificar a eficiência na recuperação do solo. Os autores observaram aumento da concentração de carbono no solo árido, e confirmaram a eficácia da aplicação da biomassa. Ainda de acordo com o estudo, a prática da utilização de resíduos oriundos do tratamento de efluentes está

em consonância com o desenvolvimento de tecnologias verdes, que não geram poluentes secundários.

Muito embora diversas pesquisas e revisões relacionadas a produção e aproveitamento de biomassa algal e a biorrefinaria de microalgas mencionem a aplicação como biofertilizante como uma alternativa de destinação da mesma, ainda são necessárias pesquisas relacionadas à reprodução e sobrevivência das espécies no solo e a definição de critérios para a utilização eficiente e sustentável como biofertilizante. No caso da produção em efluentes, atenção deve também ser direcionada à concentração de patógenos na biomassa e ao potencial de desinfecção dos reatores (MULBRY et al., 2005), bem como a possibilidade de mudança de características físicas e químicas do solo, que podem causar a lixiviação e o escoamento de nutrientes para corpos d'água (VOGELER, 2009).

5.4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, D. G. Symbiotic interactions. In: WHITTON, B. A.; POTTS, M.; **The ecology of cyanobacteria: their diversity in time and space**. Alphen aan den Rijn: Kluwer Academic, 2000. p. 523 - 561.

ALGAE BIOTECNOLOGIA LTDA. ALGAE.

Disponível em: <<http://www.algae.com.br/>>. Acesso em: 30 set. 2015.

AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION – AWWA. MANUAL M57. **Algae: Source to treatment**. Denver, 2010. 439p.

BELNAP, J. The potential roles of biological soil crusts in dryland hydrologic cycles. **Hydrological Processes**, v. 20, p. 3159–3178. 2006.

BENNION, E. P.; GINOSAR, D. M.; MOSES, J.; AGBLEVOR, F.; QUINN, J. C. Lifecycle assessment of microalgae to biofuel: Comparison of thermochemical processing pathways. **Applied Energy**, v. 154, p. 1062–1071. 2015.

BOENIGK, J.; PFANDL, K.; GARSTECKI, T.; HARMS, H.; NOVARINO, G.; CHATZINOTAS, A. Evidence for geographic isolation and signs of endemism within a protistan morphospecies. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 72, p. 5159–5164. 2006.

BRENNAN, L.; OWENDE, P. Biofuels from microalgae - A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.14, p. 557 – 577. 2010.

BROWN, L. M.; ZEILER, K. G. Aquatic biomass and carbon dioxide trapping. **Energy Conversion and Management**, v. 34, p. 9-11. 1993.

CAI, T.; PARK, S. Y.; LI, Y. Nutrient recovery from wastewater streams by microalgae: Status and prospects. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.19, p. 360-369. 2013.

CANTARELLA, H.; TRIVELIN, P. C. O.; CONTIN, T. L. M.; DIAS, F. L. F.; ROSSETTO, R.; MARCELINO, R.; COIMBRA, R. B.; QUAGGIO, J. A. Ammonia volatilisation from urease Inhibitor-treated urea applied to sugarcane Trash blankets. **Scientia Agricola**, v. 65, p. 397-401. 2008.

CANTARELLA, H. Nitrogênio. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ V., V. H.; BARROS, N. F.; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. **Fertilidade do Solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. 1017p.

CHEN, W. H.; HUANG, M. Y.; CHANG, J. S.; CHEN, C. Y. Torrefaction operation and optimization of microalga residue for energy densification and utilization. **Applied Energy**, v. 154, p. 622–630. 2015.

CHENG, J.; HUANG, Y.; FENG, J.; SUN, J.; ZHOU, J.; CEN, K. Improving CO₂ fixation efficiency by optimizing Chlorella PY-ZU1 culture conditions in sequential bioreactors. **Bioresource Technology**, v.144, p. 321–327. 2013.

CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae. **Biotechnology Advances**, v. 25, p. 294–306. 2007.

CIVARDI, E. A.; SILVEIRA NETO, A. N.; RAGAGNIN, V. A.; GODOY, E. R.; BROD, E. Ureia de liberação lenta aplicada superficialmente e Ureia comum incorporada ao solo no rendimento do milho. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.41, p.52-59. 2011.

CLAEFF Engenharia e produtos químicos LTDA. CLAEFF. Disponível em: <<http://www.claeff.com.br/tecnologias/ativos-vegetais.html>>. Acesso em: 30 set. 2015.

CRAGGS, R. J. Advanced integrated wastewater ponds. In: SHILTON, A. (Ed.). **Pond Treatment Technology**. London, UK: IWA Scientific and Technical Report Series, 2005. p. 282–310.

CRAGGS, R. J.; HEUBECK, S.; LUNDQUIST, T. J.; BENEMANN, JR. Algae biofuel from wastewater treatment high rate algal ponds. **Water Science and Technology**, v. 63, p. 660-665. 2011.

DE-CAIRE, G. Z.; DE CANO, M. S.; DE MULE, M. C.; PALMA, R. M.; COLOMBO, K. Exopolysaccharide of Nostoc muscorum (cyanobacteria) in the aggregation of soil particles. **J. Journal of Applied Phycology**, v. 4, p. 249-253. 1997.

DE DATTA, S. K. **Principles and practices of rice production**. New York: John Wiley, 1981. 618p.

de GODOS, I.; BLANCO, S.; GARCÍA-ENCINA, P. A.; BECARES, E.; MUÑOZ, R. Influence of flue gas sparging on the performance of high rate algae ponds treating agro-industrial wastewaters. **Journal of Hazardous Materials**, v.179, p.1049-1054. 2010.

DE, P. K. The role of blue-green algae in nitrogen fixation in rice-fields. **The Royal Society**, v. 127, p. 121-139. 1939.

EHINEM, E. A.; CONNAUGHTON, S.; SUN, Z.; CARRINGTON, G. C. Energy recovery from lipid extracted, transesterified and glycerol codigested microalgae biomass. **GCB Bioenergy**, v. 1, p. 371-381. 2009.

EHINEM, E. A.; SUN, Z. F.; CARRINGTON, C. G.; BIRCH, E. J.; EATON-RYE, J. J. Anaerobic digestion of microalgae residues resulting from the biodiesel production process. **Applied Energy**, v. 88, p. 3454 – 3463. 2011.

FOGG, G. E. Studies on nitrogen fixation by blue-greenalgae. **Botany School**, v. 1, p. 78-87. 1941.

GARCIA-FRANCO, N.; ALBALADEJO, J.; ALMAGRO, M.; MARTÍNEZ-MENA, M. Beneficial effects of reduced tillage and green manure on soil aggregation and stabilization of organic carbon in a Mediterranean agroecosystem. **Soil & Tillage Research**, v. 153, p. 66–75. 2015.

GOMEZ-VILLA, H.; VOLTOLINA, D.; NIEVES, M.; PINA, P. Biomass production and nutrient budget in outdoor cultures of *Scenedesmus obliquus* (chlorophyceae) in artificial wastewater, under the winter and summer conditions of Mazatlán, Sinaloa, Mexico. **Vie et Milieu**, v. 55, p. 121 – 126. 2005.

GONG, Y.; JIANG, M. Biodiesel production with microalgae as feedstock: from strains to biodiesel. **Biotechnology Letters**, v. 33, p. 1269-1284. 2011.

GREGORICH, E.; JANZEN, H. H.; HELGASON, B.; ELLERT, B. Chapter Two- Nitrogenous Gas Emissions from Soils and Greenhouse Gas Effects. **Advances in Agronomy**, v. 132, p. 39-74. 2015.

GROBBELAAR, J. U. Algal nutrition. In: RICHMOND, A. (Ed.). **Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology**. Oxford: Blackwell Publishing Ltd., 2004. p. 97–115.

GONZÁLEZ, C.; MARCINIAK, J.; VILLAVERDE, S.; LEÓN, C.; GARCÍA, P. A.; MUÑOZ, R. Efficient nutrient removal from swine manure in a tubular biofilm photobioreactor using algae– bacteria consortia. **Water Science and Technology**, v. 58, p. 95 – 102. 2008.

GUZZON, A.; BOHN, A.; DIOCIUTI, M.; ALBERTANO, P. Cultured phototrophic biofilms for phosphorus removal in wastewater treatment. **Water Research**, v. 42, p. 4357 – 4367. 2008.

HAVEN, K. E.; JAMES, R. T.; EAST, T. L.; SMITH, V. H. N: P ratios, light limitation, and Cyanobacterial dominance in a subtropical lake impacted by non-point source nutrient pollution. **Environmental Pollution**, v. 122, p. 379-390. 2003.

HEGDE, D. M.; DWIVEDI, B.S.; BABU, S. N. S. Biofertilizers for cereal production in India - A review. **Indian Journal of Agricultural Sciences**, v. 69, p. 73-83. 1999.

HERNÁNDEZ, D.; RIAÑO, B.; COCA, M.; GARCÍA-GONZÁLEZ, M. C. Treatment of agro-industrial wastewater using microalgae-bacteria consortium combined with anaerobic digestion of the produced biomass. **Bioresource Technology**, v. 135, p. 598-603. 2013.

JANTALIA, C. P.; ALVES, B. J.; ZOTARELLI, L.; BODDEY, R. M.; URQUIAGA, S. Mudanças no estoque de C do solo em áreas de produção de grãos: avaliação do impacto do manejo do solo. In: ALVES, B. J. R.; URQUIAGA, S.; AITA, C.; BODDEY, R. M.; JANTALIA, C. P.; CAMARGO, F. A. (Eds.). **Manejo de sistemas agrícolas: impactos no sequestro de C e nas emissões de gases de efeito estufa**. Porto Alegre, RS: Gênese, 2006. p. 35-37.

JOHNSON, M. B.; WEN, Z. Development of an attached microalgal growth system for biofuel production. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 85, p. 525 – 534. 2010.

KEBEDE-WESTHEAD, E.; PIZARRO, C.; MULBRY, W. W. Treatment of dairy manure effluent using freshwater algae: elemental composition of algal biomass at different manure loading rates. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 52, p. 7293 - 7296. 2004.

KILLHAM, K. **Soil ecology**. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 1994. 264 p.

KNOWLES, R. Denitrification. **Microbiology**, v. 46, p. 43–70. 1982.

KURANO, N.; IKEMOTO, H.; MIYASHITA, H.; HASEGAWA, T.; HATA, H.; MIYACHI, S. Fixation and utilization of carbon dioxide by microalgal photosynthesis. **Energy Conversion and Management**, v. 36, p. 689-692. 1995.

LALIBERTE, G.; LESSARD, P.; DELANOUE, J.; SYLVESTRE, S. Effect of phosphorus addition on nutriente removal from wastewater with the cyanobacterium *Phormidium bohneri*. **Bioresource Technology**, v. 59, p. 227-233. 1997.

LARA CABEZAS, W. A. R.; KORNDÖRFER, G. H.; MOTTA, S. A. Volatilização de N-NH₃ na cultura de milho: Efeito da irrigação e substituição parcial da ureia por sulfato de amônio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 21, p. 481-487. 1997.

LÁZARO, R.; CANTÓN, Y.; SOLÉ-BENET, A.; BEVAN, J.; ALEXANDER, R.; SANCHO, L.G.; PUIGDEFÁBREGAS, J. The influence of competition between lichen colonization and erosion on the evolution of soil surfaces in the Tabernas badlands SE Spain and its landscape effects. **Geomorphology**, v. 102, p. 252–266. 2008.

LI, Y.; ZHOU, W.; HU, B.; MIN, M.; CHEN, P.; RUAN, R. R. Integration of algae cultivation as biodiesel production feedstock with municipal wastewater treatment: Strains screening and significance evaluation of environmental factors. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 10861 – 10867. 2011.

LOURENÇO, S. O. **Cultivo de Microalgas Marinhas**. 1. ed. São Carlos: RIMA, 2006. 588p.

LU, Q.; ZHOU, W.; MIN, M.; MA, X.; CHANDRA, C.; DOAN, Y. T. T.; MA, Y.; ZHENG H.; CHENG S., GRIFFITH R.; CHEN P.; CHEN C.; URRIOLOLA P. E.; SHURSON G. C.; GISLERØD H. R.; RUAN R. Growing Chlorella sp. on meat processing wastewater for nutrient removal and biomass production. **Bioresource Technology**, v. 198, p. 189–197. 2015.

LUNDQUIST, T. J.; WOERTZ, I. C.; QUINN, N. W. T.; BENEMANN, JR. **A realistic technology and engineering assessment of algae biofuel production**. Berkeley, California: Energy Biosciences Institute, 2010. 153 p.

MAIER, R. M.; PEPPER, I. L.; GERBA, C. P. **Environmental Microbiology**. Academy Press, 585p.

MARTÍNEZ, M. E.; SÁNCHEZ, S.; JIMÉNEZ, J. M.; EL YOUSFI, F.; MUNÓZ, L. Nitrogen and phosphorus removal from urban wastewater by the microalga *Scenedesmus obliquus*. **Bioresource Technology**, v. 73, p. 263 – 272. 2000.

MASOJÍDEK, J.; VONSHAK, A.; TORZILLO, G. Chlorophyll fluorescence applications in microalgal mass cultures. In: SUGGETT, D. J.; BOROWITZKA, M.; PRÁŠIL, O. (Eds.). **Chlorophyll a Fluorescence in Aquatic Sciences: Methods and Applications**. Hardcover, 2010. p. 277–292.

MAYNARD SMITH, J. *The Evolution of Sex*. Cambridge: Cambridge University Press, 1976. 236 p.

McKENDRY, P. Energy production from biomass (part 2): conversion technologies. **Bioresource Technology**, v. 83, p. 47–54. 2002.

MENDONÇA, V.; TOSTA, M. S.; MACHADO, J. R.; GOULART JÚNIOR, S. A. R.; TOSTA, J. S.; BISCARO, G. A. Fertilizante de liberação lenta na formação de mudas de maracujazeiro “amarelo”. **Revista Ciência Agrotécnica**, v. 31, p. 344-348. 2007.

MENG, X.; YANG, J.; XU, X.; ZHANG, L.; NIE, Q.; XIAN, M. Biodiesel production from oleaginous microorganisms. **Renewable Energy**, v. 34, p. 1-5. 2009.

METTING, F. B. Microalgae applications in agriculture. **Developments in Industrial Microbiology**, v. 31, p. 265–270. 1990.

METTING JR., F. B. Biodiversity and application of microalgae. **Journal of Industrial Microbiology**, v. 17, p. 477-489. 1996.

METTING, B. The systematics and ecology of soil algae. **The Botanical Review**, v. 47, p. 195-312. 1981.

MIAO, X.; WU, Q.; YANG, C. Fast pyrolysis of microalgae to produce renewable fuels. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 71, p. 855–863. 2004.

MIKKELSEN, R.; HARTZ, T.K. Nitrogen Sources for Organic Crop Production. **Better Crops**, v. 92, p. 16-19. 2008.

MULBRY, W.; WESTHEAD, E. K.; PIZARRO, C.; SIKORA, L. Recycling of manure nutrients: use of algal biomass from dairy manure treatment as a slow release fertilizer. **Bioresource Technology**, v. 96, p. 451-458. 2005.

NATARAJAN, R.; ANG, W. M. R.; CHEN, X.; VOIGTMANN, M.; LAU, R. Lipid releasing characteristics of microalgae species through continuous ultrasonication. **Bioresource Technology**, v. 158, p. 7-11. 2014.

OHSE, S.; DERNER, R. B.; OZERIO, R. A.; CUNHA, P. C. R.; LAMARCA, C. P.; SANTOS, M. E.; MENDES, L. B. B. Sequestro de carbono realizado por microalgas e florestas e a capacidade de produção de lipídios pelas microalgas. **INSULA**, v. 36, p. 39-74. 2007.

OLGUÍN, E. J.; GALICIA, S.; MERCADO, G.; PEREZ, T. Annual productivity of Spirulina (Arthrospira) and nutriente removal in a pig wastewater recycling process under tropical conditions. **Journal of Applied Phycology**, v. 15, p. 249-257. 2003.

OLGUÍN, E. J. Dual purpose microalgae-bacteria-based systems that treat wastewater and produce biodiesel and chemical products within a Biorefinery. **Biotechnology Advances**, v. 30, p. 1031 – 1046. 2012.

PAINTER, T. J. Carbohydrate polymers in desert reclamation: the potential of microalgal biofertilizers. **Carbohydrate Polymers**, v. 20, p. 77-86. 1993.

PARK, J. B. K.; CRAGGS, R. J.; SHILTON, A. N. Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 35 – 42. 2011.

PHANG, S. M.; MIAH, M. S.; YEOH, B. G.; HASHIM, M. A. Spirulina cultivation indigested sago starch factory wastewater. **Journal of Applied Phycology**, v. 12, p. 395–400. 2000.

PIRES, J. C. M.; ALVIM-FERRAZ, M. C. M.; MARTINS, F. G.; SIMOES, M. Carbon dioxide capture from flues gasses using microalgae: engineering aspects and biorefinery concept. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 16, p. 3043–3053. 2012.

PRIYADARSHANI, I.; SAHU, D.; RATH, B. Microalgal bioremediation : Current practices and perspectives. **Journal of Biochemical Technology**, v. 3, p. 299-304. 2011.

PUSKAS K.; ESEN I. Possibilities of utilizing municipal and industrial wastewater effluents to condition soil. **Desalination**, v. 72, p. 125-132. 1989.

RATKE, R. F.; VERGINASSI, A.; BASTO, D. D. C.; MORGADO, H. S.; SOUZA, M. R. D.; FERNANDES, E. P. Production and levels of foliar nitrogen in rocket salad fertilized with controlled-release nitrogen fertilizers and urea. **Horticultura Brasileira**, v. 29, p. 246-249. 2011.

RAWAT, I.; KUMAR, R. R.; MUTANDA, T.; BUX, F. Dual role of microalgae: Phycoremediation of domestic wastewater and biomass production for sustainable biofuels production. **Applied Energy**, v. 88, p. 3411-3424. 2011.

RICHMOND, A. Principles for attaining maximal microalgal productivity in photobioreactors: an overview. **Hydrobiologia**, v. 512, p. 33-37. 2004.

ROBERTS, K. G.; GLOY, B. A.; JOSEPH, S.; SCOTT, N. R.; LEHMANN, J. S. Life cycle assessment of biochar systems: estimating the energetic, economic, and climate change potential. **Environmental Science & Technology**, v. 44, p. 827-833. 2010.

RODRIGUES, C. G. H. **Estudo da comunidade de diatomáceas e utilização de índices para a avaliação da qualidade da água de algumas ribeiras da ilha da Madeira**. 2007. 74 f. (Dissertação de Mestrado em Hidrobiologia) - Departamento de Zoologia e Antropologia. Faculdade de Ciências da Universidade do Porto. Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, Porto, 2007.

ROGER, P. A.; REYNAUD, P. A. Ecology of blue-green algae in paddy field. In: SIMPÓSIO REALIZADO NO INSTITUTE INTERNACIONAL DE PESQUISAS SOBRE ARROZ, 1979, Petrolina. **Anais...** Rice Research Institute, 1979. p. 18-21.

ROGER, P. A.; REYNAUD, P. A. N₂-Fixing algal biomass in Senegal rice fields. **Environmental role of nitrogen-fixing blue-green algae and asymbiotic bacteria**, v. 26, p. 148- 157. 1978.

ROGERS, S. L.; BURNS, R. G. Changes in aggregate stability, nutrient status, indigenous microbial populations, and seedling emergence, following inoculation of soil with *Nostoc muscorum*. **Biology and Fertility of Soils**, v. 18, p. 209-215. 1994.

ROUND, F. E.; CRAWFORD, R. M.; MANN, D. G. **The diatoms**. Cambridge University, Press, 1990. 747p.

ROYCHOUDHURY P.; PILLAI G. R.; PANDEY S. L.; KRISHNA MURTI, G. S. R.; VENKATARAMAN, G. S. Effect of blue-green algae on aggregate stability and rice yield under different irrigation and nitrogen levels. **Soil & Tillage Research**, v. 3, p. 61-65. 1983.

SAADANTIA, H.; RIAHI, H. Cyanobacteria from paddy fields in Iran as a biofertilizer in rice plants. **Plant Soil and Environment**, v. 55, p. 207 – 212. 2009.

SAHA K. C.; MANDAL, L. N. Greenhouse study on the effect of inoculation of N-fixing blue-green algae in an alluvial soil treated with P and Mo on the yield of rice and changes in the N-content of soil. **Plant and Soil**, v. 57, p. 23-30. 1980.

SANTIAGO, A. F.; CALIJURI, M. L.; ASSEMAN, P. P.; CALIJURI, M. C.; REIS, A. J. D. Algal biomass production and wastewater treatment in high rate algal ponds receiving disinfected effluent. **Environmental Technology**, v. 4, p. 1877 – 1885. 2013.

SANTOS, J.C.P. **Efeito do inibidor de nitrificação N-serve aplicado ao solo com diferentes fontes de nitrogênio, sobre a eficiência de uso do N pelo milho (Zea mays L.)**. 1991. 168 p. (Dissertação de Mestrado em Ciência do Solo), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1991.

SCHWARZBOLD, A.; BURLIGA, A. L.; TORGAN, L. C. **Ecologia do Perifíton**. São Carlos: RiMa, 2013. 413 p.

SIALVE, B.; BERNET, N.; BERNARD, O. Anaerobic digestion of microalgae as a necessary step to make microalgal biodiesel sustainable. **Biotechnology Advances**, v. 27, p. 409 - 416. 2009.

SILVA, A. A.; SILVA, T. S.; VASCONCELOS, A. C. P.; LANA, R. M. Q. Aplicação de diferentes fontes de ureia de liberação gradual na cultura do milho. **Bioscience Journal**, v. 28, p. 104-111. 2012.

SMIL, V. **Enriching the Earth: Fritz Haber, Carl Bosch, and the Transformation of World Food Production**. Cambridge: The MIT Press, 2001. 338 p.

SONG, D.; FU, J.; SHI, D. Exploitation of Oil-bearing Microalgae for Biodiesel. **Chinese Journal of Biotechnology**, v. 24, p. 341–348. 2008.

SOUZA SILVA, A. P. F.; COSTA, M. C.; LOPES, A. C.; NETO, E. F. A.; LEITÃO, R. C.; MOTA, C. R.; SANTOS, A. B. Comparison of pretreatment methods for lipids extraction from mixed microalgae. **Renewable Energy**, v. 63, p. 762-766. 2014.

SUBASHCHANDRABOSE, S. R.; RAMAKRISHNAN, B.; MEGHARAJ, M.; VENKATESWARLU, K.; NAIDU, R. Mixotrophic cyanobacteria and microalgae as distinctive biological agents for organic pollutant degradation. **Environment International**, v. 51, p. 59-72. 2013.

STEPHENS, E.; ROSS, I. L.; KING, Z.; MUSSGUG, J. H.; KRUSE, O.; POSTEN, C.; BOROWITZKA, M. A.; HANKAMER, B. An economic and technical evaluation of microalgal biofuels. **Nature Biotechnology**, v. 28, p. 126-128. 2010.

SUTHERLAND, D. L.; HOWARD-WILLIAMS, C.; TURNBULL, M. H.; BROADY, P. A.; CRAGGS, R. J. Seasonal variation in light utilization, biomass production and nutrient removal by wastewater microalgae in a full-scale high-rate algal ponds. **Journal of Applied Phycology**, v. 26, p. 1317-1329. 2014.

TAKAGI, M.; YOSHIDA, T. Effect of Salt Concentration on Intracellular Accumulation of Lipids and Triacylglyceride in Marine Microalgae *Dunaliella* Cells. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 101, p. 223 – 226. 2005.

TAYLOR, R. W.; SISTANI, K. R.; FLOYD M. Algal biomass production, N uptake and N₂ fixation in a synthetic medium. **Biomass**, v. 15, p. 249-257. 1988.

TREJO, A.; de-BASHAN, L.; HARTMANN, A.; HERNANDEZ, J. P.; ROTHBALLER, M.; SCHMID, M.; BASHAN, Y. Recycling waste debris of immobilized microalgae and plant growth-promoting bacteria from wastewater treatment as a resource to improve fertility of eroded desert soil. **Environmental and Experimental Botany**, v. 75, p. 65-73. 2012.

UENO, Y.; FUKUI, H.; GOTO, M. Operation of a two-stage fermentation process producing hydrogen and methane from organic waste. **Environmental Science Technology**, v. 41, p. 1413-1419. 2007.

UGGETTI, E., SIALVE, B., TRABLY, E., STEYER, J. P. Integrating microalgae production with anaerobic digestion: a biorefinery approach. **Biofuels, Bioproducts and Biorefining**, v. 8, p. 516–529. 2014.

URQUIAGA, S.; ALVES, B. J. R.; JANTALIA, C. P.; SOARES, L. H. B.; BODDEY, R. M. Mudanças ambientais: sequestro de carbono e emissão de gases de efeito estufa pelo solo. In: PRADO, R. B.; TURETTA, A. P. D.; ANDRADE, A. G. **Manejo e conservação do solo e da água**. Embrapa Solos, 2010. p. 377-388.

URQUIAGA, S.; JANTALIA, C. P.; SANTOS, H.; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M. Manejo de sistemas agrícolas para sequestro de C no solo. In: AQUINO, A.; ASSIS, R. L. **Processos biológicos no sistema solo-planta: ferramentas para uma agricultura sustentável**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. p. 323-342.

VENKATARAMAN, G. S.; GOYAL S. K. Influence of blue-green algal inoculation on the crop yield office plants. **Soil Science and Plant Nutrition**, v. 14, p. 249-251. 1968.

VIANA, M. B. **Produção de biogás a partir do glicerol**. 2011. 105 p. (Dissertação de Mestrado em Ciências). Departamento de Hidráulica de Saneamento. Universidade de São Paulo, Escola de Engenharia de São Carlos, São Carlos, 2011.

VOGELER, I. Effect of Long-term wastewater application on physical soil properties. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 196, p. 385-392. 2009.

WANG, L.; LI, Y. C.; CHEN, P.; MIM, M.; CHEN, Y. F.; ZHU, J. Anaerobic digested dairy manure as a nutriente supplement for cultivation of oil-rich green microalgae *Chlorella* sp. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 2623-2628. 2010.

WANG R.; PENG B.; HUANG K. The research progress of CO₂ sequestration by algal bio-fertilizer in China. **Journal of CO₂ Utilization**, v.v11, p. 67–70. 2011.

WARD, A. J.; HOBBS, P. J.; HOLLIMAN, P. J.; JONES, D. L. Optimization of the anaerobic digestion of agricultural resources. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 7928-7940. 2008.

WEI, Q.; HU, Z.; LI, G.; XIAO, B.; SUN, H.; TAO, M. Removing nitrogen and phosphorus from simulated wastewater using algal biofilm technique. **Frontiers of Environmental Science & Engineering in China**, v. 2, p. 446 – 451. 2008.

WHITTON, B. A. Soils and rice fields. In: WHITTON, B. A.; POTTS, M. (Eds). The ecology of cyanobacteria: their diversity in time and space. **Alphen an den Rijn: Kluwer Academic**. 2000. p. 233 – 255.

WILSON, L. T. Cyanobacteria: a potential nitrogen source in the rice fields. **Texas Rice**, v. 6, p. 9-10. 2006.

YEN, H. W.; BRUNE, D. Anaerobic co-digestion of algal sludge and waste paper to produce methane. **Bioresource Technology**, v. 98, p. 130-134. 2007.

ZAMALLOA, C.; BOON, N.; VERSTRAETE, W. Decentralized two-stage sewage treatment by chemical-biological flocculation combined with microalgae biofilm for nutrient immobilization in a roof installed parallel plate reactor. **Bioresource Technology**, v. 130, p. 152-160. 2013.

ZHU L. Biorefinery as a promising approach to promote microalgae industry: An innovative framework. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 41, p. 1376–1384. 2015.

ZOU, S.; WU, Y.; YANG, M.; LI, C.; TON J. Bio-oil production from sub-and supercritical water liquefaction of microalgae *Dunaliella tertiolecta* and related properties. **Energy Environmental Science**, v. 3, p. 1073–1078. 2010.

6. CAPÍTULO I: DOSES DE NITROGÊNIO E VARIAÇÃO DA UMIDADE NO ESTABELECIMENTO DE BIOFILME DE MICROALGAS NO SOLO

Resumo: A biomassa algal cultivada em lagoas de alta taxa, além de contribuir para o tratamento de efluentes, posteriormente pode ser utilizada para aplicação no solo e contribuir de diversas formas com o ambiente. No entanto, faz-se necessário compreender o comportamento das espécies de microalgas no solo ao longo do tempo e verificar a influência de variáveis como a disponibilidade de nitrogênio e umidade do solo, tanto na adaptação das mesmas como na qualidade do ambiente como um todo. O objetivo deste trabalho foi buscar condição ideal para otimização do crescimento do biofilme de microalgas no solo no que diz respeito à doses de nitrogênio e variações de umidade e identificar espécies de microalgas presentes na biomassa algal produzida em LATs, capazes de se adaptar à superfície do solo. Para tal, foram realizados dois experimentos, um experimento de campo, conduzido durante 31 dias, que foi constituído de potes de acrílico preenchidos com solo no qual foram avaliados 4 doses de nitrogênio com 4 repetições cada uma aplicadas a partir da biomassa algal, sendo elas: 75; 150; 225 e 300 kg ha⁻¹ e um tratamento controle sem aplicação de biomassa. O segundo experimento foi conduzido durante 60 dias e realizado em condições controladas em laboratório, onde foram testadas doses de nitrogênio (75; 150; 225 e 300) e umidades do solo (40, 60, 80 e 100 % da capacidade de campo do solo), sendo que para ambos foram inseridos tratamento controle. A variável analisada em ambos experimentos com o intuito de verificar o acúmulo de biomassa foi a clorofila-a. No campo, a maior dose de N no solo (300 kg ha⁻¹) fez com que o biofilme apresentasse quebra e não coesão com a superfície do solo. As doses de 150 e 225 kg ha⁻¹ de N diferiram significativamente do tratamento controle com relação aos maiores valores de clorofila-a. Já em condição de laboratório, a umidade próxima de 100 % resultou nos maiores valores de clorofila-a e, com o decorrer do tempo, a umidade poderia ser mantida em torno de 58 a 74 %, a depender também do objetivo da aplicação de biofilme em cada área. O maior valor de clorofila-a obtida foi 33,08 µg g⁻¹ aos 30 dias em condições controladas e 28,70 µg g⁻¹ aos 31 dias em condições de campo. A espécie *Chlorella vulgaris* foi predominante com relação à adaptação no solo em ambos os experimentos e a aplicação da biomassa algal no solo não culminou com acréscimo no teor de matéria orgânica a curto prazo, mas aumentou o teor de N no solo.

Palavras-chave: Lagoas de alta taxa; Recuperação de nutrientes; Biofilme de microalgas; Crostas biológicas no solo.

6.1 INTRODUÇÃO

Espécies de microalgas podem ser organismos oportunistas amplamente distribuídos, que estão sempre presentes em sistemas terrestres e são importantes produtores primários em várias comunidades (QIAO et al., 2015). A fixação de CO₂ utilizando espécies de microalgas de rápido crescimento oferece uma alternativa muito promissora para a mitigação de CO₂ (WANG et al., 2008). Além disso, as microalgas também consomem outros gases de efeito estufa, como óxidos de nitrogênio (NO_x) e óxidos de enxofre (SO_x). Algumas espécies de cianobactérias têm a capacidade de fixar nitrogênio atmosférico, aspecto que pode culminar na melhoria da fertilidade do solo e, como consequência, na produtividade dos cultivos, pastagens e formações florestais. Outra aplicação das microalgas é a possibilidade de cultivo em águas residuárias, que pode reduzir o descarte de material contaminado em corpos hídricos, contribuindo para a remoção de nutrientes, contaminantes biológicos, substâncias tóxicas e metais pesados (DERNER et al., 2006).

Crostas biológicas do solo (Biological soil crusts - BSC) são formadas por comunidades de microrganismos que se aderem à superfície do solo. Cianobactérias, microalgas, fungos, musgos, bactérias e archeas estão envolvidos na montagem de BSCs (BATES et al., 2010). Crostas de algas têm o maior crescimento e dominam a população microbiana e são o principal agente de agregação de grãos minerais (BELNAP; GILLETE, 1997). Cianobactérias, cianoliquens e bactérias nas crostas contribuem grandemente para o incremento de nutrientes ao solo por meio da produção de quantidades substanciais de nitrogênio biodisponível em ambientes (BELNAP, 2002; EVANS; LANGE, 2003). Esta estabilização associada ao aumento de nutrientes no solo, tem sido sugerido para que posteriormente possibilite o estabelecimento de plantas (EVANS; JOHANSEN, 1999; HARPER; BELNAP, 2001).

Portanto, o biofilme de microalgas, além de contribuir com o aumento do sequestro de carbono e com o tratamento de efluentes, possui ampla possibilidade de aproveitamento tanto para a produção de bioenergia como para fins agrícolas. Nesse sentido, o desenvolvimento de alternativas inovadoras que atuem de forma integrada

é de fundamental importância para o avanço do setor agropecuário, na melhoria do solo, no uso racional e sustentável dos recursos hídricos. No entanto, não existem estudos que abordem a recuperação de nutrientes em lagoas de alta taxa (LATs), e avaliem a dosagem de nutrientes a partir da biomassa algal, suficiente para que ocorra a adaptação do biofilme de microalgas em crostas nuas. Nesse tema, somente foram encontrados estudos sobre quantificação de clorofila-a em crostas nuas ou até mesmo em crostas artificialmente cultivadas e metodologias para quantificação da mesma (ISSA et al., 2001; CASTLE et al., 2011; LAN et al., 2011).

A biomassa algal cultivada em LATs, além de contribuir para o tratamento de efluentes, posteriormente pode ser utilizada para aplicação no solo e favorecer diversos fatores como: redução de emissões de gases de efeito estufa pelo solo, incorporação de nutrientes contribuindo para a fertilidade do solo, além da possibilidade de contribuir para melhorias nas características químicas e físicas do solo ao longo do tempo. A recuperação da qualidade do solo proporciona um adequado substrato para a vegetação. Como resultado, a implementação desse método poderia contribuir também para melhorias da qualidade dos corpos hídricos. No entanto, faz-se necessário compreender o comportamento das espécies de microalgas no solo ao longo do tempo e verificar a influência de variáveis como a disponibilidade de nitrogênio e umidade do solo tanto na adaptação das mesmas como na qualidade do ambiente como um todo.

O objetivo deste trabalho foi buscar uma condição ideal para otimização do crescimento do biofilme de microalgas no solo no que diz respeito à doses de nitrogênio e variações de umidade e identificar espécies de microalgas presentes na biomassa algal produzidas em LAT, capazes de se adaptar à superfície do solo.

6.2 MATERIAL E MÉTODOS

6.2.1 Preparação do solo

Foram realizados dois experimentos sendo que o solo utilizado em ambos trata-se de um Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico coletado no Campus da Universidade Federal de Viçosa na profundidade de 0-10 cm. O material coletado foi

seco ao ar, destorroado e passado em peneira com malha de 2,0 mm para obtenção de terra fina seca ao ar (TFSA).

Amostras de solo (2 dm³) foram colocadas em sacos plásticos para realização da calagem, pelo método da neutralização do Al³⁺ e da elevação dos teores de Ca²⁺ + Mg²⁺ (ALVAREZ V.; RIBEIRO, 1999), utilizando-se calcário calcítico comercial (relação Ca:Mg, 4:1), resultando em pH de 6,1. Em seguida, a umidade do solo foi ajustada para 60 % da capacidade de campo, determinada pelo extrator de placa porosa a uma pressão de 10 kPa (REICHARDT, 1988). Os sacos foram abertos de 3 em 3 dias, sendo que após 21 dias de incubação, o solo foi seco ao ar, destorroado e passado em peneira de 2 mm (TFSA), para montagem do experimento.

As análises químicas e físicas das amostras de solo, realizadas conforme EMBRAPA (2011), EMBRAPA (2012) e Almeida; Sanches et al. (2012), apresentaram os seguintes valores: pH (em H₂O) = 6,2; P = 1,4 mg dm⁻³; K = 112,00 mg dm⁻³; Ca²⁺ = 0,20 cmol_c dm⁻³; Mg²⁺ = 0,30 cmol_c dm⁻³; N = 0,20 g kg⁻¹; MO = 10,60 g kg⁻¹; Al³⁺ = 0,00 cmol_c dm⁻³; H+Al = 1,08 cmol_c dm⁻³; Soma de Bases = 0,79 cmol_c dm⁻³; CTC potencial = 1,86 cmol_c dm⁻³; CTC efetiva = 0,785 cmol_c dm⁻³; Saturação por bases = 43,00 %; Areia = 496 g kg⁻¹; Silte = 163 g kg⁻¹; Argila = 341 g kg⁻¹.

6.2.2 Produção e separação das microalgas

A biomassa foi produzida em LAT, tendo como meio de cultivo efluente primário (pós-unidade de flotação) advindo de uma indústria de processamento de carnes localizada no município de Viçosa, MG, Brasil. A LAT constituída de fibra de vidro e os pedais em PVC, com duas lâminas, possuía as seguintes características: largura = 1,28 m, comprimento = 2,86 m, profundidade total = 0,5 m, profundidade útil = 0,3 m, área superficial = 3,3 m² e volume útil = 1 m³. Os pedais foram movimentados por motor elétrico de 1cv. A rotação foi reduzida por redutor acoplado ao motor e controlada por inversor de frequência (marca WEG série CFW-10), que garantiu velocidade de aproximadamente 0,10 a 0,15 m s⁻¹. A lagoa foi operada em batelada (2 bateladas, sendo essas no mês 07/15) de aproximadamente 14 dias de duração até atingir a fase de decaimento do crescimento algal, monitorado diariamente pela variável clorofila-a (NEN 6520, 1981; APHA, 2005).

Após o fim do tratamento do efluente e do crescimento algal em cada batelada, a biomassa foi colhida. Para obtenção de biomassa mais concentrada, o pH da lagoa foi aumentado até atingir 12, com adição de NaOH 50% m/v e o líquido da lagoa foi agitado manualmente e deixado em repouso durante 24 horas. A biomassa sedimentada foi coletada, após o descarte do sobrenadante clarificado, e teve seu pH corrigido para 7 com HCl 1 mol L⁻¹. A caracterização da biomassa algal concentrada aplicada no solo, realizada de acordo com metodologias adaptadas de APHA (2005), foi a seguinte: Fósforo total = 11,75 mg L⁻¹; Nitrogênio Kjeldahl = 256,06 mg L⁻¹; Nitrogênio amoniacal = 6,42 mg L⁻¹; Nitrito = 0,04 mg L⁻¹; Nitrato = 0,35 mg L⁻¹; Carbono orgânico = 55,39 g L⁻¹; Umidade = 99,69% e pH = 7,0.

A biomassa algal, antes de ser aplicada no solo foi analisada conforme a Resolução CONAMA nº 375 de 29 de agosto de 2006, que define critérios e procedimentos, para uso agrícola de lodo de esgoto gerados em estações de tratamento de esgoto sanitário e seus produtos derivados, sendo que todos estiveram em conformidade com a norma brasileira.

6.2.3 Efeito do nitrogênio no estabelecimento do biofilme de microalgas

O experimento foi conduzido em área experimental externa ao Laboratório de Engenharia Sanitária e Ambiental (LESA) da Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa-MG, sob as coordenadas 20°46'07.05''S e 42°51'30.84''O, e uma elevação de 686 m em relação ao nível do mar. O tipo de solo predominante é o Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico. O clima da região é do tipo Cwa, mesotérmico úmido com verões chuvosos e invernos secos, de acordo com a classificação de Köppen-Geiger. De acordo com o Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), considerando-se dados de 1991 a 2015, a precipitação média anual é de 1286 mm e a umidade relativa do ar é de 81 %. A temperatura média do período seco, entre os meses de abril e setembro, é de 18,1 °C enquanto no período chuvoso, entre outubro e março, a temperatura média é de 22,1 °C. A Figura 6.1 apresenta o comportamento médio para precipitação e temperatura média para os meses do ano, para o período citado.

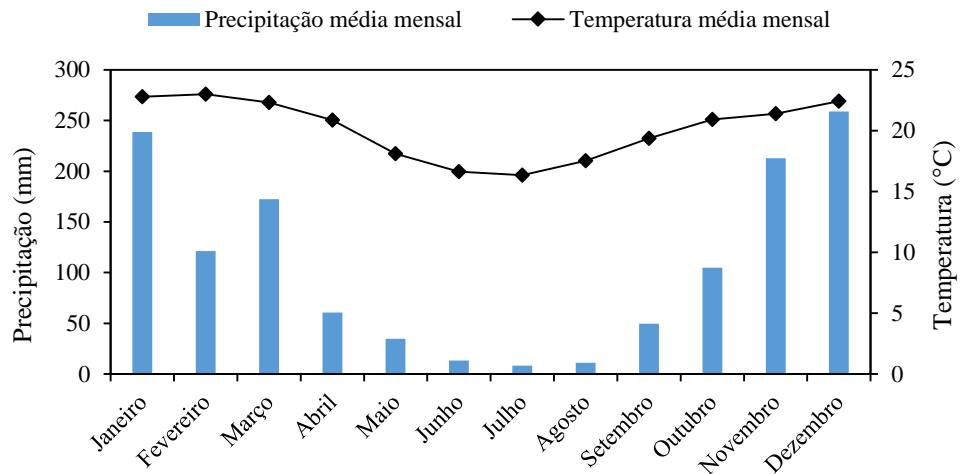


Figura 6.1. Comportamento médio para precipitação e temperatura média para os meses do ano, no período citado.

A Figura 6.2 apresenta os dados de temperatura máxima e mínima e precipitação na área experimental durante o período de condução do experimento.

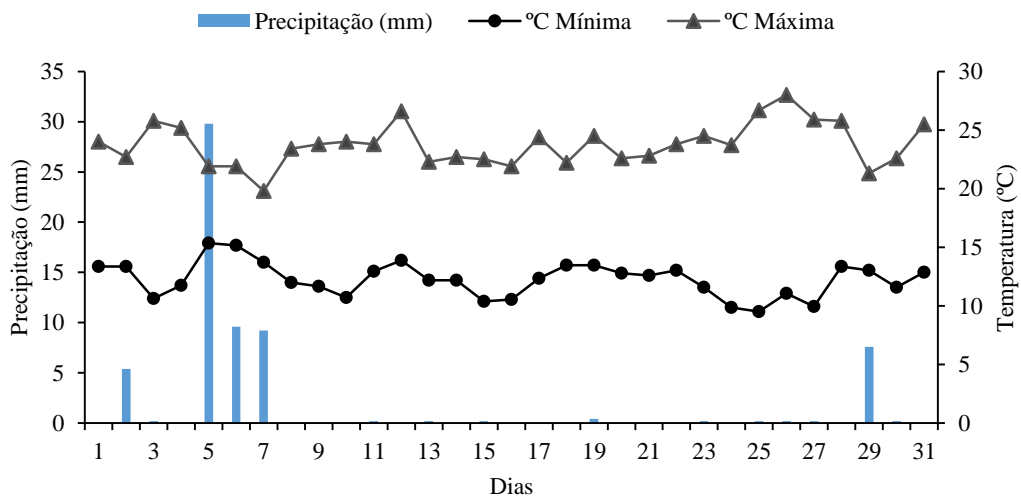


Figura 6.2. Dados de temperatura máxima e mínima (°C) e precipitação na área experimental durante o período de condução.

As unidades experimentais foram constituídas de câmaras de acrílico com 15 cm de diâmetro e 20 cm de altura, tendo em sua base PVC de alta densidade. Em cada câmara foram colocados 1,6 kg de terra fina seca ao ar (TFSA), que atingiram 10 cm de altura dentro do vaso, respeitando-se, portanto, a densidade do solo.

Foram testadas quatro doses crescentes de nitrogênio (Figura 6.3). A quantidade de biomassa aplicada foi calculada em função dos teores de N, sendo definidas as doses de 75, 150, 225 e 300 kg ha⁻¹ de N e um tratamento controle sem

aplicação de biomassa. As unidades experimentais foram dispostas em delineamento inteiramente casualizado (DIC).

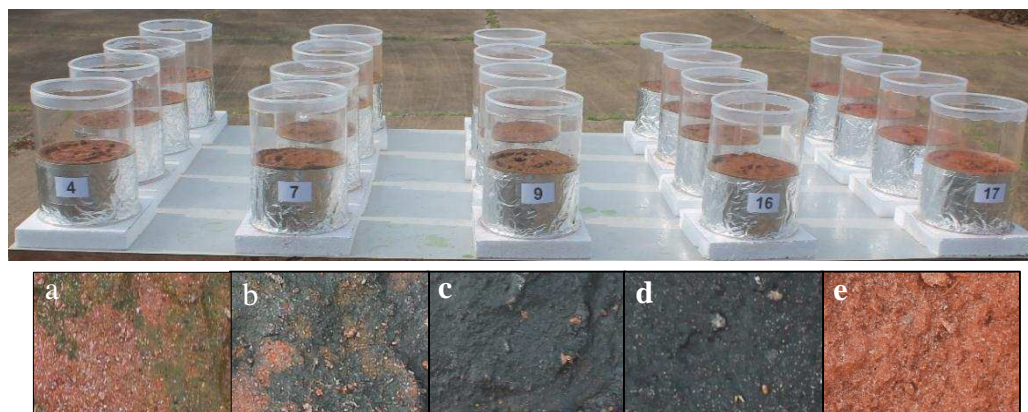


Figura 6.3. Esquema experimental e vista da superfície após a aplicação da biomassa algal na superfície do solo. a) Dose 75; b) Dose 150; c) Dose 225; d) Dose 300 kg ha⁻¹ e e) Tratamento controle.

A aplicação da biomassa foi realizada por meio de proveta. Toda a quantidade de biomassa foi aplicada num período de 7 dias, sendo que a umidade foi mantida a mesma em todos os potes e o biofilme cobriu toda a superfície do pote. A partir do 8º dia, já terminada a aplicação da quantidade estipulada de biomassa algal, iniciaram-se as avaliações de clorofila-a.

As avaliações de clorofila-a foram realizadas no 1º, 4º, 7º, 10º, 13º, 16º, 19º, 21º, 25º, 28º e 31º após o término da aplicação da biomassa algal na superfície do solo. Ao final da condução do experimento foi realizada análise fitoplanctônica para verificar a adaptação das espécies de microalgas na superfície do solo, além de análise de nitrogênio e matéria orgânica (MO).

6.2.4 Efeito do nitrogênio e umidade do solo no estabelecimento de biofilme de microalgas

O segundo experimento foi conduzido durante 60 dias e realizado em estufa incubadora de DBO (demanda bioquímica de oxigênio), com controle de luz (4 lâmpadas de 40 W) e temperatura (25 °C). Foram avaliadas a umidade e a quantidade de biomassa aplicada estipulada com base na dose de nitrogênio. Ao todo foram cinco doses (0, 75, 150, 225 e 300 kg ha⁻¹) e quatro umidades (40, 60, 80 e 100 %) com quatro repetições, em DIC. O solo utilizado seguiu a preparação prévia descrita no item 5.2.1 e posteriormente foi disposto em placas de Petri (30 g de solo).

A luminosidade foi mantida por fotoperíodo de 12 horas. A umidade foi controlada por meio de pesagem das placas diariamente às 14 horas. Análise de clorofila-a foi realizada aos 15, 30 e 60 dias após a aplicação de biomassa algal. Ao final de 60 dias de experimento foi realizada análise fitoplanctônica para identificação das espécies que se adaptaram às condições de umidade e doses de nitrogênio testadas.

6.2.5 Análise da comunidade fitoplanctônica na biomassa algal e no solo

A comunidade fitoplanctônica foi analisada no efluente aplicado no solo e ao final do experimento no solo contido nos potes de acrílico (Experimento 1) e placas de Petri (Experimento 2), a fim de identificar as espécies que conseguiram se adaptar às condições testadas.

Foram identificadas as principais espécies dentro de cada gênero com base em Parra et al. (1982) e Komarek; Fott (1983), segundo metodologia Uthermöl (1958); Wetzel; Likens (1991); APHA (2005).

6.2.6 Clorofila-a no solo

Valores de clorofila-a foram medidos a fim de fornecer uma medida de biomassa algal.

A clorofila-a foi extraída a partir de amostras de 3 g de solo secos ao ar com etanol 90 %, onde as mesmas foram agitadas durante 12 horas em agitador orbital, aquecidas durante 5 minutos a 80 °C em banho maria e resfriadas durante 30 minutos. As amostras foram centrifugadas durante 10 min a 1395 xg (CASTLE et al., 2011). Afim de se obter melhor remoção da clorofila das partículas de solo, foi realizada dupla extração. As microgramas (µg) de clorofila-a por grama de solo foram calculadas usando a Equação 6.1 (ISO 10260, 1992 ou CASTLE et al., 2011).

$$\text{Clorofila - } a = \frac{(29,6) * (665o - 665a) * V}{(\text{g solo} * L)} \quad \text{Equação 6.1}$$

Em que: V= volume de solvente (mL), g solo= grama de solo seco, L= comprimento da cubeta. As equações representam a clorofila-a na amostra subtraindo a absorbância

da amostra a 750 nm. 665_o, indica a leitura antes de adição de ácido e 665_a, depois da acidificação.

6.2.7 Análise estatística

Para o primeiro experimento, os dados foram submetidos a análise de regressão e os modelos foram escolhidos baseado na significância dos coeficientes de regressão utilizando-se o teste de “t” ao nível de até 10 % de probabilidade com o auxílio do software R©, versão 3.2.2, R Foundation for Statistical (R Development Core Team, 2012). A média do tratamento controle foi comparada com os demais utilizando-se o teste de Dunnet adotando-se o nível de 5 % de probabilidade com o auxílio do software Assisat versão 7.7 Beta (SILVA, 2009).

Para o segundo experimento, foi utilizada a metodologia da superfície de resposta e os modelos foram escolhidos baseado na significância dos coeficientes de regressão utilizando-se o teste “t” adotando-se o nível de até 15 % de probabilidade, no coeficiente de determinação (R^2) utilizando-se o software Minitab® 15.1.30.0.

6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Apesar de na literatura não serem encontrados trabalhos que apresentem a aplicação de biomassa algal no solo e posteriores avaliações de clorofila-a, alguns autores (CASTLE et al., 2011; LAN et al., 2011) tem relatado suas experiências ao comparar solventes, como exemplo, etanol, acetona, e metanol, utilizados na análise de clorofila-a no solo, como estimadora da biomassa ali presente. Os trabalhos acima citados mostraram que o etanol é um solvente eficiente na extração de clorofila-a do solo. Os resultados encontrados neste trabalho foram semelhantes aos reportados na literatura, quando se trata de valores de grandeza, sendo a clorofila-a expressa em unidade de massa.

6.3.1. Efeito do nitrogênio no estabelecimento do biofilme de microalgas

A aplicação da biomassa algal devido ao seu elevado teor de umidade, fez com que o solo apresentasse a quantidade de água correspondente a 90 % da sua capacidade de campo (0,298 kg kg⁻¹). Foi estipulado que a capacidade de campo seria mantida acima de 60 %, sendo que a necessidade de aplicação de água ocorreu somente por

volta do 17º dia de condução do experimento. Na Figura 6.4 pode-se observar o decréscimo dos valores de clorofila-a quando da redução da umidade do solo e posterior crescimento da variável quando da adição de água, representada pelas setas. Durante todo o período de amostragem a aplicação da maior quantidade de biomassa algal resultou em maiores valores de clorofila-a. Cuadros et al. (2010) mostraram em seus experimentos que o crescimento de biofilme microbiano é muito rápido em ambiente úmido e com fonte de nutrientes orgânicos. Estas duas condições pareceram ser as mais críticas para promover a estabilização de uma camada superior estável.

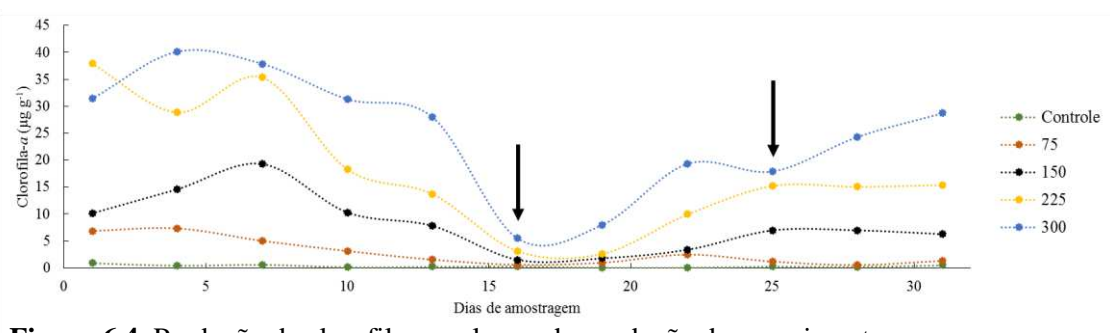


Figura 6.4. Produção de clorofila-a ao longo da condução do experimento.

Tal como indicado pelos trabalhos realizados por Cuadros et al. (2010), a secagem do sedimento por curto período de tempo causou a morte ou cessou a atividade de parte substancial do biofilme microbiano. Quando o objetivo é manter vivas as espécies presentes no biofilme para que as mesmas possam contribuir com a captura de gases presentes na atmosfera, a umidade deve ser mantida constante. Entretanto, se a finalidade for manter a estabilidade física da superfície contra a erosão causada pelo vento, os eventos de irrigação passam a ser mais flexíveis. Os novos eventos de irrigação ocasionariam o renascimento do tapete microbiano, novo período de crescimento e maior estabilização do sedimento. Esta estabilidade física da superfície, no entanto, seria provavelmente destruída se as condições de secagem permanecessem por longo período de tempo, devido à erosão do vento e da atividade animal. A secagem do tapete microbiano faz com que ele se quebre.

Além disso, observou-se neste trabalho que a aplicação de elevadas quantidades de biomassa algal no solo fez com que o biofilme não apresentasse coesão com as partículas do solo e em pouco tempo se quebrasse. Na Figura 6.5, tem-se um exemplo do biofilme aos 13 dias após o término da aplicação da biomassa no solo, onde pode-se perceber que mantidas as mesmas condições para os tratamentos, aquele em que foi aplicado 300 kg ha⁻¹ (Figura 6.5d) já apresentava quebra e não coesão com

a superfície, o que em condições de enxurrada ou ventos mais intensos, acarretaria no arraste da camada.

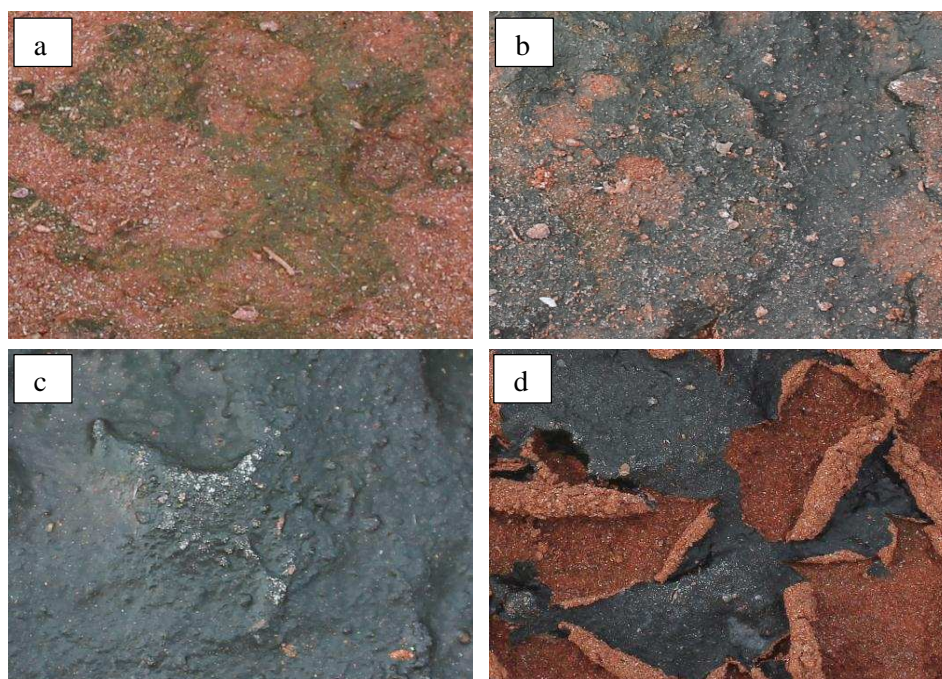


Figura 6.5. Aspecto do biofilme de microalgas após 13 dias da aplicação dos tratamentos: a- 75; b- 150 kg ha⁻¹; c- 225 e d- 300 kg ha⁻¹.

As algas apareceram nos trabalhos realizados por Cuadros et al. (2010) como o elemento mais eficiente do tapete microbiano na manutenção de uma superfície estável. Os autores sugeriram a inserção de algas ou esporos na água de irrigação para assegurar a sua presença desde o início e em concentração suficiente para permitir um efeito eficaz na estabilidade física. Depois que as comunidades de algas tomarem posse da superfície, a água a ser irrigada não precisaria mais conter algas.

Gerbersdorf et al. (2009) relataram que os filmes de polissacáridos bacterianos podem ser mais eficazes do que as substâncias poliméricas de diatomáceas na agregação de sedimentos em certas condições nutricionais, e eles postulam um papel mais importante da ação das bactérias para a estabilização de sedimentos. Uma diferença importante entre os resultados aqui obtidos e os de Gerbersdorf et al. (2009), no entanto, é que as algas dominantes das experiências não foram diatomáceas, mas *Chlorella vulgaris* que já se encontravam presentes na biomassa aplicada no solo.

A julgar pelo resultado da análise fitoplanctônica (Figura 6.6), pode-se perceber que a espécie dominante tanto na amostra bruta quanto no solo foi a *Chlorella vulgaris*. A espécie *Scenedesmus acutus* e *Clorofícea* sp. 1, que apresentaram abundância relativa de 8 e 4 % respectivamente, na amostra bruta, não apresentaram

boa adaptabilidade à superfície do solo já que o primeiro não foi detectado em nenhum dos tratamentos testados e a segunda somente em 1 % de abundância relativa nas doses 75, 225 e 300 kg ha⁻¹. Já a espécie Chlorococcales que não foi detectada na amostra bruta, mas foi encontrada ao final da condução do experimento na dose de 75 kg ha⁻¹, com abundância de apenas 1 %.

A cianobactéria *Oscillatoria* sp., que também não foi detectada na amostra bruta, apresentou-se com abundância relativa de 3 % no solo ao final de 30 dias de condução do experimento na dose de 300 kg ha⁻¹. Porém, Cao et al. (2016), tendo analisado a estrutura da comunidade fitoplanctônica com relação à concentração de nutrientes em um lago na China, verificaram que o excesso de nutrientes não esteve relacionado com o crescimento do gênero *Oscillatoria*.

O fato de não estar presente na amostra bruta e posteriormente ser encontrada no solo pode estar relacionado à pouca abundância na amostra bruta que fez com que ela não fosse detectada e, com posterior adaptação às condições do solo, fosse possível sua detecção na amostra final. Há também que se destacar a possibilidade de micropropágulos serem transportados pelo vento e em condições favoráveis se adaptarem ao solo.

Um fator que pode ser determinante para o estudo da adaptação das algas na superfície é o pH do solo. Neste trabalho o pH foi corrigido para 6,2. Lukešová (2001) realizou pesquisa onde o principal objetivo foi estudar comunidades algais em áreas de pós mineração, e encontraram a prevalência de algas verdes, comum em solos ligeiramente ácidos a alcalinos; ou seja, aqui o pH do solo também pode ter sido um fator de seleção das algas.

Nos primeiros 16 dias de condução do experimento a média da produção de clorofila-a foi de 0,55, 1,49, 3,13 e 5,46 µg g⁻¹ para as doses 75, 150, 225 e 300 kg ha⁻¹, respectivamente, e aos 31 dias a produção de clorofila-a aumentou em todos os tratamentos sendo que a produção foi de 1,29, 6,24, 15,38 e 28,70 µg g⁻¹ para as doses 75, 150, 225 e 300 kg ha⁻¹, respectivamente. Aos 31 dias o aumento da dose de 75 kg ha⁻¹ para 150 kg ha⁻¹ fez com que ocorresse acréscimo de clorofila-a de 4,95 µg g⁻¹; da dose de 150 kg ha⁻¹ para 225 kg ha⁻¹ o acréscimo foi de 9,14 µg g⁻¹ e da dose 225 kg ha⁻¹ para 300 kg ha⁻¹ 13,32 µg g⁻¹. De posse da equação obtida para os 16 e 31 dias, pode-se inferir que somente a partir da aplicação de uma dose correspondente a 23,44 kg ha⁻¹ (16 dias) e 11,30 kg ha⁻¹ (31 dias) é que se pode observar acréscimos nos valores

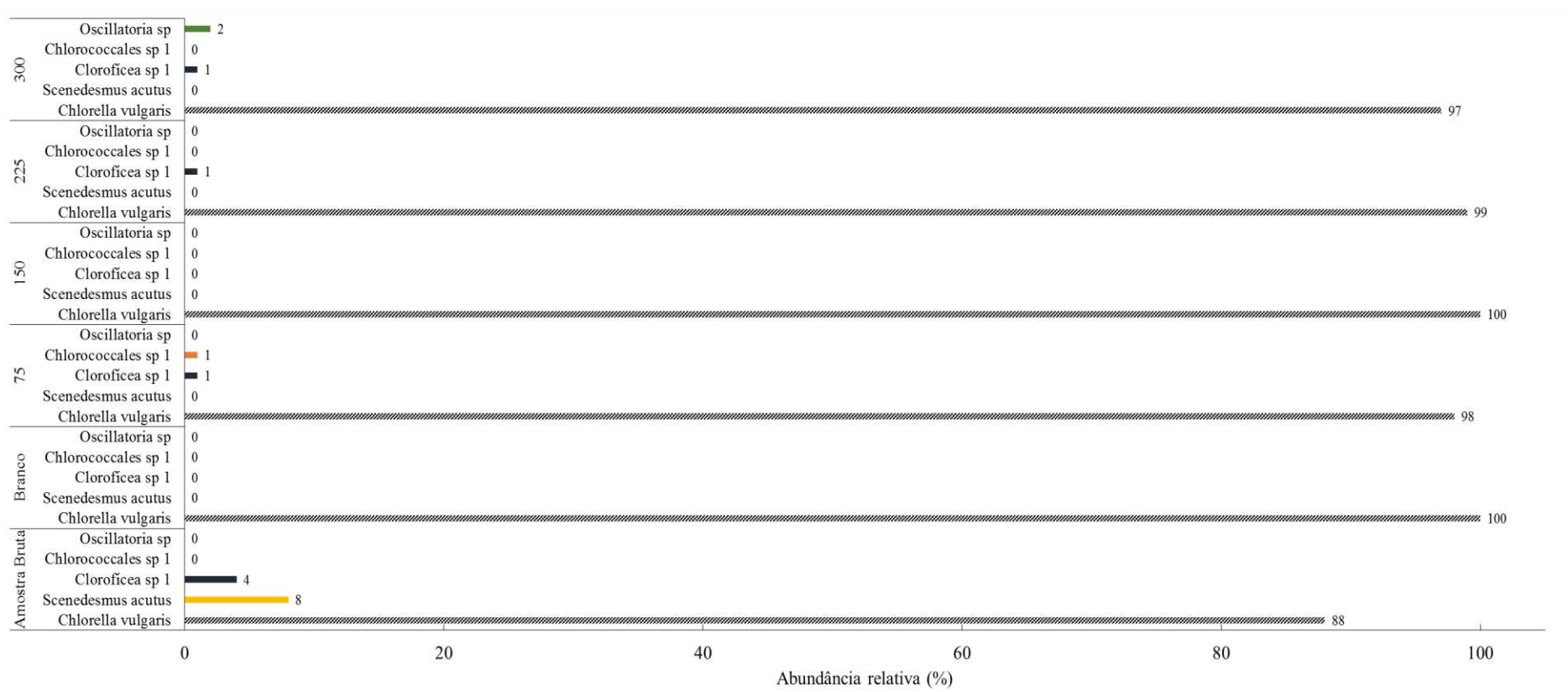


Figura 6.6. Abundância relativa das espécies presentes na biomassa bruta e nos tratamentos ao final do experimento.

de clorofila-a, a partir desse valor a parábola que representa a equação (Figura 6.7) passa a ser crescente.

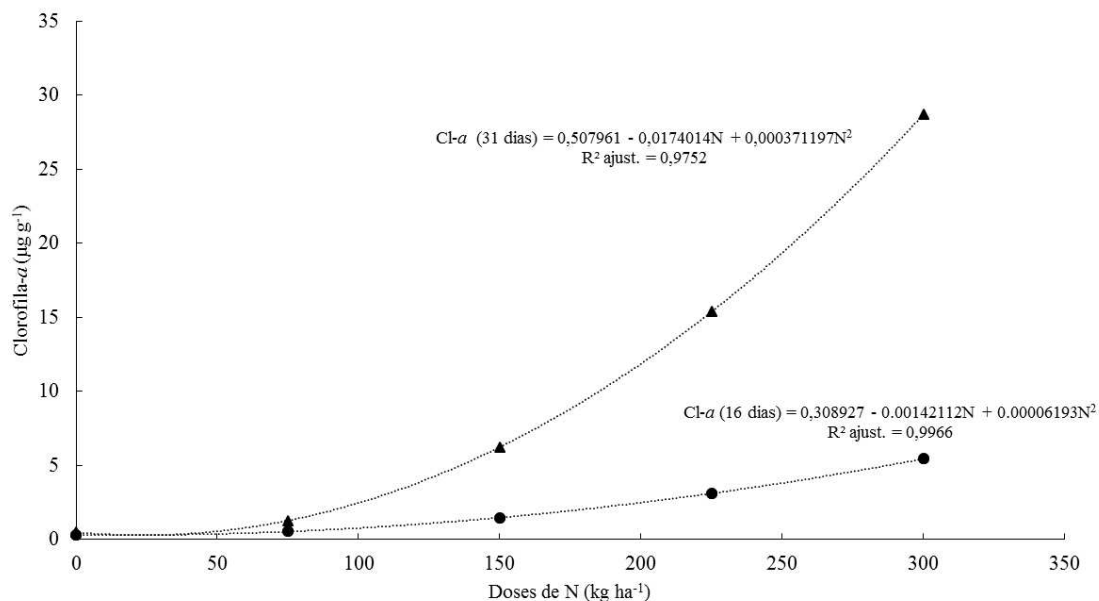


Figura 6.7. Representação gráfica do comportamento da clorofila-a ($\mu\text{g g}^{-1}$) aos 15 e 30 dias em função das doses testadas e suas respectivas equações.

Abed et al. (2010), avaliando crostas biológicas dominadas por algas no norte da região central de Oman, tendo usado acetona como solvente de extração, registraram valores de clorofila-a entre $0,5-1 \mu\text{g g}^{-1}$. Já Tirkey; Adhikary (2005) usaram metanol como extrator em crostas dominadas por algas em diferentes regiões da Índia e registraram valores entre $121-284 \mu\text{g g}^{-1}$. Lan et al. (2011) cita que a enorme variação dos valores reportados de clorofila no solo é principalmente atribuída aos diferentes tipos de crosta nas diferentes zonas de amostragem e quando as variações são registradas na mesma região de amostragem, esta pode ter sido causada principalmente devido aos níveis de desenvolvimento ou estágios de sucessão de crostas e os métodos de extração. Além disso, deve-se levar em consideração o grupo predominante.

Na Tabela 6.1 foram comparadas todas as doses com o tratamento controle pelo teste de Dunnet ($p < 0,05$) onde é possível perceber que tanto nos primeiros 16 dias quanto para 31 dias de condução do experimento as doses que se diferiram do controle foram 150, 225 e 300 kg ha^{-1} .

Tabela 6.1. Valores médios de clorofila-a ($\mu\text{g g}^{-1}$), nitrogênio e matéria orgânica no solo para as respectivas doses.

Doses	Chl-a (16 dias)	Chl-a (31 dias)	N (31 dias)	MO (31 dias)
0	0,31	0,51	0,02	0,39
75	0,55	1,29	0,03	0,46
150	1,49*	6,25*	0,05*	0,45
225	3,13*	15,38*	0,05*	0,45
300	5,46*	28,70*	0,06*	0,47
CV (%)	25,26	36,66	30,13	14,80

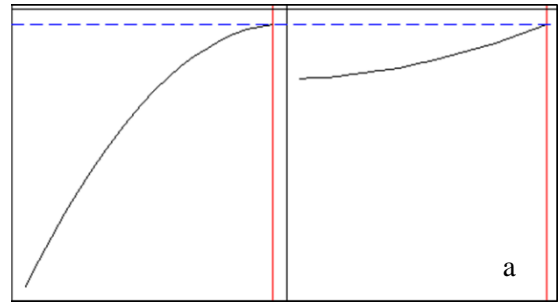
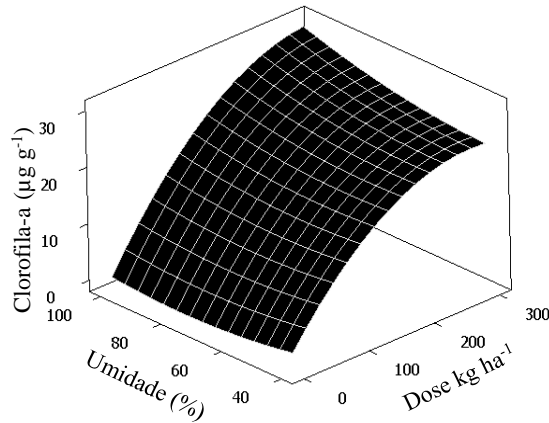
* Médias diferem do tratamento controle ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett.

As doses 150, 225 e 300 kg ha^{-1} se diferiram significativamente do controle quanto ao acréscimo de nitrogênio. Por outro lado, nenhum tratamento apresentou acréscimo significativo de MO no solo. Sabe-se que a maior parte da matéria orgânica adicionada ao solo é decomposta de forma relativamente rápida (de alguns meses até alguns anos), principalmente em regiões onde a temperatura e a precipitação pluviométrica são altas, sendo necessária, portanto, uma aplicação frequente de biomassa algal e uma avaliação a longo prazo para verificar o possível aumento da matéria orgânica do solo.

6.3.2 Efeito do nitrogênio e umidade do solo no estabelecimento do biofilme de microalgas

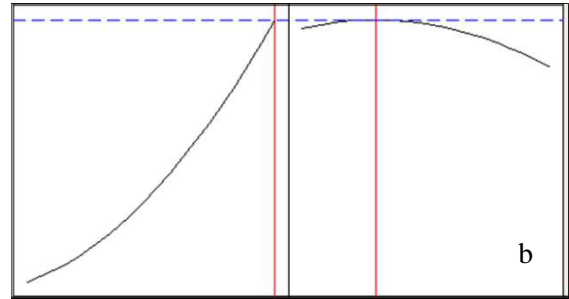
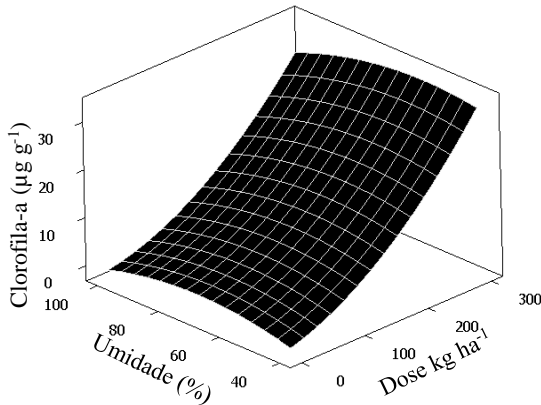
Na Figura 6.8 o coeficiente de determinação da regressão quadrática múltipla (R^2 ajust.) para as avaliações de clorofila-a no 15º dia foi de 0,9025, o que significa que 90,25 % do incremento nos valores de clorofila-a neste caso pode ser explicado pelas variáveis umidade (UM) e dose (DO), que influenciaram positivamente no aumento do acúmulo de biomassa medido indiretamente pelo aumento de clorofila-a. No corte na Figura 6.8-a pode-se perceber que a produção máxima de clorofila-a observada neste trabalho foi obtida quando da aplicação da maior dose de nitrogênio e na umidade de 100 % da capacidade de campo do solo.

$$\text{Clorofila-a (15 dias)} = 7,9718^{***} + 0,1466N^{***} - 0,2128UM^* - 0,00029N^2^{***} + 0,0013UM^2 + 0,0004039N^*UM^* \quad R^2 \text{ ajustado} = 90,25$$



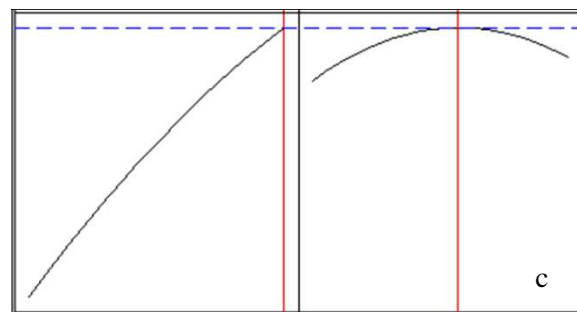
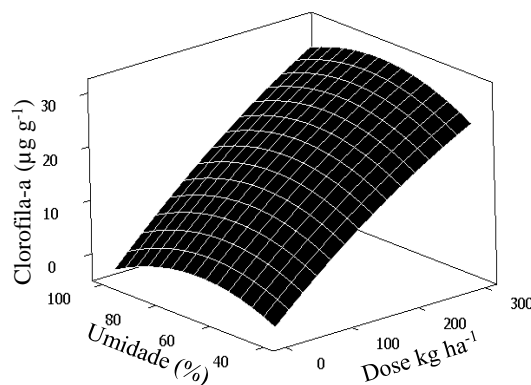
Produção máxima de Cl-a: 30,1115 µg g⁻¹

$$\text{Clorofila-a (30 dias)} = -14,0284^{***} + 0,0503N^{***} + 0,4489UM + 0,0002377N^2^{***} + 0,003181UM^2 + 0,0002708N^*UM \quad R^2 \text{ ajustado} = 83,08$$



Produção máxima de Cl-a: 33,0814 µg g⁻¹

$$\text{Clorofila-a (60 dias)} = -20,5722^{***} + 0,1089N^{***} + 0,6592UM^* - 0,00009179N^2^{***} - 0,004836UM^2 + 0,000200N^*UM \quad R^2 \text{ ajustado} = 73,79\%$$



Produção máxima de Cl-a: 30,5989 µg g⁻¹

Figura 6.8. Resultados da análise de regressão quadrática múltipla para os dias 15, 30 e 60 e respectivas superfícies de resposta.

***Significativo a 0.1%; **Significativo a 1%; *Significativo a 5%; •Significativo a 10%. a,b,c: representam os corte na superfície de resposta, representando o ponto para dose e para umidade em que houve produção máxima de clorofila-a.

Com base no modelo ajustado para os resultados de clorofila-a aos 15 dias, pode-se concluir que se a umidade for mantida a 100 % da capacidade de campo, a dose de N na biomassa algal aplicada que propiciaria a maior produção de clorofila-a ($30,2973 \mu\text{g g}^{-1}$) seria 325 kg ha^{-1} . A produção de clorofila-a se manteria estável até a aplicação de 370 kg ha^{-1} de N, quando a partir desse valor seria observada uma diminuição no acúmulo de biomassa.

No segundo modelo ajustado, correspondente aos 30 dias de condução do experimento. O aumento da dose e manutenção da umidade a 57,95 % implicaria sempre no aumento de produção de clorofila-a, porém se a dose fosse mantida em 300 kg ha^{-1} de N a umidade ideal que propiciaria o máximo acúmulo de biomassa seria 57,95 % como pode ser observado no corte representado na Figura 6.8-b. Pode ter havido estabelecimento de espécies para as quais a umidade não é o fator mais limitante.

Através do corte, representado pela Figura 6.8-c pode-se perceber que a produção máxima de clorofila-a observada neste trabalho foi obtida quando da aplicação da maior dose de nitrogênio testada e na umidade de 74,21 % da capacidade de campo do solo. O aumento nas doses de nitrogênio, sendo mantida essa umidade, implicaria sempre no aumento da produção de clorofila-a. Os modelos de regressão podem indicar condições para a maximização do acúmulo de biomassa no solo.

A predominância da espécie *Chlorella vulgaris* aos 60 dias de experimento (Tabela 6.2) pode estar relacionado à tolerância dessa espécie à pequenas horas de seca que podem ter culminado na morte das demais espécies presentes no efluente bruto, visto que o controle da umidade fora realizado uma vez no dia, no período vespertino e isso pode ter propiciado pequenos eventos de secagem.

Tabela 6.2. Resultado da análise fitoplanctônica ao final do experimento com relação às umidades aplicadas.

Umidade (%)	Espécie	Abundância	Biovolume Total ($\mu\text{m}^3.\text{mL}^{-1}$)
40	<i>Chlorella vulgaris</i>	100%	$1,48 \times 10^8$
60	<i>Chlorella vulgaris</i>	100%	$0,71 \times 10^8$
80	<i>Chlorella vulgaris</i>	100%	$0,52 \times 10^8$
100	<i>Chlorella vulgaris</i>	100%	$0,87 \times 10^8$

Faz-se necessário, a partir de agora investir em estudos relacionados à seleção de diferentes espécies que tenham capacidade de sobrevivência na superfície do solo

e que possam contribuir de diversas formas com o ambiente, como por exemplo: influência da biomassa para a vegetação local, captura de gases de efeito estufa, lixiviação de NO_3^- para camadas profundas do solo, mudança ao longo do tempo nas características físicas e químicas do solo e volatilização de amônia por parte da biomassa algal. Diante da possibilidade de otimizar a formação de um biofilme de microalgas, faz-se necessário também, avaliar a influência desse biofilme na recuperação de áreas degradadas e incorporação de N_2 atmosférico por espécies de cianobactérias, ou seja, alternativas que justificam a disposição da biomassa algal no solo. Faz-se necessário ainda, avaliar a influência desses organismos no solo, principalmente com relação à liberação de toxinas.

Os resultados obtidos demonstram que a biomassa algal pode ser cultivada e propagada culminando na formação de biofilme e promover o recobrimento do solo com vegetação esparsa. Muitos autores (HARUYUKI et al., 2003; WEI, 2005; XIAO et al., 2011) chamam atenção para o potencial das crostas biológicas em impedirem a desertificação, tanto no que diz respeito à redução do potencial osmótico na superfície do solo, quanto pela inibição de evaporação da água através dessas crostas.

6.4 CONCLUSÕES

- Quando da aplicação da maior dose de N ao solo (300 kg ha^{-1}), o biofilme apresentou quebra e não coesão com a superfície do solo. Doses entre 150 e 225 kg ha^{-1} diferiram significativamente do tratamento controle com relação à produção de clorofila-a; A partir da aplicação da dose correspondente a 23.44 kg ha^{-1} é que se pode observar acréscimos nos valores de clorofila-a.

- Quando da adaptação do biofilme de microalgas na superfície, a umidade próxima de 100 % da capacidade de campo do solo resultou nos maiores valores de clorofila-a nos primeiros dias de adaptação do biofilme e com o decorrer do tempo a aplicação de água poderia ser menor em torno de 58 a 74 %, a depender do objetivo do biofilme em cada área;

- A máxima produção de clorofila-a obtida foi $33,08 \mu\text{g g}^{-1}$ aos 30 dias em condições controladas e $28,70 \mu\text{g g}^{-1}$ aos 31 dias em condições de campo.

- A espécie *Chlorella vulgaris* foi predominante com relação à adaptação no solo em ambos os experimentos;

- A aplicação da biomassa algal no solo não culminou em acréscimo no teor de matéria orgânica a curto prazo, no entanto aumentou o teor de N total no solo.

6.5 REFERÊNCIAS

ABED, R. M. M.; KHARUSI, S. A.; SCHRAMM, A.; ROBINSON, M. D. Bacterial diversity, pigments and nitrogen fixation of biological desert crusts from the Sultanate of Oman. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 72, p. 418-428. 2010.

ALMEIDA, B. G.; DONAGEMMA, G. K.; RUIZ, H. A.; BRAIDA, J. A.; VIANA, J. H. M.; REICHERT, J. M. M.; OLIVEIRA, L. B.; CEDDIA, M. B.; WADT, P. S.; FERNANDES, R. B. A.; PASSOS, R. R.; DECHEN, S. C. F.; KLEIN, V. A.; TEIXEIRA, W. G. **Padronização de Métodos para Análise Granulométrica no Brasil**. Rio de Janeiro: Embrapa, 2012 (Comunicado técnico 66). 11 p.

ALMEIDA, R. F.; SANCHES, B. C. Fertilizantes nitrogenados com liberação lenta e estabilizada na agricultura. **Revista Verde**, v. 7, p. 31-35. 2012.

ALVAREZ V, V.H.; RIBEIRO, A.C. Calagem. In: RIBEIRO, A.C.; GUIMARÃES, P.T.G. & ALVAREZ V, V.H. **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais - 5ª aproximação**. Viçosa: SBCS, 1999. p. 43-60.

APHA - AWWA, WEF. Standard Methods for examination of water and wastewater. Washington: American Water Work Association, Water Environmental Federation. 2005.

BATES, S. T.; NASHARD, T. H.; SWEAT, K. G.; GARCIAL-PICHEL, F. Fungal communities of lichen-dominated biological soil crusts: diversity, relative microbial biomass, and their relationship to disturbance and crust cover. **Journal of Arid Environments**, v. 74, p. 1192 - 1199. 2010.

BELNAP, J. Nitrogen fixation in biological soil crusts from southeast Utah, USA. **Biology and Fertility of Soils**, v. 35, p. 128–135. 2002.

BELNAP, J.; GILLETE, D. A. Disturbance of biological soils crusts: impacts on potential wind erodibility of sandy desert soils in southeastern Utah. **Land Degradation & Development**, v. 8, p. 355-362. 1997.

BRASIL. CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. CONAMA. Define critérios e procedimentos, para o uso agrícola de lodos de esgoto gerados em estações de tratamento de esgoto sanitário e seus produtos derivados, e dá outras providências. Resolução 375, de 29 de agosto de 2.006. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. 2006.

CAO, X.; WANG, J.; LIAO, J.; SUN, J.; HUANG, Y. The threshold responses of phytoplankton community to nutrient gradient in a shallow eutrophic Chinese lake. **Ecological Indicators**, v. 61, p. 258–267. 2016.

CASTLE S. C.; MORRISON C. D.; BARGER N. N. Extraction of chlorophylla from biological soil crusts: A comparison of solvents for spectrophotometric determination. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 43, p. 853-856. 2011.

CUADROS, J.; SPIRO, B.; DUBBIN, W.; JADUBANSA, P. Rapid microbial stabilization of unconsolidated sediment against wind erosion and dust generation. **Journal of Soils and Sediments**, v. 10, p. 1415-1426. 2010.

DERNER, R. B.; OHSE, S.; VILLELA, M.; CARVALHO, S. M.; FETT, R. Microalgas, produtos e aplicações. **Ciência Rural**, v. 36, p. 1959-1967, 2006.

Development Core Team R, 2013. R: A Language and Environment for Statistical Computing. Foundation of Statistical Computing, Vienna.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. **Manual de métodos de análises de solo**. 2.ed. Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura e do Abastecimento, 2011. 212p.

EVANS, R.D.; JOHANSEN, J.R. Microbiotic crusts and ecosystem processes. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 18, p. 183-225. 1999.

EVANS, R.D.; LANGE, O.L. Biological soil crusts and ecosystem nitrogen and carbon dynamics. **Biological soil crusts: Structure, function, and management**, v. 150, p. 263-279. 2003.

GERBERSDORF, S. U.; BITTNER, R.; LUBARSKY, H.; MANZ, W.; PATERSON, D. M. Microbial assemblages as ecosystem engineers of sediment stability. **Journal of Soils and Sediments**, v. 9, p. 640–652. 2009.

HARPER, K. T.; BELNAP, J. The influence of biological soil crusts on mineral uptake by associated vascular plants. **Journal of Arid Environments**, v. 47, p. 347–357. 2001.

ISO 10260 A849I. Water Quality - Measurement of Biochemical parameters Spectrometric determination of the chlorophyll-a concentration. 1992.

HARUYUKI, F.; SHO, S.; MITSUHIRO, I. Effect of salty crust on soil albedo. **Agricultural and Forest Meteorology**, v. 118, p. 125–135. 2003.

ISSA, O. M.; STAL, L. J.; DÉFARGE, C.; COUTÉ, A.; TRICHET, J. Nitrogen fixation by microbial crusts from desiccated Sahelian soils (Niger). **Soil Biology and Biochemistry**, 33, 1425-1428. 2001.

KOMAREK, J.; FOTT, B.; **Das Phytoplankton im Süßwasser Chlorophyceae (Gruanalagen) Ordnung: Chlorococcales: Bd 7 1**. 1983. 1041p.

LAN, S.; WU, L.; ZHANG, D.; HU, C.; LIU, Y. Ethanol outperforms multiple solvents in the extraction of chlorophyll-a from biological soil crusts. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 43, p. 857-861. 2011.

LUKEŠOVÁ, A. Soil algae in brown coal and lignite post-mining areas in Central Europe (Czech Republic and Germany). **Restoration Ecology**, v. 9, p. 341–350. 2001.

MINITAB. MINITAB QUALITY COMPANION. 2007: Minitab® 15.1.30.0 : Statistical software. Disponível em: < <http://www.minitab.com> >. Acesso em: Nov. 2015.

NEDERLANDSE NORM.NEM 6520. Netherlands. 1981.

PARRA, O. A.; GONZALEZ, M.; DILLAROSSA, V.; RIVERA, P.; ORELLANA, M. Manual taxonomico del fitoplâncton de águas continentales. V – Chlorophyceae Parte I Volvocales, Tetrasporales, Chlorococcales y Ulothricales. Universidad de Concepcion. 1982.

QIAO, K.; TAKANO, T.; LIU, S. Discovery of two novel highly tolerant NaHCO₃ Trebouxiophytes: Identification and characterization of microalgae from extreme saline–alkali soil. **Algal Research**, v. 9, 245–253. 2015.

REICHARDT, K. Capacidade de campo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 12, p. 211-216, 1988.

SILVA, F. DE A. S. E.; AZEVEDO, C. A. V. DE. Principal Components Analysis in the Software Assistat-Statistical Attendance. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 7, Reno-NV-USA: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009.

TIRKEY, J.; ADHIKARY, S. P. Cyanobacteria in biological soil crusts of India. **Current Science**, v. 89, p. 515-521. 2005.

UTERMÖHL, H. Zur vervollkommnung der quantitativen phytoplankton-methodik. **Mitteilung Internationale Vereinigung fuer Theoretische unde Amgewandte Limnologie**, v. 9, p. 1-38, 1958.

WANG, B.; LI, Y.; WU, N.; LAN, C. Q. CO₂ bio-mitigation using microalgae. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 79, p. 707-718, 2008.

WEI, J. C. Biocarpet engineering using microbiotic crust for controlling sand. **Arid Zone Research**, v. 22, p. 287-288, 2005 (in Chinese, with English abstract).

WETZEL, R. G.; LIKENS, G. E. Limnological Analysis. Springer: Verlag, 391p. 1991.

XIAO B., WANG Q., ZHAO Y., SHAO M. Artificial culture of biological soil crusts and its effects on overland flow and infiltration under simulated rainfall. **Applied Soil Ecology**, v. 48, p. 11–17. 2011.

7. CAPÍTULO II: BIOFILME DE MICROALGAS NO SOLO: EMISSÃO DE GASES DE EFEITO ESTUFA, VOLATILIZAÇÃO DE AMÔNIA E PRODUTIVIDADE DE PLANTAS

Resumo: O presente trabalho avaliou a emissão de gases de efeito estufa (CH_4 , CO_2 e N_2O), a volatilização de amônia e o crescimento de *Pennisetum glaucum* quando da aplicação da biomassa de microalgas no solo em comparação com a ureia, fertilizante nitrogenado comumente utilizado na agricultura. O experimento consistiu em três tratamentos, sendo eles: (i) biofilme de microalgas (120 kg ha^{-1} de N), (ii) ureia (120 kg ha^{-1} de N) e (iii) controle (sem aplicação de fonte nitrogenada) em parcelas experimentais de 4 m^2 cada sob cultivo de milho cultivar BRS 1501 conduzido durante 60 dias. Foram medidos a emissão de gases de efeito estufa e volatilização de amônia, além de avaliação nas propriedades químicas e biológicas do solo e crescimento da planta. A emissão de metano foi igual para os três tratamentos ($p > 0,07$). Quando se trata da emissão de dióxido de carbono os tratamentos foram diferentes entre si ($p < 0,01$). O biofilme de microalgas foi responsável pelas maiores emissões de dióxido de carbono e óxido nitroso, sendo que neste último o tratamento controle e com aplicação de ureia foram iguais ($p < 0,01$). Quanto à volatilização de N-NH_3 , as perdas observadas foram 4,63%, 18,98% e 0,82% para biofilme de microalgas, ureia e controle, respectivamente. Quanto as alterações do solo as principais diferenças estiveram relacionadas com o incremento de nitrogênio causado pela aplicação de biomassa algal no solo, e ainda o aumento da capacidade de troca catiônica (total) ($p < 0,01$), em ambos o biofilme de microalgas apresentou valores superiores em comparação com tratamento controle e ureia, sendo que estes não se diferiram. Para o teor de matéria orgânica do solo (MOS), os três tratamentos se diferiram significativamente ($p < 0,05$) sendo que o tratamento com biofilme de microalgas foi o que acrescentou maior quantidade de MOS. Para matéria seca de parte aérea e conteúdo de nitrogênio foram observadas diferenças significativas dos tratamentos em que foram aplicadas fontes nitrogenadas para o tratamento controle. Para matéria seca de folhas, todos os tratamentos se diferiram entre si, sendo que a ordem crescente de produção de matéria seca de folhas foi a seguinte: Ureia > Biomassa algal > Controle. A espécie de microalga dominante no solo foi *Chlorella vulgaris*.

Palavras-chave: Aquecimento global, recuperação de nutrientes, biomassa algal.

7.1 INTRODUÇÃO

Esforços tem sido realizados em âmbito mundial, para a redução das emissões de gases de efeito estufa (GEEs), que tornaram-se preocupação devido ao crescente aumento do aquecimento global. Estudos têm demonstrado, que o dióxido de carbono (CO_2), o metano (CH_4) e o óxido nitroso (N_2O) são importantes GEEs emitidos em decorrência de atividades agrícolas e têm função determinante no aquecimento do clima global (YI-HU et al., 2014).

Dentre as práticas agrícolas, maior atenção deve ser dada a adição de fertilizantes no solo, sendo que entre os fertilizantes sintéticos, os nitrogenados são a maior fonte de nitrogênio (N) adicionada a sistemas de cultivo. Como o fertilizante é aplicado com o objetivo de suprir as necessidades nutricionais da planta no decorrer do seu tempo de crescimento e raramente essa sincronia é atingida, grande parte deste N é geralmente perdida para o ambiente (GREGORICH et al., 2015). Essas perdas ocorrem porque a microbiota do solo é altamente sensível à perturbação antrópica, tais como a fertilização, diferentes padrões de cultivo e métodos de preparo do solo (TAO et al., 2015).

O aumento no fluxo de N gasoso a partir do solo interfere de forma direta e indireta no clima do planeta, através da emissão de N_2O e porque as emissões de óxidos de N, tais como NO_2 e NO , afetam as concentrações atmosféricas de outros GEEs, especialmente o ozônio (O_3) e metano (CH_4) (GREGORICH et al., 2015). Além disso, as emissões de amônia a partir solo, também contribuem para a formação de aerossol que podem causar sérios problemas ambientais e ecológicos em nível regional, como a eutrofização de corpos d'água superficiais, a acidificação do solo e desequilíbrio de nutrientes (CAO et al., 2013).

Peigné et al. (2007) apontaram que a longo prazo, o uso excessivo de fertilizantes químicos resultou em perda de matéria orgânica, levando à degradação de solos cultivados e grave deterioração da qualidade do solo. A maioria dos fertilizantes nitrogenados, contribuem para acidificação do solo, embora isso seja dependente do tipo de solo em que é aplicado. O uso de resíduos orgânicos, nas doses comumente recomendadas para aplicação nas culturas, pode não evitar a acidificação, mas contribui com a redução da velocidade do processo (ANDA, 2000).

Diante do exposto, a aplicação da biomassa algal na superfície do solo, pode ser uma alternativa que contribua com a adição de nutrientes (N, P), diminuição da

emissão de GEEs para a atmosfera, uma vez que a formação de um biofilme na superfície do solo composto por produtores primários contribuiria com a captura de CO₂ atmosférico, e com o incremento de carbono orgânico no solo (COS). Adicionalmente, como qualquer planta superior, as algas ou cianobactérias demandam no seu crescimento uma fonte de carbono para realização da fotossíntese, realizando a captura de CO₂ atmosférico, por exemplo, como fonte de carbono inorgânico e contribuindo assim com a minimização do efeito estufa.

Muitos estudos têm sido realizados visando encontrar meios que colaborem com redução da emissão de GEEs, tanto no que diz respeito à mudança no uso do solo (KIM; KIRSCHBAUM, 2015), utilização de fertilizantes orgânicos (YI-HU et al., 2014) e o uso de compostos tais como biochar (AGEGNEHU et al., 2016; SUBEDI et al., 2016; ZHANG et al., 2016). Até o momento, entretanto, a recuperação de nutrientes presentes na biomassa algal produzida em lagoas de alta taxa (LAT) ainda não foi alvo de estudo aprofundado com relação à sua aplicação na superfície do solo.

Assim, esse estudo é pioneiro na avaliação dos efeitos do biofilme de microalgas no solo, produzido a partir do tratamento de efluente. A biomassa produzida a partir do tratamento de efluente agroindustrial, da indústria de beneficiamento de carnes, foi aplicada no solo com o objetivo de estabelecimento de um biofilme na camada superficial desse solo. A partir da aplicação, o efeito do biofilme na emissão de GEEs, volatilização de N-NH₃ e produtividade de plantas foi comparado com um fertilizante químico convencional comumente utilizado na agricultura. Além disso, a comunidade fitoplanctônica no solo foi avaliada para verificação das espécies de microalgas que se adaptaram à superfície do solo.

7.2 MATERIAL E MÉTODOS

7.2.1 Produção e separação da biomassa algal

A biomassa algal foi produzida em lagoa de alta taxa (LAT), tendo como meio de cultivo efluente primário (pós-unidade de flotação) advindo de uma indústria de processamento de carnes localizada no município de Viçosa, MG, Brasil. A LAT constituída de fibra de vidro e os pedais em PVC, com duas lâminas, possuía as seguintes características: largura = 1,28 m, comprimento = 2,86 m, profundidade total

= 0,5 m, profundidade útil = 0,3 m, área superficial = 3,3 m² e volume útil = 1 m³. Os pedais foram movimentados por um motor elétrico de 1 cv. A rotação foi reduzida por um redutor acoplado ao motor e controlada por um inversor de frequência (marca WEG série CFW-10), que garantiu velocidade de aproximadamente 0,10 a 0,15 m s⁻¹. A lagoa foi operada em batelada (4 bateladas, sendo a 1^a e a 2^a nos meses 06/2015, 07/2015 e a 3^a e 4^a concomitantemente em 08/2015) de aproximadamente 14 dias de duração até atingir a fase de decaimento do crescimento algal, monitorado diariamente pela variável clorofila-a (NEN 6520, 1981; APHA, 2005).

Após o fim do tratamento do efluente e do crescimento algal em cada batelada, a biomassa foi coletada. Para obtenção de biomassa concentrada, o pH da lagoa foi aumentado até atingir 12, com adição de NaOH 50% m/v e o mesmo foi agitado manualmente e deixado em repouso durante 24 horas. A biomassa sedimentada foi coletada após o descarte do sobrenadante clarificado, e teve seu pH corrigido para 7 com HCl 1 mol L⁻¹. A caracterização da biomassa algal aplicada no solo foi a seguinte de acordo com procedimentos adaptados de APHA (2005): Fósforo total = 14,79 mg L⁻¹; Nitrogênio Kjeldahl = 847,90 mg L⁻¹; Nitrogênio amoniacal = 276,02 mg L⁻¹; Nitrito = 0,09 mg L⁻¹; Nitrato = 0,49 mg L⁻¹; Carbono orgânico = 54,75 g L⁻¹; Umidade = 98,49 % e pH = 7,0 (medidor multiparâmetro Hach HQ40d).

A comunidade fitoplanctônica foi analisada na biomassa aplicada no solo. Foram identificadas as principais espécies dentro de cada gênero com base em Parra et al., (1982) e Komarek; Fott (1983), segundo metodologia Utermöhl (1958); Wetzel; Likens (1991) e APHA (2005).

7.2.2 Parcelas Experimentais

O experimento foi conduzido em área externa do Laboratório de Engenharia Sanitária e Ambiental (LESA) da Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa-MG, sob as coordenadas 20°46'07.05''S e 42°51'30.84''O, a uma elevação de 686 m em relação ao nível do mar. O tipo de solo predominante é o Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico. O clima da região é do tipo Cwa, mesotérmico úmido com verões chuvosos e invernos secos, de acordo com a classificação de Köppen-Geiger. De acordo com o Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), considerando-se dados de 1991 a 2015, a precipitação média anual é de 1286 mm e a umidade relativa do ar é de 81%. Além

disso, para o mesmo período, a temperatura média do período seco, entre os meses de abril e setembro, é de 18,1 °C enquanto no período chuvoso, entre outubro e março, a temperatura média é de 22,1 °C (Figura 7.1).

Três parcelas experimentais (4 m² cada) foram estabelecidas e o experimento conduzido por 60 dias sob diferentes tratamentos que variaram a fonte de N para o milho, cultivar BRS 1501. Os tratamentos foram os seguintes: (i) 120 kg ha⁻¹ de N fornecido pela biomassa algal; (ii) 120 kg ha⁻¹ de N fornecido por ureia convencional; (iii) Tratamento controle no qual não houve suplemento com nenhum tipo de fertilizante. O estande final apresentou 20 plantas por metro linear com distância de 30 cm entre linhas. A umidade do solo foi mantida a aproximadamente 80 % da capacidade de campo estimada (0,311 kg kg⁻¹) e foi controlada por meio de tensiômetros instalados em cada parcela.

O período de condução do experimento abrangeu sete estádios de crescimento da cultivar utilizada, sendo estes: E0 (3 dias): coleóptilo visível na superfície do solo; E1 (7 dias): terceira folha visível; E2 (14 dias): quinta folha visível; E3 (26 e 33 dias): início de formação da panícula; E4 (40 dias): folha bandeira visível; E5 (47 dias): panícula visível; E6 (54 dias): 50 % dos estigmas emergidos e E7 (60 dias): estágio do grão leitoso (DURÃES et al., 2003). Durante este período, os eventos de chuva não foram frequentes sendo que a máxima precipitação ocorrida em 24 h chegou a 25 mm. Tendo sido conduzido no período de inverno as temperaturas máxima e mínima variaram entre 10 e 35 °C.

As análises químicas e físicas das amostras de solo, realizadas conforme EMBRAPA (2009), Almeida et al. (2012) e Almeida; Sanches et al. (2012), apresentaram os seguintes valores: pH (em H₂O) = 6,48; P = 111,5 mg dm⁻³; K = 186,00 mg dm⁻³; Ca = 3,99 cmol_c dm⁻³; Mg = 0,73 cmol_c dm⁻³; N = 0,078 dag kg⁻¹; MO = 2,50 dag kg⁻¹; Al³⁺ = 0,00 cmol_c dm⁻³; H+Al = 1,50 cmol_c dm⁻³; Soma de Bases = 5,20 cmol_c dm⁻³; CTC potencial = 6,70 cmol_c dm⁻³; CTC efetiva = 5,20 cmol_c dm⁻³; Saturação por bases = 77,60 %; Areia = 396 g kg⁻¹; Silte = 145 g kg⁻¹; Argila = 459 g kg⁻¹.

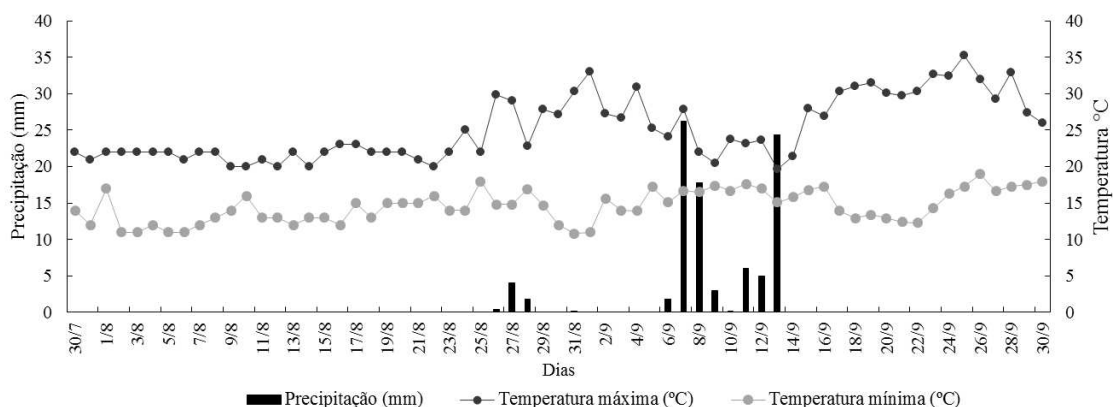


Figura 7.1. Dados de temperatura máxima e mínima e precipitação na área experimental durante o período de condução.

7.2.3 Amostragem e medição de GEEs

O método de câmara fechada foi utilizado para medir a emissão de CH₄, CO₂ e N₂O. Câmaras confeccionadas com material de PVC com diâmetro de 10 cm e altura de 20 cm foram inseridas a 5 cm de profundidade no solo dentro das parcelas com cultivo de milho, no lado oposto ao solo os tubos continham tampas com um orifício no qual foi colocado uma tampa de borracha que permitiu a retirada de gás sem o escape do mesmo. A disposição das câmaras foi realizada em delineamento inteiramente casualizado (DIC) contendo dentro de cada parcela 5 câmaras, sendo essas, tratadas como repetições.

As amostras de gases foram coletadas usando seringas de 60 mL aos 0, 20, 40 e 60 min de intervalo após o fechamento das mesmas e transferidos para tubos evacuados de 10 mL (sem anticoagulante) com septos de borracha butílica. Amostragens de gases foram realizadas aos 1, 4, 6, 13, 20, 27, 34, 41, e 48 dias após o plantio (DAP), às 15:00 h. Durante a amostragem foram medidas a temperatura (termômetro digital) e umidade do solo (método termogravimétrico) in loco, além de temperatura do ar, precipitação (mm) e radiação (kJ/m²) por meio dos dados da estação meteorológica A510-VICOSA, da UFV em parceria com o INMET. Com os valores de densidade e umidade do solo foi calculada a umidade de saturação ou porosidade preenchida por água (%PPA), utilizando as equações descritas a seguir:

$$PPA (\%) = \frac{U_g \times D_s}{P_t \times D_a} \times 100 \quad \text{Equação 7.1}$$

Em que: U_g: Umidade gravimétrica (g g⁻¹), D_s: Densidade do solo (g cm⁻³), P_t: Porosidade total (g g⁻¹), D_a: Densidade da água (1 g cm⁻³).

$$P_t = 1 - \frac{D_s}{D_p} \quad \text{Equação 7.2}$$

Em que: D_s : Densidade do solo (g cm^{-3}), D_p : Densidade de partículas (g cm^{-3}).

As concentrações de CH_4 , CO_2 e N_2O nas amostras de ar coletadas foram medidas por cromatografia gasosa (Shimadzu GCMS-QP2010 SE) empacotada com um detector de ionização de chama (FID) e um detector de captura de elétrons (ECD). Os fluxos foram determinados a partir da inclinação da alteração na proporção de mistura em quatro amostras, retiradas aos 0, 20, 40 e 60 min após o fechamento da câmara.

As taxas de CH_4 , CO_2 e N_2O foram calculadas a partir do aumento na concentração dos gases por unidade de superfície da câmara por um intervalo de tempo específico e foram calculadas pela seguinte equação:

$$F = \frac{\Delta Q}{\Delta t} * M * \left(P * \frac{V}{R} * T \right) \quad \text{Equação 7.3}$$

Em que: $\Delta Q/\Delta t$ é a mudança na quantidade do gás dentro da câmara no intervalo de tempo, que permitiu obter α , coeficiente angular da equação da reta ajustada; V e T são o volume (L) e temperatura interna (K) da câmara; M = peso molecular do gás (44, 16 e 44 g mol^{-1} , para CO_2 , CH_4 , N_2O , respectivamente), P é a pressão no interior da câmara, assumida como 1 atm e R é a constante universal dos gases (0,0821 $\text{L atm K}^{-1} \text{mol}^{-1}$). Utilizando-se a área de solo dentro da câmara, calculou-se a massa do gás que foi emitida por unidade de tempo e de área ($\text{mg m}^{-2} \text{h}^{-1}$).

7.2.4 Volatilização de amônia

Para determinar a volatilização de N-NH_3 foi utilizada uma câmara coletora, consistindo em um coletor semiaberto livre estático (SALE) confeccionado a partir de frasco plástico transparente, tipo PET de 2 litros, sem a base, com diâmetro de 10 cm, abrangendo 0,008 m^2 de área (Figura 7.2). No interior do frasco PET suspendeu-se uma lâmina de espuma de poliuretano com 3 mm de espessura, 2,5 cm de largura e 25 cm de comprimento de forma vertical, com auxílio de um fio rígido de 1,5 mm. Antes da instalação, eram adicionados 10 mL de solução de H_2SO_4 1 mol L^{-1} + glicerina (2 % v/v) em frasco de 50 mL.

No momento do preparo do sistema coletor de N-NH₃, a lâmina de espuma foi acondicionada dentro do frasco com a solução ácida e, em seguida, comprimida de forma a absorver a maior parte dessa solução. A lâmina de espuma permaneceu no frasco fechado até o momento de seu posicionamento no interior da câmara (garrafa PET). Na instalação, a lâmina de espuma foi mantida com a extremidade inferior dentro do frasco de 50 mL, de forma a evitar respingos da solução ácida no solo, e a outra extremidade da espuma foi presa à parte superior do fio rígido, para mantê-la na posição vertical. Nessa ocasião, o fio rígido com o frasco de 50 mL e a espuma foram introduzidos no coletor pela base e pendurados na borda superior, suspensos a aproximadamente 1,5 cm da superfície do solo (ARAÚJO et al., 2009).

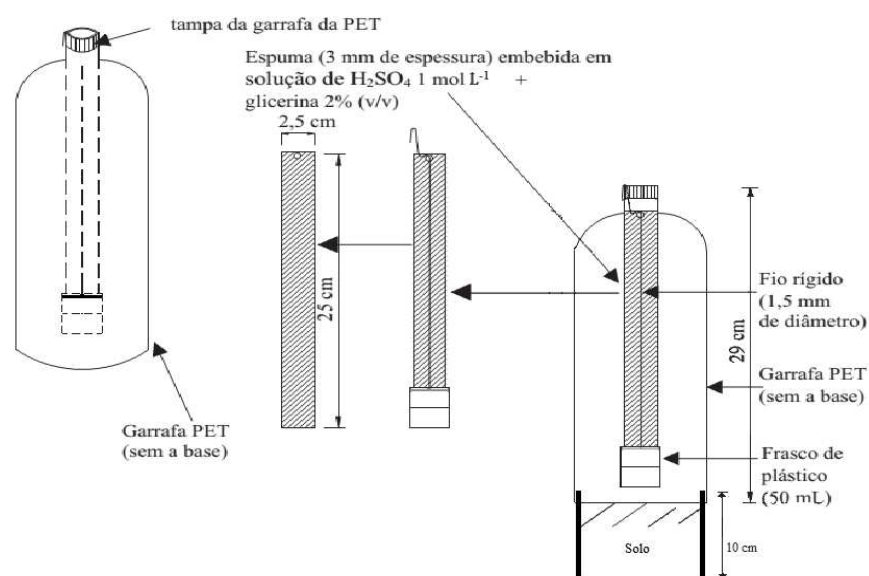


Figura 7.2. Câmara coletora de N-NH₃ semiaberta livre estática (SALE). Fonte: Araújo et al. (2009).

A disposição das câmaras foi realizada em delineamento inteiramente casualizado (DIC) contendo dentro de cada parcela 5 câmaras, sendo essas, tratadas como repetições. A análise de volatilização de N-NH₃ foi realizada por um período de 25 dias, com as coletas e trocas das espumas realizadas no 1º, 3º, 5º, 7º, 9º, 15º, 20º, 27º, 34º e 41º DAP até que a perda de N cessasse. Após cada coleta, as espumas eram colocadas em tubos de destilação, para determinação da amônia retida, de acordo com Silva et al. (2010).

7.2.5 Análises do solo

Amostras compostas de solo (5 por parcela) foram coletadas de cada uma das parcelas experimentais para avaliar o crescimento do biofilme na superfície do solo por meio da análise de clorofila-a. A clorofila-a foi extraída a partir de amostras de 3 g de solo secos ao ar com etanol onde as mesmas foram agitadas durante 12 h em agitador orbital, aquecidas durante 5 min a 80 °C em banho maria e resfriadas durante 30 min. As amostras foram centrifugadas durante 10 min a 1395 xg (Castle et al., 2011). Afim de se obter melhor remoção da clorofila das partículas de solo, foi realizada dupla extração. As microgramas de clorofila-a por grama de solo foram calculadas usando a Equação 6.1, já citada no tópico 6 deste trabalho (ISO 10260, 1992 e CASTLE et al., 2011).

Ao final do experimento foi realizada análise fitoplanctônica no solo a fim de identificar as espécies que conseguiram se adaptar às condições pedoclimáticas. A análise seguiu a metodologia citada no item 2.1.

Também foi realizada análise química do solo após adaptação do biofilme de microalgas para os mesmos parâmetros apresentados anteriormente no item 7.2.2 antes da adaptação.

7.2.6 Análises da planta

Ao final do período experimental as plantas foram seccionadas a cerca de 1 cm do solo, separando-se o caule e as folhas, as quais foram acondicionados separadamente em sacos de papel e levados à estufa de circulação forçada de ar à temperatura de 65 °C, para determinação da massa de matéria seca de folha (mMSF) e da parte aérea (mMSPA). Em seguida, as amostras foram moídas e digeridas para obtenção dos teores e conteúdo dos macronutrientes N, P, K, Ca e Mg.

Os teores de P, K, Ca e Mg presentes na parte aérea, após digestão nitroperclórica, foram determinados de acordo com EMBRAPA (2009). O teor de N foi obtido digerindo-se 0,5 g matéria seca com H₂SO₄ e H₂O₂ mais a mistura de digestão (Na₂SO₄, CuSO₄.5H₂O) seguida da destilação de arraste de vapor semimicro Kjeldahl, segundo Tedesco et al. (1995).

O conteúdo de N nas partes da planta foi calculado multiplicando-se os teores dos nutrientes pelos respectivos valores da massa de matéria seca.

7.2.7 Análise estatística

O experimento foi disposto em delineamento inteiramente casualizado (DIC). Os dados referentes à N-NH₃ volatilizada, emissões de CO₂, CH₄ e N₂O acumuladas e teores e conteúdo de nutrientes, além dos valores relacionados ao crescimento das plantas entre os tratamentos foram submetidos à análise da variância e as médias de tratamentos comparadas pelo teste de Tukey, com auxílio do software Assistat versão 7.7 Beta (SILVA, 2009). Posteriormente os valores de CO₂, CH₄ e N₂O e volatilização de N-NH₃ em função do tempo de coleta foram ajustados a equação logística $Y = a/(1+e^{-(b+cx)})$ (Equação 7.4) (PASSOS et al., 2007; ANDRADE et al., 2013) com auxílio do programa Curve Expert 1.3 (HYAMS, 1997). Foi realizada análise de correlação para verificar a relação entre as variáveis PPA(%), temperatura do solo, umidade do ar, velocidade dos ventos e radiação solar, à emissão de CO₂, CH₄ e N₂O utilizando o software R®, versão 3.2.2, desenvolvido por R Foundation for Statistical (R Development Core Team, 2012).

7.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

7.3.1 Emissão de GEE

As emissões de CH₄ observadas para os três tratamentos foram baixas (Figura 7.3) quando comparadas a dados recentemente reportados na literatura, os valores médios para os tratamentos controle, biofilme e ureia, respectivamente, foram -0,0003, -0,0005, -0,0006 g m⁻² d⁻¹. Viguria et al. (2015) chegaram a registrar um pico de 1,9416 g m⁻² d⁻¹ quando da aplicação superficial no solo de dejetos provenientes de fazendas leiteiras. Ali et al. (2015) em um de seus trabalhos realizado no Japão em tratamento contendo NPK + Biochar + Azolla-cianobactéria registrou valor máximo de emissão de CH₄ próximo de 0,84 g m⁻² d⁻¹. Jain et al. (2016) avaliaram a emissão de GEEs a partir de solos sob a influência de diferentes culturas e mostraram que sob cultivo de arroz fluxos de CH₄ variaram entre 2,00 e 79,00 mg m⁻² d⁻¹, os fluxos foram superiores

durante os dias iniciais após o transplântio (DAT), de acordo com os autores devido à submersão do solo criando condição anaeróbica e as emissões foram significativamente maiores durante a fase de perfilhamento ativo da cultura.

A máxima emissão aqui registrada foi de $0.0021 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, sendo que em valores acumulados as emissões foram de $-0,0096$, $-0,0146$ e $0,0227 \text{ g m}^{-2}$ para os tratamentos controle, biofilme de microalgas e ureia, respectivamente. Durante o período de avaliação os fluxos de CH_4 se apresentaram grande parte do tempo com valores negativos, ou seja, houve absorção/oxidação de CH_4 na fonte. Pes (2009), estudando o fluxo de N_2O , CH_4 e CO_2 em diferentes sistemas de preparo do solo e rotação de culturas, tendo avaliado os fluxos de gases durante 101 dias, verificou que o solo apresentou absorção/oxidação de CH_4 durante quase todo o período de avaliação. De acordo com Dämmgen et al. (2012), as emissões de CH_4 a partir da aplicação de adubos são geralmente ignoradas em inventários de emissões por apresentarem valores muito baixos. Quando comparadas as emissões acumuladas para os três tratamentos (Tabela 7.1) não houve diferença significativa ($p < 0,01$).

Tabela 7.1. Emissões acumuladas (g m^{-2}) dos GEEs pelas aplicações das diferentes fontes nitrogenadas no solo.

Tratamentos	CH_4	CO_2	N_2O
	----- g m^{-2} -----		
Controle	$-0,0096 \text{ a}^{(1)}$	$53,5960 \text{ b}$	$0,0087 \text{ b}$
Biofilme	$-0,0146 \text{ a}$	$75,0200 \text{ a}$	$0,0521 \text{ a}$
Ureia	$-0,0227 \text{ a}$	$40,8560 \text{ c}$	$0,0092 \text{ b}$
CV(%)	$52,6700$	$13,0300$	$18,2900$

⁽¹⁾ Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 1% de significância.

A emissão de CH_4 está intimamente relacionada ao preenchimento dos poros do solo por água. Cai et al. (1994) afirmam que os fluxos de emissão de CH_4 provenientes do campo de arroz são muito mais elevados em condições de inundação contínua do que sob condições de irrigação alternada. Condições de saturação foram raras no presente trabalho.

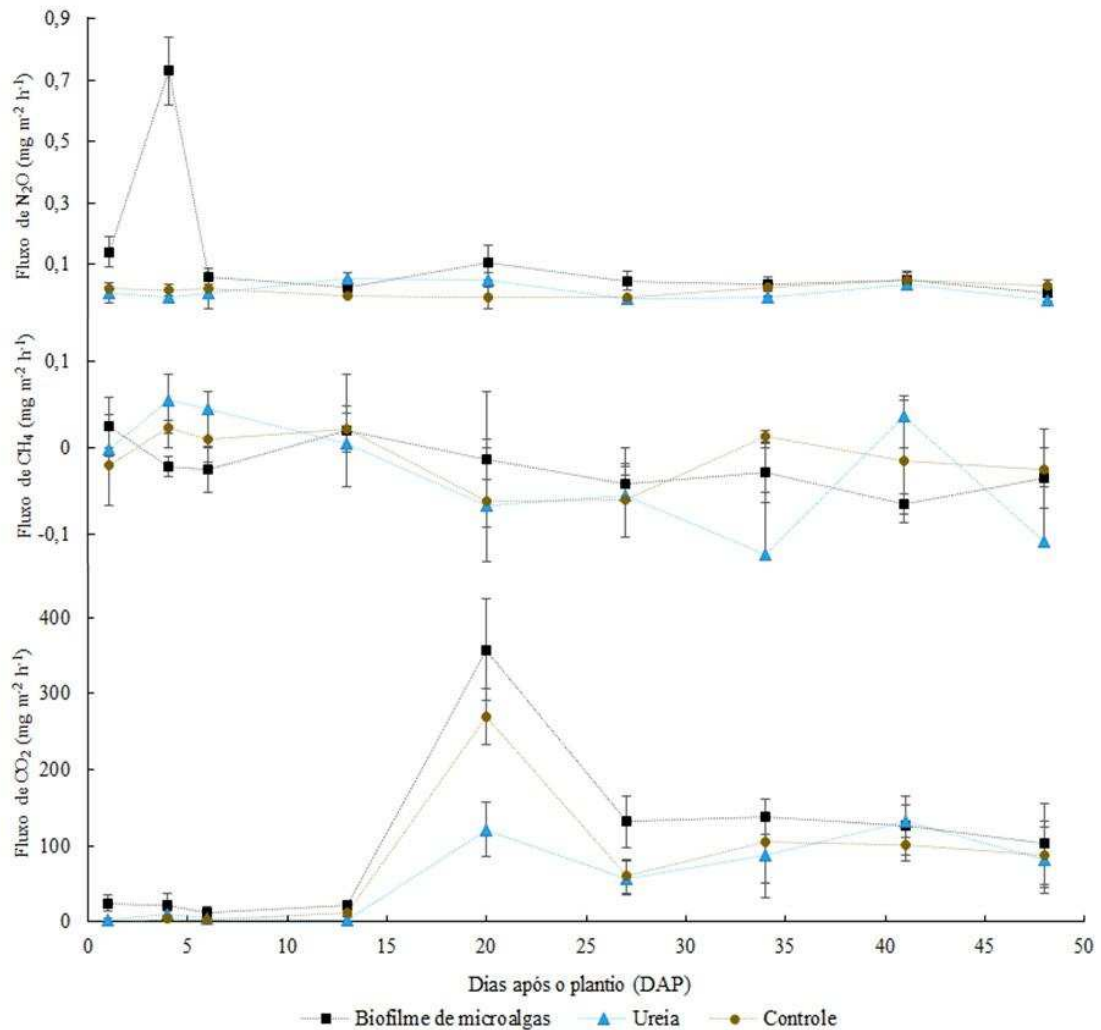


Figura 7.3. Emissão de GEEs para diferentes fontes nitrogenadas e em parcela controle ao longo do período estudado.

Para CO₂, as emissões acumuladas entre os tratamentos foram diferentes estatisticamente ($p < 0,01$), sendo que o biofilme de microalgas foi superior aos demais e o tratamento com ureia foi inferior ao controle. Até os treze primeiros dias de condução do experimento a emissão de CO₂ apresentou valores muito baixos e só a partir da leitura realizada no 20º DAP as emissões de CO₂ apresentaram um aumento chegando ao pico de 5,39, 8,58, 2,90 g m⁻² d⁻¹ para o tratamento controle, biofilme de microalgas e ureia, respectivamente. Nesse período, a planta se encontrava no período de transição entre a fase 1 (Fase vegetativa) e fase 2 (fase de desenvolvimento da panícula), período caracterizado pelo desenvolvimento de uma rede de raízes laterais e adventícias na raiz. Zhang; Wang (2005) e Zhang et al. (2007) citam que o CO₂ pode ser gerado a partir da decomposição microbiana da MOS ou respiração das raízes das plantas, e pode ser afetada por temperaturas do ar e do solo e permeabilidade ao ar do

solo. Neste estudo, a fonte orgânica induziu ao aumento da emissão de CO₂, fato que está relacionado ao aumento no teor de C no solo e possível melhoria da respiração do solo.

Observando-se os coeficientes da equação logística ajustada para o CO₂ (Tabela 7.2), pode-se perceber que o máximo acúmulo (coeficiente a) desse gás por parte da ureia foi menor em um tempo de meia vida maior, ou seja, essa fonte levou mais tempo para emitir 1,5 vezes menos CO₂ quando comparado com o biofilme de microalgas. O efeito da respiração das microalgas adicionadas ao solo não foi suficiente para contribuir com uma redução significativa da emissão de CO₂ para a atmosfera.

Tabela 7.2. Coeficientes da equação logística, determinação e tempo necessário para atingir a metade da produção máxima de CH₄, CO₂ e N₂O ($t_{1/2} = -b/c$) em período de 48 dias, para as diferentes fontes nitrogenadas e para a parcela controle.

Tratamentos	CH ₄ ⁽²⁾				
	a ⁽¹⁾	b ⁽¹⁾	c ⁽¹⁾	t ½	r
Controle	0,004	-3,47	0,88	3,94	0,97
Biofilme	0,002	-4,90	1,54	3,18	0,94
Ureia	0,007	-2,21	0,47	4,70	0,89
	CO ₂				
	a	b	c	t ½	r
Controle	52,90	-5,81	1,00	5,81	0,98
Biofilme	72,80	-6,14	1,10	5,58	0,99
Ureia	48,20	-5,78	0,83	6,96	0,99
	N ₂ O				
	a	b	c	t ½	r
Controle	0,02	-7,95	0,87	9,14	0,96
Biofilme	0,05	-1,88	0,66	2,85	0,95
Ureia	0,01	-14,6	3,70	3,94	0,98

⁽¹⁾ Equação logística $Y = a/(1+e^{-(b+cx)})$;

⁽²⁾ Valores negativos de emissão de CH₄ foram igualados a zero para ajuste da equação logística.

Li et al. (2012) desenvolveram estudo que estimou a fixação de carbono por dois estágios sucessionais de crostas biológicas do solo com base em quatro anos de observações de campo e verificaram que a fixação anual de carbono foi de 11,36 g m⁻² ano⁻¹ para as crostas dominadas por cianobactérias e algas e 26,75 g m⁻² ano⁻¹ para crostas dominadas por líquen/musgo. O período destinado para o crescimento de um biofilme de microalgas no presente trabalho pode ter sido curto e a aplicação da

biomassa poderia ser realizada com maior frequência com vistas ao melhor e maior estabelecimento do biofilme na superfície do solo.

Para o N_2O , as comparações das emissões acumuladas mostraram maior emissão por parte do biofilme de microalgas em relação aos demais tratamentos ($p < 0,01$). Com a equação logística ajustada (Tabela 2) percebe-se que a emissão máxima acumulada (coeficiente a) foi cinco vezes superior ao obtido para o fertilizante nitrogenado, sendo que o primeiro levou 2,85 dias para emitir a metade da emissão acumulada enquanto o fertilizante nitrogenado levou 3,94 dias. O valor de “ a ” para o tratamento controle esteve acima dos demais, porém este levaria 9,14 dias para emitir metade do máximo acumulado ($0,02 \text{ g m}^{-2}$). Assim, mais uma vez a presença do biofilme de microalgas não foi suficiente para reduzir as emissões de N_2O . Ao contrário, gerou emissões do gás significativamente maiores que os demais tratamentos.

Dalal et al. (2003) citam que a taxa de desnitrificação aumenta com o aumento do teor de NO_3 no solo sob condições adequadas para a desnitrificação e quando fatores tais como a temperatura e C orgânico disponível não são limitantes. Montes et al. (2014) relataram que uma diferença importante entre fertilizantes minerais e resíduos é que o resíduo contém C orgânico, o que, dependendo das condições do solo, podem afetar as emissões de N_2O . Para Pelster et al. (2012), o carbono presente nos resíduos pode aumentar as taxas de respiração microbiana no solo, esgotando o oxigênio e proporcionando as condições anaeróbias necessárias para a desnitrificação (emissão de N_2O). Sabendo-se que a umidade do solo foi mantida constante durante a condução do experimento e que a temperatura também foi igual entre as parcelas, já que estavam situadas na mesma área e sem interferência física que pudesse ocasionar sombra ou caminhos preferenciais para ventilação, acredita-se que as maiores emissões de N_2O pela aplicação do biofilme de microalgas no solo seja decorrente da carga orgânica disponibilizada, principalmente C lábil com elevada relação C:N. Esse C é consumido e utilizado como substrato elementar para o crescimento das populações microbianas, favorecendo desta maneira à totalidade de microrganismos e especificamente os nitrificadores e desnitrificadores do solo (CIAMPITTI et al., 2005). Mosier et al. (1996), sugeriram que as condições que aumentam a produção de N_2O são a elevada disponibilidade de N mineral e C orgânico e médio-alto níveis de umidade que limita a difusão de oxigênio (O_2).

Lentz et al. (2014) e Shen et al. (2014) também relataram o aumento da emissão média de N₂O por solos submetidos à alterações orgânicas. O fertilizante nitrogenado é a principal fonte de emissões de N₂O em solos agrícolas, embora a maior parte das emissões de GEE resultem primeiramente do processo Haber-Bosch, que utiliza o gás natural ou as vezes o carvão como fonte de hidrogênio para reduzir o N atmosférico em amônia (CREWS; PEOPLES, 2004; HAKALA et al., 2012). Portanto, a redução mesmo que parcial da aplicação desses fertilizantes químicos no solo acarretaria em uma contribuição na redução da emissão de GEE para a atmosfera.

Outro fator importante, que foi observado durante o trabalho e pode ser alvo de investigação em estudos futuros é que no tratamento com biofilme de microalgas observou-se crescimento de plantas daninhas em grandes proporções sendo que o mesmo não foi observado no tratamento com ureia e nem no tratamento controle.

Variáveis controladoras das emissões de GEEs

A correlação entre as variáveis ambientais e a emissão dos GEE (Tabela 7.3), apresentaram valores baixos relacionados ao coeficiente “r” o que indica que não houve correlação entre as variáveis ambientais e a emissão de GEE. Segundo Costa (2005), o aumento da umidade é um fator que influencia o fluxo de CO₂ do solo. Já em trabalho realizado por Escobar (2008) em Latossolo Vermelho distrófico, tendo avaliado a influência de três tipos de manejo de solo sobre a emissão de GEEs, sendo plantio convencional, plantio direto com resíduos de milho e plantio direto com resíduos de soja, verificou que a correlação entre umidade do solo e emissão de CO₂ não foi significativa como observado no presente trabalho. Ainda, La Scala et al. (2000), mencionaram que não houve correlação significativa entre o efluxo de CO₂ do solo e a umidade e temperatura do solo.

Tabela 7.3. Coeficientes de correlação entre as variáveis ambientais e emissão de GEE.

Variáveis Ambientais	CO ₂	CH ₄	N ₂ O
	r		
PPA	0,0390	0,1102	0,0003
Temperatura do solo	0,0548	0,1291	0,0851
Umidade do ar	0,0523	0,0290	0,0069
Velocidade dos Ventos	0,0396	0,0260	0,0138
Radiação solar	0,0002	0,0000	0,0243

Alguns autores reportam que as altas emissões de N₂O ocorreram quando o solo apresentou PPA de 50 % ou mais, o que dificulta a difusão de O₂ no solo e favorece a formação de ambientes anaeróbios (DOBBIE; SMITH, 2001; SMITH et al., 2003; BATEMAN; BAGGS, 2005). No entanto, a alta drenagem dos solos e a elevada taxa de evapotranspiração nas regiões tropicais faz com que não existam dados que comprovem que essas observações sejam válidas para os Latossolos brasileiros, principalmente porque poderiam ser um fator limitante para a formação de N₂O no solo (JANTALIA et al., 2006).

Tendo em vista os resultados apresentados, acredita-se que as emissões de GEE estiveram mais relacionadas à fonte fertilizante adicionada no solo do que com as variáveis ambientais presentes durante a execução do experimento.

7.3.2 Volatilização de amônia

Calculando-se a quantidade de N-NH₃ total perdido por volatilização para as fontes aplicadas no solo observou-se que do total aplicado (120 kg ha⁻¹), a biomassa algal perdeu 4,63 % (5,55 kg ha⁻¹) de N-NH₃, sendo que no tratamento com ureia convencional foram perdidos 18,98 % (22,77 kg ha⁻¹) e o tratamento controle 0,82 % (0,98 kg ha⁻¹) (Tabela 7.4). O resultado obtido para o tratamento com ureia foi semelhante ao observado por Marcondes (2007), que obteve perdas de até 20 % para ureia. Sengik; Kiehl (1995) observaram perdas de N-NH₃ volatilizado pela ureia chegando a aproximadamente 16 % para solo arenoso e 12 % para solo argiloso.

Tabela 7.4. Volatilização acumulada de N-NH₃ (kg ha⁻¹) pelo solo pela aplicação de fontes nitrogenadas.

Tratamentos	Volatilização de N-NH ₃
	kg ha ⁻¹
Controle	0,98 c ⁽¹⁾
Biofilme	5,55 b
Ureia	22,7 a
CV(%)	10,73

⁽¹⁾ Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de significância.

No que diz respeito à equação logística (Tabela 7.5), o tratamento com ureia convencional apresentou os maiores valores para saturação na evolução de N-NH₃ (coeficiente a) indicando que este tipo de fonte nitrogenada favoreceu maior volatilização de N-NH₃. Além disso, a taxa de crescimento da função (coeficiente c) apresentou maior valor também para o tratamento com ureia.

Maior valor de $t^{1/2}$ foram encontrados para o tratamento com biomassa algal, indicando que este fertilizante possui menor velocidade de volatilização de N-NH₃. Tal fato pode estar relacionado à forma com que o nitrogênio é aplicado no solo, já que este encontrava-se ainda como N orgânico e posteriormente com sua degradação houve liberação mais lenta do nutriente e por isso menores perdas. Segundo Cancellier (2013), a volatilização de N-NH₃ ocorre ao longo dos primeiros dias após a aplicação do N em cobertura de um solo com fertilidade construída. Este mesmo autor encontrou perda de N-NH₃ volatilizado de até 96,7 % nos sete primeiros dias.

Os resultados aqui obtidos não corroboram com os citados por Shan et al. (2015), que realizaram experimento de campo durante 3 anos para caracterizar a volatilização de N-NH₃ e o efeito de diferentes tratamentos de fertilizantes N sobre este processo durante o período de crescimento da couve chinesa. Entre os tratamentos os autores testaram um fertilizante orgânico comercial, granulado, contendo 1,53 % de N, com cama de frango como o componente principal e também um tratamento contendo ureia e verificaram que o fertilizante orgânico aumentou a volatilização de N-NH₃ entre 11,77 e 18,46 %, em comparação com fertilizante convencional. Os autores ainda sugeriram que a utilização de fertilizantes compostos por material orgânico/inorgânico e fertilizantes de liberação lenta resultaram em maiores benefícios agrônômicos e ambientais quando comparados às fontes orgânicas somente. Li et al. (2005) também relataram que a combinação dos fertilizantes orgânicos e

inorgânicos não só melhoraram o rendimento do arroz, mas também reduziram os efeitos negativos do N para o ambiente.

Tabela 7.5. Coeficientes da equação logística, determinação e tempo necessário para atingir a metade da produção máxima de N-NH₃ ($t_{1/2} = -b/c$) em período de 41 dias, para aplicação de diferentes fontes nitrogenadas no solo.

Fontes	a ⁽¹⁾	b ⁽¹⁾	c ⁽¹⁾	t ½	r
Controle	0,91	-1,67	0,17	9,82	0,98
Biofilme	5,26	-1,40	0,38	3,68	0,99
Ureia	22,03	-1,42	0,54	2,63	0,99

⁽¹⁾ equação logística $Y = a/(1+e^{-(b+cx)})$;

Quando da aplicação de um composto orgânico/inorgânico no solo, o N inorgânico é liberado primeiro e, subsequentemente, gera uma certa quantidade de NH₃ que é volatilizada, enquanto o N orgânico para ser liberado, precisa primeiro ser mineralizado pelos microrganismos do solo (SHAN et al., 2015), o que retarda as perdas. A grande vantagem disso, é que com a liberação lenta as plantas têm o nutriente disponível durante seu crescimento. A sincronia entre disponibilidade do nutriente e necessidade da planta é viabilizada.

Diversas tecnologias têm sido agregadas à fertilizantes nitrogenados com o objetivo de diminuir as perdas de N para o ambiente, como exemplo tem-se fertilizantes de liberação lenta ou controlada e fertilizantes organominerais. Porém, além do custo de produção elevado, nem sempre essas tecnologias são eficazes. Em avaliação das perdas de N sob fontes nitrogenadas, Zavaschi (2010) observou que a aplicação de ureia revestida por polímeros não reduziu as perdas de N-NH₃ por volatilização e não interferiu nos teores de amônio e nitrato no solo. O uso de inibidores da urease não necessariamente propiciam menores perdas de N-NH₃, ocasionando apenas atraso no pico de volatilização (TASCA et al., 2011).

7.3.3 Alterações das características químicas e biológicas do solo

As principais diferenças nas características químicas do solo se deram com relação ao teor de MO, capacidade de troca catiônica CTC (T) e teor de N. Houve diferença significativa ($p < 0,05$) no incremento de nitrogênio causado pela aplicação de biomassa algal no solo, e também foi significativo o aumento da CTC (T) ($p < 0,01$). Em ambos a biomassa algal apresentou valores superiores em comparação com

tratamento controle e adubação com ureia, sendo que estes últimos não diferiram entre si. Já para o teor de MO do solo, os três tratamentos se diferiram significativamente ($p < 0,05$) sendo que o tratamento com biomassa algal foi o que acrescentou maior quantidade de MOS.

Durante a condução do experimento foi possível observar que até o 37° DAP a parcela contendo o biofilme de microalgas se mantinha esverdeada, ficando visível a presença e manutenção do biofilme de microalgas no solo. Os valores obtidos com as análises de clorofila-a foram: $4,44 \mu\text{g g}^{-1}$ (15 DAP), $4,44 \mu\text{g g}^{-1}$ (30 DAP), $1,69 \mu\text{g g}^{-1}$ (45 DAP) e $1,53 \mu\text{g g}^{-1}$ (60 DAP). No 37° DAP, iniciaram-se eventos de chuva sucessivos, sendo que os mesmos duraram aproximadamente sete dias. Ao cessarem os eventos, o aspecto visual na parcela demonstrava que houve um revolvimento nas partículas de solo, em pequeno grau, mas o suficiente para que a camada verde ficasse coberta por algumas partículas que possivelmente diminuíram a respiração das algas, sendo assim nos últimos 27 dias de experimento os valores clorofila-a diminuíram. Das espécies aplicadas no solo no tratamento com biofilme de microalgas, 80 % tratava-se de *Chlorella vulgaris*, sendo que outros 19 % das espécies eram da classe das clorofíceas e 1 % do total tratava-se de uma cianobactéria do gênero *Oscillatoria* sp. (Tabela 7.6). Diante disso, a única espécie encontrada ao final do experimento foi a *Chlorella vulgaris* em menor densidade no tratamento com ureia e controle e em maior densidade no tratamento com biofilme de microalgas pelo fato da aplicação da biomassa algal. As demais espécies constantes na biomassa algal aplicada não foram detectadas na amostra de solo ao final do experimento.

Tabela 7.6. Comunidade fitoplanctônica na biomassa aplicada, do solo antes da aplicação dos tratamentos e amostra de solo final de cada parcela após a condução do experimento.

Organismos	Densidade (org mL⁻¹)	Abundância relativa (%)
Amostra Bruta		
Clorofíceas		
Chlorella vulgaris	1,42x10 ⁶	80
Chlorolobium sp.	2,05x10 ⁵	12
Ankistrodesmus sp. 25	3,84x10 ⁴	2
Scenedesmus acutus	1,02x10 ⁵	5
Sub-Total	1,77x10⁶	100
Cyanobacterias		
Oscillatoria sp.	1,28x10 ⁴	1
Total	1,78x10⁶	100
Amostras finais		
Biofilme de microalgas		
Chlorella vulgaris	Total	1,08x10⁷
Total		100
Ureia		
Chlorella vulgaris	Total	8,28x10⁶
Total		100
Controle		
Chlorella vulgaris	Total	8,30x10⁶
Total		100

7.3.4 Crescimento das plantas

Entre os tratamentos estudados não houve diferença estatística para teores de N, P, K, Ca²⁺ e Mg²⁺ na parte aérea (Tabela 7.7). Para MSF, o tratamento com aplicação de ureia mostrou-se superior ao tratamento controle sendo que a ordem crescente de produção de MSF foi a seguinte: Ureia > Biomassa algal > Controle. Esse incremento de MSF no tratamento submetido a adubação com ureia convencional está intimamente ligado ao resultado estatístico para altura de plantas registradas ao final do experimento, sendo que quando analisadas altura de plantas submetidas aos três tratamentos a ureia se mostrou superior quando comparado com o tratamento submetido a adubação com biomassa algal.

Para MSPA e conteúdo de N (Ncont) os tratamentos em que foram aplicadas fontes nitrogenadas se mostraram superiores ao tratamento controle (p<0,01) (Tabela 7.7). Nesse caso, não houve diferença para essas variáveis quando se aplica biomassa algal ou fertilizante nitrogenado. Costa et al. (2005), comparando diversos genótipos de milho incluindo o genótipo BRS 1501, observaram produção de matéria seca total de 4.458 kg ha⁻¹ sendo, portanto, maior que os valores encontrados no presente

trabalho, que foram 3430,5, 3671,5 e 2100,0 kg ha⁻¹ para os tratamentos com biofilme de microalgas, ureia e controle, respectivamente. Acredita-se que essa diferença pode ter ocorrido devido principalmente às diferenças de temperatura, já que este trabalho foi conduzido no inverno, no qual foi registrada temperatura mínima de 10,8 °C a noite. De acordo com Pereira et al. (2002), o tempo necessário para atingir determinado estágio fenológico é controlado pelas temperaturas médias diárias do ambiente (caso não haja falta de água) e pelas características da espécie e da cultivar, sendo determinante na duração do ciclo da cultura.

Tabela 7.7. Médias de massa de matéria seca da parte aérea (MSPA) e de folha (MSF) e teores de cálcio (Ca), magnésio (Mg), fósforo (P), potássio (K), nitrogênio (N) e conteúdo de N para diferentes fontes de N.

Tratamento	MSPA	MSF	N _{cont.}	N	P	K	Ca	Mg
	kg ha ⁻¹			Teor g kg ⁻¹				
Controle	2100,0b ^{(1)**}	833,8b*	118,9b*	56,50a ^{ns}	6,48a ^{ns}	54,00a ^{ns}	8,40a ^{ns}	4,23a ^{ns}
Biomassa	3430,5a	1093,3ab	203,3a	59,75a	8,98a	51,75a	7,90a	4,70a
Fertilizante	3671,5a	1308,5a	212,6a	57,75a	7,20a	52,75a	7,98a	4,20a
CV (%)	17,57	18,85	19,50	5,53	16,83	9,52	18,25	12,54

⁽¹⁾ Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey. ** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p < .01); * significativo ao nível de 5% de probabilidade (.01 =< p < .05); ns não significativo (p >= .05).

A tendência para todas as plantas foi o incremento na altura no decorrer do período estudado (Tabela 7.8). As mesmas não cessaram o crescimento até o período de coleta o que é normal visto que as mesmas foram retiradas no Estádio 7, sendo que a mesma tem condições de se desenvolver até aproximadamente o 80° DAP, quando chega no estágio de maturação fisiológica. Quando comparadas as diferenças para os tratamentos no decorrer do tempo, percebe-se que em alguns momentos as plantas submetidas a adubação com biomassa algal e ureia foram sempre superiores ao controle. No início da formação da panícula o tratamento com aplicação de biofilme de microalgas se mostrou levemente superior à ureia. Já nos estádios E5 e E7 a ureia foi superior.

Tabela 7.8. Caracteres produtivos para o milho cultivar BRS 1501, em seis diferentes épocas de observação do experimento.

	Época de avaliação ⁽²⁾					
	26 (E3)	33 (E3)	40 (E4)	47 (E5)	54 (E6)	60 (E7)
Altura de plantas (m)						
Biofilme	0,20 a ⁽¹⁾	0,31 a	0,44 a	0,60 ab	0,82 a	1,08 ab
Ureia	0,20 a	0,28 ab	0,42 a	0,61 a	0,85 a	1,12 a
Controle	0,15 b	0,24 b	0,35 b	0,53 b	0,57 b	0,90 b
CV(%)	14,25	18,06	12,27	12,25	17,21	16,51
Diâmetro de colmo (mm)						
Biofilme	5,00 a	6,40 a	9,90 a	9,60 a	13,60 a	13,80 a
Ureia	4,50 ab	6,70 a	10,00 a	11,50 a	11,80 a	11,90 a
Controle	3,60 b	4,50 b	9,30 a	10,30 a	11,20 a	11,25 a
CV(%)	19,16	18,26	15,94	20,66	16,55	15,69
Número de folhas (un.)						
Biofilme	3,60 a	4,30 a	5,10 a	6,00 a	6,10 a	7,40 a
Ureia	3,20 ab	3,80 ab	5,30 a	5,60 a	6,00 a	7,00 a
Controle	2,80 b	3,30 b	4,90 a	5,30 a	5,40 a	6,70 a
CV(%)	20,48	17,40	13,02	12,08	14,49	15,60

⁽¹⁾ Médias seguidas por letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si e médias seguidas por letras minúsculas iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de significância.

⁽²⁾ E3: início de formação da panícula; E4: folha bandeira visível; E5: panícula visível; E6: 50% dos estigmas emergidos; E7: estágio do grão leitoso (segundo Maiti & Bidinger, 1981).

Com relação ao diâmetro de colmo, também no início da formação da panícula (E3), o tratamento com biofilme de microalgas se mostrou superior, sendo alcançado no próximo estágio pelo fertilizante nitrogenado e nos estádios subsequentes os três tratamentos não apresentaram diferença significativa nessa característica. No decorrer do tempo, em todos os tratamentos o diâmetro de colmo chegou a uma estabilização por volta dos 47 DAP (E5). A partir daí os estigmas começam a ser emergidos.

Resultados semelhantes ocorreram quando comparados o número de folhas entre os tratamentos. Até o estágio E3 o tratamento com biomassa algal mostrou-se superior com maior número de folhas por planta e mais tardiamente a partir do estágio E4 os três tratamentos se igualaram quanto ao número de folhas.

Esses resultados indicam que a mistura da biomassa algal com uma pequena quantidade de fertilizante químico poderia manter o rendimento da cultura em níveis próximos dos obtidos com a utilização do fertilizante convencional. Ainda, possui o grande benefício de ser uma técnica promissora em reduzir a perda de nitrogênio do solo, com ganhos econômicos e socioambientais.

7.4 CONCLUSÃO

- A emissão de CH₄ não foi diferente entre os tratamentos com biofilme de microalgas, ureia e controle;

- A emissão de CO₂ a partir do solo foi maior no tratamento com biofilme, seguido pelo tratamento controle e posteriormente pelo tratamento submetido a fertilização com ureia;

- A emissão de N₂O a partir do solo foi maior no tratamento com biomassa algal, sendo que os tratamentos com ureia e controle foram iguais;

- A volatilização de N-NH₃ foi menor quando da aplicação de biomassa algal como fonte de N em comparação com a ureia e controle;

- A aplicação de biomassa algal foi igual ao fertilizante químico no que diz respeito à produção de MSPA e conteúdo de N assimilado pela planta, porém o fertilizante químico mostrou-se superior na produção de MSF;

- A espécie *Chlorella vulgaris* foi predominante com relação à adaptação no solo em todos os tratamentos;

- Foi observado incremento nos valores de N e CTC (T) causado pela aplicação de biomassa algal no solo;

- Os três tratamentos apresentaram comportamento diferente quanto ao teor de MO ao final dos 60 dias de experimento, sendo que o tratamento com biofilme de microalgas foi o que acrescentou maior quantidade de MOS.

7.5 REFERÊNCIAS

AGEGNEHU, G.; BASS, A. M.; NELSON P. N.; BIRD, M. I. Benefits of biochar, compost and biochar–compost for soil quality, maize yield and greenhouse gas emissions in a tropical agricultural soil. **Science of the Total Environment**, v. 543, p. 295–306. 2016.

ALMEIDA, B. G.; DONAGEMMA, G. K.; RUIZ, H. A.; BRAIDA, J. A.; VIANA, J. H. M.; REICHERT, J. M. M.; OLIVEIRA, L. B.; CEDDIA, M. B.; WADT, P. S.; FERNANDES, R. B. A.; PASSOS, R. R.; DECHEN, S. C. F.; KLEIN, V. A.; TEIXEIRA, W. G. **Padronização de Métodos para Análise Granulométrica no Brasil**. Rio de Janeiro: Embrapa, 2012 (Comunicado técnico 66). 11 p.

ALMEIDA, R. F.; SANCHES, B. C. Fertilizantes nitrogenados com liberação lenta e estabilizada na agricultura. **Revista Verde**, v.7, p.31-35. 2012.

ANDRADE, F. V.; MENDONÇA, E. S.; SILVA, I. R. Organic acids adsorption and mineralization in oxisols with different textures. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 37, p. 976-985. 2013.

ALI, M. A.; KIM, P. J.; INUBUSHI, K. Mitigating yield-scaled greenhouse gas emissions through combined application of soil amendments: A comparative study between temperate and subtropical rice paddy soils. *Science of the Total Environment*, v. 529, 140–148. 2015.

APHA - AWWA, WEF. Standard Methods for examination of water and wastewater. Washington: American Water Work Association, Water Environmental Federation. 2005.

ARAÚJO, E. S.; MARSOLA, T.; MIYAZAWA, M.; SOARES, L. H. B.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R. M.; ALVES, B. J. R. Calibração de câmara semiaberta estática para quantificação de amônia volatilizada do solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, p. 769-776. 2009.

BATEMAN, E. J.; BAGGS, E. M. Contributions of nitrification and denitrification to N₂O emissions from soils at different water-filled pore space. **Biology and Fertility of Soils**, v. 41, p. 379–388. 2005.

CAI, Z. C.; XU, H.; ZHANG, H. H.; JIN, J. S. Estimate of methane emission from rice paddy fields in Taihu region, China. **Pedosphere**, v. 4, p. 297–306. 1994.

Cao, Y.; Tian, Y.; Yin, B.; Zhu, Z. Assessment of ammonia volatilization from paddy fields under crop management practices aimed to increase grain yield and N efficiency. **Field Crops Research**, v. 147, p. 23–31. 2013.

CANCELLIER, E. L. **Eficiência da ureia estabilizada de liberação controlada no milho cultivado em solo de fertilidade construída**. 2013. 75 p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Departamento de Ciência do Solo, Lavras, 2013.

CASTLE S. C.; MORRISON C. D.; BARGER N. N. Extraction of chlorophylla from biological soil crusts: A comparison of solvents for spectrophotometric determination. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 43, p. 853-856. 2011.

CIAMPITTI, I. A.; CIARLO, E. A.; CONTI, M. E. Nitrous oxide emission during soybean culture: inoculation and nitrogen fertilization effects. **Ciencia del Suelo**, v. 23, p. 123–131, 2005.

COSTA, F. S. **Estoque de Carbono orgânico e efluxos de dióxido de carbono e metano de solos em preparo convencional e plantio direto no subtrópico brasileiro**. 2005. 128 f. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) – Universidade Federal de Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

COSTA, A. C. T.; GERALDO, J.; PEREIRA, M. B.; PIMENTEL, C. Unidades térmicas e produtividade em genótipos de milho semeados em duas épocas. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.40, p.1171-1177. 2005.

CREWS, T. E.; PEOPLES, M. B. Legume versus fertilizer sources of nitrogen: ecological tradeoffs and human needs. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 102, p. 279–297. 2004.

DALAL, R. C.; WANG, W.; ROBERTSON, G. P.; PARTON, W. J. Nitrous oxide emission from Australian agricultural lands and mitigation options: a review. **Australian Journal of Soil Research**, v. 41, p. 165-195. 2003.

DÄMMGEN, U.; AMON, B.; HUTCHINGSK, N. J., HAENEL, H.-D., RÖSEMANN C. Data sets to assess methane emissions from untreated cattle and pig slurry and solid manure storage systems in the German and Austrian emission inventories. *Agriculture and Forestry Research*, v. 62, p. 1-20. 2012.

Development Core Team R, 2013. R: A Language and Environment for Statistical Computing. Foundation of Statistical Computing, Vienna.

DOBBIE, K. E.; SMITH, K. A. The effects of temperature, water-filled pore space and land use on N₂O emissions from an imperfectly drained gleysol. **European Journal of Soil Science**, v. 52, p. 667-673, 2001.

DURÃES, F. O. M.; MAGALHÃES, P. C.; SANTOS, F. G. **Fisiologia da Planta de Milheto**. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, 2003. 16p. (EMBRAPA-CNPM. Circular Técnica, 28).

ESCOBAR, L. F. **Emissão de gases de efeito estufa em sistemas de manejo em solo do planalto médio do Rio Grande do Sul**. 2008. 104 f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2008.

GREGORICH, E.; JANZEN, H. H.; HELGASON, B.; ELLERT, B. Chapter Two- Nitrogenous Gas Emissions from Soils and Greenhouse Gas Effects. **Advances in Agronomy**, v. 132, p. 39-74. 2015.

HAKALA, K.; NIKUNEN, H. M.; SINKKO, T.; NIEMELÄINEN, O. Yields and greenhouse gas emissions of cultivation of red clover-grass leys as assessed by LCA when fertilised with organic or mineral fertilisers. **Biomass and Bioenergy**, v. 46, p. 111–124. 2012.

HYAMS, D. G. CurveExpert 1.3: A comprehensive curve fitting system for Windows. <http://curveexpert.webhop.biz/>. Starkville: 1997. [software].

IFA - International Fertilizer Industry Association. (Traduzido: ANDA). O uso de fertilizantes Minerais e o Meio Ambiente. Paris, 2000. 63 p.

ISO 10260 A849I. Water Quality - Measurement of Biochemical parameters Spectrometric determination of the chlorophyll-a concentration. 1992.

JAIN, N.; ARORA, P.; TOMER, R.; MISHRA, S. V.; BHATIA, A.; PATHAK, H.; CHAKRABORTY, D.; KUMAR, V.; DUBEY, D.S.; HARIT, R.C.; SINGH, J.P. Greenhouse gases emission from soils under major crops in Northwest India. **Science of the Total Environment**, v. 542, p. 551–561. 2016.

JANTALIA, C.P.; ZOTARELLI, L.; SANTOS, H.P.; TORRES, E.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R.M.; ALVES, B.J.R. **Em busca da mitigação da produção de óxido nitroso em sistemas agrícolas: avaliação de práticas usadas na produção de grãos no Sul do País.** In: ALVES, B.J.R.; URQUIAGA, S.; AITA, C.; BODDEY, R.M.; JANTALIA, C.P.; CAMARGO, F.A.O. (Eds.) Manejo de sistemas agrícolas. Impacto no sequestro de C e nas emissões de gases de efeito estufa. Porto Alegre: Genesis, 2006. p. 81-107.

KIM D. G.; KIRSCHBAUM, M. U.F. The effect of land-use change on the net exchange rates of greenhouse gases: A compilation of estimates. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 208, p. 114–126. 2015.

KOMAREK, J.; FOTT, B;. **Das Phytoplankton im Susswasser Chlorophyceae (Grunanlagen) Ordnung: Chlorococcales: Bd 7 1.** 1983. 1041p.

LA SCALA JR., N.; MARQUES JR, J.; PEREIRA, G. T.; CORÁ, J. E. Carbon dioxide emission related to chemical properties of a tropical bare soil. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 32, p.1469-1473. 2000.

LENTZ, R. D., IPPOLITO, J. A., SPOKAS, K. A. Biochar and manure effects on net nitrogen mineralization and greenhouse gas emissions from calcareous soil under corn. **Soil Science Society of America Journal**. v. 78, p. 1641–1655. 2014.

LI, J. M.; XU, M. G.; QIN, D. Z.; LI, D. C.; HOSEN, Y.; YAGI, K. Effects of chemical fertilizers application combined with manure on ammonia volatilization and rice yield in red paddy soil. **Plant Nutrition and Fertilizer Science**, v. 11, p. 51-56. 2005. (in Chinese with English abstract).

LI, X.R.; ZHANG, P.; SU, Y.G.; JIA, R.L. Carbon fixation by biological soil crusts following revegetation of sand dunes in arid desert regions of China: A four-year field study. **Catena**, v. 97, p.119–126. 2012.

MAITI, R. K.; BIDINGER, F. R. **Growth and development of the pearl millet plant.** Patancheru: International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics, 1981. 14p. (Boletim de Pesquisa, 6).

MANUAL DE ANÁLISES químicas de solos, plantas e fertilizantes. Editor técnico, Fábio Cesar da Silva. 2 ed. rev. ampl. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2009.

MONTES, F.; MEINEN, R.; DELL, C.; ROTZ, A.; HRISTOV, A. N.; OH, J.; WAGHORN, G.; GERBER, P. J.; HENDERSON, B.; MAKKAR, H. P. S.; DIJKSTRA, J. Mitigation of methane and nitrous oxide emissions from animal operations: A review of manure management mitigation options. **Journal of Animal Science**, v. 91, p. 5070–5094. 2014.

MARCONDES, Â. L. P. **Volatilização de amônia de adubos nitrogenados aplicados em superfície na cultura do milho em ambientes distintos.** 2007. 66p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Unioeste, Marechal Cândido, RO, 2007.

MOSIER, A. R.; DUXBURY, J. M.; FRENEY, J. R.; HEINEMEYER, O.; MINAMI, K. Nitrous oxide emission from agricultural fields: assessment, measurement and mitigation. **Plant and Soil**, v. 181, p. 95-108. 1996.

NEDERLANDSE NORM.NEM 6520. Netherlands. 1981.

PARRA, O. A.; GONZALEZ, M.; DILLAROSSA, V.; RIVERA, P.; ORELLANA, M. **Manual taxonomico del fitoplâncton de águas continentales**. V – Chlorophyceae Parte I Volvocales, Tetrasporales, Chlorococcales y Ulothricales. Universidad de Concepcion. 1982.

PASSOS, R. R.; RUIZ, H. A.; MENDONÇA, E. S.; CANTARUTTI, R. B.; SOUZA, A. P. Substâncias húmicas, atividade microbiana e carbono orgânico lábil em agregados de um Latossolo Vermelho distrófico sob duas coberturas vegetais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 31, p. 1119-1129. 2007.

PEIGNÉ, J; AVELINE, A.; CANNAVACIUOLO, M.; GITEAU, J. L.; GAUTRONNEAU, Y. Soil structure and earthworm activity under different tillage systems in organic farming. In: 3^o QLIF CONGRESS, 2007, Hohenheim. **Anais...** Germany, 2007.

PELSTER, D. E.; CHANTIGNY, M. H.; ROCHETTE, P.; ANGERS, D. A.; RIEUX, C.; VANASSE, A. Nitrous oxide emissions respond differently to mineral and organic nitrogen sources in contrasting soil types. **Journal of Environmental Quality**, v. 41, p. 427–435. 2012.

PEREIRA, A. R.; ANGELOCCI, L. R.; SENTELHAS, P. C. **Agrometeorologia, fundamentos e aplicações práticas**. Guaíba: Agropecuária, 2002. 478p.

PES, L. Z. **Fluxo de gases de efeito estufa em sistemas de preparo do solo e rotação de culturas no planalto do Rio Grande do Sul**. 2009. 91 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2009.

SENGIK, E.; KIEHL J.C. Efeito de resíduos orgânicos e do fosfato monocálcico na volatilização de amônia em terra tratada com ureia. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v. 19, p. 321-326. 1995.

SHAN, L.; HE, Y.; CHEN, J.; HUANG, Q.; WANG, H. Ammonia volatilization from a Chinese cabbage field under different nitrogen treatments in the Taihu Lake Basin, China. **Journal of environmental sciences**, v. 38, p. 14–23. 2015.

SHEN, J.; TANG, H.; LIU, J.; WANG, C.; LI, Y.; GE, T.; JONES, D.L.; WU, J. Contrasting effects of straw and straw-derived biochar amendments on greenhouse gas emissions within double rice cropping systems. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 188, p. 264–274. 2014.

SILVA D. F.; ANDRADE, C. L. T.; SIMEONE, M. L. F.; AMARAL, T. A.; CASTRO L. A. **Análise de nitrato e amônio em solo e água**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2010. 55p.

SILVA, F. A. S. E.; AZEVEDO, C. A. V. **Principal Components Analysis in the Software Assistat-Statistical Attendance**. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 7, Reno-NV-USA: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009.

SMITH, K. A.; BALL, T.; CONEN, F.; DOBBIE, K. E.; MASSHEDER, J.; REY, A. Exchange of greenhouse gases between soil and atmosphere: interactions of soil physical factors and biological processes. **European Journal of Soil Science**, v. 54, p. 779–791. 2003.

SUBEDI, R.; TAUPE, N.; PELISSETTI, S.; PETRUZZELLI, L.; BERTORA, C.; LEAHY, J. J.; GRIGNANI, C. Greenhouse gas emissions and soil properties following amendment with manure-derived biochars: Influence of pyrolysis temperature and feedstock type. **Journal of Environmental Management**, v.166, p. 73-83. 2016.

TAO, R.; LIANG, Y.; WAKELINC, S. A.; CHU, G. Supplementing chemical fertilizer with an organic componente increases soil biological function and quality. **Applied Soil Ecology**, v. 96, p. 42–51. 2015.

TASCA, F. A.; ERNANI, P. R.; ROGERI, D. A.; GATIBONI, L. P.; CASSOL, P. C. Volatilização de amônia do solo após a aplicação de ureia convencional ou com inibidor de uréase. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 35, p. 493-502. 2011.

TEDESCO, M.; GIANELLO, C.; BISSANI, C. A.; BOHNEN, H.; VOLKWISS, S. J. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. Porto Alegre: Departamento de Solos, UFRGS, 1995. 174p.

UTERMÖHL, H. Zur vervollkommnung der quantitativen phytoplankton-methodik. **Mitteilung Internationale Vereinigung fuer Theoretische unde Amgewandte Limnologie**, v. 9, p. 1-38, 1958.

VIGURIA, M.; SANZ-COBEÑA, A.; LÓPEZ, D. M.; ARRIAGA, H.; MERINO, P. Ammonia and greenhouse gases emission from impermeable covered storage and land application of cattle slurry to bare soil. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 199, p. 261–271. 2015.

WETZEL, R. G.; LIKENS, G. E. **Limnological Analysis**. Springer-Verlag. 1991. 391p.

YI-HU, M.; DAO-JIAN, GU; LI-JUN, LIU; ZHI-QIN, WANG; HAO, ZHANG; JIAN-CHANG, Y. Changes in Grain Yield of Rice and Emission of Greenhouse Gases from Paddy Fields after Application of Organic Fertilizers Made from Maize Straw. **Rice Science**, v. 21, p. 224–232. 2014.

ZHANG, D.; PAN, G.; WU, G.; KIBUE, G. W.; LI, L.; ZHANG, X.; ZHENG, J.; ZHENG, J.; CHENG, K.; JOSEPH, S.; LIU, X. Biochar helps enhance maize productivity and reduce greenhouse gas emissions under balanced fertilization in a rainfed low fertility inceptisol. **Chemosphere**, v. 142, p. 106–113. 2016.

ZHANG, Q. C.; WANG, G. H. Studies on nutrient uptake of rice and characteristics of soil microorganisms in a long-term fertilization experiments for irrigated rice. **Journal of Zhejiang University Science**. v. 6, p. 147–154. 2005.

ZHANG, Q. C.; WANG, G. H.; YAO, H. Y. Phospholipid fatty acid patterns of microbial communities in paddy soil under different fertilizer treatments. **Journal of Environmental Sciences**, v. 19, p. 55–59. 2007.

ZAVASCHI, E. **Volatilização de nitrogênio, nutrição e produtividade da cultura do milho com a aplicação de ureia de liberação controlada**. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) - Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP, 2010. 69p.

8. CONCLUSÃO GERAL

A avaliação da aplicação de biomassa algal no solo, foi importante por disponibilizar informações que podem subsidiar a aplicação dessa tecnologia em outras áreas e com diversas finalidades. A proposta apresentada pode de ser utilizada como alternativa para fechar um ciclo dentro da atividade agrícola, já que a biomassa algal pode ser produzida a partir dos resíduos gerados na própria propriedade e posteriormente aplicada no solo. Além disso, tal prática poderia ser usada na atuação da recuperação de solos degradados, já que viu-se a possibilidade de incrementar nitrogênio e matéria orgânica ao solo. A viabilidade dessa prática não seria apenas econômica, mas principalmente ambiental. Nos estudos por ora realizados foi possível concluir que:

- A aplicação de uma dose correspondente a 23.44 kg ha^{-1} é que se pode observar acréscimos nos valores de clorofila-a. E das doses testadas as que se mostraram diferentes do tratamento controle foram as de 150 kg ha^{-1} , 225 kg ha^{-1} e 300 kg ha^{-1} . Porém, com a aplicação da dose de 300 kg ha^{-1} pode-se perceber que não houve aderência do biofilme com a superfície do solo.

- A emissão de CH_4 não foi diferente entre os tratamentos com biofilme de microalgas, ureia e controle;

- A emissão de CO_2 a partir do solo foi maior no tratamento com biofilme, seguido pelo tratamento controle e posteriormente pelo tratamento submetido a fertilização com ureia;

- Já para N_2O foi observada emissão superior do tratamento em que foi aplicada biomassa algal quando comparado ao tratamento com ureia que foram ambos significativamente maiores que o tratamento controle em emissão de N_2O .

- Em se tratando de volatilização de amônia, a perda foi estatisticamente menor quando da aplicação de biomassa algal como fonte de nitrogênio em comparação com a ureia e controle;

- A aplicação de biomassa algal foi igual ao fertilizante químico no que diz respeito à produção de MSPA e conteúdo de N assimilado pela planta, porém o fertilizante químico mostrou-se superior na produção de MSF;

- A espécie *Chlorella vulgaris* foi predominante com relação à adaptação no solo em todos os tratamentos;

- Foi observado incremento nos valores de N e CTC (T) causado pela aplicação de biomassa algal no solo;

- Os três tratamentos apresentaram comportamento diferente quanto ao teor de MO ao final dos 60 dias de experimento, sendo que o tratamento com biofilme de microalgas foi o que acrescentou maior quantidade de MOS.

9. SUGESTÕES PARA PESQUISAS FUTURAS

A emissão de N₂O e CO₂ foi superior no tratamento com biofilme de microalgas, fato que está relacionado à relação C/N do material aplicado, sendo necessários mais estudos relacionados à emissão desse gás a partir do solo quando da aplicação da biomassa algal e maneiras para viabilizar a captura do mesmo pelo biofilme de microalgas, como por exemplo, proporcionar o crescimento de cianobactérias com heterocitos ou inocular espécies nas LATs. Além disso, um balanço somando as emissões geradas com a produção do fertilizante nitrogenado com as emissões geradas pela sua aplicação no solo comparado às emissões por parte do biofilme de microalgas darão um entendimento maior do benefício que pode tratar-se a aplicação da fonte orgânica para o meio ambiente.

Nos estádios iniciais da cultura do milho a biomassa algal se mostrou superior como fonte nitrogenada no que diz respeito à altura de plantas, diâmetro de colmo e número de folhas, sendo que nos estádios finais o tratamento com ureia foi superior. Sendo que a repetição na aplicação de biomassa algal poderia ser uma alternativa já que renovaria a fonte de N para as plantas. Tal manejo é comumente utilizado na agricultura, quando da aplicação de fertilizante nitrogenado no plantio e em cobertura (dias após o plantio) para otimizar a disponibilidade do nutriente com o crescimento da planta.

Diante disso, acredita-se que a biomassa algal pode ser utilizada como fonte de nutrientes sendo eficiente na substituição parcial do fertilizante químico convencional e recuperação de nutrientes da lagoa de alta taxa, o que não causaria diferença na produtividade de plantas e interferindo positivamente na redução de perdas por volatilização. Maiores esforços devem ser revertidos para uma possível seleção de espécies a serem aplicadas no solo com vistas à captura de GEE.

10 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANTUNES, R.; SILVA, I. C. **Utilização de algas para produção de biocombustíveis, Ano 2010**. Disponível em:

<http://www.marcaspatentes.pt/files/collections/pt_PT/1/300/302/Utiliza%C3%A7%C3%A3o%20de%20algas%20para%20a%20produ%C3%A7%C3%A3o%20de%20biocombust%C3%ADveis.pdf>. Acesso em: 10 set. 2015.

BRANCO, A. Dinamarca – **O primeiro país que, por lei, só terá agricultura orgânica, 2015**. Disponível em: <<https://www.greenme.com.br/informar-se/agricultura/2098-dinamarca-o-primeiro-pais-que-por-lei-so-tera-agricultura-organica>>. Acesso em: 06 de jan. 2015.

BRASIL. Lei nº 10.831, de 23 de dez. 2003. Dispõe sobre a agricultura orgânica e dá outras providências. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 24 de dez. 2003.

CASSOL, E. A.; LIMA, V. S. Erosão entre sulcos sob diferentes tipos de preparo e manejo do solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, p. 117-124. 2003.

CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira**. Disponível em <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/14_09_10_14_35_09_boletim_graos_setembro_2014.pdf>. Acesso em: 25 ago. 2015.

CREWS, T. E.; PEOPLES, M. B. Legume versus fertilizer sources of nitrogen: ecological tradeoffs and human needs. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 102, p. 279–297. 2004.

Development Core Team R, 2013. R: A Language and Environment for Statistical Computing. Foundation of Statistical Computing, Vienna.

GALLOWAY, J. N.; DENTENER, F. J.; CAPONE, D. G.; BOYER, E. W.; HOWARTH, R. W.; SEITZINGER, S. P.; ASNER, G. P.; CLEVELAND, C. C.; GREEN, P. A.; HOLLAND, E. A.; KARL, D. M.; MICHAELS, A. F.; PORTER, J. H.; TOWNSEND, A. R.; VOROSMARTY, C. J. Nitrogen cycles: past, present, and future. **Biogeochemistry**, v. 70, p. 153-226. 2004.

GOUVELLO, C. **Estudo de baixo carbono para o Brasil**. Brasília: Banco Mundial, 2010. 278p.

HAKALA, K.; NIKUNEN, H. M.; SINKKO, T.; NIEMELÄINEN, O. Yields and greenhouse gas emissions of cultivation of red clover-grass leys as assessed by LCA when fertilised with organic or mineral fertilisers. **Biomass and Bioenergy**, v. 46, p. 111–124. 2012.

IPCC - Intergovernmental Panel on Climate Change. **Climate Change, 2007: the physical science basis (summary for policymakers)**. Gênova: IPCC Secretariat, 2007. 18p.

ISHERWOOD, K. F. O uso de fertilizantes minerais e o meio ambiente. 2000. Disponível em: <www.anda.org.br/boletins/fertilizantes_meio_ambiente.pdf>. Acesso em: 15 de set. 2015.

JAHNKE, J.; PRIEFER, U. B. Phototrophic biofilms on restored fields in the Rhenish lignite mining area: development of soil algal, bacterial, and fungal biomasses. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 34, p. 1157-1165. 2002.

ONU - Organizações das Nações Unidas, **The Millennium Development Goals Report**. 2013.

SUSTAINABLE INNOVATION FÓRUM 2015 – COP 21. Disponível em: <<http://www.cop21paris.org/about/cop21>>. Acesso em: 15 de dez. 2015.

WANG, B.; LI, Y.; WU, N.; LAN, C. Q. CO₂ bio-mitigation using microalgae. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 79, p. 707-718. 2008.