#### Revista

## Ciência, Tecnologia & Ambiente

# Revestimento de sementes de milho com quitosana e biomassa microalgal

Corn seed coating with chitosan and microalgal biomass

Marina Barros Zacharias<sup>1</sup>\*, Victor Augusto Forti<sup>1</sup>, Reinaldo Gaspar Bastos<sup>1</sup>, Mariana Altenhofen da Silva<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), Araras, SP, Brasil. \*Autor para correspondência: marinazacharias@terra.com.br

**Como citar:** ZACHARIAS, M.B.; FORTI, V.A.; BASTOS, R.G.; DA SILVA, M.A., 2022. Revestimento de sementes de milho com quitosana e biomassa microalgal. *Revista Ciência, Tecnologia & Ambiente*, vol. 12, e12225. https://doi.org/10.4322/2359-6643.12225

### **RESUMO**

O uso de microalgas como bioestimulante e/ou biofertilizante em cultivos agrícolas vem sendo estudado, embora sua aplicação ainda é incipiente. Neste trabalho, objetivou-se avaliar o potencial de uso da quitosana associada à cianobactéria *Aphanothece microscopica* Nägeli no revestimento de sementes de milho (*Zea mays* L.) e seu efeito no potencial fisiológico e qualidade sanitária das sementes. Utilizou-se solução de quitosana (2 % m/v) contendo biomassa da cianobactéria *Aphanothece microscopica* Nägeli (0,1% m/v) incorporada de duas formas: biomassa fresca (QBF) e biomassa submetida a 4 ciclos de congelamento/descongelamento (QBC). Sementes revestidas com quitosana sem biomassa (Q) e sem revestimento (Controle) também foram analisadas. Todos os tratamentos foram avaliados quanto ao teor de água, massa de 1000 sementes, germinação, índice de velocidade de germinação, comprimentos de raiz, parte aérea e total, teste de frio, teste de emergência de plântulas, índice de velocidade de emergência de plântulas, altura de plântulas, massa de matéria seca de raiz e de parte aérea e teste de sanidade. Os tratamentos QBF, QBC e Q não interferiram significativamente na massa de 1000 sementes, germinação, comprimento de parte aérea, teste de frio, emergência, altura e massa de matéria seca de raiz, mas reduziram o índice de velocidade de emergência e massa de matéria seca de parte aérea. O tratamento QBC tendeu a reduzir a ocorrência de *Fusarium* spp. e os tratamentos Q, QBF e QBC a ocorrência de *Penicillium* spp. nas sementes. Os resultados indicam um potencial antimicrobiano dos revestimentos com mínimo impacto no potencial fisiológico das sementes.

Palavras-chave: bioestimulante, Aphanothece microscopica, tratamento de sementes, biopolímero.

#### **ABSTRACT**

Microalgae have been studied as a biostimulant or biofertilizer in developing agricultural crops, however, its application is still incipient. In this work, the objective was to evaluate the potential use of chitosan associated with the cyanobacteria *Aphanothece microscopica* Nägeli in the coating of corn seeds (*Zea mays* L.) and its effect on the physiological potential and health quality of the seeds. A chitosan solution (2 % m/v) containing biomass of the cyanobacteria *Aphanothece microscopica* Nägeli (0.1% m/v) was used, and incorporated in two ways: fresh biomass (QBF) and biomass submitted to 4 freeze/thaw cycles (QBC). Seeds coated with chitosan without biomass (Q) and without coating (Control) were also analyzed. All treatments were evaluated for water content, 1,000-seed mass, germination, germination speed index, seedling length (root, shoot, and total), cold test, seedling emergence, seedling emergence speed index, seedling height,



root and shoot dry matter mass, and health quality. The treatments QBF, QBC, and Q did not significantly affect the 1,000-seed mass, germination, shoot length, cold test, emergence, height, and root dry matter mass, but reduced the emergence speed index and shoot dry matter mass. QBC treatment tended to reduce the occurrence of *Fusarium* spp. and treatments Q, QBF, and QBC the occurrence of *Penicillium* spp. in the seeds. The results indicate an antimicrobial potential of the coatings with minimal impact on the physiological potential of the seeds.

**Keywords:** biostimulant, *Aphanothece microscopica*, seed treatment, biopolymer.

## INTRODUÇÃO

Microalgas são um conjunto de micro-organismos sem valor taxonômico, preferencialmente fotossintetizantes, oriundos de águas marinhas ou águas doces, passíveis de produção em biorreatores possibilitando a recuperação de biomassa e extração de biomoléculas de interesse para o setor farmacêutico, de alimentos, de nutrição animal, agrícola e produção de biocombustíveis (Behera et al., 2019).

No contexto atual de intensas mudanças climáticas, o uso de microalgas, incluindo as cianobactérias, vem recebendo cada vez mais atenção especialmente em sistemas de produção agrícola orgânica (Grzesik e Romanowska-Duda, 2015). Diversos beneficios são relatados em pesquisas com a aplicação destes microorganismos, favorecendo o crescimento de plantas com custos reduzidos e providenciando uma alternativa ecológica na superação dos efeitos negativos decorrentes do uso de pesticidas e fertilizantes químico-sintéticos (Renuka et al., 2018).

Matrizes poliméricas biodegradáveis podem atuar como veículos para incorporação de agentes ativos, tais como as microalgas. A quitosana é um biopolímero com excelente capacidade de formação de filmes, proporcionando proteção ao redor da superfície de sementes (Zeng et al., 2010). A quitosana é obtida do processo de desacetilação da quitina, segundo biopolímero mais abundante do planeta, podendo ser encontrada em exoesqueletos de crustáceos e na parede celular de alguns fungos.

Estudos visando o revestimento de sementes com bioestimulantes vinculados a biopolímeros são promissores, inclusive para a cultura do milho, que apresenta grande importância econômica para o Brasil. Entretanto, deve-se atentar à interferência do uso destes revestimentos na qualidade das sementes.

Assim, objetivou-se com este estudo avaliar o potencial de uso da quitosana associada à cianobactéria unicelular *Aphanothece microscopica* Nägeli no revestimento de sementes de milho (*Zea mays* L.) e seu efeito no potencial fisiológico e qualidade sanitária das sementes.

## MATERIAL E MÉTODOS

#### Material

Para a solução de revestimento foram utilizados quitosana de massa molar média (3,7x10<sup>5</sup> g/gmol) e grau de desacetilação de 96,7% (Polymar®, Brasil), ácido acético glacial (Synth, Brasil), glicerol (Synth, Brasil). Todos os demais reagentes utilizados eram de grau analítico.

O inóculo da cianobactéria Aphanothece microscopica Nägeli foi mantido e propagado em 2 L de meio BG11 (Rippka et al., 1979) a 25 °C com fotoperíodo de 12 h (claro-escuro) e fluxo luminoso de aproximadamente 45 μmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>, por 14 dias, no Laboratório de Microbiologia Aplicada e Controle (LABMAC) da Universidade Federal de São Carlos, Centro de Ciências Agrárias (Araras, SP, Brasil). Duas alíquotas de 200 mL da suspensão microalgal contendo aproximadamente 1 g/L de biomassa seca foram centrifugadas a 1844 × g por 20 min e ressuspendidas em 30 mL de água destilada em tubo Falcon contendo esferas de vidro. Uma das alíquotas foi mantida em vórtex por 5 min antes da incorporação na solução de quitosana (biomassa fresca). A segunda alíquota foi submetida a 4 ciclos de congelamento/descongelamento os quais consistiram na manutenção do frasco em freezer (-4 °C) por 24 h, descongelamento à temperatura ambiente e agitação em vórtex por 5 min.

As sementes de milho utilizadas nos tratamentos eram da variedade Al Piratininga (CATI/SP) e foram armazenadas durante dois meses sob condições controladas (10-12 °C e umidade relativa 30-40 %) até a realização dos tratamentos.

# Preparo da Solução de Quitosana e Incorporação da Biomassa de Cianobactéria

A solução de quitosana foi preparada dissolvendose o biopolímero (2 % m/v) em solução de ácido acético 1,5 % v/v e glicerol (0,6 g/g quitosana) à temperatura ambiente sob agitação mecânica constante (1000 rpm) durante uma hora. O pH final da solução foi ajustado a 4,7 com hidróxido de sódio (1 mol/L). Para incorporação da biomassa microalgal, a suspensão da cianobactéria *A. microscopica* fresca ou submetida aos ciclos de congelamento/descongelamento foi incorporada à solução de quitosana sob agitação mecânica até completa homogeneização. A concentração de biomassa seca na solução polimérica foi mantida em 0,1 % m/v.

#### Tratamento de Sementes

As sementes de milho foram revestidas com solução de quitosana (2 % m/v) contendo biomassa da cianobactéria A. microscopica (0,1 % m/v), totalizando 800 sementes por tratamento. As sementes foram imersas na solução de revestimento com auxílio de pinça e retiradas imediatamente, seguido de secagem sobre placa de Petri em estufa a 38 °C durante seis horas. Posteriormente, as sementes de cada tratamento foram misturadas para uniformização. Todas as sementes foram tratadas concomitantemente e mantidas em câmara fria (10-12 °C, UR 30-40 %) até a realização dos testes, conduzidos em dias diferentes. Os tratamentos consistiram em: quitosana 2% + biomassa cianobactéria fresca (QBF); quitosana 2% + biomassa cianobactéria após congelamento/ descongelamento (QBC). Foi acrescido um tratamento apenas com a aplicação de quitosana 2 % (Q) e outro tratamento controle sem revestimento.

#### Avaliação do Potencial Fisiológico das Sementes

As sementes de cada um dos tratamentos foram submetidas às seguintes análises de potencial fisiológico (germinação e vigor) e qualidade sanitária:

Teor de água: Amostras de todos os tratamentos foram mantidas por sete dias em câmara fria a 10-12 °C e umidade relativa a 30-40 % para estabilização e foram submetidas à determinação do teor de água pelo método da estufa a 105 °C durante 24 h, em triplicata.

Os resultados foram expressos em porcentagem de água em base úmida (Brasil, 2009a).

Massa de mil sementes: As sementes de cada tratamento foram pesadas em balança analítica em 8 repetições de 100 sementes e determinada a massa de 1000 sementes (Brasil, 2009a). Em seguida, os valores de massa foram ajustados considerando um teor de água de 13 %.

Teste de germinação: Quatro repetições de 50 sementes de cada tratamento foram dispostas sobre duas folhas de papel tipo *Germitest* e cobertas com uma folha, sendo o papel previamente umedecido (volume de água correspondente a 2,5 vezes a massa do papel) para a confecção dos rolos. Os rolos foram mantidos em câmara de germinação tipo BOD a 25 °C por 7 dias. Foi considerada a porcentagem de germinação na primeira contagem, após 4 dias, e a porcentagem de germinação final, após 7 dias (Brasil, 2009a).

Índice de velocidade de germinação (IVG): Foi obtido durante o teste de germinação, mediante avaliação diária, por meio de fórmula proposta por Maguire (1962).

Comprimento de plântulas: Após a contagem final de germinação (7º dia), foram realizadas medições de raiz e de parte aérea das plântulas normais com auxílio de régua (precisão  $\pm$  0,1 cm), obtendo-se o comprimento total.

Teste de frio em rolo de papel com terra: Quatro repetições de 50 sementes de cada tratamento foram dispostas sobre duas folhas de papel tipo *Germitest* previamente umedecido (2,5 vezes a massa do papel), cobertas com fina camada de terra peneirada (60 mL) proveniente de área agriculturável. Os rolos foram mantidos em sacos plásticos vedados em câmara de germinação tipo BOD a 10 °C por 7 dias (Cicero e Vieira, 1994). Após o período de resfriamento, os rolos foram colocados sem a vedação em câmara BOD a 25 °C e foi quantificada a porcentagem de plântulas normais após 7 dias.

Emergência de plântulas: Quatro repetições de 50 sementes de cada tratamento foram semeadas em bandejas (30,3 x 22,1 x 7,5 cm) preenchidas com areia grossa e terra argilosa peneirada proveniente de área agriculturável na proporção 2:1. Previamente à semeadura, as bandejas foram irrigadas com volume de água correspondente a 60 % da capacidade de campo do

substrato (Dias et al., 2015). Foi avaliada a porcentagem de plântulas que emergiram a cada dia até a estabilização, que ocorreu no 9° dia.

Índice de velocidade de emergência: Foi obtido mediante a avaliação diária de plântulas emergidas e calculado por meio de fórmula proposta por Maguire (1962).

Altura de plântulas: Ao final do teste de emergência, foi realizada a medição de altura das plântulas normais com auxílio de régua (precisão  $\pm\,0.1\,$  cm), considerando desde o nível do substrato até a extremidade da folha mais alta.

Massa de matéria seca de raiz e parte aérea: Finalizado o teste de emergência, as plântulas foram retiradas das bandejas e lavadas, seguida de separação da semente, raiz e parte aérea. Raízes e parte aérea de cada tratamento foram colocadas separadamente em sacos de papel e levadas à estufa a 65 °C durante 4 dias. Após a secagem, foi realizada a pesagem do material em balança analítica (Krzyzanowski et al., 2020).

Teste de sanidade (Blotter test): Foi adaptado do Manual de Análise Sanitária de Sementes (Brasil, 2009b). Foram utilizadas oito repetições de 25 sementes por tratamento espaçadas 1 cm entre si e dispostas sobre três discos de papel filtro umedecido (volume de água equivalente a 2,5 vezes a massa do papel) em cada placa de Petri (150 x 15 mm) esterilizada e mantida vedada em câmara BOD sob fotoperíodo de 12 h a 20 °C durante 7 dias. Após este período, as sementes foram examinadas em estereomicroscópio (30-80x) e, para confirmação da identificação, foi utilizado microscópio ótico (400x). A coleta de material para confecção das lâminas para microscopia foi realizada por meio de raspagem do micélio sobre a semente na região de interesse, com auxílio de pinça, sendo disposto em azul de metileno para visualização dos conídios. A confirmação do gênero foi realizada com base nas características dos esporos dos fungos analisados (Brasil, 2009b). Os resultados foram expressos em porcentagem de ocorrência dos fungos observados.

O experimento foi conduzido sob delineamento inteiramente casualizado e os dados submetidos a Análise de Variância (ANOVA), ao nível de 5 % de probabilidade, seguido de aplicação de teste de comparação de médias

de Tukey (p<0,05), com auxílio do *software R versão* 4.1.2 (R Core Team, 2021).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os teores de água das sementes revestidas com quitosana e biomassa fresca da cianobactéria *A. microscopica* foram reduzidos em relação aos demais tratamentos, que não apresentaram diferenças significativas entre si (p<0,05) (Tabela 1). No entanto, os valores de teor de água de todos os tratamentos mantiveram-se adequados à faixa recomendada para conservação de sementes ortodoxas, como é o caso do milho, não se apresentando como empecilho ao tratamento de sementes. Ademais, os revestimentos de quitosana e associada à biomassa da cianobactéria não interferiram na massa de 1000 sementes (p<0,05).

No que diz respeito à germinação e primeira contagem de germinação, não foi observado efeito bioestimulante dos revestimentos de quitosana associado à biomassa fresca ou após congelamento de *A. microscopica* (Tabela 2), podendo indicar que as sementes, por apresentarem inicialmente alto potencial fisiológico, não foram responsivas ao tratamento. O índice de velocidade de germinação foi inferior para o revestimento de quitosana associada à biomassa fresca da cianobactéria, representando um atraso promovido por esse agente biológico, o que todavia não foi observado quando a cianobactéria foi exposta aos ciclos de congelamento/descongelamento previamente ao seu uso. Esse resultado pode estar associado ao rompimento celular e consequente extração de componentes bioativos devido aos ciclos de congelamento/descongelamento

**Tabela 1.** Teor de água e massa de 1000 sementes para sementes de milho com revestimentos à base de quitosana e cianobactéria *A. microscopica*.

Tratamento	Teor de água (%)*	Massa de 1000 sementes (g)**
QBF	$9,2\pm0,1$ b	$376,7\pm6,4$ a
QBC	$9,5\pm0,2$ ab	$376,5\pm4,9$ a
Q	9,6 $\pm$ 0,1 $^{\rm a}$	$376,6\pm5,2$ a
Controle	9,7 ± 0,0 a	$375,9 \pm 4,1$ a

Média  $\pm$  desvio padrão de 3(\*) e 8(\*\*) determinações experimentais; letras iguais na coluna indicam que não há diferença significativa (p < 0,05) entre as médias pelo teste de Tukey. QBF = quitosana 2% + biomassa cianobactéria fresca, QBC = quitosana 2% + biomassa cianobactéria após congelamento/descongelamento, Q = quitosana 2%.

da biomassa. Como observado por Garcia-Gonzalez e Sommerfeld (2016), o pré-condicionamento de sementes de tomate com extratos celulares da microalga clorofícea *Acutodesmus dimorphus* em concentrações acima de 50 % apresentaram maior velocidade de germinação em relação ao controle.

Não houve interferência dos revestimentos no comprimento de parte aérea das plântulas, porém verificouse efeito no comprimento de raiz nos tratamentos com quitosana e quitosana contendo biomassa fresca quando comparado ao controle sem revestimento (Tabela 2). Kumar e Sahoo (2011) realizaram pré-condicionamento de sementes de trigo com extrato líquido filtrado da alga marinha *Sargassum wightii* na concentração 20 % e observaram incremento no comprimento de raízes e de parte aérea, sendo esses parâmetros prejudicados sob maiores concentrações, o que indica que outras concentrações podem ser investigadas com base no presente estudo visando verificar se a espécie *A. microscopica* apresentaria efeito bioestimulante sobre o comprimento de plântulas.

Quanto aos testes de vigor, não se observou diferenças significativas entre os tratamentos para o teste de frio, emergência de plântulas, altura de plântulas e massa de matéria seca de raiz (Tabela 3), indicando que os revestimentos de quitosana e quitosana associada à biomassa da cianobactéria *A. microscopica* não interfeririam na maioria dos parâmetros de vigor avaliados. Resultado semelhante foi verificado por Zacharias (2022), em que os revestimentos de sementes de milho com diferentes concentrações de quitosana não interferiram na massa de matéria seca de raiz, o que é importante nas fases iniciais do desenvolvimento das plântulas.

Por outro lado, todos os revestimentos promoveram redução no índice de velocidade de emergência em comparação ao controle (p<0,05), indicando um possível atraso decorrente do revestimento com quitosana, independentemente da sua associação com a biomassa de cianobactéria.

Quanto à massa de matéria seca de parte aérea (Tabela 3), ocorreu um efeito contrário ao verificado para as raízes, uma vez que os revestimentos promoveram redução (p<0,05), embora não tenham afetado o comprimento de parte aérea e altura. Esse resultado pode estar relacionado à espécie de cianobactéria utilizada, uma vez que Grzesik e Romanowska-Duda (2014) verificaram maior percentual de germinação de sementes de milho e aceleração do crescimento de raiz e parte

**Tabela 2.** Resultados de germinação (1ª contagem e contagem final), índice de velocidade de germinação, comprimento de raiz, de parte aérea e comprimento total de plântulas para os revestimentos à base de quitosana e cianobactéria *A. microscopica* em sementes de milho.

Tratamento	Germinação (%)		IVG	Comprimento (cm)		
Tratamento	1ª C.	C. Final		Raiz	P. Aérea	Total
QBF	$94.0 \pm 1.6$ a	$95,0\pm2,6$ a	$18,5\pm0,6$ b	$12.8 \pm 0.4$ bc	$5.9\pm0.4$ a	$18,6 \pm 0,6$ bc
QBC	$96,5\pm3,0$ a	98,0 $\pm$ 2,8 $^{\mathrm{a}}$	$20.7\pm0.6$ a	$13{,}4\pm0{,}5~^{ab}$	$6.5\pm0.5$ a	$19.9\pm0.8$ ab
Q	$95,5\pm1,9$ a	$96,5\pm1,9$ a	$19{,}5\pm0{,}6^{~ab}$	$11,6\pm0,8$ °	$6.0\pm0.2$ a	$17,6 \pm 1,0$ °
Controle	$95,0\pm4,8$ $^{\rm a}$	$95,0\pm4,8$ a	20,8 $\pm$ 1,3 $^{\rm a}$	$14,6\pm0,5$ a	$6.0\pm0.5$ a	$20,6\pm0,4$ a

Média  $\pm$  desvio padrão de 4 determinações experimentais; letras iguais na coluna indicam que não há diferença significativa (p < 0,05) entre as médias pelo teste de Tukey. QBF = quitosana 2% + biomassa cianobactéria fresca, QBC = quitosana 2% + biomassa cianobactéria após congelamento, Q = quitosana 2%.

**Tabela 3.** Resultados de teste de frio, emergência de plântulas, índice de velocidade de emergência, altura de plântulas e massa seca de raiz e de parte aérea para os revestimentos à base de quitosana e cianobactéria *A. microscopica* em sementes de milho.

Tratamento	Teste de Frio	Emergência	IVE	Altura (cm)	Massa de ma	téria seca (g)
Tratamento	(%)	(%)	IVE	Altura (CIII)	Raiz	P. Aérea
QBF	93,0 ± 5,0 a	$95,5 \pm 3,8$ a	$16,6 \pm 0,5$ b	$26,0\pm0,3$ a	$1,9\pm0,6$ a	2,8 ± 0,1 <sup>b</sup>
QBC	$95,5\pm3,4$ a	$96,5\pm3,4$ a	$16,4\pm0,8$ b	$25,1\pm0,5$ a	$2,0\pm0,5$ a	$2,6\pm0,0$ b
Q	$91,5 \pm 4,4$ a	$96.0 \pm 4.3$ a	$16,2\pm0,4$ b	$24,9 \pm 1,2$ a	$2,1\pm0,2$ a	$2,5\pm0,3$ b
Controle	$94.5 \pm 4.4$ a	$96,5 \pm 1,0$ a	$18,2 \pm 0,6$ a	$25.8 \pm 0.9$ a	$2,4 \pm 0,2$ a	$3.1 \pm 0.1^{a}$

Média  $\pm$  desvio padrão de 4 determinações experimentais; letras iguais na coluna indicam que não há diferença significativa (p < 0,05) entre as médias pelo teste de Tukey. QBF = quitosana 2% + biomassa cianobactéria fresca, QBC = quitosana 2% + biomassa cianobactéria após congelamento, Q = quitosana 2%.

**Tabela 4.** Resultados do teste de sanidade (*Blotter test*) para os revestimentos à base de quitosana e cianobactéria *A. microscopica* em sementes de milho.

Tratamento -	Ocorrência de fungos (%)			
	Aspergillus spp.	Fusarium spp.	Penicillium spp.	
QBF	$0.0 \pm 0.0$ a	39,5 ± 10,4 °	2,0 ± 3,0 b	
QBC	$0.0\pm0.0$ a	$25,0\pm8,5$ b	$1.0 \pm 1.9$ b	
Q	$0.5\pm1.4$ a	$33.0\pm11.3$ ab	$0.5 \pm 1.4$ b	
Controle	$0.0 \pm 0.0$ a	$29.0 \pm 8.8$ ab	$7.5 \pm 5.0$ a	

Média  $\pm$  desvio padrão de 8 determinações experimentais; letras iguais na coluna indicam que não há diferença significativa (p < 0,05) entre as médias pelo teste de Tukey. QBF = quitosana 2% + biomassa cianobactéria fresca, QBC = quitosana 2% + biomassa cianobactéria após congelamento, Q = quitosana 2%.

aérea, incrementando a massa de matéria fresca e seca, quando as sementes foram tratadas com monoculturas das cianobactérias *Anabaena* sp. e *Microcystis aeruginosa* e a microalga *Chlorella* sp. Kholssi et al. (2019) obtiveram maior massa de matéria seca de plântulas de trigo quando as sementes foram expostas ao meio de cultura filtrado da microalga *Chlorella sorokiniana*, em comparação à biomassa ressuspensa em meio BG11 (2 g massa seca/L).

Verificou-se quanto à sanidade das sementes que não houve ocorrência de Aspergillus spp. tanto no controle como nos demais tratamentos (Tabela 4). Para Fusarium spp., as sementes revestidas com quitosana e quitosana associada à biomassa fresca de A. microscopica não apresentaram diferenças significativas em comparação ao controle, no entanto a ocorrência de Fusarium spp. foi menor nas sementes revestidas com quitosana associada à biomassa congelada da cianobactéria (Tabela 4). Dentre os principais grupos de fungos responsáveis pela deterioração de sementes de milho estão Fusarium spp., Aspergillus spp. e Penicillium spp. (Silva et al., 2020). Senousy et al. (2022) encontraram efeito antifúngico de outros gêneros de cianobactérias sobre Fusarium solani e associam esse fenômeno à variação entre cepas de microalgas e cianobactérias que se deve às diferentes estruturas de exopolissacarídeos que apresentam.

A ocorrência de *Penicillium* spp. foi significativamente menor (p<0,05) em todos os tratamentos em relação ao controle (Tabela 4), o que indica que os revestimentos com quitosana apresentam efeito antifúngico contra *Penicillium* spp. Não houve diferenças significativas entre os tratamentos de quitosana e quitosana associada à cianobactéria, portanto não é possível afirmar que o efeito antifúngico foi promovido pelo agente biológico. Efeito antifúngico da quitosana (0,1 % m/v) também foi

verificado por Abd-Allah e Hashem (2006) em sementes de lentilha (*Lens esculenta*) sobre *Penicillium* sp. e sem efeito sobre *Aspergillus* spp. e *Fusarium* spp.

## **CONCLUSÕES**

Os tratamentos com quitosana, com e sem biomassa da cianobactéria *A. microscopica* não interferiram na massa de 1000 sementes, germinação, comprimento de parte aérea, teste de frio, emergência de plântulas, altura e massa de matéria seca de raiz, mas reduziram o índice de velocidade de emergência e massa de matéria seca de parte aérea em relação ao controle. Houve uma tendência de redução na ocorrência de *Fusarium* spp. (QBC) e *Penicillium* spp. (Q, QBF e QBC) nas sementes de milho tratadas com quitosana e biomassa de *A. microscopica*, indicando um potencial antimicrobiano dos revestimentos à base de quitosana com mínimo impacto no potencial fisiológico das sementes.

## REFERÊNCIAS

Abd-Allah, E.F. & Hashem, A., 2006. Seed mycoflora of *Lens esculenta* and their biocontrol by chitosan. *Phytoparasitica*, vol. 34, no. 2, pp. 213-218. http://dx.doi.org/10.1007/BF02981322.

Behera, B., Acharya, A., Gargey, I.A., Aly, N. & Balasubramanian, P., 2019. Bioprocess engineering principles of microalgal cultivation for sustainable biofuel production. *Bioresource Technology Reports*, vol. 5, pp. 297-316. http://dx.doi.org/10.1016/j.biteb.2018.08.001. BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária, 2009a. *Regras para análise de sementes*. Brasília: MAPA/ACS. 395 p.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária, 2009b. *Manual de análise sanitária de sementes*. Brasília: Mapa/ACS. 202 p.

Cicero, S.M. & Vieira, R.D., 1994. Teste de frio. In: R.D. Vieira & N.M.C. Carvalho, eds. *Testes de vigor em sementes*. Jaboticabal: FUNEP, pp. 151164.

Dias, M.A.N., Mondo, V.H.V., Cicero, S.M., Gonçalves, N.R. & Silva, C.A.T., 2015. Associação de testes de vigor para avaliação precisa e eficiente da qualidade de sementes de milho. *Revista Caatinga*, vol. 28, no. 3, pp. 93-99. http://dx.doi.org/10.1590/1983-21252015v28n311rc.

Garcia-Gonzalez, J. & Sommerfeld, M., 2016. Biofertilizer and biostimulant properties of the microalga *Acutodesmus dimorphus*. *Journal of Applied Phycology*, vol. 28, no. 2, pp. 1051-1061. http://dx.doi.org/10.1007/s10811-015-0625-2. PMid:27057088.

Grzesik, M. & Romanowska-Duda, Z., 2014. Improvements in germination, growth, and metabolic activity of corn seedlings by grain conditioning and root application with *Cyanobacteria* and microalgae. *Polish Journal of Environmental Studies*, vol. 23, no. 4, pp. 1147-1153. Grzesik, M. & Romanowska-Duda, Z., 2015. Ability of cyanobacteria and green algae to improve metabolic activity and development of willow plants. *Polish Journal of Environmental Studies*, vol. 24, no. 3, pp. 1003-1012. http://dx.doi.org/10.15244/pjoes/34667.

Kholssi, R., Marks, E.A.N., Miñón, J., Montero, O., Debdoubi, A. & Rad, C., 2019. Biofertilizing effect of *Chlorella sorokiniana* suspensions on wheat growth. *Journal of Plant Growth Regulation*, vol. 38, no. 2, pp. 644-649. http://dx.doi.org/10.1007/s00344-018-9879-7. Krzyzanowski, F.C., Vieira, R.D., França-Neto, J.B. & Marcos-Filho, J., 2020. Testes de vigor baseados em desempenho de plântulas. In: F.C. Krzyzanowski, R.D. Vieira, J.B. França-Neto & J. Marcos-Filho, eds. *Vigor de sementes: conceitos e testes*. Londrina: ABRATES. pp. 93104.

Kumar, G. & Sahoo, D., 2011. Effect of seaweed liquid extract on growth and yield of *Triticum aestivum* var. Pusa Gold. *Journal of Applied Phycology*, vol. 23, no. 2, pp. 251-255. http://dx.doi.org/10.1007/s10811-011-9660-9.

Maguire, J.D., 1962. Speed of germination: aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*, vol. 2, no. 2, pp. 176-177. http://dx.doi.org/10.2135/cropsci1962.0011183X000200020033x.

R CORE TEAM, 2021 [acesso em 11 de maio de 2022]. *R: a language and environment for statistical computing* [online]. Vienna, Austria. Disponível em: https://www.r-project.org/.

Renuka, N., Guldhe, A., Prasanna, R., Singh, P. & Bux, F., 2018. Microalgae as multi-functional options in modern agriculture: current trends, prospects and challenges. *Biotechnology Advances*, vol. 36, no. 4, pp. 1255-1273. http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.04.004. PMid:29673972.

Rippka, R., Deruelles, J., Waterbury, J.B., Herdman, M. & Stanier, R.Y., 1979. Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. *Microbiology*, vol. 111, no. 1, pp. 1-61. http://dx.doi. org/10.1099/00221287-111-1-1.

Senousy, H.H., El-Sheekh, M.M., Saber, A.A., Khairy, H.M., Said, H.A., Alhoqail, W.A. & Abu-Elsaoud, A.M., 2022. Biochemical analyses of ten cyanobacterial and microalgal strains isolated from egyptian habitats, and screening for their potential against some selected phytopathogenic fungal strains. *Agronomy (Basel)*, vol. 12, no. 6, pp. 1340. http://dx.doi.org/10.3390/agronomy12061340.

Silva, K.M.J., Pinho, R.G., Pinho, É.V.R., Oliveira, R.M., Santos, H.O. & Silva, T.S., 2020. Chemical treatment and size of corn seed on physiological and sanitary quality during storage. *Journal of Seed Science*, vol. 42, pp. e202042010. http://dx.doi.org/10.1590/2317-1545v42219569.

Zacharias, M.B., 2022. Potencial fisiológico e sanidade de sementes de milho revestidas com quitosana. Araras: Universidade Federal de São Carlos. 68 p. Dissertação de Mestrado em Produção Vegetal e Bioprocessos Associados.

Zeng, D., Mei, X. & Wu, J., 2010. Study and preparation of an environmentally friendly corn seed coating agent. *Journal of Plant Protection Research*, vol. 50, no. 2, pp. 210-214. http://dx.doi.org/10.2478/v10045-010-0036-y.