

Estudo do revestimento polimérico de quitosana x tempo de armazenamento de sementes de girassol orgânicas (*Helianthus Annus* L.)

Study of the polymeric chitosan coating x storage time of organic sunflower seeds (*Helianthus Annus* L.)

DOI:10.34117/bjdv7n1-402

Recebimento dos originais: 10/12/2020

Aceitação para publicação: 14/01/2021

José Narciso Francisco da Silva Filho

Graduando em Agroindústria

Centro de Ciências Humanas, Sociais e Agrárias / Universidade Federal da Paraíba
Campus Universitário III, R. João Pessoa, S/N, Bananeiras - PB – Brasil
josenarciso@gmail.com

Layane Rosa da Silva

Graduanda em Agroindústria

Centro de Ciências Humanas, Sociais e Agrárias / Universidade Federal da Paraíba
Campus Universitário III, R. João Pessoa, S/N, Bananeiras - PB – Brasil
layanerossa@gmail.com

Gerdeon Santos Nunes

Graduado em Licenciatura em Ciências Agrárias

Centro de Ciências Humanas, Sociais e Agrárias / Universidade Federal da Paraíba
Campus Universitário III, R. João Pessoa, S/N, Bananeiras - PB – Brasil
gerdeonsantos1@gmail.com

Renata Dayane Ribeiro da Silva

Ensino Médio em Nutrição e Dietética

Colégio Vidal de Negreiros / Universidade Federal da Paraíba
Campus Universitário III, R. João Pessoa, S/N, Bananeiras - PB – Brasil
renatadayane.rib45@gmail.com

Evanilson Souza de Almeida

Graduando em Agroindústria

Centro de Ciências Humanas, Sociais e Agrárias / Universidade Federal da Paraíba
Campus Universitário III, R. João Pessoa, S/N, Bananeiras - PB – Brasil
evanilsom46@gmail.com

Jefferson de Barros Batista

Instituto Federal de Educação da Paraíba – IFPB

R. Santa Rita de Cássia, 1900 - Jardim Camboinha, Cabedelo - PB, 58103-772
jefferson.batista@ifpb.edu.br

Emmanuel Moreira Pereira

Centro de Ciências Humanas, Sociais e Agrárias / Universidade Federal da Paraíba
Campus Universitário III, R. João Pessoa, S/N, Bananeiras - PB – Brasil
emmanuel16mop@hotmail.com

Anabelle Camarotti de Lima Batista

Centro de Ciências Humanas, Sociais e Agrárias / Universidade Federal da Paraíba
Campus Universitário III, R. João Pessoa, S/N, Bananeiras - PB – Brasil
bellecamarotti@gmail.com

RESUMO

O presente projeto aplica processos biotecnológicos à agricultura e destaca a importância do trabalho com sementes orgânicas comestíveis, já pensando numa crescente demanda mundial por alimentos mais saudáveis. Ele se justifica pela necessidade do aumento do prazo de conservação e da porcentagem de germinação de sementes orgânicas, com vistas a agregação de valor para venda comercial. O gel de quitosana animal utilizado foi na concentração de 0,5% e as condições de teste foram mono e bicamada. Os testes morfológicos, de vigor e de germinação seguiram as descrições presentes na RAS2009. A análise morfológica e de vigor evidenciaram sementes orgânicas dentro do padrão descritivo para a espécie. Os dados obtidos demonstraram que a forma de armazenamento, garrafa Pet transparente sem aditivos, foi eficiente na conservação das sementes por até 90 dias. Contudo, refutaram a hipótese de que a quitosana melhoraria o tempo de conservação em prateleira e a porcentagem de germinação. A literatura atual demonstra que a quitosana associada a outros compostos é eficiente para germinação de sementes agrícolas. Dessa forma, finalizamos com a sugestão de novos testes associando quitosana e aditivos internacionalmente aceitos para sementes orgânicas. Além de análises em campo para confirmar a eficácia da quitosana como favorecedora do processo de germinação de sementes de girassol orgânicas.

Palavras chave: sementes orgânicas, quitosana animal, germinação, conservação.

ABSTRACT

This project applies biotechnological processes to agriculture and highlights the importance of working with edible organic seeds, already thinking about a growing world demand for healthier foods. It is justified by the need to increase the conservation period and the percentage of germination of organic seeds, with a view to adding value for commercial sale. The animal chitosan gel used was at a concentration of 0.5% and the test conditions were mono and bilayer. The morphological, vigor and germination tests followed the descriptions present in RAS2009. The morphological and vigor analysis showed organic seeds within the descriptive standard for the species. The data obtained demonstrated that the form of storage, transparent PET bottle and without additives, was efficient in the conservation of seeds for up to 90 days. However, they refuted the hypothesis that chitosan would improve shelf-life and germination percentage. Current literature demonstrates that chitosan associated with other compounds is efficient for the germination of agricultural seeds. So, we conclude with the suggestion of new tests associating chitosan and internationally accepted additives for organic seeds. In addition to field analysis to confirm the efficacy of chitosan as favoring the germination process of organic sunflower seeds.

Keywords: organic seeds, animal chitosan, germination, conservation.

1 INTRODUÇÃO

As sementes orgânicas são designadas assim devido às características de cultivo que foram empregadas aos seus parentais. Em razão disso, a elas não podem ser adicionados compostos químicos, como exemplo fungicidas e inseticidas (BRASIL 2003; BRASIL 2007). Elas não podem ser modificadas geneticamente e nem serem plantadas de forma a interferir na diversidade biológica do local. Sendo assim, as sementes orgânicas são as mais indicadas para a manutenção de cultivo agrícola saudável e livre de agrotóxicos.

No preceito do cultivo orgânico há formas de conservação para as sementes, como a empregada por agricultores associados à AS•PTA Agricultura Familiar e Agroecologia (<https://aspta.org.br/quem-somos/>), os quais armazenam suas sementes orgânicas, após secas ao sol, em garrafas Pet devidamente lavadas. Esse armazenamento ocorre sem nenhum tratamento prévio e vem funcionando para conservação a curto e longo prazo para algumas culturas, como o feijão. Contudo, essa forma de armazenamento, sem tratamento prévio, não é indicada para todos os tipos de cultura (MENEGAES et al., 2020).

Dentre os tratamentos prévios atuais têm se utilizado compósitos poliméricos formados, em especial, por quitosana (POORNA CHANDRIKA et al., 2019; BARROS et al., 2020; SAMARAH et al., 2020;). A quitosana em um polímero polissacarídeo formado por resíduos de β -(1,4) 2-acetamido-2-deoxi-D-glicopiranosose e 2-amino-2-deoxi-D-glicopiranosose, estando o segundo em proporção acima de 60%. Apresenta uma configuração tridimensional helicoidal estabilizada entre moléculas por ligações de hidrogênio (TAJIK et al., 2008). Devido a presença desse grupamento amina na maioria dos resíduos, a quitosana vem sendo considerada para diferentes possibilidades de aplicações.

Na análise da variedade de aplicações da quitosana animal é de conhecimento que a concentração e as características físico-químicas: Grau de deacetilação (GD) e Peso Molecular (PM) influenciam na ação da mesma. Contudo, em aplicações para a germinação de sementes não foi percebido na literatura o direcionamento de uma faixa de concentração específica ou de um GD ou PM indicado para todas as espécies já testadas (NANDEESHKUMAR et al., 2008; PABÓN-BAQUERO et al., 2015; PEÑA-DATOLI et al., 2016; POORNA CHANDRIKA & VARSHA GODBOLE, 2019; SAMARAH et al., 2020). Nesse contexto Samarah e colaboradores (2020) testaram o

revestimento de quitosana, associada ou não a fungicidas, diretamente sobre sementes de pimenta e obtiveram bons resultados quanto a germinação. Poorna Chandrika e colaboradores (2019) revestiram sementes de mamona com a combinação sinérgica de quitosana com *Trichoderma* e puderam evidenciar um aumento na germinação e crescimento das referidas sementes.

Tais evidências nos fazem entender a importância dos estudos quanto ao revestimento polimérico em estruturas vegetais sensíveis ao ataque de microorganismos oportunistas, como é o caso das sementes. Assim, acredita-se que as sementes orgânicas, após revestimento por polímero de quitosana, terão suas características biológicas favorecidas para germinação ou, ao menos, terão ampliado o seu tempo de prateleira sem adição de conservantes químicos. Dessa forma, sendo possível o transporte das mesmas para distâncias maiores, agregando valor para sua venda.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

As sementes utilizadas no experimento foram obtidas do setor de agricultura, Campus III, CCHSA, UFPB. As sementes de girassol 100% orgânicas foram colhidas à no máximo 1 mês. Para o experimento foram selecionadas as com pericarpo intacto (sem furos) e não amareladas.

Dentre as sementes selecionadas para os testes foi possível analisar um total de 7.200 sementes. As sementes foram separadas em 720 grupos de 10 sementes cada para melhor organizar as análises morfológicas.

A análise morfológica (análise da forma e superfície externa) foi realizada em 50% das sementes totais. O procedimento serviu para confirmar se as sementes do estudo são da mesma espécie e que a estrutura do tegumento se encontra intacta. Observações também foram feitas com o auxílio de um estereomicroscópio quando necessário. Após as medidas as sementes foram validadas para as próximas etapas do estudo. As avaliações seguiram as determinações da RAS (BRASIL, 2009) e foram realizadas nos períodos de 0, 30 e 90 dias após o armazenamento em quadruplicatas.

Para avaliação da viabilidade das sementes de girassol foi realizado o teste de germinação com contagens no 6º, 10º e 14º dia para sementes do tipo girassol. Esse teste teve como n amostral 100 sementes em cada lote de trabalho, sendo seis repetições (BRASIL 2009).

O teste de revestimento com cobertura polimérica foi uma adaptação da metodologia empregada por Samarah e colaboradores (2020). 100 sementes por lote foram imersas em gel de quitosana animal (Polymar®; Grau de deacetilação (GD) aproximado 85%; peso molecular (PM) médio) na concentração 0,5% (v/v) de quitosana em 300 mL de ácido acético 0,5%. As sementes permaneceram em solução por 30 minutos, sem agitação. Após, foram retiradas e secas a temperatura de à 37 °C por 30 minutos. O controle não recebeu nenhum tratamento prévio e nenhum tipo de revestimento.

Para efeito de espessura da cobertura polimérica testes de monocamada e bicamada foram realizados. A primeira camada foi aplicada como descrito, após foi seca em estufa de secagem com circulação por convecção natural (Ethik, Referência EST.402.0102) à 37 °C. Para formação da bicamada o procedimento de imersão em gel de quitosana e secagem à temperatura ambiente foi repetido. Após prontas as sementes (controle, monocamada e bicamada) foram postas para germinar em laboratório.

Os testes de germinação foram realizados com lotes de 100 sementes cada em quadruplicata para os tempos 0, 30 e 90 dias de prateleira. As sementes foram plantadas em bandejas plásticas de polipropileno (alt 7 cm x lar 26 cm x comp 36,5 cm) furadas ao fundo contendo areia lavada e esterilizada. O espaçamento entre as sementes foi de 1,5 cm entre as colunas e 10 mm entre as linhas, aproximadamente. As bandejas foram mantidas em germinador tipo BOD (Box Organism Development; Eletrolab, Modelo EL202/4,110V), com foto período de 12 horas, à 28°C ±2°C.

O armazenamento das sementes não tratadas (controle) e tratadas em prateleiras foi realizado segundo recomendação da AS•PTA Agricultura Familiar e Agroecologia, os quais já trabalham com sementes orgânicas. Embora eles não trabalhem com sementes de girassol, a recomendação foi seguida por estarmos também com sementes orgânicas. Os potes de armazenamento foram garrafas PET de 500 mL transparentes e que haviam apenas armazenado água potável. Após ser retirado o líquido do seu interior as mesmas foram secas em estufa à 30°C e depois esfriadas à temperatura ambiente à sombra. Após serem adicionadas as sementes as garrafas PET foram fechadas e postas em prateleiras abertas à temperatura ambiente, e ao abrigo da luz, por um período de até 90 dias.

Para realizar uma análise comparativa entre as condições controle, mono camada e bicamada de quitosana foi aplicado um teste t Student e análise de regressão. Para isso, as réplicas tiveram seus resultados agrupados na média. Nesse processo foram utilizadas

ferramentas do Excel (Pacote Office 365 Personal 2018) e o Graphpad (<https://www.graphpad.com/quickcalcs/ttest1.cfm>). A significância estatística dos resultados foi testada no nível $p < 0,05$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As caracterizações morfológicas quanto à estrutura, tamanho (longitudinal e transversal), cor e peso foram realizadas e separaram para os testes seguintes sementes com tegumento intacto e cor característica. .

Os lotes de sementes variaram com peso entre 1,0g à 1,4g, sendo a massa específica por semente entre 0,1 – 0,140g. O comprimento longitudinal, medido entre a ponta e a base do fruto, variou entre 10,98 mm – 22,22 mm. O comprimento transversal, calculado pela largura da porção baixa do pericarpo, variou entre 4,40 mm – 9,00 mm. Os valores morfológicos ficaram dentro dos padrões característicos para sementes de girassol segundo a RAS (BRASIL, 2009). Considerando trabalho de Rodrigues et al. (2020), as sementes orgânicas aqui apresentadas têm massa específica e comprimento maiores, sendo sugerido como indicativo de uma maior qualidade do produto e menor teor de água interna (BOTELHO et al., 2015; RODRIGUES et al., 2020). Em uma necessidade de secagem para armazenamento pode ser sugerido um tempo acima de 48h à 50°C para se alcançar uma menor taxa de umidade e diminuir o potencial de crescimento microbiano (RODRIGUES et al., 2020).

O teste de viabilidade também demonstrou bom resultado, com 85% de germinação até o 10º dia pós plantio. Segundo a RAS são consideradas viáveis sementes que germinem em porcentagem acima de 80% em testes de viabilidade em areia lavada. Após esse teste consideramos viáveis as sementes de todos os grupos e prosseguimos para os testes de cobertura polimérica.

Os testes de cobertura tiveram como intuito verificar as hipóteses de que as sementes recobertas com gel de quitosana animal teriam seu tempo de prateleira aumentado e/ou que germinariam mais rápido ou em maior quantidade do que o controle. Em seu tempo de prateleira entendeu-se que as sementes não fungariam ou não teriam diminuição no seu vigor de germinação.

Os dados obtidos demonstraram que a primeira hipótese não foi confirmada, pois as sementes de girassol nos frascos controle (sem tratamento), no tempo de 30 e de 90 dias de prateleira não fungaram e não sofreram ataques de artrópodos. Trabalhos descritos

na literatura utilizam diferentes compostos químicos para recobrir sementes e evitar que as mesmas sofram ataques de microrganismos ou artrópodes durante o período de armazenamento (SANTOS et al., 2010; HENNING, 2011; ABREU JÚNIOR et al., 2017; GIUGNI & CATÃO, 2019). Contudo, por se tratarem de sementes orgânicas, as mesmas não podem sofrer adição de compostos químicos com potencial tóxico para o meio ambiente ou humanos. Dessa forma, aqui recomendamos **a não necessidade** de uso de compostos diversos, sejam naturais ou não, durante o período de armazenamento de sementes de girassol orgânicas por pelo menos três meses (90 dias); **e a necessidade** do uso de garrafas Pet seguindo metodologia descrita acima.

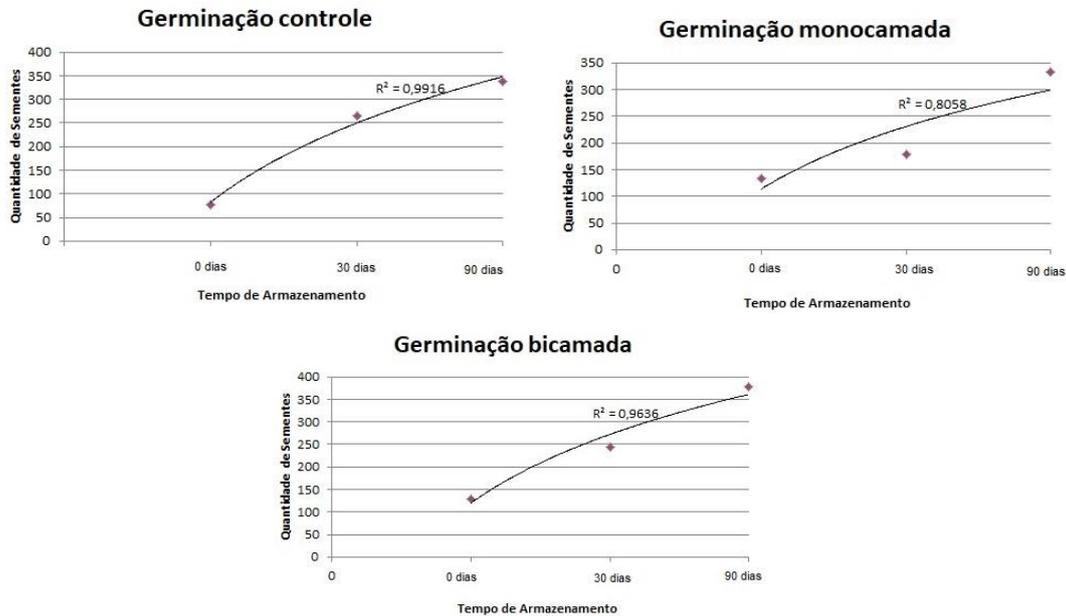
Menegaes et al. (2020) testaram o uso de garrafas Pet no armazenamento de sementes de cártamo sem tratamento prévio (*in natura*), contudo perceberam uma deterioração acentuada a médio e longo prazo quando as sementes foram reavaliadas após armazenagem. Fato que demonstra a importância desse tipo de teste para diferentes sementes. Durante o tempo de até 90 dias **houve melhoria** na quantidade de sementes germinadas e **não houve aumento** dos custos com a lavoura (Tabela 1). O fato também pode ser confirmado pela correlação entre a quantidade de sementes germinadas e o tempo de armazenamento, admitindo o uso das garrafas Pet transparentes para armazenamento de sementes de girassol orgânicas (Figura 1).

Tabela 1. Análise comparativa da quantidade total de sementes germinadas por tempo de armazenamento em prateleira. Não houve diferença na quantidade de sementes germinadas após 10 dias. A condição controle é representada pelo “Sem CS”. Valores são a média das quadruplicatas.

	Tempo Prateleira		
	T ₀ dias	T ₃₀ dias	T ₉₀ dias
	10° dia	10° dia	10° dia
Sem CS	77	264	339
Monocamada CS	133	178	332
Bicamada CS	130	245	378

CS = quitosana animal. Fonte: Os autores.

Figura 1. Análise comparativa dois a dois entre a quantidade de sementes germinadas em areia lavada e o tempo de armazenamento em garrafa Pet transparente à temperatura ambiente. Controle representa as sementes não tratadas com quitosana; Monocamada, as sementes tratadas com uma camada de quitosana 0,5% (p/v); Bicamada, as sementes tratadas com duas camadas de quitosana 0,5% (p/v). Valores são a média das quadruplicatas. O $R^2 \geq 0,96$ para as condições controle e revestimento por bicamada indicam uma grande correlação entre eles.



Fonte: Os autores.

Outro aspecto analisado foi o vigor de germinação, o qual não foi confirmado para as sementes tratadas com quitosana no presente trabalho, nem para sementes de milho (Peña-Datoli et al., 2016) ou pinhão-manso (Pabón-Baquero et al., 2015). Contudo, a literatura atual descreve o aumento do vigor para algumas espécies agrícolas quando à solução de quitosana são adicionados aditivos (compostos químicos ou microrganismos). Situação não empregada para as sementes de girassol orgânicas aqui utilizadas. Além do vigor, a quitosana associada também influenciou na resistência à patógenos, aumento da produção de quitinase e glucanase e aumento da tolerância ao frio para algumas espécies testadas (Poorna Chandrika e Varsha Godbole, 2019; Samarah et al., 2020). Nandeeshkumar et al. (2008) descrevem essas enzimas para sementes de girassol quando as mesmas são atacadas por patógenos. Por essa razão são sugeridos testes posteriores de concentração de quitinase e glucanase antes e após a aplicação de quitosana para confirmar a sua influencia nos processos de germinação de sementes de girassol orgânicas.

É sabido que a concentração da solução de quitosana e os aspectos físico-químicos: grau de deacetilação (GD) e peso molecular (PM) influenciam em muitas de suas aplicações (BATISTA et al. 2018). Por essa razão, acredita-se que variações na

concentração da quitosana aqui aplicada possam trazer resultados promissores quanto a melhorias no vigor de germinação das sementes de girassol orgânicas.

Quando analisadas variações quanto ao GD e PM que direcionem uma efetividade da ação da quitosana em processos de germinação foram percebidas grandes variações apenas quanto ao PM. O GD sempre é de aproximadamente 80 – 85%, contudo, PM variou de baixo à médio (Pabón-Baquero et al., 2015; Peña-Datoli et al., 2016; Poorna Chandrika e Varsha Godbole, 2019; Samarah et al., 2020).

Avaliações quanto a influência da quitosana na fisiologia das diferentes sementes já testadas foram pouco relatadas, mas a influência da quitosana como agente antibacteriano e antifúngico foi comprovada (Nandeeshkumar et al., 2008; Liu et al., 2017). Indicando a sua possível aplicação para armazenamentos em longo prazo.

4 CONCLUSÃO

A literatura dos últimos 5 anos não traz investigações quanto ao revestimento de sementes de girassol orgânicas. Colocando o nosso estudo como um dos pioneiros recentes na hipótese de melhorias na quantidade de sementes germinadas e qualidade de armazenamento para essa espécie.

Embora os dados obtidos tenham refutado as hipóteses do estudo, pois não foi melhorado tempo de prateleira e nem tempo ou quantidade de sementes germinadas, finalizamos com a sugestão de novos testes. Testes esses com concentrações diferentes e/ou aditivos naturais previamente permitidos internacionalmente para uso em sementes orgânicas que possam melhorar as características aqui analisadas. A persistência no uso de sementes de girassol ocorre devido à sua importância comercial para a região e pela literatura afirmar para outras espécies que o produto natural quitosana consegue proteger sementes de ataques de fungos e favorecer processos de germinação.

REFERÊNCIAS

- ABREU JÚNIOR, J.S.; RUFINO, C.A.; VIEIRA, J.F.; LABBÉ, M.B. Recobrimento de sementes de algodão com zinco: efeitos imediatos e após o armazenamento. *Magistra*, v.29, p. 116-126, 2017.
- BATISTA, A.C.L.; SOUZA NETO, F.E.; PAIVA, W.S. Review of fungal chitosan: past, present and perspectives in Brazil. *Polímeros (on line)*, v. 28, p. 275 – 283.
- Botelho, F. M.; Granella, S. J.; Botelho, S. C. C.; Garcia, T. R. B. Influência da temperatura de secagem sobre as propriedades físicas dos grãos de soja. *Engenharia na agricultura, Viçosa - MG*, v.23, n.3, p.212-219, maio / junho. 2015.
- BRASIL. Decreto-Lei nº10.831, de 23 de dezembro 2003. Dispõe sobre a agricultura orgânica e dá outras providências. *Lex: coletânea de legislação: edição federal, Brasília*, 2003.
- BRASIL. Decreto-Regulatório nº 6.323, de 27 de dezembro de 2007. Regulamenta a Lei nº 10.831, de 23 de dezembro de 2003, que dispõe sobre a agricultura orgânica, e dá outras providências. *Lex: coletânea de legislação: edição federal, Brasília*, 2007.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Manual de Análise Sanitária de Sementes, Anexo do Capítulo 9 (Teste de Sanidade de Sementes) das Regras Para Análise de Sementes. 1º edição. Brasília: MAPA/ACS, 2009. 200p. ISBN 978-85-99851-64-7
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para Análise de Sementes. Brasília: MAPA/ACS, 2009. 399p. ISBN 978-85-99851-70-8.
- Dayane de Melo Barros, Ana Paula Ferreira da Silva, Danielle Feijó de Moura, Marcela de Albuquerque Melo, José Hélio Luna da Silva, Tamiris Alves Rocha, Francielle Amorim Silva, Gerliny Bezerra de Oliveira, Sandrelli Meridiana de Fátima Ramos dos Santos Medeiros, Iago Dillion Lima Cavalcanti, Daniel Charles dos Santos Macêdo, José Cleberon Santos Soares, Silvio Assis de Oliveira Ferreira, Tâmara Thaiane Almeida Siqueira, Andreza Roberta de França Leite, Maurilia Palmeira da Costa, Marcelino Alberto Diniz, Amanda Suellen Santana Alves, Jaciane Maria Soares dos Santos, Roberta de Albuquerque Bento da Fonte. Utilização de quitosana na conservação dos alimentos /Use of chitosan in food conservation. *Braz. J. of Develop.* v. 6, p.17717-17731, 2020.
- GIUGNI, M.; CATÃO, H.C.R. Recobrimento de sementes com cálcio e magnésio. *Revista Campo & Negócios on line.* (2019). Acessado em 20 de dezembro de 2020. Disponível em <https://revistacampoenegocios.com.br/recobrimento-de-sementes-com-calcio-e-magnesio/>
- HENNING, A.A. TRATAMENTO E RECOBRIMENTO DE SEMENTES. Embrapa Soja, 2011. Acessado em 20 de dezembro de 2020. Disponível em <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/916991/tratamento-e-recobrimento-de-sementes>
- Janine Farias Menegas, Ubirajara Russi Nunes, Rogério Antônio Bellé, Fernanda Alice Antonello Londero Backes, Geovana Facco Barbieri, Nelto Almeida de Sousa, Cassiano Vasconcelos dos Santos. Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de cártamo armazenadas em diferentes períodos e embalagens/ Physiological and health quality of safflower seeds stored in different quantities and packaging. *Braz. J. of Develop.*, v. 6, p.17022 – 17034, 2020.
- Jia Liu, Yunhua Zhang, Qinglin Meng, Fengmei Shi, Ligong Ma, Yichu Li. (2017).
- KRISHMNAMOORTHY, V.; RAJIV, S. 2018. Tailoring electrospun polymer blend carriers for nutrient delivery in seed coating for sustainable agriculture. *Journal of Cleaner Production*, v. 177, 69-78.

- P. Nandeeshkumar, J. Sudisha, Kini K. Ramachandra, H.S. Prakash, S.R. Niranjana, Shetty H. Shekar. (2008). Chitosan induced resistance to downy mildew in sunflower caused by *Plasmopara halstedii*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, v. 72, p. 188-194.
- Pabón-Baquero, D., Velázquez-del Valle, M. G., Evangelista-Lozano, S., León-Rodríguez, R., & Hernández-Lauzardo, A. N. (2015). Chitosan effects on phytopathogenic fungi and seed germination of *Jatropha curcas* L. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 21(3), 241-253. doi: 10.5154/r.rchscfa.2014.10.051
- Peña-Datoli, W.; Hidalgo-Moreno, C.M.; González-Hernández, V.A.; Alcántar-González, E.G.; Etchevers-Barra, J.D. (2016). Recubrimiento de semillas de maíz (*Zea mays* L.) con quitosano y alginato de sodio y su efecto en el desarrollo radical. *Agrociencia*, 50, p. 1091-1106.
- POORNA CHANDRIKA, K.S.V.; PRASAD, R.D.; GODBOLE, V. 2019. Development of chitosan-PEG blended films using *Trichoderma*: Enhancement of antimicrobial activity and seed quality. *International Journal of Biological Macromolecules* 126, p. 282–290.
- PRASAD, R.D.; CHANDRIKA, K.S.V.P. A novel chitosan biopolymer based *Trichoderma* delivery system: storage stability, persistence and bio efficacy against seed and soil borne diseases of oil seed crops. *Microbiological Research*, v. 237, p. 126-134, 2020.
- RODRIGUES, L.M.S.; FERREIRA, J.S.; GOMES, J.P.; SILVA, S.N.; VIEIRA, A.F.; SILVA, L.P.F.R.; SILVA, A.O.; PEREIRA, M.S. (2020). Influência do tempo de secagem nas propriedades físicas de *Helianthus annuus*. *Braz. J. of Develop.*, v. 6 (10), p. 81553-81559.
- SAMARAH, N.H.; AL-QUARAAN, N.A.; MASSAD, R.S.; WELBAUM, G;E. 2020. Treatment of bell pepper (*Capsicum annum* L.) seeds with *chitosan* increases chitinase and glucanase activities and enhances emergence in a standard cold test. *Scientia Horticulturae*, 269, Article 109393 (*in press*)
- SANTOS, F.C.; OLIVEIRA, J.A.; VON PINHO, E.V.R.; GUIMARÃES, R.M.; VIEIRA, A.R. TRATAMENTO QUÍMICO, REVESTIMENTO E ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE *Brachiaria brizantha* CV. MARANDU. *Revista Brasileira de Sementes*, v. 32, p.069-078, 2010.
- STATISTICA, version 7 (2004) StatSoft, Inc. <http://www.statsoft.com>.
- TAJIK, H.; et al. 2008. Preparation of Chitosan from Brine Shrimp (*Artemia urmiana*) Cyst Shells and Effects of Different Chemical Processing Sequences on the Physicochemical and Functional Properties of the Product. *Molecules*, 13: 1263-1274. v. 72, p. 188-1994.