

## O USO DE BIOFILMES COMO BARREIRA FÍSICA PARA A PROTEÇÃO DE CÉLULAS DE RIZÓBIOS EM SEMENTES DE SOJA PRÉ-TRATADAS COM FUNGICIDA.

Fábio Plotegher<sup>1</sup>; Rafaela Ferraz Majaron<sup>2</sup>; Mariangela Hungria<sup>3</sup> e Caue Ribeiro<sup>1</sup>.

1 - Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro 1452, São Carlos, SP, CEP: 13560-970, Brasil.  
E-mail: [fabioplotegher@yahoo.com.br](mailto:fabioplotegher@yahoo.com.br)

2 - Universidade Federal de São Carlos, Departamento de Química, Rodovia Washington Luiz, km 235, São Carlos - SP, CEP: 13565-905, Brasil.

3 - Embrapa Soja, Rodovia Carlos João Strass S/N, Acesso Orlando Amaral, Distrito da Warta, Londrina - PR, CEP: 86001-970, Brasil.

**Classificação:** Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio.

### Resumo:

A principal cultura de verão no Brasil é a Soja, com mais de 57% da área de plantio. O crescimento da produtividade das lavouras nas últimas décadas se deve, principalmente, aos avanços na pesquisa e em tecnologia. Uma das tecnologias mais aplicadas na cultura da soja é a fixação biológica do nitrogênio (FBN) que consiste em utilizar bactérias especializadas, principalmente os rizóbios, que garante a planta um suplemento contínuo desse elemento. No plantio, a semente de soja é o principal veículo para disseminação de pragas e doenças dessa cultura, sendo assim, é necessário a utilizar defensivos agrícolas no tratamento das semente o que ocasiona a mortalidade de mais de 90% das células responsáveis pela FBN. Sendo assim, esse trabalho investigou o uso de biofilmes como barreira física entre os fungicidas aplicados no tratamento de sementes e os inoculantes contendo os rizóbios. Os resultados da recuperação de células viáveis mostraram que o uso dos biofilmes se mostrou muito promissor.

**Palavras-chave:** Recobrimento, polímeros, carboidratos.

### THE USE OF BIOFILMS AS A PHYSICAL BARRIER FOR THE PROTECTION OF RIZOBIAN CELLS IN SOYBEAN SEEDS PRE-TREATED WITH FUNGICIDE.

#### Abstract:

The main summer culture in Brazil is Soja, with more than 57% of the planting area. The growth of crop productivity in the last decades is mainly due to advances in research and technology. One of the most applied technologies in soybean cultivation is biological nitrogen fixation (BNF), which consists of using specialized bacteria, mainly rhizobia, which guarantees the plant a continuous supplement of this element. In planting, soybean seeds are the main vehicle for the spread of pests and diseases of this crop, so it is necessary to use agricultural pesticides in the treatment of seeds, which causes the mortality of more than 90% of the cells responsible for BNF. Thus, this work investigated the use of biofilms as a physical barrier between the fungicides applied in the treatment of seeds and the inoculants containing the rhizobia. The results of viable cell recovery showed that biofilm use was very promising.

**Keywords:** Coating, polymer, carbohydrates.

**Publicações relacionadas:** “Biofilmes parcialmente hidrofílicos: uma alternativa para a proteção celular de rizóbios em sementes pré-tratadas” Resumo submetido ao XXVII Reunião Latinoamericana de Rizobiologia – RELAR, Londrina 2016.

## 1 INTRODUÇÃO

A principal cultura de verão do Brasil é a soja, que representou na safra 2015/2016, cerca de 57% de toda a área de plantio de grãos do país (CONAB, 2017 e MAPA, 2017). O crescimento na produtividade da soja nas últimas três décadas se deve, principalmente, aos inúmeros avanços em

pesquisa, tecnologia e inovação. Uma das principais tecnologias utilizadas na cultura de soja é a fixação biológica de nitrogênio (FBN). Segundo CAMPO et al. (2009), a FBN tem um papel fundamental na cultura da soja pois, pode garantir cerca de 95% de todo o nitrogênio (N) utilizado pelas plantas na lavoura e assim diminuir os custos da produção, pois não serão utilizados fertilizantes nitrogenados na adubação. No entanto, para se ter uma boa produtividade, além de garantir o suprimento completo de nutrientes é necessário escolher sementes com padrão genético, fisiológico e sanitário adequados. De acordo com GOULART (2004 e 2011) e HENNING (2004) no plantio, a semente de soja é o principal veículo para disseminação de doenças de importância econômica desta forma o tratamento da semente com fungicidas se faz necessário para o estabelecimento da lavoura. Porém, segundo CAMPO et al. (2009), esse tratamento com fungicidas influenciam negativamente a FBN, pois a mortalidade das células das bactérias podem chegar a 90% em um período de poucas horas após a inoculação dos rizóbios nas sementes tratadas com fungicida, comprometendo assim a eficiência da FBN.

Uma alternativa para diminuir os efeitos de toxidez dos fungicidas às células bacterianas é a utilização biofilmes ou mesmo compósitos à base de polímeros naturais a fim de formar uma barreira física entre o fungicida e as células das bactérias dando-lhes sobrevida até que entrem em contato com o solo no plantio e assim, colonizar as raízes das plantas de soja.

Sendo assim, o objetivo desse trabalho foi desenvolver uma proteção celular a base de polímeros naturais hidrofílicos para o recobrimento das sementes de soja pré-tratadas.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram preparadas suspensões aquosas de 5 diferentes polímeros naturais e hidrofílicos. As sementes foram recobertas por essas suspensões poliméricas na proporção de 2% em massa com relação a massa de semente.

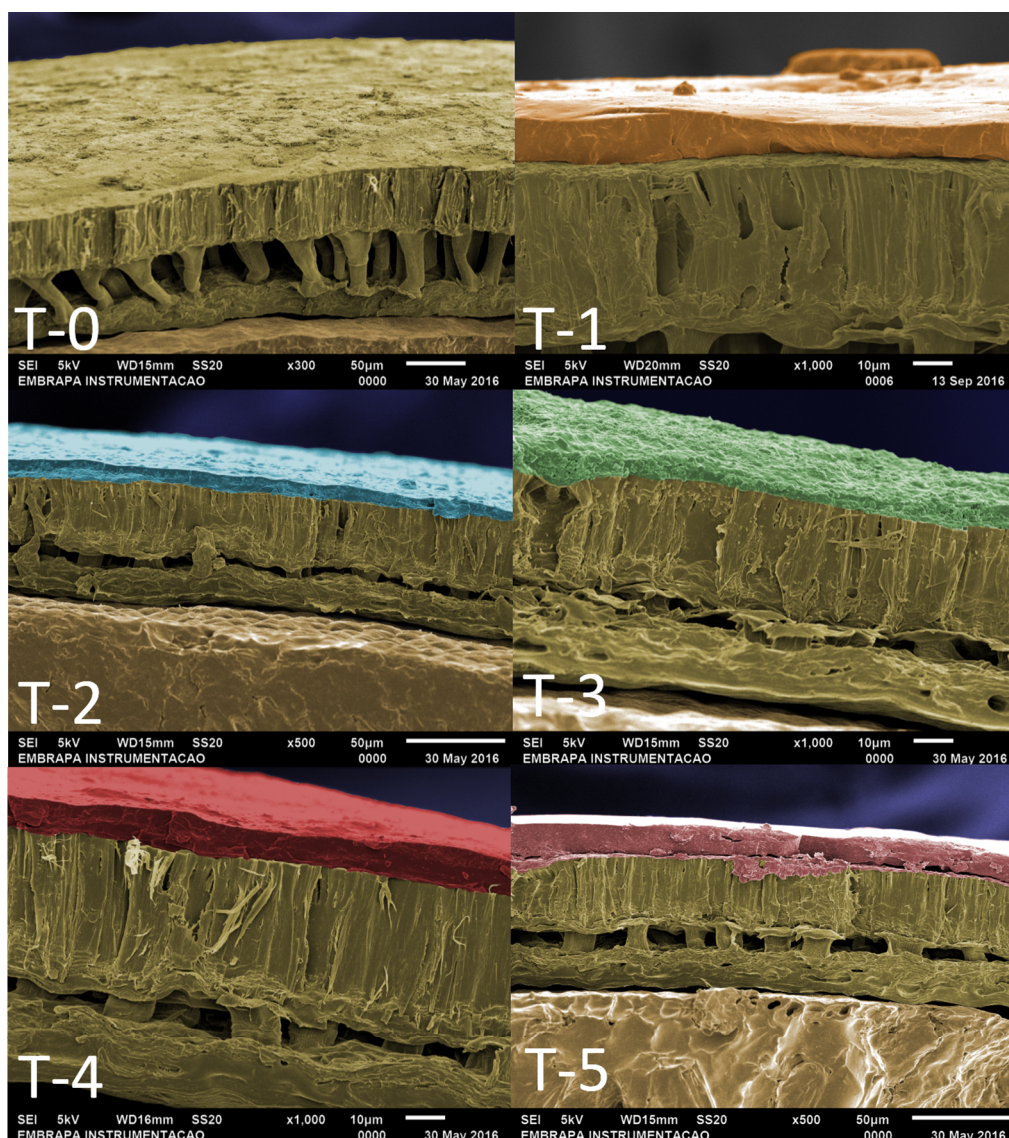
Após a secagem do material, as sementes foram congeladas em nitrogênio líquido e fraturas para se observar a espessura da camada obtida por meio da técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV).

As análises de recuperação e viabilidade das bactérias nas sementes inoculadas foram realizadas no Laboratório de Biotecnologia dos Solos da Embrapa Soja em Londrina – PR, seguindo normas da Instrução Normativa N° 30 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento - MAPA (MAPA, 2010).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As micrografias apresentadas na Figura 1, mostram que os recobrimentos com todos os 5 polímeros se mostraram uniformes e que, de fato, houve a formação de um biofilme sobre toda a extensão da casca do grão.

A Tabela 1, mostra os resultados do ensaio de recuperação de células viáveis de todos os tratamentos feitos. O tratamento controle não apresentou adição de fungicida na semente logo sua recuperação foi da ordem de  $10^5$  célula  $\text{mL}^{-1}$ . No tratamento T-5 foi utilizado um polímero comercial que possui em sua composição agentes antimicrobianos mesmo tendo formado a camada mais espessa dentre todos os tratamentos, a presença dos compostos antimicrobianos afetou, e muito, o número de células viáveis recuperadas ( $10^2$ ). Os demais tratamentos T-1 a T-4, obtiveram resultados similares e com maior número de células recuperadas que no tratamento controle, mostrando que o uso dessa tecnologia é promissora.



**Figura 1:** MEV das secções transversais dos grãos de soja recobertos com os biofilmes. (T-0 = Grão de soja sem recobrimento, T-1 a T-5 = Grão de soja recobertos pelos polímeros)

**Tabela 1:** Resultados da recuperação de células das sementes em todos os tratamentos.

Tratamento	Número de células recuperadas (UFC/mL)
T-Controle	$1,95 \times 10^5$
T-1	$1,05 \times 10^6$
T-2	$8,22 \times 10^5$
T-3	$4,76 \times 10^5$
T-4	$1.10 \times 10^6$
T-5	$3,33 \times 10^2$

- - UFC: Unidade Formadora de Colônia.

#### 4 CONCLUSÃO

É possível usar biofilmes para atuar como uma barreira física entre sementes tratadas com fungicidas e as células de rizóbios. Os resultados das análises de recuperação de células viáveis mostrou que essa tecnologia é promissora, sendo necessário agora ensaios em campo para comprovar o aumento do número de nódulos nas raízes das plantas do soja e por consequência o aumento na fixação do nitrogênio.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio financeiro dado pela FAPESP (2016/15482-9 e 2017/11149-6), CAPES, CNPq, SISNANO / MCTI, FINEP, Embrapa Soja e Embrapa Instrumentação e Rede AgroNano.

## REFERÊNCIAS

CAMPO, R. J.; ARAUJO, R. S.; HUNGRIA, M.; Nitrogen fixation with the soybean crop in Brazil: Compatibility between seed treatment with fungicides and bradyrhizobial inoculants. *Symbiosis*, 48, 154-163, 2009.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento, Séries históricas. [2017]. Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/17\\_09\\_13\\_16\\_13\\_13\\_brasilprodutoseriehist.xls](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/17_09_13_16_13_13_brasilprodutoseriehist.xls)>. Acesso em: Set. 2017.

GOULART, A. C. P., Fungos em sementes de soja: Detecção, Importância e Controle. Embrapa, Dourados, 2004, 72p.

GOULART, A. C. P., Tratamento de Sementes de Soja com Fungicidas. In: Mercosoja 2011 – Quinto Congresso de la Soja del Mercosur, 1-5, 2011.

HENNING, A. A.; Patologia e Tratamento de Sementes: Noções Gerais. Documentos 235, Embrapa, 2004, 54p.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C., Fixação biológica do nitrogênio na cultura de soja. Circular Técnica, Embrapa, 2001, 48p.

MAPA – Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, Instrução Normativa N° 30, de, 12 de novembro de 2010. Brasília, 2010, 28p.

MAPA – Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, Projeções do Agronegócio – Brasil 2016/17 a 2026/27 – Projeções de Longo Prazo. Brasília, 2017, 123 p.