

Desenvolvimento de Revestimento para Sementes Agrícolas Adicionados de Microrganismos Benéficos

Development of Coating for Added Agricultural Seeds of Beneficial Microorganisms

Ana Luisa de Almeida Trzeciak
analu_trz@hotmail.com
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, PR, Brasil

Claudio Takeo Ueno
takeo@utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, PR, Brasil

RESUMO

A busca por novas tecnologias não agressivas ao meio ambiente, segurança alimentar e a viabilidade econômica no campo da agricultura orgânica, encontra-se em crescente expansão. Sendo assim, este trabalho tem como objetivo o cultivo do fungo *Trichoderma sp* em meio a base de melado de cana (baixo custo), a manutenção das cepas do fungo, peletização de sementes de hortaliças e leguminosas com o micélio do fungo, e posterior plantio em terrários de vidro para análise do crescimento das raízes comparados com o controle negativo. Os métodos para a conservação das cepas foram as técnicas de repicagem periódica em placa de ágar e de tubo inclinado. A peletização das sementes foi realizada pela mistura do micélio do *Trichoderma sp* incubado no fermentador a 28°C por 72hs, que foi adicionado a uma cola a base de amido. Os terrários foram confeccionados nas medidas 35cmx25cmx10cm com as sementes peletizadas e controle e estão em análise em casa de vegetação apropriada. A manutenção da cepa do fungo em meio sólido é satisfatória. O cultivo em meio líquido com melado de cana como fonte de carbono, substituindo a glicose permitiu crescimento abundante de micélios para peletização, facilitando a produção de sementes peletizadas de baixo custo contendo micélio, dessa forma essas sementes peletizadas tem grande potencial para utilização na agricultura orgânica onde o microrganismo benéfico já estará presente junto a semente no ato de plantio, reduzindo a mão de obra no manejo da agricultura orgânica.

PALAVRAS-CHAVE: *Trichoderma sp*. Peletização. Agricultura orgânica.

ABSTRACT

The search for new technologies that are not aggressive to the environment, food security and economic viability in the field of organic agriculture, is growing. Therefore, the objective of this work is to cultivate the fungus *Trichoderma sp* in cane molasses (low cost), maintenance of fungus strains, pelletisation of vegetable and legume seeds with fungus mycelium, and later, planting in glass terrariums to analyze root growth compared to the negative control. The methods for the conservation of the strains were the techniques of periodic repetition in plate of agar and inclined tube. Seed pelletisation was performed by mixing the *Trichoderma* mycelium incubated in the fermentor at 28 ° C for 72 hours, which was added to a starch-based glue. The terrariums were made in the measurements 35cmx25cmx10cm with the seeds pelleted and controlled and are under analysis in a house of suitable vegetation. Maintenance of the fungus strain on solid medium is satisfactory. The cultivation in liquid medium with sugarcane molasses as a source of carbon, replacing the glucose allowed abundant growth of mycelia for pelletizing, facilitating the production of low cost pelletized seeds containing mycelium, thus these pelleted seeds have great potential for use in organic agriculture where the beneficial microorganism will already be present with the seed in the act of planting, reducing the manpower in the management of organic agriculture.

KEYWORDS: *Trichoderma sp*. Pelletisation. Organic agriculture.

Recebido: 02 set. 2018.

Aprovado: 12 set. 2018.

Direito autorial:

Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.



INTRODUÇÃO

No Brasil e no mundo a agricultura orgânica encontra-se em crescente expansão. Diversos programas do governo como o Pró-Orgânico estimulam esse tipo de cultivo através de pesquisa de manejos adequados à agricultura orgânica que, obrigatoriamente, necessita de alternativas naturais aos fungicidas químicos e fertilizantes. Este programa prevê o emprego de normas de sustentabilidade ambiental, segurança alimentar, viabilidade econômica e socialmente justa, mediante o uso de tecnologias não agressivas ao meio ambiente e ao homem. (BRASIL, 2007) Contudo, um dos grandes desafios enfrentados pela agricultura orgânica é a necessidade de novas ferramentas para combater pragas e doenças cujas características atendam aos critérios do cultivo orgânico de frutas e hortaliças. Sendo assim, é necessário substituir os mais variados tipos de pesticidas e, neste contexto, a agricultura orgânica desponta como a alternativa mais viável para alimentos saudáveis.

Os fungos do gênero *Trichoderma* tem um destino interessante quando utilizados na agricultura uma vez que, os fungos têm a capacidade de produzir metabólitos semelhantes aos hormônios de crescimento das plantas e isso proporciona um melhor desenvolvimento (SPECIAN et al., 2015). Assim como, os fungos do gênero *Trichoderma* auxiliam na defesa da planta hospedeira, pois tem a capacidade de matar patógenos (KULLNIG et al., 2000). Além disso, quando mudas foram inoculadas em ensaios com o *Trichoderma* observou-se o desenvolvimento de raízes significativamente mais longas (GRAVEL et al., 2007). Esses resultados são de grande interesse e importância para a agricultura, pois pode proporcionar ganho de produtividade.

Uma forma de aplicação desse fungo é a sua peletização com as sementes. Já que, sementes de culturas podem ser inoculadas com esporos ou micélios de fungos benéficos que desde a germinação até a vida adulta poderá beneficiar a semente de interesse. (HAJIEGHRARI, 2010)

Assim, este projeto teve como objetivos a conservação das cepas de *Trichoderma sp* por meio da técnica da repicagem periódica e de tubo inclinado. Além, do cultivo em grande escala em meio líquido para posterior inoculação em meio YEPD (Yeast Extract-Peptone-Dextrose), com modificações. O fungo inoculado em meio líquido terá a substância 6pp isolada e retirada por meio da extração líquido-líquido com acetato de etila. Essa substância e o micélio serão utilizados para o revestimento de sementes inicialmente de alface e rúcula. Sendo que, as sementes serão selecionadas de acordo com o resultado de um teste germinativo. Posteriormente, essas serão revestidas com a substância de interesse isolada e micélio, respectivamente e então, plantadas em terrários.

Além dos terrários com as sementes revestidas, outro terrário com controle negativo será analisado. Sendo que, as análises serão feitas periodicamente observando-se o crescimento e desenvolvimento das raízes, porte das plantas e verificando possíveis melhoras nas raízes que tiveram as sementes revestidas.

MÉTODOS

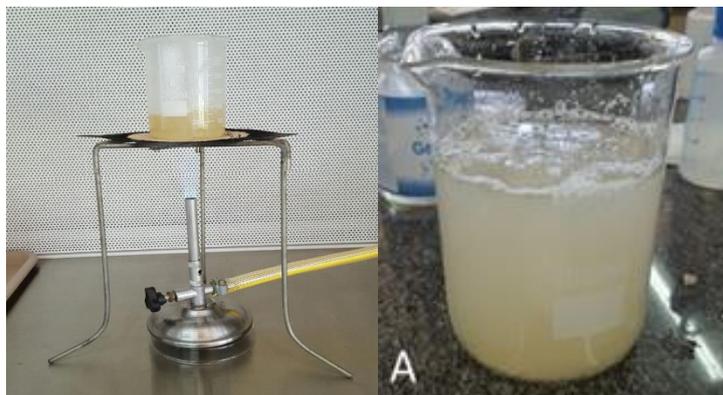
A conservação do *Trichoderma sp* foi realizada por meio da repicagem periódica e de tubo inclinado. A repicagem consiste na transferência periódica dos fungos que crescem em meio de cultura BDA (batata, dextrose e ágar) para novos meios em placas de Petri. A inoculação é realizada dentro de fluxo laminar, onde se é gerado um ambiente estéril, e a transferência se dá por meio de uma alça previamente flambada no bico de Bunsen. A repicagem garante a conservação dos fungos à curto prazo.

O tubo inclinado, segundo método utilizado, consiste na multiplicação dos fungos em meio de cultura dentro de frascos como os tubos de ensaio que, em seguida, é coberto com meio BDA previamente esterilizado. A cepa de *Trichoderma sp* foi mantida em meio BDA (batata, dextrose, ágar) para uso e reserva.

A inoculação do fungo em meio líquido foi feito utilizando o meio YEPD. Foram preparados 5L de meio YEPD (Yeast Extract-Peptone-Dextrose), com modificações, substituindo a glicose química por 100g de melado de cana (2%). Além de, 1% de peptona e 1% de extrato de levedura, submetido a autoclavagem a 121°C por 20min. O fungo cultivado em meio sólido foi fragmentado em cubos com estilete e inoculado no meio líquido preparado com o melado. Após a inoculação, o meio foi mantido em fermentador com agitação rotacional (60 rpm) a 28°C por 72hrs.

Após o desenvolvimento do fungo, o meio foi filtrado e os micélios foram separados da fração líquida. A fração líquida foi armazenada para futura extração do 6PP, os micélios serão utilizados para peletização das sementes e verificada o teste de germinação dessas sementes peletizadas antes da semeadura em terrários. Três espécies de sementes foram testadas com um teste germinativo primário: alface, rúcula e pimenta. O teste consistiu na observação das sementes cultivadas em papel umidificado e mantido a temperatura a 28°C durante 4 dias. Em seguida, são contadas quantas sementes germinaram para definir sua viabilidade no experimento. Para o teste germinativo secundário o processo utilizado baseia-se na metodologia de Voss e Bervegnú (2008). Foi preparada uma cola de farinha de trigo, água e açúcar. Os ingredientes foram misturados e levados ao fogo (figura 1) até que o líquido atingisse uma consistência pegajosa, como apresentado na figura 2 (A).

Figura 1 – Preparo da cola adesiva para peletização e Cola pronta (A)



Fonte: Autoria própria.

Após o resfriamento da cola, aproximadamente vinte sementes de cada tipo foram peletizadas com a cola e calda de fungo. E outras vinte apenas com a cola. Em seguida, adicionou-se calcário de jardim para que as sementes ficassem revestidas e não grudassem. Com as sementes prontas, foi realizada a etapa da construção de terrários de vidro, pois o vidro permite uma melhor observação das raízes das plantas.

Figura 2 – Imagem dos terrários na estufa



Fonte: Aatoria Própria

Em cada um dos três terrários as sementes foram plantadas em solo composto com cerca de 70% de terra, 20% de areia e 10% com húmus. Sendo o objetivo de formar um solo menos fértil, para facilitar a visualização do desenvolvimento das raízes e das plantas. Como mostrado na figura 2 No primeiro terrário foram plantadas as sementes peletizadas com a cola no solo incorporado com a calda micélio. No segundo, plantou-se as sementes peletizadas com os micélio, enquanto que o solo o microrganismo não foi incorporado. No terceiro, foram plantadas apenas sementes peletizadas no solo, sem a presença do fungo em nenhum dos processos, sendo definido como controle, para parâmetros de comparação.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

O laboratório de microbiologia conta hoje com vinte placas de petri contendo meio BDA e o fungo *Trichoderma sp.* Seis tubos inclinados com o mesmo fungo conservados apropriadamente.

Figura 3 – Imagem do *Trichoderma sp* conservados



Fonte: Aatoria Própria.

Os testes germinativos foram satisfatórios para a semente de alface e rúcula. Sendo, portanto, determinante para a exclusão da semente de pimenta na continuação dos experimentos, visto que não apresentou germinação satisfatória. No teste germinativo primário cerca de 90% das sementes de alface e rúcula germinaram. No teste germinativo secundário, cerca de 90% das sementes de alface e 70% das sementes de rúcula germinaram.

Figura 4 – Imagem do teste germinativo primário



Fonte: Autoria Própria.

Foi observado que a substituição da glicose pelo melado de cana se mostrou eficiente, uma vez que o fungo se desenvolveu de forma abundante no reator. Com isso um processo mais simples, com material alternativo e de baixo custo, mostrou-se viável e com bons resultados.

Figura 5 – Micélio em meio líquido



Fonte: Autoria Própria.

O estudo das sementes peletizadas nos terrários está em fase de análise. Diariamente, o crescimento é analisado e medido. Periodicamente, são regados com volume controlado de água e a umidade e temperatura são dados colhidos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A conservação se deu de forma satisfatória. Além disso, um meio de cultura alternativo, de baixo custo e, portanto, viável foi desenvolvido para a produção do fungo com aplicação na agricultura orgânica. Observou-se que a substituição da glicose por melado de cana permitiu crescimento abundante de micélios. Sendo um estudo de baixo custo e com aplicações interessantes na agricultura – um dos grandes pilares da economia brasileira – ele se mostra relevante e com boas perspectivas.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a UTFPR pela bolsa concedida e, também, pela infraestrutura concedida. Além de agradecer ao meu orientador pelo apoio e suporte.

REFERÊNCIAS

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Agricultura em Números – Anuário 2007. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br>. Acesso em 31 jul. 2014.

GRAVEL, V.; ANTOUN, H.; TWEDDELL, R. J. **Estimulação do crescimento e melhoria do rendimento dos frutos do tomate com efeito de estufa Plantas por inoculação com Pseudomonas putida ou Trichoderma atroviride: Possível papel do ácido indol acético (IAA).** Soil Biology And Biochemistry. Canadá, p. 1-10. 26 mar. 2007.

HAJIEGHRARI, B. **Effects of some Iranian Trichoderma isolates on maize seed germination and seedling vigor.**2010

KULLNIG, C.; MACH, R.; LORITTO, M.; KUBICEK, C. P. **Enzyme Diffusion from Trichoderma sp (= T. harzianum P1) to Rhizoctonia solani Is a Prerequisite for Triggering of Trichoderma ech42 Gene Expression before Mycoparasitic Contact.** Applied and Environmental Microbiology, v. 66, n. 5, p. 2232-2234, mai. 2000.

SPECIAN, V. et al. **Metabólitos Secundários de Interesse Farmacêutico Produzidos por Fungos Endofíticos.** Journal of Health Sciences, v. 16, n. 4, 2015.

VOSS, M.; BENVENÚ, R. de C. **Faça você mesmo a cola para peletização de sementes.** Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2008. 11 p. html. (Embrapa Trigo. Circular Técnica Online, 25). Disponível em: http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/ci/p_ci25.html