

ESTUDO DO EFEITO DE MICRORGANISMO ANTAGÔNICO ASSOCIADO À COBERTURA BIODEGRADÁVEL COMO MÉTODO DE CONSERVAÇÃO DE SEMENTES DE SOJA.

Izabelle Alves de Castro França (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Cristiane Mengue Feniman Moritz, Nádia Graciele Krohn, Keila de Souza Silva, e-mail: kssilva@uem.br

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Tecnologia / Umuarama, PR.

Área e subárea do conhecimento conforme tabela do [CNPq/CAPES](#)

Palavras-chave: Isolado de proteína de soja, *Trichoderma ssp.*, armazenamento.

Resumo

O objetivo desse trabalho foi desenvolver uma cobertura capaz de fixar o *Trichoderma ssp.* Na superfície de sementes de soja e avaliar a eficiência dessa metodologia para inibir o crescimento de fungos indesejáveis na semente. Para tanto, soluções de proteína concentrada de soja + goma (pectina e alfarroba) foram desenvolvidas variando a concentração da proteína na solução. Após o desenvolvimento das coberturas, testes foram realizados para determinar a quantidade e a concentração das mesmas a serem pulverizadas nas sementes de soja. A melhor condição foi selecionada com base no teor de umidade das sementes cobertas e na viscosidade da solução. O microrganismo *Trichoderma ssp.* foi inoculado nas duas soluções selecionadas e a análise de viabilidade demonstrou que o meio foi propício para o crescimento do mesmo. Diante desse resultado, as soluções selecionadas contendo o microrganismo foram pulverizadas nas sementes de soja, que foram posteriormente secas a 35°C/24h e armazenadas a 35°C/40dias. O resultados demonstraram que sementes cobertas com *Trichoderma spp.* não apresentaram ataque de fungos indesejáveis.

Introdução

A lavoura de soja tem sido a protagonista no aumento da área de produção de grãos do Brasil. Sua maior liquidez e a possibilidade de melhor rentabilidade em relação a outras culturas fazem com que os produtores se sintam estimulados a continuar apostando na soja. O crescimento da área de plantio de soja foi estimado em 3,2% em relação ao ano passado, atingindo 34.991,4 mil hectares. O Paraná é considerado o segundo maior produtor de soja do país possuindo 5,25 milhões de hectares de área plantada e apresentando produtividade de 3.732 kg/ha (CONAB-2017/2018). O processo de produção de sementes é constituído de várias partes, sendo uma delas, o armazenamento das sementes, que ocorre após o processo da colheita. Além da quantidade, é primordial a boa qualidade de sementes produzidas, sendo este um fator de extrema importância para o sucesso da cultura (BLACK, 2000). Durante o período do armazenamento fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* desenvolvem-se mais rapidamente e podem provocar sérios danos nas sementes. Para infectar as sementes, os fungos secretam enzimas, como as

celulases, pectinases e proteases, degradando os envoltórios das células da semente e consumindo as suas reservas (FRANÇA-NETO *et al.*, 2016). A incorporação do *Trichoderma*, que é um microrganismo antagônico aos fungos de armazenamento, em cobertura biodegradável é uma alternativa que poderia ajudar a aumentar o contato do microrganismo na superfície da semente aumentando a eficácia de sua ação. Coberturas biodegradáveis são finas películas de material biodegradável, aplicados diretamente nas superfícies do produto, que podem agir como carregadores de agentes antimicrobianos como fungicidas e microrganismo (RESA *et al.*, 2016; SOUKOULIS *et al.*, 2017). A viabilidade dos microrganismos imobilizados nos filmes e coberturas biodegradáveis está diretamente associada com os compostos utilizados no filme e o processo usado para sua fabricação (SOUKOULIS *et al.*, 2017).

Soukoulis *et al.* (2017) observaram que a incorporação de *Lactobacillus rhamnosus* GG em filmes formados com alginato de sódio ou goma alfarroba apresentaram menor viabilidade que cepas incorporadas em filmes a base de proteína concentrada de soro de leite. Muitos pesquisadores têm verificado grande potencial no uso de coberturas biodegradáveis como veículos de microrganismos em sistemas alimentares (SOUKOULIS *et al.*, 2017) mas pouco tem sido estudado na área de conservação de sementes.

Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi adicionar *Trichoderma ssp.* em coberturas biodegradáveis de proteína de soja e, aplicá-las sobre as sementes de soja durante o período de armazenamento, avaliando a possível proteção das sementes pelo microrganismo antagônico.

Materiais e métodos

Obtenção dos Materiais

As sementes de soja foram doadas para a Universidade Estadual de Maringá, campus Umuarama. A proteína de soja concentrada (SPC - 80% de proteína) foi obtida da Maxsoy®, a pectina (PEC) e a goma alfarroba (LBG) foram doadas pela Danisco®.

Produção dos filmes biodegradáveis autoclavados

Soluções de SPC+LBG e SPC+PEC foram fabricadas a fim de serem aplicadas como coberturas nas sementes de soja. Para tanto, a concentração de LBG foi fixada em 0,3% e a concentração de Pectina em 0,5%. A concentração de SPC foi variada para obter uma solução homogênea e com boa viscosidade para que proporcionasse boa aderência à superfície das sementes cobertas. As soluções tiveram seu pH elevado até 11, posteriormente foram levadas ao banho-maria a 65°C/10 min, seguido do tratamento térmico a 80°C/20 min. Após resfriamento, o pH das soluções foi ajustado até chegar em pH 6,5. É necessário que o pH das soluções filmogênicas seja mais ácido pois o pH ótimo para o desenvolvimento do microrganismo de interesse é entre 6 e 7. Quantidades fixas de 15g de sementes de soja foram pesadas e adicionadas em placas de Petri para que fossem pulverizadas com as soluções filmogênicas de SPC + LBG e SPC + PEC. Testes preliminares foram realizados para determinar a quantidade de solução a ser pulverizada. Após a cobertura, as sementes foram secas a 35°C em estufa com circulação forçada. A umidade das sementes foram analisadas em triplicata usando uma estufa a 105°C/24h. Os resultados de umidade, juntamente com características de

viscosidade da solução foram utilizadas como parâmetros para a seleção das melhores concentrações e quantidade de solução a ser pulverizada nas sementes. A viabilidade celular do *Trichoderma* na solução filmogênica foi identificada através da diluição 10^{-1} a partir de 1 mL da solução filmogênica e subseqüentes diluições até a 10^{-8} . De cada diluição, semeou-se 0,1 mL em placas de Petri contendo Agar Batata Dextrose (BDA) por semeadura de superfície. As placas foram incubadas a 25°C por 5 dias.

Os resultados obtidos foram expressos na forma de média $\pm$ desvio, sendo as médias avaliadas estatisticamente mediante Análise de Variância (ANOVA) e Teste de Tukey ao nível de 5% de significância, através do programa Statística 7.0.

Resultados e Discussão

Produção de filmes biodegradáveis autoclavados.

As sementes de soja *in natura* apresentavam umidade inicial igual a 10,70%. De acordo com Neto et al (2007), a umidade das sementes de soja do Paraná devem estar entre 11,5% e 12% durante o armazenamento para que não diminua sua viabilidade de germinação. Após testes preliminares verificou-se que concentrações maiores de 9%SPC+ goma (LBG ou PEC) não formavam soluções homogêneas e estáveis para serem aplicadas como cobertura comestível. Concentrações menores que 7%SPC+goma, todavia, eram pouco viscosas e não aderiam de forma adequada na superfície das sementes. A quantidade de cobertura a ser pulverizada nas amostras também foi avaliada e depois da análise de umidade verificou-se que a pulverização de quantidades maiores que 2mL de solução aumentava a umidade das sementes para valores superiores a 12% e, dessa forma, afetava a qualidade das mesmas durante o armazenamento. Após fixar a quantidade de cobertura a ser aplicada nas amostras, seis diferentes formulações foram pulverizadas nas sementes e o teor de umidade das mesmas foi avaliado (Tabela 1).

Tabela 1. Umidade sementes cobertura com gomas.

Concentração da Cobertura	Quantidade de Cobertura	Umidade (%)
SPC 7% + LBG 0,3%	2 mL	10,12 $\pm$ 0,068 ^{ab}
SPC 8% + LBG 0,3%	2 mL	10,47 $\pm$ 0,134 ^c
SPC 9% + LBG 0,3%	2 mL	10,08 $\pm$ 0,195 ^{ab}
SPC 7% + PEC 0,5%	2 mL	10,28 $\pm$ 0,015 ^{ac}
SPC 8% + PEC 0,5%	2 mL	10,25 $\pm$ 0,095 ^{ac}
SPC 9% + PEC 0,5%	2 mL	9,86 $\pm$ 0,061 ^b

É possível observar que a nem a concentração de proteína de soja concentrada e nem o tipo de goma utilizado influenciou significativamente no conteúdo de umidade das sementes de soja. Diante desse resultado, levando em consideração a maior viscosidade da solução e o interesse em estudar a influência de duas gomas sobre o crescimento do microrganismo, as concentrações de 9%SPC+0,5%PEC e 9%SPC+0,3%LBG foram selecionadas para a realização dos ensaios microbiológicos. O microrganismo *Trichoderma* foi inoculado nas duas soluções selecionadas e a análise de viabilidade demonstrou que o meio foi propício

para o crescimento do mesmo. Dessa forma, 2mL dessas soluções contendo o microrganismo foram pulverizadas nas sementes de soja. A Figura 1 apresenta as sementes cobertas com solução + *Trichoderma* e sementes controle (sem cobertura).



Figura 1. Sementes de soja com diferentes tratamentos (da esquerda para a direita: soja in natura, soja revestida com 9%SPC+0,3% LBG e soja revestida com 9%SPC +0,5%PEC).

Pode-se observar que após 5 dias de armazenamento, as sementes controle (in natura) apresentaram contaminação evidenciando a eficiência do *Trichoderma* em proteger as sementes contra a ataques de fungos indesejáveis durante o período de armazenamento.

Conclusão

De acordo com os resultados mostrados, conclui-se que as coberturas de proteína de soja testadas neste trabalho e, a inserção do *Trichoderma* nelas, foi eficiente para proteger as sementes de soja durante o período de armazenamento.

Agradecimentos

Agradecemos a Fundação Araucária (Proc. 10884/2016) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico- CNPq (Proc. 405406/2016-9) pelo apoio financeiro e pela bolsa de Iniciação Científica.

Referências Bibliográficas

- BLACK, R. J. Complexo soja: fundamentos, situação atual e perspectivas. **Soja: Tecnologia de produção II**. FEALQ, p.1 - 17, 2000.
- CONAB – *Companhia Nacional de Abastecimento 2017/2018*, Observatório agrícola, Acompanhamento da safra brasileira de grãos. Disponível em: http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/18_01_11_09_02_48_gaos_4o_levantamento.pdf. Acesso em: 09 de Abril de 2018.
- FRANÇA-NETO, J.B.; KRZYZANOWSKI, F.C.; HENNING, A.A.; PÁDUA, G.P.; LORINI, I.; HENNING, F.A. Tecnologia da produção de semente de soja de alta qualidade. **Embrapa Soja**, n. 380, p. 82, 2016.
- RESA, C. P. O.; GERSCHENSON, L.N.; JAGUS, R.J.. Starch edible film supporting natamycin and nisin for improving microbiological stability of refrigerated argentinian Port Salut cheese. **Food Control**, v.59, p. 737-742, 2016.
- SOUKOULIS, C.; BEHBOUDI-JOBBEHDAR, S.; MACNAUGHTAN, W.; PARMENTER, C.; FISK, I. D. Stability of *Lactobacillus rhamnosus* GG incorporated in edible films: Impact of anionic biopolymers and whey protein concentrate. **Food Hydrocolloids**, v. 70, p. 345-355, 2017.