



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

MARIA TEREZA DE PAULA

**AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DE REVESTIMENTO  
POLIMÉRICO BIODEGRADÁVEL EM SOJA INOCULADA  
COM BACTÉRIAS BENÉFICAS**

---

Londrina  
2019

MARIA TEREZA DE PAULA

**AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DE REVESTIMENTO  
POLIMÉRICO BIODEGRADÁVEL EM SOJA INOCULADA  
COM BACTÉRIAS BENÉFICAS**

Dissertação apresentada ao Departamento de Bioquímica e Biotecnologia do programa de Pós-graduação em Biotecnologia, nível mestrado, da Universidade Estadual de Londrina.

Orientador: Prof. Dr. André Luíz Martinez de Oliveira

Co-orientadora: Profa. Dra. Suzana Mali de Oliveira

Londrina  
2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

P324 de Paula, Maria Tereza.  
AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DE REVESTIMENTO POLIMÉRICO BIODEGRADÁVEL EM SOJA INOCULADA COM BACTÉRIAS BENÉFICAS / Maria Tereza de Paula. - Londrina, 2019.  
68 f. : il.

Orientador: André Luiz Martinez de Oliveira Oliveira.  
Coorientador: Suzana Mali de Oliveira Oliveira.  
Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, 2019.  
Inclui bibliografia.

1. Bactérias promotoras do crescimento vegetal, revestimento biodegradável, inoculantes. - Tese. I. Oliveira, André Luiz Martinez de Oliveira. II. Oliveira, Suzana Mali de Oliveira. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Exatas. Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. IV. Título.

CDU 66

MARIA TEREZA DE PAULA

**AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DE REVESTIMENTO  
POLIMÉRICO BIODEGRADÁVEL EM SOJA INOCULADA  
COM BACTÉRIAS BENÉFICAS**

Dissertação apresentada ao Departamento de Bioquímica e Biotecnologia do programa de Pós-graduação em Biotecnologia, nível mestrado, da Universidade Estadual de Londrina.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientador Prof. Dr. André Luíz Martinez de  
Oliveira  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Profa. Dra. Ana Elisa Stefani Vercelheze  
Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial -  
Senai

---

Dr. Fernando Teruhiko Hata  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 30 de agosto de 2019.

*As minhas filhas Thayná e Thaís*

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus que é o maior mestre que alguém pode conhecer, por minha família e amigos, pelo apoio incondicional em todos os momentos.

Ao meu orientador Professor Dr. André Luiz Martinez de Oliveira pela confiança depositada em mim ao assumir a orientação, não somente por terem me ensinado, mas por terem me feito aprender, pela disponibilidade e ensinamentos. A palavra mestre, nunca fará justiça aos professores dedicados.

À fundação CAPES/ DS pela concessão da bolsa e pelo financiamento do projeto.

À Universidade Estadual de Londrina e ao Departamento de Bioquímica e Biotecnologia

Aos professores do programa de pós-graduação em biotecnologia.

Aos funcionários do Departamento de Bioquímica e Biotecnologia (CCE/UEL): Nelson Janeiro Rodriguez, Sérgio Evangelista, Sandra Defende e colegas de laboratório pela colaboração e auxílio.

Ao técnico João, do laboratório de solos do Centro de Ciências Agrárias pela ajuda com análises químicas dos solos.

Ao Professor Dr. Leandro Simões Azeredo do Centro de Ciências Agrárias pela ajuda com a execução do trabalho em casa de vegetação.

A Amanda Aleixo Moreira, Kamila Wessel, Karina Milani, Nádia Souza Jayme, Mariana sayuri, Mônica Yorladi, que são mais que amigas, e sim um verdadeiro tesouro, que Deus colocou na minha vida, e terão minha eterna gratidão.

Aos colegas do laboratório Nilton, Murilo, João, pelas conversas compartilhadas, aprendizado e ajuda durante o desenvolvimento do trabalho.

Ao estagiário Lucas Jacó, pela total dedicação e ajuda na elaboração do trabalho.

*"Há dias escuros, até mesmo dias quando falhamos, mesmo dias quando caímos. Mas sempre pense isto: não tenha medo de falhar, não tenha medo de cair".*

Papa Francisco

PAULA, M.T. **Avaliação da eficácia de revestimento polimérico biodegradável em soja inoculada com bactérias benéficas.** 2019. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina.

## RESUMO

A soja se destaca entre as culturas de maior valor econômico, assim, o uso de sementes de alta qualidade influencia na produtividade agrícola. O comércio de sementes movimenta milhões de reais anualmente no agronegócio brasileiro, devido ao desenvolvimento de novas tecnologias como o revestimento de sementes que agrega valor ao material comercializado. O objetivo geral do presente trabalho foi avaliar a aplicação de revestimento biodegradável a base de amido, gelatina e argilas na fração nanométrica em sementes de soja, inoculadas com bactérias promotoras e crescimento vegetal. Foram realizados dois experimentos para avaliação do revestimento e inoculação em diferentes formas. Para preparo dos inoculantes foram utilizadas as seguintes bactérias promotoras do crescimento de plantas: *Azospirillum brasilense* Ab-V5, *Bradyrhizobium japonicum* SEMIA 5079, *Bradyrhizobium diazoefficiens* SEMIA 5080, *Rhizobium* sp. 8.1.2.1 e *Bacillus* sp. ZK. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, e para análise dos dados o programa estatístico Sasm-Agri. Foram avaliadas variáveis relacionadas à fixação biológica de nitrogênio. Os resultados mais promissores foram observados principalmente quando associou-se *Bradyrhizobium japonicum* SEMIA 5079, *Bradyrhizobium diazoefficiens* SEMIA 5080 e *Azospirillum brasilense* Ab-V5 para as variáveis acúmulo de matéria seca da parte aérea, matéria seca raiz e nitrogênio foliar total e número de nódulos após sementes revestidas e inoculadas. Conclui-se que a tecnologia de revestimento de sementes com polímeros adicionados de bactérias benéficas apresentou-se como uma alternativa capaz de ser incorporada às tecnologias sustentáveis para a agricultura.

**Palavras-chave:** Bactérias promotoras do crescimento vegetal. Revestimento biodegradável. Inoculantes.

PAULA, M.T. **Evaluation of the efficacy of biodegradable polymeric coating in soybean inoculated with beneficial bacteria.** 2019. Dissertation (Master in Biotechnology) - State University of Londrina, Londrina.

### ABSTRACT

Soybeans stand out among the crops with the highest economic value, so the use of high quality seeds influences agricultural productivity. The seed trade, moves millions of reais annually in Brazilian agribusiness, due to the development of new technologies such as seed coating that adds value to the material traded. The objective of the present work was to evaluate the application of biodegradable coating based on starch, gelatin and clays in the nanometer fraction in soybean seeds inoculated with promoter bacteria and plant growth. Two experiments were performed to evaluate the coating and inoculation in different forms. The following plant growth promoting bacteria were used to prepare the inoculants: *Azospirillum brasilense* Ab-V5, *Bradyrhizobium japonicum* SEMIA 5079, *Bradyrhizobium diazoefficiens* SEMIA 5080, *Rhizobium sp.* 8.1.2.1 and *Bacillus sp.* ZK. A completely randomized experiment, and for data analysis the statistical program Sasm-Agri. Some parameters related to biological nitrogen fixation were evaluated, which were evaluated and obtained significant results, especially when associated, *Bradyrhizobium japonicum* SEMIA 5079, *Bradyrhizobium diazoefficiens* SEMIA 5080 and *Azospirillum brasilense* Ab-V5, shoot dry matter accumulation, root dry matter and total leaf nitrogen and number of nodules after coated and inoculated seeds. It was concluded that the technology of coating seeds with polymers added with beneficial bacteria was presented as an alternative that could be incorporated to sustainable technologies for agriculture.

**Keywords:** Plant growth promoting bacteria. Biodegradable coating. Inoculants.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1.</b> Estrutura molecular (A) Amilose e (B) Amilopctina.....	19
<b>Figura 2.</b> Materiais filmogênicos utilizados para o revestimento de sementes de soja (Erlenmeyers) e sementes revestidas sob secagem em condição asséptica .....	24
<b>Figura 3.</b> Taxa de germinação de sementes de soja em resposta ao uso de revestimento polimérico biodegradável e inoculação com bactérias benéficas, sob seis tempos de armazenamento pós-tratamento .....	30
<b>Figura 4.</b> Representação comparativa de plântulas de soja após o início da germinação) originadas de sementes armazenadas por 1,5,10, e 30 dias pós-tratamento de revestimento com polímeros biodegradáveis .....	31
<b>Figura 5.</b> Taxa de germinação de sementes de soja em resposta ao uso de revestimento polimérico biodegradável e inoculação com bactérias benéficas, sob dois tempos de armazenamento pós-tratamento .....	33
<b>Figura 6.</b> Peso seco parte aérea de plantas de soja em resposta ao uso de revestimento polimérico biodegradável, inoculação com bactérias benéficas e biocompósito, sob seis tempos de armazenamento pós-tratamento de sementes.....	34
<b>Figura 7.</b> Peso seco raiz (g) de plantas de soja em resposta ao uso de revestimento polimérico biodegradável, inoculação com bactérias benéficas e biocompósito, sob seis tempos de armazenamento pós-tratamento de sementes.....	35
<b>Figura 8.</b> N foliar total (%) de plantas de soja em resposta ao uso de revestimento polimérico biodegradável, inoculação com bactérias benéficas e biocompósito, sob seis tempos de armazenamento pós-tratamento de sementes.....	38
<b>Figura 9.</b> Análise de correlação entre as variáveis de crescimento (acúmulo de matéria seca) e teor foliar de nitrogênio de plantas de soja crescidas por 45 dias em casa de vegetação sementes .....	39

<b>Figura 10.</b> Peso seco parte aérea (g) em resposta ao uso de revestimento polimérico biodegradável, inoculação com bactérias benéficas e biocompósito, sob dois tempos de armazenamento pós-tratamento de sementes de soja .....	40
<b>Figura 11.</b> Peso seco raiz (g) em resposta ao uso de revestimento polimérico biodegradável, inoculação com bactérias benéficas e biocompósito, sob dois tempos de armazenamento pós-tratamento de sementes de soja .....	41
<b>Figura 12.</b> N foliar total (%) em resposta ao uso de revestimento polimérico biodegradável, inoculação com bactérias benéficas e biocompósito, sob dois tempos de armazenamento pós-tratamento de sementes de soja .....	42
<b>Figura 13.</b> Número de nódulos em resposta ao uso de revestimento polimérico biodegradável, inoculação com bactérias benéficas e biocompósito, sob dois tempos de armazenamento pós-tratamento de sementes de soja .....	44
<b>Figura 14.</b> Peso seco nódulos (g) em resposta ao uso de revestimento polimérico biodegradável, inoculação com bactérias benéficas e biocompósito, sob dois tempos de armazenamento pós-tratamento de sementes de soja .....	45

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b>	Resultados da Análise Química do Substrato.....	25
------------------	---	----

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1.</b>	Composição dos Tratamentos do Ensaio 2.....	27
------------------	---	----

## SÚMARIO

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	4
<b>2.</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	6
2.1	OBJETIVO GERAL.....	6
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	6
<b>3.</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	7
3.1	CULTURA DA SOJA .....	7
3.1.1	Semente da Cultura da Soja.....	10
3.2	BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO VEGETAL.....	12
3.3	INOCULANTES .....	13
3.4	REVESTIMENTO DE SEMENTES .....	14
3.5	BIOPOLIMEROS .....	18
<b>4.</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	22
4.1	PREPARO DE INOCULANTES.....	22
4.2	REVESTIMENTO DE SEMENTES COM MATERIAL POLIMÉRICO .....	23
4.3	BIOCOMPÓSITO.....	24
4.4	TESTES DE GERMINAÇÃO .....	24
4.5	ENSAIOS EM CASA DE VEGETAÇÃO .....	26
4.6	DETERMINAÇÕES DE CRESCIMENTO DAS PLANTAS .....	27
4.7	ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	28
<b>5.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	29
5.1	ENSAIOS DE GERMINAÇÃO .....	29
5.2	ENSAIOS EM CASA DE VEGETAÇÃO .....	33
<b>6.</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	48
<b>7.</b>	<b>REFERENCIAS</b> .....	49

## 1. INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) destaca-se entre as culturas de grande importância econômica a nível global, seu uso mais conhecido é como óleo refinado obtido a partir do óleo bruto. É um grão muito versátil, com aplicações na indústria de alimentos, indústria química e agroindústria. A soja está presente na composição de vários produtos da alimentação humana como embutidos, chocolates, temperos para saladas, massas, cereais, misturas preparadas e bebidas. Sendo também muito usada em outras indústrias, adubos, formulação de espumas, fabricação de fibras e papel e para produção de biodiesel (HABECK; ARAÚJO, 2004).

O Brasil é o segundo maior produtor mundial de soja, e de acordo com FAO e o relatório da OCDE sobre Perspectivas Agrícolas 2017-2026, o Brasil deve ultrapassar os Estados Unidos como o maior produtor mundial de soja na próxima década. Estudos avançados em diferentes áreas agronômicas têm contribuído para obtenção de uma produtividade média nacional de 3359 kg ha<sup>-1</sup> e produção 115 milhões de toneladas na safra 2018/19 (CONAB, 2019). Entretanto, elevadas produções requerem sementes de qualidade elevada. A produção de sementes agrícolas se constitui um campo vasto para o avanço de novas tecnologias. O comércio de sementes está em pleno crescimento e movimenta milhões de reais anualmente no agronegócio brasileiro, em toda a sua cadeia produtiva (do campo ao varejo), com diversos tipos de produtos e formas na busca de oferecer produto de alta qualidade.

Segundo a ABCSEM (2018), Associação Brasileira de Comércio de Sementes e Mudanças, estima-se que as principais culturas, milho, soja, trigo, cheguem a um recorde na área plantada de grãos no Brasil para a safra 2017/18. Com área cultivada, atingindo valores acima de 61 milhões de hectares, onde a soja é a cultura que apresenta o maior ganho absoluto em área plantada, (CONAB, 2018). O mercado de produção de sementes é bastante dinâmico no desenvolvimento de novas tecnologias que possibilitem agregar valor ao material de plantio, dentre elas, o revestimento de sementes, pois possibilita a melhoria da plantabilidade mecânica ou manual, maior segurança na incorporação de nutrientes, reguladores de crescimento e outros agroquímicos. A utilização de sementes revestidas reduz os custos de produção, diminui a contaminação ambiental e promove uma maior segurança no manuseio da semente pelo agricultor (SANTOS, 2016). Os materiais utilizados para o

revestimento podem ser de fonte mineral ou orgânica, porém a escolha do material dependerá do tipo de semente a ser recoberta, dos objetivos do recobrimento, e das condições ambientais a que serão expostas no plantio. Além disso, devem ser consideradas características de compatibilidade com outros componentes e tratamentos administrados quando combinado às sementes.

Neste contexto, é interessante o desenvolvimento de revestimentos de sementes com materiais de menor custo, como o amido de mandioca e a gelatina, que são biopolímeros naturais de origem renovável, além de fibras lignocelulósicas e argilas na fração nanométrica, que podem ser empregados em misturas com os polímeros biodegradáveis existentes no mercado.

O amido é um biopolímero que se destaca por apresentar baixo custo e grande escala de produção (OLIVEIRA et al., 2015). A gelatina é um polímero natural obtido pela hidrólise parcial do colágeno extraído da pele, ossos e tecidos conectivos de animais, sendo capaz de formar redes poliméricas tridimensionais aptas a carregar grandes quantidades de água ou fluidos (SAMAL et al., 2012). As fibras lignocelulósicas são utilizadas como reforço em matrizes poliméricas de amido, resultando na redução da rigidez e melhora da biodegradabilidade do material (OLIVEIRA et al., 2015). A incorporação de argila na fração nanométrica aos revestimentos biodegradáveis é promissora, devido sua abundância natural, baixo custo e facilidade de modificação da superfície, além de serem excelentes materiais de reforço (TRIFOL et al., 2016). Considerando a importância do revestimento de sementes para o setor agrícola, a proposta deste trabalho foi avaliar a eficácia de revestimento polimérico biodegradável, inoculadas com bactérias promotoras e crescimento vegetal em sementes de soja e efeitos em variáveis fitotécnicas.

## 2.OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVOS GERAL

Avaliar o revestimento de sementes biodegradável a base de amido, gelatina e argilas na fração nanométrica em sementes de soja, inoculadas com bactérias promotoras e crescimento vegetal.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar como o revestimento de sementes com polímero biodegradável e a presença de bactérias benéficas influenciam a germinação de sementes de soja.

Avaliar como o revestimento de sementes com polímero biodegradável e diferentes formas de inoculação com bactérias benéficas influenciam o desenvolvimento de plantas de soja em casa de vegetação.

Avaliar se o revestimento de sementes com polímero biodegradável e diferentes formas de inoculação influenciam em parâmetros relacionados com a fixação biológica de nitrogênio em plantas de soja.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 CULTURA DA SOJA

A cultura moderna da soja (*Glycine max* (L) Merrill) evoluiu de cruzamentos naturais entre espécies de soja selvagem, nativa da costa Leste da Ásia, especialmente o Norte da China, após sua domesticação e melhoramento por cientistas chineses. No Brasil, o primeiro relato de cultivo da soja data de 1882 na Bahia, no município de São Francisco do Conde. O engenheiro agrônomo e professor da Imperial Escola Agrícola da Bahia (atual Escola de Agronomia da Universidade Federal da Bahia) Gustavo D'Utra, plantou as primeiras sementes de soja em solo brasileiro. No entanto, o desenvolvimento da atividade comercial de cultivo da soja no Brasil ocorreu apenas a partir dos anos 1950, quando agricultores brasileiros, especialmente do sul do país, despertaram interesse e intensificaram seu cultivo para uso como forrageira, em decorrência de sua exploração por fazendeiros norte-americanos (MIRANDA, 2014).

Segundo Francisco e Câmara (2013), o avanço em novas áreas de região de fronteira agrícola, como os Estados de Mato Grosso, Maranhão, Piauí, Tocantins e Bahia, demandou avanço tecnológico dos cultivos e adaptação da cultura a características edafoclimáticas dos novos ambientes de produção.

Com expressiva cotação no mercado internacional, a soja, a partir de meados dos anos 70, tornou-se um produto competitivo, e alguns fatores como a demanda por soja para a produção de ração para suínos e aves, a eficiente rede privada no suprimento de insumos, sementes, corretivos, inoculantes, fertilizantes e agrotóxicos, contribuíram para o Brasil ocupar o segundo lugar na produção mundial deste grão e responder hoje com grande volume de exportações do complexo soja: grãos, farelo e óleo, portanto apresenta grande importância para a economia nacional. (CONTINI et al., 2018).

Segundo a Conab (2018) o Estado do Mato Grosso é o maior produtor brasileiro de soja, com 32,346 milhões de toneladas, seguido pelo Estado Paraná com 16,253 milhões de toneladas. A soma da produção dos dois principais estados produtores de soja atenderia a demanda do consumo interno do país com esta leguminosa de 44 milhões de toneladas. Estudos em diferentes áreas agrônomicas têm contribuído para o aumento da produtividade e produção média nacional.

Segundo a Conab (2018), o Brasil obteve uma produtividade nacional média de 3.206 Kg ha<sup>-1</sup> e produção 114,843 milhões de toneladas na safra 2018/19, chegando a exportar 83,6 milhões de toneladas do complexo soja, proporcionando uma receita bruta de U\$ 31,7 bilhões.

A soja cultivada no Brasil, para a produção de grãos, é uma planta herbácea do gênero *Glycine* L., espécie *max*. (NEPOMUCENO; FARIAS; NEUMAIER, 2008). As cultivares de soja são caracterizadas de acordo com seu hábito de crescimento e grupo de maturação relativo (GMR). Seu hábito de crescimento é dividido em dois grupos: crescimento determinado e indeterminado. O primeiro é caracterizado pelo cessamento do crescimento após o surgimento das primeiras flores; já no segundo, a planta continua produzindo folhas mesmo depois do início da floração (HEARTHERLY; SMITH, 2004).

A disponibilidade hídrica durante o período de desenvolvimento da cultura é a principal limitação à expressão do potencial de rendimento da soja, independentemente do ciclo da cultivar, da época de semeadura e do local. Clima e solo são as variáveis que explicam as diferenças regionais dos impactos da deficiência hídrica na cultura da soja, principalmente, em função da capacidade de armazenamento de água disponível no solo e do regime pluviométrico (FARIAS, 2011).

A seca é, atualmente, um dos fatores ambientais que mais proporcionam estresse fisiológico para as culturas agrícolas econômicas. No Brasil, os prejuízos causados pelos eventos de seca em 37 safras brasileiras de soja.

Para a adoção de tecnologias, como o uso de cultivares tolerantes a seca, uso de irrigação dentre outras, deve-se conhecer as principais fases fenológicas da cultura e suas exigências. E a familiaridade que o produtor ou o responsável técnico pela produção tenha com os diferentes estádios de desenvolvimento da planta cultivada e suas necessidades, normalmente possibilitarão seu desenvolvimento normal e, conseqüentemente, bons rendimentos (CÂMARA, 2006).

Para facilitar a comunicação sobre os estádios fenológicos da cultura, Feher e Caviness (1977) desenvolveram uma terminologia universal, clara, simples e objetiva para uniformizar a linguagem de descrição dos estádios de desenvolvimento da soja entre assistência técnica, pesquisa e produtor. É o mais utilizado no mundo, pois apresenta uma terminologia única, que divide o desenvolvimento da soja em estádios vegetativos, designados pela letra V, e estádios reprodutivos, designados

pela letra R, com exceção dos estádios VE (emergência) e VC (cotilédone). As letras V e R são seguidas de índices numéricos que identificam estádios específicos.

Descrição dos estádios vegetativos da soja:

VE Emergência, os cotilédones estão acima da superfície do solo.

VC Cotilédone desenvolvido, os cotilédones totalmente abertos.

V1 Primeiro nó, as folhas unifoliadas estão completamente abertas.

V2 Segundo nó, primeira folha trifoliada aberta.

V3 Terceiro nó, segunda folha trifoliada aberta.

V(n) Enésimo nó “Enésimo” nó ao longo da haste principal com trifólio aberto.

Descrição dos estádios reprodutivos da soja.

R1 Início do florescimento, uma flor aberta em qualquer nó da haste principal.

R2 Florescimento pleno, maioria das inflorescências da haste principal com flores abertas.

R3 Início da frutificação, vagem com 0,5 a 1,5 cm de comprimento no terço superior da haste principal.

R4 Frutificação plena, maioria das vagens no terço superior da haste principal com comprimento de 2 a 4 cm (“canivete”).

R5.1 Início da granação Até 10% da granação máxima na maioria das vagens localizadas no terço superior da haste principal.

R5.2 Maioria das vagens no terço superior da haste principal entre 10 e 25% da granação máxima.

R5.3 Média granação, maioria das vagens no terço superior da haste principal com 25 a 50% da granação máxima.

R5.4 Maioria das vagens no terço superior da haste principal entre 50 a 75% da granação máxima.

R5.5 Final da granação, maioria das vagens no terço superior da haste principal com 75 a 100% da granação máxima.

R6 Semente formada ou granação plena 100% de granação. Maioria das vagens no terço superior contendo sementes verdes em seu volume máximo (“vagem gorda”)

R7.1 Maturidade fisiológica Até 50% de folhas e vagens amarelas

R7.2 Maturação fisiológica Entre 50 e 75% de folhas e vagens amareladas.

R7.3 Maturidade fisiológica Acima de 75% de folhas e vagens amareladas.

R8.1 Desfolha natural Até 50% de desfolha.

R8.2 Desfolha natural Acima de 50% de desfolha. Aproxima-se o ponto de colheita.

R 9 Maturidade a campo 95% de vagens com a cor da vagem madura.

Sendo assim, o revestimento de sementes teria fundamental interferência no estágio de emergência (Ve), pois seu uso juntamente com a aplicação de inseticidas e fungicidas via revestimento, não deve ocasionar prejuízos à qualidade fisiológica dos lotes de sementes, pois essa prática é de suma importância para proteção contra pragas e doenças nas fases iniciais de desenvolvimento da planta (CAMILO et al., 2017).

### 3.1.1 Semente da Cultura da Soja

As sementes de soja são lisas, ovais, globosas ou elípticas, podem ser encontradas nas cores amarela, preta ou verde. O hilo é geralmente marrom, preto ou cinza (NUNES, 2013). Seu desenvolvimento inicia-se a partir de óvulos fertilizados, que passam por uma série de transformações morfológicas, fisiológicas e funcionais até que a sua maturidade fisiológica seja atingida. Na maturidade, o conteúdo de matéria seca da semente é máximo, contudo a semente pode ou não ter atingido os valores máximos de germinação e vigor. Uma vez atingida a qualidade máxima, inicia-se o processo de deterioração, provocando redução gradativa da qualidade fisiológica da semente (VIDIGAL et al., 2006).

A qualidade da semente de soja é composta por quatro pilares: 1. Qualidade fisiológica, representando uma semente com altos vigor e germinação e que resulte em adequada emergência de plântulas em campo; 2. Qualidade genética, sendo geneticamente pura, representando a cultivar que se deseja semear, sem misturas varietais; 3. Qualidade sanitária, compreendendo semente livre de outras sementes de plantas daninhas e de patógenos, sejam eles fungos, vírus, nematoides ou bactérias; 4. Qualidade física, composta por uma semente pura, livre de material inerte, como contaminantes, fragmentos de plantas, insetos, torrões e outras impurezas.

A qualidade da semente de soja pode ser influenciada por diversos fatores, que podem ocorrer durante a fase de produção no campo, na operação de colheita na secagem, no beneficiamento, no armazenamento, no transporte e na semeadura. Tais fatores abrangem extremos de temperatura durante a maturação, flutuações das condições de umidade ambiente, incluindo seca, deficiências na nutrição das plantas, ocorrência de insetos, além da adoção de técnicas inadequadas de colheita, secagem e armazenamento ( NETO et al., 2016).

Recentemente, os produtores de sementes de soja têm disponibilizado no mercado sementes com o Tratamento Industrial de Sementes (TIS). Em muitas empresas, essa prática já faz parte das etapas do beneficiamento das sementes, sendo realizado com a utilização de equipamentos especiais e altamente sofisticados, os quais combinam a aplicação de fungicidas, inseticidas, micronutrientes, nematicidas, entre outros produtos (NETO et al., 2016).

Este tipo de tratamento vem ganhando espaço no mercado de sementes de soja. No Brasil, na safra 2015/16, cerca de 30% das sementes foram tratadas e comercializadas neste sistema, no qual grande parte das empresas que comercializam as sementes já realiza o tratamento no pré-ensaque, antes do armazenamento, ou no momento da entrega das sementes ao produtor.

As sementes desempenham um papel dominante na agricultura, servindo como o principal mecanismo pelo qual as plantas cultivadas são propagadas. Pesquisas voltadas para o controle e melhoria da qualidade das sementes agrícolas são crescentes, como o desenvolvimento e utilização de testes de vigor específicos a cada espécie vegetal e testes sofisticados para determinação de características genéticas e de resistência a herbicidas. Além disso, se busca desenvolver e melhorar técnicas para produção e armazenamento de sementes, como também sua melhoria fisiológica, incluindo o uso de revestimentos e a granulação (individualização) de sementes de pequeno porte (SMANIOTTO et al., 2014).

Os principais fatores que influenciaram a expansão da importância da tecnologia de sementes durante as últimas cinco décadas incluem: a Lei de proteção de variedades vegetais (Lei nº 9.456, de 25 de abril de 1997) e a concessão de patentes de utilidade pública (Lei nº 5.772, de 21 de dezembro de 1971 e Lei nº 9.279, de 14 de maio de 1996); a influência da biotecnologia; o melhoramento de sementes; o desenvolvimento de testes de vigor de sementes. As sementes continuarão a fornecer o principal mecanismo para a propagação de plantas de importância agrícola,

no entanto é visível no curto prazo que novas funcionalidades estarão compondo o papel das sementes como uma ferramenta de entrega em alta tecnologia.

### 3.2 BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO VEGETAL

As bactérias promotoras de crescimento vegetal abrangem um grupo de microrganismos que podem estimular o crescimento e o desenvolvimento das plantas por meio de mecanismos diretos e/ou indiretos, coexistindo associativamente nas superfícies radiculares, a rizosfera e filosfera, e nos tecidos internos de diferentes espécies vegetais (HUNGRIA et al. 2010).

Podem colonizar tanto a região rizosférica como tecidos internos do vegetal, apresentando motilidade guiada por mecanismo de localização quimiotática para ácidos orgânicos, açúcares, aminoácidos e compostos aromáticos exsudados pelas raízes, beneficiando-se dessas fontes de carbono e energia (GLICK, 2012).

No início dos anos 70, o desenvolvimento de um método, batizado como redução do acetileno, permitiu a mensuração da fixação biológica de nitrogênio promovida pelas bactérias, associado ao desenvolvimento de meio de cultura semi-sólido que simulava os níveis de oxigênio encontrados no solo. Isto possibilitou também a descoberta de duas espécies de *Azospirillum*: *A. lipoferum* e *A. brasilense*, iniciando a pesquisa focada em fixação biológica de nitrogênio em gramíneas no Brasil (GUIMARÃES et al., 2017).

Algumas bactérias são capazes de realizar a redução do nitrogênio em sua forma molecular inerte ( $N_2$ ) em uma forma biologicamente útil ( $NH_4^+$ ), Processo descrito como, Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN). Além da FBN destaca-se a produção de substâncias promotoras de crescimento vegetal, como fitormônios (auxinas, citocininas e giberelinas) e vitaminas. O crescimento vegetal pode ocorrer também fatores, nutricionais, fisiológicos, morfológicos e de controle biológico de organismos maléficos (FREITAS; RODRIGUES, 2010).

No desenvolvimento da cultura da soja, um importante componente químico é o nitrogênio, porém, pela associação simbiótica com estirpes de *Bradyrhizobium japonicum* e *B. elkanii*., a FBN tornou-se a principal fonte de nitrogênio das leguminosas, e passou a ser a tecnologia mais rentável para o agricultor. A FBN com bactérias do gênero *Bradyrhizobium* é hoje adotada em todas as áreas cultivada com a soja no país, cerca de 24 milhões de hectares, e resulta em uma economia

anual em torno de US\$ 7 bilhões para o Brasil pela não utilização de fertilizantes nitrogenado nas lavouras. Pode-se afirmar que o sucesso dessa cultura no País está diretamente relacionado a este processo, que é capaz de fornecer todo o nitrogênio necessário, mesmo para cultivares de alto rendimento. (ZAMBUDIO, 2012). É importante, o trabalho continuado de identificação de estirpes bacterianas de elite (altamente eficientes na indução de nodulação e transferência de formas assimiláveis de nitrogênio) para o uso como insumos biológicos, ou inoculantes, para plantas leguminosas. A utilização de insumos biológicos em substituição aos insumos químicos tem se mostrado indispensável para a sustentabilidade da agricultura brasileira, haja vista o fornecimento de nitrogênio às culturas com baixo custo econômico e impacto ambiental reduzido (HUNGRIA et al., 2007). Neste sentido, tecnologias direcionadas a reduzir o uso de insumos químicos na produção de alimentos, como o uso de insumos biológicos, levariam à redução dos gastos na composição dos custos de produção, no aumento da sustentabilidade e recomposição dos solos e do meio ambiente (DONADELLI; KANO; FERNANDES, 2012).

### 3.3 INOCULANTES

Os inoculantes são produtos de origem microbiana que apresentam ação benéfica para o desenvolvimento das plantas. No Brasil, são produzidos de acordo com a Lei nº 6894, de 16 de novembro de 1980, regulamentada pelo Decreto nº 4954, de janeiro de 2004. A qualidade é certificada conforme os protocolos estabelecidos pela rede de laboratórios para recomendação, padronização e difusão de tecnologia de inoculantes microbiológicos de interesse agrícola (MAPA, 2010). Segundo Date (2001), o uso eficiente da tecnologia de inoculação depende de vários fatores, especialmente da habilidade da bactéria sobreviver junto à semente ao longo do período de germinação e estabelecimento de uma nova planta, e das condições de armazenamento deste insumo biológico.

Há um interesse crescente no desenvolvimento de novas abordagens biotecnológicas para melhorar a produção vegetal. Dentre elas, a inoculação de bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) pode favorecer a produção de plantas mais vigorosas devido à produção de reguladores de crescimento, melhoria da eficiência de uso de fertilizantes e indução de tolerância contra estresses bióticos e abióticos (COMPANT et al., 2010; GLICK, 2010).

A adição de BPCV em sementes pode ser uma oportunidade para melhorar a produção de grãos, com redução dos custos econômicos e ambientais. As principais características destes microrganismos compreendem a possibilidade de atuar em todas as espécies agrícolas de importância comercial e a variabilidade na eficácia de sua utilização, devido a pouca compreensão dos fatores determinantes de seu estabelecimento junto a uma planta hospedeira (BULGARELLI et al. 2013).

Os avanços científicos e à disponibilização de novas tecnologias é importante para o aumento da capacidade do setor competitivo da soja brasileira. E o uso de inoculação com rizóbios, bactérias fixadoras de nitrogênio, pode favorecer uma maior ocorrência de nódulos principalmente na coroa da raiz principal, aumentando a eficiência da fixação de nitrogênio na fase inicial do crescimento das plantas. (MERCANTE et al., 2011).

Segundo Spolaor et al., (2016). o uso de inoculantes que contêm BPCV é uma das alternativas que em conjunto com melhoramento genético e manejo cultural, pode aumentar a eficiência do uso de fertilizantes químicos, podendo levar à diminuição da quantidade aplicada em ambientes de produção agrícola.

### 3.4 REVESTIMENTO DE SEMENTES

As sementes agrícolas comerciais geralmente são tratadas com fungicidas e inseticidas, conhecido como tratamento convencional de sementes, cujo objetivo é diminuir a perda de plantas jovens, uma vez que durante o período de germinação estas plantas se encontram vulneráveis pela ausência de um sistema de defesa completo e funcional.

Além do tratamento com agroquímicos, as sementes agrícolas podem ainda ser revestidas por polímeros de diferentes origens, onde outras substâncias como fito-hormônios, vitaminas, açúcares e mesmo microrganismos vivos que interferem de forma positiva sobre o metabolismo e o desenvolvimento inicial de plântulas podem ser adicionadas, (SILVA, C; NAKAGAWA,1998). Porém, a combinação entre o tratamento convencional de sementes e o uso de revestimentos poliméricos contendo moléculas orgânicas/células requer a compatibilidade de formulações, definição correta de dosagens e tecnologia adequada para aplicação homogênea dos produtos, informações que nem sempre estão disponíveis,

principalmente quando se consideram grandes quantidades de sementes (MAUDE, 1998).

O revestimento de sementes consiste na deposição de um material adesivo à superfície da semente seguido da adição de um material seco e inerte, permitindo a modificação ou não da forma e tamanho da semente (SANTO, 2016). O processo de revestimento de sementes consiste na aplicação contínua de uma base sólida ou líquida, contendo polímeros sólidos, dissolvidos em suspensão, que pode ser realizado juntamente com a incorporação de produtos fitossanitários, revestindo-se o tegumento natural das sementes de maneira que cada semente seja influenciada individualmente pelos materiais utilizados (FURLANI, 2009). Entre os objetivos da aplicação desta técnica, pode-se citar o aumento do tamanho e/ou densidade das sementes, como as sementes de espécies olerícolas (MENDONÇA, 2007). Em qualquer caso, o tratamento de sementes envolve diversos processos, aplicados com o objetivo de preservar e aperfeiçoar o desempenho germinativo das sementes, o que possibilita o aumento de produtividade da cultura (MENTEN, 1991).

O revestimento de sementes agrícolas inicialmente utilizava materiais desenvolvidos para indústria farmacêutica. Esta tecnologia desenvolveu-se em um ramo científico específico para a agricultura, com o desenvolvimento e utilização de polímeros mais adequados. A definição de materiais poliméricos para o revestimento de sementes requer estudos sobre sua influência na germinação, efeitos sobre o desenvolvimento do sistema radicular, interação com insetos e fitopatógenos e ação sobre os nutrientes minerais (FRANZIN, 2004). Segundo Zaritzky (2011), os materiais utilizados para revestimento são genericamente classificados em hidrofóbicos e hidrofílicos, e suas características estruturais, como a espessura e permeabilidade final, estão diretamente relacionadas ao tipo e concentração do material (ROJASGRAÜ et al., 2007; SKURTYS et al., 2010). Os materiais hidrofílicos apresentam boa solubilidade em meio aquoso e podem formar géis, podendo ou não sofrer alterações químicas da sua estrutura para uma completa solubilização. Porém, os materiais hidrofóbicos não apresentam regiões polares bem definidas e compreendem moléculas eletricamente neutras. Na presença de água esses materiais tendem a excluir moléculas polares da sua redondeza e se aglomerar (SANTANA, 2016).

O revestimento proporciona proteção às sementes, sendo uma importante ferramenta para a aplicação conjunta de produtos fitossanitários que

podem ser aplicados separadamente, em distintas camadas (SILVA, NAKAGAWA, 1998). Segundo Machado (1988) é vantajoso que os produtos utilizados tenham características favoráveis à sua aplicação em mistura. A aplicação de produtos fitossanitários pelo processo de revestimento pode ser realizada de diferentes formas e sobre sementes de diferentes tamanhos e geometrias, e o produto final pode manter ou não as dimensões e os formatos originais das sementes.

O tratamento químico de sementes associado ao revestimento com polímeros tem recebido especial atenção nos últimos anos, sendo considerada uma nova tecnologia para as culturas extensivas no Brasil. A associação do material polimérico com o tratamento químico tem sido utilizada para melhorar o comportamento germinativo das sementes, promovendo melhorias fisiológicas e conseqüentemente maior retorno econômico (BAYS et al., 2007).

Sementes revestidas podem ser consideradas como uma unidade autossuficiente, dotada de maior competência para germinação e desenvolvimento das plântulas (HATHCOCK et al., 1984). Esta maior competência para germinação resulta de benefícios proporcionados pelo revestimento de sementes, como a correção de alterações morfológicas e fisiológicas. Como os produtos fitossanitários adicionados estão aderidos ao tegumento da semente, ocorre a máxima penetração dos princípios ativos nas plântulas e conseqüente melhoria da regulação do processo germinativo (DINIZ et al., 2006).

Variações morfológicas podem ser observadas em sementes de milho doce que, quando secas, sofrem enrugamento e redução de seu volume. O uso de revestimento pode corrigir essas alterações, proporcionando uma maior uniformidade de semeadura e aumento da superfície de contato da semente com o solo (NASCIMENTO et al., 1994). Da mesma forma, a diferenciação entre sementes tratadas e sementes não tratadas é facilitada pelo revestimento, mesmo que não ocorra alteração de tamanho ou forma da semente (LUDWING, 2014), além de proporcionar melhoria no uso de semeadoras de precisão (MENDONÇA, 2007).

Segundo Baudet (2004) o algodão e o feijão são exemplos de culturas que apresentaram aumento de 20% a 30% no índice de germinação pelo uso de sementes revestidas. Apesar dos benefícios, existe uma dificuldade dos agricultores em adotar tecnologias que resultem em aumento do custo aparente de produção, como é o caso das sementes revestidas que são mais caras do que sementes não revestidas. Esse custo adicional é compensado por maiores produtividades, e uma

maior adoção da tecnologia pode reduzir o custo dos materiais usados para revestimento. Segundo Ludwig (2011) há uma carência de equipamentos nacionais para recobrimento de sementes, sendo necessária a importação de maquinário específico para construir uma camada de filme constituída de polímeros e outras substâncias de recobrimento sobre as sementes. O desenvolvimento de maquinário nacional reduziria o custo do tratamento, pois os equipamentos importados têm custo elevado devido à cotação da moeda e do transporte da máquina do país de origem até o Brasil.

Os benefícios da utilização de polímeros para revestimento de sementes vêm sendo relatados para diversas espécies de importância agrícola. O revestimento com polímero de amido de mandioca, alginato de sódio ou álcool polivinílico, que ao ser associado a fungicidas e inseticidas promoveu incrementos no vigor e germinação em sementes de soja (LUDWIG et al., 2011).

Brandelero (2011) revestiu sementes de cebola com polímeros termoplásticos e observou uma germinação 80% superior à observada em sementes não revestidas. A resposta do material vegetal ao revestimento de sementes vai depender tanto das características da espécie vegetal como dos materiais de revestimento (TRENTINI, 2004). Silva (1997) observou o comportamento de sementes de alface revestidas com algumas combinações de materiais e adesivos, como areia fina e grossa, calcário fino e grosso, xaxim, esfagno, serragem de pinho e de eucalipto, concinól e termofosfato de yoorin, colas à base de acetato de polivinila, croscarmelose, goma arábica e bentonita. Alguns dos compostos utilizados provocaram sintomas de toxidez na planta logo no início da emissão da raiz primária (colas Grudi extra e Perapretva), enquanto o polímero Cascorez não prejudicou o desenvolvimento das plântulas e apresentaram características desejáveis quanto à afinidade com os materiais de enchimento, capacidade de atuação em baixa concentração e solubilidade.

A importância crescente que os microrganismos associativos aos vegetais vêm recebendo, pela sua atividade promotora do crescimento de plantas, tem levado à ampliação do uso de inoculantes como uma prática agrícola regular. Neste contexto, o tratamento de sementes com microrganismos benéficos tem sido cada vez mais utilizado, pois, além de proteger as plantas contra fitopatógenos, podem promover o seu desenvolvimento e produtividade. Os mecanismos ativos

exercidos por microrganismos benéficos incluem efeitos benéficos na germinação de sementes, na emergência e no desenvolvimento das plântulas (HARMAN, 2000).

O revestimento de sementes propicia uma grande oportunidade para o desenvolvimento de materiais biocompatíveis com microrganismos benéficos, que poderiam compor formulações de revestimento juntamente com aminoácidos, micronutrientes e reguladores de crescimento, visando produtos menos agressivos ao ambiente que proporcionem maiores produtividades (MENDONÇA, 2007).

### 3.5. BIOPOLÍMEROS

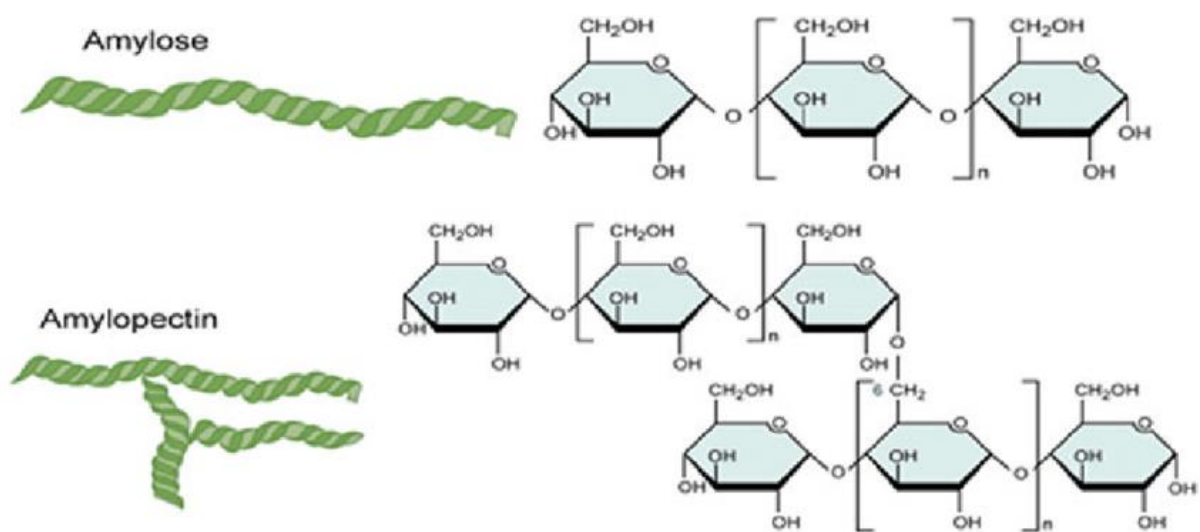
Os biopolímeros são polímeros ou copolímeros produzidos por seres vivos, constituindo matérias-primas de fontes renováveis. Dentre estes se destacam o amido, a celulose, a quitina ou biopolímeros biotransformados, provenientes do metabolismo microbiano. E estes materiais podem ser considerados alternativos aos produtos plásticos de fonte de petróleo, uma vez que podem apresentar as mesmas características físico-químicas encontradas nos plásticos convencionais. As fontes renováveis são assim conhecidas por possuírem um ciclo de vida mais curto, de sua origem à degradação completa, quando comparadas com os polímeros derivados de fontes fósseis como o petróleo, que levam milhares de anos para se formar e dezenas de anos para se decompor. Alguns fatores ambientais e socioeconômicos que estão relacionados ao crescente interesse pelos biopolímeros, compreendem a mitigação dos impactos ambientais causados por toda a cadeia de produção dos polímeros provenientes do petróleo, a diminuição da oferta e o consequente aumento do preço do petróleo como matéria prima (JAYANTH et al., 2017; GU et al., 2017).

O amido é um dos polissacarídeos mais abundantes na natureza e produzido como reserva energética por vegetais, e pode ser considerado um dos materiais poliméricos mais versáteis, com grande potencial de aplicação biotecnológica. O amido pode ser obtido de diversas fontes vegetais, como cereais, raízes e tubérculos, de frutas e legumes, no entanto, a extração em nível comercial de amido se restringe aos cereais e tubérculos (MALI; GROSSMANN; YAMASHITA, 2010).

Quimicamente, o amido em sua forma nativa, é um polissacarídeo formado por monossacarídeos de glicose, que dão origem a dois polímeros, amilose, que apresenta estrutura química essencialmente linear, onde as unidades de glicose

são unidas por ligações glicosídicas  $\alpha$ -D-(1,4), e a amilopectina, polímero de glicose com ramificações entre as cadeias lineares na posição  $\alpha$ -D-(1,6) (Figura 1) (SANTOS, 2016). Dependendo da fonte botânica do amido, pode haver variações nas proporções entre amilose e amilopectina, resultando em grânulos de amido com propriedades físico-químicas e funcionais diferentes, que podem afetar suas aplicações industriais (MALI; GROSSMANN; YAMASHITA, 2010).

**Figura 1.** Estrutura molecular (A) Amilose e (B) Amilopectina.



FONTE: SANYANG, et al. 2018.

Nos grânulos de amido nativo, amilose e amilopectina estão arranjadas de forma concêntrica, com regiões mais organizadas, chamadas de zonas cristalinas, e regiões menos organizadas, chamadas de zonas amorfas, e a estrutura granular é mantida por ligações de hidrogênio. O amido pode ser processado termicamente, na presença de água, levando à destruição desta estrutura granular nativa, com rompimento das ligações de hidrogênio, processo este que se chama gelatinização do amido, levando a obtenção de uma matriz polimérica amorfa, empregada para a produção de filmes e revestimentos biodegradáveis. (VERCELHEZE et al., 2019).

A aplicação do amido na produção de filmes e revestimentos comestíveis se baseia nas propriedades químicas, físicas e funcionais da amilose para formar géis (VERCELHEZE, 2017), o amido na atualidade é um dos compostos mais

utilizados para esta finalidade, e vem sendo empregado para prolongar a vida útil e melhorar a aparência de frutas e hortaliças (RODRIGUES et al., 2016).

As cadeias poliméricas formadas pelo amido são em geral rígidas devido ao elevado número de ligações de hidrogênio formadas entre as cadeias de amilose e amilopectina, portanto requerem a utilização de agentes plastificantes como polióis (p. ex., glicerol e sorbitol) para ter suas propriedades mecânicas melhoradas, aumentando a sua flexibilidade (SANTANA, 2016).

Ainda, há necessidade de identificar materiais para uso como reforço para filmes ou revestimentos à base em amido e outros biopolímeros, como a gelatina, como fibras e nanopartículas de caráter hidrofóbico ou hidrofílico, de modo a melhorar suas propriedades mecânicas e de barreira a gases e vapores (REDDY; YANG, 2005).

Os filmes e revestimentos biodegradáveis produzidos com amido podem ser aplicados como barreira entre o alimento e o ambiente circundante, e podem ser consumidos dependendo das matérias primas utilizadas para sua obtenção. Os filmes biodegradáveis de amido podem melhorar a qualidade dos alimentos, como sabor e aroma, além de oferecer maior tempo de prateleira (BALDANI, 2015).

Além disso, os materiais desenvolvidos com base em biopolímeros naturais não devem apresentar efeitos tóxicos ou prejudiciais ao meio ambiente. Por exemplo, a gelatina e a quitosana foram utilizadas para a produção de filmes biodegradáveis aplicados ao revestimento de sementes de brócolis e salsa, resultando em um desempenho germinativo superior das sementes revestidas quando comparadas às sementes sem revestimento (TANADA et al., 2005).

Poucos trabalhos na literatura relatam o uso do amido para a confecção de revestimentos para sementes, Vercelheze et al. (2019) descreveram a produção de revestimentos à base amido, gelatina e álcool polivinílico para sementes de milho, e observaram que além do revestimento servir como uma matriz para veiculação de bactérias promotoras do crescimento vegetal, estes não afetaram a germinação da sementes.

Ainda não se tem estudos sobre o revestimento utilizado no presente trabalho, e associado a diferentes microrganismos, seu uso mostra-se promissor, tendo em vista que, quando sementes de soja foram revestidas ou inoculadas com diferentes inoculantes não afetaram a taxa de germinação, principal fator a ser atendido para uso de revestimento (VERCELHEZE, 2017).

A gelatina, é um produto comercial obtido a partir da hidrólise parcial do colágeno. O colágeno é uma proteína presente em tecidos conjuntivos, como os tendões e as cartilagens, na matriz orgânica dos ossos e na córnea dos olhos. Quando hidratada, a gelatina forma uma estrutura definida como gel. Para a obtenção de um gel transparente, homogêneo e flexível a partir da gelatina, é preciso reduzir a temperatura da solução em menos de 30°C. As macromoléculas, como, a gelatina pode se ligar a moléculas de água, formando uma rede contínua que se estenderia em toda a massa da solução. Dessa forma, para se imobilizar uma grande quantidade de água, são necessárias pouquíssimas macromoléculas graças aos seus numerosos sítios hidrofílicos, os quais, nas proteínas, são responsáveis por interações químicas como as pontes de hidrogênio com as moléculas de água. (LIMA et al ., 2007).

Pode ser utilizada na formulação do revestimento de sementes por ser considerada material adesivo, assim a gelatina como demais matérias, devem ser solúveis em água, ter afinidade com os demais ingredientes e não causar danos às sementes , a integridade física do recobrimento é uma característica importante e após a secagem, a cobertura não deve desmanchar ou quebrar durante o processo de classificação, transporte, manuseio e semeadura mecanizada (CONCEIÇÃO 2007).

Silva e Nakagawa, (1998) relatam que, a definição da proporção de adesivo implica no dilema entre a necessidade de se ter resistência física e a limitação do uso de cimentantes, sendo então necessário avaliar a resistência do recobrimento, para que se possa utilizar a menor porcentagem possível de cimentantes, sem afetar a qualidade final do produto.

Outra classe de materiais que tem sido aplicada na agricultura são nanocompósitos, materiais em que uma das fases encontra-se em escala nanométrica, quando apresentam uma fase orgânica e inorgânica, tais como polímero e argila são chamados de nanocompósitos híbridos, usados na liberação controlada de insumos agrícolas, podendo ser utilizados como veículos biodegradáveis, suscitando o aumento na produtividade e melhora na oferta de água e conseqüentemente, favorecendo a redução de custos de produção. Com a progressiva demanda comercial da agricultura, a pesquisa e avanços tecnológicos no melhoramento de sementes têm crescido vertiginosamente (LIMA et al., 2018).

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

Os materiais utilizados para o revestimento de sementes foram desenvolvidos nos laboratórios do Departamento de Bioquímica e Biotecnologia e nos laboratórios do Departamento de Tecnologia de Alimentos. Os inoculantes microbianos foram preparados nos laboratórios do Departamento de Bioquímica e Biotecnologia. Os testes de germinação e o ensaio de crescimento vegetal conduzido em casa de vegetação foram conduzidos nos laboratórios do Departamento de Agronomia. Estes departamentos compõem parte da infraestrutura científica instalada na Universidade Estadual de Londrina. O clima característico da região, de acordo com a classificação Köppen é do tipo “Cfa”, com temperatura média para o mês mais frio é inferior a 16,4 °C e para o mês mais quente é superior a 25,5 °C, com precipitação anual variando de 1400 a 1600 mm e a umidade relativa de 75 a 85% (IAPAR, 2004).

### 4.1 PREPARO DOS INOCULANTES

Foram utilizadas as seguintes bactérias promotoras do crescimento de plantas: *Azospirillum brasilense* Ab-V5, *Bradyrhizobium japonicum* SEMIA 5079, *Bradyrhizobium diazoefficiens* SEMIA 5080, *Rhizobium* sp. 8.1.2.1 e *Bacillus* sp. ZK. Essas linhagens estão depositadas na “Coleção de Bactérias Promotoras do Crescimento Vegetal da Universidade Estadual de Londrina/CBPCV-UEL”, Londrina, Paraná, Brasil. As bactérias *A. brasilense* Ab-V5, *Rhizobium* sp. 8.1.2.1 e *Bacillus* sp. ZK foram cultivadas em meio líquido Dygs (g L<sup>-1</sup>: glicose, 2,0 g L<sup>-1</sup>; ácido málico, 2,0 g L<sup>-1</sup>; extrato de levedura, 2,0 g L<sup>-1</sup>; ácido glutâmico, 1,5 g L<sup>-1</sup>; peptona, 1,5 g L<sup>-1</sup>; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,5 g L<sup>-1</sup>; MgSO<sub>4</sub>, 0,5 g L<sup>-1</sup>; pH 6,8). As bactérias *B. japonicum* SEMIA 5079 e *B. diazoefficiens* SEMIA 5080 foram cultivadas em meio líquido YM (g L<sup>-1</sup>: manitol, 10 g L<sup>-1</sup>; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,05 g L<sup>-1</sup>; MgSO<sub>4</sub>, 0,02 g L<sup>-1</sup>; NaCl, 0,01; extrato de levedura, 0,5; pH 6,8).

Para todas as estirpes utilizadas, foram preparados pré-inóculos (5 mL) em tubos de ensaio previamente ao preparo dos inoculantes. Os inoculantes (50 mL) de cada estirpe foram preparados em frascos Erlenmeyer (250 mL), a partir da inoculação de um volume de pré-inóculo suficiente atingir uma concentração inicial de 10<sup>4</sup> células mL<sup>-1</sup>, determinada após contagem da densidade de células em cada pré-

inóculo em câmara de Neubauer. Todas as estirpes foram crescidas no mesmo meio de cultivo para o preparo dos inoculantes, denominado MCA4 (patente depositada no INPI sob número BR1020140171746). As culturas bacterianas de pré-inóculo e inoculante foram cultivadas sob agitação orbital (180 rpm) por 72 h a  $28 \pm 2$  °C.

#### 4.2 REVESTIMENTO DE SEMENTES COM MATERIAL POLIMÉRICO

Sementes de soja TMG 7062 foram revestidas com a solução filmogênica preparada com os seguintes materiais: gelatina puríssima (BIOTEC - São Paulo-SP) com força de gel-“Bloom” de 150-220g, amido de mandioca da marca Yoki Alimentos S.A. glicerol e nanoargila sódica não modificada (Cloisite® Na<sup>+</sup> - Southern Clay, Estados Unidos), patente depositada no INPI sob número BR1020170060462).

Para a produção do revestimento, inicialmente a gelatina e nanoargila foi hidratada em água destilada à temperatura ambiente por 1 hora e após foi solubilizada à 55°C por 30 minutos. O amido de mandioca foi aquecido à 90°C por 10 minutos. Por fim, foram misturados todos os componentes da formulação, com agitação contínua em Banho-Maria à 90°C por 30 minutos até obtenção de uma mistura homogênea e por último acréscimo de glicerol (VERCELLEZE, 2017).

Após o preparo da solução filmogênica, a mesma foi esterilizada por calor úmido (autoclave, 20 min a 120 °C). As sementes de soja foram revestidas por imersão (5 min), sendo distribuídas em papel filtro e secas sob condições assépticas por 12h. Quando necessário, foram previamente adicionadas as soluções filmogênicas os inoculantes preparados como descrito acima de maneira a alcançar uma concentração de  $1 \times 10^7$  células por mL de cada estirpe inoculante, conforme o tratamento. As sementes revestidas, com ou sem a adição de bactérias, foram armazenadas em sacos de papel e mantidas em temperatura ambiente até o momento de uso.

**Figura 2.** Materiais filmogênicos utilizados para o revestimento de sementes de soja (Erlenmeyers) e sementes revestidas sob secagem em condição asséptica.



**Fonte:** a própria autora.

#### 4.3 BIOCOMPÓSITO

Materiais poliméricos biodegradáveis desenvolvidos para a veiculação de bactérias promotoras do crescimento de plantas, denominados biocompósitos, foram preparados seguindo a metodologia de Marcelino et al..(2016). Após o preparo, os biocompósitos foram embalados em celofane (100 g) e esterilizados por calor seco (estufa com circulação forçada de ar, 4 h a 160 °C). Quando necessário, os biocompósitos esterilizados foram adicionados dos inoculantes preparados como descrito acima, conforme o tratamento. Para esta finalidade, as culturas bacterianas foram diluídas em meio MCA4 fresco para uma densidade de  $1 \times 10^7$  células  $\text{mL}^{-1}$  e aplicadas (20 mL) às embalagens de biocompósito com o auxílio de uma seringa estéril, seguindo a homogeneização manual. Após a veiculação de células bacterianas, as embalagens de biocompósito foram armazenadas em temperatura ambiente até o momento de uso.

#### 4.4 TESTES DE GERMINAÇÃO

Os testes de germinação de sementes de soja foram realizados de acordo com as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009), diferindo quanto ao número de sementes, que totalizaram 200 unidades por tratamento, divididas em quatro repetições de 50 sementes. Cada uma das repetições foi preparada em papel do tipo germitest esterilizado em autoclave a 120 °C por 20 min, umedecidos com

água destilada esterilizada na proporção de 2,5 vezes o peso do papel. Foram distribuídas 50 sementes sobre o papel germitest umedecido, seguindo seu acondicionamento em sacos plásticos e incubação em câmara de germinação mantida a  $28 \pm 2$  °C e 12 h de fotoperíodo. As avaliações foram realizadas após 5 e 8 dias de início da germinação, contabilizando-se a porcentagem de plântulas normais, anormais e sementes mortas (BRASIL, 2009).

. No primeiro ensaio (teste de germinação 1) foi avaliado o efeito do revestimento sobre a germinação de sementes armazenadas por até 30 dias, sob os seguintes tratamentos: semente revestida com polímero (Tp); semente revestida com o polímero adicionado, dos microrganismos *B. japonicum* SEMIA 5079, *B. diazoefficiens* SEMIA 5080 e *Rizobium* sp. 8.1.2.1 (Tpi); sementes não revestidas (Tc). Após o tratamento de revestimento, as sementes tratadas submetidas ao teste de germinação após diferentes períodos de armazenamento (0, 1, 5, 10, 20 e 30 dias sob temperatura ambiente).

Após a realização do primeiro ensaio, ampliou-se o número de tratamentos para avaliação da interação entre o revestimento das sementes e a adição de bactérias, com avaliações após dois períodos de armazenamento das sementes (1 e 10 dias de armazenamento sob temperatura ambiente). Os tratamentos de revestimento avaliados no segundo ensaio (teste de germinação 2) foram: sementes não revestidas e não inoculadas (Tc); polímero adicionado de *B. japonicum* SEMIA 5079 e *B. diazoefficiens* SEMIA 5080 (T1); polímero adicionado de *B. japonicum* SEMIA 5079, *B. diazoefficiens* SEMIA 5080 e *A. brasilense* Ab-V5 (T2); polímero adicionado de *B. japonicum* SEMIA 5079, *B. diazoefficiens* SEMIA 5080 e *Bacillus* sp. ZK(T3); adição de *B. japonicum* SEMIA 5079 e *B. diazoefficiens* SEMIA 5080 sem revestimento das sementes (T4); adição de *B. japonicum* SEMIA 5079, *B. diazoefficiens* SEMIA 5080 e *A. brasilense* Ab-V5 sem revestimento das sementes (T5); e adição de *B. japonicum* SEMIA 5079, *B. diazoefficiens* SEMIA 5080 e *Bacillus* sp. ZK sem revestimento das sementes (T6).

#### 4.5 ENSAIOS EM CASA DE VEGETAÇÃO

Foram realizados dois ensaios em casa de vegetação onde os delineamentos experimentais foram baseados nos ensaios prévios de germinação.

Foram utilizados vasos plásticos (5 L volume) preenchidos com 5 kg de uma mistura 3:1 de areia lavada e solo (horizonte B de Latossolo Vermelho Amarelo distrófico).

As características químicas do substrato estão apresentadas na Tabela 1.

Foram semeadas três sementes por vaso, que foram desbastados após 7 dias de semeadura para manter uma planta por vaso. Em ambos experimentos, os vasos foram mantidos na capacidade de campo por regas com água de abastecimento público a cada dois dias, e adição de 100 mL por vaso de solução nutritiva (ARNON; HOAGLAND, 1950) sem nitrogênio, a cada cinco dias. Foi realizada uma aplicação de inseticida a base de óleo de nim após 30 dias da semeadura em cada ensaio, para o controle de tripses (*Caliothrips brasiliensis*). Ambos ensaios foram conduzidos sob delineamento inteiramente casualizado com 10 repetições, onde o primeiro ensaio (cultivo 1) foi conduzido por 45 dias e o segundo ensaio (cultivo 2) foi conduzido por 60 dias. Ao final de cada período experimental, as plantas foram coletadas para determinações de peso seco de raiz, peso seco da parte aérea, número de nódulos, peso seco de nódulos e teor de nitrogênio foliar.

**Tabela 1.** Resultados da Análise Química do Substrato.

Variável	Substrato
pH	5,4
(H+Al) (cmol <sub>d</sub> /dm <sup>3</sup> )	7,30
Potássio (cmol <sub>d</sub> /dm <sup>3</sup> )	0,35
Cálcio (cmol <sub>d</sub> /dm <sup>3</sup> )	0,74
Magnésio (cmol <sub>d</sub> /dm <sup>3</sup> )	0,65
Alumínio (cmol <sub>d</sub> /dm <sup>3</sup> )	0,12
Saturação de bases (%)	1,74
Fósforo (mg/Kg)	5,90
Matéria Orgânica (%)	2,75

**Fonte:** Própria Autora

No ensaio cultivo 1, os tratamentos avaliados foram: semente revestida com polímero (Tp); semente revestida com o polímero adicionado dos microrganismos *B. japonicum* SEMIA 5079, *B. diazoefficiens* SEMIA 5080 e *Rizobium* sp. 8.1.2.1 (Tpi); sementes não revestidas e adição aos vasos de biocompósito (5 g vaso<sup>-1</sup>) contendo *B. japonicum* SEMIA 5079, *B. diazoefficiens* SEMIA 5080 e *Rizobium* sp. 8.1.2.1 (Tb);

sementes não revestidas (Tc). Neste ensaio foram utilizadas sementes revestidas com diferentes períodos de armazenamento (0, 1, 5, 10, 20 e 30 dias sob temperatura ambiente).

#### Quadro 1. Composição dos Tratamentos do Ensaio 2

TRATAMENTO	COMPOSIÇÃO
T1	Polímero adicionado de B. japonicum SEMIA 5079 e B. diazoefficiens SEMIA 5080
T2	Polímero adicionado de B. japonicum SEMIA 5079, B. diazoefficiens SEMIA 5080 e A. brasilense Ab-V5
T3	Polímero adicionado de B. japonicum SEMIA 5079, B. diazoefficiens SEMIA 5080 e Bacillus sp. ZK
T4	Adição de B. japonicum SEMIA 5079 e B. diazoefficiens SEMIA 5080 sem revestimento das sementes
T5	Adição de B. japonicum SEMIA 5079, B. diazoefficiens SEMIA 5080 e A. brasilense Ab-V5 sem revestimento das sementes
T6	Sementes não revestidas e adição aos vasos de biocompósito contendo B. japonicum SEMIA 5079 e B. diazoefficiens SEMIA 5080
T7	Sementes não revestidas e adição aos vasos de biocompósito contendo B. japonicum SEMIA 5079 e B. diazoefficiens SEMIA 5080
T8	Sementes não revestidas e adição de biocompósito (5 g vaso-1) contendo B. japonicum SEMIA 5079, B. diazoefficiens SEMIA 5080 e A. brasilense Ab-V5
T9	Sementes não revestidas e adição de biocompósito contendo B. japonicum SEMIA 5079, B. diazoefficiens SEMIA 5080 e Bacillus sp. ZK (T9) entre 1976/77 e 2013/14, foram estimados em US\$ 79,62 bilhões (CONTINI et al., 2018).

Fonte: Própria Autora

#### 4.6 DETERMINAÇÕES DE CRESCIMENTO DAS PLANTAS

Ao final do período de crescimento de cada ensaio realizado em casa de vegetação, as plantas de soja foram cuidadosamente removidas dos vasos e lavadas em água corrente para remoção do solo aderido às raízes e parte aérea. Em seguida, foi feita a coleta e contagem dos nódulos radiculares de cada planta, seguindo sua separação em parte aérea e raízes. Os nódulos, as raízes e a parte aérea de cada planta foram acondicionados separadamente em sacos de papel e levados para secagem em estufa de circulação forçada de ar sob temperatura de  $65 \pm 2$  °C, até atingirem peso constante. Após a secagem, os tecidos foram pesados para determinação do peso seco. Foi também determinado o teor de nitrogênio foliar

segundo método de Kjeldahl, após submeter amostras foliares secas e moídas à digestão com ácido sulfúrico, destilação com liberação da amônia e titulação com solução padrão ácida. O método Kjeldahl é baseado em destilação-titulação do extrato ácido resultante da digestão úmida em sistema aberto, onde a matéria orgânica do tecido vegetal é oxidada (mineralizada) com ácidos concentrados (SILVA et al.,2009).Todas as determinações foram realizadas com 10 repetições exceto para a determinação do nitrogênio foliar do ensaio cultivo 2, onde foram utilizadas três repetições.

#### 4.7 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Foram realizados dois ensaios independentes de germinação, conforme detalhado a seguir, ambos conduzidos sob delineamento inteiramente casualizado. Todos os resultados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro e Wilk e homocedasticidade, seguindo a análise de variância (ANOVA) para um (experimentos de casa de vegetação) ou dois fatores (experimentos de germinação). O programa utilizado para a análise e separação de médias em experimentos agrícolas foi o SASM – Agri, pelos métodos Scott - Knott, (CANTERI et al., 2001).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

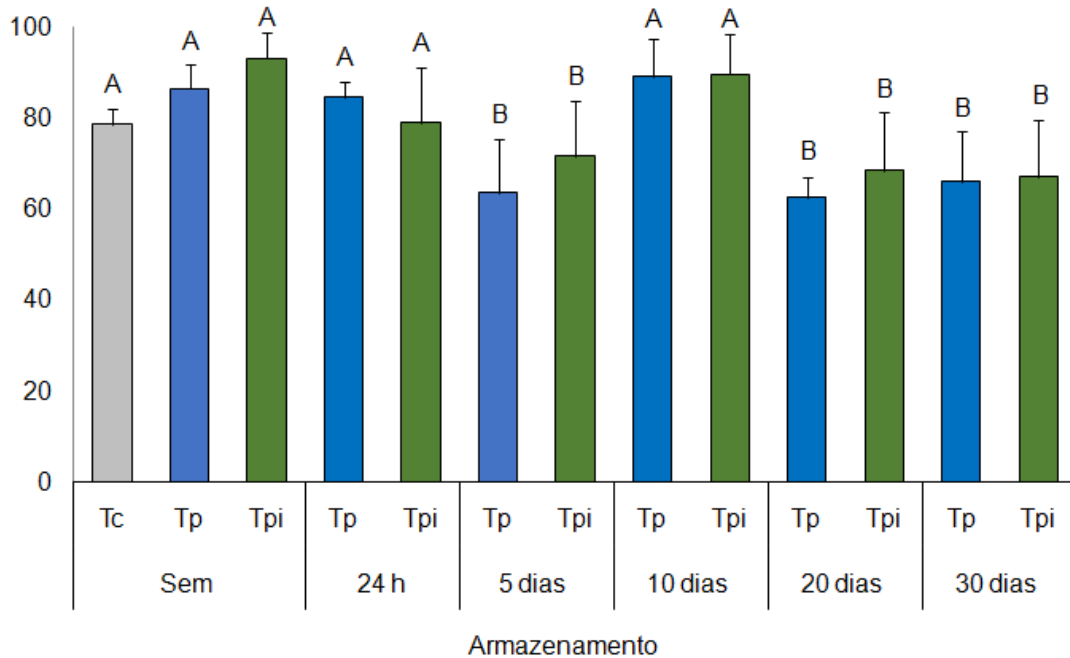
### 5.1 ENSAIOS DE GERMINAÇÃO

Conforme apresentado na Figura 3, não houveram diferenças significativas na germinação das sementes de soja sob os diferentes tratamentos, considerando um mesmo tempo de armazenamento pós-tratamento de revestimento ( $p < 0,05$ ). Entretanto, considerando cada tratamento de revestimento sob diferentes tempos de armazenamento, é possível perceber uma tendência de diminuição na porcentagem de germinação de 80% para 60% quando as sementes foram armazenadas por 30 dias. Para as sementes revestidas somente com o polímero (Tp) a maior porcentagem de germinação ocorreu em sementes armazenadas por 24 horas, com valores significativamente maiores que os observados para a germinação de sementes armazenadas por 20 ou 30 dias.

Quando houve adição de rizóbios às sementes revestidas (Tpi), a taxa de germinação foi maior em sementes armazenadas por 24h e 10 dias, diferindo significativamente ( $p < 0,05$ ) da taxa de germinação das sementes armazenadas por mais dias, não apresentando diferenças significativas em relação ao tratamento polimérico (Tp). Segundo as regras para análise de sementes (MAPA, 2009), a taxa mínima de germinação de sementes comerciais deve ser de 75%, portanto o armazenamento das sementes revestidas com o polímero biodegradável apresenta um tempo máximo de armazenamento de 10 dias com ou sem adição de rizóbios. Polímeros hidrofílicos absorvem água disponível ao redor do local de semeadura, formando um reservatório para a semente (PRADELLA et al., 1989).

O tempo de armazenamento de sementes tratadas é um importante parâmetro de avaliação, uma vez que a redução na taxa de germinação de sementes tratadas reduz o período útil do material vegetal. O armazenamento da sementes é prática fundamental que pode ajudar na manutenção da qualidade fisiológica da sementes sendo também um método por meio do qual se pode preservar a viabilidade das sementes e manter seu vigor até a semeadura (AZEVEDO, 2003).

**Figura 3.** Taxa de germinação de sementes de soja em resposta ao uso de revestimento polimérico biodegradável e inoculação com bactérias benéficas, sob seis tempos de armazenamento pós-tratamento.



Tc, tratamento controle (sementes nuas sem adição de bactérias); Tp, sementes revestidas com polímero; Tpi, sementes revestidas com polímero e adicionadas das bactérias *Bradyrizobium* 5079, 5080 + *Rizobium* 8.1.2.1. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Skott-Knott ( $p > 0,05$ ).

A diminuição na porcentagem da germinação pode estar relacionada às características de viscosidade e porosidade do material de revestimento, que pode limitar a troca de gases (respiração) e/ou absorção de água pelas sementes tratadas, uma vez que recobre todo o tegumento das sementes.

Para Holbig (2010) os materiais usados para revestimento de sementes não devem oferecer resistência à emergência do hipocótilo (forma o sistema radicular) ou do epicótilo (forma a parte aérea), além de permitir a livre passagem de água e gases para que o embrião se desenvolva naturalmente, quando a semente entrar em contato com o solo. Segundo West (1983) e Pires (2004), um polímero ideal deve ser permeável ao vapor d'água para permitir a embebição das sementes, deve ainda permitir distribuição uniforme, firme e durável sobre o tegumento e apresentar secagem rápida sob temperaturas amenas.

A Figura 4 apresenta avaliação visual comparativa das plântulas de soja sob os diferentes tratamentos, após oito dias de início da germinação de sementes armazenadas por 1, 5, 10 e 30 dias pós-tratamento de revestimento, é

possível observar melhor desenvolvimento das plântulas originadas de sementes revestidas, principalmente quando foram adicionados rizóbios, em comparação com as plântulas originadas de sementes nuas. Este efeito sugere que o uso de revestimento polimérico biodegradável influenciou positivamente o vigor das sementes, resultando em incrementos no comprimento da raiz primária e maior proliferação de raízes secundárias nas plântulas obtidas de sementes revestidas. O aumento do vigor observado envolver uma ação hormonal induzida por micro-organismos (inoculados ou não), ou com um possível efeito nutricional do polímero de revestimento.

**Figura 4.** Representação comparativa de plântulas de soja após o início da germinação originadas de sementes armazenadas por 1, 5, 10 30 dias pós-tratamento de revestimento com polímero biodegradável.



a) Plântulas de soja originadas de sementes revestidas com polímero biodegradável e adicionadas das bactérias simbióticas *B. japonicum* SEMIA 5079, *B. diazoefficiens* SEMIA 5080 e *Rizobium* sp. 8.1.2.1; b) Plântulas de soja originadas de sementes nuas, sem revestimento com o polímero biodegradável; c) Plântulas de soja originadas de sementes revestida com polímero biodegradável sem adição de bactérias simbióticas.

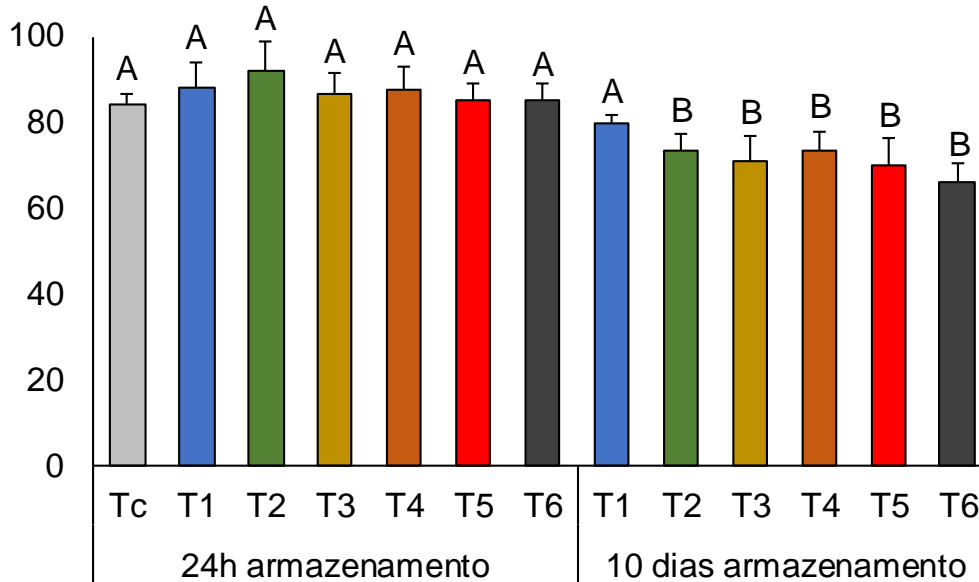
Considerando que a taxa de germinação das sementes revestidas diminuiu quando as sementes foram armazenadas por períodos de tempo superiores a 10 dias, foi realizado um segundo ensaio para avaliar a germinação de sementes de soja revestidas e adicionadas de diferentes combinações de bactérias benéficas,

considerando um tempo máximo de armazenamento de 10 dias. Os resultados desse segundo ensaio podem ser observados na Figura 5. Verifica-se que a adição de bactérias benéficas às sementes diminui sua taxa de germinação quando armazenadas por dez dias, independentemente da aplicação do revestimento polimérico. De modo interessante, a diminuição da taxa de germinação após dez dias de armazenamento não foi observada para as sementes revestidas e adicionadas das bactérias simbióticas *B. japonicum* SEMIA 5079 e *B. diazoefficiens* SEMIA 5080, que constituem os principais componentes de inoculantes comerciais para a soja.

Resultados similares a estes foram descritos, quando foi realizado estudo para determinar concentrações de soluções açucaradas para uso como adesivo do inoculante turfoso comerciais para a soja. Segundo Junior e Hungria, (2000), a eficácia do material utilizado como adesivo, varia de acordo com o tipo de semente utilizada. Alguns adesivos, como a solução açucarada e outras gomas, também trazem benefícios pela melhor distribuição e aumento na sobrevivência do rizóbio nas sementes, resultando em melhor desempenho simbiótico das plantas, e que algumas substâncias utilizadas como adesivos mostraram toxidez, principalmente em relação à germinação.

Na verdade, na ausência de revestimento, as sementes adicionadas destas mesmas bactérias apresentaram diminuição da taxa de germinação quando armazenadas por mais de dez dias. Porém, a menor taxa de germinação observada ocorreu em sementes não revestidas e inoculadas com *B. japonicum* SEMIA 5079, *B. diazoefficiens* SEMIA 5080 e *Bacillus* sp. ZK após 10 dias de armazenamento isso reforça o efeito protetor do revestimento.

**Figura 5.** Taxa de germinação de sementes de soja em resposta ao uso de revestimento polimérico biodegradável e inoculação com bactérias benéficas, sob dois tempos de armazenamento pós-tratamento.



Tc, tratamento controle (sementes nuas sem adição de bactérias); T1, sementes revestidas com polímero e adicionadas das bactérias *B. japonicum* SEMIA 5079, *B. diazoefficiens* SEMIA 5080; T2, sementes revestidas com polímero e adicionadas das bactérias *B. japonicum* SEMIA 5079, *B. diazoefficiens* SEMIA 5080 e *A. brasilense* Ab-V5; T3, sementes revestidas com polímero e adicionadas das bactérias *B. japonicum* SEMIA 5079, *B. diazoefficiens* SEMIA 5080 e *Bacillus* sp. ZK; T4, sementes nuas e adicionadas das bactérias *B. japonicum* SEMIA 5079, *B. diazoefficiens* SEMIA 5080; (T5) sementes nuas e adicionadas das bactérias *B. japonicum* SEMIA 5079, *B. diazoefficiens* SEMIA 5080 e *A. brasilense* Ab-V5; (T6) sementes nuas e adicionadas das bactérias *B. japonicum* SEMIA 5079, *B. diazoefficiens* SEMIA 5080 e *Bacillus* sp. ZK. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Skott-Knott ( $p > 0,05$ ).

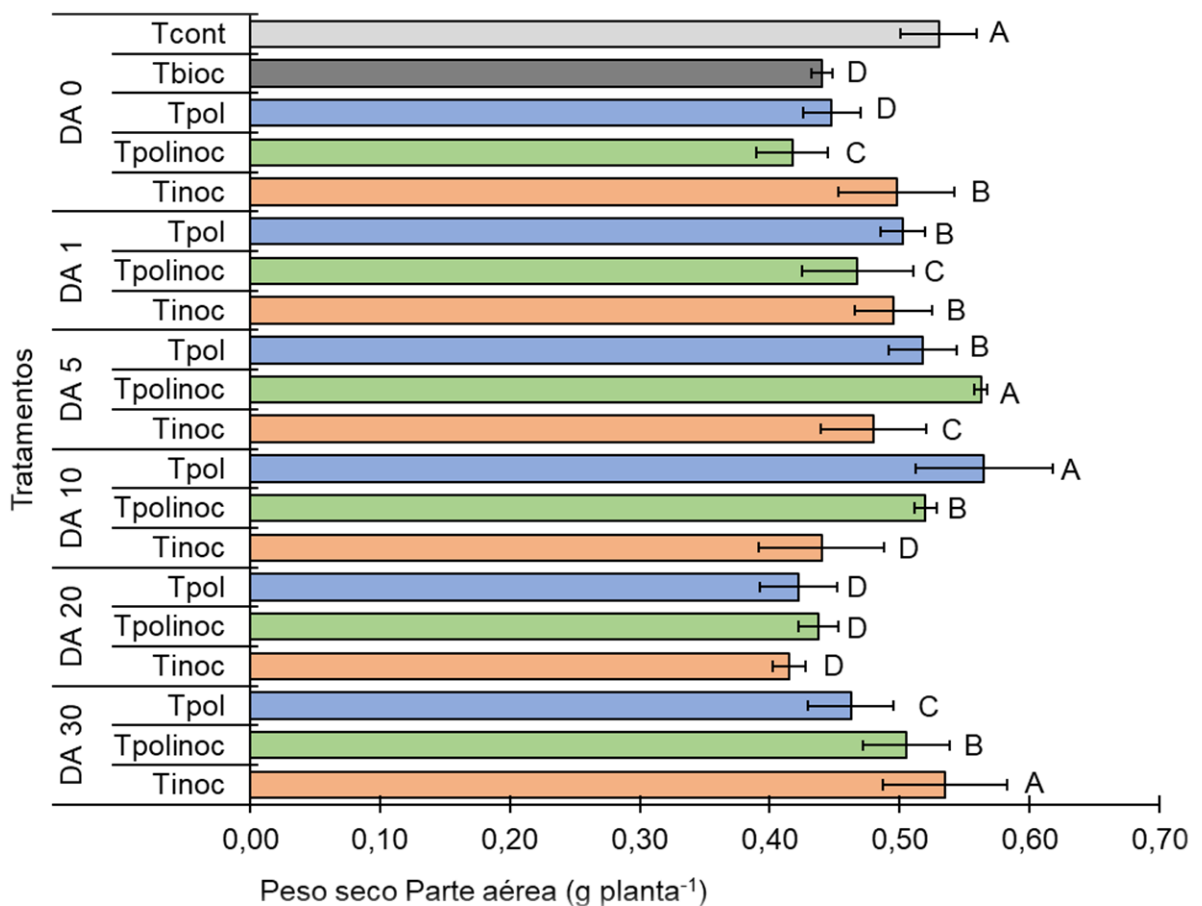
## 5.2 ENSAIOS EM CASA DE VEGETAÇÃO

Os ensaios em casa de vegetação foram realizados com o objetivo de avaliar o desenvolvimento de plantas de soja contendo rizóbios simbióticos imobilizados às sementes pelo uso de polímeros biodegradáveis, de maneira comparativa às outras formas de veiculação destes microrganismos. Em um primeiro ensaio conduzido em casa de vegetação por 45 dias, foram comparados líquido às sementes nuas (inoculação tradicional, Ti); adição de biocompósito em duas formas de veiculação de rizóbios simbióticos: adição de inoculante contendo os rizóbios imobilizados em sua matriz (inoculação com biocompósito, Tb); e revestimento das sementes com polímeros biodegradáveis contendo os rizóbios (inoculação com polímero, Tpi). Adicionalmente, as sementes contendo rizóbios imobilizados com os polímeros biodegradáveis foram avaliadas sob diferentes tempos de armazenamento.

As Figuras 6 e 7 apresentam os resultados para biomassa seca de parte aérea e de raiz, respectivamente.

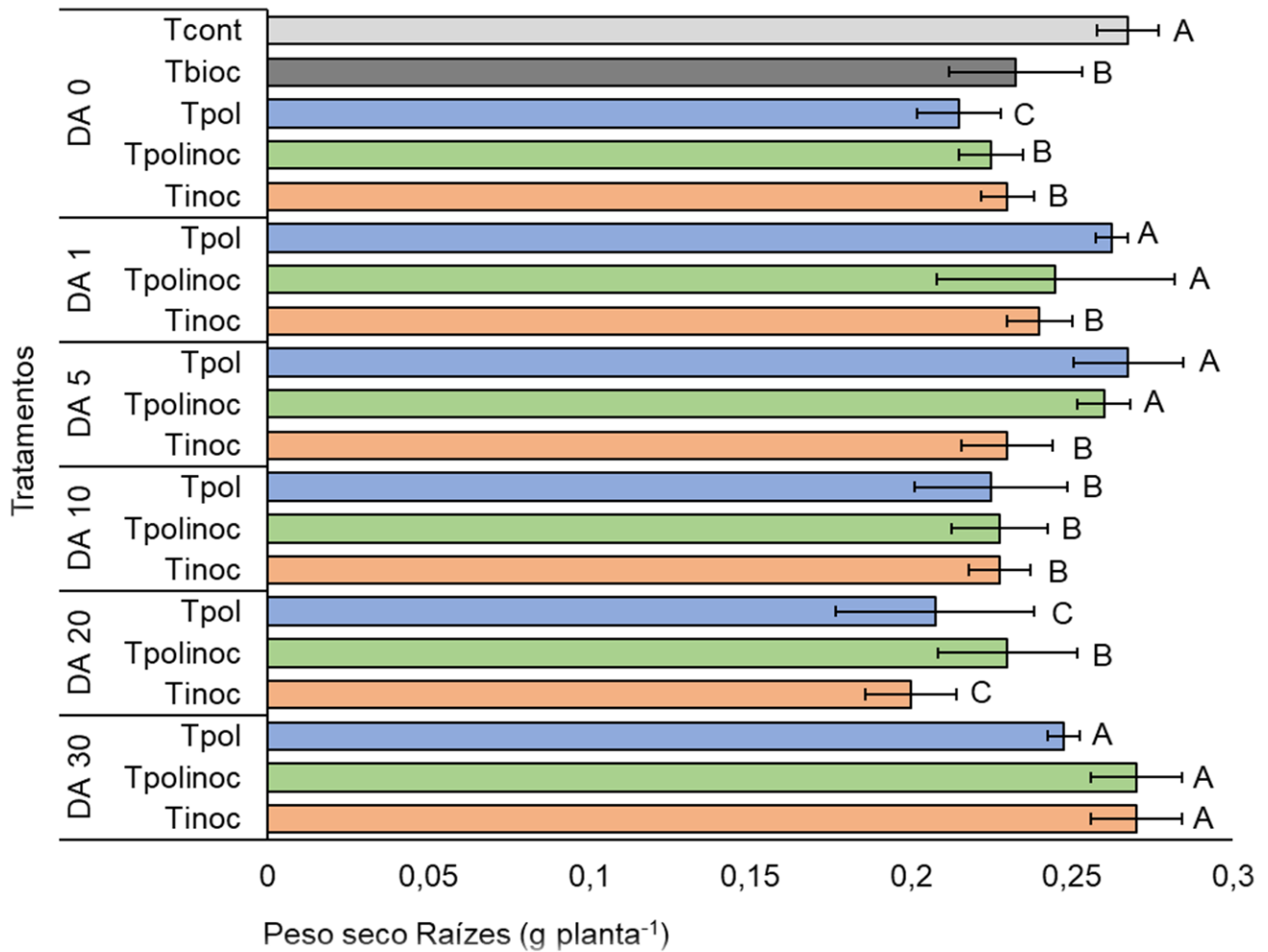
No primeiro ensaio o objetivo foi verificar como os tratamentos de inoculação e tempos de armazenamento de sementes tratadas com revestimento polimérico, além da inoculação utilizando o biocompósito, influenciariam no desenvolvimento das plantas de soja. Conforme as Figuras 6 e 7 os resultados mantiveram-se próximos aos da testemunha. Para fins de validação para o material, foi um resultado positivo para continuação do trabalho.

**Figura 6.** Peso seco da parte aérea (g) de plantas de soja em resposta ao uso de revestimento polimérico biodegradável, inoculação com bactérias benéficas e biocompósito, sob seis tempos de armazenamento pós-tratamento de sementes.



Tcont, tratamento controle (sementes nuas sem adição de bactérias); Tpol, sementes revestidas com polímero; Tpolinoc, sementes revestidas com polímero e adicionadas das bactérias *Bradyrhizobium* 5079, 5080 + *Rizobium* 8.1.2.1; Tinoc, sementes inoculadas com *Bradyrhizobium* 5079, 5080 + *Rizobium* 8.1.2.1; Tbioc, biocompósito. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Skott-Knott ( $p > 0,05$ ).

**Figura 7.** Peso seco raiz (g) de plantas de soja em resposta ao uso de revestimento polimérico biodegradável, inoculação com bactérias benéficas e biocompósito, sob seis tempos de armazenamento pós-tratamento de sementes.



Tcont, tratamento controle (sementes nuas sem adição de bactérias); Tpol, sementes revestidas com polímero; Tpolinoc, sementes revestidas com polímero e adicionadas das bactérias *Bradyrhizobium* 5079, 5080 + *Rizobium* 8.1.2.1; Tinoc, sementes inoculadas com *Bradyrhizobium* 5079, 5080 + *Rizobium* 8.1.2.1; Tbioc, biocompósito. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Skott-Knott ( $p > 0,05$ ).

Houve variações de crescimento das plantas de soja sob diferentes tratamentos de revestimentos tanto para parte aérea como peso seco raiz. Conforme observado nas figuras 6 e 7, as sementes tratadas não apresentaram diminuição do peso seco e da parte aérea, para o uso de biocompósito, contendo rizóbios simbióticos em comparação ao tratamento controle (Tcont). Esses resultados indicam que os tratamentos e os tempos de armazenamentos de sementes influenciaram na quantidade de biomassa na parte aérea, sendo o tratamento do revestimento (Tpol) em 10 dias e polímero e inoculante (Tpolinoc), já para o tratamento com inoculante (Tinoc) o maior acréscimo de matéria seca parte aérea ocorreu no tempo 30 dias. Na

figura 7 os resultados das avaliações do peso seco da raiz de soja sob diferentes tratamentos apresentaram variações conforme o tempo de armazenamento das sementes antes da semeadura. É importante destacar que após 30 dias de armazenamento aquelas sementes que receberam inoculantes (Tpinoc e Tinoc), resultaram em plantas com maior quantidade de biomassa no peso seco de raiz, indicando que a aplicação de inoculantes foi benéfica com o tempo maior de armazenamento.

O acúmulo de matéria seca constitui um importante componente de produtividade, sendo crescente ao longo de todo o estágio de crescimento vegetativo da soja e diminuindo após o estágio reprodutivo, durante o enchimento dos grãos. A biomassa da parte aérea das plantas indica sua capacidade fotossintética, enquanto a biomassa de raízes é um bom indicativo do estado nutricional e do potencial de nodulação e absorção de nutrientes da solução do solo. Plantas com melhores condições nutricionais tendem a investir na biomassa da parte aérea, de forma a aumentar a sua capacidade de fotossíntese, enquanto plantas com restrição nutricional investem mais na biomassa de raízes de forma a aumentar o volume de solo explorado e suplantam esta limitação (GONÇALVES et al., 2011).

A biomassa da planta (raiz e parte aérea) indica o quadro geral de crescimento, onde plantas com melhores condições de crescimento apresentam maiores quantidades de biomassa. Este acúmulo de biomassa é dependente de fatores ambientais e fisiológicos da planta, com destaque para o estado nutricional e principalmente a disponibilidade de nitrogênio, que influencia diretamente a taxa fotossintética. As condições de solo e clima também são importantes para determinar o potencial máximo de produção da soja (GONÇALVES et al., 2011).

Sendo assim, o acúmulo de biomassa adequado pelas plantas é fundamental, para alcançar altas produtividades, e depende da elevada eficiência em interceptar a radiação solar pelas plantas, e converter a radiação interceptada em biomassa. Uma prática de manejo que interfere diretamente no acúmulo de biomassa pela cultura da soja é a densidade de semeadura. (BALBINOT JUNIOR et al., 2018)

A Figura 8 apresenta os resultados de nitrogênio foliar das plantas cultivadas por 45 dias em casa de vegetação, comparando os resultados dos diferentes tratamentos de inoculação, com e sem revestimento de sementes.

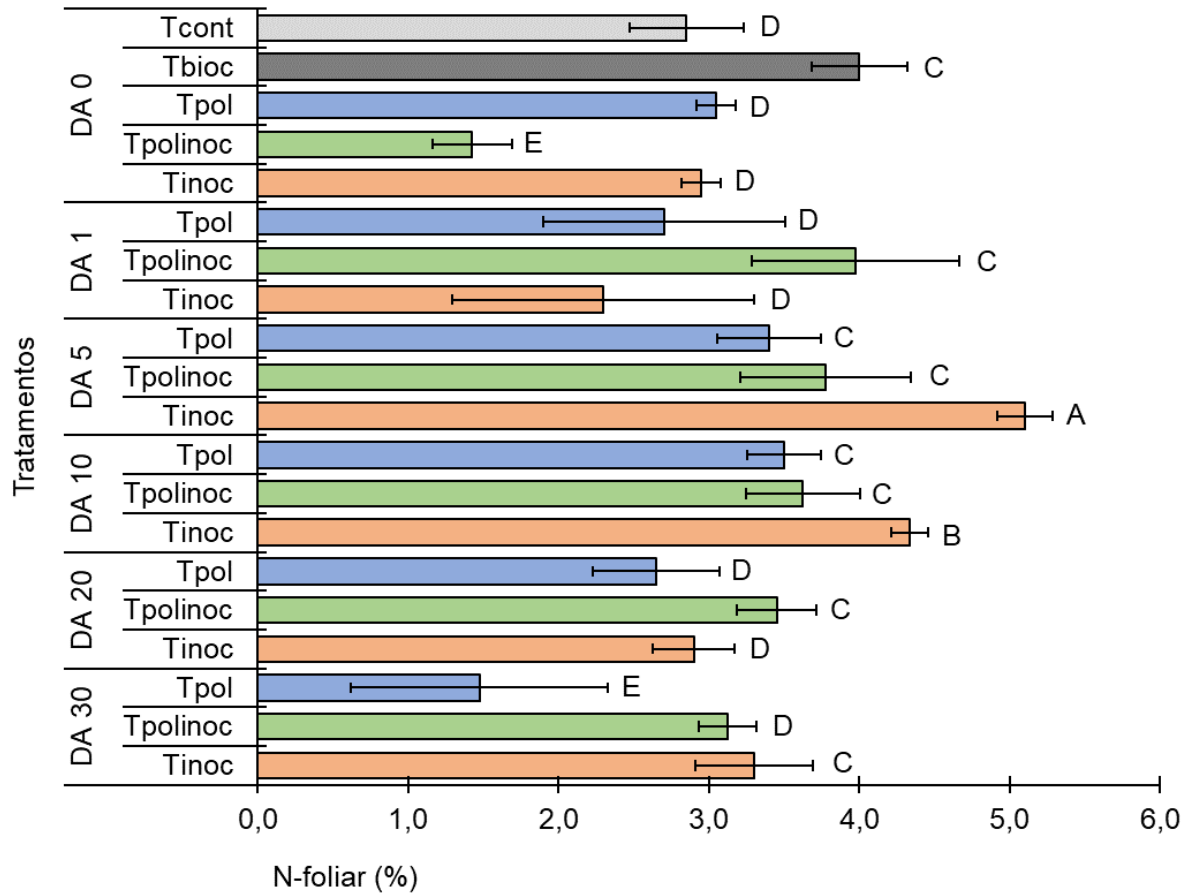
De maneira interessante, o conteúdo de N-foliar com tratamento com de inoculante no tempo de 05 dias de armazenamento obteve maior acúmulo, então

o tempo armazenamento foi importante no aumento do teor de nitrogênio foliar (Figura 8).

O conteúdo de nitrogênio aparece com destaque entre os fatores nutricionais de produção de grãos, uma vez que também é indicador da eficiência simbiótica entre a soja e os rizóbios. Segundo Hungria et al. (2011) a maior contribuição dessa associação simbiótica ocorre entre leguminosas com bactérias denominadas rizóbios, apresentando as taxas mais elevadas de fixação biológica.

Ainda de acordo com Barranqueiro e Dalchiavon, (2017) ocorre um pico da necessidade de nitrogênio na fase reprodutiva da soja, principalmente na fase de enchimento de grãos (R5), visto que durante o enchimento dos grãos os fotossintatos produzidos e os nutrientes que foram armazenados durante o desenvolvimento da planta são translocados para os órgãos reprodutivos da planta, e por meio da fixação biológica de nitrogênio pode-se obter alta produtividade e conseguir uma eficiência na fixação de até 88%.

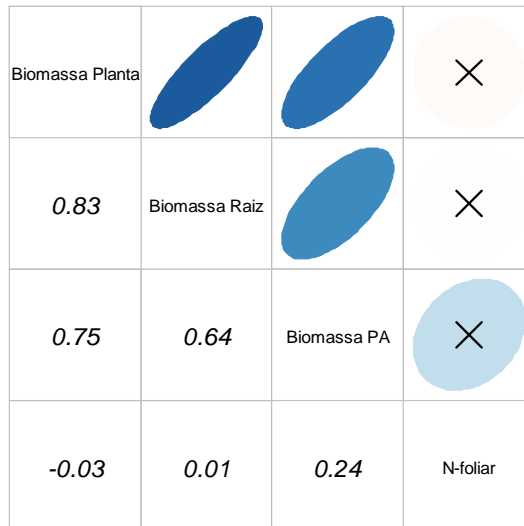
**Figura 8.** N foliar total (%) de plantas de soja em resposta ao uso de revestimento polimérico biodegradável, inoculação com bactérias benéficas e biocompósito, sob seis tempos de armazenamento pós tratamento de sementes.



Tcont, tratamento controle (sementes nuas sem adição de bactérias); Tpol, sementes revestidas com polímero; Tpolinoc, sementes revestidas com polímero e adicionadas das bactérias *Bradyrhizobium* 5079, 5080 + *Rizobium* 8.1.2.1; Tinoc, sementes inoculadas com *Bradyrhizobium* 5079, 5080 + *Rizobium* 8.1.2.1; Tbioc, biocompósito. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Skott-Knott ( $p > 0,05$ ).

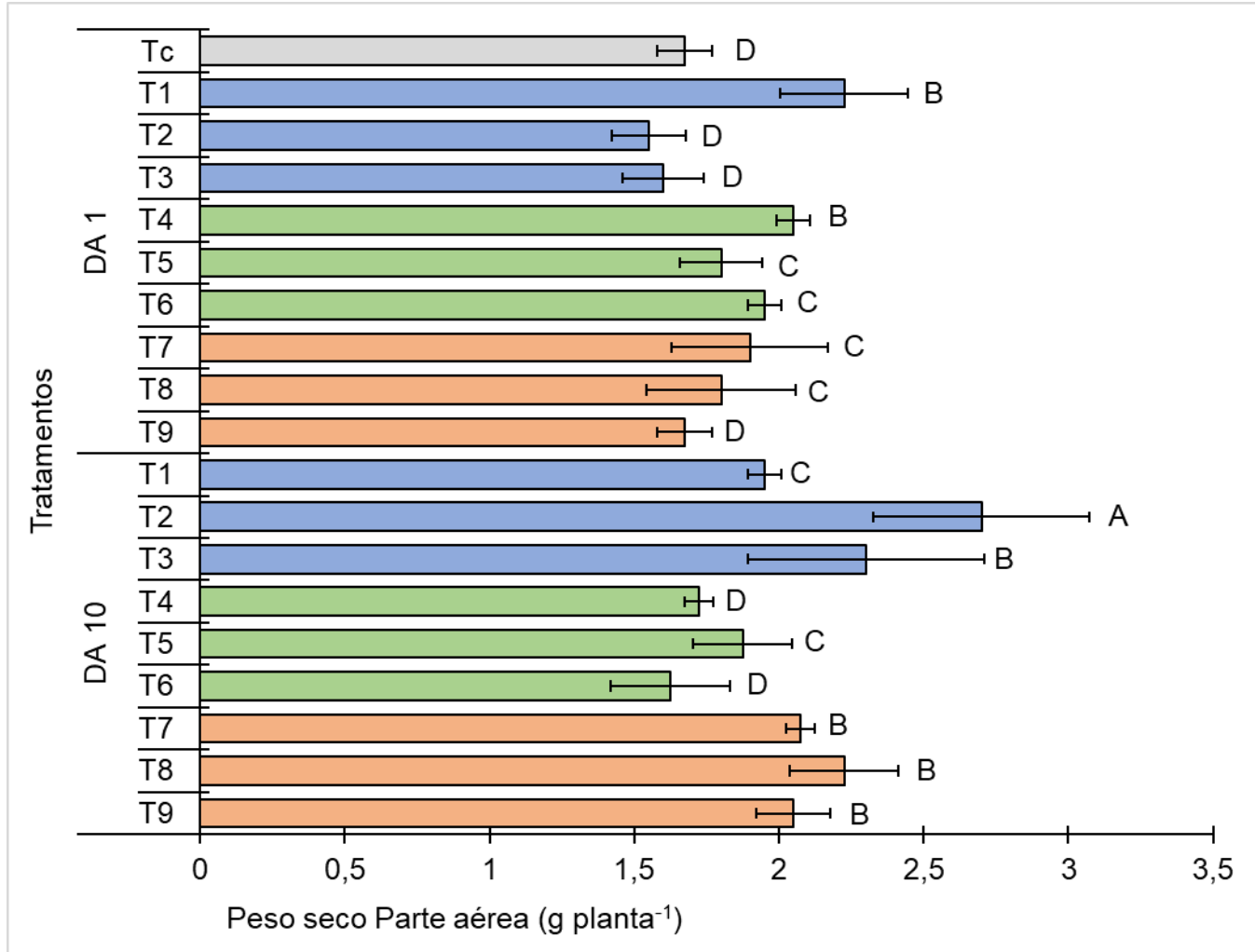
Porém, não houve correlação significativa entre o conteúdo de N-foliar e nenhuma das variáveis relacionadas ao acúmulo de biomassa, como observado na Figura 9.

**Figura 9.** Análise de correlação entre as variáveis de crescimento (acúmulo de matéria seca) e teor foliar de nitrogênio de plantas de soja crescidas por 45 dias em casa de vegetação. Valores dos coeficientes de correlação são apresentados na metade inferior da figura, enquanto a significância ( $p < 0,05$ ) está indicada na parte superior da figura, onde elipses marcadas com “x” indicam ausência de significância.



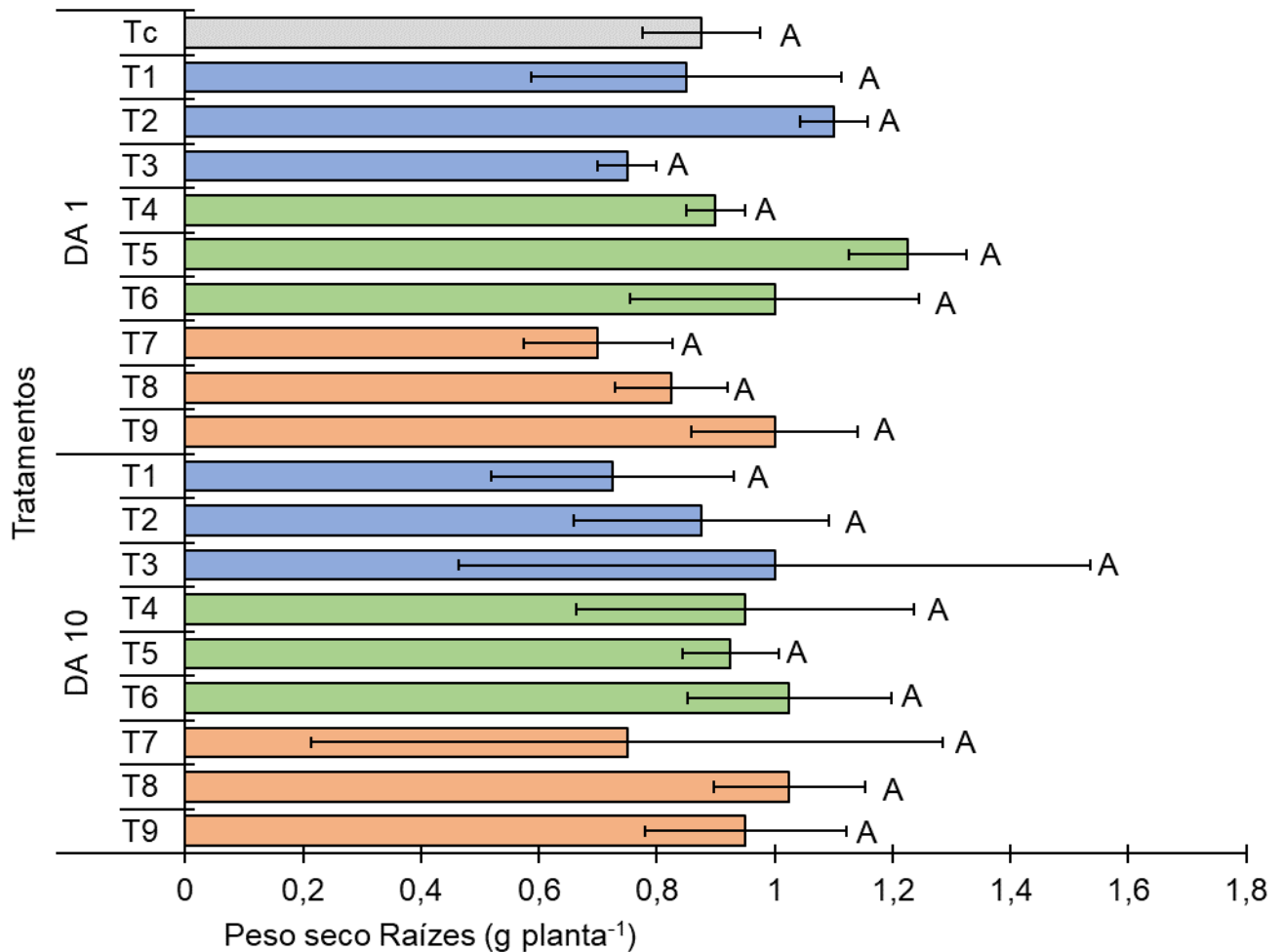
Em um segundo ensaio de crescimento realizado em casa de vegetação foi avaliado diferentes combinações de inoculantes utilizadas no segundo ensaio de germinação, aplicadas diretamente às sementes, imobilizadas sobre as sementes por meio do revestimento com polímeros, ou adicionadas como inoculante sólido (biocompósito). Os resultados de acúmulo de matéria seca da parte aérea e raízes são apresentados nas Figuras 10 e 11, respectivamente. O acúmulo de biomassa na parte aérea das plantas foi maior para os tratamentos que utilizaram sementes revestidas adicionadas de rizóbios e bactérias promotoras de crescimento (*A. brasilense* Ab-V5 e *Bacillus* sp. ZK (Figura 10). Para T2 e T3, entretanto este efeito foi observado somente para sementes armazenadas por 10 dias a temperatura ambiente. Diferentemente de T1 que se diferenciou dos demais por ter incremento da biomassa da parte aérea somente quando as sementes foram armazenadas por 24h, com redução após 10 dias de armazenamento. Enquanto as sementes nuas adicionadas ao biocompósito as mesmas bactérias (*A. brasilense* Ab-V5 e *Bacillus* sp. ZK), não apresentaram diferenças significativas.

**Figura 10.** Peso seco parte aérea (g) em resposta ao uso de revestimento polimérico biodegradável, inoculação com bactérias benéficas e biocompósito, sob dois tempos de armazenamento pós-tratamento de sementes de soja.



Tc, tratamento controle (sementes nuas sem adição de bactérias); T1, sementes revestidas com polímero e adicionadas das bactérias *B. japonicum* SEMIA 5079, *B. diazoefficiens* SEMIA 5080; T2, sementes revestidas com polímero e adicionadas das bactérias *B. japonicum* SEMIA 5079, *B. diazoefficiens* SEMIA 5080 e *A. brasilense* Ab-V5; T3, sementes revestidas com polímero e adicionadas das bactérias *B. japonicum* SEMIA 5079, *B. diazoefficiens* SEMIA 5080 e *Bacillus* sp. ZK; T4, sementes nuas e adicionadas das bactérias *B. japonicum* SEMIA 5079, *B. diazoefficiens* SEMIA 5080; T5, sementes nuas e adicionadas das bactérias *B. japonicum* SEMIA 5079, *B. diazoefficiens* SEMIA 5080 e *A. brasilense* Ab-V5; T6, sementes nuas e adicionadas das bactérias *B. japonicum* SEMIA 5079, *B. diazoefficiens* SEMIA 5080 e *Bacillus* sp. ZK; T7, biocompósito + *Bradyrizobium* 5079, 5080; T8, biocompósito + *Bradyrizobium* 5079, 5080 + Abv5; T9, biocompósito + *Bradyrizobium* 5079, 5080 + ZK. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Skott-Knott ( $p > 0,05$ ).

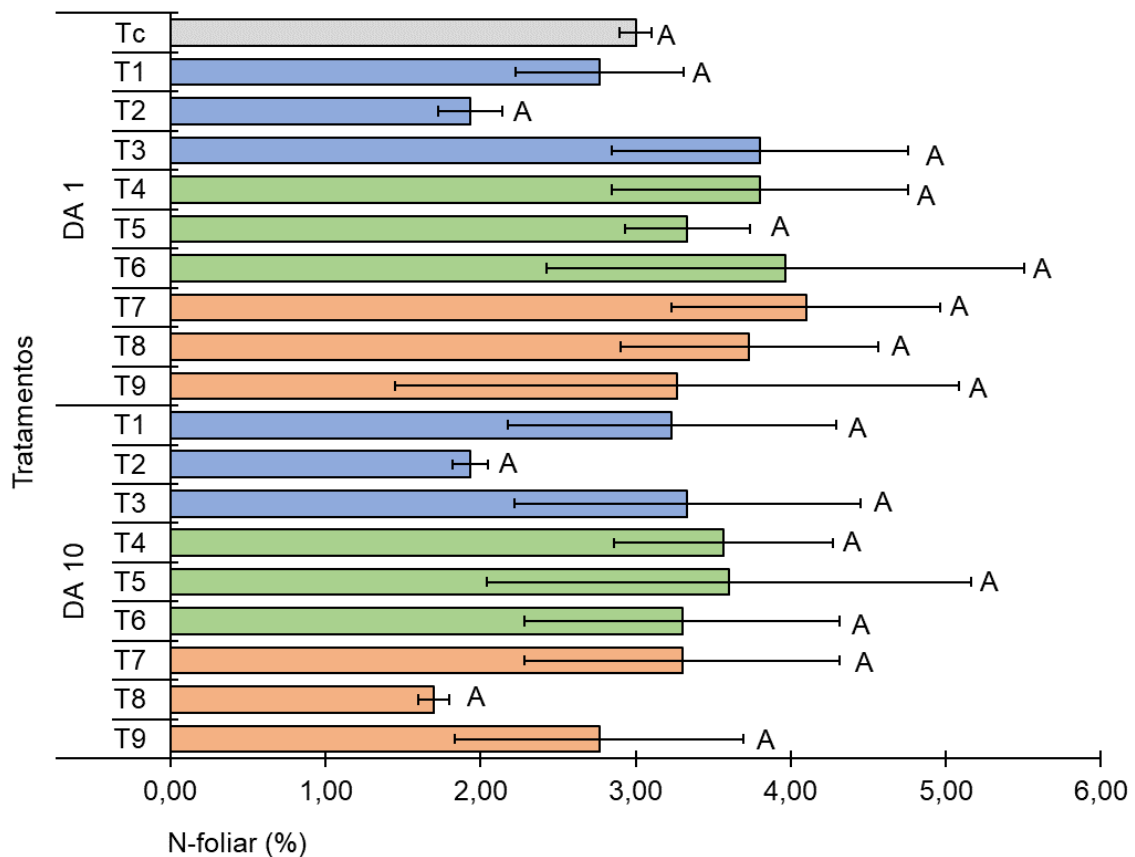
**Figura 11.** Peso seco raiz (g) em resposta ao uso de revestimento polimérico biodegradável, inoculação com bactérias benéficas e biocompósito, sob dois tempos de armazenamento pós-tratamento de sementes de soja.



Tc, tratamento controle (sementes nuas sem adição de bactérias); T1, sementes revestidas com polímero e adicionadas das bactérias *B. japonicum* SEMIA 5079, *B. diazoefficiens* SEMIA 5080; T2, sementes revestidas com polímero e adicionadas das bactérias *B. japonicum* SEMIA 5079, *B. diazoefficiens* SEMIA 5080 e *A. brasilense* Ab-V5; T3, sementes revestidas com polímero e adicionadas das bactérias *B. japonicum* SEMIA 5079, *B. diazoefficiens* SEMIA 5080 e *Bacillus* sp. ZK; T4, sementes nuas e adicionadas das bactérias *B. japonicum* SEMIA 5079, *B. diazoefficiens* SEMIA 5080; T5, sementes nuas e adicionadas das bactérias *B. japonicum* SEMIA 5079, *B. diazoefficiens* SEMIA 5080 e *A. brasilense* Ab-V5; T6, sementes nuas e adicionadas das bactérias *B. japonicum* SEMIA 5079, *B. diazoefficiens* SEMIA 5080 e *Bacillus* sp. ZK; T7, biocompósito + *Bradyrhizobium*5079,5080; T8, biocompósito + *Bradyrhizobium*5079,5080+ Abv5; T9, biocompósito + *Bradyrhizobium*5079,5080 + ZK. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pela ANOVA ( $p > 0,05$ ).

A avaliação do status nutricional das plantas relacionado à nutrição nitrogenada é apresentada na Figura 12. Os dados de N-foliar ensaio 2, não foi observado diferenças significativas, em resposta aos tratamentos avaliados, (independentemente do tempo de armazenamento das sementes).

**Figura 12.** N foliar total (%) em resposta ao uso de revestimento polimérico biodegradável, inoculação com bactérias benéficas e biocompósito, sob dois tempos de armazenamento pós-tratamento de sementes de soja.

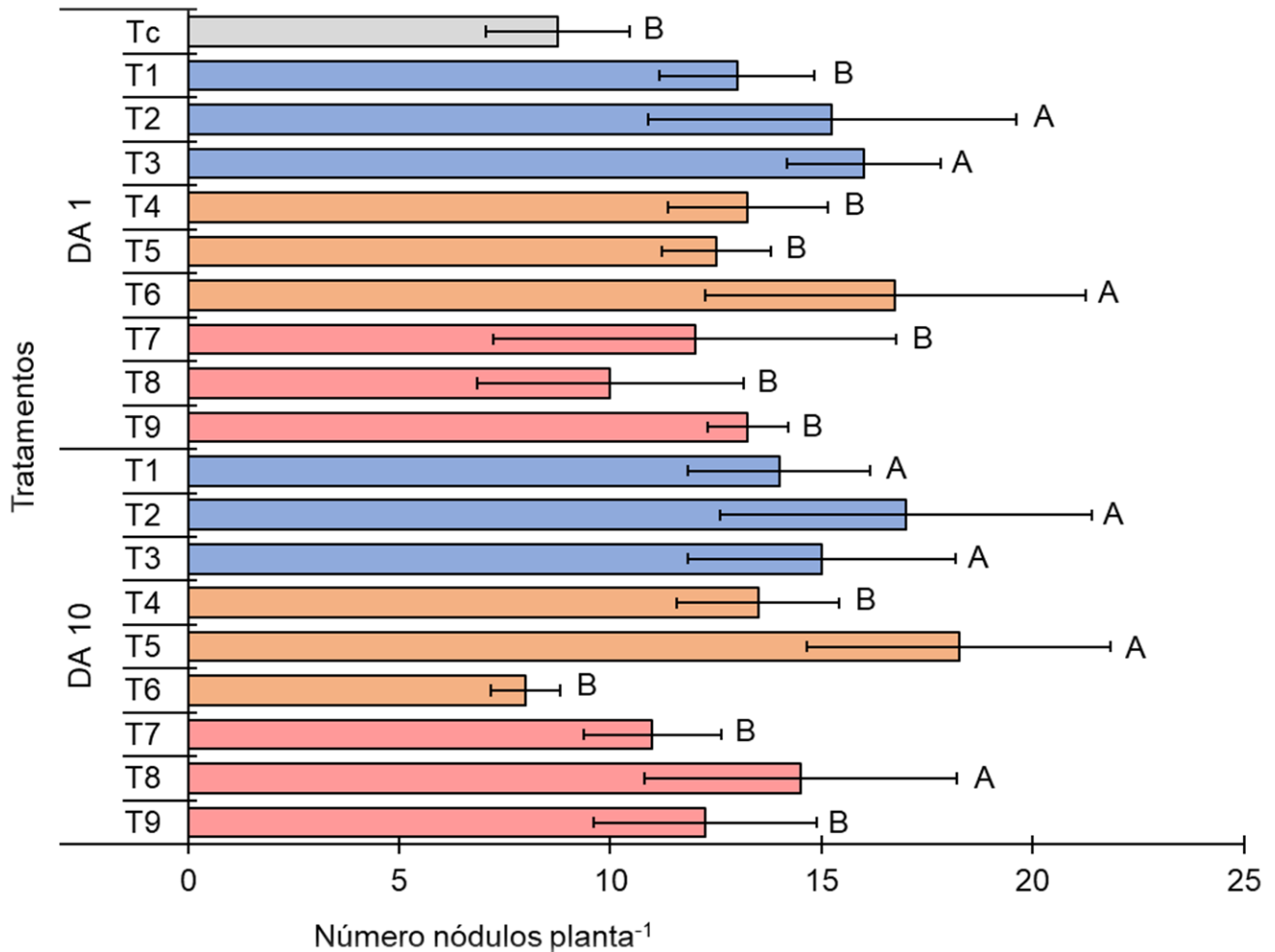


Tc, tratamento controle (sementes nuas sem adição de bactérias); T1, sementes revestidas com polímero e adicionadas das bactérias *B. japonicum* SEMIA 5079, *B. diazoefficiens* SEMIA 5080; T2, sementes revestidas com polímero e adicionadas das bactérias *B. japonicum* SEMIA 5079, *B. diazoefficiens* SEMIA 5080 e *A. brasilense* Ab-V5; T3, sementes revestidas com polímero e adicionadas das bactérias *B. japonicum* SEMIA 5079, *B. diazoefficiens* SEMIA 5080 e *Bacillus* sp. ZK; T4, sementes nuas e adicionadas das bactérias *B. japonicum* SEMIA 5079, *B. diazoefficiens* SEMIA 5080; T5, sementes nuas e adicionadas das bactérias *B. japonicum* SEMIA 5079, *B. diazoefficiens* SEMIA 5080 e *A. brasilense* Ab-V5; T6, sementes nuas e adicionadas das bactérias *B. japonicum* SEMIA 5079, *B. diazoefficiens* SEMIA 5080 e *Bacillus* sp. ZK; T7, biocompósito + *Bradyrizobium*5079,5080; T8, biocompósito + *Bradyrizobium*5079,5080+ Abv5; T9, biocompósito + *Bradyrizobium*5079,5080 + ZK. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pela ANOVA ( $p > 0,05$ ).

De maneira interessante, houve diferenças significativas para o número médio de nódulos entre os diferentes tratamentos de inoculação e o tratamento controle, foi maior para os tratamentos que utilizaram sementes revestidas ou nuas, adicionadas de rizóbios e bactérias promotoras de crescimento (*A. brasilense* Ab-V5 e *Bacillus* sp. e ZK.T2 e T5, este efeito foi observado em sementes armazenadas por 10 dias a temperatura ambiente. Enquanto as sementes nuas adicionadas ao biocompósito as mesmas bactérias (*Bacillus* sp. ZK), foi maior para o tempo de 1 dia de armazenamento, com decréscimo após 10 dias de armazenamento. Entretanto para análise do peso seco dos nódulos demonstra que o tratamento de sementes nuas adicionadas de rizóbios e (*Bacillus* sp ZK) T5, promoveu o incremento no tamanho dos nódulos formados, quando foram utilizadas sementes armazenadas por 10 dias, o mesmo pode ser observado para o biocompósito adicionados de rizóbios e (*Bacillus* sp ZK) T9,o tempo de armazenamento foi importante nessa associação de bactérias para formulação do inoculante.

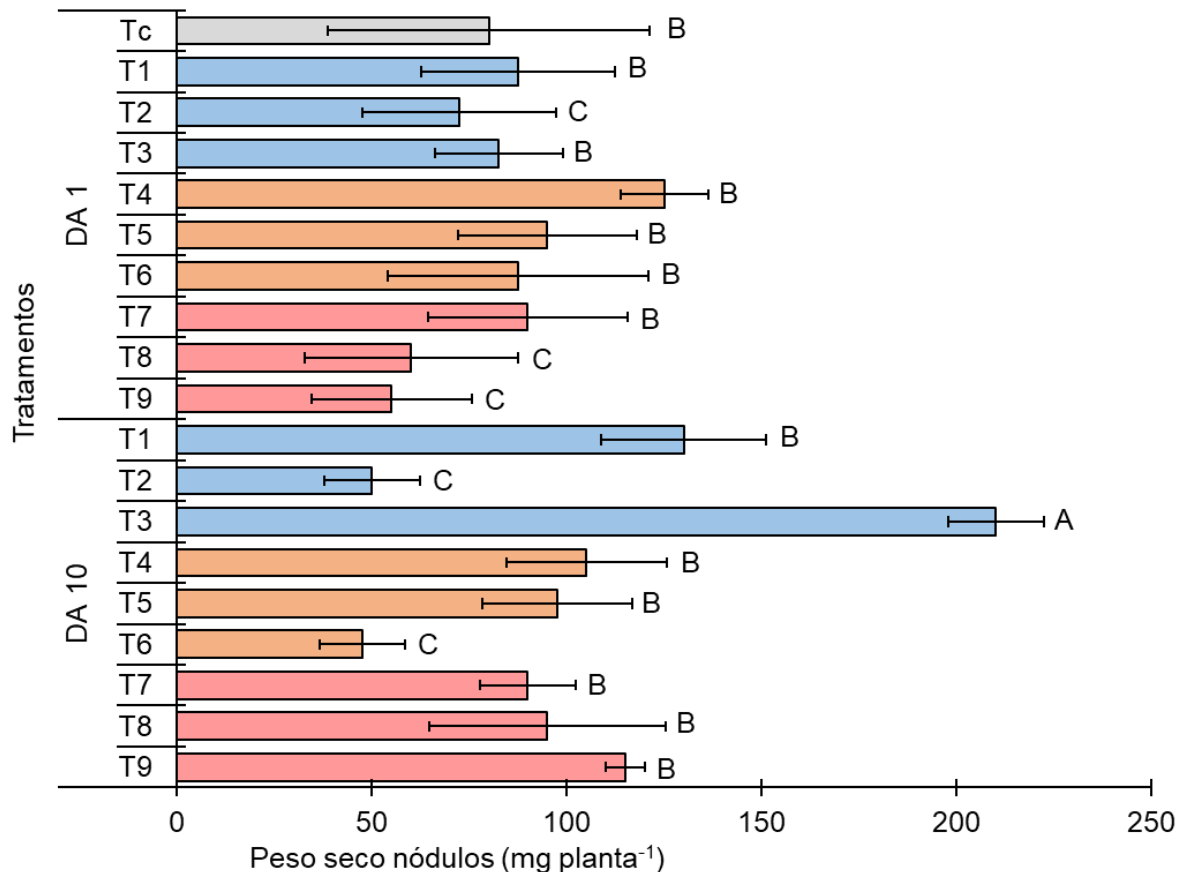
O número e peso de nódulos (Figuras 13 e 14) em plantas leguminosas podem ser indicativos de sucesso do processo de inoculação, onde sua distribuição e região que se localizam indica quando os nódulos foram formados por estirpes inoculas (região do colo da raiz principal), ou quando são provenientes de estirpes de rizóbio nativas do solo (raízes secundárias, como resultado de nodulação tardia). A quantidade de 10 a 30 nódulos por planta, no período de florescimento, pode resultar em condições adequadas para a obtenção de altos teores de nitrogênio biologicamente fixado e alto rendimento de grãos, (CÂMARA et al. 2006).

**Figura 13.** Número nódulos (g) em resposta ao uso de revestimento polimérico biodegradável, inoculação com bactérias benéficas e biocompósito, sob dois tempos de armazenamento pós-tratamento de sementes de soja.



Tc, tratamento controle (sementes nuas sem adição de bactérias); T1, sementes revestidas com polímero e adicionadas das bactérias *B. japonicum* SEMIA 5079, *B. diazoefficiens* SEMIA 5080; T2, sementes revestidas com polímero e adicionadas das bactérias *B. japonicum* SEMIA 5079, *B. diazoefficiens* SEMIA 5080 e *A. brasilense* Ab-V5; T3, sementes revestidas com polímero e adicionadas das bactérias *B. japonicum* SEMIA 5079, *B. diazoefficiens* SEMIA 5080 e *Bacillus* sp. ZK; T4, sementes nuas e adicionadas das bactérias *B. japonicum* SEMIA 5079, *B. diazoefficiens* SEMIA 5080; T5, sementes nuas e adicionadas das bactérias *B. japonicum* SEMIA 5079, *B. diazoefficiens* SEMIA 5080 e *A. brasilense* Ab-V5; T6, sementes nuas e adicionadas das bactérias *B. japonicum* SEMIA 5079, *B. diazoefficiens* SEMIA 5080 e *Bacillus* sp. ZK; T7, biocompósito + *Bradyrizobium* 5079, 5080; T8, biocompósito + *Bradyrizobium* 5079, 5080 + Abv5; T9, biocompósito + *Bradyrizobium* 5079, 5080 + ZK. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Skott-Knott ( $p > 0,05$ ).

**Figura 14.** Peso seco nódulos (g) em resposta ao uso de revestimento polimérico biodegradável, inoculação com bactérias benéficas e biocompósito, sob dois tempos de armazenamento pós-tratamento de sementes de soja.



Tc, tratamento controle (sementes nuas sem adição de bactérias); T1, sementes revestidas com polímero e adicionadas das bactérias *B. japonicum* SEMIA 5079, *B. diazoefficiens* SEMIA 5080; T2, sementes revestidas com polímero e adicionadas das bactérias *B. japonicum* SEMIA 5079, *B. diazoefficiens* SEMIA 5080 e *A. brasilense* Ab-V5; T3, sementes revestidas com polímero e adicionadas das bactérias *B. japonicum* SEMIA 5079, *B. diazoefficiens* SEMIA 5080 e *Bacillus* sp. ZK; T4, sementes nuas e adicionadas das bactérias *B. japonicum* SEMIA 5079, *B. diazoefficiens* SEMIA 5080; T5, sementes nuas e adicionadas das bactérias *B. japonicum* SEMIA 5079, *B. diazoefficiens* SEMIA 5080 e *A. brasilense* Ab-V5; T6, sementes nuas e adicionadas das bactérias *B. japonicum* SEMIA 5079, *B. diazoefficiens* SEMIA 5080 e *Bacillus* sp. ZK; T7, biocompósito + *Bradyrhizobium*5079,5080; T8, biocompósito + *Bradyrhizobium*5079,5080+ Abv5; T9, biocompósito + *Bradyrhizobium*5079,5080 + ZK. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Skott-Knott ( $p > 0,05$ ).

A ausência de nódulos pode estar relacionada com a má qualidade dos inoculantes utilizados, embora ocorra variação quantitativa no número de nódulos

conforme a cultivar e o ambiente de produção. Ao longo do ciclo da cultura, há renovação dos nódulos radiculares que possuem um ciclo de atividade funcional, sendo a fase de florescimento onde ocorre o ponto de máxima nodulação e atividade dos nódulos (SEDIYAMA, 2009).

*Azospirillum* é a bactéria promotora de crescimento vegetal mais estudada, e um dos seus efeitos é o aumento da produção de pelos radiculares e crescimento radicular, beneficiando as plantas com melhor absorção de água e nutrientes. Uma vez que a formação dos nódulos inicia nos pelos radiculares a coinoculação da soja com *Azospirillum* e *Bradyrhizobium* resulta na formação precoce de nódulos devido ao aumento do número de pelos radiculares disponíveis para serem infectados pelo rizóbio, esse efeito foi constatado por Chibeba et al., (2015), que obteve resultados positivos quanto ao aumento de número de nódulos nessa associação de microrganismos, esse aumento da nodulação foi atribuído ao *Azospirillum* que pode alterar a morfologia das raízes, como o incremento no número de pelos radiculares, assim como verificou-se no presente trabalho que também houve um incremento no número nódulos, peso seco raíz e parte aérea.

O efeito sinérgico dessa inoculação mista consiste na utilização de combinações de diferentes microrganismos para superar os resultados produtivos obtidos pelo uso dos inoculantes convencionalmente aplicados às leguminosas. Deste modo, produtos à base de *Azospirillum brasilense* têm sido preconizados para coinoculação de soja, juntamente com *Bradyrhizobium*, onde se sugere ocorrer a potencialização da nodulação e maior crescimento radicular (BARBÁRO et al., 2009). Adicionalmente, os resultados de avaliação do status nutricional corroboram os dados de acúmulo de biomassa das plantas e indicam que a inoculação da soja com rizóbios e a bactéria *Bacillus* sp. estirpe ZK pode incrementar o desenvolvimento e a produtividade, quando estes microrganismos são imobilizados ao tegumento das sementes com antecedência ao plantio.

A bactéria *Bacillus* sp. ZK tem demonstrado importantes resultados de promoção do crescimento em milho (CALZAVARA et al., 2018) e espécies arbóreas (TIEPO et al. 2018), e neste trabalho este microrganismo é utilizado pela primeira vez em soja, em conjunto com as estirpes de rizóbio tradicionais. Ensaios de produtividade conduzidos a campo deverão confirmar o potencial deste novo isolado em compor inoculantes comerciais para a soja, como também validar a tecnologia de revestimento

das sementes com polímeros biodegradáveis, que demonstraram ganhos significativos quando aplicados com 10 dias de antecedência ao plantio.

Uma vez que a produção de alimentos busque a redução do uso de agrotóxicos e fertilizantes solúveis em direção a um sistema de agricultura sustentável e com uso de insumos produzidos a partir de fontes renováveis, as tecnologias capazes de melhorar a qualidade e o desenvolvimento vegetal serão cada vez mais importantes. Assim, o emprego de revestimento de sementes com polímeros biodegradáveis, em conjunto com a incorporação de bactérias promotoras de crescimento vegetal, constitui uma das alternativas capazes de atender a esta demanda.

## 6. CONCLUSÃO

O revestimento de sementes de soja com polímeros biodegradáveis resultou em diminuição da taxa de germinação de sementes, quando estas foram armazenadas por mais de 10 dias após o tratamento de revestimento. Por outro lado, foi observado um efeito benéfico do tratamento de revestimento de sementes sobre a germinação de sementes quando houve adição de bactérias benéficas (rizóbios e bactérias promotoras do crescimento vegetal), especialmente após as sementes passarem por um período de armazenamento de 10 dias. A tecnologia de revestimento de sementes com polímeros adicionados de bactérias benéficas apresentou-se como uma alternativa capaz de ser incorporada às tecnologias sustentáveis para a agricultura, pelas características dos materiais utilizados para a confecção do revestimento e produção dos inoculantes (materiais de baixo custo e biodegradáveis). Além disso, o revestimento com polímero biodegradável pode ser adicionado de outros insumos além de microrganismos, potencializando os benefícios de seu uso para a agricultura.

Esse estudo mostrou que é possível a interação entre diferentes microrganismos benéficos para plantas, pois nas análises realizadas obteve-se que não houve competição entre os mesmos. Além disso a aplicação de revestimento com biopolímeros é interessante pois são atóxicos, possuem baixo custo, tem propriedades adequadas que proporcionam uma boa espalhabilidade na sementes da soja e ainda confere proteção as mesmas.

## 7. REFERÊNCIAS

- ABCSEM - Associação Brasileira de Comércio Sementes e Mudanças. **Tomate lidera crescimento e lucratividade no setor de hortaliças**, 2017 <[http://www.abcsem.com.br/releases/284/tomate-lidera-crescimento-e-lucratividade-no-setor-de-hortalicas->](http://www.abcsem.com.br/releases/284/tomate-lidera-crescimento-e-lucratividade-no-setor-de-hortalicas-)Acesso em :30 de Setembro 2017.
- ABIPLAST. **Indústria brasileira de transformação de material plástico – Perfil 2014.** <[http://file.abiplast.org.br/download/links/2015/perfil\\_abiplast\\_2014\\_web.pdf](http://file.abiplast.org.br/download/links/2015/perfil_abiplast_2014_web.pdf)> Acesso em: 02 de novembro de 2017.
- AZEVEDO, Márcia R. de Q. A. et al . Influência das embalagens e condições de armazenamento no vigor de sementes de gergelim. **Rev. bras. eng. agríc. ambient.**, Campina Grande , v. 7, n. 3, p. 519-524, Dec. 2003
- BAYS, R.; BAUDET, L.; HENNING, A. A.; LUCCA FILHO, O. **Recobrimento de sementes de soja com micronutrientes, fungicida e polímero.** Revista Brasileira de Sementes, Viçosa, MG, v.29, n.2, p.60-67, 2007.
- BALDANI, J. I.; BALDANI, V. L. D. History on the biological nitrogen fixation research in graminaceous plants: special emphasis on the brazilian experience. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 77, p. 549-579, 2005.
- BÁRBARO et al. Produtividade da Soja em Resposta á Inoculação Padrão e Co-Inoculação. **Colloquium Agrariae**, v.5, p. 01-07, 2009.
- BARRANQUEIRO,H.; DALCHIAVO,F.C. **Nitrogen application on soybean:** Revista de Ciências Agrárias v.40, p.196-204 Lisboa março. 2017.
- BAUDET,L.; PERES, W.B. **Recobrimento de Sementes.** In: Revista Seed News, Pelotas, ano VIII. n.1, p. 20-23, janeiro-fevereiro 2004.
- BRANDELERO, H. R. , **Sementes de Cebola Incrustadas Com Polímeros Biodegradáveis** , 2º Congresso de ciência e tecnologia , Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos ,2012.
- BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análises de sementes: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento da Agricultura, Secretaria de Defesa Agropecuária.** Brasília,n.1,p.147-224,2009.
- BULGARELLI, D.; SCHLAEPPI, K.; SPAEPEN, S.; VAN THEMAAT, E. V. L.; SCHULZE-LEFERT, P. Structure and functions of the bacterial microbiota of plants. **Annual Review of Plant Biology**, v. 64, p. 807-838, 2013.
- CALZAVARA A.K., PAIVA P.H.G., GABRIEL L.C., OLIVEIRA A.L.M., MILANI K., OLIVEIRA H.C.. Associative bacteria influence maize (*Zea mays* L.)

growth, physiology and root anatomy under different nitrogen levels. Papen H, editor. **Plant Biology**. 2018;20: 870–878.

CÂMARA, Gil Miguel de Sousa. Fenologia é ferramenta auxiliar de técnicas de produção. **Visão Agrícola**, v. 3, n. 5, p. 63-66, 2006.

CAMILO, L.G. et al. **Qualidade fisiológica de sementes de soja durante o armazenamento após revestimento com agroquímicos**. Revista de Ciências Agrárias, vol.40, nº2,p. 336-346 jun. 2017.

CANTERI, M.G., ALTHUAS, R.A., VIRGENS, F.J.S., GIGLIOTI, E.A., GODOY, C.V. SASM-Agri; Sistema Para Análise e Separação de Médias em Experimentos Agrícolas Pelos Métodos de Scott-Knott, Tukey e Duncan. **Revista Brasileira de Agrocomputação**, v.1,n.2,p.18-24, 2001.

CONCEIÇÃO, Marluci, Patricia. **Recobrimento de Sementes Com Ácidos Húmicos e Bactérias Diazotróficas Endofíticas. 2007. 110 f** Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. Campos dos Goytacazes, RJ, 2007.

CHIBEBA, A.M et al. **Inoculação de Soja com Bradyrhizobium e Azospirillum Promove Nodulação Precoce** V Congresso Brasileiro de Soja 2015.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO: **Acompanhamento da Safra Brasileira**, vol 5,nº9,p.136-140,2017/2018.

COMPANT S. et al. Plant growth-promoting bacterium in the rhizosphere of plants: Their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. **Soil Biol. Biochem.** V. 42, p.669-678, 2010.

CONTINI, E. et al. **SÉRIE DESAFIOS DO AGRONEGÓCIO BRASILEIRO (NT1) Parte 1: COMPLEXO SOJA - Caracterização e Desafios Tecnológicos**, 2018

DATE, R.A. Advances in inoculants technology: a brief review. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v.41, p.321-325, 2001.

DINIZ, A. K.; Encorporação de microorganismos, aminoácidos, micronutrientes e reguladores de crescimento em sementes de alfaces pela técnica de peliculização, **Revista Brasileira de Sementes**, v.28, nº3, pag 37 - 43, 2006.

DONADELLI, A.; KANO, C.; FERNANDES JUNIOR, F. Estudo de caso: análise econômica entre o custo de produção de morango orgânico e convencional. **Embrapa Amazônia Ocidental**, 2012.

FARIAS, José Renato Bouças. Limitações climáticas à obtenção de rendimentos máximos de soja. In: Embrapa Soja-Artigo em anais de

congresso (ALICE). In: CONGRESO DE LA SOJA DEL MERCOSUR, 5.; FORO DE LA SOJA ASIA, 1., 2011, Rosário. Un grano: un universo.[Rosário: Asociación de la Cadena de la Soja Argentina], 2011. 4 p. 1 CD-ROM. MERCOSOJA 2011., 2011.

FEHER, W.R.; CAVINESS, C.E. Stages of soy bean development. **Ames: State University of Science and Technology**, 1977. 11 p. (Special report, 80).

FIGUEIREDO, M. V. B.; BURITY, H. A.; MARTINEZ, C. R.; CHANWAY, C.P. Alleviation of water stress effects in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by co-inoculation *Paenibacillus* x *Rhizobium tropici*. **Applied Soil Ecology**, v. 40, p. 182–188, 2008.

FIGUEIREDO, T. V. B., Campos, M. I., Sousa, L. S., da Silva, J. R., & Druzian, J. I. Production and characterization of polyhydroxyalkanoates obtained by fermentation of crude glycerin from biodiesel. **Química Nova**, 7 (37), 1111–1117, 2014.

FINOTO, Everton; TUNEO, Sedyama; BARROS, Hélio. Fixação Biológica de Nitrogênio e Inoculação com *Bradyrhizobium*. In: TUNEO, Sedyama. **Tecnologias de Produção e Usos da Soja**. Londrina, Macenas, 2009. p. 1-303.

FRANCISCO, B. A.E.; CÂMARA, S.M.G. Desafios Atuais Para o Aumento da Produtividade da Soja. **Informações Agrônomicas** nº 143- Setembro. 2013.

FRANZIN, S. M. et al. Métodos para avaliação do potencial fisiológico de sementes de alface. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 26, n. 1, p. 63-69, 2004.

FREITAS, S. S.; MELO, A. M. T.; DONZELI, V. P. Promoção de crescimento de alface por rizobactérias. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 27, p. 61-70, 2003.

FURLANI, A. F. C. A.; **Performace da aplicação de polímero no tratamento de sementes de amendoim**, 2009, 57, Tese de doutorado (Doutorado em agronomia, produção e tecnologia de sementes)-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias -Universidade Estadual Paulista –Jaboticabal-2009.

GLICK, B.R. Using soil bacteria to facilitate phytoremediation. **Biotechnology advances**. v. 28, p.367-374, 2010.

GLICK, B. R. Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications. **Scientifica**, v. 2012, p. 963401, 2012.

GONÇALVES, et al, 2010. Produtividade e componentes de produção da soja adubada com diferentes doses de fósforo, potássio e zinco. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, nº 3, p. 660-666, 2010.

GU, F.; GUO, J.; ZHANG, W.; SUMMERS, P. A.; HALL, P. From waste plastics to industrial raw materials: A life cycle assessment of mechanical plastic recycling practice based on a real-world case study. **Science of The Total Environment**, v. 601–602, p. 1192-1207, 2017.

GUIMARÃES, V. F. et al. Bactérias Promotoras de Crescimento Vegetal: da FBN à regulação hormonal, possibilitando novas aplicações. **Ciências Agrárias: Ética Do Cuidado, Legislação e Tecnologia Na Agropecuária. Centro de Ciências Agrárias/Unioeste**, Marechal Candido Rondon, p. 193-212, 2017.

HABECK, E.C.; ARAÚJO, S.T.; Os Trabalhos da Embrapa na Sojicultura . **Revista Veja**. Edição Especial nº 36, ano 37, outubro, 2004

HARMAN, G.E. Myth and dogmas of biocontrol changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. **Plant Disease**, St. Paul, v.84, p.377-393, 2000. .

HATHCOCK, A. L.; DERNOEDEN, P. H.; TURNER, T. R.; McINTOSH, M. S. Tall fescue and Kentucky bluegrass response to fertilizer and lime seed coatings. **Agronomy Journal**, Madison, v.76, n.3, p.879-883, 1984.

HEATHERLY, Larry G.; SMITH, James R. Effect of soybean stem growth habit on height and node number after beginning bloom in the midsouthern USA. **Crop science**, v. 44, n. 5, p. 1855-1858, 2004.

HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.I. The water culture method for growing plants without soils. **Berkeley: California Agricultural Experimental Station**, 1950.

HOLBIG, Santos Leticia; Recobrimento de Sementes de Cenoura Osmocondicionadas, **Revista Brasileira de Sementes**, v.32, n.4, pag 022-028, 2010.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; MENDES, I.C. A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro. Londrina: Embrapa Soja, 2007. 80p. (Embrapa Soja. Documentos, 283).

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; SOUZA, E. M.; PEDROSA, F. O. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. *Plant and Soil*, 331, 413-425. 2010. <http://dx.doi.org/10.1007/s11104-009-0262-0>.

HUNGRIA, M. Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo. Londrina: Embrapa Soja, 2011. 36p. (Documentos/Embrapa Soja, ISSN 1516-781; n.325)

JAYANTH, D.; KUMAR, P. S.; NAYAK, G. C.; KUMAR, J. S.; PAL, S. K.; RAJASEKAR, R. A Review on Biodegradable Polymeric Materials Striving

Towards the Attainment of Green Environment. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 1, p. 1–28, 2017.

JUNIOR, O.B.; HUNGRIA,M(2000). Efeito de Concentrações de Solução Açucarada na Aderência do Inoculante Turfosso às Sementes, na Nodulação e no Rendimento da soja. **Revista Brasileira Ciência Solo**, p.515-526, 2000.

BALBINOT JUNIOR, A. A. et al. Crescimento de plantas de soja em função da redução da densidade de semeadura e sua relação com a Produtividade. **Embrapa Soja-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E)**, 2018.

LIMA,Silvio et al. **Estudo da Atividade Proteolítica de Enzimas Presentes em Frutos**. Química Nova Escola, 2007. Disponível em: <http://qnesc.sbq.org.br/online/qnesc28/11-EEQ-6906.pdf>. Acesso em: 11 set 2019.

LIMA, Kelly Santana. **Estudo de Nanocompósitos Poli(metacrilato de Hidroxietila) / Iaponita para revestimento de sementes**. 2018. 82f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Sergipe, - São Cristóvão, 2018.

LUDWIG,Eduardo José;Vigor e produção de sementes de crambe tratadas com fungicida, inseticida e polímero, **Revista de Ciências Agrárias – Journal of Agrarian Sciences**,V.42,n.3,p.271-277,2014.

LUDWIG, M. P.; LUCCA FILHO, O. A.; BAUDET, L.; DUTRA, L. M. C.; AVELAR, S. A. G.; CRIZEL, R. L. Qualidade de sementes de soja armazenadas após recobrimento com aminoácido, polímero, fungicida e inseticida. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v.33, n.3 p.395-406, 2011.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F.. Filmes de amido: produção, propriedades e potencial de utilização. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 1, p. 137-155, 2010.

MAPA. Mistério da Agronomia e Pecuária. **Reunião da Rede de Laboratórios para Recomendação, Padronização e Difusão de Tecnologia de Inoculantes Microbiológicos de Interesse Agrícola**. Curitiba, 2010

MAUDE, R. Progressos recentes no tratamento de sementes. In: Seminário Panamericano de Semillas, 15., 1996, Gramado, RS. **Memórias...** Passo Fundo: CESM, 1998. p. 99-106.

MENDONÇA,Furtado Aparecida Elisabeth,Revestimentos de Sementes de Milho Superdoce (SH2)1,**Revista Brasileira de Sementes**,v.29.n.2,pag 068-079,2007.

MENTEN, J.O.M. **Importância do tratamento de sementes**. In: MENTEN, J.O.M. (Ed.). Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico. Piracicaba: ESALQ/FEALQ, 1991, 321p.

MERCANTE, F. M.; HUNGRIA, M.; MENDES, I. C.; REIS JÚNIOR, F. B. Estratégias para aumentar a eficiência de inoculantes microbianos na cultura da soja. Dourados, Embrapa Agropecuária Oeste. **Embrapa Agropecuária Oeste. Comunicado técnico 169**, 2011. 4 p.

MIRANDA,S.R. O Agronegócio da Soja no Brasil: do Estado ao Capital Privado. **Revista Norus**, v.1. n. 2, jan -jun 2014.

MONTAGNER, Cassiana C. Microplásticos: contaminantes de preocupação global no Antropoceno. **Revista Virtual de Química**, v. 10, n. 6, 2018.

NASCIMENTO, W.M.; PESSOA, H.B.S.; BOITEUX, L. Qualidade fisiológica de sementes de milho-doce submetidas a diferentes processos de colheita, debulha e beneficiamento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília**, v.29, n.8, p.1211-1214, 1994.

NEPOMUCENO , A. L. ; FARIAS, J. R. B ; NEUMAIER, N. 2008. **ÁRVORE DO CONHECIMENTO - Características da soja** Disponível em: <[https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/soja/arvore/CONTAG01\\_24\\_271020069131.html](https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/soja/arvore/CONTAG01_24_271020069131.html)>Acesso em 26 de jul. 2019

NUNES, José, L. da S. **Características da Soja (Glycine max)**. Agrolink, 2013. Disponível em: . Acesso em: 22 setembro. 2018.

OLIVEIRA, T. G.; MAKISHI, G. L. A.; CHAMBI, H. N. M.; BITTANTE, A. M. Q. B.; LOURENÇO, R. V.; SOBRAL, P. J. A. Cellulose fiber reinforced biodegradable films based on proteins extracted from castor bean (*Ricinus communis* L.) cake. **Industrial Crops and Products**, v. 67, p. 355–363, 2015.

PIRES, L. L.; BRAGANTINI, C.; COSTA, J. L. S. Armazenamento de sementes de feijão revestidas com polímeros e tratadas com fungicidas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília**, v.39, n.7, p.707-715, 2004.

ROJAS-GRAÜ, M. A. et al. Alginate and gellan-based edible coatings as carriers of antibrowning agents applied on fresh-cut Fuji apples. **Food Hydrocolloids**,Amsterdam, v. 21, n. 1, p. 118-127, 2007.

SAMAL, S. K.; DASH, VLIERBERGHE, S. V.;. KAPLAN, D. L.; CHIELLINI, E.; VAN BLITTERSWIJK, C. Cationic polymers and their therapeutic potential, **Chemical Society Reviews**, v. 41, p. 7147–7194, 2012.

SANTANA, Brandão Elza; **Recobrimento de sementes de linhaça,(*linum usitatissimum* L) com Suspensão Bioplímica em Leito Jorro**, ,2016 , 151 paginas, Tese de doutorado (Doutorado em engenharia de recursos naturais da Amazônia), Universidade Federal do Pará,Belém do Pará,2016.

SANTOS, S. R. G. Peletização de Sementes Florestais no Brasil: Uma Atualização. **Floresta e Ambiente**, v. 23, n. 2, p. 286–294, 2016.

SANYANG, M.L.; ILYAS, R.A.; SAPUAN, S.M.; JUMAIDIN, R. Sugar Palm Starch-Based Composites for Packaging Applications. In. *Bionanocomposites for Packaging Applications*. Jawaid, M.; Swain, S.K. (eds.). Springer International Publishing. 2017.

SILVA, C; NAKAGAWA, J. Metodologia para avaliação de materiais cimentantes para peletização de sementes. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.16, n.1, p. 31-37, 1998.

SILVA, F. C. da. (Ed.). **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2. ed. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2009. 627 p.

SMANIOTTO et al, 2014 .Qualidade fisiológica das sementes de soja armazenadas em diferentes condições. **Revista Brasileira Engenharia Agrícola Ambiental**, vol.18 n°4. 2014.

SPOLAOR, Leandro Teodoski et al. Plant growth-promoting bacteria associated with nitrogen fertilization at topdressing in popcorn agronomic performance. **Bragantia**, v. 75, n. 1, p. 33-40, 2016.

SKURTYS, O.; ACEVEDO, C.; PEDRESCHI, F.; ENRIONE, J.; OSORIO, F.; AGUILERA, J. M. **Food hydrocolloid edible films and coatings**. New York: Nova Science Publishers, 2014.

SPOLAOR, L. T.; GONÇALVES, L. S. A.; SANTOS, O. J. A. P.; Oliveira, A. L. M.; SCAPIM, C. A.; BERTAGNA, F. A. B.; KUKI, M. C. . Bactérias promotoras de crescimento associadas a adubação nitrogenada de cobertura no desempenho agrônômico de milho pipoca. **Bragantia**, Campinas , v. 75, n. 1, p. 33-40, Mar. 2016 .

REDDY, N. ; YANG, Y.Q. Biofibers from Agricultural by products for Industrial Applications. **Trends in Biotechnology**, vol 23, n°1, 2005.

TANADA,P.; Patrícia, S.; PROENÇA, Paula de S. P.; TRANI, Paulo E.; PASSOS, Francisco A.; GROSSO, Carlos R. F. Recobrimento de sementes de brócolos e salsa com coberturas e filmes biodegradáveis. **Bragantia**, Campinas, v.64, n.2, p.291-297, 2005.

TIEPO, A.N.; HERTEL M.F.; ROCHA, S.S.; CALZAVARA, A.K.; OLIVEIRA A.L.M.; PIMENTA, J.A.; OLIVEIRA H.C.. . Enhanced drought tolerance in seedlings of Neotropical tree species inoculated with plant growth-promoting bacteria. **Plant physiology and biochemistry**, v. 130, p. 277-288, 2018.

TRENTINI, P. **Películação: preservação da qualidade de sementes de soja e desempenho da cultura em campo na região de Alto Garças, MT.** 2004. 117p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Lavras. Lavras.

TRIFOL, J.; PLACKETT, D.; SILLARD, C.; SZABO, P.; BRAS, J.; DAUGAARD, A. E. Hybrid poly (lactic acid)/nanocellulose/nanoclay composites with synergistically enhanced barrier properties and improved thermomechanical resistance. **Polymer International**, v. 65, n. 8, p. 988–995, 2016.

VERCELHEZE, Ana Elisa Stefani; **Revestimento Biodegradáveis Para Aplicação em Sementes de Milho.** 2017, 141 páginas. Tese de doutorado (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2017.

VERCELHEZE, Ana Elisa S. et al. Development of biodegradable coatings for maize seeds and their application for *Azospirillum brasilense* immobilization. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 103, n. 5, p. 2193-2203, 2019.

VIDIGAL, Souza Deborah, Qualidade Fisiológica de Sementes de Tomate em Função da Idade e do Armazenamento Pós-Colheita dos Frutos, **Revista Brasileira de Sementes**,v.28,n.3,p.87-93,2006

WEST, S.H. Polymers as moisture to maintain seed quality. **Crop Science**, v.25, p.91-94, 1983.

ZARITZKY, N. In: AGUILERA, J. M.; SIMPSON, R.; WELTI-CHANES, J.; BERMUDEZ AGUIRRE, D.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. (Ed.). Edible coatings to improve food quality and safety. **Food engineering interfaces**. New York: Springer, 2011. p. 631-660.

ZAMBUDIO,S.Fixação Biológica de Nitrogênio. **Revista Ciência para Vida**, 2012