AVALIAÇÃO DA SOBREVIVÊNCIA DE *Azospirillum brasilense* Ab-V5 EM SEMENTES DE TRIGO TRATADAS COM PESTICIDAS

Takahashi, Willian Yuiti; Etto, Rafael Mazer; Antunes, Carlos Henrique; Urrea-Valência, Salomé; Hyeda, Daiane; Santos, Lígia Dombroski; Galvão, Carolina Weigert.
e-mail: carolinawgalvão@hotmail.com

Universidade Estadual de Ponta Grossa/ Departamento de Biologia Estrutural, Molecular e Genética (DEBIOGEM).

Área (Bioquímica) e subárea (Bioquímica de Microrganismos).

Palavras-chave: BPCV, fungicidas, inseticidas

Resumo

O tratamento de sementes com fungicidas e inseticidas e a inoculação de *Azospirillum brasilense* vêm sendo empregadas em conjunto na cultura do trigo. Por esse motivo, buscou-se avaliar o efeito dos agroquímicos na sobrevivência do *Azospirillum brasilense* (Ab-V5) inoculado em trigo. As sementes de trigo (TBIO-Toruk) foram tratadas com agroquímicos comerciais (CropStar, Baytan, CropStar+Baytan, Cruiser, Spectro, Cruiser+Spectro), e posteriormente inoculadas com *Azospirillum brasilense* (Ab-V5). Foi procedida a recuperação das bactérias previamente inoculadas através de agitação por 20 minutos em solução salina (0,85%) em diferentes tempos (4;12; 24; 36; e 48 horas após a inoculação). Foi estimado o número de UFCs/semente por diluição seriada, e posteriormente foram inoculadas em meio RC através da técnica da micro gota. As análises das curvas de crescimento do número de UFCs/semente, demonstraram que as sementes tratadas com os inseticidas CropStar e Cruiser, foram os tratamentos que menos prejudicaram o *Azospirillum brasilense* nas primeiras horas de armazenamento. Foi observado que o tempo ideal para a semeadura é anterior às 4 primeiras horas após a inoculação, já que após esse tempo começa a ser observado o efeito adverso dos pesticidas sobre as bactérias. Diante dos resultados obtidos pode-se afirmar que tanto inseticidas quanto fungicidas reduzem a sobrevivência do *A.brasilense,* sendo os fungicidas mais lesivos. Os aditivos celulares aumentaram a viabilidade das bactérias, tanto nas sementes tratadas com os agrotóxicos, como na testemunha sem tratamento. Novas estratégias de tratamento de sementes necessitam ser desenvolvidas, visando manter a sobrevivência das bactérias inoculadas nas sementes tratadas com agroquímicos, permitindo aproveitar tanto os benefícios do tratamento químico como os benefícios da inoculação com bactérias promotoras do crescimento vegetal.

Introdução

O *Azospirillum* sp. é um dos gêneros de BPCV mais estudados da atualidade, podendo se associar com mais de 100 espécies de plantas e aumentando consideravelmente a produtividade à campo (BASHAN;BASHAN, 2010). Em paralelo

à inoculação, para uma melhora qualitativa e quantitativa na produção de sementes, o uso de pesticidas para o tratamento de sementes é utilizado (ÁVILA et al., 2006). Segundo Buzzerio (2010), o tratamento de sementes é essencial para a agricultura mundial uma vez que protege a cultura desde a fase germinativa até o início do desenvolvimento. No entanto, alguns autores como Cassán e Diaz-Zorita (2016), relataram a necessidade de estudar a viabilidade do *Azospirillum brasilense* em sementes tratadas com fungicidas e inseticidas. Diante do cenário apresentado, busca-se avaliar o efeito dos agroquímicos na sobrevivência do *A. brasilense* (Ab-V5) inoculado em sementes de trigo

Materiais e Métodos

A pesquisa foi realizada integralmente no Laboratório de Biologia Molecular Microbiana (LABMOM) da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG).

Materiais

Sementes de trigo (TBIO Toruk), *Azospirillum brasilense* (Ab-V5), fungicidas (Baytan e Spectro), inseticidas (CropStar e Cruiser) e meio Vermelho Congo/RC (CASSÁN et al., 2010) e aditivos celulares.

Métodos

- Determinação da curva de crescimento do *Azospirillum brasilense* (Ab-V5) através das técnicas de espectrofotometria e diluição seriada associada à microgota.
- Desinfestação das sementes de trigo com hipoclorito de sódio 2% por 5 minutos (BIANCHI et. al., 2003) seguido de enxagues sucessivos com água destilada autoclavada.
- Tratamentos de sementes com agroquímicos: as sementes de trigo foram contadas e inseridas em sacos de polipropileno, em seguida foram adicionados os químicos, perfazendo 7 tratamentos para o primeiro experimento: T1. CropStar; T2. Baytan; T3. CropStar+ Baytan; T4.Spectro; T5. Cruiser; T6. Cruiser + Spectro; T7. Testemunha (sem adição de químico) e 3 tratamentos para o segundo experimento: T1. Bayer (CropStar+ Baytan); T2. Syngenta (Cruiser + Spectro) e T3. Testemunha (sem adição de químico).
- Inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* (Ab-V5): foi inoculado 1 microlitro do inóculo por semente de trigo (STETS, 2013) e homogeneizadas com auxílio de sacos de polipropileno.
    - Aditivos celulares: no segundo experimento, os aditivos celulares foram adicionados ao inóculo seguindo a recomendação do fabricante. Perfazendo 9 tratamentos no segundo experimento: T1. Bayer; T2. Syngenta; T3. Testemunha; T4.Bayer + Protetor 1; T5.Syngenta + Protetor 1; T6. Protetor 1; T7. Bayer + Protetor 2; T8. Syngenta+ Protetor 2; T9. Protetor 2.
- Recuperação do *Azospirillum brasilense* (Ab-V5) nas sementes de trigo: foram inseridas em um Erlenmeyer 200 sementes de trigo por tratamento, em seguida foram adicionados 20 mL de solução salina (0,85%) e levadas ao agitador orbital por 20 minutos a 170 rpm. Esse procedimento foi realizado em 5 tempos (4,12,24,36 e 48 horas após inoculação). Após a recuperação, foi realizada a diluição seriada até 10^{-4} e técnica da microgota.
- Estatística nos softwares: SISVAR e MiniTab Express for MacOS.

Resultados e Discussão

A recuperação das bactérias permitiu a constatação de que tanto inseticidas como os fungicidas afetaram na viabilidade do *Azospirillum brasilense* (Ab-V5) e que entre os tratamentos com agroquímicos os tratamentos completos (fungicida + inseticida) foram os mais deletérios, seguido pelo tratamento com fungicidas (Baytan e Spectro) e os de menor efeito negativo foram os inseticidas (CropStar e Cruiser).

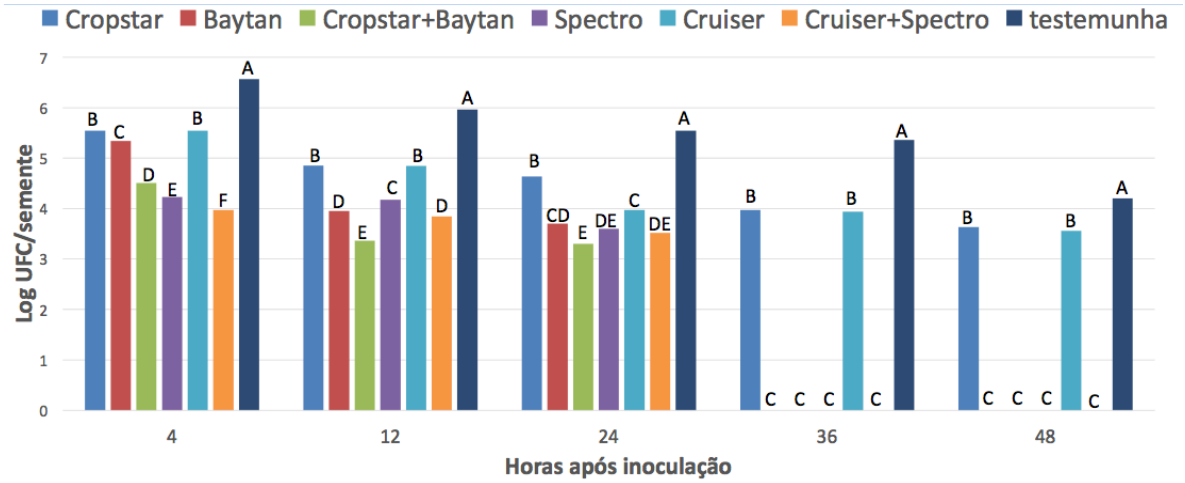


Gráfico 1– Recuperação do *Azospirillum brasilense* (Ab-V5) de sementes tratadas com agroquímicos.Recuperação de bactérias em 7 tratamentos em 5 classes de tempo. Letras iguais dentro da mesma classe de tempo não diferem entre si pelo teste de Tukey (0,05).

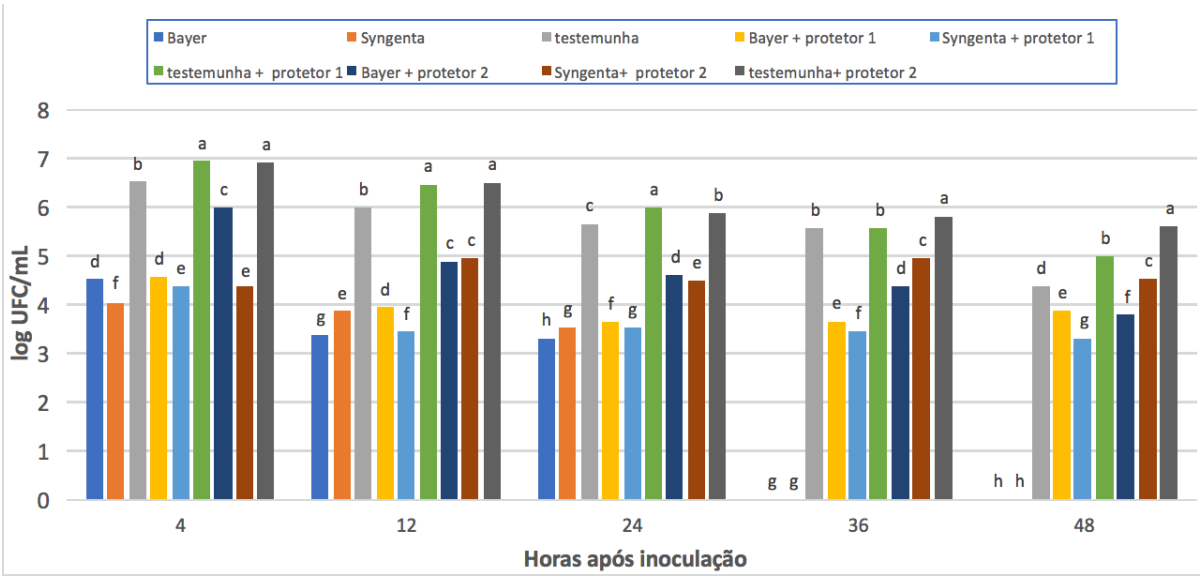


Gráfico 2 – Recuperação do *Azospirillum brasilense* (Ab-V5) de sementes tratadas com agroquímicos e aditivos celulares. Recuperação de bactérias em 7 tratamentos em 5 classes de tempo. Letras iguais dentro da mesma classe de tempo não diferem entre si pelo teste de Tukey (0,05). Obs: foi realizada a transformação de dados $\sqrt{x} + 1$ para a análise estatística.

Conclusões

Os agroquímicos utilizados no tratamento de sementes de trigo reduzem consideravelmente a viabilidade do *Azospirillum brasilense* (Ab-V5). As sementes tratadas com os inseticidas CropStar e Cruiser foram os tratamentos que menos prejudicaram o *A. brasiliense* Ab-V5 nas primeiras horas de armazenamento. Os fungicidas Baytan e Spectro demonstraram efeitos altamente deletérios à estirpe inoculada. Sugere-se que a semeadura do trigo ocorra nas 4 primeiras horas após a inoculação das sementes, já que após esse tempo foi observado efeito adverso dos pesticidas sobre o *A. brasiliense*. Os aditivos celulares se mostraram eficientes quanto à proteção das bactérias inoculadas, tanto na testemunha sem tratamento químico, como nos tratamentos químicos. No entanto, quando comparado os tratamentos químicos com aditivo e a testemunha é possível ser observado a redução da viabilidade do *Azospirillum brasilense*, mesmo com o uso do protetor. Diante dos resultados obtidos, conclui-se que novas estratégias de tratamentos de sementes precisam ser desenvolvidas, visando manter os benefícios tanto da inoculação com bactérias promotoras do crescimento vegetal (*Azospirillum brasilense*), como do tratamento de sementes com agroquímicos.

Agradecimentos

Agradeço à toda equipe do Laboratório de Biologia Molecular Microbiana (LABMOM), à Sementes Mauá e Agrocete pelo suporte, aos colegas Yuri e Letícia pelo auxílio estatístico, e às Agências de fomento: INCT/Fixação Biológica de Nitrogênio; CNPq/MCT, CAPES, Fundação Araucária e UEPG.

Referências

AVILA, L. A. et al. Imazethapyr aqueous photolysis, reaction quantum yield, and hydroxyl radical rate constant. **J. Agric. Food Chem.**, v. 54, n. 7, p. 2635-2639, 2006.

BASHAN, Y., DE-BASHAN, L. How the plant growth-promoting bacterium Azospirillum promotes plant growth. **A critical assessment. Advances in Agronomy** 108, 77e136. 2010.

BIANCHI, V.J. *et al*. Estabelecimento *in vitro* de marmeleiro: efeito do tipo de explante e tempo de imersão em hipoclorito de sódio. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, RS. v. 9, n. 2, p. 177-179, 2003. Disponível em: www.ufpel.tche.br/faem/**agrociencia**/v9n2/artigo16.pdf. Acesso em 05 jul. 12

BUZZERIO, N. F. Ferramentas para qualidade de sementes no tratamento de sementes profissional. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 20, n3, p.56, 2010.

CASSÁN, F. et al. Protocolo para el control de calidad de inoculantes que contienen *Azospirillum* sp. Buenos Aires: Asociación Argentina de Microbiología, 2010. 13 pp. CD-ROM.

CASSÁN, F., DIAZ-ZORITA, M. Azospirillum sp. in current agriculture: From the laboratory to the field. **Soil Biology & Biochemistry** 103, p. 117-130. 2016.

STETS, Maria Isabel. **Monitoramento de Azospirillum brasilense e estudo da diversidade bacteriana associada a raízes de trigo (Triticum aestivum).** 2013. 107 f. Tese (Doutorado) - Curso de Bioquímica, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.