

## **SOBREVIVÊNCIA DE FOLHAS DESTACADAS DE SOJA SUBMETIDAS AO TRATAMENTO ENVOLVENDO BACTÉRIAS E MICRONUTRIENTES**

FABIO OLIVIERI DE NOBILE<sup>1\*</sup>, IVANA MARINO BARBARO-TORNELI<sup>2</sup>; PALOMA HELENA DA SILVA LIBÓRIO<sup>3</sup>; FERNANDO BERGANTINI MIGUEL<sup>2</sup>; JOSÉ ANTONIO ALBERTO DA SILVA<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Prof. Dr. Centro Universitário da Fundação Educacional de Barretos – UNIFEB, Barretos, SP,  
fonobile@yahoo.com.br

<sup>2</sup> Pesquisadores Doutores, Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios - APTA, Colina, SP,  
imarin@apta.sp.gov.br;  
fbmiguel@apta.sp.gov.br; jaas@apta.sp.gov.br

<sup>3</sup> Graduanda em Agronomia no Centro Universitário da Fundação Educacional de Barretos – UNIFEB, Barretos, SP, paloma\_liborio@hotmail.com

Apresentado no

Congresso Técnico Científico da Engenharia e da Agronomia – CONTECC'2016  
29 de agosto a 1 de setembro de 2016 – Foz do Iguaçu, Brasil

**RESUMO:** A tecnologia de co-inoculação consiste no fornecimento das bactérias *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* para a cultura da soja. Objetivou-se estudar os efeitos dessas bactérias de forma isolada ou associadas (co-inoculação), com a aplicação ou não dos micronutrientes cobalto e molibdênio via sementes, sobre a sobrevivência de folhas destacadas de soja do cultivar NS7338 IPRO. O experimento foi conduzido na Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios – APTA, Colina, SP. As folhas primárias de soja foram coletadas dos vasos ainda jovens. Em condições laboratoriais preparou-se as placas de petri contendo as folhas destacadas que foram mantidas em condições controladas. Foram realizadas três avaliações, classificando as folhas destacadas em: E = enraizadas, NE = não enraizadas e M = mortas, através de notas de 0-2, em que E = 100% das folhas enraizadas com nota 2; NE = 50% - nota 1 e M = 0% - nota 0. Os tratamentos envolvendo a co-inoculação e *A. brasilense* mostraram-se superiores, sendo que a aplicação de micronutrientes nas sementes foi prejudicial à sobrevivência das folhas destacadas da cv. NS7338 IPRO.

**PALAVRAS-CHAVE:** Fixação biológica de nitrogênio, bactérias diazotróficas, *Glycine max*, micronutrientes

### **SURVIVE OF SURVIVAL HIGHLIGHTED SOY SUBMITTED TO TREATMENT INVOLVING BACTERIA AND MICRO**

**ABSTRACT:** Co-inoculation technology is the provision of *Bradyrhizobium* and *Azospirillum* bacteria to the soybean crop. The objective was to study the effects of these bacteria isolated or associated (co-inoculation), with the application or otherwise of cobalt and molybdenum micronutrients in seeds, about the survival of detached leaves of soybean cultivar NS7338 IPRO. The experiment was conducted at the Paulista Agency for Agribusiness Technology - APTA, Hill, SP. The primary soybean leaves were collected from vessels still young. In laboratory conditions, the prepared petri dishes containing the detached leaves were kept under controlled conditions. Three evaluations were performed by sorting the leaves highlighted in E = rooted, NE = unrooted and M = dead through grades 0-2, where E = 100% of leaves rooted in note 2; NS = 50% - Note 1 and M = 0% - Note 0. Treatments involving co-inoculation and *A. brasilense* proved superior, and the application of micronutrients in seeds was detrimental to the survival of detached leaves of cv. NS7338 IPRO.

**KEYWORDS:** Biological nitrogen fixation, nitrogen fixing bacteria, *Glycine max*, micronutrients

### **INTRODUÇÃO**

A pesquisa atual reporta os benefícios da tecnologia de co-inoculação ou inoculação mista de bactérias do gênero *Bradyrhizobium* com *Azospirillum brasilense* (BÁRBARO et al., 2008;

BÁRBARO et al., 2009b; BÁRBARO et al., 2011; HUNGRIA et al. 2013b; EMBRAPA, 2014b). As bactérias diazotróficas em especial as pertencentes ao gênero *Azospirillum* em associação com as bactérias simbióticas do gênero *Bradyrhizobium*, promovem potencialização da nodulação e maior crescimento radicular em soja, em virtude da capacidade das primeiras em produzir fito-hormônios, responsáveis pelo maior desenvolvimento do sistema radicular com a possibilidade de exploração de um volume mais amplo de solo (FERLINI, 2006).

Nessa vertente, existe a possibilidade do estudo de bactérias do gênero *Bradyrhizobium*, bem como, *Azospirillum brasilense*, com a aplicação dos micronutrientes cobalto e molibdênio por meio da técnica da folha destacada. Se viável pode ser uma alternativa prática e vantajosa, pois economiza espaço, material vegetal e inóculo além do maior controle e manipulação dos fatores ambientais durante o experimento. Essa técnica consiste na manutenção de folhas vivas enraizadas por um período após ter sido destacada da planta mãe (YARWOOD, 1946; TUIITE, 1969).

O cultivo de folhas destacadas tem sido utilizado há muitos anos e, já a partir de 1850, a técnica começou a ser utilizada em trabalhos ligados à fisiologia vegetal (YARWOOD, 1946). A técnica empregada por Moraes & Salgado (1982) e por Mendes & Bergamin Filho (1986) consistiu fundamentalmente no acondicionamento de folhas, individualmente, em placas de Petri contendo uma camada de algodão e papel de filtro previamente umedecidos em água destilada. Isto posto objetivou-se estudar os efeitos dessas bactérias de forma isolada ou associada (co-inoculação), com a aplicação ou não dos micronutrientes cobalto e molibdênio via sementes, sobre a sobrevivência de folhas destacadas da cultivar NS7338 IPRO.

## MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento utilizou a cultivar de soja NS7338 IPRO semeada em vasos em casa de vegetação na APTA/PRDTA- AM, Colina/SP. Os tratamentos consistiram da combinação dos fatores: tipo de bactéria (Testemunha, *Bradyrhizobium*, *Azospirillum* e *Bradyrhizobium* + *Azospirillum*) e aplicação dos micronutrientes (ausência ou presença de Co e Mo) via sementes. As sementes foram tratadas com inseticida/fungicida e receberam logo após, os micronutrientes (produto comercial com 1,5% de Co e 15% de Mo na dose de 100 mL ha<sup>-1</sup>) e por último os inoculantes líquidos comerciais contendo as estirpes SEMIAS 5079 e 5080 (*Bradyrhizobium*) e AbV5 de *Azospirillum*. Em condições laboratoriais, realizou-se o preparo das folhas destacadas com as folhas primárias ainda jovens, cortando-se o pecíolo imerso em água destilada próximo à inserção com o caulículo. Em seguida, envolveu-se as folhas com algodão embebido em água destilada e após, colocadas em placas de Petri, contendo uma fina camada de algodão recoberta com papel de filtro umedecido e incubadas em câmara de germinação a 28°C e fotoperíodo de 12 horas (Mendes; Bergamin Filho, 1986). Realizaram-se três avaliações após o preparo das placas de 5 em 5 dias, quanto ao enraizamento, classificando as folhas destacadas em: E = enraizadas, NE = não enraizadas e M = mortas, através de notas de 0-2, em que E = 100% das folhas enraizadas com nota 2; NE = 50% - nota 1 e M = 0% - nota 0. A parcela experimental foi placa de Petri contendo duas folhas primárias destacadas de soja, com quinze repetições. O delineamento foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 4 x 2. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F e em seguida as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As folhas destacadas apresentaram pequeno enraizamento, o que impossibilitou medir o comprimento de raiz. Desta forma avaliou-se apenas a sobrevivência das folhas destacadas em relação aos tratamentos envolvendo tipos de bactérias e aplicação ou não de micronutrientes nas sementes.

Na primeira avaliação pode-se observar que inicialmente os melhores tratamentos foram *Bradyrhizobium* e a testemunha com notas 1,0 e 0,79, respectivamente. Na segunda avaliação os tratamentos não diferenciaram-se para o tipo de bactérias. No entanto, na terceira avaliação os maiores índices de sobrevivência, foram obtidos nos tratamentos que envolveram a co-inoculação e *Azospirillum brasilense* (notas 1,38 e 0,83).

Nas três avaliações para o fator micronutrientes, a ausência da aplicação dos mesmos apresentou melhores resultados. A interação entre os fatores não foi significativa em nenhuma das avaliações.

Desta forma, quanto aos tratamentos pode-se observar que na terceira avaliação, os tratamentos envolvendo a co-inoculação e *A. brasilense* promoveram maior sobrevivência das folhas destacada de soja da cv. NS7338 IPRO. Isso deve-se ao fato de que a co-inoculação consiste no fornecimento das bactérias *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* para a soja. A literatura relata que essa tecnologia pode proporcionar incrementos de até 16% na produtividade, praticamente o dobro do obtido com a inoculação tradicional com apenas bactérias do gênero *Bradyrhizobium* (VITTI et al., 2015). Por sua vez, o emprego da folha destacada de soja com diferentes finalidades e condições de enraizamento encontra-se descrita em inúmeros trabalhos. Os resultados preliminares obtidos no presente estudo foram considerados promissores recomendando-se ajustes na metodologia para tal finalidade de estudo.

## CONCLUSÃO

Os tratamentos envolvendo a co-inoculação e *A. brasilense* mostraram-se superiores, sendo que a aplicação de micronutrientes nas sementes foi prejudicial à sobrevivência das folhas destacadas da cv. NS7338 IPRO.

## REFERÊNCIAS

- Bárbaro, I.M.; Barbaro Junior, L.S.; Ticelli, M.; Machado, P.C.; M.; Miguel, F.B. Resultados preliminares da co-inoculação de *Azospirillum* juntamente com *Bradyrhizobium* em soja. *Pesquisa & Tecnologia*. v.8, n. 2, 2011.
- Bárbaro, I.M.; Machado, P.C.; Barbaro Junior, L.S.; Ticelli, M.; Miguel, F.B.; Silva, J.A.A. Produtividade da soja em resposta á inoculação padrão e co-inoculação. *Colloquium Agrariae*, v. 5, n.1, 2009 b, p. 01-07.
- Bárbaro, I.M.; Brancalião, S.R.; Ticelli, M.; Miguel, F.B.; Silva, J.A.A. (2008) Técnica alternativa: co-inoculação de soja com *Azospirillum* e *Bradyrhizobium* visando incremento de produtividade. Artigo em Hypertexto. Disponível em: <[http://www.infobibos.com/Artigos/2008\\_4/coinoculacao/index.htm](http://www.infobibos.com/Artigos/2008_4/coinoculacao/index.htm)>. Acesso em: 1/4/2015
- Embrapa. Tecnologia de coinoculação combina alto rendimento com sustentabilidade na produção de soja e do feijoeiro. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/noticia/1580416/tecnologia-de-coinoculacao-combina-alto-rendimento-com-sustentabilidade-na-producao-de-soja-e-do-feijoeiro> >. Acesso em 12 de outubro de 2014b.
- Ferlini, H.A. Co-inoculación en soja (*Glycyne max*) con *Bradyrhizobium japonicum* y *Azospirillum brasilense*. Santa Fé, Engormix, 2006. 6p
- Hungria, M.; Nogueira, M.A.; Araujo, R.S. Co-inoculation of soybeans and common beans with rhizobia and azospirilla: strategies to improve sustainability. *Biology and Fertility of Soils*, v. 49 p. 791–801, 2013
- Mendes, B.M.J.; Bergamin Filho, A. Adaptação da técnica da cultura da folha destacada para a quantificação dos parâmetros epidemiológicos monocíclicos da ferrugem do feijoeiro. *Fitopatologia Brasileira*, v 11, p.103-114, 1986.
- Moraes, S.A.; Salgado, C.L. Utilização da técnica de folhas destacadas de amendoim (*Arachis hypogea* L.) para inoculações com *Cercospora arachidicola* Hori e *Cercospora personata* (Berk. & Curt.) Ell. & Ev. *Summa Phytopathologica*. v.8, p.39-55. 1982.
- Tuite, J. *Plant pathological methods*. Burgess Publishing Company, Mineapolis, 1969. 239p.
- Vitti, D.; Balator, M.F.; Brandão, R.P. Coinoculação na cultura da soja. *Economia + Meio Ambiente*. Revista Campo & Negócios. 2015. Disponível em <<http://www.revistacampoenegocios.com.br/coinoculacao-na-cultura-da-soja-economia-meioambiente/>>. Acesso em 30 de março de 2016.
- Yarwood, C.E. Detached leaf culture. *The Botanical Review*, Lancaster, v.12, n.1, p.56, 1946