

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE ENGENHARIA  
CÂMPUS DE ILHA SOLTEIRA**

**GILMAR COTRIN DE LIMA**

**ACÚMULO DE NUTRIENTES NA PARTE AÉREA E RAÍZES,  
PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO QUÍMICA BROMATOLÓGICA DO  
*Megathyrsus maximus* cv. BRS ZURI INOCULADO COM  
BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO**

**Ilha Solteira  
2018**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE ENGENHARIA  
CÂMPUS DE ILHA SOLTEIRA**

**GILMAR COTRIN DE LIMA**

**ACÚMULO DE NUTRIENTES NA PARTE AÉREA E RAÍZES,  
PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO QUÍMICA BROMATOLÓGICA DO  
*Megathyrus maximus* cv. BRS ZURI INOCULADO COM  
BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Animal da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia Animal.

**Orientador: Prof. Dr. Cecílio Viegas Soares Filho**

**Coorientador: Prof. Dr. Marcelo Carvalho Minhoto Teixeira Filho**

**Ilha Solteira  
2018**

FICHA CATALOGRÁFICA

Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

L732a Lima, Gilmar Cotrin de.  
Acúmulo de nutrientes na parte aérea e raízes, produção e composição química bromatológica do *Megathyrus maximus* cv. BRS Zuri inoculado com bactérias promotoras do crescimento / Gilmar Cotrin de Lima. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2018  
76 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Área de conhecimento: Ciência e Tecnologia Animal, 2018

Orientador: Cecílio Viegas Soares Filho

Coorientador: Marcelo Carvalho Minhoto Teixeira Filho

Inclui bibliografia

1. Bactérias diazotróficas. 2. Fixação biológica de nitrogênio. 3. Gramínea tropical. 4. Inoculação. 5. Reinoculação. 6. Proteína bruta.

  
Raiane da Silva Santos



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Dracena



**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: ACÚMULO DE NUTRIENTES NA PARTE AÉREA E RAÍZES, PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO QUÍMICA BROMATOLÓGICA DO *Megathyrus maximum* cv. BRS Zuri INOCULADO COM BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO

**AUTOR: GILMAR COTRIN DE LIMA**

**ORIENTADOR: CECILIO VIEGA SOARES FILHO**

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em CIÊNCIA E TECNOLOGIA ANIMAL, área: Produção Animal pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. CECILIO VIEGA SOARES FILHO  
Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/Unesp

Prof. Dr. MARCELO ANDREOTTI  
Depto. Fitossanidade, Engenharia Rural e Solos / Faculdade de Engenharia - Unesp Ilha Solteira

  
Prof. Dr. ADÔNIS MOREIRA  
EMPRESA SOJA

Dracena, 18 de dezembro de 2018

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

Gilmar Cotrin de Lima, nascido em 29 de Agosto de 1994 no município de Araçatuba, São Paulo. Graduado em Zootecnia pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Ilha Solteira, março de 2017. Ingressou no curso de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia Animal em março de 2017, na área de produção de ruminantes, sendo bolsista CAPES.

**“Se você não for cuidadoso, os jornais farão você odiar as pessoas que estão sendo oprimidas, e amar as pessoas que estão oprimindo”.**

**(Malcom X)**

**À minha mãe Rosa, meu pai Gilmar, minha irmã Camilla e minha namorada Suelen Caroline, pelo amor, incentivo, carinho, força e paciência, DEDICO.**

**A Deus, por me dar forças e saúde para completar essa jornada.**

## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho “, em especial à Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira e Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba, pelo suporte e oportunidade.

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo pelo auxílio financeiro, e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pois o presente trabalho foi realizado com apoio da CAPES (Brasil) – Código de Financiamento 001.

Ao Professor Dr. Cecílio Viegá Soares Filho por esses anos de orientação, aconselhamentos, paciência na condução do trabalho e redação da dissertação, contribuindo no meu amadurecimento e crescimento pessoal e profissional. Minha eterna gratidão, muito obrigado.

Ao Professor Dr. Marcelo Carvalho Minhoto Teixeira Filho, pelo apoio, confiança e conhecimentos na condução do trabalho.

Ao Professor Dr. Antônio Carlos de Laurentiz pelo apoio e confiança ao longo da minha jornada acadêmica.

Aos professores/pesquisadores que aceitaram compor a banca de qualificação e defesa.

Aos docentes que contribuíram para minha formação acadêmica. Proporcionando-me experiências incríveis ao longo do mestrado, contribuindo para o meu crescimento intelectual.

Aos funcionários da UNESP, em especial ao Carlos Renato, Laércio Marcon e Marcelo Rinaldi, pela contribuição na execução de coletas e análises do experimento.

Aos alunos e amigos pelo companheirismo e ajuda na execução dos trabalhos, em especial Geovana Sá, Mariana Arede, Adolfo Genserico, José Lucas Favi, Paulo Ricardo Teodoro, Valdinei Cardoso e Valdir Cardoso.

À pesquisadora Dra. Mariangela Hungria e ao Laboratório de Biotecnologia da EMBRAPA Soja por ter cedido as bactérias.

Aos meus familiares e amigos por fazerem parte da minha vida e tornarem os meus dias cheios de paz e harmonia.



## LISTA DE FIGURAS

<b>FIGURA 1 -</b>	Acúmulo de massa seca de forragem e de raízes em <i>Megathyrsus maximus</i> cv. BRS Zuri. inoculado com bactérias promotoras do crescimento.....	30
<b>FIGURA 2 -</b>	Massa seca total de forragem, lâmina foliar e de colmo + bainha em <i>Megathyrsus maximus</i> cv. BRS Zuri inoculado com bactérias promotoras do crescimento.....	32
<b>FIGURA 3 -</b>	Número de perfilhos por vaso e massa seca de perfilhos em <i>Megathyrsus maximus</i> cv. BRS Zuri inoculado com bactérias promotoras do crescimento.....	34
<b>FIGURA 4 -</b>	Altura (cm) e índice de clorofila foliar (ICF) em <i>Megathyrsus maximus</i> cv. BRS Zuri inoculado com bactérias promotoras do crescimento.....	36
<b>FIGURA 5 -</b>	Acúmulo de nitrogênio, amônio e nitrato em <i>Megathyrsus maximus</i> cv. BRS Zuri inoculado com bactérias promotoras do crescimento.....	38
<b>FIGURA 6 -</b>	Acúmulo de fósforo, potássio e de enxofre em <i>Megathyrsus maximus</i> cv. BRS Zuri inoculado com bactérias promotoras do crescimento.....	43
<b>FIGURA 7 -</b>	Acúmulo de cálcio e magnésio em <i>Megathyrsus maximus</i> cv. BRS Zuri inoculado com bactérias promotoras do crescimento.....	44
<b>FIGURA 8 -</b>	Acúmulo de boro, zinco e de cobre em <i>Megathyrsus maximus</i> cv. BRS Zuri inoculado com bactérias promotoras do crescimento.....	47
<b>FIGURA 9 -</b>	Acúmulo de manganês e ferro em <i>Megathyrsus maximus</i> cv. BRS Zuri inoculado com bactérias promotoras do crescimento.....	50
<b>FIGURA 10 -</b>	Acúmulo de nitrogênio, fósforo e potássio em raízes de <i>Megathyrsus maximus</i> cv. BRS Zuri inoculado com bactérias promotoras do crescimento.....	52
<b>FIGURA 11 -</b>	Teores médios de fibra em detergente neutro e em detergente ácido em <i>Megathyrsus maximus</i> cv. BRS Zuri inoculado com bactérias promotoras do crescimento.....	54
<b>FIGURA 12 -</b>	Teores médios de proteína bruta e digestibilidade in vitro em <i>Megathyrsus maximus</i> cv. BRS Zuri inoculado com bactérias promotoras do crescimento.....	56

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>11</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>13</b>
2.1	Pastagens no Brasil.....	13
2.2	<i>Megathyrus maximus</i> cv. BRS Zuri.....	14
2.3	Bactérias promotoras do crescimento vegetal em gramíneas.....	14
2.3.1	<i>Azospirillum spp.</i> .....	16
2.3.2	<i>Pseudomonas spp.</i> .....	17
2.3.3	Coinoculação entre <i>Rhizobium tropici</i> e <i>Azospirillum brasilense</i> .....	18
2.4	Associação entre adubação nitrogenada e bactérias promotoras do crescimento vegetal.....	20
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>22</b>
3.1	Local, condições climáticas e condução experimental.....	22
3.2	Avaliações realizadas.....	24
3.2.1	Produção de forragem e composição morfológica da parte aérea.....	24
3.2.2	Altura, índice de clorofila foliar e perfilhamento do capim.....	25
3.2.3	Avaliação do sistema radicular.....	25
3.2.4	Acúmulo de nutrientes da parte aérea e raízes.....	25
3.2.5	Composição bromatológica.....	26
3.3	Análise estatística.....	26
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>27</b>
4.1	Produtividade e composição morfológica.....	27
4.2	Acúmulo de nutrientes da parte aérea e raízes.....	37
4.3	Composição bromatológica do capim Zuri.....	53
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>57</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>58</b>
	<b>APÊNDICE – FOTOS DO EXPERIMENTO.....</b>	<b>69</b>

## RESUMO

O rebanho bovino no Brasil é criado à pasto, no entanto, 70% das pastagens apresentam algum grau de degradação, sendo um dos principais motivos a ausência de adubação nitrogenada (N). A busca por uma pecuária sustentável leva à utilização de bactérias promotoras do crescimento vegetal com intuito de repor a necessidade de N das plantas. Em casa de vegetação, cultivou-se a forrageira *Megathyrsus maximus* cv. BRS Zuri com o objetivo de avaliar os efeitos de estirpes selecionadas de *Azospirillum brasilense*, *Pseudomonas fluorescens* e *Rhizobium tropici* na produtividade, acúmulo de nutrientes e composição bromatológica do capim. O experimento consistiu em onze tratamentos: controle (-N) e sem inoculação, controle (+N); três tratamentos com inoculação de *A. brasilense* Ab-V5 + Ab-V6, *P. fluorescens* e coinoculação entre *R. tropici* + Ab-V6; três tratamentos combinando inoculação com adubação nitrogenada; e três tratamentos com a reinoculação foliar das plantas após cada corte. Avaliou-se a massa seca (MS), perfilhamento, índice de clorofila, altura, nutrição e composição bromatológica, ao longo de três cortes, além da MS de raízes. O delineamento foi de blocos casualizados com cinco repetições, em esquema de parcelas subdivididas, considerando os tratamentos como parcela e os cortes como subparcela. A inoculação com as bactérias associada à adubação N, aumentaram o acúmulo de N,  $\text{NH}_4^+$ , Ca, Zn, Mn e Fe da parte aérea do capim Zuri em relação ao tratamento controle (+N). A inoculação com *P. fluorescens* e a coinoculação com *R. tropici* + Ab-V6 aumentou o índice de clorofila foliar em relação ao tratamento testemunha. A adubação N influenciou o teor de PB, mas não influenciou os teores de FDN, FDA e DIVMS. A inoculação não substitui a adubação N, porém quando associada ao uso de N incrementou na nutrição e produtividade do capim Zuri. A reinoculação foliar não apresentou respostas após os cortes para a produção de MS, perfilhamento, nutrição e qualidade bromatológica do capim Zuri.

**Palavras-chave:** Bactérias diazotróficas. Fixação biológica de nitrogênio. Gramínea tropical. Inoculação. Reinoculação. Proteína bruta.

## ABSTRACT

However 70% of the pastures present some degree of degradation, one of the main reasons being the absence of nitrogen (N) fertilization. The search for sustainable livestock farming leads to the use of plant growth promoting bacteria in order to restore the N requirement of the plants. In a greenhouse, the forage *Megathyrsus maximus* cv. BRS Zuri in order to evaluate the effects of selected strains of *Azospirillum brasilense*, *Pseudomonas fluorescens* and *Rhizobium tropici* on productivity, nutrient uptake and bromatological composition of the grass. The experiment consisted of eleven treatments: control (-N) and without inoculation, control (+N); three treatments with inoculation of *A. brasilense* Ab-V5 + Ab-V6, *P. fluorescens* and coinoculation between *R. tropici* + Ab-V6; three treatments combining inoculation with N fertilization; and three treatments with the foliar reinoculation of the plants after each cut. The dry mass (DM), tillering, chlorophyll index, height, nutrition and bromatological composition were evaluated along three cuts, in addition to the root DM. The experimental design was a randomized complete block design with five replications, in a subdivided plot scheme, considering treatments as plot and cuts as subplot. The inoculation with the bacteria associated with N fertilization increased the accumulation of N,  $\text{NH}_4^+$ , Ca, Zn, Mn and Fe of the Zuri guinea grass over the control (+N) treatment. Inoculation with *P. fluorescens* and co-inoculation with *R. tropici* + Ab-V6 increased leaf chlorophyll content in relation to the control treatment. N fertilization influenced the CP content, but did not influence NDF, ADF and DIVMS levels. Inoculation does not replace N fertilization, but when associated to N use, it promoted increases in nutrition and productivity of Zuri grass. Shoots reinoculation did not present responses after the cuttings for DM production, tillering, nutrition and bromatological quality of the Zuri guinea grass.

**Keywords:** Crude protein. Diazotrophic bacteria. Inoculation. Nitrogen biological fixation. Reinoculation. Tropical grass.

## 1 INTRODUÇÃO

As condições climáticas e a grande extensão territorial são fatores que, desde o início da pecuária brasileira, definem uma característica importante dessa atividade: ter a quase totalidade do rebanho criado em pastagens (FERRAZ; FELÍCIO, 2010), que se constituem na maneira mais prática e econômica de produzir e alimentar o gado.

Estimativas indicam que o Brasil detém cerca de 160 milhões de hectares de pastagens (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE, 2018), dos quais grande parte apresenta algum grau de degradação (DIAS FILHO, 2014). As causas da degradação de pastagens se deve a ausência ou incorreto manejo de pastejo, superlotação da área, falta de reposição de nutrientes ao solo, espécie forrageira inadequada para a região de cultivo, presença de pragas e plantas invasoras, etc.

Entre os fatores responsáveis pelo início do processo de degradação das pastagens, considera-se a ausência de fornecimento de nitrogênio para as plantas, fator de maior impacto na produção de forragem quando as demais condições edafoclimáticas não são limitantes (EUCLIDES et al., 2007). Como consequência há perda da capacidade de suporte e ganho de peso do animal ao longo do tempo, evidenciando a necessidade de reposição desse nutriente.

Os fertilizantes nitrogenados tem custo elevado, que aliado as perdas por lixiviação, desnitrificação e volatilização, fazem com que a recuperação ou renovação de pastagens degradadas se torne uma prática onerosa. Além do mais, para a produção de 1000 kg de fertilizante nitrogenado pelo método Haber-Bosch são utilizados 873 m<sup>3</sup> de gás natural (XU et al., 2012), e também a aplicação de adubos nitrogenados tem a capacidade de emitir gases (CO<sub>2</sub> e NO<sub>2</sub>), que aumentam o efeito estufa.

É necessária e desejável a adoção de práticas sustentáveis na atividade agropecuária, que auxiliem na reposição dos estoques de C e de N no solo, e que reduzam a emissão dos gases de efeito estufa (LAL, 2005; SÁ et al., 2015). Portanto, a crescente preocupação com o desenvolvimento de sistemas agropecuários mais sustentáveis e menos poluente, há a busca de alternativas para

reduzir o impacto ambiental dos fertilizantes minerais (COSTA et al., 2015), sem causar perdas na produtividade.

Nesse sentido, a utilização benéfica de inoculantes microbianos destaca-se como alternativa viável, especialmente sob condições de baixa fertilidade do solo (CARVALHAIS et al, 2013; HUNGRIA et al., 2010; HUNGRIA et al., 2013a, b). Essas bactérias, conhecidas como bactérias promotoras do crescimento vegetal (BPCV), são responsáveis por realizar a fixação biológica de nitrogênio (FBN) atmosférico (MARQUES et al., 2017) e capacidade de incrementar o crescimento vegetal, portanto a sua utilização vem sendo muito estudada para avaliar os efeitos na produtividade e qualidade de gramíneas tropicais.

A FBN acontece a partir da transformação do  $N_2$  da atmosfera em formas combinadas de nitrogênio, sendo assimilado pela planta na formação de moléculas orgânicas e os benefícios das bactérias no crescimento das plantas têm sido atribuídos a uma variedade de mecanismos únicos ou combinados que agem de forma acumulativa ou em cascata (BASHAN; de-BASHAN, 2010), incluindo o aumento da absorção de nutrientes e água (ARDAKANI et al., 2011); produção e secreção de fito-hormônios e outras moléculas de sinalização, como auxinas (SPAEPEN; VANDERLEYDEN, 2015), citocininas (TIEN et al., 1979), giberelinas (BOTTINI et al., 1989) e ácido salicílico (SAHOO et al., 2014); bem como na solubilização de fosfato (RODRIGUEZ et al., 2004).

Ainda é necessário estudos com FBN em pastagens, principalmente, considerando a grande variedade de bactérias que podem ser associadas a essas plantas, e seu potencial de fixação, atrelado à escassez de trabalhos utilizando o gênero *Megathyrsus* (*syn. Panicum*), comum como planta forrageira.

A hipótese do trabalho foi verificar se as BPCV são capazes de reduzir ou substituir a adubação nitrogenada, assim como incrementar o crescimento vegetal.. Objetivou-se avaliar o efeito de estirpes selecionadas de *Azospirillum brasilense*, *Pseudomonas fluorescens* e *Rhizobium tropici* na produção de MS da parte aérea e raízes, acúmulo de nutrientes, produção e composição bromatológica de *Megathyrsus maximus* cv BRS Zuri.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Pastagens no Brasil

A pecuária de corte é uma atividade cada vez mais importante para a economia brasileira e mundial, em que o rebanho bovino nacional é de aproximadamente 218 milhões de cabeças (IBGE, 2016), sendo a maior parte criado a pasto (FERRAZ; FELÍCIO, 2010), que se caracteriza como uma forma econômica e prática de produzir e oferecer alimentos para os animais (DIAS FILHO, 2014), à baixo custo.

Portanto, por ser a forma menos onerosa e mais eficiente para ocupar e assegurar a posse de grandes extensões de terra, comparada a atividades agrícolas, a pecuária, em particular, a criação de bovinos de corte a pasto, tem sido a atividade historicamente empregada na ocupação de áreas de fronteira agrícola no Brasil (DIAS FILHO, 2011, 2013), onde apesar de apresentar aspectos vantajosos, desenvolveu uma cultura de baixo investimento em insumos e tecnologias na formação e manejo das pastagens, desencadeando no processo de degradação e redução da eficiência produtiva, taxando a criação de bovinos criados a pasto, como uma atividade prejudicial ao ambiente (DIAS FILHO, 2014).

A produtividade da pecuária de corte no Brasil é de 5,1 arrobas/hectare/ano, podendo ser melhorada com a aplicação de tecnologias e manejo das pastagens (TORRES JÚNIOR et al., 2013). Esse aumento de produtividade tem melhorado, já está acontecendo, uma vez que o ritmo de crescimento do rebanho bovino vêm superando o aumento das áreas de pastagem do País (MARTHA JÚNIOR et al., 2012).

Muito desse aumento na produtividade se deve à aplicação de fertilizantes nitrogenados, entretanto, onera os custos de produção. Mas como a demanda por alimentos vem crescendo ano a ano, tem-se enfatizado a necessidade de maior exploração do potencial da FBN em gramíneas tropicais, como uma alternativa sustentável e econômica à adubação nitrogenada (SOUTO, 1982; BASHAN et al., 2004).

## 2.2 *Megathyrsus maximus* cv. BRS Zuri

O *Megathyrsus* (syn. *Panicum*) *maximus* é uma das espécies de gramíneas forrageiras amplamente utilizadas nos sistemas de produção animal, por possuir vasta adaptação climática e alta produtividade de massa seca em climas tropicais (GOMES et al., 2011). Essas características positivas fazem com que este gênero seja o segundo mais cultivado em pastagens no Brasil, perdendo somente para as gramíneas do gênero *Urochloa* (syn. *Brachiaria*) (NASCIMENTO et al., 2014).

A cultivar BRS Zuri é resultado de uma seleção massal entre populações derivadas de um *Megathyrsus maximus* coletadas na Tanzânia. A cultivar foi selecionada com base na produtividade, vigor, capacidade de suporte, desempenho animal, resistência às cigarrinhas-das-pastagens (EMBRAPA GADO DE CORTE, 2014).

É uma planta cespitosa ereta e alta, com folhas verdes escuras, longas, largas e arqueadas. Apresenta tolerância moderada ao encharcamento do solo, semelhante ao Tanzânia-1, porém se desenvolve melhor em solos bem drenados, sendo opção para diversificação de pastagens nos biomas Amazônia e Cerrado.

Avaliada em parcelas, sob cortes manuais, a cultivar BRS Zuri atingiu a produção anual de 21,8 t/ha/ano de massa seca foliar, 50% a mais que o capim Colômbio e similar ao capim Tanzânia-1. A estacionalidade da produção foi similar às cultivares Tanzânia-1 e Mombaça, atingindo 15% do total anual no período seco. A cultivar BRS Zuri apresentou porcentagem de folhas de 87%, e com os teores de proteína bruta variando de 11 a 15% nas folhas e de 7 a 12% nos colmos (EMBRAPA GADO DE CORTE, 2014).

## 2.3 Bactérias promotoras do crescimento vegetal em gramíneas

A FBN para as gramíneas é realizada pelas bactérias no interior do tecido do vegetal ou próxima à rizosfera. Para as gramíneas, a quantidade de nitrogênio disponibilizado para culturas pela FBN é moderada, necessitando ainda de mais estudos da contribuição das bactérias para as culturas. O manejo da fertilidade do solo explorando as biotecnologias existentes podem ser adotados para potencializar



a produção e o correto avanço econômico, social e ecológico dos diferentes ecossistemas pastoris do Brasil. Assim, a associação entre gramíneas e as bactérias promotoras de crescimento de plantas podem representar uma vantajosa alternativa para a produção animal a pasto, aumentando a produção de forragem e auxiliando no manejo químico do solo e qualidade ambiental. A FBN contribui globalmente com  $180 \times 10^6$  toneladas métricas de N por ano, sendo que as associações simbióticas produzem 80% do restante provenientes de bactérias de vida livre ou sistemas associativos. Essa capacidade de reduzir e formar quantidades de nitrogênio a partir do reservatório atmosférico, enriquece o solo e é restrito às bactérias (SIVASAKTHI; USHARANI; SARANRAJ, 2014).

Seguindo ainda o contexto de sustentabilidade, Bergamashi (2006) observou a potencialidade da FBN para substituir total ou parcialmente a adubação nitrogenada em cultivares de sorgo, uma vez que inoculação pode auxiliar na economia de fertilizantes nitrogenados oriundos de combustíveis fósseis não renováveis. Segundo Fancelli (2010), o Brasil tem potencial para gerar economia de 30 a 50 kg ha<sup>-1</sup> de fertilizantes minerais nitrogenados com a adoção da técnica de inoculação na cultura do milho na safra e safrinha.

Sobral (2003) categorizou os benefícios promovidos pelas BPCV em diretos e indiretos. De acordo com o autor, os benefícios diretos estão relacionados no aumento da disponibilidade de nutrientes, a FBN, à produção de hormônios promotores de crescimento e na solubilização de fosfatos. Os indiretos são o maior controle biológico por competição por nutrientes, resistência a doenças e produção de substâncias que captam o ferro, os sideróforos. Além disso, Itzigsohn et al. (2000) não observaram impactos negativos ao ambiente com a inoculação destes microrganismos nas pastagens. Existe uma grande necessidade em se pesquisar a contribuição da FBN e na diversidade de microrganismos diazotróficos que se associam com forrageiras, com o objetivo de estabelecer o verdadeiro potencial destas bactérias para promover o crescimento das plantas (REIS JUNIOR, 2002).

### 2.3.1 *Azospirillum spp.*

O *Azospirillum* é um gênero de bactérias de vida livre encontrado em quase todos os lugares da Terra (HUERGO et al., 2008). Muitos estudos têm mostrado que esse microrganismo pode promover o crescimento e o aumento da produtividade em diversas culturas, muitas das quais possuem grande importância agrônômica ou ecológica (BASHAN; HOLGUIN, 1997; BASHAN et al., 2004). A bactéria do gênero *Azospirillum* possui os seguintes benefícios como inoculante: a) a bactéria é endofítica, ou seja, penetra nas raízes das plantas; b) apresenta antagonismo à agentes patogênicos; c) produz fitormônios; e d) ocorre em todos os tipos de solo e clima (ANDRADE et al., 2016).

Esses microrganismos apresentam metabolismo de Carbono (C) e Nitrogênio (N) bem diversificado, o que aumenta suas condições de competitividade durante o processo de colonização. Quanto às fontes de carbono, elas apresentam uma preferência por ácidos orgânicos, como malato, piruvato e succinato, assim como uma preferência de frutose sobre glucose (QUADROS, 2009). No que se refere ao N, as principais fontes são amônio, nitrato, nitrito, aminoácidos e nitrogênio molecular (N<sub>2</sub>) (TRENTINI, 2010). O gênero *Azospirillum* possui uma grande distribuição em solos tropicais e subtropicais, entretanto, ainda não se sabe como sobrevivem no solo na ausência de plantas hospedeiras. Há relatos de que essas bactérias possuem diferentes mecanismos de proteção, como formação de cistos e produção de melanina, que podem ajudar na sobrevivência em condições que não são favoráveis (DEL GALLO; FENDIRIK, 1994). Estirpes de *Azospirillum* podem secretar ácido abscísico, que está relacionado a mecanismos e defesa a estresse hídrico em plantas (COHEN et al., 2015). O ácido abscísico é um fitormônio que induz resposta positiva ao estresse hídrico, ambiental e salino em plantas (BAUER et al., 2013).

O *Azospirillum ssp.* atua por diferentes mecanismos de promoção de crescimento de plantas. A produção de reguladores vegetais é um dos principais mecanismos, pois altera o crescimento das plantas, modificando a morfologia das raízes e, assim maximizando a exploração do solo, que por sua vez eleva o

processo da redução assimilatória de nitrato disponível na planta e fixação biológica do N<sub>2</sub> (BODDEY et al., 1986; BASHAN; HOLGUIN, 1997; INIGUEZ et al., 2004).

Os efeitos benéficos do *Azospirillum* para as plantas podem ser caracterizados quanto ao aumento da densidade e comprimento dos pêlos absorventes das raízes; incrementos na velocidade de aparecimento de raízes laterais e do volume de superfície radicular; alteração da respiração das raízes e das atividades de enzimas da via glicolítica e do ciclo dos ácidos tricarbóxicos; produção de nitritos; aumento na absorção de nutrientes e sinais moleculares que interferem no metabolismo das plantas. Além dos efeitos hormonais, o *Azospirillum* ainda contribui para a planta associada com nitrogênio fixado (RIGGS et al., 2001).

### **2.3.2 *Pseudomonas* spp.**

O gênero *Pseudomonas* pertence à Família *Pseudomonadaceae*, caracterizadas como bacilos Gram-negativos, não esporulados, com flagelos, totalizando dez espécies conhecidas. Entre as bactérias promotoras do crescimento vegetal, o gênero *Pseudomonas* spp. detém maior volume de relatos, pela sua ampla distribuição e ocorrência natural em diferentes regiões. A sua habilidade de colonizar diferentes ambientes está relacionada à versatilidade nutricional e a diversidade de metabólitos produzidos, como antibióticos, sideróforos e hormônios de crescimento vegetal. As espécies de *Pseudomonas* mais relevantes para a agricultura são *P. fluorescens* e *P. putida*, que ratificaram a eficiência desse gênero no desenvolvimento e produtividade de plantas (SOTTERO, 2003).

As *Pseudomonas* são consideradas o grupo mais promissor de rizobactérias no crescimento de plantas envolvendo o controle biológico das doenças em vegetais, além disso, ainda são capazes de produzir metabólitos secundários como antibióticos, fitohormônios, compostos voláteis, e sideróforos; sendo assim, a habilidade dessas bactérias em promover o crescimento de plantas, está relacionado principalmente pelo fato desses organismos produzirem o AIA e outros compostos importantes (SIVASAKTHI; USHARANI; SARANRAJ, 2014).

A *Pseudomonas fluorescens* é reconhecida pela sua capacidade de estimular o crescimento vegetal. Apresenta-se em forma de bastonetes e necessita de

oxigênio para sobreviver, além de possuir em sua extremidade vários flagelos que permitem a sua locomoção no solo. Nas plantas, atuam como inibidores de patógenos, na solubilização dos fosfatos e na produção de hormônios de crescimento (COELHO et al., 2007). Para Naik et al. (2008) as *Pseudomonas* são dos mais importantes grupos de bactérias promotoras do crescimento vegetal por suas características multifuncionais e potencialidade para a produção de inoculantes comerciais.

Segundo Duijff et al. (1997), a *P. fluorescens* pode ser inoculada para incrementar o fósforo (P) disponível para as plantas, por meio da mineralização de fosfatos orgânicos por ação pela liberação de fosfatases ou solubilização de fosfatos inorgânicos, por meio dos ácidos orgânicos. Vyas e Gulati (2009) observaram que cada estirpe de *Pseudomonas* secreta diferentes quantidades de ácidos orgânicos, influenciando diretamente na solubilização de fosfato e promoção de crescimento.

Zamariolli (2016) relatou que a inoculação das sementes de milho com *Pseudomonas fluorescens* proporcionou maior diâmetro da espiga e número de fileiras de grãos quando associada a apatita como fonte de fósforo e maior número de grãos por espiga. Chaves et al. (2013) verificaram maior eficiência do superfosfato triplo na cultura do milho quando associado à inoculação com *P. fluorescens*. Esses autores observaram ainda que a combinação dessa bactéria com fosfato natural reativo aumentou o teor de fósforo nas folhas de milho. Zamariolli (2016) notou que a capacidade de solubilização de fosfatos com *P. fluorescens* é maior nas fontes de fósforo menos solúveis, sendo uma alternativa sustentável para melhorar a eficiência dessa fonte de P.

### **2.3.3 Coinoculação entre *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense***

As interações biológicas das bactérias *Rhizobium* e *Bradyrhizobium* no solo apresentam grandes impactos econômicos por consequências do aumento da nodulação e maior crescimento experimentado por forrageiras e leguminosas em resposta à interação positiva entre bactérias simbióticas e diazotróficas, especialmente as pertencentes ao gênero *Azospirillum* spp. As combinações de bactérias aplicadas em sementes resultaram em aumento da produção da planta,

que foram diretamente associados ao aumento da fixação de N<sub>2</sub> pelos microrganismos. Nos casos utilizados com *Azospirillum brasilense*, houve efeitos benéficos da associação, e devido as bactérias produzirem hormônios vegetais aumentaram o crescimento do sistema radicular, possibilitando maior exploração do solo (FERLINI, 2006).

Produtos à base de *Azospirillum brasilense* tem sido preconizados para a coinoculação na cultura da soja, juntamente com *Bradyrhizobium* no Brasil, na Argentina e na África do Sul. Há um grande interesse na prática alternativa, que vise a redução da aplicação de fertilizantes nitrogenados. A inoculação mista de leguminosas com bactérias simbióticas e assimbióticas, produzem efeitos sinérgicos, que superam os resultados produtivos obtidos na forma de aplicação individual (BÁRBARO et al., 2008).

Inoculações mistas têm uma maior taxa de sucesso, pois parece que nas plantas coinoculadas, a nutrição é mais equilibrada e absorção de nitrogênio, fósforo e outros nutrientes é significativamente aumentada. A inoculação mista de *Azospirillum* com *Rhizobium* na cultura do feijão, aumenta a estimulação e a função dos nódulos, número total e massa dos nódulos, diferenciação das células epidérmicas nos pêlos radiculares, produtividade de grãos e área da superfície radicular (BASHAN; BASHAN, 2005).

Dardanelli et al. (2008) também estudando coinoculação em feijão com *Azospirillum brasilense* e *Rhizobium tropici* sob estresse salino em hidroponia, verificaram efeito positivo da coinoculação, com maior desenvolvimento radicular, fixação de nitrogênio, produção de mais sinais para produção de flavonóides e alívio dos efeitos negativos causado pelo NaCl. Além disso, os resultados sugeriram que *Azospirillum* permitiu maior exsudação e persistência dos flavonóides das raízes de feijão.

Determina-se portanto a necessidade de avaliar se esses efeitos benéficos que a coinoculação demonstra em leguminosas, também ocorre em gramíneas tropicais, incluindo espécies largamente utilizadas, como pastagens.

## 2.4 Associação entre adubação nitrogenada e bactérias promotoras do crescimento vegetal

A fixação biológica de nitrogênio em gramíneas não é tão eficiente como em leguminosas. A FBN em gramíneas pode adicionar ao sistema até 40 kg/ha/ano de N, uma quantidade abaixo da necessária (OKON; LABANDERA-GONZALES, 1994). Costa et al. (2008) recomendaram para o gênero *Urochloa*, adubação nitrogenada variando de 100 a 300 kg/ha/ ano de N, em função da exigência da cultivar e quanto a fertilidade do solo.

Assim, fica evidente a necessidade de complementar a quantidade de N para as gramíneas via fertilizante mineral. Contudo, os resultados encontrados na literatura são contraditórios, uma vez que a associação dessas tecnologias pode ser competitiva ou aditiva, dependendo da dose de N-fertilizante, da estirpe e da planta. A associação entre 40 kg/ha de N e a inoculação com *A. brasilense* estirpes Ab-V5 e Ab-V6 em três distintas regiões do Brasil, resultou em maiores produtividades na biomassa de forrageira de *Urochloa* spp. (HUNGRIA et al., 2016).

Ao estudarem a eficiência de uso de nitrogênio na cana-de-açúcar, na Índia, Suman et al. (2008) observaram que as variedades de cana com maior número de bactérias diazotróficas apresentaram maior potencial de FBN e que, nessas condições, quando submetidas à metade da dose recomendada de fertilizante nitrogenado, atingiram produtividades similares aos de plantas com a dose completa. Oliveira et al. (2006), de forma semelhante, constataram que a inoculação da cana-de-açúcar, cultivada em solos de baixa fertilidade, promoveu produtividade similar às de áreas que receberam fertilizantes nitrogenados.

As pesquisas envolvendo a inoculação por *A. brasilense* em gramíneas atestam vários benefícios para a cultura hospedeira, como alterações morfológicas da planta, nutricionais, incremento de produtividade, entre outros. Longhini et al. (2016) avaliaram o efeito da inoculação de sementes de milho com *A. brasilense* e adição controlada de N em cobertura sobre a nutrição da cultura e observaram que a inoculação promoveu o aumento da altura da planta e produtividade de grãos. Dartora et al. (2013) combinaram a inoculação das estirpes de *A. brasilense* e *H.*

*seropedicae* no milho e observaram que a inoculação incrementou o diâmetro basal do colmo, produção de matéria seca da parte aérea e produtividade de grãos.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Local, condições climáticas e condução experimental

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, cultivando-se a espécie forrageira *Megathyrsus* (*syn. Panicum*) *maximus* cv. BRS Zuri, no setor de Zootecnia, da Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba (FMVA), Araçatuba – SP, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, no período de Outubro de 2017 a Fevereiro de 2018, na região noroeste do Estado de São Paulo a 415 metros de altitude, com latitude 21°08’S e longitude de 50°25’W.

O experimento foi realizado em vasos de polipropileno de cor preta, devidamente etiquetados e identificados, sendo o solo destorroado, homogeneizado, seco ao ar e peneirado com malha de dois milímetros de abertura, sendo que para cada vaso, foram colocados cinco dm<sup>3</sup> de terra em uma bandeja de plástico para a adubação.

Para o experimento foi realizada a amostragem do solo na profundidade de 0-0,2 m, sendo realizada as determinações química, segundo metodologia de Raij et al. (2001): para P, K, Ca e Mg utilizando-se o método da resina trocadora de íons; S-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> pela extração com solução de fosfato de cálcio; pH em CaCl<sub>2</sub>; matéria orgânica por colorimetria; H + Al com solução tampão SMP; Al em KCl, e granulométrica (ALMEIDA et al., 2012). Os resultados foram: M.O. = 26 g dm<sup>-3</sup>; pH = 5,2; P(resina), S-SO<sub>4</sub>, B, Cu, Fe, Mn e Zn de 23; 19; 0,55; 1,2; 111; 9,9 e 3,5 mg dm<sup>-3</sup>, respectivamente; K, Ca, Mg, Al, H+Al, SB e CTC de 2,9; 25; 17; 28; 44,9; e 72,9 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>, respectivamente; V = 62 %; argila = 155 g kg<sup>-1</sup>; silte = 110 g kg<sup>-1</sup> e areia total = 735 g kg<sup>-1</sup>. O solo utilizado foi caracterizado como ARGISSOLO VERMELHO-AMARELO, segundo o Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (SANTOS et al., 2018).

Foi estimado a população de microrganismos diazotróficos no solo pela técnica do número maior provável (NMP), na cultura NFb semi-sólido forma, de acordo com Döbereiner et al. (1976) e Hungria e Araújo (1994), obtendo-se o valor de 9,5x10<sup>4</sup> bactérias/g de solo.



Os tratamentos foram determinados a partir da inoculação de estirpes de bactérias promotoras do crescimento vegetal (BPCV).

**Tabela 1** – Descrição dos tratamentos:

Número.	Descrição dos Tratamentos
1	Controle: Sem N e sem inoculação
2	Controle: Aplicação de N-mineral em cobertura (100 mg de N/dm <sup>-3</sup> ) e sem inoculação
3	Sem N e com inoculação de estirpes <i>Azospirillum brasilense</i> Ab-V5 e Ab-V6
4	Combinação de N-mineral (100 mg de N/dm <sup>-3</sup> ) mais a inoculação com estirpes <i>Azospirillum brasilense</i> Ab-V5 e Ab-V6
5	Combinação de N-mineral (100 mg de N/dm <sup>-3</sup> ) mais a inoculação com estirpes <i>Azospirillum brasilense</i> Ab-V5 e Ab-V6 e com a re-inoculação com estirpes na parte aérea do capim a cada corte
6	Sem N e com inoculação de estirpes <i>Pseudomonas fluorescens</i> CNPSo 2719
7	Combinação de N-mineral (100 mg de N/dm <sup>-3</sup> ) mais a inoculação com estirpes <i>Pseudomonas fluorescens</i> CNPSo 2719
8	Combinação de N-mineral (100 mg de N/dm <sup>-3</sup> ) mais a inoculação com estirpes <i>Pseudomonas fluorescens</i> CNPSo 2719e com a re-inoculação com estirpes na parte aérea do capim a cada corte
8	Sem N e com inoculação de estirpes <i>Azospirillum brasilense</i> Ab-V6 e <i>Rhizobium tropici</i> CIAT 899
10	Combinação de N-mineral (100 mg de N/dm <sup>-3</sup> ) mais a inoculação com estirpes <i>Azospirillum brasilense</i> Ab-V6 e <i>Rhizobium tropici</i> CIAT 899
11	Combinação de N-mineral (100 mg de N/dm <sup>-3</sup> ) mais a inoculação com estirpes <i>Azospirillum brasilense</i> Ab-V6 e <i>Rhizobium tropici</i> CIAT 899 e com a re-inoculação com estirpes na parte aérea do capim a cada corte

Fonte: Elaboração do próprio autor.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com o esquema de parcelas subdivididas considerando os tratamentos como parcela principal e os três cortes realizados como sub-parcela, cinco repetições, totalizando 55 unidades experimentais.

A adubação foi realizada antes do preenchimento dos vasos, via solução, com pipeta graduada e posterior homogeneização, sendo que os nutrientes e as doses usados no experimento foram: Ca(H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> - 200 mg dm<sup>-3</sup> de P; K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> - 150 mg dm<sup>-3</sup>

de K e  $61,53 \text{ mg dm}^{-3}$  de S;  $\text{H}_3\text{BO}_3$  -  $0,5 \text{ mg dm}^{-3}$  de B;  $\text{CuSO}_4$  -  $1,0 \text{ mg dm}^{-3}$  de Cu;  $\text{H}_2\text{MoO}_4$  -  $0,1 \text{ mg dm}^{-3}$  de Mo;  $\text{MnSO}_4$  -  $5,0 \text{ mg dm}^{-3}$  de Mn, e  $\text{ZnSO}_4$  -  $2,0 \text{ mg dm}^{-3}$  de Zn. A adubação nitrogenada também ocorreu via solução, somente na semeadura, quatro dias antes da forrageira ser semeada,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  -  $100 \text{ mg dm}^{-3}$  de N.

A semeadura da forrageira foi realizada no dia 25/10/2017, quatro dias após a adubação mineral e transferência da terra para os vasos. As concentrações de bactérias nos inóculos também foram estimadas pela contagem de colônias em placas de meio NFb sólida (DÖBEREINER et al., 1976; HUNGRIA; ARAÚJO, 1994). Após a contagem e antes da inoculação, as concentrações foram ajustadas para a concentração de bacterianas  $2 \times 10^8$  unidades formadoras de colônias (UFC)  $\text{mL}^{-1}$ .

Foram utilizados 15 mL de inoculantes para cada kg de semente antes da semeadura, logo após deixado secar durante cerca de 30 min, em local fresco e abrigado do sol e posteriormente semeadas 15 sementes por vaso. O desbaste foi feito no momento que as plantas apresentaram três folhas totalmente expandidas, mantendo-se cinco plantas uniformes por vaso.

Os vasos foram irrigados diariamente, duas vezes ao dia, com água deionizada, com a quantidade determinada para atingir 80% da capacidade de campo do solo.

A reinoculação foi realizada quinze dias após primeiro e o segundo corte, por meio de um pulverizador spray com volume conhecido de 300 mL, aplicando-se 60 mL por vaso.

## **3.2 Avaliações realizadas**

### ***3.2.1 Produção de forragem e composição morfológica da parte aérea***

Para determinação da produção de forragem e composição morfológica foram realizados três cortes para avaliar a massa seca do capim Zuri. O primeiro, segundo e terceiro foram realizados após 40, 70 e 100 dias após a semeadura da forrageira. Os cortes da parte aérea da forragem foram realizados manualmente, com a utilização de tesouras a 10 cm da altura do solo. O material foi levado à estufa de

circulação forçada de ar à temperatura de 65°C, por 72 horas, conforme descrição de Silva e Queiroz (2002).

### **3.2.2 Altura, índice de clorofila foliar e perfilhamento do capim**

Um dia antes de cada corte do capim foram feitas medidas da altura das plantas de cada vaso, com auxílio de régua milimetrada.

Neste mesmo dia foram realizadas leituras do índice de clorofila foliar (ICF), tomadas por um clorofilômetro digital, Clorofilog, modelo CFL 1030, sendo realizadas em duas lâminas das folhas recém-expandidas, das cinco plantas por vaso. Em seguida realizou-se a contagem do número de perfilhos por vaso.

Após o corte o material vegetal coletado, primeiramente foi separado em perfilhos e pseudocolmos principais, e posteriormente determinado a massa de perfilhos por vaso. Em seguida juntou-se o material coletado e realizou-se uma segunda separação em frações de lâmina foliar e pseudocolmo (colmo + bainha) da gramínea, a fim de determinar a massa de cada componente.

### **3.2.3 Avaliação do sistema radicular**

A determinação da biomassa radicular foi realizada após o terceiro e último corte do capim. As raízes foram separadas do solo por lavagens sucessivas em água corrente em peneiras com malha de 1 mm até que não fosse mais possível identificar qualquer contaminação com solo.

Logo em seguida as amostras de raízes foram colocadas em estufa com circulação forçada de ar a 65°C, por 72 horas e determinada a biomassa seca radicular.

### **3.2.4 Acúmulo de nutrientes da parte aérea e raízes**

Após moagem da massa seca de forragem, foi determinada a concentração de nutrientes na parte aérea e raízes (após o terceiro corte) de acordo com a metodologia proposta por Malavolta et al. (1997), no Laboratório de Nutrição de

Plantas, na UNESP de Ilha Solteira. O acúmulo foi determinado a partir da concentração em g/kg de cada nutriente multiplicada pela massa seca de forragem produzida.

A determinação do teor de nitrato e de amônio ocorreu pelo método de destilação a vapor (método de Kjeldahl) - (BREMNER; KEENEY, 1965) e pela extração com cloreto de potássio (KCl) - (SILVA, 2009).

### **3.2.5 Composição bromatológica**

Foram determinados os teores fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), teor de N pelo método micro-Kjeldahl e a digestibilidade verdadeira in vitro da matéria seca da parte aérea dos três cortes do capim. A proteína bruta (PB) foi calculada multiplicando o teor de N por 6,25. As determinações seguiram a metodologia descrita por Silva e Queiroz (2002).

### **3.3 Análise estatística**

Os dados foram testados quanto à normalidade dos erros e homogeneidade de variâncias. Os resultados submetidos à análise de variância pelo teste F ( $P < 0,05$ ) e comparados entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade. Quando identificado efeito da interação entre os fatores, as respostas foram comparadas dentro de cada corte. Para isso, foi utilizado o programa de análise estatística SISVAR (FERREIRA, 2011).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Produtividade e composição morfológica

Houve efeito significativo dos tratamentos ( $P=0,00001$ ) para o acúmulo de massa seca (MS) da parte aérea e de raízes, considerando a soma da produtividade dos três cortes. Para o acúmulo de MS da parte aérea, os tratamentos que receberam adubação N foram superiores ( $P\leq 0,05$ ) em relação aos que não foi aplicado N. Os valores variaram entre 23,2 e 46,2 g por vaso, representados pelo tratamento controle sem N e sem inoculação, e pela coinoculação do *R. tropici* + *A. brasilense* (Ab-V6) + N, respectivamente (Figura 1a). As plantas que foram apenas inoculadas com *P. fluorescens* e *R. tropici* + Ab-V6 tiveram resultados semelhantes ao tratamento controle sem N e sem inoculação, mas a produção de MS acumulada foi 3,5 e 4,0% maior, respectivamente (Figura 1a).

As BPCV possuem a capacidade de promover o crescimento e disponibilizar nutrientes para as plantas, fixar biologicamente o nitrogênio, solubilizar fosfato, aumentar a resistência da planta aos estresses bióticos e abióticos e produzir metabólitos essenciais para o crescimento (DUTTA; GACHHUI, 2006; SHWETA et al., 2013; ALY et al., 2013; YANG et al., 2014). Um dos principais fitormônios sintetizados pelas bactérias é o ácido indolacético (AIA) que promove o crescimento das plantas e aumenta a absorção de nutrientes, garantindo o uso eficiente desses recursos (HUNGRIA et al., 2010).

Brown (1972) verificou que os metabólitos produzidos pelas BPCV, como auxinas, giberelinas e seus precursores, influenciaram o crescimento vegetal, uma vez que tais substâncias são responsáveis por diversos eventos fisiológicos, que resultam no crescimento das plantas. Auxinas e giberelinas atuam no crescimento e alongamento de colmos, folhas e raízes, a partir de alterações na expansão, divisão e alongamento celular nas regiões meristemáticas, local onde acontece o crescimento vegetal (DUCA et al., 2014; TAIZ; ZEIGER, 2013).

Os bons resultados apresentados neste estudo pela coinoculação entre *Azospirillum* e *Rhizobium*, podem ser explicados pelo efeito sinérgico que possuem, tendendo a superar os resultados produtivos obtidos quando utilizados na forma isolada (FERLINI, 2006; BÁRBARO et al., 2008). Em gramíneas, as estirpes de

*Azospirillum* (Ab-V5 e Ab-V6) contribuem como promotoras do crescimento vegetal (HUNGRIA et al., 2010), a partir da produção e secreção de substâncias que promovem um melhor estabelecimento e desenvolvimento das plantas, inclusive a síntese de ácido indol-3-acético, (AIA), (FUKAMI et al., 2017b; ILYAS; BANO, 2010), enquanto o *Rhizobium* participa na fixação biológica de N<sub>2</sub> e na produção de fitohormônios em não-leguminosas (GARCÍA-FRAILE et al., 2012; YANNI ; DAZZO, 2015).

Assim como o incremento no acúmulo de MS da parte aérea pelo gênero *Pseudomonas*, se deve a solubilização do fosfato, aumento na absorção de água e promoção de fitormônios (inclusive AIA) (MULETA et al., 2013). Avaliando o efeito da inoculação por *P. fluorescens* em *Pennisetum clandestinum* durante o inverno, Criollo et al. (2012) verificaram maior produção de massa seca e verde da planta em comparação com as que receberam apenas adubação nitrogenada, e enfatizaram que tais resultados foram proporcionados pela liberação de fitormônios.

Os resultados obtidos no presente experimento estão de acordo com o encontrado por Aguirre et al. (2018), que ao avaliar a produção de capim Coastcross-1 (*Cynodon dactylon*), inoculado com *Azospirillum* Ab-V5 e Ab-V6 e adubados com a dose de 100 kg ha<sup>-1</sup> de N, observaram efeitos positivos na produção de forragem da parte aérea quando comparados aos tratamentos não inoculados. Hungria et al. (2016) também observaram efeitos benéficos na produção da parte aérea de capins *Urochloa spp.*, combinando estirpes de *Azospirillum* Ab-V5 e Ab-V6 e 40 kg ha<sup>-1</sup> de N, com as bactérias promovendo incrementos na produção de 17,4 a 29,5%.

Para a biomassa seca radicular, os tratamentos fertilizados com N se destacaram em relação aos não adubados. A maior produtividade foi com a coinoculação de *R. tropici* + Ab-V6 e reinoculado após cada corte, com produtividade de 21,6 g/vaso e 7,0% superior ao controle com N (Figura 1b). Apesar de serem estatisticamente iguais, os tratamentos apenas inoculados com *P. fluorescens* e *R. tropici* + Ab-V6 apresentaram um aumento na produção de raízes de 7,0 e 12,8%, respectivamente, em relação ao controle sem N (Figura 1b).

Cardenas et al. (2012) também constataram aumento na proliferação de vilosidades das raízes, provocadas pela inoculação com BPCV, favorecendo o

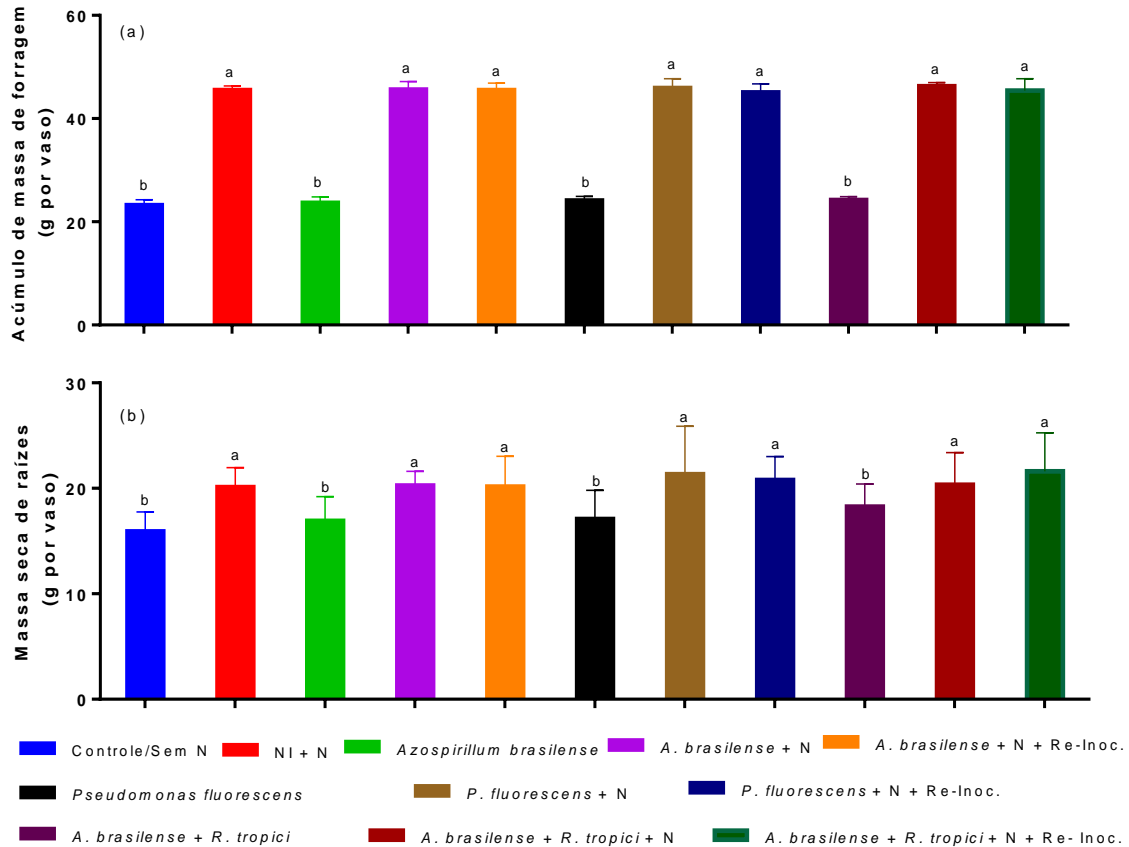
crescimento e a nutrição vegetal. Hernández et al. (2001) justificam o bom desempenho do *A. brasilense* em razão do incremento na densidade e tamanho dos pêlos radiculares, a partir da maior disponibilidade de fitormônios, que resultam na maior absorção de água e nutrientes.

Para Itzigsohn et al. (2000), a inoculação de *Azospirillum* spp. em pastagem tem potencialidade, especialmente em regiões com déficit hídrico e baixa fertilidade do solo, pela maior biomassa radicular, que resulta em maior capacidade de exploração do solo (MALIK et al., 1997). Isso justifica a ausência de resultados significativos pelas bactérias no presente trabalho, uma vez que o solo utilizado estava quimicamente adequado e água não era um fator limitante.

Duarte (2018) ao avaliar o desempenho de *Urochloa brizantha* cv. Paiáguas sob efeito da inoculação com BPCV e doses de N, verificou incrementos significativos na biomassa radicular na dose 50 kg N e inoculados com *P. fluorescens* e *A. brasilense* (Ab-V5 e Ab-V6), quando comparados ao tratamento sem inoculação.

Verificaram-se, portanto, efeitos positivos da inoculação de BPCV na produção de massa seca da parte aérea e de raízes, das plantas de capim Zuri, os quais promoveram incrementos na produção quando comparado aos tratamentos sem inoculação, uma vez que as bactérias secretam substâncias que aumentam o crescimento radicular, as plantas têm uma maior sustentação e condições para produtividade e crescimento. Aliado a isso, a condução do experimento em vaso com solo peneirado não impõem limites para o crescimento e desenvolvimento das raízes.

**Figura 1** – Acúmulo de massa seca de forragem (a) (g por vaso) e de raízes (b) (g por vaso) em *Megathyrus maximus* cv. BRS Zuri inoculado com bactérias promotoras do crescimento. Médias seguidas por letras diferentes são significativas pelo teste Scott-Knott ( $P \leq 0,05$ ).



Fonte: Elaboração do próprio autor.

Verificou-se interação entre os tratamentos e os cortes do capim Zuri ( $P=0,00001$ ), para a massa seca total (MST), massa seca de lâmina foliar (MSLF) e massa seca de colmo+bainha (MSC+B) (Figura 2). Os tratamentos apresentaram uma redução na produção de MST, MSLF e MSC+B da primeira para a terceira avaliação.

No primeiro corte a MST dos tratamentos apenas inoculados com *A. brasilense*, *P. fluorescens* e *R. tropici* + *A. brasilense* Ab-V6 acrescentaram à produtividade em 5,5; 10,5 e 5,3%, respectivamente, em relação ao tratamento controle sem N. Assim como o tratamento adubado com N e inoculado com *P.*

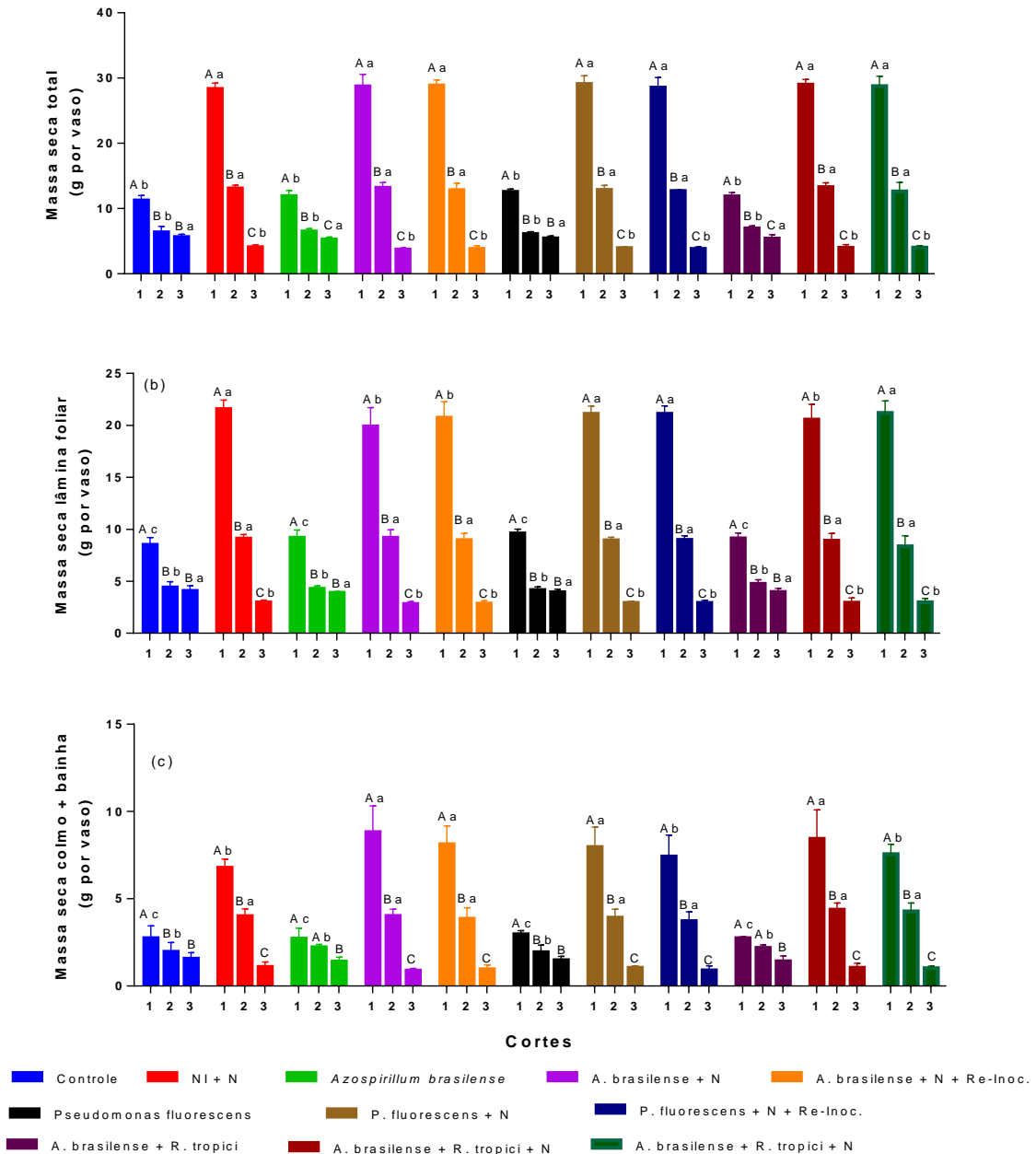


*fluorescens* produziu 29,1 g por vaso, aumentando em 2,5% a produtividade em relação ao controle com N. Para a MSLF, o tratamento controle positivo apresentou a maior produtividade, 21,5 g por vaso, entretanto, apenas a inoculação com *A. brasilense*, *P. fluorescens* e *R. tropici* + Ab-V6 incrementaram em 7,4; 11,4 e 6,8%, respectivamente, na produção em relação ao tratamento controle negativo, apesar de não ter ocorrido diferença significativa entre eles (Figura 2b). Para a MSC+B os tratamentos adubados com N e inoculados com *A. brasilense*, *P. fluorescens* e *R. tropici* + Ab-V6, foram superiores em relação ao tratamento controle com N em 23,1; 14,8 e 19,6%, respectivamente (Figura 2c).

No segundo corte, o tratamento em que houve apenas a coinoculação com *R. tropici* + AB-V6 incrementou em 8,3; 7,5 e 10,1% para a MST, MSLF e MSC+B, respectivamente, em relação ao tratamento controle sem N e sem inoculação. Assim como a inoculação com *R. tropici* + Ab-V6, aliada a adubação com N que aumentou em 8,6% a MSC+B em relação ao tratamento controle com N. As plantas que não foram adubadas com N foram superiores em produção às adubadas no terceiro corte para a MST e MSLF. No entanto, não houve efeito dos tratamentos na produção de MSC+B. Tanto para a produção de MST, MSLF e de MSC+B, não verificou-se efeito significativo da reinoculação das plantas no segundo e terceiro cortes.

O aumento apresentado na produção de folhas e colmos das plantas forrageiras resulta em maior produção de massa de forragem, conseqüentemente, maiores quantidades de carbono (C) é sequestrado para elevar a produtividade e ser estocado no solo via raízes. Plantas forrageiras bem manejadas e com alta produção de biomassa, podem sequestrar considerável quantidade de C (CERRI et al. 2010). Hungria et al. (2016) contabilizaram o sequestro de 9,3 Mt e-CO<sub>2</sub> ha<sup>-1</sup> para área de pastagem inoculadas com *Azospirillum*, destinados à produção de biomassa forrageira.

**Figura 2** – Massa seca total de forragem (a) (g por vaso), de lâmina foliar (b) (g por vaso) e de colmo + bainha (c) (g por vaso) em *Megathyrus maximus* cv. BRS Zuri inoculado com bactérias promotoras do crescimento. Médias seguidas por letras minúsculas diferem entre si para tratamentos, enquanto letras maiúsculas diferem entre si para os cortes da forrageira pelo teste Scott-Knott ( $P \leq 0,05$ ).



Fonte: Elaboração do próprio autor.

Constatou-se interação entre os tratamentos e os cortes do capim Zuri ( $P=0,00001$ ), para o número e massa seca de perfilhos, índice de clorofila e altura das plantas (Figuras 3 e 4). Nos dois primeiros cortes, as plantas inoculadas com bactérias promotoras do crescimento e fertilizadas com N foram estatisticamente ( $P\leq 0,05$ ) superiores aquelas sem adubação N e semelhantes entre si.

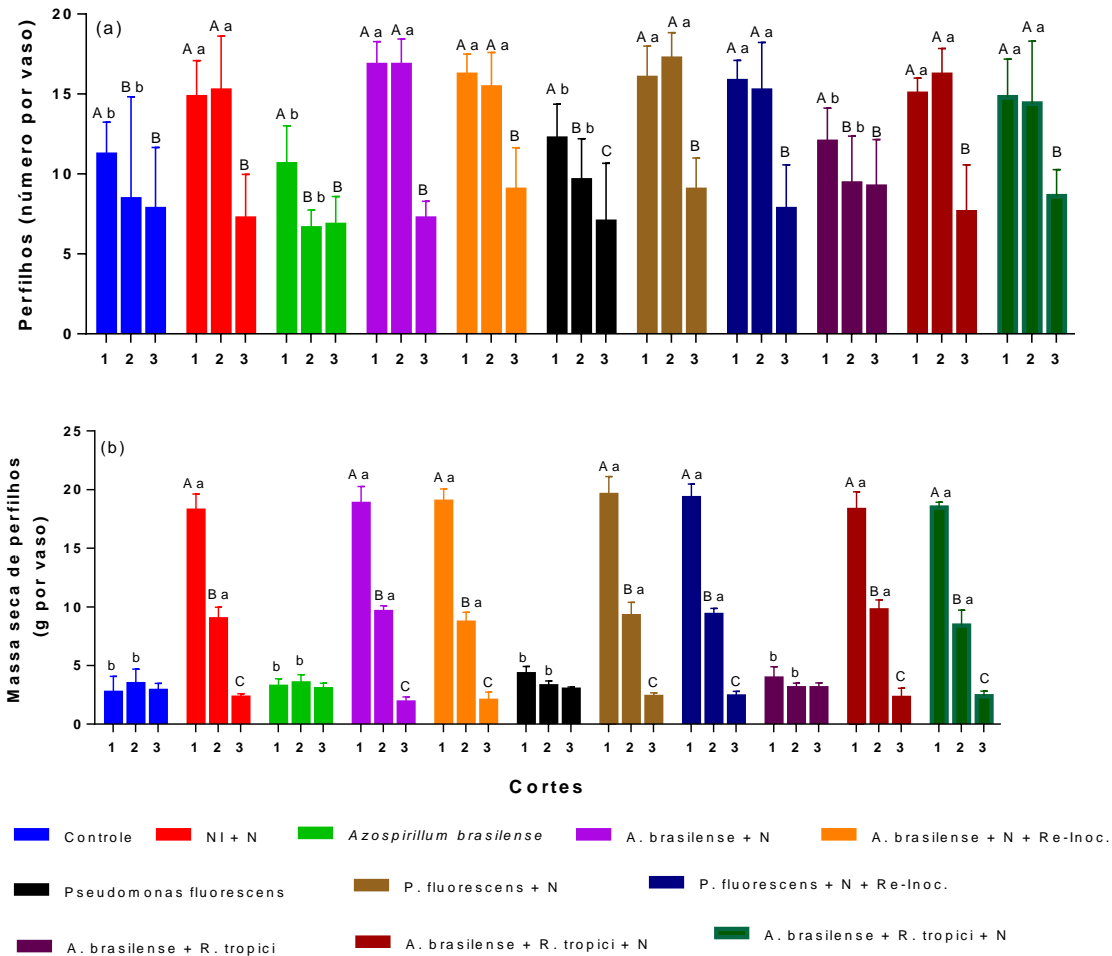
No primeiro corte as plantas adubadas com N e inoculadas com *A. brasilense* e *P. fluorescens*, apresentaram 16,8 e 16 perfilhos por vaso, respectivamente, um aumento de 11,9 e 7,5% em relação ao tratamento controle com N. Para o segundo corte, as plantas inoculadas com *A. brasilense*, *P. fluorescens* e coinoculação com *R. tropici* + Ab-V6, acrescentaram em 9,5; 11,6 e 6,1% o perfilhamento, respectivamente, em relação ao tratamento controle com N (Figura 3a).

Para a massa seca de perfilhos no primeiro corte, a maior produtividade foi das plantas inoculadas *P. fluorescens* em conjunto com adubação N, 19,53 g/vaso, representando um acréscimo de 6,8% em relação ao tratamento controle com N, apesar de serem estatisticamente semelhantes. Enquanto que as plantas apenas inoculadas com *P. fluorescens* e *R. tropici* + Ab-V6 aumentaram em 37,3 e 31,3% a produção de perfilhos, respectivamente, em relação ao tratamento controle sem inoculação e sem N.

No segundo corte, assim como no primeiro, as plantas que receberam N foram estatisticamente superiores aqueles que não foram adubadas, e semelhantes entre si. No entanto, as plantas coinoculadas com *R. tropici* + Ab-V6 aumentaram em 7,3% a produção de perfilhos, em relação ao tratamento controle com N. No terceiro corte não houve efeito dos tratamentos (Figura 3b).

Duarte (2018) avaliando o perfilhamento de *Urochloa brizantha* cv. Xaraés, submetido a inoculação de BPCV aliada a 50 kg ha<sup>-1</sup>, encontrou efeitos significativos quando comparado às plantas somente adubadas com N. Resultado semelhante ao do presente trabalho, onde apesar de não ter ocorrido efeitos significativos a inoculação promoveu incrementos no perfilhamento do capim.

**Figura 3** – Número de perfilhos por vaso (a) e massa seca de perfilhos (g por vaso) (b) em *Megathyrsus maximus* cv. BRS Zuri inoculado com bactérias promotoras do crescimento. Médias seguidas por letras minúsculas diferem entre si para tratamentos, enquanto letras maiúsculas diferem entre si para os cortes da forrageira pelo teste Scott-Knott ( $P \leq 0,05$ ).



Fonte: Elaboração do próprio autor.

Para o índice de clorofila foliar (ICF) do capim Zuri, foi observado um decréscimo do segundo corte em comparação ao primeiro, seguido de um acréscimo no terceiro corte em relação ao segundo (Figura 4a).

No primeiro corte os tratamentos somente com a inoculação por *P. fluorescens* e *R. tropici* + Ab-V6, foram estatisticamente superiores ao tratamento controle sem N e sem inoculação, tendo um ICF de 18,6 e 18,8, com aumento de

12,5 e 13,2%, respectivamente. Não houve efeito dos tratamentos no segundo corte, para o ICF. No terceiro corte os tratamentos adubados com N proporcionaram ICF estatisticamente semelhantes entre si e superiores em relação àqueles em que as plantas não foram fertilizadas com N. Não houve efeito da reinoculação após o primeiro e segundo cortes do capim Zuri.

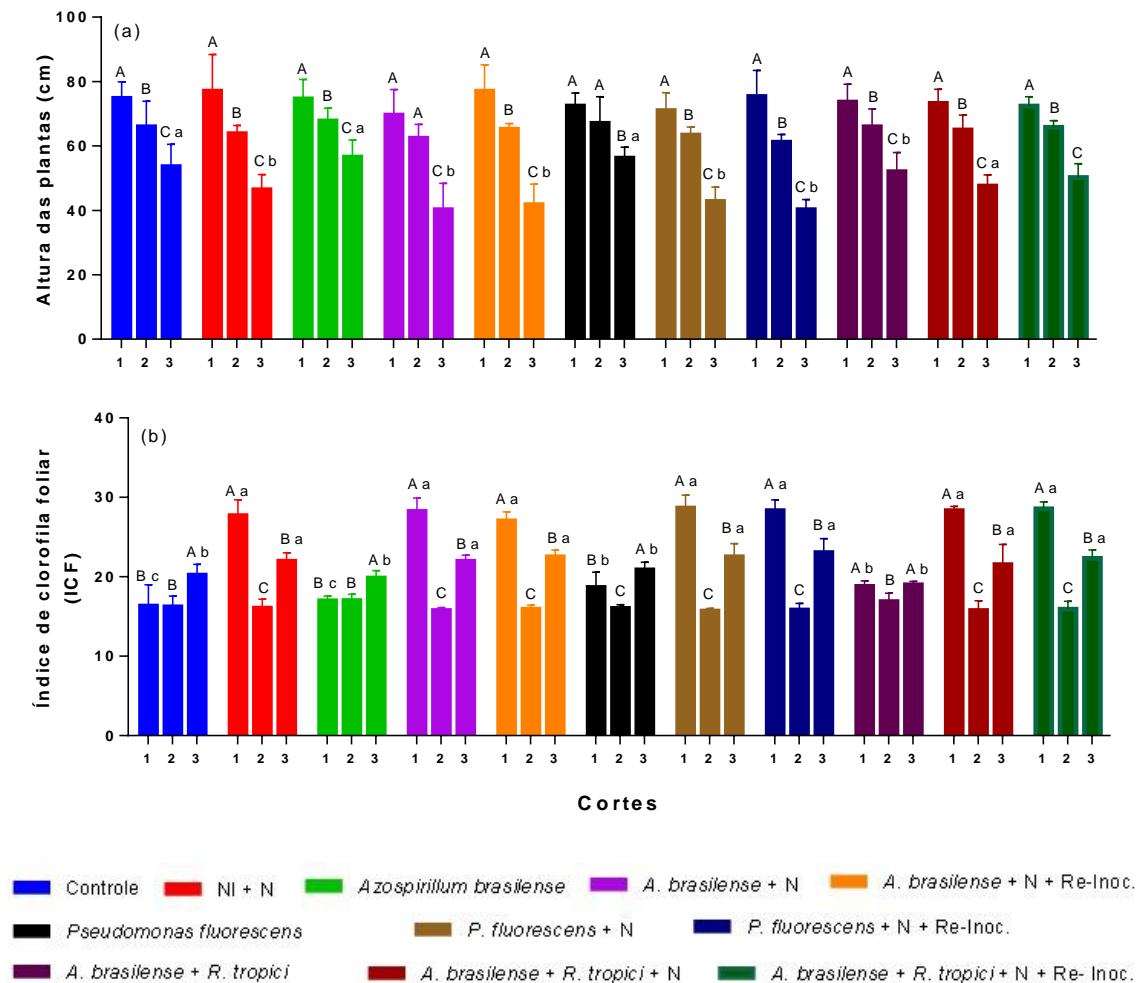
Segundo Larcher (2000), a capacidade fotossintética é otimizada com a maior disponibilidade de nitrogênio, uma vez que esse nutriente é o principal constituinte da molécula de clorofila. Sendo assim, o índice de clorofila foliar pode ser utilizado para prever o estado nutricional de nitrogênio nas plantas, a partir de leituras da quantidade de pigmentos da cor verde nas folhas da forragem.

Guimarães et al. (2016), utilizando o aparelho Cloroflog (Falker) para leituras do índice de clorofila em *Urochloa brizantha* cv. Marandu inoculadas com BPCV ao longo de três cortes, constataram resultados semelhantes ao do presente trabalho, sendo o primeiro corte com os maiores valores, seguido do terceiro e do segundo corte, tendo valores médios para os tratamentos inoculados com *A. brasilense* de 27,4 ICF, assim como os valores encontrados neste estudo.

Notou-se interação entre os tratamentos e os cortes ( $P=0,00001$ ) para a altura das plantas, onde foi observado um decréscimo do segundo corte em comparação ao primeiro, seguido de um acréscimo no terceiro corte em relação ao segundo (Figura 4b). Não houve efeito dos tratamentos dentro do primeiro e segundo cortes das plantas. No terceiro corte, as plantas não adubadas foram estatisticamente superiores aquelas em que foi aplicado N, tendo a maior altura com 56,6 cm, inoculados com *A. brasilense*.

Fukami et al. (2017a), avaliando os efeitos da inoculação com estirpes de *A. brasilense* (Ab-V5 + Ab-V6) e da coinoculação entre *R. tropici* + Ab-V6 em milho (*Zea mays*), constataram incrementos na altura e conseqüentemente na produção de massa seca da parte aérea das plantas em relação ao tratamento controle sem inoculação. Diferente dos resultados apresentados neste trabalho, onde as bactérias não incrementaram a altura das plantas

**Figura 4** – Altura (cm) (a) e índice de clorofila foliar (ICF) (b) em *Megathyrus maximus* cv. BRS Zuri inoculado com bactérias promotoras do crescimento. Médias seguidas por letras minúsculas diferem entre si para tratamentos, enquanto letras maiúsculas diferem entre si para os cortes da forrageira pelo teste Scott-Knott ( $P \leq 0,05$ ).



Fonte: Elaboração do próprio autor.

A reinoculação foliar não apresentou resultados expressivos para a produtividade da parte aérea, raízes, MSLF e MSC+B. Tais resultados estão de acordo com Aguirre et al. (2018), que concluíram não ser necessária a reinoculação de *A. brasilense* em capim Croastcross-1, após o primeiro ano de cultivo.

Avaliando a resposta agrônômica da cultura do triticale a diferentes formas de aplicação de estirpes de *Azospirillum*, Sipione et al. (2017) não verificaram efeitos

positivos da inoculação foliar para altura, massa seca de colmo e massa seca da parte aérea. Galindo et al. (2015) avaliando o ICF da cultura do trigo irrigado em função de diferentes épocas de aplicação de estirpes de *A. brasilense* via foliar, também não constataram diferença significativa entre a inoculação foliar e o tratamento testemunha.

Não houve diferença significativa entre a inoculação pelas bactérias e os tratamentos controle para grande parte dos atributos analisados. Fato que pode estar relacionado à utilização de um solo adequado em termos de fertilidade e ao fato dos vasos serem regados diariamente, não apresentando limitação hídrica para o crescimento das plantas, reduzindo as chances de efeitos contrastantes mais significativos.

Sendo assim, os resultados comprovam que apenas as BPCV não substituem os fertilizantes nitrogenados em gramíneas, porém quando associados promovem maior absorção e utilização do N disponível no solo (SAUBIDET et al., 2002; ROESCH et al., 2005), evidenciando um possível efeito sinérgico entre inoculação x adubação nitrogenada (LANA et al., 2012).

A produtividade do capim Zuri foi diminuindo ao longo dos cortes, sem efeito significativo dos tratamentos dentro do terceiro corte. O que demonstra o efeito das bactérias e da adubação nitrogenada mais pronunciado no estabelecimento das plantas nos vasos.

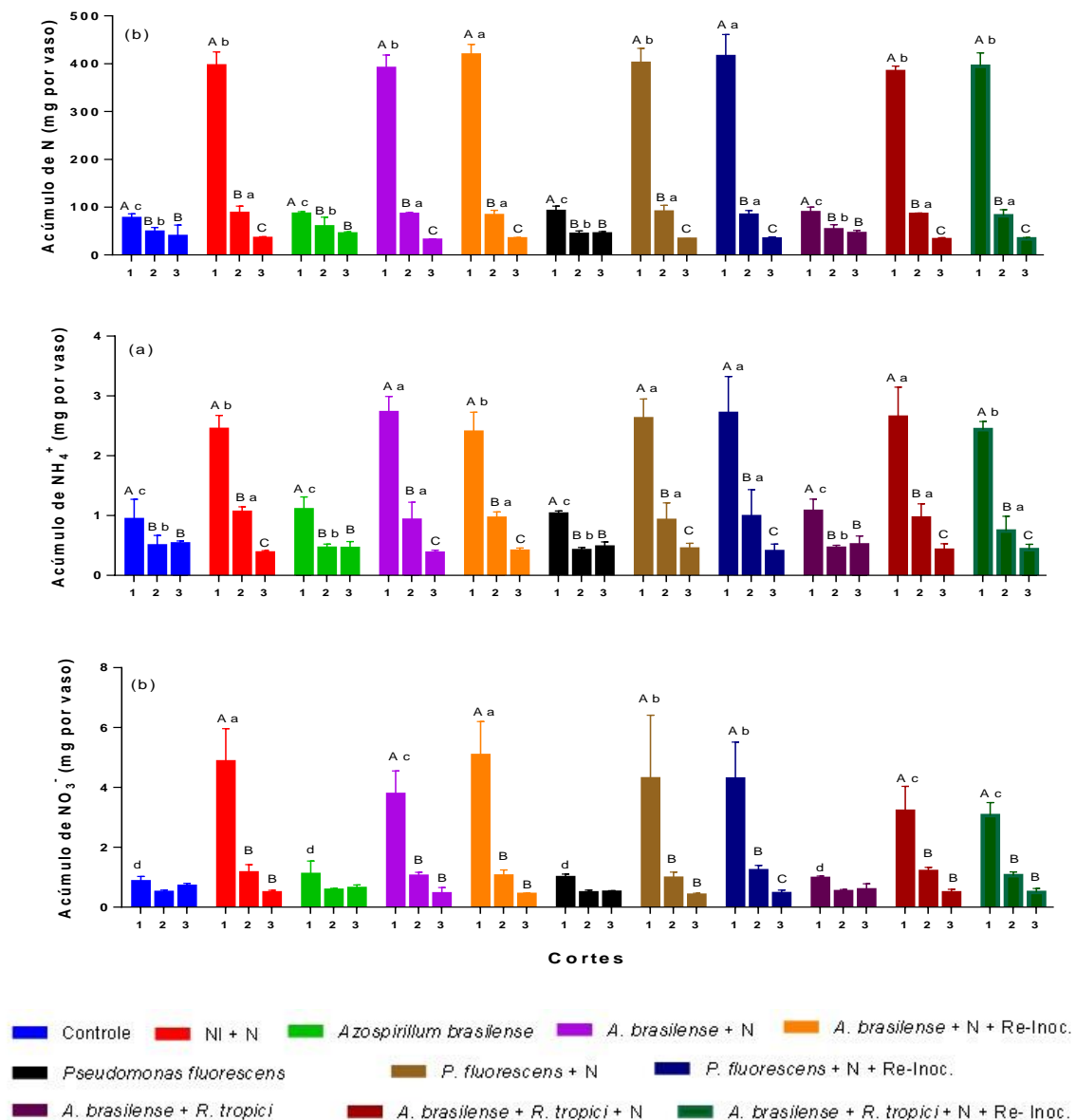
#### **4.2 Acúmulo de nutrientes da parte aérea e raízes**

Assim como os componentes morfológicos e produtivos, o acúmulo de nutrientes na parte aérea e radicular do capim Zuri apresentou efeitos positivos quando as plantas foram inoculadas com as BPCV, isso se explica pelo aumento no volume radicular e conseqüentemente maior absorção de água e nutrientes.

Os nutrientes que tiveram os maiores acúmulos foram N e K, resultado este se deve ao fato de serem os nutrientes mais absorvidos e acumulados no tecido vegetal das forrageiras (TORRES et al., 2005; BOER et al., 2007). Sendo o N um nutriente estrutural importante nas funções da planta, participando na biossíntese de proteínas e clorofila.

O acúmulo de nitrogênio total, amônio e nitrato na MS da parte aérea do capim Zuri, apresentou significância na análise de variância para os tratamentos, cortes e interação entre os tratamentos e os cortes ( $P=0,00001$ ) (Figura 5).

**Figura 5** – Acúmulos de nitrogênio (mg por vaso) (a), de  $\text{NH}_4^+$  (mg por vaso) (b) e de  $\text{NO}_3^-$  (mg por vaso) (c) em *Megathyrus maximus* cv. BRS Zuri inoculado com bactérias promotoras do crescimento. Médias seguidas por letras minúsculas diferem entre si para tratamentos, enquanto letras maiúsculas diferem entre si para os cortes da forrageira pelo teste Scott-Knott ( $P\leq 0,05$ ).



Fonte: Elaboração do próprio autor.



O primeiro corte foi o que propiciou maior acúmulo de N e  $\text{NH}_4^+$ , seguido do segundo e do terceiro cortes, exceto, para os tratamentos sem adubação com N, onde a segunda e a terceira avaliação foram estatisticamente iguais (Figuras 5a e 5b).

Na primeira avaliação, os tratamentos inoculados com *A. brasilense* e *P. fluorescens* na semeadura, e reinoculados após o primeiro e segundo cortes, tiveram o melhor desempenho no acúmulo de N, 418 e 416 mg N por vaso, respectivamente, assim como a inoculação com *A. brasilense* junto com a adubação com N, acumulou 2,7 mg  $\text{NH}_4^+$  por vaso, sendo que em ambas a adubação com N em conjunto com a inoculação foi estatisticamente superior ao tratamento controle com N. Apesar de não ter apresentado diferença significativa com o tratamento controle (sem inoculação e sem N), os tratamentos apenas inoculados com *A. brasilense*, *P. fluorescens* e *R. tropici* + Ab-V6, incrementaram 9,5; 17,4 e 13,6% no acúmulo de N do primeiro corte, respectivamente (Figura 5a).

Para o acúmulo de N e  $\text{NH}_4^+$  no segundo corte, todos os tratamentos adubados com N-mineral foram estatisticamente superiores àqueles sem N, porém, semelhantes entre si. O maior acúmulo de N e  $\text{NH}_4^+$  no segundo corte seguiram a seguinte ordem: tratamento inoculado com *P. fluorescens* e adubado com N e o tratamento controle com N, 92 mg N por vaso e 1,05 mg  $\text{NH}_4^+$  por vaso, respectivamente. Não houve diferença entre os tratamentos reinoculados após o primeiro corte, assim como não houve efeito dos tratamentos no terceiro corte (Figuras 5a e 5b).

Os incrementos verificados no acúmulo de nitrogênio e nos compostos nitrogenados, nitrato e amônio, tiveram efeitos benéficos principalmente pela inoculação das estirpes de *Azospirillum* e da *Pseudomonas*. Isso acontece pela produção de compostos orgânicos que beneficiam o crescimento radicular, potencializando a absorção de água e nutrientes pelas plantas (GUPTA et al., 2013), além disso, o gênero *Azospirillum* tem outra característica que é a fixação biológica de nitrogênio, contribuindo assim para uma melhor assimilação do N disponível. Bactérias do gênero *Azospirillum* podem influenciar a atividade da glutamina sintetase em raízes de gramíneas, sendo esse composto extremamente importante

no processo de incorporação do nitrogênio e essencial para as plantas expressarem todo seu potencial (MACHADO et al., 1998; UNNO et al., 2006).

Hungria et al., (2016), avaliando os efeitos da inoculação de estirpes de *A. brasilense* (Ab-V5 + Ab-V6) em *Urochloa brizantha* e *Urochloa ruzizienses*, encontrou incrementos de 4 a 15% no acúmulo de N, obtendo efeitos positivos da inoculação aliada a adubação nitrogenada, quando comparado os tratamentos apenas adubados com N. Estes dados são semelhantes aos encontrados no presente trabalho, onde apesar de não ter ocorrido efeitos significativos, a inoculação incrementou em até 17% o acúmulo de N.

Não houve efeito dos cortes para o acúmulo de  $\text{NO}_3^-$ , nos tratamentos em que as plantas não receberam adubação com N. Para os demais tratamentos, o acúmulo de nitrato apresentou um decréscimo ao longo dos cortes (Figura 5c).

Na primeira avaliação o tratamento adubado com N e inoculado com *A. brasilense* na semeadura, em que as plantas foram reinoculados após o primeiro e segundo corte apresentou o maior acúmulo de  $\text{NO}_3^-$ , 5,1 mg  $\text{NO}_3^-$  por vaso, sendo estatisticamente igual ao tratamento controle com N. Os tratamentos não adubados foram estatisticamente inferiores aos demais, tendo um baixo acúmulo de  $\text{NO}_3^-$ . No segundo e no terceiro cortes a reinoculação com *P. fluorescens* proporcionou um aumento de 20,6 e 13,3%, respectivamente, em relação ao tratamento adubado com N e inoculado apenas na semeadura. Entretanto, não houve efeito dos tratamentos no segundo e no terceiro cortes (Figura 5c).

O presente estudo apresentou, em valores absolutos, maior acúmulo de nitrato em relação ao amônio, sendo esses valores importantes, pois o uso do nitrogênio absorvido pode variar em função da proporção de  $\text{NO}_3^-$ :  $\text{NH}_4^+$ . O nitrato para ser utilizado necessita ser reduzido, em um processo dependente de energia e mediado pelas enzimas redutase do nitrato e redutase do nitrito, enquanto o amônio dispensa essa etapa para ser assimilado (TAIZ ; ZEIGER, 1998), mas apesar dessa alta demanda energética para a utilização do nitrato, o crescimento das plantas é melhor quando supridas com nitrato e não com amônio (BARKER ; MILLS, 1980), uma vez que altas concentrações de amônio são tóxicas à planta.

Os acúmulos de fósforo, potássio e enxofre na parte aérea do capim Zuri apresentaram significância na análise de variância para os tratamentos, cortes e interação entre os tratamentos e os cortes ( $P=0,00001$ ) (Figura 6).

Os resultados para o acúmulo de fósforo foram semelhantes ao do acúmulo de N (Figura 5a), onde o primeiro corte teve um melhor desempenho, seguido do segundo e do terceiro, mas com o segundo e terceiro cortes estatisticamente iguais para os tratamentos sem N (Figura 6a).

No primeiro corte, todos os tratamentos adubados com N foram, estatisticamente, superiores aos não adubados e semelhantes entre si, sendo o tratamento adubado com N e inoculado com *P. fluorescens* o que proporcionou maior acúmulo (92 mg P por vaso). Apesar não ter apresentado diferença significativa, os tratamentos em que as plantas foram apenas inoculadas com *A. brasilense*, *P. fluorescens* e *R. tropici* + Ab-V6, acrescentaram em 14,2; 10,0 e 10,0%, respectivamente, o acúmulo de P em relação ao tratamento controle, sem N e sem inoculação (Figura 6a).

O segundo corte teve o mesmo comportamento, onde os tratamentos adubados com N foram superiores aos não adubados para o acúmulo de P, no entanto, apesar de semelhantes estatisticamente, o tratamento reinoculado após o primeiro corte com *R. tropici* + Ab-V6, acrescentou em 11,1% o acúmulo de P, em relação ao tratamento apenas inoculado na sementeira (Figura 6a). Não houve efeito dos tratamentos, para o acúmulo de P no terceiro corte.

Apesar de não ter apresentado diferença significativa em relação às outras bactérias e ao tratamento controle com N, a inoculação com *P. fluorescens* proporcionou maior acúmulo de fósforo no primeiro corte. Tais dados se justificam pois a inoculação com essa bactéria eleva o P disponível para as plantas, por meio da mineralização de fosfatos orgânicos a partir de fosfatases ou solubilização de fosfatos inorgânicos, e por ácidos orgânicos (DUIJFF et al., 1997). Vyas e Gulati (2009) observaram que cada estirpe de *Pseudomonas* secreta diferentes quantidades de ácidos orgânicos, influenciando diretamente na solubilização de fosfato e promoção de crescimento das plantas

O maior acúmulo de K na parte aérea do capim Zuri ocorreu no primeiro corte, decresceu no segundo e no terceiro, embora tenham sido estatisticamente

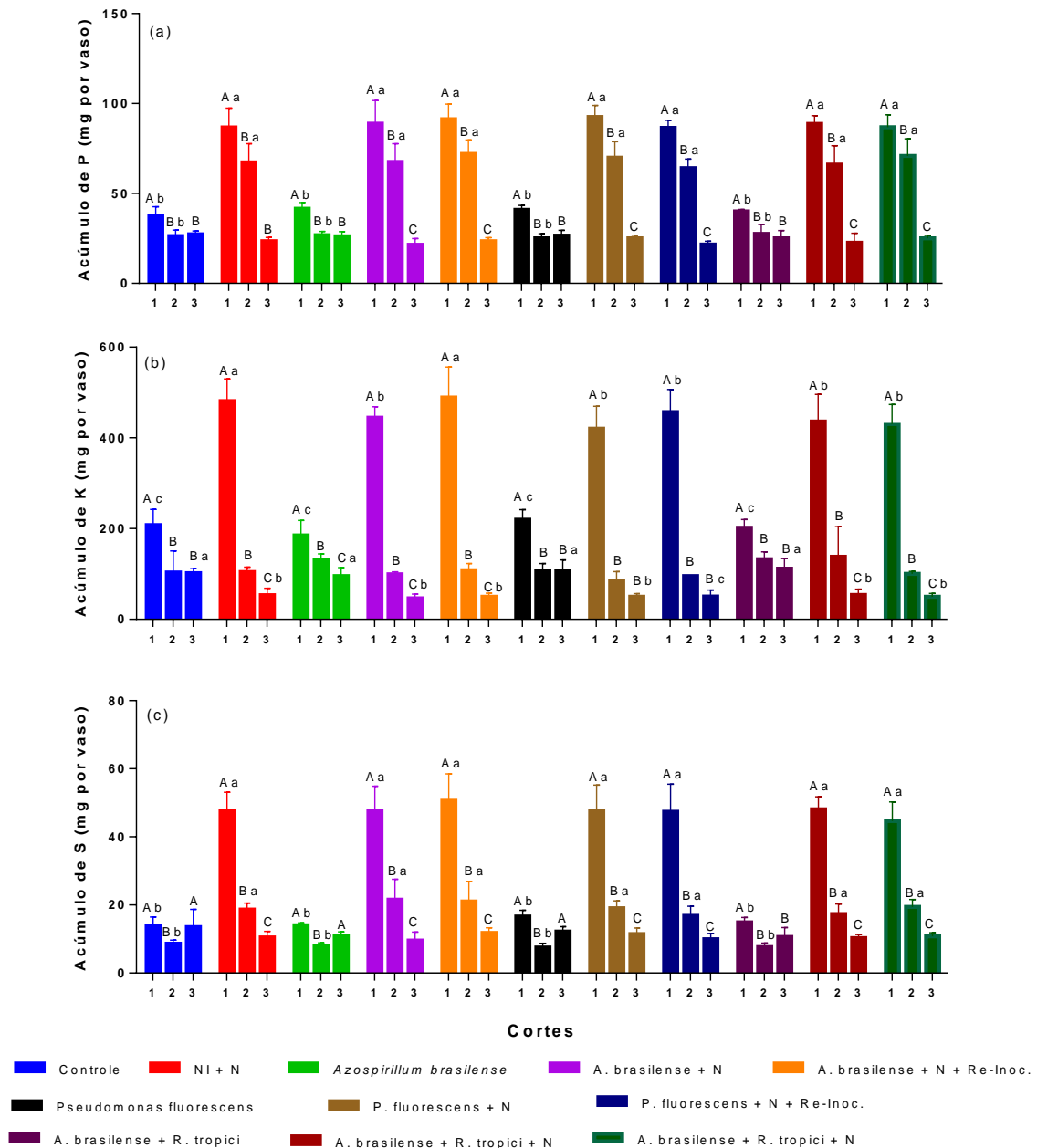
semelhantes para alguns tratamentos (Figura 6b). No primeiro corte os tratamentos sem adubação N foram estatisticamente inferiores em relação aos demais. O tratamento controle com N e *A. brasilense* + N apresentaram o maior acúmulo de potássio ( $P \leq 0,05$ ), 48,0 e 49,0 mg K por vaso, respectivamente.

No segundo corte não houve efeito dos tratamentos, entretanto, os tratamentos em que as plantas foram apenas inoculadas com *A. brasilense* e *R. tropici* + Ab-V6, incrementaram em 18,7 e 22,3%, respectivamente, em relação ao tratamento controle sem adubação e sem inoculação, assim como o tratamento adubado com N e inoculado com estirpes de *R. tropici* + AB-V6 que incrementaram em 24,6% o acúmulo de K, em relação ao tratamento controle com nitrogênio (Figura 6b). No terceiro corte, os tratamentos sem adubação N foram estatisticamente superiores aos demais para o acúmulo de K.

O acúmulo de enxofre (S) na parte aérea do capim Zuri, no primeiro e segundo cortes para os tratamentos adubados com N, foram estatisticamente superiores ( $P \leq 0,05$ ) e semelhantes entre si (Figura 6c), sendo o maior acúmulo no tratamento em que houve a inoculação de *A. brasilense* na sementeira reinoculado após o primeiro e segundo cortes (50 mg S por vaso).

Para o segundo corte, destaca-se que apesar de não apresentar diferença significativa, o tratamento em que as plantas foram adubadas com N e inoculadas com estirpes de *A. brasilense* incrementou em 14,2% o acúmulo de S em relação ao tratamento controle com N. O tratamento reinoculado com *R. tropici* + *A. brasilense* Ab-V6, após o primeiro corte, aumentou em 10,5% o acúmulo de S em relação ao tratamento sem a reinoculação, apesar de serem estatisticamente iguais, enquanto que no terceiro corte a reinoculação após o segundo corte incrementou o acúmulo de S em 18,2%.

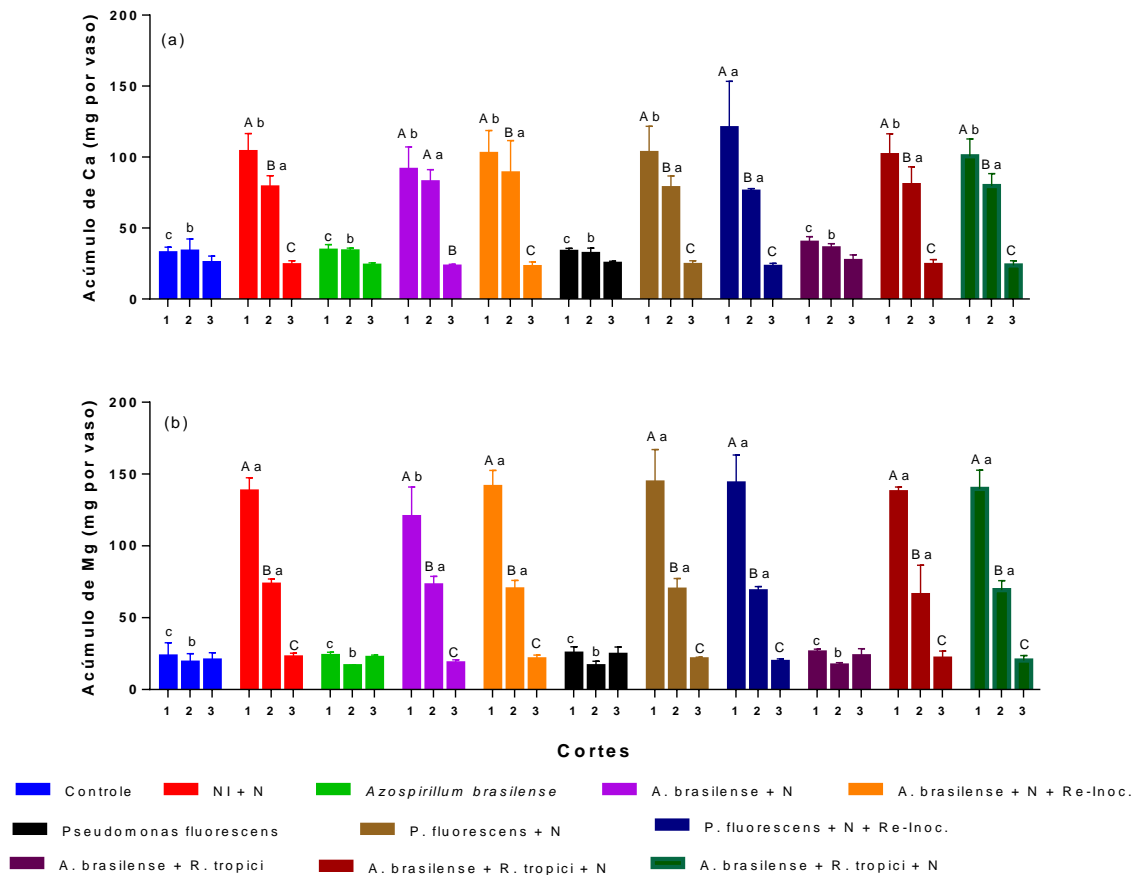
**Figura 6** – Acúmulos de fósforo (mg por vaso) (a), potássio (mg por vaso) (b) enxofre (mg por vaso) (c) em *Megathyrsus maximus* cv. BRS Zuri inoculado com bactérias promotoras do crescimento. Médias seguidas por letras minúsculas diferem entre si para tratamentos, enquanto letras maiúsculas diferem entre si para os cortes da forrageira pelo teste Scott-Knott ( $P \leq 0,05$ ).



Fonte: Elaboração do próprio autor.

Os acúmulos de cálcio (Ca) e magnésio (Mg) na parte aérea do capim Zuri foram significativos na análise de variância para os tratamentos, cortes e interação entre os tratamentos e os cortes ( $P=0,00001$ ) (Figura 7).

**Figura 7** – Acúmulos de cálcio (mg/vaso) (a) e de magnésio (mg/vaso) (b) em *Megathyrus maximus* cv. Zuri inoculado com bactérias promotoras do crescimento. Médias seguidas por letras minúsculas diferem entre si para tratamentos, enquanto letras maiúsculas diferem entre si para os cortes da forrageira pelo teste Scott-Knott ( $P\leq 0,05$ ).



Fonte: Elaboração do próprio autor.

Para os acúmulos de Ca e Mg houve decréscimo significativo do primeiro para o terceiro cortes, embora não tenha ocorrido efeito dos cortes para os tratamentos em que não houve adubação N (Figuras 7a e 7b).

No primeiro corte, o tratamento com reinoculado por *P. fluorescens* após o primeiro e segundo corte, apresentou o maior acúmulo de Ca (12,0 mg Ca por vaso).

No segundo corte, os tratamentos em que as plantas foram adubadas com N, foram estatisticamente superiores e semelhantes entre si. No entanto, os tratamentos que além de fertilizados com N, foram inoculados com *A. brasilense* e *R. tropici* + Ab-V6 incrementaram o acúmulo de Ca em 12,5%, respectivamente, em relação ao tratamento controle com N (Figura 7a). Não houve efeito dos tratamentos no terceiro corte.

Para o acúmulo de Mg, no primeiro corte destaca-se que os tratamentos sem fertilização mineral nitrogenada foram estatisticamente inferiores aos demais, sendo que quando o capim foi inoculado com *P. fluorescens* e adubadas com N, houve o maior acúmulo de Mg, (144 mg Mg por vaso), aumentando em 4,8% o acúmulo em relação ao tratamento controle com adubação nitrogenada. No segundo corte, o tratamento controle com N foi o que apresentou maior acúmulo de Mg, (73 mg Mg por vaso). No terceiro corte não houve efeito dos tratamentos (Figura 7b).

Avaliando o efeito da inoculação de *A. brasilense* em *Urochloa brizantha* cv. Marandú em área irrigada, no acúmulo de macronutrientes por dois anos consecutivos, Modesto (2017) verificou menores acúmulos de K, Mg e Ca quando as plantas foram apenas inoculadas em relação ao tratamento com adubação nitrogenada, no primeiro ano. No segundo ano, a inoculação apresentou menores acúmulos para potássio e enxofre em relação a adubação com N. Tais resultados vão de acordo com os resultados desse trabalho para os acúmulos de K, Ca, Mg e S, onde o tratamento controle com N foi estatisticamente superior em relação ao tratamento apenas inoculados com as bactérias.

Os acúmulos de Boro, Zinco e Cobre na parte aérea do capim Zuri apresentaram significância na análise de variância para os tratamentos, cortes e interação entre os tratamentos e os cortes ( $P=0,00001$ ) (Figura 8). Para B, Zn e Cu na parte aérea do capim Zuri observou-se um decréscimo do primeiro para o terceiro corte, embora não tenha ocorrido diferença significativa entre os tratamentos em que não houve adubação N para o acúmulo de B (Figura 8).

Para o acúmulo de B no primeiro e segundo cortes, os tratamentos adubados com N foram estatisticamente superiores aos não adubados e semelhantes entre si,

assim como não houve diferença significativa entre os tratamentos não adubados com N. O tratamento em que as plantas foram inoculadas com *R. tropici* + Ab-V6 e adubadas com N apresentou o maior acúmulo de B (0,48 mg de B por vaso), incrementando em 6,3% o acúmulo em relação ao tratamento controle com N. Apenas a inoculação de *R. tropici* + Ab-V6 e *P. fluorescens*, aumentaram o acúmulo de B em 13,6 e 9,5%, respectivamente, no primeiro corte e 12,0% no segundo em relação ao tratamento controle sem N e sem inoculação (Figura 8a). Não houve efeito dos tratamentos no terceiro corte.

Para o acúmulo de Cu, no primeiro corte destaca-se que o tratamento em que as plantas foram adubadas com N-mineral e inoculadas com *R. tropici* + Ab-V6, (0,22 mg de Cu por vaso), apresentando um aumento de 27,3% no acúmulo em relação ao tratamento controle com N, apesar de serem estatisticamente iguais (Figura 8). Não houve efeito dos tratamentos no acúmulo de Cu para o segundo e terceiro cortes.

O acúmulo de micronutrientes apresentou efeitos positivos quando os tratamentos foram inoculados com BPCV. As bactérias aumentaram significativamente o acúmulo de Mn, Fe e Zn em relação ao tratamento controle com N. O aumento no acúmulo de micronutrientes pode ser explicado pelo maior crescimento radicular, conseqüentemente maior contato íon/raiz por interceptação radicular e maior absorção.

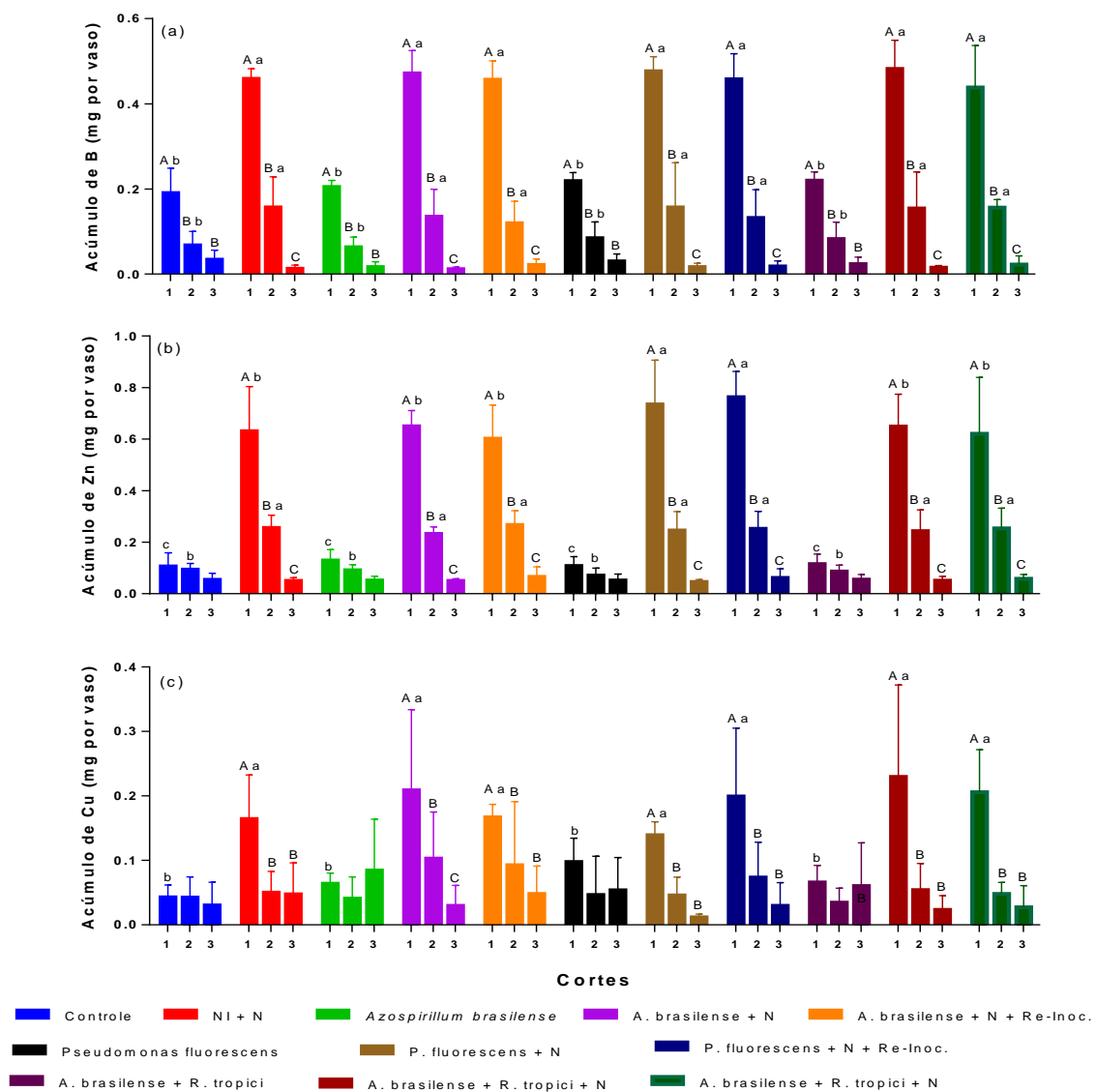
Para o acúmulo de Zn, no primeiro corte o tratamento adubado com N e inoculado com *P. fluorescens* apresentou o maior acúmulo (0,73 mg de Zn por vaso), promovendo um incremento de 13,7%, e sendo estatisticamente superior, em relação ao tratamento controle com N. No segundo corte, os tratamentos adubados com N foram estatisticamente superiores em relação a todos os tratamentos não adubados. A reinoculação com *A. brasilense* aumentou em 11,5% o acúmulo de Zn, em relação ao tratamento apenas inoculado na sementeira (Figura 8b). Não houve efeito dos tratamentos no terceiro corte para o acúmulo de Zn no capim Zuri.

O Zn é um dos micronutrientes mais limitantes na produção de gramíneas forrageiras no Brasil, sendo importante em processos na homeostase fisiológica e nutricional da planta, atuando como ativador ou componente estrutural de enzimas, participação da fotossíntese nas plantas C4, produção de triptofano, aminoácido que



é precursor do hormônio vegetal de crescimento AIA, sendo necessário para manutenção da integridade das biomembranas (MALAVOLTA, 2006), portanto o aumento que as bactérias promoveram no acúmulo de Zn, é um fator importante para uma pastagem de boa qualidade.

**Figura 8** – Acúmulo de boro (mg por vaso) (a), de zinco (mg por vaso) (b) e de cobre (mg por vaso) (c) em *Megathyrus maximus* cv. BRS Zuri inoculada com bactérias promotoras do crescimento. Médias seguidas por letras minúsculas diferem entre si para tratamentos, enquanto letras maiúsculas diferem entre si para os cortes da forrageira pelo teste Scott-Knott ( $P \leq 0,05$ ).



Fonte: Elaboração do próprio autor.

Os acúmulos de Manganês e Ferro na parte aérea do capim Zuri apresentaram significância na análise de variância para os tratamentos, cortes e interação entre os tratamentos e os cortes ( $P=0,00001$ ) (Figura 9). Não verificou-se efeito dos cortes no acúmulo de Mn para o tratamento controle sem N e sem inoculação e apenas inoculado com *A. brasilense*, e para o acúmulo de Fe acrescido o tratamento *R. tropici* + Ab-V6.

O acúmulo de Mn, no primeiro corte, para todos os tratamentos adubados com N e inoculados com BPCV foram estatisticamente superiores aos demais, inclusive ao tratamento com fertilização nitrogenada. O acúmulo de Mn para os tratamentos adubados com N e inoculados com *A. brasilense*, *P. fluorescens* e *R. tropici* + Ab-V6, foram de 3,4; 3,6 e 3,4 mg de Mn por vaso, respectivamente, aumentando em 17,5; 23,5 e 19,5% em relação ao tratamento controle com adubação N-fertilizante.

No segundo corte não houve diferença significativa entre os tratamentos adubados com N, no entanto, verificou-se um incremento de 15,3; 16,1 e 10,8% no acúmulo de Mn, para os tratamentos adubados com N e inoculados com *A. brasilense*, *P. fluorescens* e coinoculadas com *R. tropici* + Ab-V6, respectivamente, em relação ao tratamento controle com N. Não houve efeito dos tratamentos para o terceiro corte no acúmulo de Mn (Figura 9a).

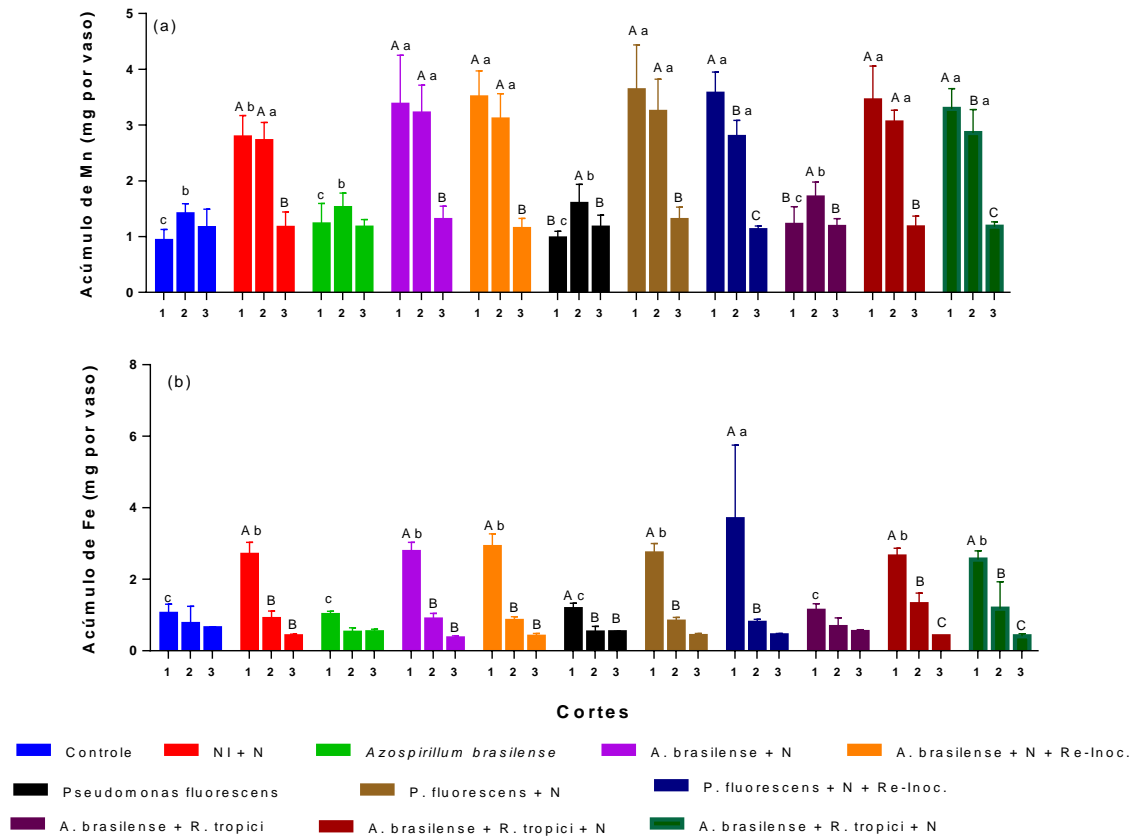
O aumento no acúmulo de Mn pelas BPCV é um fator muito positivo para o crescimento e o desenvolvimento das plantas, estando relacionado aos processos de respiração, ativação enzimática e proteção contra o estresse oxidativo (BOWLER et al., 1994; BOUCHER et al., 1999).

Para o acúmulo de Fe, no primeiro corte o tratamento adubado com N e inoculado com *P. fluorescens*, apresentou o maior valor, com 3,7 mg de Fe por vaso, sendo estatisticamente superior e aumentando em 27,1% em relação ao tratamento controle com N. No segundo e terceiro cortes, não houve efeito dos tratamentos, entretanto, no segundo corte o tratamento coinoculado com *R. tropici* + Ab-V6 e adubado com N, aumentou em 32,0% o acúmulo de Fe em relação ao tratamento controle adubado com N (Figura 9b).

Segundo Gray e Smith, (2005) e Vandendergh e Gonzalez, (1984), bactérias do gênero *Pseudomonas* podem produzir e secretar moléculas de baixo peso

molecular que se ligam ao Fe com alta afinidade, denominadas de sideróforos. Esses compostos se ligam ao ferro, são transportados de volta à célula microbiana e, então, o ferro fica disponível para o crescimento da bactéria (DOBBELAERE et al., 2003). Essa ligação ferro-sideróforo também impede a proliferação de patógenos, devido ao seqüestro do ferro no ambiente. Ao contrário dos fitopatógenos microbianos, as plantas não são prejudicadas com a depleção de ferro pelas BPCV. Algumas plantas podem capturar o complexo ferro-sideróforo bacteriano, transportando-o para dentro de suas células, onde o ferro é liberado do sideróforo e fica disponível para a planta (CROWLEY et al., 1988). Essas reações promovidas a partir de compostos secretados pelas bactérias explicam o maior acúmulo de Fe no primeiro corte promovida pela inoculação com *Pseudomonas fluorescens*, conseqüentemente gerando um efeito positivo de biofortificação do capim Zuri.

**Figura 9** – Acúmulos de manganês (mg por vaso) (a) de ferro (mg por vaso) (b) em *Megathyrus maximus* cv. BRS Zuri inoculado com bactérias promotoras do crescimento. Médias seguidas por letras minúsculas diferem entre si para tratamentos, enquanto letras maiúsculas diferem entre si para os cortes da forrageira pelo teste Scott-Knott ( $P \leq 0,05$ ).



Fonte: Elaboração do próprio autor.

No presente estudo os acúmulos dos nutrientes foram diminuindo ao longo dos cortes, pois a produtividade de massa seca da forragem também diminuiu ao longo dos cortes, conseqüentemente, gerando menor acúmulo de nutrientes no segundo e terceiro cortes. Tal fato se deve pela utilização de um solo com altos teores de areia na condução do experimento, sem cargas elétricas para retenção dos nutrientes, ocorrendo lixiviação. Portanto, justifica-se a maior eficiência agrônômica das plantas no primeiro corte e diminuição no segundo e terceiro pelo esgotamento de nutrientes no solo. Sendo assim, independente da inoculação deve

ser realizada a reposição de nutrientes a cada corte, quando utilizado um solo com altos teores de areia na condução do experimento.

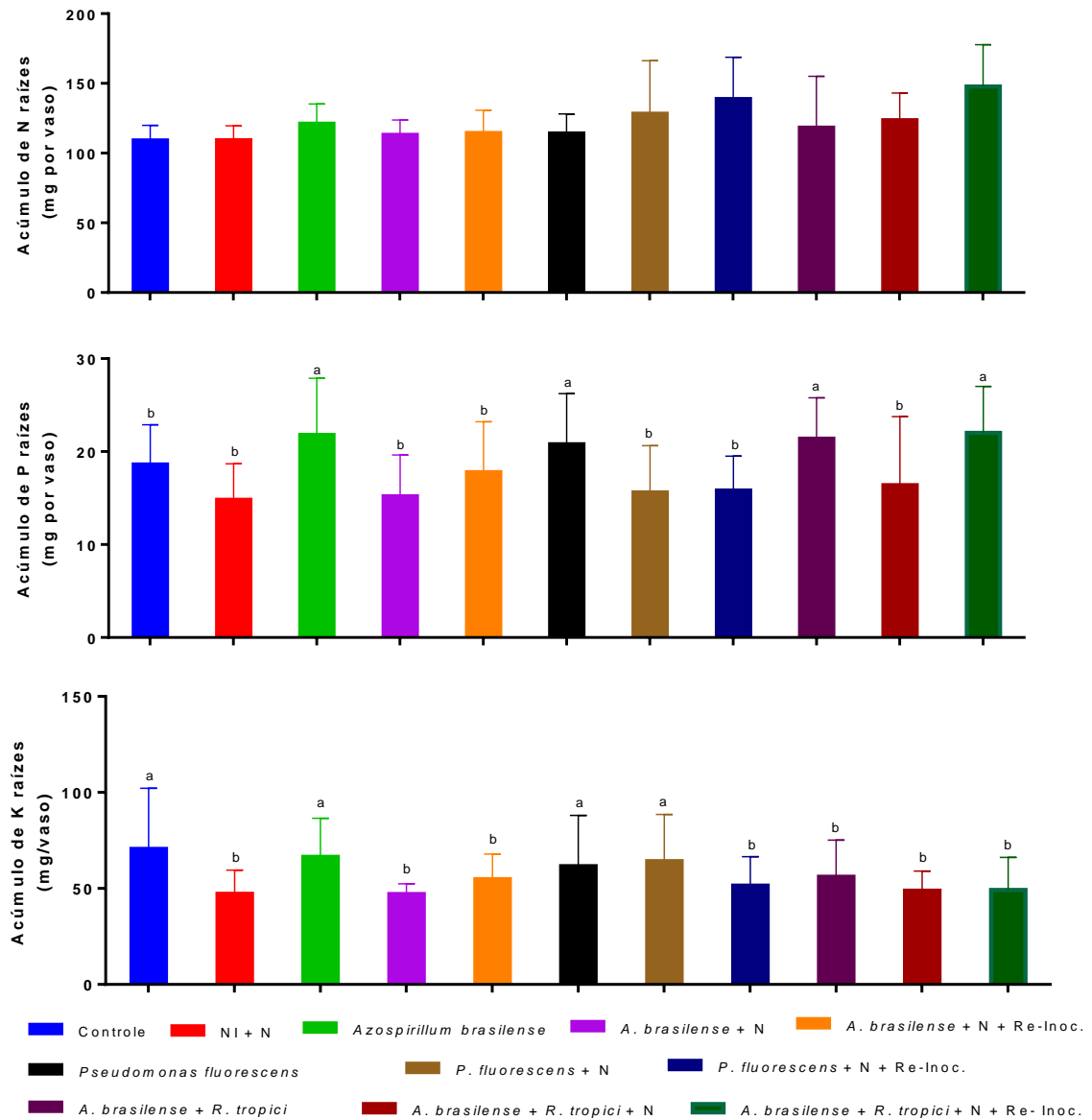
A reinoculação após o primeiro e segundo cortes das plantas, não mostrou efeito significativo para o acúmulo de nutrientes na forragem. Podendo estar relacionado a eficiência dessa técnica e a diminuição de nutrientes do solo no segundo e terceiro cortes.

Os acúmulos de P e K nas raízes apresentou significância na análise de variância para os tratamentos ( $P=0,00001$ ), entretanto, não se constatou efeito para o acúmulo de N ( $P=0,1529$ ) (Figura 10).

Apesar de não ter ocorrido diferença significativa entre os tratamentos, as plantas que foram adubadas com N e inoculadas com *P. fluorescens* e *R. tropici* + Ab-V6 acumularam 128 e 123 mg N por vaso e aumentaram em 14,8 e 11,4%, respectivamente, o acúmulo de N radicular em relação ao tratamento controle com adubação nitrogenada (Figura 10a).

Todos os tratamentos em que as plantas foram adubadas com N acumularam menos fósforo nas raízes do que aqueles apenas inoculados com as BPCV, (21,0; 20,0 e 22,0 mg de P/vaso), para as estirpes de *A. brasilense*, *P. fluorescens* e *R. tropici* + Ab-V6, respectivamente. O tratamento controle foi o que mais acumulou K nas raízes, 70 mg K por vaso, entretanto, não diferiu dos tratamentos apenas inoculados com *A. brasilense* e *P. fluorescens*.

**Figura 10** – Acúmulos de nitrogênio (mg por vaso) (a), de fósforo (mg por vaso) (b) e de potássio (mg por vaso) (c) em raízes de *Megathyrsus maximus* cv. BRS Zuri inoculado com bactérias promotoras do crescimento. Médias seguidas por letras minúsculas diferem entre si para tratamentos pelo teste Scott-Knott ( $P \leq 0,05$ ).



Fonte: Elaboração do próprio autor.

### 4.3 Composição bromatológica do capim Zuri

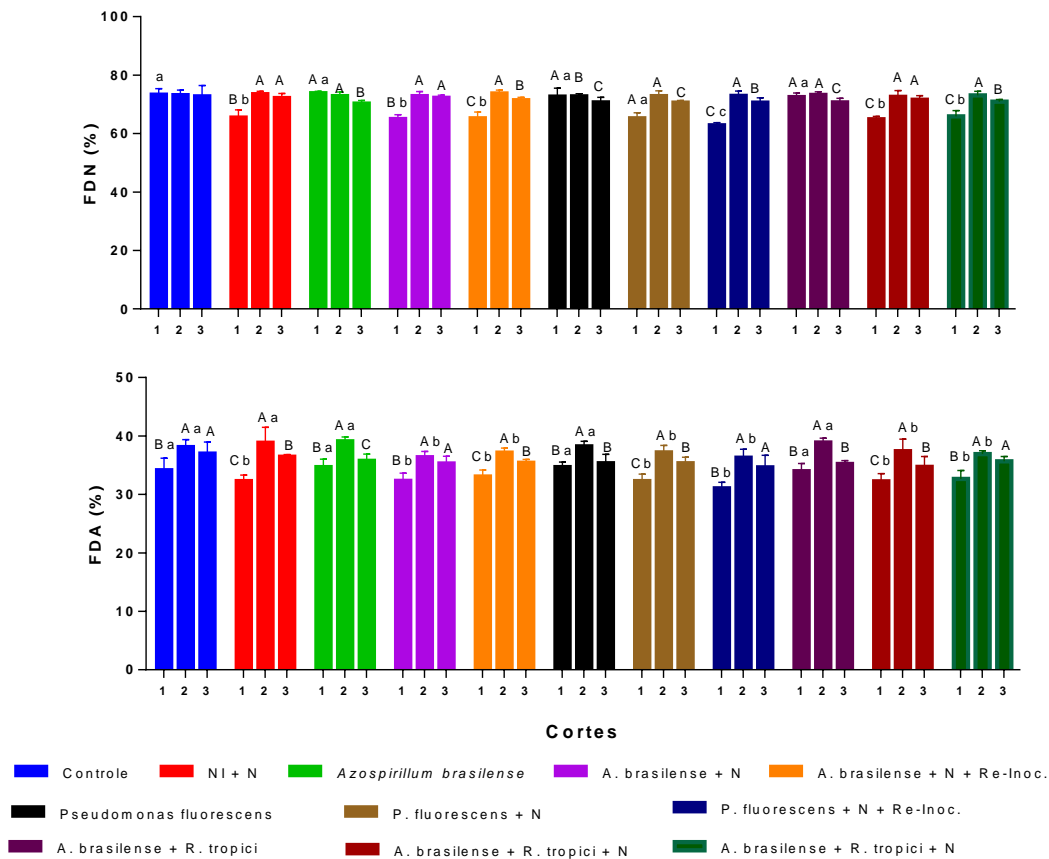
As porcentagens de fibra solúvel em detergente neutro (FDN), fibra solúvel em detergente ácido (FDA) e proteína bruta (PB) da parte aérea do capim Zuri apresentaram significância na análise de variância para os tratamentos, cortes e interação entre os tratamentos e os cortes ( $P=0,00001$ ) (Figuras 11 e 12).

Não se verificou efeito significativo entre os tratamentos e interação deles com os cortes para porcentagem da digestibilidade verdadeira in vitro da matéria seca (DIVMS) da parte aérea do capim Zuri ( $P=0,6717$ ). No entanto, houve efeito significativo dos cortes para a digestibilidade (Figura 12 b).

A concentração de FDN e FDA dos tratamentos sem adubação nitrogenada foram superiores em relação aos tratamentos que receberam N no primeiro corte, sendo o tratamento apenas inoculado com *Azospirillum brasilense* com a maior porcentagem, 73,8 e 34,7% de FDN e FDA, respectivamente.

No segundo e terceiro cortes não houve efeito dos tratamentos para a porcentagem de FDN. Para a concentração de FDA, os tratamentos sem fertilização nitrogenada e o tratamento controle com N foram estatisticamente superiores aos demais. No terceiro corte não houve efeitos dos tratamentos para a concentração de FDA (Figura 11).

**Figura 11** – Teores médios de fibra em detergente neutro (FDN) e em detergente ácido (FDA) em *Megathyrus maximus* cv. BRS Zuri inoculado com bactérias promotoras do crescimento. Médias seguidas por letras minúsculas diferem entre si para tratamentos, enquanto letras maiúsculas diferem entre si para os cortes da forrageira pelo teste Scott-Knott ( $P \leq 0,05$ ).



Fonte: Elaboração do próprio autor.

O consumo animal da matéria seca e a digestibilidade estão relacionados ao FDN e FDA, respectivamente. Deste modo o FDA indica a porcentagem de material altamente indigestível, logo baixos valores de FDA indicam maior energia e alta digestibilidade, e forragens com baixo teor de FDN têm maior taxa de consumo, logo, teores de FDN maiores que 60% na matéria seca do alimento são prejudiciais ao consumo, sendo desejáveis valores inferiores (MOURA et al., 2011). Os valores de FDN do presente trabalho ficaram acima de 60%, estando em uma faixa não recomendada para uma boa taxa no consumo de forragem pelos animais.



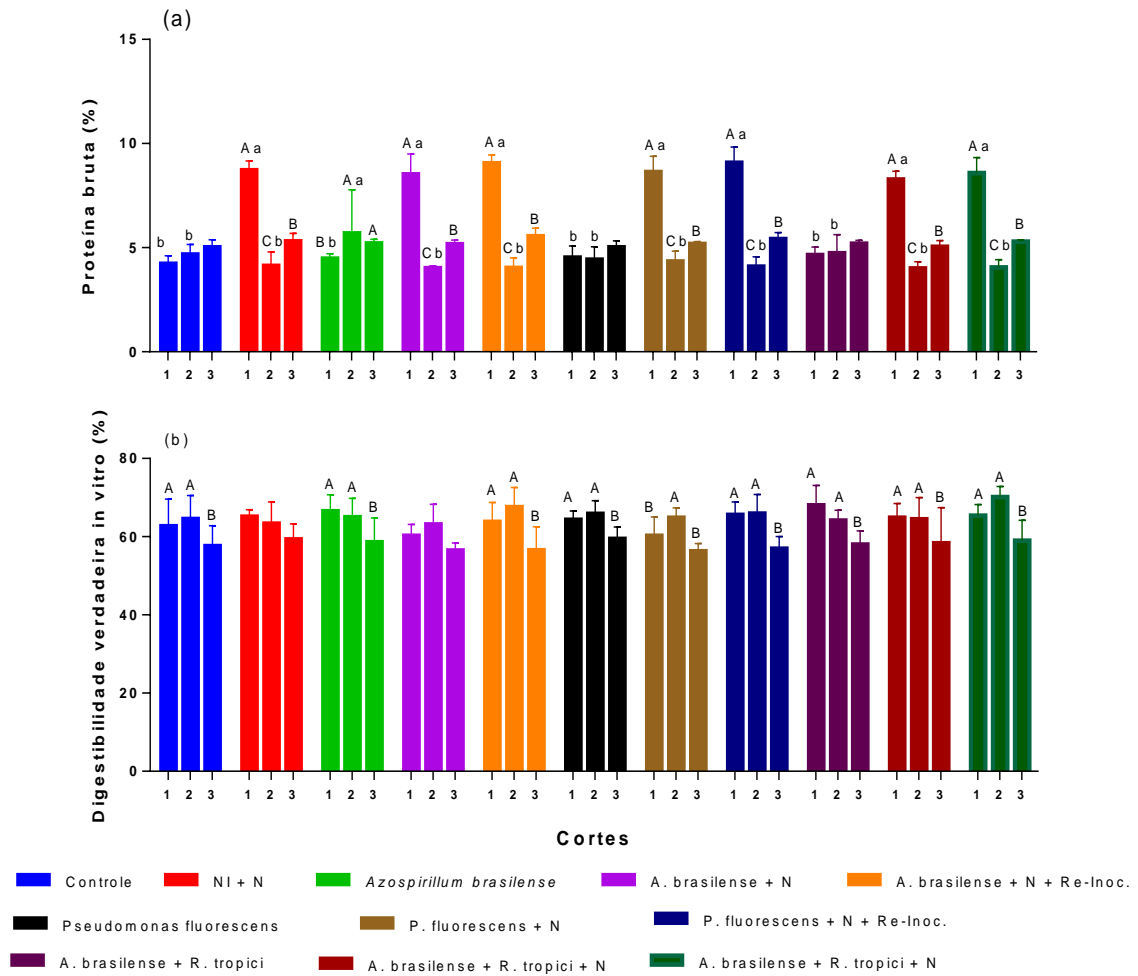
O primeiro corte foi o que apresentou os maiores teores de PB, seguido do terceiro e segundo corte, respectivamente, seguindo o mesmo comportamento padrão do ICF (Figura 4b). Os tratamentos com fertilização nitrogenada foram estatisticamente superiores em relação aos não adubados e semelhantes entre si no primeiro corte (Figura 12a).

No segundo corte, o tratamento apenas inoculado com *Azospirillum brasilense* foi estatisticamente superior aos demais com 5,69% de PB, enquanto que no terceiro corte não houve efeito dos tratamentos (Figura 12 a).

Avaliando o efeito da inoculação por *Azospirillum brasilense* em sementes de *Urochloa brizantha* cv. Marandú associado ao uso de N, Hanisch et al. (2017) não encontrou efeitos significativos da inoculação para os teores de PB e FDN do capim, apresentando resultados semelhantes aos do presente trabalho. Bernd et al. (2014), ao avaliarem o efeito da inoculação com *Pseudomonas fluorescens* e níveis de N no teor de PB em milho, também não verificaram efeitos significativos da inoculação, seja combinados com adubação N ou não.

Para a digestibilidade verdadeira in vitro o primeiro e segundo corte apresentaram valores semelhantes e foram superiores ao terceiro corte. No entanto, não houve efeito significativo para os tratamentos em nenhum dos cortes (Figura 12b). Tais dados vão de acordo aos encontrados por Oliveira et al. (2007), que avaliando a viabilidade de *Azospirillum brasilense* associado à adubação nitrogenada na composição química bromatológica de capim Marandú em diferentes épocas do ano, não verificaram efeitos significativos da inoculação nos teores de DIVMS no verão e no inverno.

**Figura 12** – Teores médios de proteína bruta (PB) e digestibilidade in vitro em *Megathyrus maximus* cv. BRS Zuri inoculado com bactérias promotoras do crescimento. Médias seguidas por letras minúsculas diferem entre si para tratamentos, enquanto letras maiúsculas diferem entre si para os cortes da forrageira pelo teste Scott-Knott ( $P \leq 0,05$ ).



Fonte: Elaboração do próprio autor.

## 5 CONCLUSÕES

A combinação entre as bactérias promotoras do crescimento vegetal e adubação nitrogenada promoveram incrementos na produtividade de massa seca, índice de clorofila e acúmulo de N;  $\text{NH}_4^+$ , Ca; Zn; Mn e Fe, no capim Zuri.

A inoculação por *Azospirillum brasilense*, *Pseudomonas fluorescens* e *Rhizobium tropici* não teve efeito na composição bromatológica do capim Zuri.

Não se verificou efeitos da reinoculação por *Azospirillum brasilense*, *Pseudomonas fluorescens* e *Rhizobium tropici* sobre a nutrição, valor nutritivo e produção do capim Zuri, demonstrando que essa técnica ainda precisa de maiores estudos sob a forma e o período correto a ser realizada.

É interessante a condução do experimento em condições de campo, analisando os benefícios promovidos pelas BPCV em condições limitantes.

## REFERÊNCIAS

- AGUIRRE, P. F.; OLIVO, C. J.; RODRIGUES, P. F.; FALK, D. R.; ADAMS, C. B.; SCHIAFINO, H. P. Produção de forragem em pastos de Coastcross-1 inoculados com *Azospirillum brasilense*. **Acta Scientiarum Animal**, Maringá, v. 40, p. e36392, 2018.
- ALMEIDA, B. G.; DONAGEMMA, G. K.; RUIZ, H. A.; BRAIDA, J. A.; VIANA, J. H. M.; REICHERT, J. M. M.; OLIVEIRA, L. B.; CEDDIA, M. B.; WADT, P. S.; FERNANDES, R. B. A.; PASSOS, R. R.; DECHEN, S. C. F.; KLEIN, V. A.; TEIXEIRA, W. G. **Padronização de métodos para análise granulométrica no Brasil**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2012. 11 p.
- ALY A. H., DEBBAB A., PROKSCH P. Fungal endophytes: secret producers of bioactive plant metabolites. **Pharmazie**, Dusseldorf, v. 68, n. 7, p.499–505, 2013.
- ANDRADE, A., CONDÉ, A., COSTA, R., POMELA, A., SOARES, A., MARTINS, F., LIMA, W., OLIVEIRA, C. Produtividade de milho em função da redução do nitrogênio e da utilização de *Azospirillum brasilense*. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 15, n. 2, p. 229-239, 2016.
- ARDAKANI, M.R.; MAZAHERI, D.; MAFAKHERI, S.; MOGHADDAM, A.; Absorption efficiency of N, P, K through triple inoculation of wheat (*Triticum aestivum* L.) by *Azospirillum brasilense*, *Streptomyces* sp., *Glomus intraradices* and manure application. **Physiology Molecular Biology of Plants**, New Delhi, v. 17, n. 2, p. 181–192, 2011.
- BÁRBARO, I.M.; BRANCALIÃO, S.R.; TICELLI, M.; MIGUEL, F.B.; SILVA, J.A.A. Técnica alternativa: co-inoculação de soja com *Azospirillum* e *Bradyrhizobium* visando incremento de produtividade. Informações tecnológicas, 2008, Campinas.. **Artigo em Hypertexto...** Campinas, 2008. Disponível em: [http://www.infobibos.com/Artigos/2008\\_4/coinoculacao/index.htm](http://www.infobibos.com/Artigos/2008_4/coinoculacao/index.htm). Acesso em: 18 out. 2018.
- BARKER, A. V.; MILLS, H. A. Ammonium and nitrate nutrition of horticultural crops. **Horticultural Review**, Westport, v. 34, n. 2, p. 395–423, 1980.
- BASHAN, Y.; BASHAN, L. E. Bacteria/Plant Growth-Promoting. In: HILLEL, D. (Ed.) **Encyclopedia of soils in the environment**, Oxford, v. 1, p. 103-115, 2005.
- BASHAN, Y.; DE-BASHAN, L. E. How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth—a critical assessment. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 108, n. 10, p. 77–136, 2010.
- BASHAN, Y.; HOLGUIN, G.; DE-BASHAN, L.E. *Azospirillum*-plant relationships: physiological, molecular, agricultural and environmental advances. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 50, n. 8, p. 521-577, 2004.

BAUER, H.; ACHE, P.; LAUTNER, S.; FROMM, J.; HARTUNG, W.; AL-RABIDEID.; SONNEWALD, S.; SONNEWALD, L.; KNEITZ, S.; LACHMANN, N.; MENDEL, R. R.; BITTNER, M.; HETHERINGTON, A. M.; HEDRICH, R. The stomatal response to reduced relative humidity requires guard cell-autonomous ABA synthesis. **Current Biology**, Cambridge, v. 23, n. 1, p. 53–57, 2013.

BERGAMASCHI, C. **Ocorrência de bactérias diazotróficas associadas às raízes e colmos de cultivares de sorgo**. 2006. 71 f. Dissertação, (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

BERND, L. P.; SOUZA, T. M.; OLIVEIRA, M. A.; ONO, E. Y. S.; ZUCARELI, C.; HIROOKA, E. Y. Inoculação de *Pseudomonas fluorescens* e adubação NPK na composição química e contaminação fungo-fumonisina de milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 18, n. 12, p. 1274-1280, 2014.

BODDEY, R. M.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I.; DÖBEREINER, J. Effect of inoculation of *Azospirillum* spp. on nitrogen accumulation by field grown wheat. **Plant and Soil**, Crawley, v. 95, p. 109-121, 1986.

BOER, C. A.; ASSIS, R. L.; SILVA, G. P.; BRAZ, A. J. B. P.; BARROSO, A. L. L.; CARGNELUTTI FILHO, A.; PIRES, F. R. Ciclagem de nutrientes por plantas de cobertura na entressafra em um solo de cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 42, n. 9, p. 1269-1276, 2007.

BOTTINI, R.; FULCHIERI, M.; PEARCE, D.; PHARIS, R. P. Identification of gibberellins A1, A3, and iso-A3 in cultures of *Azospirillum lipoferum*. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 90, p. 45–47, 1989.

BOUCHER, A. M.; WATZIN, M. C. Toxicity identification evaluation of metal-contaminated sediments using an artificial pore-water containing dissolved organic carbons. **Environmental Toxicology & Chemistry**, Michigan, v. 18, p. 509-518, 1999.

BOWLER, C.; VAN CAMP W.; VAN MONTAGU M.; INZE, D. Superoxide dismutase in plants. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Londres, v. 13, p. 199-218, 1994.

BREMNER, J. M.; KEENEY, D. R. Exchangeable ammonium, nitrate and nitrite by steamdistillation methods. In: BLACK, C. A. (Ed.). **Methods of soil analysis: chemical and microbiological properties**, Madison: [s. n.], 1965. p. 1191-1206.

BROWN, M. E. Plant growth substances produced by microorganismos of soil and rizosphere. **Journal Applied Bacteriology**, Londres, v. 35, p. 443-451, 1972.

CARDENAS A, RODRIGUEZ RL, PIZARRO V, CADAVID LF, AREVALO-FERRO C. Shifts in bacterial communities of two Caribbean reef-building coral species affected by white plague disease. **ISME Journal**, Londres, v. 6, p. 502–512, 2012.

CARVALHAIS, L. C.; DENNIS, P. G.; FAN, B.; FEDOSEYENKO, D.; KIERUL, K.; BECKER, A.; VON WIREN, N.; BORISS, R. Linking plant nutritional status to plant-microbe interactions. **PLoS One**, San Francisco, v. 8, n. 7, p. 1-13, 2013.

CERRI, C. C.; BERNOUX, M.; MAIA, S. M. F.; CERRI, C. E. P.; COSTA, J. R.; FEIGL, C.; FRAZÃO, B. J.; MELLO, L. A.; DE C, D. D.; GALDOS, M. V.; MOREIRA, C. S.; CARVALHO, J. L. N. Greenhouse gas mitigation options in Brazil for land-use change, livestock and 43 agriculture. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 67, p. 102–116, 2010.

CHAVES, D. P.; ZUCARELI, C.; OLIVEIRA JUNIOR, A. Fontes de fósforo associadas à inoculação com *Pseudomonas fluorescens* no desenvolvimento e produtividade do milho. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 1, p. 57-72, 2013.

COELHO, L. F.; FREITAS, S. S.; DE MELO, A. M. T.; AMBROSANO, G. M. B. Interação de bactérias fluorescentes do gênero *Pseudomonas* e de *Bacillus* spp. com a rizosfera de diferentes plantas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 31, p. 1413-1420, 2007.

COHEN, A.C., BOTTINI, R., PONTIN, M., *Azospirillum brasilense* ameliorates the response of *Arabidopsis thaliana* to drought mainly via enhancement of ABA levels. **Physiologia Plantarum**, Lund, v. 153, p. 79–90, 2015.

COSTA, K. A. P.; FAQUIN, V.; OLIVEIRA, I. P.; RODRIGUES, C.; SEVERINO, E. C. Nitrogen doses and sources in marandu pasture. I - changes in soil chemical properties. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 32, n. 4, p. 1591-1599, 2008.

COSTA, R. R. G. F.; QUIRINO, G. S. F.; NAVES, D. C. F.; SANTOS, C. B.; ROCHA, A. F. S. Efficiency of inoculant with *Azospirillum brasilense* on the growth and yield of second-harvest maize. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 45, n. 3, p. 304-311, 2015.

CRIOLLO, P., OBANDO, M., SÁNCHEZ, L. & BONILLA, R. —Efecto de bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) asociadas a *Pennisetum clandestinum* en el altiplano cundiboyacensell. **Revista Corpoica – Ciencia y Tecnología Agropecuaria**, Cundinamarca, v. 13, n.2. p.189-195, 2012.

CROWLEY, DE., REID, C.P.P. E SZANISZLO, P.J. Utilization of microbial siderophores in iron acquisition by oat. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 87, p. 680–685, 1988.

DARTORA, J.; GUIMARÃES, V. F.; MARINI, D.; SANDER, G. Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental**, Campina Grande, v. 17, n. 10, p. 1023-1029, 2013.

DARDANELLI, M. S.; CÓRDOBA, F. J. F. de; ESPUNY, M. R.; CARVAJAL, M. A. R.; DÍAZ, M. E. S.; SERRANO, A. M. G.; OKON, Y.; MEGÍAS, M. Effect of *Azospirillum brasilense* coinoculated with *Rhizobium* on *Phaseolus vulgaris* flavonoids and Nod factor production under salt stress. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 40, n. 11, p. 2713-2721, 2008.

DEL GALLO, M.; FENDIRIK, I. The Rhizosphere and *Azospirillum*. In: OKON Y. (Ed.) ***Azospirillum* Plants Associations**. Boca Raton: CRC, 1994, p. 57-75.

DIAS-FILHO, M. B. **Degradação de pastagens**: processos, causas e estratégias de recuperação. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2011. 215 p.

DIAS-FILHO, M. B. **Diagnóstico das pastagens no Brasil**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2014. 36 p. (Documentos, 402).

DIAS-FILHO, M. B. **Recuperação de pastagens e segurança alimentar: uma abordagem histórica da pecuária na Amazônia**. Bebedouro, SP: Editora Scot Consultoria, 2013. 116 p.

DOBBELAERE, S.; VANDERLEYDEN, J.; OKON, Y. Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. **Critical Reviews in Plants Sciences**, Londres, v. 22, p. 107-149, 2003.

DÖBEREINER, J.; MARRIEL, I.; NERY, M. Ecological distribution of *Spirillum lipoferum*. **Canadian Journal Microbiology**, Ottawa, v. 22, p. 1464–1473, 1976.

DUARTE, C.F.D. **Bactérias promotoras do crescimento vegetal e nitrogênio no estabelecimento e no desenvolvimento de *Urochloa* spp.** 2018. 89 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2018.

DUCA, D.; LORV, J.; PATTEN, C. L.; ROSE, D.; GLICK, B. R. Indole-3-acetic acid in Plant-microbe interactions. **Antonie van Leeuwenhoek**, Amsterdã, v. 106, p. 85-125, 2014.

DUIJFF B. J.; GIANINAZZI-PEARSON, V.; LEMANCEAU, P. Involvement of the outer membrane lipo polysaccharides in the endophytic colonization of tomato roots by biocontrol *Pseudomonas fluorescens* strain WCS417r. **New Phytologist**, Lancaster, v. 135, p. 325–334, 1997.

DUTTA, D.; GACHHUI, R. Novel nitrogen-fixing *Acetobacter nitrogenifigens* sp. nov., isolated from Kombucha tea. **International Journal Systematic Evolutionary Microbiology**, Londres, v. 56, p. 1899–1903, 2006.

EUCLIDES, V. P. B.; COSTA, F.P.; MACEDO, C. M.; FLORES, R.; OLIVEIRA, M. P. Eficiência biológica e econômica de pasto de capim-tanzânia adubado com nitrogênio no final do verão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 42, n. 9, p.1345-1355, 2007.

EMBRAPA GADO DE CORTE. **BRS Zuri, produção e resistência para a pecuária**. Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte, 2014. 2 p. Disponível em: <https://www.embrapa.br/web/mobile/busca-de-produtos-processos-eservicos/-/produto-servico/1309/panicum-maximum---brs-zuri>, 2014. Acesso em: 10 out. 2018.

FANCELLI, A. L. **Boas práticas para o uso eficiente de fertilizantes na cultura do milho**. Piracicaba: IPNI - International Plant Nutrition Institute Brazil, 2010. v. 131. 16 p.

FERLINI, H. A. **Co-Inoculación en Soja (*Glycine max*) con *Bradyrhizobium japonicum* y *Azospirillum brasilense***. Porto Alegre: [s. n.], 2006. Disponível em: [http://www.engormix.com/co\\_inoculacion\\_soja\\_glycine\\_s\\_articulos\\_800\\_AGR.htm](http://www.engormix.com/co_inoculacion_soja_glycine_s_articulos_800_AGR.htm). Acesso: 20 out. 2018.

FERRAZ, J. B. S.; FELÍCIO, P. E. D. Production systems: an example from Brazil. **Meat Science**, Savoy, v. 84, n. 2, p. 238-243, 2010.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, p. 1039-1042, 2011.

FUKAMI, J.; DA OSA, C.; OLLERO, F. J.; MEGÍAS, M.; HUNGRIA, M. Co-inoculação de milho com *Azospirillum brasilense* e *Rhizobium tropici* como estratégia para mitigar o estresse salino. **Functional Plant Biology**, Melbourne, v. 45, p. 328-339, 2017a.

FUKAMI, J.; OLLERO, F. J.; MEGÍAS, M.; HUNGRIA, M. Phytohormones and induction of plant-stress tolerance and defense genes by seed and foliar inoculation with *Azospirillum brasilense* cells and metabolites promote maize growth. **AMB Express**, Munster, v. 7, p. 153-166, 2017b.

GALINDO, F. S.; LUDKIEWICZ, M. G. Z.; BELLOTE, J. L. M.; SANTINI, J. M.K.; ALVES, C. J.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M. Efeito de épocas de aplicação foliar de *Azospirillum brasilense* nos teores de nutrientes do trigo irrigado. **Tecnologia e Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v. 9, n. 2, p. 37-42, 2015.

GARCÍA-FRAILE, P.; CARRO, L.; ROBLEDO, M.; RAMÍREZ-BAHENA, M-H.; FLORES-FÉLIX, J-D.; FERNÁNDEZ, M.; MATEOS, P.F.; RIVAS, R.; IGUAL, J. M.; MARTÍNEZ-MOLINA, E.; ÁLVARO, E.; VELÁZQUEZ, E.; *Rhizobium* promotes non-legumes growth and quality in several production steps: towards a biofertilization of edible raw vegetables healthy for humans. **PLoS One**, San Francisco, v. 7, n. 5, 2012.

GOMES, R. A.; LEMPP, B.; JANK, L.; CARPEJANI, G. C.; MORAIS, M. G. Características anatômicas e morfofisiológicas de lâminas foliares de genótipos de *Panicum maximum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 46, p. 205-211, 2011.



GRAY, E. J.; SMITH, D. L. Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant-bacterium signaling processes. **Soil Biology Biochemical**, Oxford, v. 37, p. 395-412, 2005.

GUIMARÃES, S. L.; SANTOS, C. S. A. BONFIM-SILVA, E. M. POLIZEL, A. C.; BATISTA, E. R. Nutritional characteristics of marandu grass (*Brachiaria brizantha* cv. marandu) subjected to inoculation with associative diazotrophic bacteria. **African Journal of Microbiology Research**, Lagos, v. 10, n. 24, p. 873-882, 2016.

GUPTA, K.; DEY, A.; GUPTA, B. Plant polyamines in abiotic stress responses. **Acta Physiologiae Plantarum**, Cracóvia, v. 35, n. 7, p. 2015–2036, 2013.

HANISCH, A. L.; BALBINOT JÚNIOR, A. A.; VOGT, G. A. Desempenho produtivo de *Urochloa brizantha* cv. Marandú em função da inoculação com *Azospirillum* e doses de nitrogênio. **Revista Agroambiente**, Boa Vista, v. 11, n. 3, p. 200-208, 2017.

HERNANDEZ, J.A.; FERRER, M.A.; JIMENEZ, A.; BARCELO, A.R.; SEVILLA, F. Antioxidant systems and O<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production in the apoplast of pea leaves. Its relation with salt-induced necrotic lesions in minor veins. **Plant Physiology**, Minneápolis, v. 127, p. 827-831, 2001.

HUERGO, L. F., MONTEIRO, R. A., BONATTO, A. C., RIGO, L. U., STEFFENS, M. B. R., CRUZ, L. M., CHUBATSU, L. S., SOUZA, E. M & PEDROSA, F. O. Regulation of nitrogen fixation in *Azospirillum brasilense*. In: Cassán FD & Salamone IG de (Ed.) **Azospirillum sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina**, Córdoba: Asociación Argentina de Microbiología, 2008. p. 17-28.

HUNGRIA, M.; ARAUJO, R. S. **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola**, Brasília, DF: EMBRAPA-SPI, 1994. 542 p.

HUNGRIA, M.; MENDES, I.C.; MERCANTE, F.M. **A fixação biológica do nitrogênio como tecnologia de baixa emissão de carbono para as culturas do feijoeiro e da soja**. 2013, Londrina, PR: Embrapa Soja. ISSN 2176-2937. 2013a. 24 p. (Documentos, 337).

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M.A.; ARAUJO, R.S. Co-inoculation of soybeans and common beans with rhizobia and azospirilla: strategies to improve sustainability. **Biology Fertility Soils**, Firenze, v. 49, p. 791–801, 2013b.

HUNGRIA, M., NOGUEIRA, M.A., ARAÚJO, R.S. Inoculation of *Brachiaria spp.* with the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense*: An environment-friendly component in the reclamation of degraded pastures in the tropics. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdã, v. 221, p. 125–131, 2016.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Censo Agropecuário 2017**: resultados preliminares. Rio de Janeiro, 2018. 7 v. Disponível em: <[https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/3093/agro\\_2017\\_resultados\\_preliminares.pdf](https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/3093/agro_2017_resultados_preliminares.pdf)>. Acesso em: 11 nov. 2018.

ILYAS, N.; BANO, A. *Azospirillum* strains isolated from roots and rhizosphere soil of wheat (*Triticum aestivum* L.) grown under different soil moisture conditions. **Biology Fertility Soil**, Firenze, v. 46, p. 393-406, 2010.

INIGUEZ, A. L.; DONG, Y.; TRIPLETT, E. W. Nitrogen fixation in wheat provided by *Klebsiella pneumoniae*. **Molecular Plant Microbe Interactions**, Burlington, v. 17, n. 1078-1085, 2004.

ITZIGSOHN, R.; BURDMAN, S.; OKON, Y.; ZAADY, E.; YONATAN, R.; PEREVOLOTSKY, A. Plant-growth promotion in natural pastures by inoculation with *Azospirillum brasilense* under suboptimal growth conditions. **Arid Soil Research and Rehabilitation**, London, v. 13, p. 151-158, 2000.

LAL, R. Soil carbon sequestration for sustaining agricultural production and improving the environment with particular reference to Brazil. **Journal of Sustainable Agriculture**, Londres, v. 26, p. 23–42, 2005.

LANA, M. C., DARTORA, J., MARINI, D., HANN, J. E. Inoculation with *Azospirillum*, associated with nitrogen fertilization in maize. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 59, n. 3, p. 399-405, 2012.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RiMa, 2000. 531 p.

LONGHINI, V. Z.; SOUZA, W. C. R. de; ANDREOTTI, M.; SOARES, N. de A.; COSTA, N. R. Inoculation of diazotrophic bacteria and nitrogen fertilization in topdressing in irrigated corn. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 29, n. 2, p. 338-347, 2016.

MACHADO, A.T.; SODEK, L.; DÖBEREINER, J. & REIS, V.M. Efeito da adubação nitrogenada e da inoculação com bactérias diazotróficas no comportamento bioquímico da cultivar de milho Nitroflint. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 33, p. 961-970, 1998.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição de plantas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2006. 638 p.

MALAVOLTA, E.; VITTI G. C.; OLIVEIRA S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. Piracicaba: Potafos; 1997. 319 p.

MALIK, K. A.; BILAL, R.; MEHNAZ, S.; RASUL, G.; MIRSA, M. S.; ALI, M. S. Association of nitrogen-fixing, plant-growth-promoting rhizobacteria (PGPR) with kallar grass and rice. **Plant and Soil**, Crawley, v. 194, p. 37-44, 1997.

MARQUES, A. C. R.; OLIVEIRA, L. B.; NICOLOSO, F. T.; JACQUES, J. S.; GIACOMINI, S. J.; QUADROS, F. L. F. Biological nitrogen fixation in C<sub>4</sub> grasses of different growth strategies of South America natural grasslands. **Applied Soil Ecology**, Amsterdã, v. 113, p. 54-56, 2017.

MARTHA JUNIOR, G. B.; ALVES, E.; CONTINI, E. Land-saving approaches and beef production growth in Brazil. **Agricultural Systems**, Londres, v. 110, p. 173-177, 2012.

MODESTO, V. C. **Desempenho técnico e econômico da cultura do milho e da pastagem de capim marandu após o consórcio em função da inoculação com *Azospirillum brasilense***. 2017. 110 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Ilha Solteira, 2017.

MOURA, R. L.; NASCIMENTO, M. P. S. C. B.; RODRIGUES, M. M.; OLIVEIRA, M. E.; LOPES, J. B. Razão folhas/haste e composição bromatológica da rebrota de estilosantes Campo Grande em cinco idades de corte. **Acta Scientiarum Sciences**, Maringá, v. 33, n. 3, p. 249-253, 2011.

MULETA, D., F. ASSEFA, E. BÖRJESSON, U. GRANHALL. Phosphate-solubilising rhizobacteria associated with *Coffea arabica* L. in natural coffee forests of southwestern Ethiopia. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, Riade, v. 12, p. 73-84. 2013.

NAIK P. R., RAMAN G., NARAYANAN K. B., SAKTHIVEL N. Assessment of genetic and functional diversity of phosphate solubilizing fluorescens pseudomonas isolated from rhizospheric soil. **BMC Microbiology**, Londres, v. 8, p. 230, 2008.

NASCIMENTO, L. E. S.; ROCHA, J. A.; MAGALHÃES, J. A.; COSTA, N. L.; NASCIMENTO, T. S.; TOWNSEND, C. R. Subsídios técnicos para gestão ambiental em sistemas silvipastoris. **Pubvet**, Londrina, v. 8, n. 6, p. 1686, 2014.

OKON, Y.; LABANDERA-GONZALES, C. A. Agronomic applications of *Azospirillum*: an evaluation of 20 years worldwide field inoculation. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 26, n.1 2, p. 1591-1601, 1994.

OLIVEIRA, A. L. M.; CANUTO, E. L.; URQUIAGA, S.; REIS, V. M.; BALDANI J. I. Yield of micropropagated sugarcane varieties in different soil types following inoculation with endophytic diazotrophic bacteria. **Plant and Soil**, Crawley, v. 284, p. 23-32, 2006.

OLIVEIRA, P. P. A.; OLIVEIRA, W. S.; BARIONI, W. J. **Produção de forragem e qualidade de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu com *Azospirillum brasilense* e fertilizada com nitrogênio**. São Carlos: Embrapa pecuária sudeste, 2007. 4 p. (Circular Técnico, 54).

QUADROS, P. D. **Inoculação de *Azospirillum spp.* em sementes de genótipos de milho cultivados no Rio Grande do Sul**, 2009. 74 f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

RAIJ, B. van; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. (Ed.) **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agrônômico, 2001. 284 p.

REIS JUNIOR, F. B. **Ecologia e diversidade de bactérias do gênero *Azospirillum* em associação com pastagens de *Brachiaria* spp**, 2002. 97 f. Tese (Doutorado), Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2002.

RIGGS, P. J.; CHELIUS, M. K.; INIGUEZ, A. L.; KAEPLER, S. M.; TRIPLETT, E. W. Enhanced maize productivity by inoculation with diazotrophic bacteria. **Australian Journal of Plant Physiology**, Clayton, v. 28, p. 829-836, 2001.

RODRIGUEZ, H; GONZALEZ, T.; GOIRE, I.; BASHAN, Y. Gluconic acid production and phosphate solubilization by the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* spp. **Naturwissenschaften**, Berlin, v. 91, p. 552–555, 2004.

ROESCH, L. F.; CAMARGO, F. de O.; SELBACH, P. A.; SÁ, E. S. de. Reinoculação de bactérias diazotróficas aumentando o crescimento de plantas de trigo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, p. 1201-1204, 2005.

SÁ, J.C.; SÉGUY, L.; TIVET, F.; LAL, R.; BOUZINAC, S.; BORSZOWSKI, P. R.; BRIEDIS, C.; SANTOS, J. B.; HARTMAN, D.C.; BERTOLONI, C. G.; ROSA, J.; FRIEDRICH, T. Carbon depletion by plowing and its restoration by no-till cropping systems in oxisols of sub-tropical and tropical agro-ecoregions in Brazil. **Land Degradation and Development**, New Jersey, v. 26, p. 531-546, 2015.

SAHOO, R. K.; ANSARI, M. W.; PRADHAN, M.; DANGAR, T. K.; MOHANTY, S.; TUTEJA, N. Phenotypic and molecular characterization of native *Azospirillum* strains from rice fields to improve crop productivity. **Protoplasma**, Vienna, v. 251, n. 4, p. 943–953, 2014.

SANTOS, H. G. dos; JACOMINE, P. K. T.; ANJOS, L. H. C. dos; OLIVEIRA, V. A. de; LUMBRERAS, J. F.; COELHO, M. R.; ALMEIDA, J. A.; ARAUJO FILHO, J. C.; OLIVEIRA, J. B.; CUNHA, T. J. F. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 4. ed. Brasília, DF: Embrapa, 2018. 356 p.

SAUBIDET, M. I.; FATTA, N.; BARNEIX, A. J. The effect of inoculation with *Azospirillum brasilense* on growth and nitrogen utilization by wheat plants. **Plant and Soil**, Crawley, v. 245, p. 215-222, 2002.

SHWETA, S.; SHIVANNA, M. B.; GURUMURTHY, B. R.; SHAANKER, U.; SANTHOSH KUMAR, T. R.; RAVIKANTH, G. Inhibition of fungal endophytes by camptothecine produced by their host plant, *Nothapodytes nimmoniana* (Grahm) Mabb. (Icacinaceae). **Current Science**, Bangalore, v. 107, p. 994–1000, 2014.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3. ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2002. 235 p.

- SILVA, F. C. da. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Embrapa informações tecnológicas. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2009. 180 p.
- SIPIONE, M. S.; LIMEDE, A. C.; OLIVEIRA, C. E. S.; ZOZ, A.; SILVA, C. S.; ZOZ, T. Formas de inoculação de *Azospirillum brasilense* no crescimento inicial de triticale. **Revista Scientia Agraria**, Curitiba, v. 18, n. 4, p. 86-94, 2017.
- SIVASAKTHI, S.; USHARANI, G.; SARANRAJ, P. Biocontrol potentiality of plant growth promoting bacteria (PGPR) - *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis*: A review. **African Journal of Agricultural Research**, Lagos, v. 16, n. 9, p. 1265-1277, 2014.
- SOBRAL, J.K. **A comunidade bacteriana endofítica e epifítica de soja (*Glycine max*) e estudo da interação endófitos-planta**. 2003. 174 f. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.
- SOTTERO, A. N. **Colonização radicular e promoção de crescimento vegetal por rizobactérias**. 2003. 47 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) - Instituto Agronômico Campinas, Campinas, 2003.
- SOUTO, S.M. **Variação estacional da fixação de N<sub>2</sub> e desnitrificação em gramíneas forrageiras tropicais**, 1982. 268 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1982.
- SPAEPEN, S.; VANDERLEYDEN, J. Auxin signaling in *Azospirillum brasilense*: a proteome analysis. In: DE BRUJIN F. J. (Ed). **Biological nitrogen fixation**. Paris: [s. n.], 2015. 200 p.
- SUMAN, A.; SHRIVASTAVA, A. K.; GAUR, A.; SINGH, P.; SINGH, J.; YADAV, R. L. Nitrogen use efficiency of sugarcane in relation to its BNF potential and population of endophytic diazotrophs at different N levels. **Plant Growth Regulation**, Amsterdã, v. 54, p. 1-11, 2008.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E.; **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artemed, 2013. 954 p.
- TAIZ, L.; ZEIGER E. **Plant Physiology**. Massachusetts: Sinauer, 1998. 197 p.
- TIEN, T. M.; GASKINS, M. H.; HUBBELL, D. H. Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of Pearl Millet (*Pennisetum americanum* L.). **Applied and Environmental Microbiology**, Washington-DC, v. 37, n. 5, p. 1016–1024, 1979.
- TORRES, J. L. R.; PEREIRA, M. G.; ANDRIOLI, I.; POLIDORO, J. C.; FABIAN, A. J. Decomposição e liberação de nitrogênio de resíduos culturais de plantas de cobertura em um solo de cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 29, n. 4, p. 609-618, 2005.
-

TORRES JÚNIOR, A.; AGUIAR, G. A. M. Pecuária de corte no Brasil: potencial e resultados econômicos. In: ENCONTRO DE ADUBAÇÃO DE PASTAGENS DA SCOT CONSULTORIA - TEC - FÉRTIL, 1., 2013, Ribeirão Preto. **Anais...** Bebedouro: Scot Consultoria, 2013. p. 9-14.

TRENTINI, D. B. **Identificação dos alvos celulares das proteínas de transdução de sinal PII do diazotrófico de vida livre *Azospirillum amazonense***. 2010. 122 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

UNNO, H.; UCHIDA, T.; SUGAWARA, H.; KURISA, L.; SUGIYAMA, T.; YAMAYA, T.; SAKAKIBARA, H.; HASE, T.; KUSUNOKI, M. Atomic structure of plant glutamine synthetase. **The Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 281, n. 39, p. 29287-29296, 2006.

VANDENDERGH, P. A. E; GONZALEZ, C.F. Methods for protecting the growth of plants employing mutant siderophore producing strains of *Pseudomonas putida*. US Patent No. US4479936, Hoboken, 1984. 2 p.

VYAS, P.; GULATI, A. Organic acid production in vitro and plant growth promotion in maize under controlled environment by phosphate-solubilizing *Pseudomonas fluorescens* **BMC Microbiology**, Londres, v. 9, n. 174, p. 1-15, 2009.

XU, G.; FAN, X.; MILLER, A. J. Plant nitrogen assimilation and use efficiency. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 63, p. 53-182, 2012.

YANG, Y.; ZHAO, H.; BARRERO, R.; A., ZHANG, B.; SUN, G.; WILSON, I.; Genome sequencing and analysis of the paclitaxel-producing endophytic fungus *Penicillium aurantogriseum* NRRL 62431. **BMC Genomics**, Londres, v. 15, n. 69, 2014.

YANNI, Y. G.; DAZZO, F. B.; Occurrence and ecophysiology of the natural endophytic *Rhizobium*-rice association and translational assessment of its biofertilizer performance within the Egypt Nile delta. (Ed. Fj de Brugin). **Biological nitrogen fixation**, Hoboken, p. 747-756, 2015.

ZAMARIOLLI, L. E. R. **Inoculação de *Pseudomonas* via semente e eficiência agrônômica de fosfatos na cultura do milho**. 2016. 101 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista “Júlio e Mesquita Filho” – UNESP, Botucatu, 2016.

## APÊNDICES – FOTOS DO EXPERIMENTO

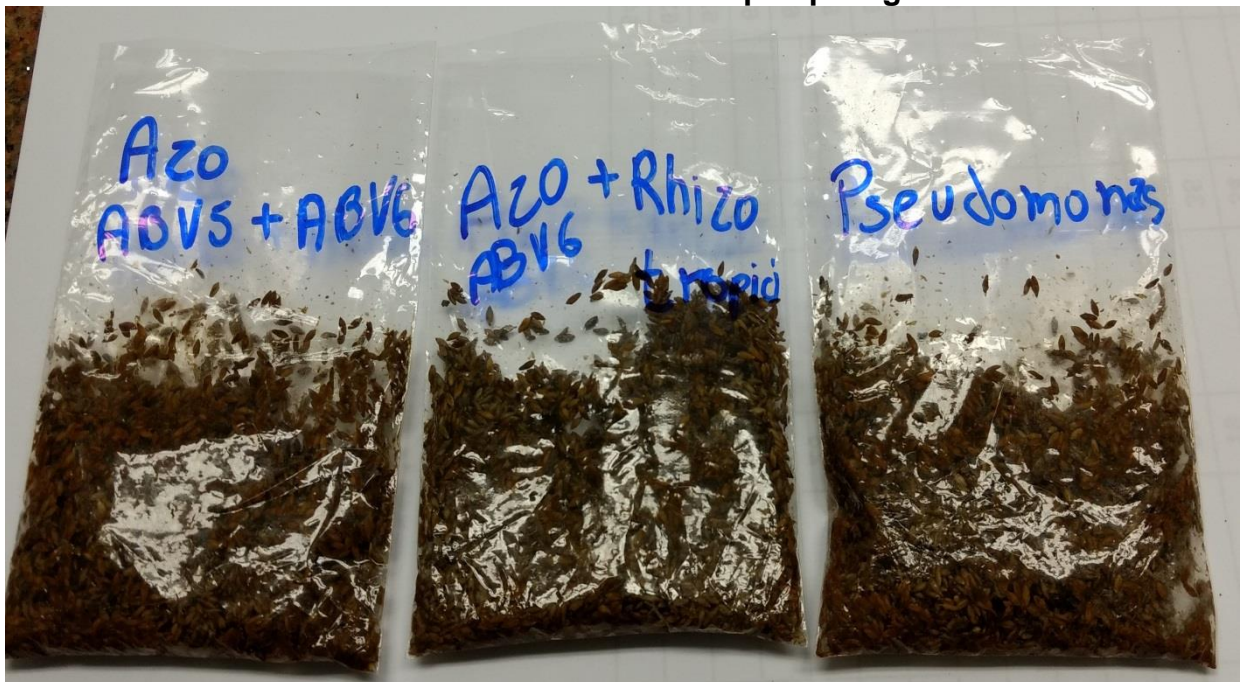
**Foto 1 – Unidades experimentais: vasos de polipropileno.**



Foto 2- Inoculantes bacterianos



Foto 3- Sementes inoculadas após pesagem





**Foto 4 – Preparo do solo para sementeira da forrageira**



**Foto 5 – Vista geral do experimento antes do primeiro corte**



**Foto 6 – Folha das plantas antes da leitura do índice de clorofila foliar no primeiro corte**



**Foto 7 – Folha das plantas antes da leitura do índice de clorofila foliar no segundo corte**



**Foto 8 – Leitura do índice de clorofila foliar a partir do clorofilômetro ClorofiLOG Falker**



**Foto 9 – Vista de um vaso momentos após a realização do corte das plantas**



**Foto 10 – Lavagem das raízes das plantas, após o terceiro corte**



**Foto 11 – Raízes de planta não inoculadas com bactérias promotoras do crescimento vegetal**



**Foto 12 – Raízes de planta inoculadas com *R. tropici* + *A. brasilense* Ab-V6 e adubadas com N**

