

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE ENGENHARIA
CÂMPUS DE ILHA SOLTEIRA**

AMÁRIO NUNO MEIRELES DUARTE

**INOCULAÇÃO COM BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO
E ADUBAÇÃO COM NITROGÊNIO EM HÍBRIDOS DE CAPIM-
BRAQUIÁRIA (*Urochloa* spp.)**

**Ilha Solteira – SP
2024**



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Câmpus de Ilha Solteira

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

AMÁRIO NUNO MEIRELES DUARTE

**INOCULAÇÃO COM BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO
E ADUBAÇÃO COM NITROGÊNIO EM HÍBRIDOS DE CAPIM-
BRAQUIÁRIA (*Urochloa* spp.)**

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira – UNESP como parte dos requisitos para a obtenção do título de doutor em Agronomia. Especialidade: Sistemas de Produção.

Prof. Dr. Marcelo Carvalho Minhoto Teixeira Filho
Orientador

**Ilha Solteira - SP
2024**

FICHA CATALOGRÁFICA

Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

D812i Duarte, Amário Nuno Meireles.
Inoculação com bactérias promotoras de crescimento e adubação com nitrogênio em híbridos de capim-braquiária (*Urochloa spp.*) / Amário Nuno Meireles Duarte. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2024
127 f. : il.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Área de conhecimento: Sistemas de Produção, 2024

Orientador: Marcelo Carvalho Minhoto Teixeira Filho

Inclui bibliografia

1. Braquiária. 2. Rizobactérias. 3. Produtividade de massa seca. 4. Adubação nitrogenada. 5. Sustentabilidade.


Amanda Sertori dos Santos

Biblioteca - CRB/8-9061
Seção Técnica de Referência, Atendimento ao
Usuário e Documentação
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: INOCULAÇÃO COM BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO E ADUBAÇÃO
COM NITROGÊNIO EM HÍBRIDOS DE CAPIM BRAQUIÁRIA (Urochloa spp.)

AUTOR: AMARIO NUNO MEIRELES DUARTE

ORIENTADOR: MARCELO CARVALHO MINHOTO TEIXEIRA FILHO

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em Agronomia,
especialidade: Sistemas de Produção pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. MARCELO CARVALHO MINHOTO TEIXEIRA FILHO (Participação Virtual)

Departamento de Fitossanidade, Engenharia Rural e Solos / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - UNESP

Prof.Dr. ORIVALDO ARF (Participação Virtual)

Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Socio-Economia / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - UNESP

Prof. Dr. ALEXSANDER SELEGUINI (Participação Virtual)

Departamento de Agronomia / Universidade Federal do Triângulo Mineiro - UFTM



Documento assinado digitalmente

ALEXSANDER SELEGUINI

Data: 21/11/2024 15:40:24-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. PAULA DE AGUIAR SILVA (Participação Virtual)

Departamento de Agronomia / Universidade Federal do Triângulo Mineiro - UFTM



Documento assinado digitalmente

PAULA DE AGUIAR SILVA

Data: 20/11/2024 17:43:03-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. ROQUE DE CARVALHO DIAS (Participação Virtual)

Departamento de Agronomia / Universidade Federal do Triângulo Mineiro - UFTM



Documento assinado digitalmente

ROQUE DE CARVALHO DIAS

Data: 20/11/2024 19:27:44-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Ilha Solteira, 19 de novembro de 2024

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho ao criador, pelo dom da vida.

Aos meus pais pelo incentivo e estímulo aos estudos, trabalho e busca do crescimento por meios lícitos.

Aos pagadores de impostos, por financiarem a educação pública, gratuita e de qualidade.

Ao meu filho Dannel e a minha filha Ester, que não se cansem de buscar o conhecimento e o crescimento com integridade e honestidade.

AGRADECIMENTOS

A Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), em especial à Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, pela oportunidade.

A Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), campus de Iturama por ter cedido o local e a infraestrutura para realização do experimento.

Ao Professor Dr. Marcelo Carvalho Minhoto Teixeira Filho, pela orientação, incentivo e paciência, minha sincera gratidão.

Ao Marcelo Rinaldi da Silva, pela boa vontade e suporte nas análises realizadas no laboratório de Nutrição de Plantas.

Ao Professor Dr. Cecílio Viegas Soares Filho, por ter me incentivado a iniciar a carreira científica.

A todo o corpo docente do curso de pós-graduação em Agronomia (Sistema de Produção) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira.

Aos professores Dr. Edson Cabral da Silva e Dr. Rodolfo de Niro Gazola, membros da banca de qualificação, pelas relevantes correções e sugestões.

Aos professores Dr. Orivaldo Arf, Dra. Paula Aguiar Silva, Dr. Alexsander Seleguini e Dr. Roque de Carvalho Dias, membros da banca de defesa, pelas importantes contribuições.

Aos colegas da pós-graduação que contribuíram para o crescimento e aprendizado, amizade e suporte.

Aos funcionários da UNESP/FEIS, sempre disponíveis quando solicitados.

Aos colegas e funcionários da UFTM pelo suporte na condução do experimento, especialmente aos terceirizados: Antônio; Miguel; Elton; Eliseu; Azenildo; José Guilherme; Adriano; Ademir e Carneiro.

Ao colega Gervasio Pegoraro pelo companheirismo e apoio durante a jornada do doutorado.

A empresa AMTEC, pela doação dos inoculantes para realização do experimento.

A empresa SEMEMBRÁS pela doação das sementes.

Aos alunos da UFTM: Ícaro Simão; Maria Eduarda Borges; Saulo Rodrigues; Estefani Maia; Wenner Alves; Graziela Carvalho; Grazielly Gomes; Cibele Alves; Pedro Henrique; Pedro Antônio; Rakhel Cristina; Lívia Freitas; Luana Rodrigues; Yuka Takaki; Layza Gonçalves; Thiago Queiroz; João Victor e João Carlos e ao grupo TECNOPEC que contribuíram na condução do experimento.

A minha mãe, M^a Jacy, minha primeira professora e incentivadora. Ao meu pai Netércio, financiador e incentivador. A minha irmã Hená Duarte, meu exemplo na vida escolar, pelo suporte. Ao meu irmão Jatson e minhas irmãs: Marilda; Jacyene e Mirelli pelo suporte e motivação nos momentos difíceis.

A Escola Estadual Alphonsus de Guimarães, em Comercinho, Minas Gerais, minha primeira educação formal, rígida e de qualidade, onde passei oito ótimos anos de aprendizado, amizades, diversões e crescimento.

Aos filhos Dannel e Ester, pelo amor e paciência, principalmente nos momentos de ausência em função da dedicação a esse projeto.

**“A imaginação é mais
importante que o
conhecimento”.**

Albert Einstein

RESUMO

A produção pecuária a pasto é dependente do uso de fertilizantes nitrogenados para atingir produtividades satisfatórias. A inoculação de sementes de gramíneas forrageiras com bactérias promotoras de crescimento vegetal pode incrementar a eficiência do uso de nitrogênio (N), aumentar a produtividade de pasto e tornar a pecuária mais sustentável. Nesse sentido, objetivou-se avaliar a resposta dos híbridos Mulato II e Ipyporã, *Urochloa spp.* a inoculação com as bactérias *Azospirillum brasilense*, cepas Ab-V5 e Ab-V6 e da coinoculação destas com *Pseudomonas fluorescens* CCTB 03 e com *Bacillus subtilis* CCT 1331, associadas a adubação mineral nitrogenada nas doses: 25,0; 37,5 e 50,0 kg ha⁻¹ de N, na forma de ureia, após cada corte de avaliação. O experimento foi conduzido a campo, em Iturama, Minas Gerais, Brasil, em um Latossolo Vermelho distrófico arenoso, nos anos de 2022 e 2023, em um delineamento em blocos casualizados com 12 tratamentos e 4 repetições. As bactérias foram inoculadas às sementes das gramíneas. Realizou-se três cortes de avaliação em cada híbrido. As variáveis avaliadas foram: altura das plantas; número de perfilhos; índice de clorofila foliar; produtividade de massa seca de forragem; razão lâmina foliar: pseudocolmo; concentração de proteína bruta na forragem; acúmulo de N, P e K na parte aérea. A inoculação das sementes dos capins Mulato II e Ipyporã com as bactérias benéficas testadas, em associação com redução da dose de N, promoveu incremento de todas as variáveis avaliadas, com exceção da razão lâmina foliar: pseudocolmo do capim Ipyporã e do teor de proteína bruta da parte aérea de ambos os híbridos. Portanto, recomenda-se, para os híbridos de *Urochloa spp.* (Mulato II e Ipyporã), a inoculação via semente com *A. brasilense* Ab-V5 + Ab-V6 ou de *A. brasilense* Ab-V5 + Ab-V6 + *P. fluorescens*, para aumentar a produtividade e qualidade do capim, associada as doses de 25 e 37,5 kg ha⁻¹ de N.

Palavras-chave: braquiária, rizobactérias, produtividade de massa seca, adubação nitrogenada, sustentabilidade.

INOCULATION WITH GROWTH-PROMOTING BACTERIA AND NITROGEN FERTILIZATION IN BRACHIARIA HYBRIDS (*Urochloa* spp.)

ABSTRACT

Livestock production on pasture depends on the use of nitrogen fertilizers to achieve satisfactory productivity. Inoculation of forage grass seeds with plant growth-promoting bacteria can increase nitrogen (N) use efficiency and make livestock farming more sustainable. In this sense, the objective of this study was to evaluate the productivity, morphological characteristics, chlorophyll index and accumulation of N, P and K in the hybrids Mulato II and Ypiporã of *Urochloa* spp. submitted to inoculation with the bacteria *Azospirillum brasilense* strains Ab-V5 and Ab-V6 and their co-inoculation with *Pseudomonas fluorescens* CCTB 03 and *Bacillus subtilis* CCT 1331 associated with mineral nitrogen fertilization at the following doses: 25.0, 37.5 and 50.0 kg ha⁻¹ of N, with urea source, applied after each evaluation cut. The experiment was conducted in the field in Iturama, State of Minas Gerais, Brazil, in a sandy dystrophic Oxisol, for a period of 12 months, between 2022 and 2023. A randomized block design with 12 treatments and 4 replicates was used, totaling 48 experimental units of 9 m². The bacteria were inoculated into the grass seeds. Three evaluation cuts were performed on each hybrid. The forage was evaluated by determining the forage dry mass productivity, N, P and K accumulation, plant height, tiller population density, leaf blade: pseudostem ratio, crude protein concentration in the forage and leaf chlorophyll index. The inoculation of Mulato II and Ypiporã grass seeds with the tested beneficial bacteria, in association with a reduction in the N dose, increased all evaluated variables, except for the leaf blade: pseudostem ratio of Ypiporã grass and the crude protein content in shoots of both. Therefore, for *Urochloa* spp. hybrids (Mulato II and Ypiporã), seed inoculation with *A. brasilense* Ab-V5 + Ab-V6 or *A. brasilense* Ab-V5 + Ab-V6 + *P. fluorescens* is recommended to increase grass productivity and quality, associated with N doses of 25 and 37.5 kg ha⁻¹.

Keywords: Brachiaria, rhizobacteria, dry mass yield, nitrogen fertilization, sustainability.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	16
2.1	PASTAGENS NO BRASIL.....	16
2.2	CAPIM MULATO II.....	17
2.3	CAPIM IPYPORÃ.....	18
2.4	BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO VEGETAL EM GRAMÍNEAS.....	18
2.4.1	<i>Azospirillum brasilense</i>	20
2.4.2	<i>Pseudomonas fluorescens</i>.....	23
2.4.3	<i>Bacillus subtilis</i>.....	25
2.5	ADUBAÇÃO NITROGENADA EM PASTAGENS.....	26
2.6	ADUBAÇÃO NITROGENADA ASSOCIADA COM BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO	29
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	31
3.1	LOCALIZAÇÃO E DESCRIÇÃO DO EXPERIMENTO	31
3.2	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E TRATAMENTOS	33
3.3	AVALIAÇÃO DA PRODUTIVIDADE, CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS, CLOROFILA FOLIAR, PROTEÍNA BRUTA E ACÚMULO DE NUTRIENTES.....	35
3.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	36
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
4.1	EXPERIMENTO 1: CAPIM <i>Urochloa</i> spp. cv. Mulato II	37
4.1.1	Índice de clorofila foliar (ICF)	37
4.1.2	Altura das plantas	39
4.1.3	Densidade de perfilhos.....	42
4.1.4	Razão lâmina foliar: pseudocolmo	44
4.1.5	Teor de proteína bruta na parte aérea	46
4.1.6	Acúmulo de N na parte aérea	49
4.1.7	Acúmulo de P na parte aérea	50
4.1.8	Acúmulo de K na parte aérea.....	52
4.1.9	Produtividade de massa seca da parte aérea	55
4.2	EXPERIMENTO 2: CAPIM <i>Urochloa</i> spp. cv. Ipyporã	59
4.2.1	Índice de clorofila foliar (ICF)	59
4.2.2	Altura das plantas	62
4.2.3	Densidade de perfilhos.....	64

4.2.4	Razão lâmina foliar: pseudocolmo	66
4.2.5	Teor de proteína bruta na parte aérea	68
4.2.6	Acúmulo de N na parte aérea	71
4.2.7	Acúmulo de P na parte aérea	73
4.2.8	Acúmulo de K na parte aérea	76
4.2.9	Produtividade de massa seca da parte aérea	78
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	82
6	CONCLUSÕES	83
	REFERÊNCIAS	84
	APÊNDICE A – FOTOS DO TRABALHO DE PESQUISA	95

1 INTRODUÇÃO

Ao final do ano de 2023, o Brasil abrigava 197,2 milhões de bovinos, criados, em grande parte, nos 161,5 milhões de hectares de pastagens (ABIEC, 2024), parte dessa área apresenta algum grau de degradação, devido às inadequadas práticas de manejo e falta de reposição dos nutrientes extraídos do solo.

A adubação nitrogenada em pastagens tem resultados comprovados como em qualquer cultura agrícola, porém, é pouco adotada, devido, principalmente, ao pensamento extrativista predominante no setor pecuário brasileiro. A maior parte das pastagens sofrem com erosão, incidência de plantas daninhas e baixa capacidade de suporte.

O aumento da produtividade de carne e leite é alcançado com o emprego de fertilizantes industrializados, porém, o custo financeiro e ambiental dessa tecnologia é elevado. A adoção de tecnologias sustentáveis que venham a aumentar a eficiência dos fertilizantes nitrogenados em pastagens, melhora a lucratividade da pecuária e traz um enorme ganho ambiental, pois a síntese industrial de amônia requer elevadas quantidades de combustíveis fósseis, contribuindo para as emissões de carbono.

A inoculação de sementes de capim com bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV), tem promovido ganhos de produtividade e qualidade do pasto, assim, essa prática possibilita redução de custos associada e uma contribuição para o meio ambiente, reduzindo a demanda de fertilizantes minerais.

A produção industrial de amônia através do conhecido processo de Haber-Bosch é responsável atualmente por 1,2% das emissões de CO₂ provocadas pelo homem (Smith *et al.*, 2020). Portanto, utilizar micro-organismos fixadores de N e promotores de crescimento por outros meios, suprimindo parte dos fertilizantes convencionais, traz enormes benefícios sociais e ambientais.

A inoculação com BPCV em gramíneas tropicais iniciou-se, com maior força, com *Azospirillum brasilense*, nas culturas de milho e trigo, posteriormente, vários estudos com gramíneas forrageiras tropicais foram realizados, comprovando ganhos de produtividade e qualidade da forragem, além de mitigar o estresse das plantas causado por fatores bióticos e abióticos.

Os benefícios da inoculação com *A. brasilense* vão muito além da fixação biológica de nitrogênio (FBN). Potente produtora de fito-hormônios, *A. brasilense* é

capaz de modificar a produção de raízes e promover exploração de maior volume de solo, consequentemente, impactando positivamente a produtividade.

Outra bactéria relevante é a *Pseudomonas fluorescens*, que, em trabalhos com inoculação singular, tem mostrado efeitos benéficos na produtividade, morfologia e acúmulo de nutrientes de gramíneas forrageiras e benefícios na proteção de plantas de trigo e arroz.

Bacillus subtilis é uma bactéria promotora de crescimento, reconhecida como potente produtora de fito-hormônios e solubilizadora de fosfatos, vem sendo utilizada em cana-de-açúcar, milho, hortaliças e recentemente em gramíneas forrageiras tropicais.

O capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, amplamente conhecido como braquiário, é a cultivar que ocupa maior área de pastagem no Brasil, devido ao fácil manejo, adaptação à estiagem e resistência à cigarrinha-das-pastagens (*Deois flavopicta*), ainda é o preferido dos pecuaristas, porém vem sofrendo severos danos com ataque da cigarrinha da cana-de-açúcar (*Mahanarva fimbriolata*).

O capim Mulato II foi lançado em 2005 como um dos primeiros híbridos de capim braquiária, é resultado do cruzamento entre genótipos de *U. ruziziensis* e *U. brizantha*, tem sido avaliado em regiões tropicais e subtropicais, mostrando-se superior às gramíneas tropicais tradicionais nos quesitos produção de forragem e valor nutricional (Silva *et al.*, 2020).

Oriundo do cruzamento de *U. ruziziensis* com *U. brizantha*, a cultivar BRS RB 331 Ipyporã foi lançada em 2017 pela EMBRAPA e UNIPASTO, apresenta alta produtividade e fácil manejo, além de resistência às diferentes espécies de cigarrinha das pastagens (Valle *et al.*, 2017). A resistência desse híbrido à cigarrinha-da-cana é o principal fator positivo que tem levado pecuaristas a optarem pela formação de pastagens com esse híbrido, em detrimento da tradicional *U. brizantha* cv. Marandu.

Estudos avaliando resposta, desses dois promissores híbridos de capim braquiária, à inoculação com BPCV são escassos e necessários. A hipótese desta pesquisa é que a inoculação e coinoculação de sementes, dos dois híbridos de braquiária supracitados, com BPCV associadas a doses de adubação nitrogenada, permite elevar a produtividade de massa seca de forragem e o seu valor nutricional, com redução de dose de fertilizante nitrogenado.

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da inoculação com *A. brasilense* Ab-V5 e Ab-V6 e da coinoculação dessa espécie com outras bactérias, em associação à adubação com doses de N, sobre o desenvolvimento, produtividade e qualidade de dois híbridos de capim-braquiária cultivados a campo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PASTAGENS NO BRASIL

O Brasil possui o maior rebanho mundial de bovinos, com cerca de 197,2 milhões de cabeças, apenas 16,6% dos animais abatidos são terminados em confinamento (ABIEC, 2024), o restante é criado em pastagens que ocupam 21,2% do território nacional (EMBRAPA, 2018), distribuídas nas 2,56 milhões de propriedades (IBGE, 2018).

Parte dessas pastagens vem sendo degradadas por práticas inadequadas como: superpastejo; falta de correção e adubação de solo; ausência de práticas de conservação do solo e negligência no controle de plantas daninhas. O uso de fertilizantes é pouco comum entre os pecuaristas, apesar de robustos estudos comprovarem a sua eficácia (Heinrichs *et al.*, 2020; Bastidas *et al.*, 2024).

Estudo relevante publicado por Dias-Filho (2014), relata que 50% das pastagens do Brasil estão degradadas, 30% estão em fase de degradação e 20% são consideradas produtivas e bem conservadas. No bioma Cerrado, de acordo com Andrade *et al.* (2015), cerca de 35% das áreas de pastagens estão degradadas. Em outro estudo importante, Pereira *et al.* (2018) concluíram que 51,27% das pastagens na zona da mata de Minas Gerais apresentavam sinais de degradação, alcançando 91,32% no período de estiagem.

Mesmo com os alarmantes indicadores de degradação, a pecuária brasileira vem, gradualmente, adotando inovações, como: irrigação; uso de corretivos e fertilizantes; manejo de plantas daninhas; pastejo rotativo e a crescente integração lavoura-pecuária-floresta com mais de 11,5 milhões de hectares utilizados em alguma modalidade de integração (Skorupa; Manzatto, 2019).

A adoção de diversas tecnologias vem contribuindo para elevar a produtividade do gado de corte. Em 2003, o Brasil produzia apenas 36,2 carcaças $\text{ha}^{-1} \text{ano}^{-1}$ e em 2023 atingiu 65,8 carcaças $\text{ha}^{-1} \text{ano}^{-1}$, com expressivos 83,42% dos bovinos abatidos terminados a pasto (ABIEC, 2024), evidenciando o aumento da produtividade das pastagens. Maiores índices podem ser alcançados, assim, a pecuária deixará de ser taxada como uma atividade extrativista.

A diversidade de espécies de gramíneas forrageiras tropicais é enorme. O mercado constantemente recebe novos genótipos, enquanto alguns mais

consolidados permanecem por décadas tendo a sua área ampliada. As gramas do gênero *Cynodon*, são amplamente adotadas pela pecuária de leite e equideocultura, por serem perenes, de fácil estabelecimento e melhor valor nutricional (Aguirre *et al.*, 2020), porém, a propagação por mudas, desestimula a expansão das áreas cultivadas com esse gênero, principalmente em grandes áreas.

O gênero *Megathyrsus* (Sin. *Panicum*) ocupa, aproximadamente, 10% da área de pastagens do Brasil (Lopes *et al.*, 2019), entretanto, a maior exigência em fertilidade de solo e um manejo mais difícil, tem causado a substituição desses capins por outros do gênero *Urochloa* (Sin. *Brachiaria*), que somam em torno de 95 milhões de hectares cultivados (Duarte *et al.*, 2020).

2.2 CAPIM MULATO II

O capim *Urochloa* spp. cv. Mulato II foi lançado em 2005 como um dos primeiros híbridos de capim-braquiária, é resultado do cruzamento entre as espécies *U. ruziziensis* e *U. brizantha*, tem apresentado um bom desempenho em diferentes ambientes, resultando em produtividade e valor nutricional superior à maioria das gramíneas forrageiras tropicais tradicionais (Silva *et al.*, 2020).

De acordo com Argel *et al.* (2007), o capim Mulato II é o segundo híbrido comercial obtido através do Projeto de Forragens Tropicais do CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical), resultado do cruzamento entre *Urochloa ruziziensis* e *Urochloa brizantha* cv. Marandu.

A cultivar é uma planta perene, de crescimento semiereto, cuja altura pode atingir 1,0 m, apresenta pseudocolmos cilíndricos e vigorosos, as vezes semidecumbentes, facilitando o enraizamento quando entram em contato íntimo com o solo, seja por compactação mecânica ou por ação do pisoteio animal. Com folhas em forma de lança, medindo até de 3,8 cm de largura, lígula curta e membranosa e de cor verde intensa. A inflorescência é do tipo panícula com 4 a 6 ráculos, com fileiras duplas de espiguetas de 5 mm de comprimento e 2 mm de largura aproximadamente (Argel *et al.*, 2007).

O capim Mulato II se adapta a diferentes regiões, desde o nível do mar até 1800 m de altitude, no trópico úmido com altas precipitações ou em condições subúmidas com 5 a 6 meses de seca, com precipitações de 700 mm anuais; tolera solos de baixa fertilidade com altos teores de alumínio; recupera-se bem após a ocorrência de

geadas e queimadas; apresenta relativa resistência ao sombreamento; além de possuir resistência a pragas e doenças, em especial às espécies de cigarrinha (Argel, *et al.*, 2007).

A produtividade de forragem do Mulato II varia de 10 a 27 toneladas de massa seca por hectare anualmente. Responde bem à aplicação de fertilizantes, principalmente os nitrogenados. Apresenta alto valor nutricional, com 8 a 16% de proteína bruta e digestibilidade *in vitro* da matéria seca de 55 a 66% aos 25 a 30 dias pós-pastejo. Sob manejo com altura média de dossel de 20 cm, o Mulato II tem melhor desempenho, resultando em maior produtividade com maior valor nutricional (Almeida, 2023).

2.3 CAPIM IPYPORÃ

Os pecuaristas estão em busca de novas cultivares que, além de produtivas e com alto valor nutricional, apresentem maior tolerância às pragas e doenças, nesse sentido, foi lançado em 2017, pela EMBRAPA e UNIPASTO, o híbrido BRS RB331 Ipyporã, que é resultante de um cruzamento interespecífico de *U. ruziziensis* e *U. brizantha*. Seu nome em significa “belo começo”. O capim *Urochloa* spp. Cv. BRS RB331 Ipyporã apresenta resistência às diferentes espécies de cigarrinha-das-pastagens, em especial, com alto grau de resistência ao gênero *Mahanarva*, popularmente conhecida como cigarrinha-da-cana (Valle *et al.*, 2017).

Em estudo comparativo realizado por Euclides *et al.* (2018), o híbrido BRS Ipyporã mostrou-se superior a tradicional cultivar Marandu, nos quesitos: produtividade de lâmina foliar; razão lâmina foliar: pseudocolmo; teor de proteína bruta; digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica e resultou em maior ganho individual de peso vivo em bovinos machos terminados a pasto.

A inoculação de capins do gênero *Urochloa* com BPCV tem sido estudada, mas pouco se conhece sobre a resposta de híbridos de capim braquiária à essa tecnologia, principalmente quando envolve a utilização de mais de uma bactéria.

2.4 BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO VEGETAL EM GRAMÍNEAS

A produção, comercialização e utilização de inoculantes microbilógicos apresentou grande crescimento na última década. Incrementos na produtividade proporcionados pela inoculação com BPCV foram comprovados em diversas culturas

(Galindo *et al.*, 2024). Em 2023, as empresas comercializaram cerca de 141 milhões de doses de inoculantes no Brasil, produtos com as bactérias do gênero *Azospirillum* e *Pseudomonas* representaram 26,7% desse montante (EMBRAPA, 2024).

O Brasil é pioneiro em estudos com pesquisas em fixação de N₂ nos trópicos (Dobereiner, 1992), formas mais sustentáveis de aportar nitrogênio para as plantas são demandadas pelos agricultores e pela sociedade. O Brasil é um país avançado em pesquisas e comercialização de inoculantes, além de ter uma legislação ampla e rigorosa nesta área (Santos *et al.*, 2019).

O aumento da adoção da inoculação com BPCV é um ganho para o meio ambiente e para a sociedade, pois, o Brasil é um importador de fertilizantes industrializados, com alto custo energético e grandes emissões de carbono na sua produção. Nesse sentido, procura-se meios para aumentar a eficiência da utilização desses fertilizantes, isso justifica a importância de pesquisas com bactérias que fazem a fixação biológica de nitrogênio, bactérias promotoras de crescimento vegetal, e outros micro-organismos (Hungria, 2011).

As BPCV melhoram, de alguma forma, o crescimento das plantas (Sivasakthi *et al.*, 2013). Tais micro-organismos benéficos atuam na produção de fito-hormônios e estimuladores de resistência das plantas a estresses bióticos e abióticos (Lopes *et al.*, 2019). Importante destacar que não são fertilizantes, mas aumentam a eficiência de uso destes pelos vegetais (Fernandes *et al.*, 2023).

O estímulo ao crescimento vegetal, proporcionado pelos microrganismos benéficos, ocorre de várias formas, tais como: aumento da atividade da redutase do nitrato quando crescem endofiticamente nas plantas; produção de fito-hormônios como auxinas, giberelinas, citocininas, etileno e diversas outras moléculas; solubilização de fosfatos e produção de substâncias inibidoras de micro-organismos fitopatogênicos (Hungria, 2011).

Os inoculantes podem ter a sua eficácia prejudicada por diversos fatores, como: fertilidade do solo reduzida; desequilíbrio nutricional; efeito salino no solo; deficiência hídrica; temperaturas altas; incidência de doenças e pragas e outros fatores bióticos e abióticos (Santos *et al.*, 2019).

Culturas como a cana-de-açúcar, respondem bem ao uso de BPCV. Um bom exemplo é *Acetobacter diazotrophycus*, uma bactéria endofítica que tem o potencial

de fixar todo o N requerido pela planta (Bashan; De-Bashan, 2005). Em outras gramíneas, como milho, *A. brasilense* desempenha importante papel, possibilitando reduzir a necessidade de fertilizante nitrogenado em até 30 kg ha⁻¹ de N (Condori *et al.*, 2024). Efeito semelhante foi constatado em trigo, conforme Galindo *et al.* (2020), é possível aumentar a produtividade de grãos e a eficiência de utilização do N mineral aplicado.

O incremento econômico e de produtividade proporcionado pela inoculação de leguminosas é bastante estudado e difundido, porém, em gramíneas, os ganhos são menores, mas igualmente importantes, dada a grande área explorada com pastagens tropicais no Brasil. Por se tratar de uma atividade com menor uso de tecnologias, qualquer pequeno incremento, impacta na produção final e resulta em ganhos ambientais com a redução das emissões de carbono (Hungria, 2011).

Pesquisas relevantes com utilização de BPCV em gramíneas e a ampla divulgação em meios de comunicação, vem estimulando a adoção dessa tecnologia pelos agricultores, principalmente em milho e trigo e recentemente em pastagens, estirpes novas e de qualidade, disponíveis no mercado, tem incrementado a produtividade e apresentam custo baixíssimo em relação aos fertilizantes industrializados, embora estes ainda sejam indispensáveis (Santos *et al.*, 2019).

O uso de BPCV em gramíneas forrageiras tropicais trazem muitos benefícios, como: aumento da produtividade e redução dos riscos de degradação da pastagem (Duarte *et al.*, 2021); incremento do valor nutricional (Carvalho *et al.*, 2020b); maior tolerância à seca (Duarte *et al.*, 2021).

Várias BPCV estão sendo testadas em capins tropicais. Recentemente, Duarte *et al.* (2021) comprovaram efeito benéfico da inoculação sobre a produtividade de *Urochloa* spp. cv. Mavuno com inoculação de *A. brasilense* cepas Ab-V5 e Ab-V6 e *P. fluorescens* cepas CCTB 03. Sampaio *et al.* (2021) obtiveram resultados positivos em *U. brizantha* cv. Marandu sob inoculação com *B. subtilis* CCTB04.

2.4.1 *Azospirillum brasilense*

O Brasil é pioneiro em pesquisas e utilização de bactérias do gênero *Azospirillum*, a pesquisadora Johanna Döbereiner (1924-2000) foi quem descobriu e comprovou a eficiência dessas bactérias, no início chamadas de *Spirillum*, em efetuar a FBN, quando em associação às plantas da família *Poaceae* (Santos *et al.*, 2019).

Azospirillum sp., dentre as diversas BPCV não simbióticas conhecidas, é a mais estudada e utilizada, pois tem uma reconhecida capacidade de promover o crescimento dos vegetais através de diferentes meios (Bashan; De-Bashan, 2005). São bactérias diazotróficas endofíticas facultativas, isto é, colonizam tanto a rizosfera quanto os espaços intercelulares (Dartora, 2013), estão distribuídas ecologicamente de forma universal, associam-se com dicotiledôneas e com monocotiledôneas (Marin *et al.*, 1999).

Bactérias do gênero *Azospirillum* são encontradas em diversos tipos de clima e solo (Andrade *et al.*, 2016). São Gram-negativas aeróbias, preferencialmente, mas podem crescer em condição de baixa oxigenação (microaerofílicas). Utilizam nitrato, nitrito, amônio, nitrogênio molecular (N₂) e aminoácidos como fonte de nitrogênio e pentoses e ácidos orgânicos como fontes de carbono (Modesto *et al.*, 2019).

Azospirillum tem a capacidade de estimular o crescimento radicular das plantas via produção de auxina (Mehnaz, 2015), consequentemente, ocorre maior absorção de nutrientes devido ao maior volume de solo explorado. Giberelinas e citocininas também são fito-hormônios produzidos por essa bactéria benéfica (Modesto *et al.*, 2019). A proteção da planta, através da produção de antibióticos, quitinases e sideróforos e glucanases, é outro conhecido benefício do *Azospirillum* (Okumura *et al.*, 2013).

Estudos relevantes relatam que *A. brasilense* é capaz de mitigar o estresse provocado por efeitos abióticos nas plantas, com consequente aumento de produtividade (Fukami *et al.*, 2017). Cohen *et al.* (2015) citam a secreção de ácido abscísico como meio de incrementar a defesa da planta em situações de deficiência hídrica. Leite *et al.* (2018) observaram, no período da seca, maior produtividade, aumento do perfilhamento e da altura de plantas de *U. brizantha* cv. Marandu sob inoculação com *A. brasilense*.

A maior parte das pesquisas com o uso de BPCV em capins tropicais foi com *Azospirillum brasilense*, os incrementos vieram através da FBN e do maior desenvolvimento do sistema radicular, incrementando a área de influência das raízes, consequentemente, explorando maior volume de solo (Duarte *et al.*, 2020).

A FBN realizada por *A. brasilense* não parece ser a maior contribuição dessa bactéria na promoção do crescimento das plantas, porém, é uma característica relevante desse micro-organismo benéfico (Fibach-Paldi *et al.*, 2012). É difícil

quantificar a participação isolada da FBN ou da promoção do crescimento por outros meios, mas é notável que os ganhos provenientes do *A. brasilense* não se limitam à FBN, daí a classificação dessa espécie como promotora de crescimento vegetal (Hungria, 2011).

O primeiro produto comercial brasileiro contendo *Azospirillum* foi lançado no mercado no ano de 2009 (Santos *et al.*, 2019). Vários experimentos com *A. brasilense*, a campo, foram conduzidos pela Embrapa soja em conjunto com a Universidade Federal do Paraná (UFPR), testando diferentes estirpes, porém, Ab-V5 e Ab-V6 se mostraram mais promissoras. Em milho, estas promoveram um incremento de 26% na produtividade e em trigo o aumento foi de 31% (Hungria, 2011).

Na Argentina, vários estudos com inoculação de *A. brasilense* nas culturas de milho e trigo foram realizados. Em 383 experimentos publicados, o incremento de produtividade sob essa inoculação foi de 5 a 41% em relação aos tratamentos sem inoculação (Fibach-Paldi *et al.*, 2012).

Em plantas de milho sob inoculação com *A. brasilense*, Garcia *et al.* (2017) observaram maior produtividade de grãos, maior produtividade de massa seca da parte aérea e de raízes, além de maior massa seca de 1000 grãos, estes resultados foram obtidos utilizando metade da dose de N recomendada para a cultura em comparação com a dose completa na ausência de inoculação. Outras pesquisas também evidenciaram maiores concentrações de P e K nos grãos quando sementes foram inoculadas com *A. brasilense* (Hungria *et al.*, 2011).

Após dois anos de avaliação, com híbridos de milho destinado a silagem, Skonieski *et al.* (2017) relataram aumento de produtividade, redução do percentual de fibra em detergente neutro, aumento do extrato etéreo e aumento da digestibilidade *in vitro* da matéria seca das plantas sob inoculação com *A. brasilense* em associação à adubação nitrogenada. Os autores relataram aumento de 16% de produtividade no segundo ano, com o híbrido “Defender” em comparação com a ausência de inoculação. Portanto, além de proporcionar aumento de produtividade, a inoculação incrementou o valor nutricional da silagem produzida.

Várias formas de aplicação de *A. brasilense* foram testadas na cultura do milho, muitas delas se mostraram eficazes como: Inoculação da semente; pulverização das plantas e aplicação no solo ou no sulco de semeadura via pulverização, conforme demonstrado por Fukami *et al.* (2016).

A inoculação das sementes de gramíneas forrageiras é o método mais utilizado e não compromete a germinação das sementes, conforme demonstrado por Moreira *et al.* (2014), os autores validaram esse método com a inoculação de *A. brasilense* Ab-V5 + Ab-V6 nos capins *U. brizantha* cv. Marandu e cv. Xaraés, *U. humidicola* cv. Tupi e *Megathyrsus maximus* cv. Massai.

A inoculação com *A. brasilense* Ab-V5 + Ab-V6 associada à adubação com nitrogênio, foi estudada por Picazevicz *et al.* (2020), em *M. maximus* cv. BRS Zuri, os autores relataram aumento da produtividade de massa seca em 15% e aumento no acúmulo de N em 28%, de K em 18%, de Ca em 20% e de Mg em 24% na parte aérea do capim.

O uso de inoculantes contendo *Azospirillum brasilense* em capins tropicais incrementa a produtividade de forragem, aumenta o teor de N na parte aérea e aumenta a altura de plantas, assim, a inoculação com essa bactéria benéfica é uma opção para a substituição de parte do N mineral industrializado (Duarte *et al.*, 2020). Portanto, esse insumo biológico pode dar uma grande contribuição na redução das emissões de CO₂ (Hungria *et al.*, 2018).

2.4.2 *Pseudomonas fluorescens*

O gênero *Pseudomonas* agrupa bactérias Gram-negativas, tipo bacilos, aerofílicas não esporuladas, com ampla versatilidade nutricional, a sua mobilidade é facilitada pela presença de flagelos e tem capacidade de colonizar diferentes tipos de ambiente (Duarte, 2018).

Pseudomonas fluorescens tem grande capacidade de colonizar a região das raízes das plantas (Brennecke *et al.*, 2016). Ao se associarem com as plantas, essas rizobactérias produzem fito-hormônios de crescimento, liberam solubilizadores de fosfatos e substâncias que inibem fitopatógenos (Coelho, 2007).

Pseudomonas são, reconhecidamente, produtoras de sideróforos (Dey *et al.*, 2004), substâncias que convertem o ferro insolúvel (Fe³⁺) em forma solúvel (Fe²⁺), assim, disponibilizando esse mineral para os vegetais, de modo que, a liberação de sideróforos pode promover aumento da produtividade em solos cuja disponibilidade de ferro é baixa (Santos *et al.*, 2019).

Isolados de *P. fluorescens* capazes de produzir ácido indol acético (AIA) em laboratório, foram identificados por Dey *et al.* (2004), os autores também constataram

a capacidade desses micro-organismos de solubilizar fosfato tricálcico, além de induzir a amonificação e inibir patógenos como: *Aspergillus niger*; *A. flavus* e *Sclerotium rolfsii*. Bashan e De-Bashan (2005) citam a capacidade dessas bactérias endofíticas de controlar patógenos como: *Fusarium*; *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii*.

No noroeste do irã, um robusto estudo foi conduzido por Alishahi *et al.* (2013), os autores obtiveram 58 isolados de *P. fluorescens*, destes, 84% se mostraram bons solubilizadores de fosfatos, 70% foram capazes de produzir sideróforos, 100% foram efetivos na produção de auxina e 80% foram capazes de produzir a enzima ACC deaminase. Em estudo semelhante, conduzido na Índia, Sivasakthi *et al.* (2013) obtiveram 10 cepas oriundas de áreas de arroz irrigado, observou-se que os micro-organismos benéficos apresentavam variados níveis de produção de AIA, ácido giberélico, sideróforos e solubilizadores de fosfatos, sendo este último em menor grau.

A inoculação com *P. fluorescens* em gramíneas vem aumentando e atingindo resultados positivos. Em cana-de-açúcar, Rosa *et al.* (2020) relataram incremento da produtividade e do teor de fósforo (P) foliar devido à inoculação com *P. fluorescens* CCTB 03. Oliveira *et al.* (2012) relataram maiores concentrações de P e K nos grãos de milho em função da inoculação das sementes com *P. fluorescens* 1008, sob diversas doses de N mineral associadas.

No irã, foi demonstrada a efetividade da inoculação com *P. fluorescens* 169 em milho, tanto em condição semiárida quanto sob irrigação, no referido estudo, Zarmehri *et al.* (2013) observaram aumento de produtividade de forragem e de grãos em resposta a essa inoculação. No mesmo sentido, Oliveira *et al.* (2012) comprovaram aumento de produtividade em milho de segunda safra inoculado com *P. fluorescens* e sob adubação com N mineral.

No Paquistão, Chattha *et al.* (2017) observaram maior produtividade em sorgo forrageiro, sob coinoculação com *P. fluorescens* e *Azotobacter brasilense* ou *P. fluorescens* e *A. choroococcum*. Além de maior produtividade de forragem, os autores relataram maior concentração de proteína bruta e plantas com maior altura.

Estudos em gramíneas forrageiras tropicais que receberam inoculação com *Pseudomonas* também apresentaram resultados positivos. Duarte *et al.* (2020) relataram efeito benéfico em *U. brizantha* cv. Xaraés sob inoculação com *P. fluorescens* CCTB 03, em estudo realizado em casa de vegetação. Os pesquisadores

observaram incremento na taxa de alongação da lâmina foliar e do pseudocaule, bem como maior perfilhamento basal nas plantas inoculadas em relação as não inoculadas.

Aumento da razão lâmina foliar: pseudocolmo também foi observado por Brennecke *et al.* (2016), os autores inocularam capim *U. decumbens* cv. Basilisk com *P. fluorescens* CCMA-110, conseqüentemente, ocorreu maior número de folhas por perfilho e alongamento do pseudocolmo, assim impactando positivamente o valor nutricional do pasto.

Em capim *M. maximus* cv. BRS Zuri, Carvalho *et al.* (2020b), observaram incremento de 7% da produtividade de massa seca da parte aérea, proporcionado pela inoculação das sementes com *P. fluorescens* CCTB 03 e posterior reinoculação via pulverização das folhas após cada corte.

Incremento na produtividade de massa seca de forragem de *U. brizantha* cv. Piatã, sob inoculação com *P. fluorescens* BRM-3111 e *Burkholderia pyrrocinia* BRM-32113, foi observado por Lopes *et al.* (2019), os autores avaliaram a efetividade desses micro-organismos benéficos em diversas condições de luminosidade e validaram a efetividade das BPCV no sistema convencional e em condições similares às encontradas no sistema silvo-pastoril.

2.4.3 *Bacillus subtilis*

As bactérias do gênero *Bacillus* são Gram-positivas não patogênicas, produzem esporos e possuem maior capacidade de resistência, são muito utilizadas na indústria para síntese de enzimas (Alves *et al.*, 2018).

A rizobactéria *B. subtilis* é uma notável promotora de crescimento de vegetais, podendo ser encontrada no solo, no interior das plantas (endofíticas) ou na superfície delas (epífitas). Diversos meios de promoção do crescimento são utilizados por esse micro-organismo benéfico, como: síntese de fito-hormônios que estimulam o crescimento; síntese de antibióticos e sideróforos e estímulo à resistência aos fitopatógenos (Losicck, 2020).

O *B. subtilis* é capaz de promover o crescimento vegetal através de vários mecanismos. Essa rizobactéria pode colonizar as raízes do algodoeiro sob solos com maior salinidade e auxiliar a planta na nutrição de fósforo (Ahmad *et al.*, 2018).

Conforme relatos de Araújo e Hungria (1999), *B. subtilis* é capaz de induzir a planta a sintetizar fito-hormônios, como: giberelinas; ácido indolacético; citicinininas;

ácido abscísico. Assim, estimula o crescimento de raízes e o incremento na quantidade de pelos radiculares.

O uso do *B. subtilis* no controle biológico de enfermidades em plantas é crescente, pois essa bactéria é reconhecida por produzir enzimas, antibióticos e fitohormônios, um exemplo dessa aplicação é o controle biológico de nematóides, além das evidências em aumento da produtividade vegetal (Alves *et al.*, 2018).

Maior germinação de sementes de *U. brizantha* cv. Marandu, tratadas com *B. subtilis*, foi relatada por Manrique *et al.* (2019). Em estudo com essa mesma gramínea forrageira, Araujo *et al.* (2012) utilizaram isolados de *Bacillus sp.* que incrementaram o crescimento das plantas.

Foi relatado por Mazzuchelli *et al.* (2014), um incremento de aproximadamente 15% na produtividade de massa verde da parte aérea de milho de segunda safra, sob inoculação com *B. subtilis*. Lima *et al.* (2011) relataram aumento de 150% na concentração de N da parte aérea de plantas de milho proporcionado pela inoculação com *B. subtilis*, os autores também observaram maior capacidade fotossintética das plantas inoculadas em relação à testemunha, evidenciando o benefício dessa rizobactéria no crescimento e produtividade vegetal.

2.5 ADUBAÇÃO NITROGENADA EM PASTAGENS

Aproximadamente 78% da atmosfera da terra é composta por N no estado gasoso (Brito *et al.*, 2018), entretanto, essa forma (N_2) não é assimilada pelos vegetais, assim, é necessário que o N se combine com outros elementos para ser absorvido pelas plantas.

Uma proporção pequena (2 a 3%) do N no solo encontra-se na forma mineral ou inorgânica, principalmente na forma iônica de amônio (NH_4^+) e nitrato (NO_3^-), as quais são disponíveis para o sistema radicular das plantas (Lopes, 1989). O amônio é adsorvido pelas cargas negativas do solo, enquanto o nitrato, na solução do solo, tem maior mobilidade, conseqüentemente, torna-se mais sujeito à perda por lixiviação (Raji, 1991).

Os fertilizantes nitrogenados apresentam alta resposta das plantas à adubação, pois, a maioria das plantas tem maior demanda de N em relação aos demais nutrientes. Proteínas, enzimas, aminoácidos e vitaminas têm o N na sua composição.

Alguns processos vitais têm a participação do N, como: fotossíntese, respiração, trocas iônicas e crescimento radicular (Malavolta, 2006).

A adubação com nitrogênio em pastagens é uma prática pouco adotada, apesar de várias pesquisas provarem a sua efetividade (Cassimiro *et al.*, 2023; Nilsson *et al.*, 2023).

Em áreas de alta produtividade, a aplicação de fertilizantes nitrogenados é fundamental, esse nutriente assume o papel de regulador da produtividade das gramíneas forrageiras (Corsi; Martha Junior, 1997). Assim, o aumento da disponibilidade de N para as plantas é uma alternativa eficaz para incrementar a produtividade de pasto, bem como o seu valor nutricional e, conseqüentemente, a produtividade animal (Delevatti *et al.*, 2019).

Várias fontes de nitrogênio estão disponíveis no mercado, cada uma com a sua peculiaridade. O menor custo do kg de N aplicado é apresentado pela ureia, a decisão pela sua aplicação deve ser orientada pelos fatores diversos que interferem na sua efetividade.

Quando a fonte de N é aplicada na pastagem, uma parcela é acumulada na parte aérea e raízes, parte fica no solo, outra parte fica imobilizada na palhada ou é perdida de alguma forma no sistema (Corsi; Martha Junior, 1997). As perdas mais comuns de N no solo são: por meio da erosão; por lixiviação; volatilização e pelo processo de desnitrificação.

Os processos de perda afetam a eficácia da adubação nitrogenada e resultam em perdas financeiras e ambientais. Em pastagens bem manejadas, as perdas por erosão e transporte superficial são menores, geralmente, não atingem 5 kg ha⁻¹ de N (Russelle, 1996).

A lixiviação do N proveniente dos fertilizantes pode chegar a 5% para camadas superiores a 30 cm (Martha Junior, 2003), porém, devido ao sistema radicular agressivo e profundo das gramíneas forrageiras, esse tipo de perda não é tão relevante para as pastagens tropicais. Em regiões de clima temperado, as perdas de N-NO₃⁻ (N-Nitrato) por lixiviação são preocupantes, pois, em solos mais rasos, pode ocorrer contaminação do lençol freático.

Na perda de N por volatilização, a amônia gasosa (NH₃) é transferida do solo para a atmosfera (Martha Junior, 2003). As perdas de N-NH₃ a partir de fertilizantes

amoniacaais aplicados em solos alcalinos são altas, podendo alcançar 40% do N-total (Whitehead; Raistrick, 1990).

A ureia é a principal fonte de N utilizada pelos agricultores, nesse caso, quando tal fertilizante é aplicado em superfície, ocorrem perdas entre 10 e 25% (PRIMAVESI *et al.*, 2001). Recentemente, Cassimiro *et al.* (2020) relataram perda, por volatilização de amônia, de 47% do N aplicado a lanço via ureia comum, os autores fizeram essa constatação em pastagem de *U. brizantha* cv. Marandu.

Temperaturas elevadas e ausência de chuvas logo após à adubação favorecem as perdas de N por volatilização, nessas condições e com alta evaporação da água presente no solo, as perdas de N proveniente da ureia aplicada podem chegar a 80% (Martha Junior, 1999). Assim, para minimizar as perdas, deve se usar a ureia quando se tem certeza da chuva ou em caso de irrigação logo após a aplicação desse fertilizante.

No processo de nitrificação, em meio aeróbico, ocorre a formação de nitrito e nitrato. A desnitrificação ocorre em meio anaeróbico, com a transformação de nitrito e nitrato em gás N₂ ou em óxidos de nitrogênio (Costa *et al.*, 2006). Solos com excesso de umidade e temperaturas altas são condições favoráveis à desnitrificação, tais condições são frequentes nas pastagens brasileiras durante o verão. A aplicação de doses altas de ureia na pastagem, seguida de ocorrência de chuva forte que venha a saturar a água no solo, cria uma condição de anaerobiose favorável à desnitrificação (Martha Junior *et al.*, 2004).

O gênero *Urochloa* é o mais cultivado no Brasil, ocupando maior parte das áreas de pastagens cultivadas. A tolerância à baixa fertilidade de solos é uma característica das braquiárias, porém respondem bem à aplicação de fertilizantes nitrogenados. A dose de N necessária varia em função de vários fatores, como: grau de tecnologia adotado pelo pecuarista; sistema de pastejo (contínuo ou rotativo); uso de irrigação; capacidade de resposta da espécie ou da cultivar. O uso de maior dose de N é necessário quando se deseja atingir maior taxa de lotação animal da pastagem.

Foi relatado por Cassimiro *et al.* (2020), aumento da produtividade de massa seca de forragem de *U. brizantha* cv. Marandu em resposta à aplicação de ureia em superfície, no período chuvoso, os autores observaram produtividade máxima sob a dose de 94 kg ha⁻¹ de N aplicado, tal adubação proporcionou aumento de 75% de massa seca da parte aérea em relação à ausência de adubação mineral.

Cultivares de *M. maximus* tem alto potencial produtivo, demonstrado em diversos estudos. Rosado *et al.*, (2016) observaram resposta linear do capim Mombaça à aplicação de N, em sistema irrigado, até a dose de 600 kg ha⁻¹ de N, os autores utilizaram diferentes fontes do mineral (nitrato de cálcio, sulfato de amônio e ureia) e não observaram diferenças entre elas.

Pastagens de *Cynodon dactylon* são bastante utilizadas em produção intensiva de leite a pasto, principalmente. Alvim *et al.* (1999) relataram, em estudo com grama Tifton 85, respostas crescentes a aplicação de N até a dose de 600 kg ha⁻¹ desse mineral, foram testados vários intervalos de cortes. Os autores constataram nesse estudo, um aumento na concentração de proteína bruta em resposta às maiores doses de N aplicadas.

Gramíneas de clima temperado são muito utilizadas em sistemas de produção intensiva de leite, principalmente no Sul do Brasil, no período de inverno. Na região sudeste, é crescente a prática de sobressemeadura de aveia e azevém em áreas de gramíneas tropicais irrigadas ou em projetos de integração lavoura-pecuária quando se dispõe de irrigação no período de outono-inverno.

Quando outros nutrientes estão disponíveis, as gramíneas de clima temperado respondem bem à adubação nitrogenada, conforme relatado por Alvim (1989), o autor constatou aumento de produtividade de aveia e azevém até a dose de 400 kg ha⁻¹ de N, entretanto, na dose de 100 kg ha⁻¹ de N, ocorreu maior recuperação do N aplicado.

2.6 ADUBAÇÃO NITROGENADA ASSOCIADA COM BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO

Em gramíneas, a fixação biológica de nitrogênio é capaz de contribuir com cerca de 40 kg ha⁻¹ de N (Okon; Labandera-Gonzales, 1994), essa quantidade pode atender a necessidade de sistemas com menor produtividade de pasto, com lotação inferior a uma unidade animal por hectare, com ausência de fertilizantes industrializados (Costa *et al.*, 2006).

A taxa de lotação desejada determina a quantidade de N a ser aplicada. Para braquiárias (*Urochloa sp.*) com taxa de lotação de 7 unidades animais ha⁻¹, seria necessária uma adubação superior a 300 kg ha⁻¹ ano⁻¹, de forma parcelada, no período chuvoso ou em sistemas irrigados com pequenas doses após cada pastejo (Costa *et al.*, 2006).

A FBN não atende a demanda de nitrogênio de sistemas mais intensivos, pois, as bactérias diazotróficas associativas excretam apenas parte do nitrogênio fixado diretamente para a planta a qual estão associadas (Hungria, 2011).

A inoculação com BPCV em associação à aplicação de fertilizante nitrogenado possibilita o aumento da eficiência do uso do N pela cultura. Rocha e Costa (2018) relataram incremento na produtividade de massa seca de forragem, aumento do perfilhamento e da razão lâmina foliar: pseudocolmo do capim *Urochloa brizantha* cv. Paiaguás que foi inoculado com *A. brasilense* Ab-V5 e Ab-V6 em associação a adubação com nitrogênio nas doses: 10; 25; 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N.

Foi observada por Leite *et al.* (2019), em um experimento a campo, uma redução de 20% na necessidade de aplicação de N em *Urochloa brizantha* cv. Marandu sob inoculação com *A. brasilense*. No mesmo estudo, os autores constataram maior altura das plantas e maior perfilhamento das plantas que receberam inoculação.

Um estudo robusto realizado por Duarte *et al.* (2020), mostrou que a inoculação de *Urochloa brizantha* cv. Paiaguás com duas cepas de *P. fluorescens* em associação à adubação com 100 kg ha⁻¹ de N, proporcionou uma maior taxa de alongamento das folhas do capim.

Aumento da produtividade de forragem, maior perfilhamento, maior acúmulo de N, aumento da concentração de proteína bruta e aumento da digestibilidade *in vitro* da matéria seca, além da redução dos teores de fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido foram relatados por Carvalho *et al.* (2020b) em *M. maximus* cv. BRS Zuri sob inoculação conjunta com *Rhizobium tropici* CIAT 899 + *A. brasilense* Ab-V6 em associação a uma adubação com 100 kg ha⁻¹ de N.

A inoculação com BPCV em associação a pequenas doses de N, é uma forma sustentável e de menor custo para incrementar a produtividade de pasto (Hungria *et al.*, 2016), além de possibilitar incremento do valor nutricional da forragem (Toniato *et al.*, 2018).

3 MATERIAL E MÉTODOS

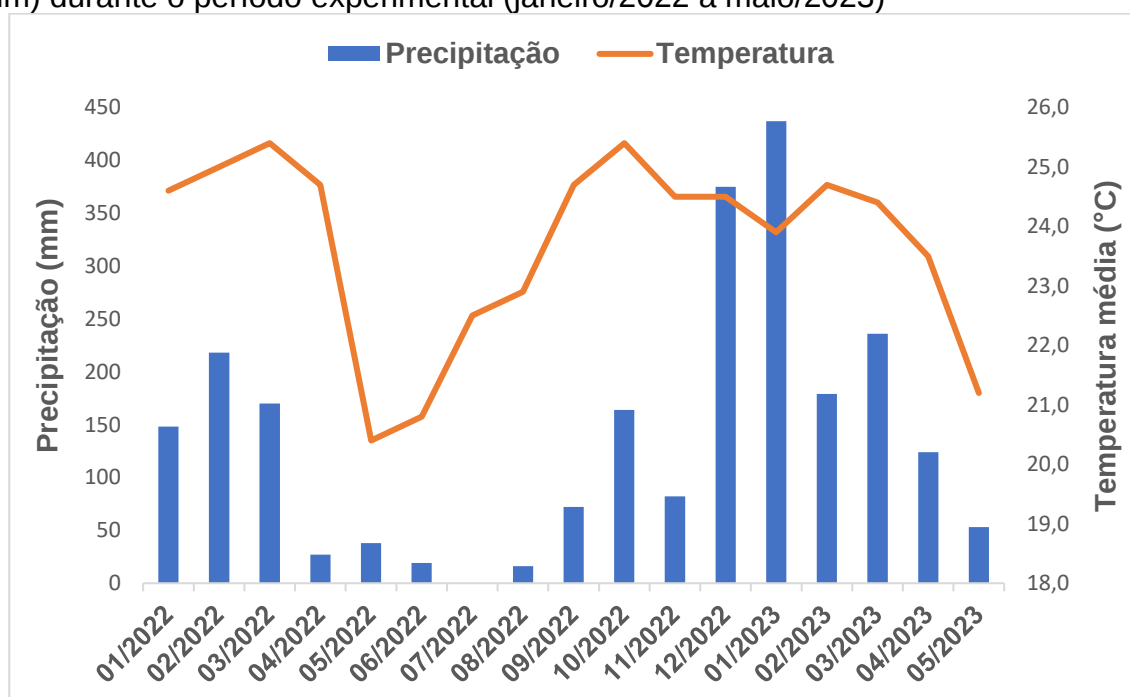
3.1 LOCALIZAÇÃO E DESCRIÇÃO DO EXPERIMENTO

Dois experimentos foram conduzidos a campo, cultivando-se separadamente os híbridos de capim braquiária (*U. ruziziensis* x *U. brizantha*) cv. Mulato II e cv. BRS RB331 Ipyporã em um Latossolo Vermelho distrófico (SANTOS *et al.*, 2018), fase cerrado, textura arenosa, na fazenda-escola Alípio Soares Barbosa, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), localizada em Iturama, Minas Gerais, Brasil, a 440 metros de altitude, latitude 19° 43' 47,48"S e longitude 50° 14' 01,47"O.

O clima local é definido como Aw, segundo a classificação de Köppen (Alvares *et al.*, 2013), caracterizado por uma temperatura média anual de 24,7 °C e precipitação média anual de 1378 mm. O período experimental foi de janeiro de 2022 a maio de 2023

Os dados de precipitação pluvial acumulada mensal e temperatura média são apresentados na Figura 1.

Figura 1 – Temperatura média mensal do ar (°C) e precipitação pluvial acumulada (mm) durante o período experimental (janeiro/2022 a maio/2023)



Fonte: elaborado pelo autor, dados do INMET (2024).

A área onde foram implantados os experimentos era uma pastagem degradada de capim Massai (*Megathyrus maximus*), formada há mais de 10 anos. Foi realizada

uma dessecação com glifosato, 20 dias antes do primeiro preparo do solo, na dose de 4,0 litros ha⁻¹.

Antes da semeadura, realizou-se a amostragem do solo nas profundidades de 0 a 0,20 m e de 0,20 a 0,40 m, sendo realizadas as determinações químicas, segundo metodologia de Raij *et al.* (2001): para P, K, Ca e Mg utilizando-se o método da resina trocadora de íons; pH em CaCl₂; matéria orgânica por colorimetria; H + Al com solução tampão SMP; Al em KCl, realizou-se também a análise de granulometria. Os resultados da análise de solo estão descritos na tabela 1.

O solo foi corrigido com calcário dolomítico com 90% de PRNT (Quaggio *et al.*, 1985) com o objetivo de elevar a saturação por bases para 70%, a aplicação de 1500 kg ha⁻¹ foi a lanço seguida de incorporação a 0,20 m utilizando arado de discos. Utilizou-se gesso agrícola com base no teor de argila do solo, a aplicação de 1000 kg ha⁻¹ foi a lanço sem incorporação ao solo e após aplicação do calcário.

Tabela 1 – Resultados das análises química e física do solo da área experimental

Análise	Unidade	Profundidade (m)		Análise	Unidade	Profundidade (m)	
	(cm)	0-0,20	0,20-0,40		(cm)	0-0,20	0,20-0,40
pH (CaCl ₂)		4,5	4,5	Cu	(mg dm ⁻³)	1,5	1,3
MO	(g dm ⁻³)	16	14	Fe	(mg dm ⁻³)	24	17
P (resina)	(mg dm ⁻³)	4	2	Zn	(mg dm ⁻³)	0,2	0,1
K	(mmol _c dm ⁻³)	1,4	0,8	Mn	(mg dm ⁻³)	3,6	1,3
Ca	(mmol _c dm ⁻³)	8	6	B	(mg dm ⁻³)	0,11	0,08
Mg	(mmol _c dm ⁻³)	4	3	Sat bases	(V%)	35	28
H + Al	(mmol _c dm ⁻³)	25	25	Sat Al	(m%)	18	23
Al	(mmol _c dm ⁻³)	3	3	Argila	(g kg ⁻¹)	165	168
SB	(mmol _c dm ⁻³)	13,4	9,8	Areia	(g kg ⁻¹)	805	769
CTC	(mmol _c dm ⁻³)	38,4	34,8	Silte	(g kg ⁻¹)	30	63
S	(mmol _c dm ⁻³)	4	3				

Fonte: elaborado pelo autor.

Antes da semeadura, aplicou-se, a lanço, 100 kg ha⁻¹ de P₂O₅ na forma de superfosfato simples, 60 kg ha⁻¹ de K₂O, na forma de cloreto de potássio e 3 kg de Zn na forma de sulfato de zinco. A adubação de formação da pastagem foi baseada nas

recomendações do Boletim 100 do Instituto Agrônomo de Campinas (Cantarella *et al.*, 2022).

Na data de 30/12/2021, realizou-se a semeadura dos dois híbridos, 30 dias após a calagem, precedida de gradagens para nivelamento e destorroamento do solo. As sementes apresentaram valor cultural de 75% e a taxa de semeadura foi de 12 kg ha⁻¹ de sementes comerciais. A semeadura foi realizada manualmente, em sulcos em linha, com 0,30 m de espaçamento, a uma profundidade de 2 cm.

No estabelecimento da pastagem, 35 dias após a semeadura, foi aplicado N, na forma de ureia (45% de N) em superfície, durante uma semana chuvosa, conforme a descrição dos tratamentos (tabela 2). As aplicações do fertilizante nitrogenado foram realizadas ao segundo dia após cada corte de avaliação, em cobertura, a lanço. Após o segundo corte, foi feita uma adubação com 60 kg ha⁻¹ de K₂O na forma de cloreto de potássio, sobre todas as parcelas.

O capim Ipyporã sofreu ataques de formigas cortadeiras e erosão superficial após uma forte chuva. Realizou-se controle das pragas e recomposição da população de plantas através de transplântio de mudas. Para a transplântio, foram utilizadas mudas a partir de touceiras divididas coletadas da própria parcela ou de outras parcelas (repetições) que receberam o mesmo tratamento. Após a recomposição do estande, foi realizado um corte de uniformização, em 01/11/2022, antes dos cortes de avaliação.

3.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E TRATAMENTOS

Os experimentos foram conduzidos em um delineamento de blocos casualizados, em arranjo fatorial 3 x 4 (3 níveis de adubação nitrogenada e 4 tipos de inoculação com BPCV), portanto, 12 tratamentos com 4 repetições. Os tratamentos incluíram três níveis de adubação nitrogenada, nas doses de 25, 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N, utilizando-se a ureia como fonte de N e quatro tipos de inoculações, a saber: controle (sem inoculação com bactéria); inoculação de *A. brasilense*; coinoculação de *A. brasilense* + *B. subtilis* e a coinoculação de *A. brasilense* + *P. fluorescens*, conforme apresentado na tabela 2.

As parcelas de 9 m² do experimento foram constituídas de 10 linhas de 3 metros de comprimento espaçadas em 0,3 metros, sendo as linhas centrais as áreas úteis das parcelas, onde foram realizadas as avaliações.

A inoculação e as coinoculações foram realizadas via semente. Para a inoculação foi utilizada a espécie *A. brasilense* estirpes Ab-V5 e Ab-V6, e para as coinoculações foram utilizadas *A. brasilense* em conjunto com as espécies de *B. subtilis*, estirpe CCT 1331 ou *P. fluorescens* estirpe CCTB 03, conforme os tratamentos descritos (tabela 2). As concentrações das três bactérias foram ajustadas para 2×10^8 UFC ml⁻¹, as doses utilizadas para os três inoculantes foram de 15 ml para cada kg de sementes.

A mistura entre os inoculantes e as sementes foi realizada manualmente, de forma que se separou a quantidade de sementes a ser usada em cada parcela dentro de um saco plástico, realizou-se a aplicação do(s) inoculante(s) em seguida fez-se a homogeneização, os sacos com as sementes inoculadas foram deixados em local fresco e protegido do sol por cerca de 30 minutos para secar, e em seguida realizou-se a semeadura manual das parcelas.

Tabela 2 – Descrição dos tratamentos aplicados nos dois experimentos com híbridos de capim braquiária (*U. ruziziensis* x *U. brizantha*) cv. Mulato II e cv. BRS RB331 Ipyporã

Tratamento	Descrição do tratamento
1	25 kg ha ⁻¹ de N + Ausência de inoculação
2	25 kg ha ⁻¹ de N + Inoculação com <i>A. brasilense</i> (Ab-V5 + Ab-V6)
3	25 kg ha ⁻¹ de N + Inoculação com <i>A. brasilense</i> (Ab-V5 + Ab-V6) + <i>P. fluorescens</i> CCTB 03
4	25 kg ha ⁻¹ de N + Inoculação com <i>A. brasilense</i> (Ab-V5 + Ab-V6) + <i>B. subtilis</i> CCT 1331
5	37,5 kg ha ⁻¹ de N + Ausência de inoculação
6	37,5 kg ha ⁻¹ de N + Inoculação com <i>A. brasilense</i> (Ab-V5 + Ab-V6)
7	37,5 kg ha ⁻¹ de N + Inoculação com <i>A. brasilense</i> (Ab-V5 + Ab-V6) + <i>P. fluorescens</i> CCTB 03
8	37,5 kg ha ⁻¹ de N + Inoculação com <i>A. brasilense</i> (Ab-V5 + Ab-V6) + <i>B. subtilis</i> CCT 1331
9	50 kg ha ⁻¹ de N + Ausência de inoculação
10	50 kg ha ⁻¹ de N + Inoculação com <i>A. brasilense</i> (Ab-V5 + Ab-V6)
11	50 kg ha ⁻¹ de N + Inoculação com <i>A. brasilense</i> (Ab-V5 + Ab-V6) + <i>P. fluorescens</i> CCTB 03
12	50 kg ha ⁻¹ de N + Inoculação com <i>A. brasilense</i> (Ab-V5 + Ab-V6) + <i>B. subtilis</i> CCT 1331

Fonte: elaborado pelo autor.

Nos tratamentos onde se fez a coinoculação, ou seja, inoculação com mais de uma espécie de bactéria, usou-se uma dose completa do inoculante de cada espécie. Os inoculantes foram doados pela Universidade Estadual Paulista (UNESP) - Campus de Ilha Solteira, SP e pela empresa de biotecnologia AMTEC.

3.3 AVALIAÇÃO DA PRODUTIVIDADE, CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS, CLOROFILA FOLIAR, PROTEÍNA BRUTA E ACÚMULO DE NUTRIENTES

Para determinação da produtividade de forragem e composição morfológica, foram realizados três cortes do capim Mulato II, nas datas: 11/03/2022; 22/07/2022 e 15/12/2023. No capim Ipyporã, os cortes de avaliação foram realizados nas datas: 21/12/2022; 24/02/2024 e 06/05/2024.

Antes do corte de cada capim, foram feitas medidas da altura de cinco plantas em cada parcela, com auxílio de régua. O índice de clorofila foliar (ICF) foi determinado de forma indireta, com uso de um clorofilômetro digital, Clorofilog, Modelo CFL 1030, as leituras foram realizadas em 5 lâminas das folhas recém expandidas, uma por planta, em cada parcela experimental, sempre no período da manhã.

A contagem do número de perfilhos vivos foi feita após o corte, realizou-se uma contagem por parcela, utilizando-se um anel plástico com área conhecida para conter o capim, então, contou-se manualmente o número de perfilhos dentro do anel, posteriormente, calculou-se o número de perfilhos por m².

Os cortes da parte aérea da forragem foram realizados manualmente quando a maioria das plantas apresentavam cinco folhas totalmente expandidas. O corte foi feito com cutelo, deixando um resíduo de 15 cm acima do solo, semelhantemente ao relatado por do Valle *et al.* (2017), Cabral *et al.* (2023) e Euclides *et al.* (2018).

Utilizou-se um quadrado de PVC com área de 0,25 m² para conter a forragem a ser cortada em cada parcela. Para avaliar a produtividade, utilizou-se um quadrado por parcela, por meio da forragem contida em seu interior, foi possível determinar a massa verde de forragem por área. Após o corte de avaliação na área de 0,25 m², toda a parcela foi roçada com roçadeira costal motorizada para uniformização da parcela, em seguida retirou-se o capim roçado com uso de rastelo.

A partir da forragem colhida em cada quadrado, após a pesagem, duas amostras do material foram tomadas, uma para a determinação da massa seca da forragem e outra para separação das frações lâmina foliar e pseudocolmo (colmo +

bainha) da gramínea, além de material morto e plantas invasoras. As amostras foram pesadas e secas em estufa de circulação forçada de ar a 65 °C até atingir massa constante, conforme descrição de Silva e Queiroz (2002).

Os valores de massa verde amostrados no campo foram convertidos para tonelada de massa seca de forragem por hectare e os componentes morfológicos expressos como razão da massa de forragem.

Após a secagem, o material foi moído em moinho tipo Willey para diagnose nutricional. Após moagem da amostra seca em estufa, foi determinada a concentração de N, P e K de acordo com Malavolta *et al.* (1997), no Laboratório de Nutrição de Plantas da UNESP de Ilha Solteira, SP. O teor de proteína bruta na parte aérea foi calculado multiplicando-se o teor de N-total por 6,25 (Silva; Queiroz, 2002).

Os acúmulos de N, P e K foram calculados multiplicando-se a concentração dos respectivos nutrientes pela quantidade de massa seca produzida em cada corte, e após agrupado, calculado o acúmulo total dos nutrientes.

3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram testados quanto à normalidade dos erros e homogeneidade de variâncias. Os resultados foram submetidos à análise de variância pelo teste F ($P < 0,05$) e comparados entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade, para isso, usou-se o programa de análise estatística *Speed Stat* (Carvalho; Mendes, 2020a).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 EXPERIMENTO 1: CAPIM *Urochloa* spp. cv. Mulato II

4.1.1 Índice de clorofila foliar (ICF)

No primeiro corte de avaliação (tabela 3), na dose de 25 kg ha⁻¹ de N, somente sob a inoculação com *A. brasilense*, observou-se maior ICF. Na dose de 37,5 kg ha⁻¹ de N, todas as inoculações promoveram aumento do ICF em relação à ausência de inoculação, porém, as plantas inoculadas com *A. brasilense* + *P. fluorescens* e *A. brasilense* + *B. subtilis* foram as que apresentaram maior ICF. Contudo, na dose de 50 kg ha⁻¹ de N, *A. brasilense* + *P. fluorescens* resultou em menor ICF.

Tabela 3 – Índice de clorofila foliar (ICF) no capim Mulato II, no primeiro corte, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 30/12/2021 a 11/03/2022, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* AB-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N

Inoculação	Doses de N (kg ha ⁻¹)		
	25	37,5	50
Ausência	20,4 Bb	17,6 Bc	25,0 Aa
<i>A. brasilense</i>	25,1 Aa	22,8 Ab	24,8 Aa
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	23,8 Bab	27,8 Aa	19,9 Cb
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	23,6 Bab	29,0 Aa	27,6 Aa
p-valor (Dose)	0,2778 ^{ns}		
p-valor (Inoculação)	< 0,0001		
p-valor (Interação)	< 0,0001		
C. V. (%)	8,93		

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. ^{ns} = não significativo.

No segundo corte (tabela 4), ocorrido na estação da seca, na dose de 25 kg ha⁻¹ de N, as plantas com ausência de inoculação apresentaram menor ICF que as demais, porém entre as plantas inoculadas, não se observou diferença significativa do ICF. Tanto na dose de 37,5 kg ha⁻¹ de N quanto na dose de 50 kg ha⁻¹ de N, não houve diferença significativa do ICF das plantas. Sob inoculação com *A. brasilense* e *A. brasilense* + *B. subtilis*, o ICF foi maior quando se utilizou a menor dose de N.

Tabela 4 – Índice de clorofila foliar (ICF) no capim Mulato II, no segundo corte, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 11/03/2022 a 22/07/2022, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* AB-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N

Inoculação	Doses de N (kg ha ⁻¹)		
	25	37,5	50
Ausência	27,7 Bb	31,0 Aa	29,4 ABa
<i>A. brasilense</i>	33,0 Aa	30,1 Ba	30,1 Ba
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	32,3 Aa	32,3 Aa	31,4 Aa
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	33,3 Aa	30,5 Ba	29,8 Ba
p-valor (Dose)	< 0,0001		
p-valor (Inoculação)	< 0,0001		
p-valor (Interação)	< 0,0001		
C. V. (%)	3,96		

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

No terceiro corte de avaliação (tabela 5), na dose de 25 kg ha⁻¹ de N, as plantas não inoculadas com BPCV apresentaram menor ICF que as inoculadas, porém, estas proporcionaram ICF semelhante entre si. Sob a dose de 37,5 kg ha⁻¹ de N, as plantas inoculadas com *A. brasilense* + *P. fluorescens* resultaram em menor ICF. Na ausência de inoculação, o ICF aumentou à medida que se aumentou a dose de N, enquanto sob inoculação, não se observou esse comportamento do ICF.

Tabela 5 – Índice de clorofila foliar (ICF) no capim Mulato II, no terceiro corte, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 22/07/2022 a 15/12/2022, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* AB-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N

Inoculação	Doses de N (kg ha ⁻¹)		
	25	37,5	50
Ausência	32,8 Cb	36,59 Ba	38,4 Aa
<i>A. brasilense</i>	37,2 Aa	37,28 Aa	37,0 Aab
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	36,8 Aa	33,79 Bb	38,2 Aab
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	37,1 Aa	37,33 Aa	36,5 Ab
p-valor (Dose)	< 0,0001		
p-valor (Inoculação)	0,0077		
p-valor (Interação)	< 0,0001		
C. V. (%)	2,59		

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Em trabalho realizado com *U. brizantha* cv. Paiaguás, Rocha e Costa (2018) observaram maior ICF quando se adotou a inoculação com *A. brasilense* Ab-V5 + Ab-V6 combinada com a dose de 50 kg ha⁻¹ de N. Carvalho *et al.* (2020b) relataram aumento do ICF em capim *M. maximus* cv. Zuri somente no primeiro corte, de um total de 8 avaliações, os autores utilizaram inoculação com *A. brasilense* Ab-V5 + Ab-V6 e *P. fluorescens* CCTB 03, separadamente, combinadas ou não com doses de N.

O ICF está diretamente relacionado ao conteúdo de N nas folhas, pois, a molécula de clorofila tem esse nutriente como o seu principal constituinte. Provavelmente, o maior crescimento radicular proporcionado pelas BPCV e o suprimento adicional de N através de *A. brasilense*, favoreceu o aumento do ICF quando a associação dessa bactéria ocorreu sob a menor dose de N.

4.1.2 Altura das plantas

No primeiro corte de avaliação (tabela 6), na dose de 25 kg ha⁻¹ de N, a inoculação com *A. brasilense* proporcionou aumento de 47,7% na altura das plantas, em comparação com a ausência de inoculação, enquanto as demais inoculações resultaram em alturas semelhantes entre si sem diferir das plantas não inoculadas.

Tabela 6 – Altura das plantas de capim Mulato II (cm), no primeiro corte, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 30/12/2021 a 11/03/2022, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* AB-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N

Inoculação	Doses de N (kg ha ⁻¹)		
	25	37,5	50
Ausência	60,8 Bb	70,5 ABb	81,3 Aa
<i>A. brasilense</i>	89,8 Aa	63,9 Bb	75,5 Ba
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	66,7 Bb	86,7 Aa	84,8 Aa
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	61,7 Bb	73,2 ABab	78,4 Aa
p-valor (Dose)	0,0027		
p-valor (Inoculação)	0,0267		
p-valor (Interação)	< 0,0001		
C. V. (%)	10,43		

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Na dose de 37,5 kg ha⁻¹ de N, no primeiro corte, a inoculação com *A. brasilense* + *P. fluorescens* resultou em altura semelhante ao obtido com *A. brasilense* + *B. subtilis*, mas superior aos demais tratamentos. Na dose de 50 kg ha⁻¹ de N, as inoculações estudadas não interferiram estatisticamente na altura das plantas.

Os resultados do primeiro corte concordam com relatos de Leite *et al.* (2018), os autores observaram aumento da altura das plantas de *U. brizantha* cv. Marandu sob inoculação com *A. brasilense* e adubação nitrogenada.

No segundo corte (tabela 7), a ausência de inoculação associada a dose de 25 kg ha⁻¹ de N promoveu menor altura das plantas, nas demais inoculações, sob as diferentes doses de N, não se observou diferença significativa na altura das plantas. A avaliação ocorreu na seca, no período de outono-inverno, com baixas temperaturas e fotoperíodo menor, daí a dificuldade das bactérias e da adubação nitrogenada em expressar seus benefícios no crescimento das plantas.

Tabela 7 – Altura das plantas de capim Mulato II (cm), no segundo corte, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 11/03/2022 a 22/07/2022, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* AB-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N

Inoculação	Doses de N (kg ha ⁻¹)		
	25	37,5	50
Ausência	34,4 Ba	40,5 Aa	41,3 Aa
<i>A. brasilense</i>	37,2 Aa	36,7 Aa	38,1 Aa
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	36,3 Aa	38,2 Aa	37,1 Aa
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	38,3 Aa	37,7 Aa	41,6 Aa
p-valor (Dose)	0,0025		
p-valor (Inoculação)	0,0878 ^{ns}		
p-valor (Interação)	0,0188		
C. V. (%)	5,82		

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. ^{ns} = não significativo.

No terceiro corte de avaliação (tabela 8), na dose de 25 kg ha⁻¹ de N, a maior altura de plantas foi observada com *A. brasilense*, enquanto a menor altura ocorreu nas plantas que não receberam inoculação alguma, contudo, as inoculações com *A. brasilense* + *P. fluorescens* e *A. brasilense* + *B. subtilis* proporcionaram alturas de plantas estatisticamente semelhantes entre si.

Tabela 8 – Altura das plantas de capim Mulato II (cm), no terceiro corte, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 22/07/2022 a 15/12/2022, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* AB-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N

Inoculação	Doses de N (kg ha ⁻¹)		
	25	37,5	50
Ausência	57,0 Bc	58,8 Bb	72,9 Aab
<i>A. brasilense</i>	75,1 Aa	61,7 Cb	67,3 Bb
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	64,1 Bb	72,1 Aa	76,4 Aa
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	68,4 Bb	68,6 Ba	75,9 Aa
p-valor (Dose)	< 0,0001		
p-valor (Inoculação)	< 0,0001		
p-valor (Interação)	< 0,0001		
C. V. (%)	4,75		

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Na dose de 37,5 kg ha⁻¹ de N, a inoculação com *A. brasilense* não diferiu do obtido na ausência de inoculação, enquanto as inoculações com *A. brasilense* + *P. fluorescens* e *A. brasilense* + *B. subtilis* foram igualmente superiores as demais. Na dose de 50 kg ha⁻¹ de N, a inoculação com *A. brasilense* resultou em altura semelhante ao obtido na ausência de inoculação, porém, inferior ao obtido com as inoculações com *A. brasilense* + *P. fluorescens* e *A. brasilense* + *B. subtilis*.

Na dose de 50 kg ha⁻¹ de N, a inoculação com *A. brasilense* + *P. fluorescens* resultou em altura semelhante ao obtido com *A. brasilense* + *B. subtilis*, mas superior aos demais tratamentos. Portanto, nessa dose, as inoculações estudadas não promoveram incremento na altura das plantas.

Os resultados do primeiro corte concordam com Leite *et al.* (2018), os autores observaram aumento da altura das plantas de *U. brizantha* cv. Marandu sob inoculação com *A. brasilense* e adubação nitrogenada. Sabe-se que a adubação nitrogenada promove o alongamento do colmo, consequentemente o aumento da altura.

O aumento da altura das plantas inoculadas com *A. brasilense* na dose de 25 kg ha⁻¹ de N foi relatado por Rocha e Costa (2018) em *Urochloa brizantha* cv. Paiaçuás, enquanto Picazevicz *et al.* (2017) observaram maior altura em *M. maximus* cv. Mombaça sob essa inoculação, porém na ausência de adubação nitrogenada.

4.1.3 Densidade de perfilhos

Sob a dose de 25 kg ha⁻¹ de N, a densidade de perfilhos no primeiro corte (tabela 9), foi 32,8% superior à ausência de inoculação quando se inoculou as plantas com *A. brasilense* + *B. subtilis*, as demais inoculações não promoveram aumento do perfilhamento. Nas doses de 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N, as inoculações não incrementaram o perfilhamento, observou-se, inclusive, uma redução da densidade de perfilhos sob as inoculações com *A. brasilense* e *A. brasilense* + *B. subtilis* na maior dose de N aplicada.

Tabela 9 – Densidade de perfilhos (número/m²) de capim Mulato II, no primeiro corte, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 30/12/2021 a 11/03/2022, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* AB-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N

Inoculação	Doses de N (kg ha ⁻¹)		
	25	37,5	50
Ausência	833 Bb	1066 Ba	1313 Aa
<i>A. brasilense</i>	773 Bb	1273 Aa	1152 Aab
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	980 Aab	1111 Aa	1202 Aa
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	1106 ABa	1162 Aa	904 Bb
p-valor (Dose)	< 0,0001		
p-valor (Inoculação)	0,9064 ^{ns}		
p-valor (Interação)	0,0003		
C. V. (%)	13,13		

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. ^{ns} = não significativo.

No segundo corte (tabela 10), não houve interação entre doses de N e inoculação. O perfilhamento não foi influenciado pela dose de N. O uso de BPCV não incrementou o perfilhamento em comparação à ausência de inoculação. A inoculação com *A. brasilense* + *P. fluorescens* promoveu maior perfilhamento que o obtido sob a inoculação com *A. brasilense* + *B. subtilis*, mas não diferiu dos demais tratamentos.

O déficit hídrico (figura 1), provavelmente, dificultou a expressão dos benefícios da adubação nitrogenada, bem como das BPCV. O surgimento de novos perfilhos é estimulado por uma boa nutrição nitrogenada, assim, repor perfilhos mortos em períodos de estresse, contribui com a perenidade da pastagem.

Concordando com o ocorrido aqui no segundo corte, Heinrichs *et al.* (2020) não observaram aumento do perfilhamento em *U. brizantha* cv. Marandu sob diversas doses de N combinadas com inoculação com *A. brasilense*.

Tabela 10 – Densidade de perfilhos (número/m²) de capim Mulato II, no segundo corte, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 11/03/2022 a 22/07/2022, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* AB-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N

Inoculação	Doses de N (kg ha ⁻¹)			Média (fator inoculação)
	25	37,5	50	
Ausência	1172	1455	1308	1312 ab
<i>A. brasilense</i>	1283	1444	1303	1343 ab
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	1490	1293	1475	1419 a
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	1162	1116	1318	1199 b
Média (fator dose)	1277 A	1327 A	1351 A	
p-valor (Dose)	0,4473 ns			
p-valor (Inoculação)	0,0229			
p-valor (Interação)	0,0714 ns			
C. V. (%)	12,94			

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. ns = não significativo.

No terceiro corte (tabela 11), não houve interação entre dose de N e inoculação. Os níveis de N testados não interferiram no perfilhamento.

Tabela 11 – Densidade de perfilhos (número/m²) de capim Mulato II, no terceiro corte, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 22/07/2022 a 15/12/2022, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* AB-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N

Inoculação	Doses de N (kg ha ⁻¹)			Média (fator inoculação)
	25	37,5	50	
Ausência	1488	1454	1345	1429 b
<i>A. brasilense</i>	1764	1648	1833	1749 a
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	1475	1594	1695	1588 ab
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	1520	1552	1734	1602 ab
Média (fator dose)	1562 A	1562 A	1652 A	
p-valor (Dose)	0,3120 ns			
p-valor (Inoculação)	0,0026			
p-valor (Interação)	0,3913 ns			
C. V. (%)	12,23			

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. ns = não significativo.

A inoculação com *A. brasilense*, no terceiro corte, incrementou o perfilhamento do capim Mulato II em 22,4% em relação à ausência de inoculação, enquanto as demais inoculações não diferiram estatisticamente da ausência de inoculação.

Quanto ao aumento do perfilhamento, Leite *et al.* (2018) relataram incremento em *U. brizantha* cv. Marandu, sob inoculação com *A. brasilense* em diferentes doses de N independentemente da estação do ano, no presente estudo, essa inoculação não se mostrou superior, embora tenha sido numericamente maior.

A participação do nitrogênio no processo de perfilhamento e enraizamento é bastante conhecida, esse nutriente é fundamental no crescimento dos tecidos vegetais, pois, faz parte de aminoácidos, proteínas e enzimas indispensáveis nos processos bioquímicos envolvidos na divisão celular.

4.1.4 Razão lâmina foliar: pseudocolmo

No primeiro corte (tabela 12), na dose de 25 kg ha⁻¹ de N, a inoculação com *A. brasilense* + *B. subtilis* proporcionou maior razão lâmina foliar: pseudocolmo, as médias dos demais tratamentos não diferiram entre si.

Tabela 12 – Razão lâmina foliar: pseudocolmo do capim Mulato II, no primeiro corte, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 30/12/2021 a 11/03/2022, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* AB-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N

Inoculação	Doses de N (kg ha ⁻¹)		
	25	37,5	50
Ausência	1,85 Ab	2,12 Aa	2,17 Aa
<i>A. brasilense</i>	1,39 Ab	1,66 Aab	1,86 Aa
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	1,58 Ab	1,27 Ab	1,90 Aa
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	2,83 Aa	2,08 Ba	1,60 Ba
p-valor (Dose)	0,6434 ^{ns}		
p-valor (Inoculação)	0,0017		
p-valor (Interação)	0,0021		
C. V. (%)	21,79		

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. ^{ns} = não significativo.

Na dose de 37,5 kg ha⁻¹ de N, no primeiro corte, *A. brasilense* + *P. fluorescens* resultou em redução dessa relação, mas não diferiu da inoculação com *A. brasilense*.

Na dose de 50 kg ha⁻¹ de N, não houve efeito significativo da inoculação com BPCV sobre a razão foliar: pseudocolmo.

No segundo corte (tabela 13), sob a dose de 25 kg ha⁻¹ de N, a inoculação com *A. brasilense* promoveu aumento da razão lâmina foliar: pseudocolmo, resultando em valor maior que o observado sob as maiores doses de N. As médias dos demais tratamentos não diferiram entre si. Sob a dose de 37,5 kg ha⁻¹ de N, as inoculações com *A. brasilense* + *P. fluorescens* e *A. brasilense* + *B. subtilis* resultaram em aumento da razão lâmina foliar: pseudocolmo, em comparação com as plantas não inoculadas, mas não diferiram das inoculadas com *A. brasilense*. Na dose de 50 kg ha⁻¹ de N, não se observou efeito das BPCV sobre a razão foliar: pseudocolmo.

Tabela 13 – Razão lâmina foliar: pseudocolmo do capim Mulato II, no segundo corte, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 11/03/2022 a 22/07/2022, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* AB-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N

Inoculação	Doses de N (kg ha ⁻¹)		
	25	37,5	50
Ausência	3,45 Ab	3,68 Ab	4,37 Aa
<i>A. brasilense</i>	6,27 Aa	4,47 Bab	3,85 Ba
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	4,07 Ab	5,39 Aa	4,17 Aa
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	3,90 Bb	5,87 Aa	3,94 Ba
p-valor (Dose)	0,0356		
p-valor (Inoculação)	0,0238		
p-valor (Interação)	0,0002		
C. V. (%)	17,98		

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Apesar de não ocorrer aumento de produtividade da parte aérea, nesta avaliação, realizada no período de estiagem (figura 1), possivelmente a qualidade da forragem foi incrementada pela inoculação com *A. brasilense* sob a menor dose de N, isso possibilita um melhor desempenho do animal, pois, a lâmina foliar apresenta um maior valor nutricional e uma maior digestibilidade que os demais componentes morfológicos da planta.

No terceiro corte (tabela 14), o uso de BPCV, sob diferentes doses de N, não aumentou a razão lâmina foliar: pseudocolmo em relação as plantas não inoculadas. Sob a dose de 37,5 kg ha⁻¹ de N, a inoculação com *A. brasilense* + *B. subtilis* resultou

em menor razão lâmina foliar: pseudocolmo que as demais, mas não diferiu estatisticamente do observado na ausência de inoculação.

O efeito de *P. fluorescens* CCTB 03 sobre a morfologia das plantas de *U. Brizantha* cv. Xaraés foi observado por Duarte *et al.* (2020), os autores realizaram inoculação singular com tal bactéria e relataram que esta provocou alongação de folhas e caules das plantas cultivadas em vasos.

A lâmina foliar tem maior valor nutricional para o animal, sabe-se que o N estimula o crescimento da lâmina foliar, mas também pode estimular o alongamento do colmo.

Tabela 14 – Razão lâmina foliar: pseudocolmo do capim Mulato II, no terceiro corte, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 22/07/2022 a 15/12/2022, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* AB-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N

Inoculação	Doses de N (kg ha ⁻¹)		
	25	37,5	50
Ausência	2,81 ABa	3,44 Aab	2,42 Ba
<i>A. brasilense</i>	2,99 Ba	3,86 Aa	2,47 Ba
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	3,60 Aa	4,31 Aa	2,26 Ba
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	2,85 Aa	2,66 Ab	3,07 Aa
p-valor (Dose)	< 0,0001		
p-valor (Inoculação)	0,0458		
p-valor (Interação)	0,0015		
C. V. (%)	16,15		

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Ficou evidenciado que a inoculação com as BPCV contribuiu para o aumento da razão lâmina foliar: pseudocolmo, do híbrido Mulato II, exceto na dose de 50 kg ha⁻¹ de N, tal benefício do uso dessas bactérias na melhoria da qualidade da forragem foi relatado por Rocha e Costa (2018) em capim Paiaguás sob diferentes doses de N. Quanto maior a razão lâmina foliar: pseudocolmo, maior a possibilidade de oferecer aos animais uma forragem de maior valor nutricional.

4.1.5 Teor de proteína bruta na parte aérea

No primeiro corte (tabela 15), na dose de 25 kg ha⁻¹ de N, a inoculação com *A. brasilense* resultou em menor teor de proteína na parte aérea em comparação com o

obtido nas demais inoculações e na ausência de inoculação, provavelmente devido à diluição do teor de N nos tecidos vegetais, pois essa inoculação proporcionou maior produtividade de massa seca da parte aérea (tabela 25). Na dose de 37,5 kg ha⁻¹ de N, não houve diferença significativa entre as diferentes inoculações e em relação ao tratamento controle. Sob a dose de 50 kg ha⁻¹ de N, a coinoculação de *A. brasilense* + *P. fluorescens* resultou em menor teor de proteína bruta que na ausência de inoculação.

Tabela 15 – Proteína bruta (%) da parte aérea do capim Mulato II, no primeiro corte, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 30/12/2021 a 11/03/2022, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* AB-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N

Inoculação	Doses de N (kg ha ⁻¹)		
	25	37,5	50
Ausência	15,13 Aa	14,26 Aa	14,76 Aa
<i>A. brasilense</i>	12,56 Ab	13,78 Aa	13,78 Aab
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	14,48 Aa	12,86 ABa	12,50 Bb
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	14,53 Aa	14,69 Aa	13,83 Aab
p-valor (Dose)	0,4183 ns		
p-valor (Inoculação)	0,0015		
p-valor (Interação)	0,0390		
C. V. (%)	6,97		

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. ns = não significativo.

No segundo corte (tabela 16), nas doses de 25 e 50 kg ha⁻¹ de N, nenhuma inoculação interferiu no teor de proteína bruta da parte aérea.

Sob 37,5 kg ha⁻¹ de N, no primeiro corte, a inoculação com *A. brasilense* resultou em menor teor de proteína na parte aérea em comparação com o obtido na ausência de inoculação.

O segundo ciclo de crescimento do capim foi marcado pela baixa pluviosidade, isso comprometeu o desenvolvimento das plantas e a expressão dos benefícios das bactérias benéficas utilizadas, bem como a absorção de nutrientes, principalmente o N que é o responsável por incrementar a concentração de proteína bruta da parte aérea.

Tabela 16 – Proteína bruta (%) da parte aérea do capim Mulato II, no segundo corte, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 11/03/2022 a 22/07/2022, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* AB-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N

Inoculação	Doses de N (kg ha ⁻¹)		
	25	37,5	50
Ausência	7,03 Aa	7,50 Aa	6,94 Aa
<i>A. brasilense</i>	7,07 ABa	6,37 Bb	7,58 Aa
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	6,43 Ba	7,06 ABab	7,26 Aa
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	6,83 Aa	6,64 Aab	6,78 Aa
p-valor (Dose)		0,1514 ns	
p-valor (Inoculação)		0,1902 ns	
p-valor (Interação)		0,0078	
C. V. (%)		6,52	

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. ns = não significativo.

No terceiro corte (tabela 17), nenhuma inoculação interferiu no teor de proteína bruta da parte aérea em nenhuma das doses de N estudadas.

Tabela 17 – Proteína bruta (%) da parte aérea do capim Mulato II, no terceiro, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 22/07/2022 a 15/12/2022, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* AB-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N

Inoculação	Doses de N (kg ha ⁻¹)			Média (fator inoculação)
	25	37,5	50	
Ausência	6,78	7,57	6,87	7,07 a
<i>A. brasilense</i>	7,03	8,02	7,00	7,35 a
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	7,07	6,97	6,87	6,97 a
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	7,61	6,74	6,55	6,97 a
Média (fator dose)	7,12 A	7,32 A	6,82 A	
p-valor (Dose)		0,2751 ns		
p-valor (Inoculação)		0,6782 ns		
p-valor (Interação)		0,4136 ns		
C. V. (%)		12,33		

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. ns = não significativo.

Os resultados observados no terceiro corte contrariam os relatos de Duarte *et al.* (2021) no híbrido de *Urochloa* spp. cv. Mavuno, os autores observaram que tanto *A. brasilense* como *P. fluorescens* quando em inoculação singular em associação a adubação nitrogenada, incrementaram o teor de proteína bruta da parte aérea. A baixa

pluviosidade (figura 1) na fase inicial desse ciclo de avaliação pode ter comprometido a resposta das plantas às inoculações e à adubação nitrogenada.

4.1.6 Acúmulo de N na parte aérea

Nas doses de 25 e 50 kg ha⁻¹ de N, não houve diferença significativa do acúmulo anual de N (tabela 18), quando se somou os resultados dos três cortes, enquanto na dose de 37,5 kg ha⁻¹ de N, a inoculação com *A. brasilense* + *P. fluorescens* promoveu incremento de N, sendo 63,8% superior ao obtido na ausência de inoculação.

O maior acúmulo de N coincide com a maior produtividade total de massa seca obtida (tabela 28), evidenciando a importância da absorção desse nutriente na produção de biomassa.

Carvalho *et al.* (2020b) constataram maior acúmulo de N na parte aérea de capim Zuri, tanto em plantas inoculadas singularmente com *P. fluorescens* CCTB 03 quanto em plantas inoculadas com *A. brasilense* AB-V5 e Ab-V6, ambas em associação a doses de N-mineral. O maior acúmulo de N nas plantas inoculadas pode ser explicado pelo aumento da absorção de N advindo do provável aumento do sistema radicular estimulado pelos fito-hormônios produzidos por essas duas BPCV e pela fixação de N promovida por *A. brasilense*.

Tabela 18 – Acúmulo total de N (kg ha⁻¹) na parte aérea de capim Mulato II em três cortes, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 30/12/2021 a 15/12/2022, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* AB-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N

Inoculação	Doses de N (kg ha ⁻¹)		
	25	37,5	50
Ausência	185,8 ABa	177,8 Bb	241,4 Aa
<i>A. brasilense</i>	232,8 ABa	216,7 Bb	276,6 Aa
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	184,4 Ba	291,2 Aa	225,7 Ba
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	176,4 Ba	211,4 Bb	284,5 Aa
p-valor (Dose)	0,0001		
p-valor (Inoculação)	0,0384		
p-valor (Interação)	0,002		
C. V. (%)	12,73		

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

4.1.7 Acúmulo de P na parte aérea

No primeiro corte (tabela 19), na dose de 25 kg ha⁻¹ de N, a inoculação com *A. brasilense* e a inoculação com *A. brasilense* + *B. subtilis* promoveram aumento do acúmulo de P na parte aérea, porém não diferiram entre si, enquanto a inoculação com *A. brasilense* + *P. fluorescens* foi semelhante à ausência de inoculação. Na dose de 37,5 kg ha⁻¹ de N, o maior acúmulo de P foi observado sob a inoculação com *A. brasilense* + *P. fluorescens*, sendo 92,9% superior à ausência de inoculação, enquanto a inoculação com *A. brasilense* foi 33,9% superior e a inoculação com *A. brasilense* + *B. subtilis* não diferiu da ausência de inoculação. Na dose de 50 kg ha⁻¹ de N, o maior incremento do acúmulo de P foi observado sob a inoculação com *A. brasilense* + *B. subtilis*, seguida da inoculação com *A. brasilense* + *P. fluorescens*, esta foi superior à ausência de inoculação, porém equivalente à inoculação com *A. brasilense* que, por sua vez não diferiu do controle.

Tabela 19 – Acúmulo de fósforo (kg ha⁻¹) na parte aérea do capim Mulato II, no primeiro corte, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 30/12/2021 a 11/03/2022, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* AB-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N

Inoculação	Doses de N (kg ha ⁻¹)		
	25	37,5	50
Ausência	7,00 Bb	9,43 Ac	9,89 Ac
<i>A. brasilense</i>	12,33 Aa	12,63 Ab	10,20 Bbc
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	8,23 Cb	18,19 Aa	11,60 Bb
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	11,47 Ba	10,30 Bc	14,80 Aa
p-valor (Dose)	< 0.001		
p-valor (Inoculação)	< 0.001		
p-valor (Interação)	< 0.001		
C. V. (%)	7,9		

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Além do benefício da promoção do crescimento pela produção de fito-hormônios, essas bactérias são citadas (ANDRADE *et al.*, 2019) como solubilizadoras de fosfatos, assim, contribuem para maior disponibilização desse importante mineral para as plantas.

No segundo corte (tabela 20), na dose de 25 kg ha⁻¹ de N, a inoculação com *A. brasilense* resultou em acúmulo de P semelhante ao obtido na ausência de inoculação, enquanto as demais inoculações resultaram em valores inferiores.

Na dose de 37,5 kg ha⁻¹ de N, no segundo corte, a inoculação com *A. brasilense* proporcionou maior acúmulo de P, seguida da inoculação com *A. brasilense* + *P. fluorescens*, enquanto a inoculação com *A. brasilense* + *B. subtilis* não diferiu da ausência de inoculação.

Sob a dose de 50 kg ha⁻¹ de N, no segundo corte, a inoculação com *A. brasilense* + *P. fluorescens*, resultou em menor acúmulo de P, as demais não diferiram da ausência de inoculação.

Tabela 20 – Acúmulo de fósforo (kg ha⁻¹) na parte aérea do capim Mulato II, no segundo corte, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 11/03/2022 a 22/07/2022, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* AB-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N

Inoculação	Doses de N (kg ha ⁻¹)		
	25	37,5	50
Ausência	3,50 Aa	2,94 Bc	3,68 Aa
<i>A. brasilense</i>	3,38 Ba	4,40 Aa	3,63 Ba
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	2,89 Bb	3,97 Ab	2,72 Bb
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	2,76 Bb	3,33 Ac	3,53 Aa
p-valor (Dose)	< 0.001		
p-valor (Inoculação)	< 0.001		
p-valor (Interação)	< 0.001		
C. V. (%)	6,52		

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade de erro.

No terceiro corte (tabela 21), na dose de 25 kg ha⁻¹ de N, a inoculação mais promissora foi com *A. brasilense*, que resultou em um incremento de 63,8% do acúmulo de P, em comparação com a ausência de inoculação, enquanto a inoculação com *A. brasilense* + *P. fluorescens* promoveu menor acúmulo de P.

Na dose de 37,5 kg ha⁻¹ de N, no terceiro corte, *A. brasilense* + *P. fluorescens* proporcionou incremento de 43,8% em relação à ausência de inoculação, enquanto as demais inoculação não diferiram entre si ou do controle. Na dose de 50 kg ha⁻¹ de N, as inoculações com *A. brasilense* + *P. fluorescens* e *A. brasilense* + *B. subtilis*

contribuíram para o incremento de P, enquanto as demais não interferiram no acúmulo desse mineral.

Tabela 21 – Acúmulo de fósforo (kg ha^{-1}) na parte aérea do capim Mulato II, no terceiro, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 22/07/2022 a 15/12/2022, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* AB-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha^{-1} de N

Inoculação	Doses de N (kg ha^{-1})		
	25	37,5	50
Ausência	5,78 Ab	6,17 Ab	5,53 Ab
<i>A. brasilense</i>	9,47 Aa	6,70 Bb	5,14 Cb
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	4,93 Cc	8,87 Aa	7,33 Ba
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	6,47 Ab	5,89 Ab	6,61 Aa
p-valor (Dose)	< 0.001		
p-valor (Inoculação)	< 0.001		
p-valor (Interação)	< 0.001		
C. V. (%)	6,59		

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

O efeito benéfico da inoculação singular com *P. fluorescens*, foi relatado por Rosa *et al.* (2020) que relataram aumento da concentração de P em folhas de cana-de-açúcar sob inoculação com a mesma cepa testada aqui.

Pseudomonas são capazes de solubilizar fosfato tricálcico (Dey *et al.*, 2004), essa característica pode explicar o maior acúmulo de P observado sob a inoculação com essa bactéria nas doses de 37,5 e 50 kg ha^{-1} de N, no terceiro corte. No mesmo sentido, Alishahi *et al.* (2013) relatam a identificação de várias cepas de *P. fluorescens* solubilizadoras de fosfato encontradas no irã.

4.1.8 Acúmulo de K na parte aérea

No primeiro corte (tabela 22), na dose de 25 kg ha^{-1} de N, a inoculação com *A. brasilense* foi a mais promissora, resultando num incremento de 211,8% no acúmulo de K, as demais inoculações também promoveram aumento do acúmulo de K em relação à ausência de inoculação.

Sob a dose de 37,5 kg ha^{-1} de N, no primeiro corte, todas as inoculações resultaram em aumento do acúmulo de K, com destaque para *A. brasilense* + *P. fluorescens* que superou as demais, sendo 178,5% superior ao observado na ausência de inoculação.

Tabela 22 – Acúmulo de potássio (kg ha⁻¹) na parte aérea do capim Mulato II, no primeiro corte, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 30/12/2021 a 11/03/2022, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* AB-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N

Inoculação	Doses de N (kg ha ⁻¹)		
	25	37,5	50
Ausência	98,53 Bc	153,23 Ac	153,21 Ac
<i>A. brasilense</i>	208,63 Aa	174,53 Bb	130,67 Cd
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	119,47 Cb	273,53 Ba	294,90 Aa
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	118,83 Bb	131,47 Bd	239,47 Ab
p-valor (Dose)	< 0.001		
p-valor (Inoculação)	< 0.001		
p-valor (Interação)	< 0.001		
C. V. (%)	6		

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Sob a dose de 50 kg ha⁻¹ de N, no primeiro corte, a inoculação com *A. brasilense* + *P. fluorescens* superou as demais e resultou em acúmulo de K de 192,5% superior ao observado na ausência de inoculação, enquanto a inoculação com *A. brasilense* + *B. subtilis* foi 156,3% maior que o tratamento controle. Nessa dose de N, a inoculação com *A. brasilense* reduziu o acúmulo de K em 17,2% em comparação com a ausência de inoculação.

A. brasilense foi destaque, no primeiro ciclo avaliado, sob todas as doses de N testadas. Os resultados concordam com Picazevicz *et al.* (2020), os autores utilizaram as mesmas cepas testadas aqui e observaram, sob adubação nitrogenada, aumento de 18% no acúmulo de K na parte aérea do capim *M. maximus* cv. Zuri.

No segundo corte (tabela 23), na dose de 25 kg ha⁻¹ de N, a inoculação com *A. brasilense* foi a única que promoveu aumento do acúmulo de K, em comparação à ausência de inoculação, as demais resultaram em decréscimo do acúmulo de K.

Sob a dose de 37,5 kg ha⁻¹ de N, no segundo corte, o uso de *A. brasilense* + *P. fluorescens* foi superior às demais inoculações, incrementando o acúmulo de K em 39,6% em relação à ausência de inoculação, seguida da inoculação com *A. brasilense* que incrementou em 19,4% o acúmulo de K na parte aérea das plantas, enquanto a inoculação com *A. brasilense* + *B. subtilis* resultou em decréscimo do acúmulo de K. O melhor desempenho da coinoculação *A. brasilense* + *P. fluorescens*, concorda com os relatos de Picazevicz *et al.* (2020) e Rosa *et al.* (2020), os autores observaram em

inoculação singular com essas bactérias, maior acúmulo de K nas folhas das gramíneas estudadas.

Tabela 23 – Acúmulo de potássio (kg ha^{-1}) na parte aérea do capim Mulato II, no segundo corte, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 11/03/2022 a 22/07/2022, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* AB-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha^{-1} de N

Inoculação	Doses de N (kg ha^{-1})		
	25	37,5	50
Ausência	59,00 Ab	56,05 Ac	62,80 Ab
<i>A. brasilense</i>	75,44 Aa	66,96 Bb	65,17 Bb
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	35,99 Cd	78,24 Aa	63,63 Bb
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	45,93 Bc	44,05 Bd	73,64 Aa
p-valor (Dose)	< 0.001		
p-valor (Inoculação)	< 0.001		
p-valor (Interação)	< 0.001		
C. V. (%)	6,9		

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Na dose de 50 kg ha^{-1} de N, no segundo corte, apenas a inoculação com *A. brasilense* + *B. subtilis* incrementou o acúmulo de K, os demais tratamentos não diferiram entre si.

No terceiro corte (tabela 24), na dose de 25 kg ha^{-1} de N, a inoculação com *A. brasilense* promoveu um aumento de 82,0% no acúmulo de K, enquanto as demais inoculações resultarem em decréscimo do acúmulo de K em relação à ausência de inoculação.

Na dose de 37,5 kg ha^{-1} de N, no terceiro corte, o uso de *A. brasilense* + *P. fluorescens* aumentou o acúmulo de K, contudo *A. brasilense* + *B. subtilis* resultou em decréscimo em relação à ausência de inoculação.

Na dose de 50 kg ha^{-1} de N, na terceira avaliação, *A. brasilense* + *B. subtilis* incrementou o acúmulo de K, enquanto *A. brasilense* resultou em decréscimo no acúmulo desse nutriente.

Sabe-se que o potássio é o segundo nutriente mais demandado pela maioria das gramíneas forrageiras tropicais, o estímulo ao crescimento radicular promovido pela adubação nitrogenada e pelas BPCV, provavelmente, contribuiu para maior absorção do K presente na solução do solo.

Tabela 24 – Acúmulo de potássio (kg ha⁻¹) na parte aérea do capim Mulato II, no terceiro, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 22/07/2022 a 15/12/2022, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* AB-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N

Inoculação	Doses de N (kg ha ⁻¹)		
	25	37,5	50
Ausência	88,71 Ab	93,43 Ab	88,20 Ab
<i>A. brasilense</i>	161,47 Aa	93,69 Bb	70,10 Cc
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	67,00 Cc	124,37 Aa	96,67 Bb
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	69,47 Bc	68,85 Bc	121,83 Aa
p-valor (Dose)	0,7252 ^{ns}		
p-valor (Inoculação)	< 0.001		
p-valor (Interação)	< 0.001		
C. V. (%)	9,18		

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. ^{ns} = não significativo.

Os resultados indicam que o desempenho da inoculação depende da dose de N utilizada, com destaque de *A. brasilense* na menor dose, *A. brasilense* + *P. fluorescens* na dose intermediária, enquanto na maior dose de N, raramente as inoculações testadas proporcionaram resultados superiores ao observado na ausência de inoculação.

4.1.9 Produtividade de massa seca da parte aérea

No primeiro corte de avaliação (tabela 25), na dose de 25 kg ha⁻¹ de N, a inoculação com *A. brasilense* promoveu aumento da produtividade de massa seca de forragem, em 75,1% em comparação com as plantas não inoculadas, essas tiveram produtividade semelhante ao obtido com as demais inoculações.

A inoculação com *A. brasilense* + *P. fluorescens* foi a mais promissora, no primeiro corte, na dose de 37,5 kg ha⁻¹ de N, sendo 109,0% superior ao obtido na ausência de inoculação, nessa dose as demais inoculações não diferiram entre si e foram estatisticamente semelhantes ao controle.

Na dose de 50 kg ha⁻¹ de N, na primeira avaliação, as inoculações com *A. brasilense* e *A. brasilense* + *B. subtilis* promoveram maior produtividade em relação a ausência de inoculação, enquanto a inoculação com *A. brasilense* + *P. fluorescens* promoveu produtividade semelhante ao obtido com a ausência de inoculação. Na dose de 25 kg ha⁻¹ de N, a inoculação com *A. brasilense* mostrou um potencial de

redução do uso de fertilizante nitrogenado, o mesmo ocorreu na inoculação com *A. brasilense* + *P. fluorescens* na dose de 37,5 kg ha⁻¹ de N.

Tabela 25 – Produtividade de massa seca de forragem (kg ha⁻¹) de capim Mulato II no primeiro corte, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 30/12/2021 a 11/03/2022, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* Ab-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N

Inoculação	Doses de N (kg ha ⁻¹)		
	25	37,5	50
Ausência	4599 Ab	4954 Ab	6499 Ab
<i>A. brasilense</i>	8053 ABa	6648 Bb	9147 Aa
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	5309 Bb	10353 Aa	8763 Aab
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	5156 Bb	6392 Bb	9907 Aa
p-valor (Dose)	< 0,0001		
p-valor (Inoculação)	< 0,0001		
p-valor (Interação)	0,0005		
C. V. (%)	18,92		

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

O incremento da produtividade com a inoculação com *A. brasilense* associada a adubação nitrogenada também foi relatado por Leite *et al.* (2018), em *U. brizantha* cv. Marandu, os autores relataram aumento de produtividade ocorrido, inclusive, no período de estiagem.

No segundo corte de avaliação (tabela 26), realizado na estação da seca, não houve interação entre os fatores dose de N e inoculação. A produtividade de massa seca de forragem na dose de 50 kg ha⁻¹ de N foi superior ao alcançado na dose de 37,5 kg ha⁻¹ de N, porém não diferiu do obtido sob a dose de 25 kg ha⁻¹ de N.

Nenhuma inoculação, no segundo corte avaliado, proporcionou aumento de produtividade quando comparadas com a ausência de inoculação, enquanto a inoculação com *A. brasilense* + *P. fluorescens* resultou em decréscimo de produtividade em comparação com a ausência de inoculação, sem diferir da ausência de inoculação.

Provavelmente, no segundo corte, a deficiência hídrica limitou a resposta à adubação nitrogenada e a expressão dos conhecidos benefícios das bactérias benéficas utilizadas.

Tabela 26 – Produtividade de massa seca de forragem (kg ha⁻¹) de capim Mulato II no segundo corte, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 11/03/2022 a 22/07/2022, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* AB-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N

Inoculação	Doses de N (kg ha ⁻¹)			Média (fator inoculação)
	25	37,5	50	
Ausência	5731	5190	6490	5803 a
<i>A. brasilense</i>	5163	6033	6237	5811 a
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	4768	4466	5486	4907 b
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	6181	4793	5524	5499 ab
Média (fator dose)	5461 AB	5121 B	5934 A	
p-valor (Dose)	0,0193			
p-valor (Inoculação)	0,0233			
p-valor (Interação)	0,1158 ^{ns}			
C. V. (%)	14,06			

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. ^{ns} = não significativo.

No terceiro corte de avaliação (tabela 27), na dose de 25 kg ha⁻¹ de N, a inoculação com *A. brasilense* promoveu maior produtividade, sendo 30,8% superior ao observado na ausência de inoculação.

Tabela 27 – Produtividade de massa seca de forragem (kg ha⁻¹) de capim Mulato II no terceiro corte, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 22/07/2022 a 15/12/2022, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* AB-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N

Inoculação	Doses de N (kg ha ⁻¹)		
	25	37,5	50
Ausência	6394 Ab	7033 Aa	6600 Ab
<i>A. brasilense</i>	8361 Aa	6959 Ba	6921 Bb
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	7082 Bb	6445 Ba	8870 Aa
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	7089 Ab	6642 Aa	6784 Ab
p-valor (Dose)	0,0406		
p-valor (Inoculação)	0,0048		
p-valor (Interação)	< 0,0001		
C. V. (%)	8,58		

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Na dose de 37,5 kg ha⁻¹ de N, no terceiro corte avaliado, não se observou diferença significativa da produtividade sob as diferentes inoculações. Na maior dose

(50 kg ha⁻¹ de N), somente a inoculação com *A. brasilense* + *P. fluorescens* promoveu aumento de produtividade de massa seca, sendo 34,4% superior ao obtido na ausência de inoculação. Nesta avaliação, na ausência de inoculação não houve efeito significativo das doses de N estudadas, enquanto as demais inoculações mostraram potencial de redução do uso de fertilizante nitrogenado.

A produtividade acumulada da parte aérea foi obtida com a soma do resultado dos três cortes da forragem (tabela 28). Na dose de 25 kg ha⁻¹ de N, a inoculação com *A. brasilense* promoveu produtividade acumulada 29,0% superior a ausência de inoculação. As outras inoculações, nessa dose, não diferiram estatisticamente da ausência de inoculação, porém as inoculações com *A. brasilense* e *A. brasilense* + *B. subtilis* não diferiram entre si estatisticamente.

Nas doses de 37,5 kg ha⁻¹ de N e 50 kg ha⁻¹ de N, as diferentes inoculações comportaram-se semelhantemente quanto à produtividade acumulada de massa seca, porém *A. brasilense* + *P. fluorescens* foi a que superou a ausência de inoculação nessas duas doses. Na menor dose de N estudada, a inoculação com *A. brasilense* foi a mais promissora, enquanto na maior dose e na dose intermediária, o destaque foi a inoculação com *A. brasilense* + *P. fluorescens*. Os resultados observados evidenciam que a decisão de qual combinação de bactérias utilizar na inoculação, depende muito da dose de N mineral adotada.

Tabela 28 – Produtividade acumulada de massa seca de forragem (kg ha⁻¹) de capim Mulato II em três cortes, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 30/12/2021 a 15/12/2022, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* AB-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N

Inoculação	Doses de N (kg ha ⁻¹)		
	25	37,5	50
Ausência	16724 Ab	17177 Ab	19588 Ab
<i>A. brasilense</i>	21577 Aa	19640 Aab	22305 Aab
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	17159 Bb	21264 Aa	23119 Aa
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	18426 Bab	17827 Bab	22215 Aab
p-valor (Dose)		0,0072	
p-valor (Inoculação)		0,1926 ^{ns}	
p-valor (Interação)		0,0299	
C. V. (%)		8,90	

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. ^{ns} = não significativo.

O aumento de produtividade de forragem observado neste trabalho concorda com Hungria *et al.* (2021), os pesquisadores observaram redução da dose de N em *Urochloa* spp. sob inoculação com essas mesmas cepas das bactérias *A. brasilense* e *P. fluorescens*, separadamente, em associação com doses menores de N-mineral.

Duarte *et al.* (2021) relataram resultados semelhantes ao verificado aqui, com essas rizobactérias benéficas, em capim Mavuno (*Urochloa* spp.). No mesmo sentido, Carvalho *et al.* (2020b) também verificaram, em *M. maximus* cv. BRS Zuri, aumento de produtividade mais pronunciado quando se utilizou doses menores de N, associadas à inoculação das sementes com as mesmas cepas de *A. brasilense* e *P. fluorescens* em inoculação singular das sementes, com posterior reinoculação via pulverização foliar.

As cepas de *A. brasilense* testadas aqui foram relatadas em vários estudos como promissoras, Rocha e Costa (2018) observaram aumento de produtividade em *U. brizantha* cv. Paiaguás sob essa inoculação, tanto na ausência como combinada com adubação nitrogenada. Contudo, mais estudos com inoculação simultânea com diferentes BPCV em plantas forrageiras são necessários para embasar futuras recomendações aos produtores rurais.

Os resultados observados no híbrido Mulato II se devem, provavelmente, ao fato das BPCV apresentam múltiplos mecanismos de atuação no crescimento de plantas, como: produção e síntese de fito-hormônios, como o ácido indol-3-acético (AIA), citocininas, giberelinas e etileno; síntese de reguladores de crescimento de plantas (ácido abscísico, óxido nítrico e de poliaminas como espermidina, espermina); aumento na disponibilidade de nutrientes, na solubilização do fosfato, na atividade da redutase do nitrato e na eficiência de uso do N; biocontrole de fitopatógenos e doenças; proteção das plantas contra estresse salino e elementos tóxicos do solo; além da FBN (Teixeira Filho; Galindo, 2019).

4.2 EXPERIMENTO 2: CAPIM *Urochloa* spp. cv. Ipyporã

4.2.1 Índice de clorofila foliar (ICF)

No primeiro corte de avaliação do capim Ipyporã (tabela 29), na dose de 25 kg ha⁻¹ de N, a inoculação com *A. brasilense* + *P. fluorescens* e a inoculação com *A.*

brasilense + *B. subtilis* promoveram aumento do ICF em comparação com as plantas não inoculadas. Sob essa dose de N, a inoculação conjunta de *A. brasilense* com as outras bactérias foram mais promissoras que a inoculação singular com *A. brasilense*, os resultados corroboram com Galindo *et al.* (2024), os autores relataram aumento do ICF em plantas de milho sob *A. brasilense* Ab-V5 e Ab-V6 + *B. subtilis* CCTB04 combinadas com adubação nitrogenada.

Tabela 29 – Índice de clorofila foliar (ICF) no capim Ipyporã, no primeiro corte, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 01/11/2022 a 21/12/2022, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* AB-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N

Inoculação	Doses de N (kg ha ⁻¹)		
	25	37,5	50
Ausência	33,7 Bb	39,5 Aa	36,1 Bb
<i>A. brasilense</i>	34,4 Bb	36,6 Bb	45,7 Aa
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	38,2 Aa	38,0 Aab	33,0 Bc
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	39,0 Aa	39,5 Aa	35,1 Bbc
p-valor (Dose)	< 0.001		
p-valor (Inoculação)	< 0.001		
p-valor (Interação)	< 0.001		
C. V. (%)	3,9		

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Na dose de 37,5 kg ha⁻¹ de N, no primeiro corte, a inoculação com *A. brasilense* resultou em ICF menor do que o observado nas demais inoculações. Na dose de 50 kg ha⁻¹ de N, *A. brasilense* incrementou o ICF em comparação com as demais inoculações, enquanto a inoculação com *A. brasilense* + *P. fluorescens* resultou em menor ICF.

O maior ICF observado sob a dose de 50 kg ha⁻¹ de N, concorda com Rocha e Costa (2018), os autores inocularam o capim *U. brizantha* cv. Paiaguás com *A. brasilense* Ab-V5 + Ab-V6, sob essa mesma dose de N e relataram maior nível de clorofila total.

No segundo corte (tabela 30), na dose de 25 kg ha⁻¹ de N, as plantas inoculadas com *A. brasilense* apresentaram maior ICF que as não inoculadas, porém não diferiram estatisticamente das demais inoculações. Na dose de 37,5 kg ha⁻¹ de N, a inoculação com *A. brasilense* + *B. subtilis* resultou em plantas com maior ICF. Na dose

de 50 kg ha⁻¹ de N, a inoculação com *A. brasilense* + *P. fluorescens* proporcionou menor ICF em comparação com as demais inoculações.

Tabela 30 – Índice de clorofila foliar (ICF) no capim Ipyporã, no segundo corte, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 21/12/2022 a 24/02/2023, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* AB-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N

Inoculação	Doses de N (kg ha ⁻¹)		
	25	37,5	50
Ausência	40,1 Bb	41,9 Bb	46,1 Aa
<i>A. brasilense</i>	44,4 Aa	42,1 Ab	43,5 Aa
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	43,0 Aab	42,1 ABb	40,1 Bb
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	43,1 Bab	48,1 Aa	44,5 Ba
p-valor (Dose)	0,2088 ns		
p-valor (Inoculação)	< 0.001		
p-valor (Interação)	< 0.001		
C. V. (%)	3,7		

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. ns = não significativo.

No terceiro corte de avaliação (Tabela 31), não houve interação entre dose de N e inoculação.

Tabela 31 – Índice de clorofila foliar (ICF) no capim Ipyporã, no terceiro corte, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 22/02/2023 a 06/05/2023, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* AB-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N

Inoculação	Doses de N (kg ha ⁻¹)			Média (fator inoculação)
	25	37,5	50	
Ausência	44,3	48,7	50,1	47,7 a
<i>A. brasilense</i>	45,8	46,9	52,7	48,5 a
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	46,8	48,7	49,8	48,4 a
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	42,4	47,1	51,7	47,1 a
Média (fator dose)	44,8 C	47,9 B	51,1 A	
p-valor (Dose)	< 0.001			
p-valor (Inoculação)	0,4603 ns			
p-valor (Interação)	0,1430 ns			
C. V. (%)	5,08			

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. ns = não significativo.

As inoculações não interferiram no ICF, no terceiro corte, porém, como esperado, o ICF foi maior nas plantas que receberam maior adubação nitrogenada. As maiores doses de N aplicadas, aumentaram a disponibilidade desse nutriente para as plantas que acumularam parte deste na forma de clorofila foliar. Sabe-se que o N é o maior constituinte da molécula de clorofila.

4.2.2 Altura das plantas

No primeiro corte de avaliação (tabela 32), sob 25 kg ha⁻¹ de N, a inoculação com *A. brasilense* + *P. fluorescens* resultou em plantas mais altas em comparação com a ausência de inoculação, porém não diferiu das demais inoculações. Em estudos com inoculação singular, Leite *et al.* (2018) também relataram incremento da altura de plantas de *M. maximus* cv. Zuri sob inoculação com *A. brasilense*, enquanto Chattha *et al.* (2017) observaram maior altura de plantas de sorgo forrageiro sob inoculação com *P. fluorescens*.

Tabela 32 – Altura das plantas (cm) de capim Ipyorã, no primeiro corte, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 01/11/2022 a 21/12/2022, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* AB-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N

Inoculação	Doses de N (kg ha ⁻¹)		
	25	37,5	50
Ausência	66,13 Bb	84,48 Aa	70,53 Bab
<i>A. brasilense</i>	75,48 Aab	65,28 Ab	65,48 Ab
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	82,80 Aa	77,13 Aab	81,33 Aa
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	70,53 Aab	69,48 Aab	63,48 Ab
p-valor (Dose)	0,3281 ^{ns}		
p-valor (Inoculação)	0,0018		
p-valor (Interação)	0,0297		
C. V. (%)	11,02		

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. ^{ns} = não significativo.

Na dose de 37,5 kg ha⁻¹ de N, no primeiro corte, notou-se plantas menores em comparação com as não inoculadas, porém sem diferir das demais inoculações.

Na dose de 50 kg ha⁻¹ de N, no primeiro corte, a inoculação com *A. brasilense* + *P. fluorescens* resultou em plantas mais altas que o observado sob as outras inoculações, porém não diferiu das plantas não inoculadas.

Tabela 33 – Altura das plantas (cm) de capim Ipyporã, no segundo corte, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 21/12/2022 a 24/02/2023, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* AB-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N

Inoculação	Doses de N (kg ha ⁻¹)		
	25	37,5	50
Ausência	70,1 Aab	69,3 Aa	72,9 Aa
<i>A. brasilense</i>	57,9 Bb	62,5 Ba	78,3 Aa
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	79,0 Aa	71,2 Aa	66,9 Aa
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	77,7 Aa	70,1 Aa	75,4 Aa
p-valor (Dose)	0,2186 ns		
p-valor (Inoculação)	0,1062 ns		
p-valor (Interação)	0,0206		
C. V. (%)	11,43		

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. ns = não significativo.

No segundo corte (tabela 33), sob 25 kg ha⁻¹ de N, a inoculação com *A. brasilense* resultou em plantas menores que o observado nas demais inoculações, sem diferir do observado nas plantas não inoculadas, enquanto as coinoculações não diferiram do observado na ausência de inoculação.

No terceiro corte de avaliação (tabela 34), nas doses de 25 e 37,5 kg ha⁻¹ de N, não se observou efeito das inoculações sobre a altura das plantas.

Tabela 34 – Altura das plantas (cm) de capim Ipyporã, no terceiro corte, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 24/02/2023 a 06/05/2023, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* AB-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N

Inoculação	Doses de N (kg ha ⁻¹)		
	25	37,5	50
Ausência	59,9 Ba	69,1 Aa	59,7 Bc
<i>A. brasilense</i>	55,3 Ba	75,9 Aa	68,1 Abc
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	60,9 Ba	75,9 Aa	78,3 Aa
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	53,0 Ba	71,1 Aa	74,1 Aab
p-valor (Dose)	< 0.001		
p-valor (Inoculação)	< 0.001		
p-valor (Interação)	0,0020		
C. V. (%)	7,15		

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade de erro.

Na dose de 50 kg ha⁻¹ de N, na terceira avaliação, a inoculação com *A. brasilense* + *P. fluorescens* foi a mais promissora, resultando em plantas mais altas, porém, sem diferir do obtido com a inoculação com *A. brasilense* + *B. subtilis* que também superou a altura das plantas não inoculadas.

4.2.3 Densidade de perfilhos

A densidade de perfilhos, no primeiro corte (tabela 35), na dose de 25 kg ha⁻¹ de N, foi 48% superior ao observado na ausência de inoculação quando se inoculou as plantas com *A. brasilense* e 49% maior sob a inoculação com *A. brasilense* + *P. fluorescens*, essas inoculações não diferiram entre si. Na dose de 37,5 kg ha⁻¹ de N, não houve diferença na densidade de perfilhos sob as diferentes inoculações. Na dose de 50 kg ha⁻¹ de N, a inoculação com *A. brasilense* + *B. subtilis* resultou em menor densidade de perfilhos, as demais inoculações não diferiram, estatisticamente, das plantas não inoculadas. A densidade de perfilhos aumentou à medida que se aumentou a dose de N aplicada.

Tabela 35 – Densidade de perfilhos (número/m²) de capim Ipyorã, no primeiro corte, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 01/11/2022 a 24/02/2023, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* AB-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N

Inoculação	Doses de N (kg ha ⁻¹)		
	25	37,5	50
Ausência	621 Cb	869 Ba	1066 Aa
<i>A. brasilense</i>	919 Aa	803 Aa	914 Aab
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	926 Aa	889 Aa	960 Aab
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	711 Bb	881 Aa	876 ABb
p-valor (Dose)	< 0.001		
p-valor (Inoculação)	0,0777 ns		
p-valor (Interação)	< 0.001		
C. V. (%)	10,98		

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. ns = não significativo

O aumento do perfilhamento em *U. Brizantha* cv. Marandu, sob inoculação com *A. brasilense*, em diferentes doses e estações do ano, foi relatado por Leite *et al.* (2018), concordando com o observado nesse estudo sob a dose de 25 kg ha⁻¹ de N.

Duarte *et al.* (2020) observaram efeito benéfico da inoculação singular com *P. fluorescens* CCTB 03, os autores relataram aumento do perfilhamento de *U. brizantha* cv. Xaraés, em experimento realizado em casa de vegetação.

No segundo corte (tabela 36), o uso de BPCV não incrementou o perfilhamento, nas doses de 25 e 37,5 kg ha⁻¹ de N, em comparação com a ausência de inoculação, porém, a coinoculação de *A. brasilense* + *P. fluorescens* superou a inoculação singular com *A. brasilense* quanto à densidade de perfilhos, sob a dose de 25 kg ha⁻¹ de N.

Na dose de 50 kg ha⁻¹ de N, no segundo corte de avaliação, a inoculação com *A. brasilense* + *B. subtilis* foi superior às demais e ao controle, e incrementou o perfilhamento em 36,9%. Sob essa dose, a coinoculação de *A. brasilense* + *P. fluorescens* resultou em maior densidade de perfilhos do capim Ipyporã que o observado sob a inoculação singular com *A. brasilense*, provavelmente, algum sinergismo ocorreu nessa inoculação conjunta.

Tabela 36 – Densidade de perfilhos (número/m²) de capim Ipyporã, no segundo corte, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 21/12/2022 a 24/02/2023, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* AB-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N

Inoculação	Doses de N (kg ha ⁻¹)		
	25	37,5	50
Ausência	1212 Aab	1242 Aa	1207 Abc
<i>A. brasilense</i>	1035 Ab	1197 Aa	1116 Ac
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	1394 Aa	1258 Aa	1384 Ab
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	1232 Bab	1177 Ba	1652 Aa
p-valor (Dose)	0,0051		
p-valor (Inoculação)	< 0.001		
p-valor (Interação)	< 0.001		
C. V. (%)	8,92		

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Mais estudos com inoculação com mais de uma espécie de bactérias benéficas são necessários, assim, será possível compreender melhor os mecanismos envolvidos quando duas espécies ocupam a mesma rizosfera, bem como o resultado dessa interação entre espécies.

No terceiro corte (tabela 37), não houve efeito de doses de N e das inoculações, nem interação entre esses dois fatores. Resultados semelhantes foram relatados por

Heinrichs *et al.* (2020) em capim *U. Brizantha* cv. Marandu sob diversas doses de N combinadas com inoculação com *A. brasilense*.

Tabela 37 – Densidade de perfilhos (número/m²) de capim Ipyporã, no terceiro corte, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 24/02/2023 a 06/05/2023, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* AB-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N

Inoculação	Doses de N (kg ha ⁻¹)			Média (fator inoculação)
	25	37,5	50	
Ausência	1338	1129	1288	1252 ab
<i>A. brasilense</i>	1025	1253	1253	1177 b
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	1326	1398	1126	1283 ab
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	1298	1500	1444	1414 a
Média (fator dose)	1247 A	1320 A	1278 A	
p-valor (Dose)		0,6011 ns		
p-valor (Inoculação)		0,0532 ns		
p-valor (Interação)		0,1405 ns		
C. V. (%)		15,9		

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. ns = não significativo.

4.2.4 Razão lâmina foliar: pseudocolmo

No primeiro corte (tabela 38), nas doses de 25 e 37,5 kg ha⁻¹ de N, as inoculações não interferiram na razão lâmina foliar: pseudocolmo do capim Ipyporã. Na dose de 50 kg ha⁻¹ de N, a inoculação com *A. brasilense* incrementou a razão lâmina foliar: pseudocolmo, sem diferir da inoculação com *A. brasilense* + *B. subtilis*, porém foi superior aos demais tratamentos.

O incremento da razão lâmina foliar: pseudocolmo observado no primeiro corte, sob a dose de 25 kg ha⁻¹ de N, concorda com Silva *et al.* (2023), que observaram efeito semelhante com grama Tifton 85 (*Cynodon* spp.) sob inoculação com *A. brasilense*, utilizando as mesmas cepas testadas no presente estudo.

Geralmente, uma boa nutrição nitrogenada das gramíneas promove alongamento e expansão da lâmina foliar, porém, com alongamento do pseudocolmo, esse último é menos desejado, pois é pobre, do ponto de vista da nutrição animal. O alongamento do pseudocolmo acentua-se com a idade da planta, razão pela qual o conhecimento da fisiologia da cultivar e um bom manejo da altura de corte é fundamental para oferecer aos animais uma forragem de maior qualidade.

Tabela 38 – Razão lâmina foliar: pseudocolmo do capim Ipyorã, no primeiro corte, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 01/11/2022 a 21/12/2022, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* AB-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N

Inoculação	Doses de N (kg ha ⁻¹)		
	25	37,5	50
Ausência	2,62 Aa	1,93 Ba	2,37 ABbc
<i>A. brasilense</i>	2,70 Ba	2,05 Ca	3,32 Aa
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	2,27 Aa	1,90 Aa	1,89 Ac
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	2,55 ABa	2,09 Ba	2,77 Aab
p-valor (Dose)	< 0.001		
p-valor (Inoculação)	< 0.001		
p-valor (Interação)	0,0069		
C. V. (%)	12,97		

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

No segundo corte (tabela 39), sob 25 kg ha⁻¹ de N, a inoculação com *A. brasilense* aumentou a razão lâmina foliar: pseudocolmo em comparação à inoculação com *A. brasilense* + *B. subtilis*, as demais inoculações não diferiram entre si.

Tabela 39 – Razão lâmina foliar: pseudocolmo do capim Ipyorã, no segundo corte, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 21/12/2022 a 24/02/2023, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* AB-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N

Inoculação	Doses de N (kg ha ⁻¹)		
	25	37,5	50
Ausência	1,45 Aab	1,32 Aa	1,21 Aa
<i>A. brasilense</i>	1,86 Aa	1,09 Ba	1,24 Ba
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	1,43 Aab	1,31 Aa	1,47 Aa
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	1,15 Ab	1,29 Aa	1,45 Aa
p-valor (Dose)	0,0993 ns		
p-valor (Inoculação)	0,7377 ns		
p-valor (Interação)	0,0273		
C. V. (%)	20,63		

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. ns = não significativo.

Observou-se que sob a inoculação com *A. brasilense*, no segundo corte, a razão lâmina foliar: pseudocolmo foi superior, na dose de 25 kg ha⁻¹ de N, ao

observado nas demais doses de N. Nas doses de 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N, as inoculações não interferiram na razão lâmina foliar: pseudocolmo.

A inoculação com *A. brasilense* incrementou o alongamento da lâmina foliar em capim *M. maximus* cv. BRS Tamani, em estudo realizado por Andrade *et al.* (2019). Sabe-se que, além de ser uma potente produtora de fito-hormônios, a bactéria *A. brasilense* também é uma fixadora de nitrogênio atmosférico, possivelmente, sob maior dose de N, o desenvolvimento dessa bactéria foi inibido.

No terceiro corte (tabela 40), a dose de N não interferiu na razão lâmina foliar: pseudocolmo e não houve interação entre dose de N e inoculação. Nenhuma inoculação promoveu aumento da razão lâmina foliar: pseudocolmo, em comparação com a ausência de inoculação. A inoculação com *A. brasilense* e a coinoculação *A. brasilense* + *B. subtilis* resultaram em significativo decréscimo da razão lâmina foliar: pseudocolmo em comparação com as plantas que não foram submetidas a qualquer tipo de inoculação.

Tabela 40 – Razão lâmina foliar: pseudocolmo do capim Ipyporã, no terceiro corte, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 24/02/2023 a 06/05/2023, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* AB-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N.

Inoculação	Doses de N (kg ha ⁻¹)			Média (fator inoculação)
	25	37,5	50	
Ausência	2,65	2,71	2,74	2,70 a
<i>A. brasilense</i>	2,01	1,95	2,40	2,12 b
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	2,61	2,61	2,56	2,59 ab
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	2,09	2,21	2,08	2,13 b
Média (fator dose)	2,34 A	2,37 A	2,44 A	
p-valor (Dose)	0,8103 ns			
p-valor (Inoculação)	0,0058			
p-valor (Interação)	0,9109 ns			
C. V. (%)	19,74			

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra, minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. ns = não significativo.

4.2.5 Teor de proteína bruta na parte aérea

No primeiro corte (tabela 41), nas doses de 25 kg ha⁻¹ de N, as inoculações não interferiram no teor de proteína bruta da forragem.

Tabela 41 – Proteína bruta (%) da parte aérea do capim Ipyporã, no primeiro corte, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 01/11/2022 a 21/12/2022, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* AB-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N

Inoculação	Doses de N (kg ha ⁻¹)		
	25	37,5	50
Ausência	8,01 Aa	8,90 Aa	8,51 Aa
<i>A. brasilense</i>	8,18 Ba	7,48 Bb	9,80 Aa
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	7,99 ABa	9,21 Aa	6,91 Bb
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	8,60 ABa	7,94 Bab	9,54 Aa
p-valor (Dose)		0,1497 ns	
p-valor (Inoculação)		0,1593 ns	
p-valor (Interação)		< 0.001	
C. V. (%)		8,38	

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. ns = não significativo.

Na dose de 37,5 kg ha⁻¹ de N, no primeiro corte, a inoculação com *A. brasilense* resultou em menor teor de proteína bruta que nas plantas não inoculadas. Nas plantas inoculadas com *A. brasilense* + *P. fluorescens*, a concentração de proteína bruta na forragem foi semelhante ao observado na ausência de inoculação e na inoculação com *A. brasilense* + *B. subtilis*.

Sob 50 kg ha⁻¹ de N, no primeiro corte, a coinoculação com *A. brasilense* + *P. fluorescens* resultou em decréscimo no teor de proteína bruta em comparação aos demais tratamentos, estes não diferiram entre si.

No segundo corte (Tabela 42), não houve efeito significativo de nenhuma inoculação com BPCV ou de doses de N sobre o teor de proteína da forragem, não houve interação entre dose de N e inoculação. Os valores observados foram baixos e são inferiores a necessidade mínima de proteína necessária em uma dieta básica para os bovinos.

A falta de incremento no teor de proteína bruta na parte aérea de *U. brizanta* cv. Marandu, sob inoculação isolada de *A. brasilense* ou da coinoculação desta espécie com *B. subtilis* CCTB04, foi relatada por Sampaio *et al.* (2021), os autores realizaram experimento em casa de vegetação com diferentes níveis de adubação nitrogenada e inoculação com as duas espécies citadas, tanto de forma singular como em coinoculação.

Tabela 42 – Proteína bruta (%) da parte aérea do capim Ipyporã, no segundo corte, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 21/12/2022 a 24/02/2023, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* AB-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N

Inoculação	Doses de N (kg ha ⁻¹)			Média (fator inoculação)
	25	37,5	50	
Ausência	6,04	5,69	6,39	6,04 a
<i>A. brasilense</i>	6,77	6,04	6,36	6,39 a
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	6,34	6,10	6,27	6,24 a
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	6,64	6,30	6,69	6,54 a
Média (fator dose)	6,45 A	6,03 A	6,43 A	
p-valor (Dose)	0,2316 ns			
p-valor (Inoculação)	0,4158 ns			
p-valor (Interação)	0,9663 ns			
C. V. (%)	12,04			

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. ns = não significativo.

No terceiro corte (tabela 43), na dose de 25 kg ha⁻¹ de N, a inoculação com *A. brasilense* resultou em teor de proteína 16,8% superior ao observado na inoculação com *A. brasilense* + *B. subtilis*, porém nenhuma inoculação incrementou o teor de proteína bruta em relação às plantas não inoculadas.

Tabela 43 – Proteína bruta (%) da parte aérea do capim Ipyporã, no terceiro corte, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 24/02/2023 a 06/05/2024, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* AB-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N

Inoculação	Doses de N (kg ha ⁻¹)		
	25	37,5	50
Ausência	9,03 Aab	9,09 Aa	9,63 Ab
<i>A. brasilense</i>	9,89 Aa	8,31 Ba	9,58 Ab
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	9,47 Aab	8,88 Aa	9,41 Ab
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	8,47 Bb	9,26 Ba	11,27 Aa
p-valor (Dose)	< 0.001		
p-valor (Inoculação)	0,1744 ns		
p-valor (Interação)	< 0.001		
C. V. (%)	5,82		

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. ns = não significativo.

Sob a dose de 37,5 kg ha⁻¹ de N, nessa terceira avaliação, não houve efeito de nenhuma inoculação sobre o teor de proteína da parte aérea das plantas, enquanto, na dose de 50 kg ha⁻¹ de N, a inoculação com *A. brasilense* + *B. subtilis* promoveu incremento da proteína bruta em relação às outras inoculações e às plantas não inoculadas.

Os resultados de teor de proteína bruta na parte aérea observados nesse estudo contrariam o relato de Duarte *et al.* (2021) que observaram aumento no teor de proteína bruta das plantas de capim Mavuno (*Urochloa* spp.) sob inoculação singular de *A. brasilense* e *P. fluorescens* associadas a adubação nitrogenada.

4.2.6 Acúmulo de N na parte aérea

No primeiro corte (tabela 44), na dose de 25 kg ha⁻¹ de N, a inoculação com *A. brasilense* + *P. fluorescens* promoveu incremento de N na parte aérea do capim Ipyporã, sendo 25% superior ao obtido na ausência de inoculação, as demais inoculações não diferiram entre si. Na dose de 37,5 kg ha⁻¹ de N, a inoculação com *A. brasilense* + *B. subtilis* resultou em menor acúmulo de N em relação aos demais tratamentos que não diferiram entre si, estatisticamente. Na dose de 50 kg ha⁻¹ de N, as inoculações não diferiram entre si e resultaram em acúmulo de N semelhante ao obtido com a ausência de inoculação.

Tabela 44 – Acúmulo de N (kg ha⁻¹) na parte aérea de capim Ipyporã, no primeiro corte, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 01/11/2022 a 21/12/2022, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* AB-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N

Inoculação	Doses de N (kg ha ⁻¹)		
	25	37,5	50
Ausência	67,21 Bb	93,80 Aa	62,26 Ba
<i>A. brasilense</i>	67,03 Bb	84,10 Aa	65,14 Ba
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	83,99 Aa	90,47 Aa	67,07 Ba
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	71,41 Ab	60,57 Bb	72,67 Aa
p-valor (Dose)	< 0.001		
p-valor (Inoculação)	< 0.001		
p-valor (Interação)	< 0.001		
C. V. (%)	7,98		

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

O maior acúmulo de N observado, no primeiro corte, sob a coinoculação com *A. brasilense* + *P. fluorescens*, na dose de 25 kg ha⁻¹ de N, concorda com Carvalho *et al.* (2020b) que observaram resultados semelhantes em capim Zuri (*M. maximus*) sob adubação nitrogenada e inoculação singular com essas duas bactérias.

No segundo corte (tabela 45), não houve efeito significativo de doses de N ou das inoculações sobre o acúmulo de N na parte aérea do capim Ipyporã, nem houve interação entre o fator dose de N e o tipo de inoculação realizada.

O segundo ciclo de crescimento do capim foi favorecido pela alta ocorrência de chuvas (figura 1), provavelmente, isso contribui para o bom desenvolvimento das plantas e maior aproveitamento dos nutrientes disponíveis no solo, independentemente da dose de N mineral aplicada ou do tipo de inoculação realizado, daí a importância da realização de vários cortes de avaliação.

Tabela 45 – Acúmulo de N (kg ha⁻¹) na parte aérea de capim Ipyporã, no segundo corte, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 21/12/2022 a 24/02/2023, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* AB-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N

Inoculação	Doses de N (kg ha ⁻¹)			Média (fator inoculação)
	25	37,5	50	
Ausência	43,31	43,97	44,78	44,02 a
<i>A. brasilense</i>	43,07	58,05	45,45	48,86 a
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	50,88	48,20	48,63	49,24 a
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	49,79	43,81	39,99	44,53 a
Média (fator dose)	46,76 A	48,51 A	44,71 A	
p-valor (Dose)		0,6030 ns		
p-valor (Inoculação)		0,4934 ns		
p-valor (Interação)		0,4943 ns		
C. V. (%)		22,72		

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. ns = não significativo.

No terceiro corte (tabela 46), não houve interação entre dose de N e inoculação. O maior acúmulo de N, na forragem, foi observado sob a dose de 37,5 kg ha⁻¹ de N. Quanto ao fator inoculação, tanto a inoculação singular com *A. brasilense*, quanto a coinoculação desta com as demais bactérias testadas, incrementaram o acúmulo de N em comparação com a ausência de inoculação, porém, não diferiram entre si.

Tabela 46 – Acúmulo de N (kg ha^{-1}) na parte aérea de capim Ipyporã, no terceiro corte, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 24/02/2023 a 06/05/2023, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* AB-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha^{-1} de N

Inoculação	Doses de N (kg ha^{-1})			Média (fator inoculação)
	25	37,5	50	
Ausência	29,49	42,36	39,85	37,23 b
<i>A. brasilense</i>	39,99	52,33	40,54	44,29 a
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	43,20	47,97	41,98	44,38 a
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	42,30	47,98	43,69	44,66 a
Média (fator dose)	38,74 B	47,66 A	41,52 B	
p-valor (Dose)	< 0.001			
p-valor (Inoculação)	< 0.001			
p-valor (Interação)	0,0510 ^{ns}			
C. V. (%)	9,72			

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. ^{ns} = não significativo.

Os valores de acúmulo de N obtidos, na terceira avaliação, sob os três tratamentos com BPCV foram numericamente próximos e superiores ao observado na ausência de inoculação, isso evidencia que essas bactérias têm potencial de promover o crescimento, através de uma melhor nutrição desses novos híbridos testados nesse estudo.

4.2.7 Acúmulo de P na parte aérea

No primeiro corte (tabela 47), a inoculação com *A. brasilense* + *P. fluorescens* foi a que promoveu maior incremento de P na parte aérea do capim Ipyporã, sob todas as doses de N testadas, resultando em maior acúmulo de P em comparação com as demais inoculações e com as plantas não inoculadas, porém, na dose de 25 kg ha^{-1} de N as demais inoculações não diferiram entre si e foram semelhantes à ausência de inoculação.

Sob a dose de 37,5 kg ha^{-1} de N, no primeiro corte, a inoculação com *A. brasilense* incrementou o acúmulo de P em comparação com a ausência de inoculação e com a inoculação com *A. brasilense* + *B. subtilis*, essa última foi inferior aos demais tratamentos. Na dose de 50 kg ha^{-1} de N, a ausência de inoculação, a inoculação com *A. brasilense* e a inoculação com *A. brasilense* + *B. subtilis* não diferiram entre si, quanto ao acúmulo de P na parte aérea da forragem.

Tabela 47 – Acúmulo de fósforo (kg ha⁻¹) na parte aérea do capim Ipyorã, no primeiro corte, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 01/11/2022 a 21/12/2022, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* AB-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N

Inoculação	Doses de N (kg ha ⁻¹)		
	25	37,5	50
Ausência	4,10 Ab	4,53 Ac	3,91 Ab
<i>A. brasilense</i>	4,67 Bb	5,90 Ab	3,46 Cb
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	5,69 Ba	6,77 Aa	4,77 Ca
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	4,33 Ab	3,67 Ad	3,82 Ab
p-valor (Dose)	< 0.001		
p-valor (Inoculação)	< 0.001		
p-valor (Interação)	< 0.001		
C. V. (%)	9,16		

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

O desempenho superior da coinoculação *A. brasilense* + *P. fluorescens*, no primeiro corte de avaliação, em todas as doses testadas, evidencia a capacidade da *P. fluorescens* em solubilizar fosfato no solo, assim aumentando a disponibilidade desse mineral para as plantas.

Tabela 48 – Acúmulo de fósforo (kg ha⁻¹) na parte aérea do capim Ipyorã, no segundo corte, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 21/12/2022 a 24/02/2023, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* AB-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N

Inoculação	Doses de N (kg ha ⁻¹)		
	25	37,5	50
Ausência	5,20 Ab	5,41 Ab	4,64 Bb
<i>A. brasilense</i>	5,00 Bb	6,50 Aa	4,56 Bb
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	6,10 Aa	5,63 ABb	5,40 Ba
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	5,11 Ab	5,46 Ab	4,34 Bb
p-valor (Dose)	< 0.001		
p-valor (Inoculação)	< 0.001		
p-valor (Interação)	< 0.001		
C. V. (%)	5,2		

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

No segundo corte (tabela 48), a inoculação com *A. brasilense* + *P. fluorescens* promoveu maior acúmulo de P sob as doses de 25 e 50 kg ha⁻¹ de N, superando as demais inoculações e a ausência de inoculação.

Na dose de 37,5 kg ha⁻¹ de N, no segundo corte, a inoculação com *A. brasilense* resultou em maior acúmulo de P, superando os demais tratamentos, estes não diferiram entre si, estatisticamente.

No terceiro corte (tabela 49), nas doses de 25 e 37,5 kg ha⁻¹ de N, a inoculação com *A. brasilense* e a coinoculação com *A. brasilense* + *P. fluorescens* resultaram em maior acúmulo de P, não diferindo entre si. Na dose de 50 kg ha⁻¹ de N, as inoculações não interferiram no acúmulo de P.

Tabela 49 – Acúmulo de fósforo (kg ha⁻¹) na parte aérea do capim Ipyporã, no terceiro corte, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 24/02/2023 a 06/05/2024, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* AB-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N

Inoculação	Doses de N (kg ha ⁻¹)		
	25	37,5	50
Ausência	2,77 Bb	3,51 Ab	3,17 ABa
<i>A. brasilense</i>	3,51 Ba	4,78 Aa	3,34 Ba
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	3,73 Ba	4,35 Aa	3,08 Ca
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	3,26 Aab	3,20 Ab	3,16 Aa
p-valor (Dose)	< 0.001		
p-valor (Inoculação)	< 0.001		
p-valor (Interação)	< 0.001		
C. V. (%)	9,49		

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Todas as inoculações utilizadas, em algum dos cortes avaliados, incrementaram o acúmulo de P. Nos três cortes de avaliação, a inoculação com *A. brasilense* + *P. fluorescens* foi bastante promissora, proporcionando aumento do acúmulo de P sob diferentes doses de N. Os resultados encontrados nesse estudo concordam com Fernandes *et al.* (2023), os pesquisadores observaram em cana-de-açúcar de segundo corte, sob tal inoculação e adubação fosfatada residual de 135 kg de P₂O₅, um incremento de 42% na produtividade de colmos e de 43% na produção de açúcar.

4.2.8 Acúmulo de K na parte aérea

No primeiro corte (tabela 50), sob a dose de 25 kg ha⁻¹ de N, as inoculações não interferiram no acúmulo de K na parte aérea do capim Ipyporã, não houve diferença estatística entre os tratamentos. Nenhuma inoculação, nas doses estudadas, promoveu incremento no acúmulo de K na forragem, em comparação com a ausência de inoculação. Sob a dose de 37,5 kg ha⁻¹ de N, a coinoculação *A. brasilense* + *B. subtilis* foi inferior às demais, que por sua vez, foram inferiores à ausência de inoculação. Sob a dose de 50 kg ha⁻¹ de N, a inoculação com *A. brasilense* resultou em acúmulo de K na parte aérea inferior ao observado na ausência de inoculação e na coinoculação com *A. brasilense* + *P. fluorescens*.

Foi feita uma adubação anual de manutenção com K, antes desse corte, provavelmente, nutrindo bem todas as plantas, independentemente do tipo de inoculação adotado.

Tabela 50 – Acúmulo de potássio (kg ha⁻¹) na parte aérea do capim Ipyporã, no primeiro corte, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 01/11/2022 a 21/12/2022, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* AB-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N

Inoculação	Doses de N (kg ha ⁻¹)		
	25	37,5	50
Ausência	67,70 Ba	101,93 Aa	70,33 Ba
<i>A. brasilense</i>	68,67 Ba	87,67 Ab	57,69 Cb
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	73,60 Ba	88,37 Ab	71,30 Ba
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	64,03 Aa	60,53 Ac	66,93 Aab
p-valor (Dose)	< 0.001		
p-valor (Inoculação)	< 0.001		
p-valor (Interação)	< 0.001		
C. V. (%)	8,44		

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

No segundo corte (tabela 51), sob a dose de 25 kg ha⁻¹ de N, a inoculação com *A. brasilense* incrementou o acúmulo de K em 20,8% em relação às plantas não inoculadas, enquanto as demais inoculações não diferiram entre si e a ausência de inoculação.

Na dose de 37,5 kg ha⁻¹ de N, no segundo corte, o uso de *A. brasilense* e *A. brasilense* + *P. fluorescens* incrementou o acúmulo de K em relação à ausência de inoculação, superando também a inoculação com *A. brasilense* + *B. subtilis*.

Sob a dose de 50 kg ha⁻¹ de N, no segundo ciclo de crescimento do capim Ipyporã, a inoculação com *A. brasilense* + *P. fluorescens* foi a mais promissora, resultando em um incremento de 51,5% no acúmulo de K em comparação com a ausência de inoculação, enquanto as demais tratamentos não diferiram entre si, estatisticamente.

Tabela 51 – Acúmulo de potássio (kg ha⁻¹) na parte aérea do capim Ipyporã, no segundo corte, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 21/12/2022 a 24/02/2023, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* AB-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N

Inoculação	Doses de N (kg ha ⁻¹)		
	25	37,5	50
Ausência	59,27 ABb	64,70 Ab	56,13 Bb
<i>A. brasilense</i>	71,62 Ba	79,98 Aa	51,03 Cb
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	53,98 Bb	80,55 Aa	85,03 Aa
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	54,82 Ab	60,50 Ab	53,47 Ab
p-valor (Dose)	< 0.001		
p-valor (Inoculação)	< 0.001		
p-valor (Interação)	< 0.001		
C. V. (%)	7,29		

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

No terceiro corte (tabela 52), sob as doses de 25 kg ha⁻¹ de N, todas as inoculações estudadas incrementaram o acúmulo de K em comparação com à ausência de inoculação.

Sob a dose de 37,5 kg ha⁻¹ de N, no terceiro corte, a inoculação com *A. brasilense* e a inoculação com *A. brasilense* + *P. fluorescens* resultaram em semelhante acúmulo de K na parte aérea das plantas, sendo que a última superou os demais tratamentos. Sob essa dose, a inoculação com *A. brasilense* superou a inoculação com *A. brasilense* + *B. subtilis*, essa última não diferiu da ausência de inoculação. Na dose de 50 kg ha⁻¹ de N, nenhuma inoculação interferiu no acúmulo de K na parte aérea do capim.

Tabela 52 – Acúmulo de potássio (kg ha⁻¹) na parte aérea do capim Ipyporã, no terceiro corte, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 24/02/2023 a 06/05/2024, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* AB-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N

Inoculação	Doses de N (kg ha ⁻¹)		
	25	37,5	50
Ausência	27,15 Bb	42,83 Abc	38,92 Aa
<i>A. brasilense</i>	41,69 ABa	49,72 Aab	34,45 Ba
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	37,32 Ba	52,05 Aa	34,00 Ba
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	43,63 Aa	39,75 ABc	31,79 Ba
p-valor (Dose)	< 0.001		
p-valor (Inoculação)	0,0244		
p-valor (Interação)	< 0.001		
C. V. (%)	12,03		

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

O maior acúmulo de K observado no terceiro corte, na menor dose de N, concorda com Sampaio *et al.* (2021), tais autores relataram que a coinoculação de *A. brasilense* + *B. subtilis* CCTB04 em *U. brizantha* cv. Marandu resultou em maior acúmulo de K na parte aérea das plantas.

4.2.9 Produtividade de massa seca da parte aérea

No primeiro corte de avaliação (Tabela 53), não houve interação entre dose de N e inoculação. Na dose de 37,5 kg ha⁻¹ de N, a produtividade de forragem foi superior ao observado na dose de 50 kg ha⁻¹ de N, porém, semelhante ao ocorrido na dose de 25 kg ha⁻¹ de N, provavelmente, por ser o primeiro corte, houve efeito residual do N proveniente da mineralização da matéria orgânica do solo.

Nessa primeira avaliação, a inoculação com *A. brasilense* e a coinoculação *A. brasilense* + *P. fluorescens* incrementaram a produtividade em comparação com a ausência de inoculação, embora a inoculação com *A. brasilense* não tenha diferido da coinoculação *A. brasilense* + *B. subtilis*.

Tabela 53 – Produtividade de massa seca de forragem (kg ha⁻¹) de capim Ipyporã no primeiro corte, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 01/11/2022 a 21/12/2022, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* Ab-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N

Inoculação	Doses de N (kg ha ⁻¹)			Média (fator inoculação)
	25	37,5	50	
Ausência	4809	5701	4683	5064 c
<i>A. brasilense</i>	6455	6181	5373	6003 ab
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	6400	6969	5517	6295 a
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	5222	5097	5191	5170 bc
Média (fator dose)	5721 AB	5987 A	5191 B	
p-valor (Dose)	0,0187			
p-valor (Inoculação)	< 0.001			
p-valor (Interação)	0,3516 ns			
C. V. (%)	13,56			

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. ns = não significativo.

No segundo corte de avaliação (tabela 54), na dose de 25 kg ha⁻¹ de N, nenhum inoculante utilizado proporcionou aumento de produtividade quando comparado a ausência de inoculação.

Tabela 54 – Produtividade de massa seca de forragem (kg ha⁻¹) de capim Ipyporã no segundo corte, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 21/12/2022 a 24/02/2023, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* AB-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N

Inoculação	Doses de N (kg ha ⁻¹)		
	25	37,5	50
Ausência	4676 Aa	4538 Abc	4230 Ab
<i>A. brasilense</i>	4705 Ba	5663 Aa	5067 ABa
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	5159 Aa	4939 Ab	4989 Aa
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	4557 Aa	4220 Ac	4244 Ab
p-valor (Dose)	0,2506		
p-valor (Inoculação)	< 0.001		
p-valor (Interação)	0,0163		
C. V. (%)	7,44		

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Sob a dose 37,5 kg ha⁻¹ de N, no segundo corte, a inoculação com *A. brasilense* proporcionou maior produtividade de massa seca em comparação com os demais tratamentos, sendo 24,8% superior à ausência de inoculação na mesma dose de N, enquanto *A. brasilense* + *P. fluorescens* foi 17,0% superior ao alcançado com e a inoculação com *A. brasilense* + *B. subtilis*, esta última, foi a menos promissora não diferindo da ausência de inoculação. Na dose de 50 kg ha⁻¹ de N, as inoculações com *A. brasilense* e *A. brasilense* + *P. fluorescens* promoveram aumento de produtividade em relação às demais.

O efeito da inoculação com *A. brasilense*, sob a dose de 37,5 kg ha⁻¹ de N concorda com os resultados de Vendruscolo *et al.* (2023), os pesquisadores relataram aumento de biomassa seca da parte aérea de *U. ruziziensis* cultivada em vasos sob inoculação com as mesmas cepas estudadas aqui, constataram também que *A. brasilense* alterou a proporção entre as espécies de bactérias da rizosfera, assim, mais estudos são necessários para compreender a dinâmica da inoculação com mais de uma espécie de bactéria promotora de crescimento em gramíneas forrageiras tropicais.

No terceiro corte de avaliação (tabela 55), na dose de 25 kg ha⁻¹ de N, somente a inoculação com *A. brasilense* promoveu aumento de produtividade, sendo 46,7% superior ao observado na ausência de inoculação, porém não diferiu da inoculação com *A. brasilense* + *P. fluorescens*.

Tabela 55 – Produtividade de massa seca de forragem (kg ha⁻¹) de capim Ipyporã no terceiro corte, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 24/02/2023 a 06/05/2023, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* AB-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N

Inoculação	Doses de N (kg ha ⁻¹)		
	25	37,5	50
Ausência	2044 Bb	3043 Aa	2925 Aa
<i>A. brasilense</i>	2999 Aa	3224 Aa	3293 Aa
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	2503 Bab	2901 ABa	3220 Aa
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	2171 Bb	3494 Aa	3103 Aa
p-valor (Dose)	< 0.001		
p-valor (Inoculação)	0,0048		
p-valor (Interação)	0,0198		
C. V. (%)	10,76		

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Nas doses de 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N, na terceira avaliação, não se observou diferença significativa da produtividade sob as diferentes inoculações.

A produtividade acumulada de massa seca da parte aérea do capim Ipyporã foi obtida com a soma do resultado dos três cortes da forragem (tabela 56). Nessa avaliação, não ocorreu interação entre dose de N e inoculação. A maior produtividade foi observada na dose de 37,5 kg ha⁻¹ de N, as demais doses não diferiram entre si quanto à produtividade de massa seca de forragem.

A coinoculação *A. brasilense* + *P. fluorescens* resultou em maior produtividade acumulada de massa seca de forragem, proporcionando um incremento de 11,6% em comparação com a ausência de inoculação, contudo não diferiu estatisticamente da inoculação singular com *A. brasilense*.

Tabela 56 – Produtividade acumulada de massa seca de forragem (kg ha⁻¹) de capim Ipyporã em três cortes, cultivado a campo, em Iturama – MG, no período de 01/11/2022 a 06/05/2023, sob inoculação, ou não, com *A. brasilense* AB-V5 + Ab-V6, *A. brasilense* + *P. fluorescens* CCTB 03 e *A. brasilense* + *B. subtilis* CCT 1331 em associação a adubação nitrogenada, nas doses 25, 37,5 e 50 kg ha⁻¹ de N

Inoculação	Doses de N (kg ha ⁻¹)			Média (fator inoculação)
	25	37,5	50	
Ausência	11529	14202	12218	12650 b
<i>A. brasilense</i>	12830	14108	12989	13309 ab
<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>	14356	15070	12923	14116 a
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	11949	13015	12032	12332 b
Média (fator dose)	12666 B	14099 A	12541 B	
p-valor (Dose)	0,0012			
p-valor (Inoculação)	0,0047			
p-valor (Interação)	0,5130 ^{ns}			
C. V. (%)	9,15			

Fonte: elaborado pelo autor.

Nota: médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. ^{ns} = não significativo

O benefício da inoculação conjunta de *A. brasilense* + *P. fluorescens* foi observado por Zhang *et al.* (2018) em plantas de arroz cultivadas em vasos, os autores relataram maior acúmulo de biomassa promovido por essa coinoculação devido à aceleração das transformações de N na rizosfera, assim incrementando a capacidade de suprimento de N para as plantas.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nos dois híbridos de *Urochloa spp.* (Mulato II e Ipyporã), o ICF foi menor nas plantas não inoculadas com bactérias promissoras de crescimento vegetal.

A inoculação com *Azospirillum brasilense* Ab-V5 + Ab-V6 associada à dose de 25 kg ha⁻¹ de N-mineral incrementou a produtividade de massa seca, a altura das plantas e a razão lâmina foliar: pseudocolmo dos híbridos Mulato II e Ipyporã. Na dose de 37,5 kg ha⁻¹ de N, essa inoculação incrementou o acúmulo de P e K nos dois híbridos e aumentou a produtividade de massa seca de forragem do capim Ipyporã. Sob a dose de 50 kg ha⁻¹ de N, essa inoculação aumentou o perfilhamento no híbrido Mulato II.

A coinoculação de *A. brasilense* Ab-V5 + Ab-V6 + *P. fluorescens*, em associação à dose de 25 kg ha⁻¹ de N, promoveu: aumento da altura das plantas nos dois híbridos; aumento de produtividade, perfilhamento e acúmulo de N, P e K no híbrido Ipyporã. Sob as doses de 37,5 kg ha⁻¹ de N, essa coinoculação incrementou: o acúmulo de P e K nos dois híbridos; produtividade, altura, razão lâmina foliar: pseudocolmo e acúmulo de N no híbrido Mulato II. Na dose de 50 kg ha⁻¹ de N, essa coinoculação resultou em: maior produtividade de massa seca nos dois híbridos; incremento no acúmulo de N, P e K, maior razão lâmina foliar: pseudocolmo e a altura das plantas da cultivar Mulato II.

A coinoculação de *A. brasilense* Ab-V5 + Ab-V6 + *B. subtilis* foi a menos promissora, entretanto, para o Mulato II, esta coinoculação aumentou o perfilhamento sob a dose de 25 kg ha⁻¹ de N, a altura das plantas e a razão lâmina: pseudocolmo na dose de 37,5 kg ha⁻¹ de N e o perfilhamento na dose de 50 kg ha⁻¹ de N. No capim Ipyporã, essa coinoculação, na dose de 50 kg ha⁻¹ de N, incrementou a razão lâmina foliar: pseudocolmo e o perfilhamento.

6 CONCLUSÕES

A inoculação das sementes dos capins Mulato II e Ipyporã com as bactérias benéficas testadas, em associação com redução da dose de N, promoveu incremento de todas as variáveis avaliadas, com exceção do teor de proteína bruta da parte aérea de ambos os capins e da razão lâmina foliar: pseudocolmo do capim Ipyporã.

Recomenda-se para os híbridos de *Urochloa spp.* (Mulato II e Ipyporã) a inoculação via semente com *Azospirillum brasilense* Ab-V5 + Ab-V6 ou de *A. brasilense* Ab-V5 + Ab-V6 + *P. fluorescens* para aumentar a produtividade e qualidade do capim, associado as doses de 25 e 37,5 kg ha⁻¹ de N.

REFERÊNCIAS

- AGUIRRE, P. F.; GIACOMINI, S. J.; OLIVO, C. J.; BRATZ, V. F.; QUATRIN, M. P.; SCHAEFER, G. L. Biological nitrogen fixation and urea-N recovery in 'Coastcross-1' pasture treated with *Azospirillum brasilense*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília DF, v. 55, p. 1-10, 2020.
- AHMAD, M.; AHMAD, I.; HILGER, T. H.; NADEEM, S. M.; AKHTAR, M. F.; JAMIL, M.; HUSSAIN, A.; ZAHIR, Z. A. Preliminary study on phosphate solubilizing *Bacillus subtilis* strain Q3 and *Paenibacillus* sp. strain Q6 for improving cotton growth under alkaline conditions. **PeerJournal**, San Diego, v.6, p.1-22, 2018.
- ALISHAHI, F.; ALIKHANI, H. A.; HEIDARI, A.; MOHAMMADI, L. The study of inorganic insoluble phosphate solubilization and other plant growth promoting characteristics of indigenous *Pseudomonas fluorescens* bacteria of Kordan and Gonbad regions. **International Journal of Agronomy and Agricultural Research**, Rajshahi, v. 3, p. 53-60, 2013.
- ALMEIDA, O. G. d.; PEDREIRA, C. G. S.; HOLSCHUCH, S. G.; PEDROSO, G. B.; YASUOKA, J. I.; SILVA, V. J. d. Stocking method effects on forage accumulation, canopy attributes, and nutritive value of grazed Mulato II brachiariagrass pastures. **Grass and Forage Science**, Oxford, v. 78, n. 2, p. 288-295, 2023.
- ALVARES, C.A.; STAPE, J.L.; SENTELHAS, P.C.; GONÇALVES, J. L. M.; SPAROVEK, K. G. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, Stuttgart, v. 22, p. 711-728, 2013.
- ALVIM, J.M. **Produção e utilização de forrageiras de inverno: aveia e azevém**. Coronel Pacheco: EMBRAPA-CNPGL, 1989. 28p. (Documentos, 42).
- ALVIM, M. J.; XAVIER, D. F.; VERNEQUE, R. D. S.; BOTREL, M. D. A. Response of Tifton 85 to nitrogen doses and cutting intervals. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 34, n. 12, p. 2345-2352, 1999.
- ALVES, C. S. A.; DE ALMEIDA, M. E. M.; GLÓRIA, J. C.; DOS SANTOS, F.A.; PEREIRA, K. D.; DE CASTRO, D. P.; MARIÚBA, L. A. M. *Bacillus subtilis*: uma versátil ferramenta biotecnológica. **Scientia Amazonia**, Belém, v. 7, n. 2, p. 15-23, 2018.
- ANDRADE, A. A.; PORTO, M. O.; CAVALI, J.; FERREIRA, E.; BERGAMIN, A. C.; SOUZA, F. R. d.; AGUIAR, I. S. d. *Azospirillum brasilense* e fosfato natural reativo no estabelecimento de forrageira tropical. **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v. 42, n. 1, p. 146-154, 2019.
- 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.

ANDRADE, R. G.; TEIXEIRA, A. D. C.; LEIVAS, J. F.; DA SILVA, G. B. S.; NOGUEIRA, S. F.; VICTORIA, D. D. C.; VICTORIA, L. E.; BOLFE, É. L. Indicativo de pastagens plantadas em processo de degradação no bioma Cerrado. *In: simpósio brasileiro de sensoriamento remoto*, 17., 2015, João Pessoa. **Anais [...]**. São José dos Campos: INPE, 2015. p. 1585-1592.

ARAUJO, F. F. d.; GUABERTO, L. M.; SILVA, I. F. D. Bioprospecção de rizobactérias promotoras de crescimento em *Brachiaria brizantha*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, São Paulo, v.41, n. 3, p.521-527, 2012.

ARAÚJO, F. F. d.; HUNGRIA, M. Nodulação e rendimento de soja coinfectada com *Bacillus subtilis* e *Bradyrhizobium japonicum*/*Bradyrhizobium elkanii*. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, DF, v. 34, p. 1633-1643, 1999.

ARGEL, P. J.; MILES, J. W.; GUIOT, J. D.; CUADRADO, H.; LASCANO, C. E. **Cultivar mulato II (Brachiaria híbrido CIAT 36087)**: gramínea de alta qualidade e produção forrageira, resistentes as cigarrinhas e adaptada a solos tropicais ácidos. Cali: CIAT, 2007.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNE - ABIEC. **Beef report 2024**. Brasília, DF: ABIEC, 2024. Disponível em <http://abiec.com.br/publicacoes/beef-report-2024-perfil-da-pecuaria-no-brasil/>. Acesso em 13 nov. 2024.

BASHAN, Y.; DE-BASHAN, L.E. Bacteria/Plant Growth-Promoting. *In: HILLEL, D. (Ed.) Encyclopedia of soils in the environment*, Oxford: Elsevier, 2005. v. 1, p. 103-115.

BASTIDAS, M.; VÁSQUEZ, E.; VILLEGAS, D. M.; RAO, I. M.; GUTIERREZ, J. F.; VIVAS-QUILA, N. J.; AMADO, M.; BERDUGO, C.; ARANGO, J. Optimizing nitrogen use efficiency of six forage grasses to reduce nitrogen loss from intensification of tropical pastures. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Amsterdã, v. 367, p. 108970, 2024.

BRENNECKE, K.; BERTIPAGLIA, L. M. A.; ANTONIAZZI, A.; SOUZA, E. F. Inoculação da bactéria *Pseudomonas fluorescens* no índice de crescimento da *Brachiaria decumbens* spp. **Revista Acadêmica Ciência Animal**, Pirassununga, v. 14, p. 217-224, 2016.

BRITO, P. H. F.; ARAÚJO, R. S.; MARINHO, G. Composição química do material particulado atmosférico: uma revisão de literatura. **HOLOS**, Campinas, v. 4, p. 62-74, 2018.

CABRAL, C. E. A.; MOTA, L.G.; GOMES, L. D.; SILVA, P. H. G. d.; DUARTE, C. F. D.; CABRAL, C. H. A. Quantos dias após a desfolha deve-se adubar com nitrogênio o capim BRS Ipyporã ?. **Nativa**, Brasília, DF, v. 11, n. 4, p. 448-453, 2023.

CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; MATOS Jr., D.; BOARETO, R. M.; RAIJ, B. V. **Boletim 100**: Recomendações de adubação e calagem para o estado de São Paulo. Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, 2022.

CARVALHO, A.M.X.; MENDES, F.Q.; MENDES, F.Q.; TAVARES, L.F. SPEED Stat: a free, intuitive, and minimalist spreadsheet program for statistical analyses of experiments. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v. 20, n. 3, e327420312, 2020a.

CARVALHO, C. L. M.; DUARTE, A. N. M.; HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; MOREIRA, A.; SOARES FILHO, C. V. Nitrogen in Shoots, Number of Tillers, Biomass Yield and Nutritive Value of Zuri Guinea Grass Inoculated with Plant-Growth Promoting Bacteria. **International Journal for Innovation Education and Research**, Mumbai, v. 8, n. 5, p. 437-463, 2020b.

CASSIMIRO, J. B.; ROCHETTI, A. C. A.; HEINRICHS, R.; CASTILLO, E. O. F. Volatilização da amônia e avaliação do capim-marandu sob doses e fontes de fertilizantes nitrogenados. **Research, Society and Development**, Itabira, v. 9 n. 8, e526985823-e526985823, 2020.

CASSIMIRO, J. B.; DE OLIVEIRA, C. L. B.; BONI, A. D. S.; DONATO, N. D. L.; MEIRELLES, G. C.; DA SILVA, J. F.; RIBEIRO, I. V.; HEINRICHS, R. Ammonia volatilization and marandu grass production in response to enhanced-efficiency nitrogen fertilizers. **Agronomy**, Basel, v. 13, n. 3, 837, 2023.

CHATTHA, M. B.; IQBAL, A.; CHATTHA, M. U.; HASSAN, M. U.; KHAN, I.; ASHRAF, I.; FAISAL, M.; USMAN, M. PGPR inoculated-seed increases the productivity of forage sorghum under fertilized conditions. **Journal of Basic and Applied Sciences**, Lahore, v. 13, p. 150-153, 2017.

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, 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. **Physiology Plants**, v. 153, p. 79–90, 2015.

CONDORI, T.; ALARCÓN, S.; HUASASQUICHE, L.; GARCÍA-BLÁSQUEZ, C.; PADILLA-CASTRO, C.; VELÁSQUEZ, J.; SOLÓRZANO, R.. Inoculation with *Azospirillum brasilense* as a Strategy to Reduce Nitrogen Fertilization in Cultivating Purple Maize (*Zea mays* L.) in the Inter-Andean Valleys of Peru. **Microorganisms**, v. 12, n. 10, p. 2107, 2024.

CORSI, M.; MARTHA JR, G. B. Manutenção da fertilidade do solo em sistemas intensivos de pastejo rotacionado. **Simpósio sobre manejo da pastagem**, v. 14, p. 161-192, 1997.

COSTA, K. A. P.; DE OLIVEIRA, I. P.; FAQUIN, V. Adubação nitrogenada para pastagens do gênero *Brachiaria* em solos do Cerrado. **Embrapa Arroz e Feijão-Documentos (INFOTECA-E)**, 2006. 60p. (Documentos, 192).

DARTORA, J.; GUIMARÃES, V. F.; MARINI, D.; SANDER, G. Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho. **Rev. Bras. Eng. Agríc. Ambient.**, v. 17, p. 1023-1029, 2013.

DELEVATTI, L. M.; CARDOSO, A. S.; BARBERO, R. P.; LEITE, R. G.; ROMANZINI, E. P.; RUGGIERI, A. C.; REIS, R. A. Effect of nitrogen application rate on yield, forage quality, and animal performance in a tropical pasture. **Scientific reports**, v. 9 n.1, p. 1-9, 2019.

DEY, R. K. K. P.; PAL, K. K.; BHATT, D. M.; CHAUHAN, S. M. Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea* L.) by application of plant growth-promoting rhizobacteria. **Microbiological research**, v. 159, n. 4, p. 371-394, 2004.

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

DOBEREINER, J. History and new perspectives of diazotrophs in association with non-leguminous plants. **Symbiosis**, 1992.

DUARTE, A. N. M.; SOARES FILHO, C. V.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; CARVALHO, C. L. M. d.; HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; VALVANO, I. M.; ISHIY, A. I. Inoculation with plant growth-promoting bacteria and reduction of nitrogen fertilizer in herbage accumulation and nutritional value of Mavuno grass. **International Journal for Innovation Education and Research**, v. p. 9, 16–34, 2021.

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, Paraná, 2018.

DUARTE, C. F. D.; CECATO, U.; HUNGRIA, M.; FERNANDES, H. J.; BISERRA, T. T.; GALBEIRO, S.; TONIATO, A. K. B.; SILVA, D. R. Morphogenetic and structural characteristics of *Urochloa* species under inoculation with plant growth-promoting bacteria and nitrogen fertilisation. **Crop and Pasture Science**, v. 71, n. 1, p. 82-89, 2020.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Reunião Relare debate potencial dos inoculantes microbianos no Brasil**. Brasília, DF: EMBRAPA, 2024. Disponível em: <https://www.embrapa.br/soja/busca-de-noticias/-/noticia/90251648/>. Acesso em 12 nov. 2024.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Quantificação territorial da ocupação e uso de terras no Brasil**. Brasília, DF: EMBRAPA, 2018. Disponível em <https://www.embrapa.br/car/sintese>. Acesso em 15 ago. 2020.

EUCLIDES, V. P. B.; NANTES, N. N.; MONTAGNER, D. B.; ARAÚJO, A. R.; BARBOSA, R. A.; ZIMMER, A. H.; DO VALLE, C. B. Beef cattle performance in response to Ipyorã and Marandu brachiariagrass cultivars under rotational stocking management. **Revista Brasileira de Zootecnia**, São Paulo, v. 47, p. e20180018, 2018.

FERNANDES, G. C.; ROSA, P.H. L.; JALAL, A.; OLIVEIRA, C. E d. S.; GALINDO, F. S.; VIANA, R. d. S.; d. CARVALHO, P. H. G.; CABRAL DDA SILVA, E.; NOGUEIRA, T. A. R.; AL-ASKAR, A. A.; HASHEM, A. H.; ALDELGAWAD, H.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M. Technological quality of sugarcane inoculated with plant-growth-promoting bacteria and residual effect of phosphorus rates. **Plants**, Basel, v. 12, n. 14, p. 2699, 2023.

FIBACH-PALDI, S.; BURDMAN, S.; OKON, Y. Key physiological properties contributing to rhizosphere adaptation and plant growth promotion abilities of *Azospirillum brasilense*. **FEMS Microbiology Letters**, Oxford, v. 326, n. 2, p. 99-108, 2012.

FUKAMI, J.; DE LA OSA, C.; OLLERO, F. J.; MEGÍAS, M.; HUNGRIA, M. Co-inoculation of maize with *A. brasilense* and *R. tropici* as a strategy to mitigate salinity stress. **Functional Plant Biology**, Melbourne, v. 45, n. 3, p. 328-339, 2017.

FUKAMI, J.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S.; HUNGRIA, M. Accessing inoculation methods of maize and wheat with *Azospirillum brasilense*. **Amb Express**, Heidelberg, v. 6, n. 1, p. 3, 2016.

GALINDO, F.S; PAGLIARINI, P. H.; CABRAL DA SILVA, E.; DE LIMA, B. H.; FERNANDES, C. G.; THIENGO, C. C.; BERNARDES, J. V. S.; JALAL, A.; OLIVEIRA, C. E. S.; VILELA, L. S.; FURLANI Jr., E.; NOGUEIRA, T. A. R.; DO NASCIMENTO, V.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; LAURES, J. Impact of nitrogen fertilizer sustainability on corn crop yield: the role of beneficial microbial inoculation interactions. **BMC Plant Biology**, Londres, v. 24, n. 1, p. 268, 2024.

GALINDO, F. S.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; BUZETTI, S.; SANTINI, J. M. K.; BOLETA, E. H. M.; RODRIGUES, W. L. Macronutrient accumulation in wheat crop (*Triticum aestivum* L.) with *Azospirillum brasilense* associated with nitrogen doses and sources. **Journal of Plant Nutrition**, Philadelphia, v. 43, 8, 8, p. 1057-1069, 2020.

GARCIA, M. M.; PEREIRA, L. C.; BRACCINI, A. L.; ANGELOTTI, P.; SUZUKAWA, A. K.; MARTELI, D. C.; FELBER, P. H.; BIANCHESSI, P. A.; DAMETTO, I. B. Effects of *Azospirillum brasilense* on growth and yield compounds of maize grown at nitrogen limiting conditions. **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v. 40, n. 2, p. 353-362, 2017.

HEINRICHS, R.; MEIRELLES, G. C.; DE MELO SANTOS, L. F.; DA SILVA LIRA, M. V.; DE MARCOS LAPAZ, A.; NOGUEIRA, M. A.; BONINI, C. S. B.; SOARES FILHO, C. V.; MOREIRA, A. *Azospirillum* inoculation of 'Marandu' palisade grass seeds: effects on forage production and nutritional status. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.41, n. 2, p.465-478, 2020.

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense***: inovação em rendimento a baixo custo. Londrina: Embrapa Soja, 2011. 36 p. (Documentos, 325).

HUNGRIA, M; NOGUEIRA, M. A; ARAUJO, R. S. Eficiência Agronômica de Estirpes de *Azospirillum brasiliense* para *Brachiaria* spp. (= *Urochloa*). In: Embrapa Soja-Resumo em anais de congresso (ALICE). In: SYMPOSIUM ON BIOLOGICAL

NITROGEN FIXATION WITH NON-LEGUMES, 16., LATINAMERICAN WORKSHOP OF PGPR, 4., RELARE, 19., 2018 Foz do Iguaçu. **Anais [...]**. [Brasília, DF]: Embrapa, 2018.

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.

HUNGRIA, M.; RONDINA, A. B. L.; NUNES, A. L. P.; ARAUJO, R. S.; NOGUEIRA, M. A. Seed and leaf-spray inoculation of PGPR in brachiarias (*Urochloa* spp.) as an economic and environmental opportunity to improve plant growth, forage yield and nutrient status. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 463, p. 171-186, 2021.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Censo Agropecuário 2017**: resultados preliminares. Rio de Janeiro: [s.n.], 2018. 7 v. Disponível em: https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/3093/agro_2017_resultados_preliminares.pdf. Acesso em: 11 nov. 2020.

INMET – **Instituto Nacional de Meteorologia**. Brasília, DF: INMET, 2024. Disponível em: <https://portal.inmet.gov.br/>. Acesso em: 01 nov. 2024.

LEITE, R. D. C.; DOS SANTOS, J. G.; SILVA, E. L.; ALVES, C. R.; HUNGRIA, M.; LEITE, R. D. C.; DOS SANTOS, A. C. Productivity increase, reduction of nitrogen fertiliser use and drought-stress mitigation by inoculation of Marandu grass (*Urochloa brizantha*) with *A. brasilense*. **Crop and Pasture Science**, Clayton, v. 70, n. 1, p. 61-67, 2018.

LEITE, R. D. C.; SANTOS, A. C. D.; SANTOS, J. G. D. D.; LEITE, R. D. C.; OLIVEIRA, L. B. T. D.; HUNGRIA, M. Mitigation of Mombasa grass (*Megathyrsus maximus*) dependence on nitrogen fertilization as a function of inoculation with *A. brasilense*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 43, 2019.

LIMA, F. F.; NUNES, L. A. P. L.; FIGUEIREDO, M. d. V. B.; ARAÚJO, F. F. d.; LIMA, L. M.; ARAÚJO, A. S. F. d. *Bacillus subtilis* e adubação nitrogenada na produtividade do milho. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 6, n. 4. p. 657-661, 2011.

LOPES, A. S. **Manual de fertilidade do solo**. São Paulo: ANDA/POTAFOS, 1989. 153 p.

LOPES, M. D. S.; DIAS FILHO, M. B.; CASTRO, T. D. R.; SILVA, G. B. Biopromotores e luz no crescimento de *Brachiaria brizantha*. In: SILVA, D. A. S. (org.) **Agronomia: elo da cadeia produtiva**. Ponta Grossa: Atena, 2019. v. 5, 14, p. 164-174.

LOSICK, R. M. *Bacillus subtilis*: a bacterium for all seasons. **Current Biology**, Cambridge, v. 30, n. 19, p. R1146-R1150, 2020.

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

MALAVOLTA, E.; VITTI G.C.; OLIVEIRA S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: Potafos; 1997. 319p.

MANRIQUE, A. E. R.; MAZZUCHELLI, R. D. C. L.; ARAUJO, A. S. F.; ARAUJO, F. D. Condicionamento e revestimento de sementes de *Urochloa brizantha* associados à inoculação com *Bacillus subtilis*. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, p. 49, 2019.

MARIN, V. A.; BALDANI, V. L. D.; TEIXEIRA, K. D. S.; BALDANI, J. I. **Fixação biológica de nitrogênio: bactérias fixadoras de nitrogênio de importância para a agricultura tropical**. Seropédica: EMBRAPA, 1999. 34 p. (Série Documentos. Embrapa Agrobiologia).

MARTHA JR., G.B. **Balanco de ¹⁵N e perdas de amônia por volatilização em pastagem de capim-elefante**. 1999. 75 f. Dissertação (Mestrado em Ciência animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, 1999.

MARTHA JUNIOR, G. B. **Produção de forragem e transformação do nitrogênio do fertilizante em pastagem irrigada de capim Tanzânia**. 2003. 149 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal e Pastagens) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

MARTHA JÚNIOR, G. B.; CORSI, M.; TRIVELIN, P. C. O.; VILELA, L.; PINTO, T. L. F.; TEIXEIRA, G. M.; BARIONI, L. G. Perda de amônia por volatilização em pastagem de capim tanzânia adubada com ureia no verão. **Revista Brasileira de Zootecnia**, São Paulo, v. 33, n. 6, p. 2240-2247, 2004.

MAZZUCHELLI, R. de C.; SOSSAI, B. F.; de ARAÚJO, F. F. Inoculação de *Bacillus subtilis* e *Azospirillum brasilense* na cultura do milho. **Colloquium Agrariae**, Presidente Prudente, v. 10, n. 2, p. 40-47, 2014. Disponível em: <http://doi:105747/ca.2014.v.10.n2.a106>.

MEHNAZ, S. *Azospirillum*: a biofertilizer for every crop. In: **Plant Microbes Symbiosis: Applied Facets**. Springer, New Delhi, 2015. p. 297-314.

MODESTO, V. C.; ANDREOTTI, M.; SABBAG, O. J.; SOARES, D. A.; PECHOTO, E. A. P.; PASCHOALOTO, I. M.; NAKAO, A. H. Economic analysis of the corn intercropped with Marandu grass as a function of *Azospirillum brasilense* application. **Journal of Agricultural Science**, v. 11, p. 387, 2019.

MOREIRA, C. D.; PEREIRA, D. H.; COIMBRA, R. A.; MOREIRA, D. A. Germinação de gramíneas forrageiras em função da inoculação de bactérias diazotróficas germination of grasses due to inoculation diazotrophic bacteria. **Scientific Electronic Archives**, Sinop, v. 6, p. 90-96, 2014.

NILSSON, M. S.; FIORIO, P. R.; TAKUSHI, M. R.; OLIVEIRA, A. K. D. S.; GARCIA, A. C. Effect of different nitrogen fertilization rates on the spectral response of *Brachiaria brizantha* cv. Marandú leaves. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 43, e20220008, 2023.

OKON, Y.; LABANDERA-GONZALES, C. A. Agronomic applications of *Azospirillum*: an evaluation of 20 years worldwide field inoculation. **Soil Biology and Biochemistry**, Amsterdã, v. 26, n. 12, p. 1591-1601, 1994.

OKUMURA, R. S.; MARIANO, D. D. C.; DALLACORT, R.; NOGUEIRA DE ALBUQUERQUE, A.; LOBATO, A. D. S.; GUEDES, E. S.; OLIVEIRA NETO, C. F.; CONCEIÇÃO, H. E. O.; ALVES, G. R. *Azospirillum*: a new and efficient alternative to biological nitrogen fixation in grasses. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, Kalamata, v. 2, n. 1, p. 1142-1146, 2013.

OLIVEIRA, M. A. D.; ZUCARELI, C.; SPOLAOR, L. T.; DOMINGUES, A. R.; FERREIRA, A. S. Desempenho agrônômico do milho sob adubação mineral e inoculação das sementes com rizobactérias. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 16, n. 10, p. 1040-1046, 2012.

PEREIRA, L. F.; FERREIRA, C. F. C.; GUIMARÃES, R. M. F. Manejo, qualidade e dinâmica da degradação de pastagens na Mata Atlântica de Minas Gerais-Brasil. **Nativa**, Sinop, v.6, n.4, p. 370-379, 2018.

PICAZEVICZ, A. A. C.; SHOCKNESS, L. D. S. F.; SANTOS FILHO, A. L.; DO NASCIMENTO, I. R.; MACIEL, L. D.; DA SILVA, L. R.; COSTA, G. E. G. Crescimento de *Panicum maximum* cv. BRS Zuri em resposta a rizobactéria e nitrogênio. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, Viçosa, v. 10, p. 33-37, 2020.

PICAZEVICZ, A. A.; KUSDRA, J. F.; MORENO, A. D. L. Maize growth in response to *Azospirillum brasilense*, *Rhizobium tropici*, molybdenum and nitrogen. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 21, n. 9, p. 623-627, 2017.

PRIMAVESI, O.; CORRÊA, L. DE A.; PRIMAVESI, A. C. **Adubação com ureia em pastagem de *Cynodon dactylon* cv. Coastcross sob manejo rotacionado: eficiência e perdas**. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2001. 42 p. (Circular Técnica, 30).

QUAGGIO, J.A.; VAN RAIJ, B.; MALAVOLTA, E. Alternative use of the SMP-buffer solution to determine lime requirement of soils. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 16, n. 3, p. 245-260, 1985.

RAIJ, B. van. **Fertilidade do solo e adubação**. Piracicaba: Agronômica Ceres Ltda. e Associação Brasileira para Pesquisa de Potassa e do Fósforo, 1991. 343p.

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

ROCHA, A. F. S.; COSTA, R. R. G. F. Desempenho de *Urochloa brizantha* cv. Paiaguás inoculada com *Azospirillum brasilense* e diferentes doses nitrogênio. **Global Science and Technology**, Melbourne, v. 11, n. 3, 2018.

ROSA, P. A. L.; MORTINHO, E. S.; JALAL, A.; GALINDO, F. S.; BUZETTI, S.; FERNANDES, G. C.; BARCO NETO, M.; PAVINATO, P. S.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M. Inoculation with growth-promoting bacteria associated with the reduction of phosphate fertilization in sugarcane. **Frontiers in Environmental Science**, Genebra, v. 8, p. 32, 2020.

ROSADO, T. L.; GONTIJO, I.; ALMEIDA, M. S.; NETO, A. C.; SIMON, C. P. Production and tillering of Mombaça grass with different sources and levels of applied nitrogen. **Revista Engenharia na Agricultura-REVENG**, Viçosa, v. 24, n. 2, p. 139-146, 2016.

RUSSELE, M. P. Nitrogen cycling in pasture systems. In: JOOST, R. E., ROBERTS, C. A. (Ed.). **Nutrient cycling in forage systems**. Columbia: PPI: FAR, 1996. p. 125-166.

SAMPAIO, F. A. R.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; OLIVEIRA, C. E. S.; JALAL, A.; BOLETA, E. H. M.; LIMA, B. H.; ROSA, P. A. L.; GALINDO, F. S.; SOUZA, J. S. Nitrogen supply associated with rhizobacteria in the first productive cycle of Marandu grass. **Journal of Crop Science and Biotechnology**, Basel, v.24, p.429–439, 2021.

SANTOS, H. G. d.; 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.

SANTOS, M. S.; NOGUEIRA, M. A.; HUNGRIA, M. Microbial inoculants: reviewing the past, discussing the present and previewing an outstanding future for the use of beneficial bacteria in agriculture. **AMB Express**, Heidelberg, v. 9, n. 1, p. 205, 2019.

SILVA, A. R.; OLIVIO, C. J.; GRANADA, D. M.; CASAGRANDE, L. M.; QUATRIN, M. P.; SAUTER, C. P. Productivity and nutritive value of Tifton 85 bermudagrass inoculated with *Azospirillum brasilense* in association with nitrogen fertilization. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 70, p. 42-50, 2023.

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

SILVA, H. M. S. D.; VENDRAMINI, J. M.; LEITE DE OLIVEIRA, F. C.; SOARES FILHO, C. V.; KANEKO, M.; SILVEIRA, M. L.; SANCHEZ, J. M. D.; YARBOROUGH, J. K. Harvest frequency effects on herbage characteristics of 'Mavuno' brachiariagrass. **Crop Science**, Hoboken, v. 60, N. 2, p. 1113-1122, 2020.

SIVASAKTHI, S.; KANCHANA, D.; USHARANI, G.; SARANRAJ, P. Production of plant growth promoting substance by *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis* isolates from paddy rhizosphere soil of Cuddalore District, Tamil Nadu,

India. **International Journal of Microbiological Research**, Dubai, v. 4, n. 3, p. 227-233, 2013.

SKONIESKI, F. R.; VIÉGAS, J.; MARTIN, T. N.; NÖRNBERG, J. L.; MEINERZ, G. R.; TONIN, T. J.; FRATA, M. T. Effect of seed inoculation with *Azospirillum brasilense* and nitrogen fertilization rates on maize plant yield and silage quality. **Revista Brasileira de Zootecnia**, São Paulo, v. 46, n. 9, p. 722-730, 2017.

SKORUPA, L. A.; MANZATTO, C. V. Avaliação da adoção de sistemas de integração lavoura-pecuária-floresta (ILPF) no Brasil. In: SKORUPA, L. A., MANZATTO, C. V. (Ed.) **Sistemas de integração lavoura-pecuária floresta no Brasil: adoção, impactos e estratégias de transferência de tecnologia**. Brasília, DF: Embrapa, 2019. p. 340-379.

SMITH, C.; HILL, A. K.; TORRENTE-MURCIANO, L. Current and future role of Haber–Bosch ammonia in a carbon-free energy landscape. **Energy & Environmental Science**, Cambridge, v. 13, n. 2, p. 331-344, 2020.

TEIXEIRA FILHO, M. M.; GALINDO, F. S. Inoculação de bactérias com foco na fixação biológica de nitrogênio e promoção de crescimento vegetal. Cap.11, in: SEVERIANO, E. C.; MORAES, M. F.; PAULA, A. M. **Tópicos em Ciência do Solo** - Volume X, ed.1, editora, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. 2019. 728p.

TONIATO, A. K.; CECATO, U.; DUARTE, C.F.D.; HUNGRIA, M.; FERNANDES, H. J.; BISERRA, T. T.; SELLA, M. A. Z., BARREIROS, A. R. D. Valor nutritivo do capim Paiaguás (*Urochloa brizantha* cv. BRS Paiaguás) inoculado com bactérias promotoras do crescimento vegetal e doses de nitrogênio. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 55.; CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA, 28., 2018, Goiânia. **Anais [...]**: Goiânia: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2018. trab. 0873., 2018.

WHITEHEAD, D. C.; RAISTRICK, N. Ammonia volatilization from five nitrogen compounds used as fertilizers following surface application to soils. **Journal of Soil Science**, Chichester, v. 41, n. 3, p. 387-394, 1990.

VALLE, C. B. d; EUCLIDES, V. P. B.; MONTAGNER, D. B.; VALERIO, J. R.; MENDES-BONATO, A. B.; VERZIGNASSI, J. R.; TORRES, F. Z. V.; MACEDO, M. C. M.; FERNANDES, C. D.; BARRIOS, S.C. L.; DIAS-FILHO, M. B.; MACHADO, L. A. Z.; ZIMMER, A. H. BRS Ipyporã (“belo começo” in guarani): Embrapa híbrido de Brachiaria. **Comunicado Técnico**, v. 132, 2017.

VENDRUSCOLO, E. C. G.; MESA, D.; MISSIO, R. F. Effect in soil and rhizosphere microbiota of *Brachiaria* inoculated with *Azospirillum brasilense*: A pilot trial in two oxisol types. **Soil Research**, Clayton, v. 61, n. 4, p. 365-377, 2023.

ZHANG, J.; HUSSAIN, S.; ZHAO, F.; ZHU, L.; CAO, X.; YU, S.; JIN, Q. Effects of *Azospirillum brasilense* and *Pseudomonas fluorescens* on nitrogen transformation and enzyme activity in the rice rhizosphere. **Journal of Soils and Sediments**, Heidelberg, v. 18, p. 1453-1465, 2018.

ZARMEHRI, G. S.; MOOSAVI, S. G.; ZABIHI, H. R.; SEGHATESLAMI, M. J. The effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and zinc fertilizer on forage yield of maize under water deficit stress conditions. **Journal of Applied Science, Engineering and Technology**, [s. l.], v. 3, p. 3281-3290, 2013.

APÊNDICE A – FOTOS DO TRABALHO DE PESQUISA

Foto 01 – Área antes da implantação dos experimentos (pastagem degradada)



Fonte: arquivo do autor

Foto 02 – Área experimental dessecada com glifosato, antes do preparo do solo



Fonte: Arquivo do autor

Foto 03 – Distribuição de calcário



Fonte: Arquivo do autor

Foto 04 – Área após aração com arado de discos



Fonte: Arquivo do autor

Foto 05 – Aplicação de gesso agrícola em superfície



Fonte: Arquivo do autor

Foto 06 – Locação das parcelas experimentais



Fonte: Arquivo do autor

Foto 07 – Preparo de sulcos de semeadura



Fonte: Arquivo do autor

Foto 08 – Inoculantes bacterianos



Fonte: Lima *et al.* (2018)

Foto 09 – Inoculação das sementes



Fonte: Carvalho *et al.* (2020b)

Foto 10 – Semeadura em sulcos



Fonte: Arquivo do autor

Foto 11 – Equipe de trabalho após a semeadura



Fonte: Arquivo do autor

Foto 12 – Pós emergência do capim Mulato II



Fonte: Arquivo do autor

Foto 13 – Transplântio de mudas de capim Ipyporã para recomposição do estande



Fonte: Arquivo do autor

Foto 14 – Adubação de estabelecimento da pastagem



Fonte: Arquivo do autor

Foto 15 – Capim Ipyporã em ponto de corte



Fonte: Arquivo do autor

Foto 16 – Capim Mulato II em ponto de corte



Fonte: Arquivo do autor

Foto 17 – Visão geral da área experimental



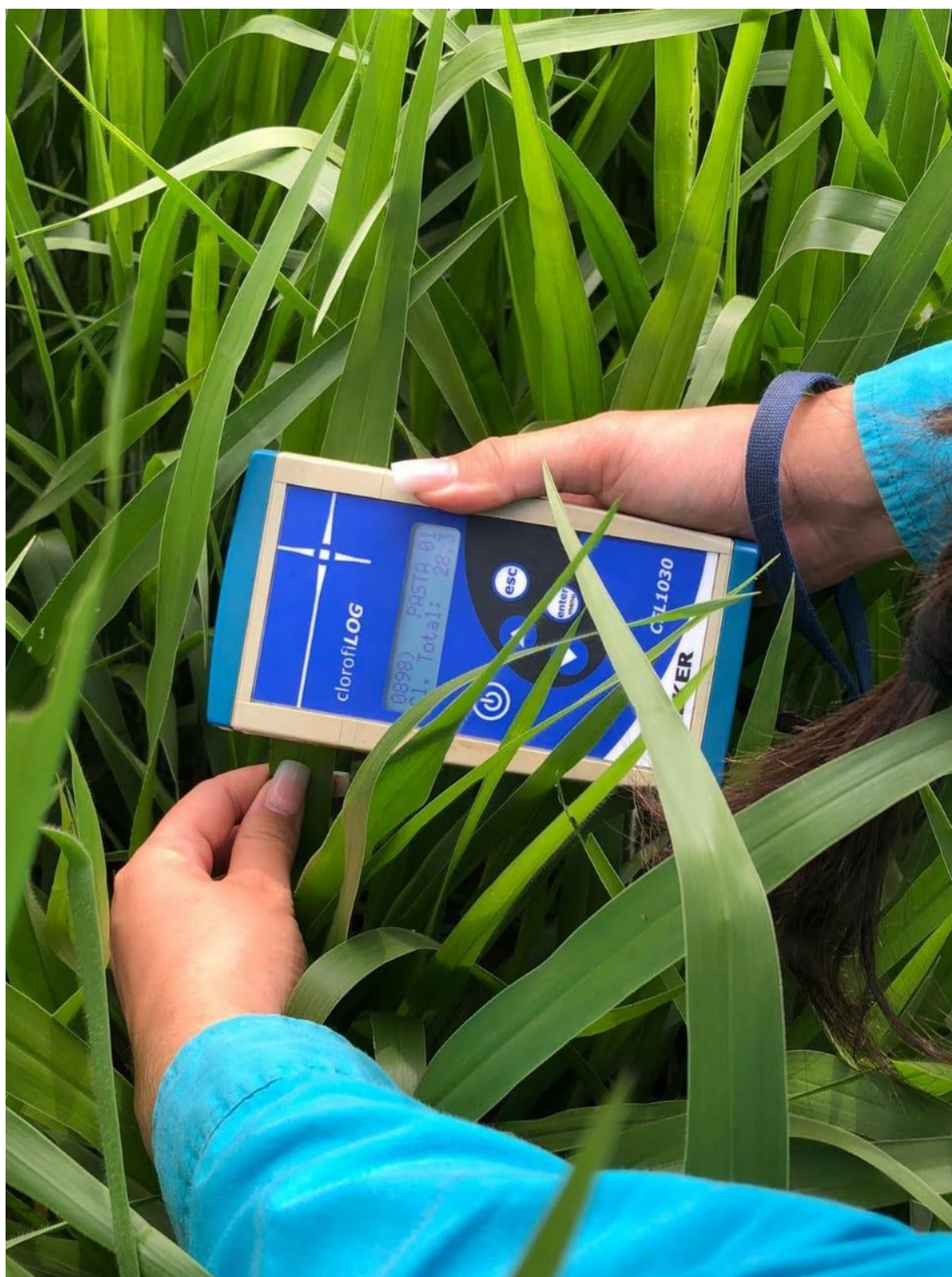
Fonte: Arquivo do autor

Foto 18 – Medição da altura do capim Mulato II



Fonte: Arquivo do autor

Foto 19 – Leitura da clorofila total com uso do clorofilômetro



Fonte: Arquivo do autor

Foto 20 – Corte da forragem contida em quadrado de PVC de 0,25 m²



Fonte: Arquivo do autor

Foto 21 – Contagem manual de perfilhos vivos



Fonte: Arquivo do autor

Foto 22 – Roçagem de uniformização da parcela após o corte de avaliação



Fonte: Arquivo do autor

Foto 23 – Parcela roçada e rastelada após o corte de avaliação



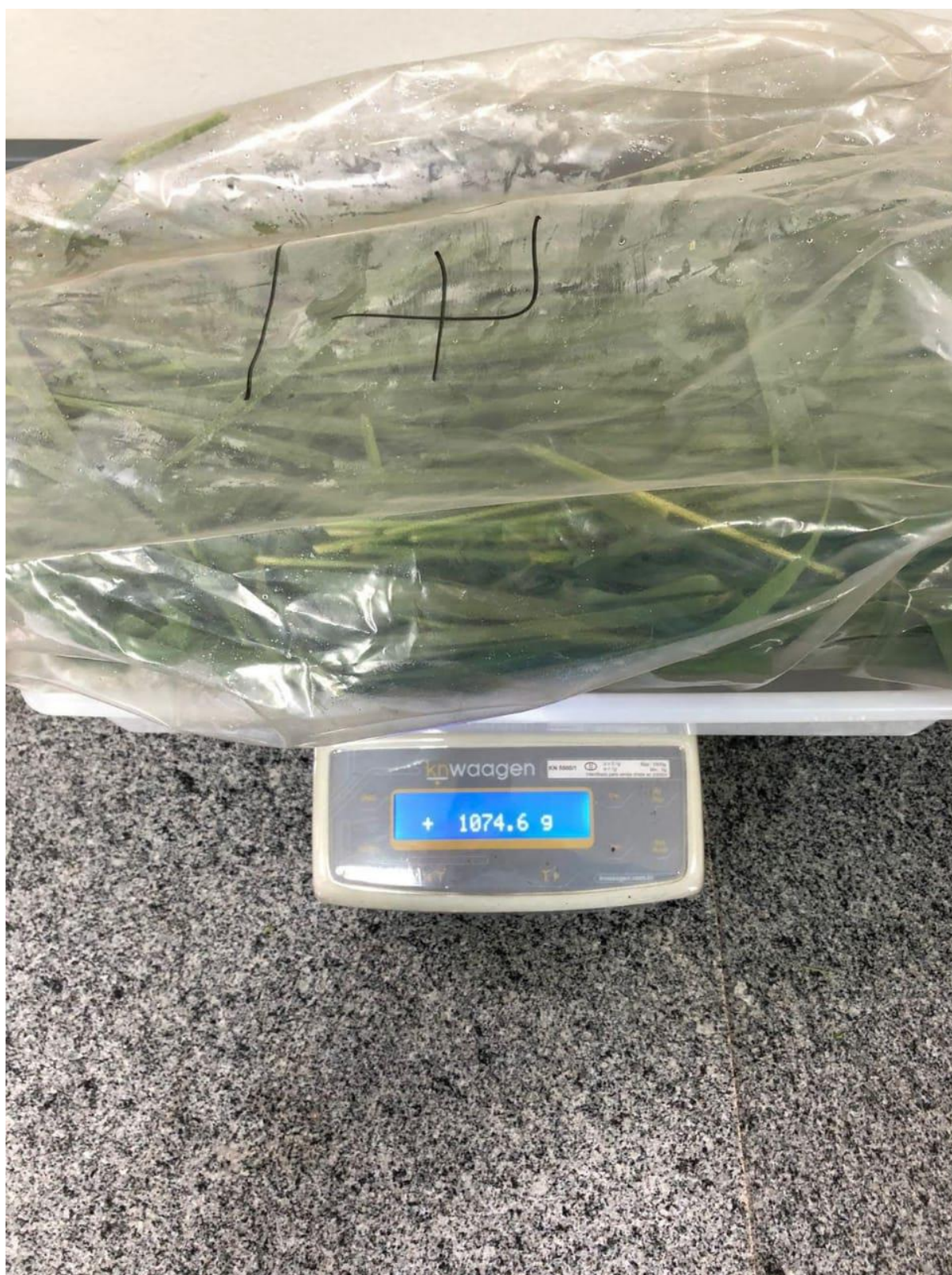
Fonte: arquivo do autor

Foto 24 – Visão geral da área experimental, capins em fase de rebrota



Fonte: arquivo do autor

Foto 25 – Pesagem da amostra colhida



Fonte: Arquivo do autor

Foto 26 - Pesagem de alíquota para determinação da massa seca



Fonte: arquivo do autor

Foto 27 – Separação da lâmina foliar e do pseudocolmo



Fonte: arquivo do autor

Foto 28 – Secagem de amostra em estufa



Fonte: arquivo do autor

Foto 29 – Moagem da amostra em moinho tipo Willey, peneira de 1 mm



Fonte: arquivo do autor

Foto 30 – Amostras moídas prontas para envio ao laboratório



Fonte: arquivo do autor

Foto 31 – Pesagem das amostras para análise foliar



Fonte: arquivo do autor

Foto 32 – Digestão sulfúrica para determinação da concentração de nitrogênio



Fonte: arquivo do autor

Foto 33 – Destilação pelo método micro-Kjeldahl para determinação de nitrogênio na planta



Fonte: arquivo do autor