

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA (UNESP)
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E TECNOLÓGICAS
CAMPUS DE DRACENA**

Flavia Rodrigues Martinez
Bióloga

**INOCULAÇÃO DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE
CRESCIMENTO DE PLANTAS ASSOCIADAS COM
NITROGÊNIO MINERAL EM *Megathyrsus maximus* CV
MIYAGUI**

Dracena – SP
2025

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA (UNESP)
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E TECNOLÓGICAS
CAMPUS DE DRACENA**

Flavia Rodrigues Martinez

Bióloga

**INOCULAÇÃO DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE
CRESCIMENTO DE PLANTAS ASSOCIADAS COM
NITROGÊNIO MINERAL EM *Megathyrsus maximus* CV
MIYAGUI**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas – Unesp, Câmpus de Dracena como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia Animal.

Orientador: Prof. Titular Cecílio Viegas Soares Filho

Co-orientador: Prof. Associado Reges Heinrichs

Dracena – SP

2025

FICHA CATALOGRÁFICA
Desenvolvida pela Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação
Campus de Dracena

M3852i

Martinez, Flavia Rodrigues

Inoculação de bactérias promotoras de crescimento de plantas associadas com nitrogênio mineral em *Megathyrsus maximus* cv Miyagui / Flavia Rodrigues Martinez. -- Dracena: [s.n.], 2025.

66 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas, Dracena. Área do conhecimento: Produção Animal, 2025.

Orientador: Cecílio Viegas Soares Filho

1. Nitrogênio - Fixação. 2. Desempenho - Avaliação. 3. Plantas - Nutrição. I. Título.

Bibliotecário Fábio S. Rosas
CRB 8/6665

IMPACTO ESPERADO NA SOCIEDADE

O presente estudo contribui para o desenvolvimento de práticas sustentáveis na pecuária brasileira, setor de grande importância econômica e social para o país. A inoculação de bactérias promotoras do crescimento de plantas, associadas à adubação nitrogenada mineral, constitui uma estratégia promissora para o aumento da produtividade.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Inoculação de bactérias promotoras de crescimento de plantas associadas com nitrogênio mineral em *Megathyrus maximus* cv Miyagui

AUTORA: FLAVIA RODRIGUES MARTINEZ

ORIENTADOR: CECILIO VIEGA SOARES FILHO

COORDENADOR: REGES HEINRICH

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Ciências , pela Comissão Examinadora:

 Documento assinado digitalmente
CECILIO VIEGA SOARES FILHO
Data: 08/09/2025 11:22:39 -0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof. Titular CECILIO VIEGA SOARES FILHO (Participação Virtual)
Departamento de Produção e Saúde Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Unesp - Câmpus de Araçatuba

 Documento assinado digitalmente
MARCO ANTONIO NOGUEIRA
Data: 09/09/2025 12:50:04 -0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Pesquisador Dr. MARCO ANTONIO NOGUEIRA (Participação Virtual)
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) - Londrina/PR

 Documento assinado digitalmente
ADONIS MOREIRA
Data: 09/09/2025 10:02:02 -0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Pesquisador Dr. ADÔNIS MOREIRA (Participação Virtual)
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) - Londrina/PR

Dracena, 02 de setembro de 2025

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Flavia Rodrigues Martinez, nascida em 27 de junho de 1991 no município de Dracena, São Paulo. Graduada em Ciências Biológicas pela UNIFAI em 2017. Ingressou no curso de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia Animal em março de 2023, na área de produção animal, foi bolsista CAPES durante 24 meses.

DEDICATÓRIA

À minha filha Letícia Harumi M. Nakamura, ao meu esposo Ricardo M. Nakamura, minha mãe Leoneide R. Martinez, meu pai Carlos A. G. Martinez e aos meus irmãos Fernanda R. Martinez e Fausto R. Martinez, que me deram total apoio durante essa caminhada, possibilitando mais essa conquista.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por me guiar e colocar pessoas especiais em meu caminho.

Minha imensa gratidão a toda a minha família, ao meu esposo Ricardo Massaki Nakamura por todo o apoio e suporte durante esse período, aos meus pais Carlos Alberto Garcia Martinez e Leoneide Rodrigues Martinez por todo o incentivo e aos meus irmãos Fernanda Rodriguez Martinez e Fausto Rodrigues Martinez por mesmo de longe se fazerem presente sendo grandes incentivadores.

Agradeço ao meu orientador Cecílio Viegas Soares Filho e ao meu co-orientador Reges Heinrichs, pela oportunidade, por todo o conhecimento transmitido, pelo apoio e compreensão durante todo esse período.

À Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP – Câmpus de Dracena, que com toda infraestrutura pude desenvolver todo o meu experimento.

Aos membros da banca que aceitaram o convite para participar desse momento tão importante, disponibilizando seu conhecimento e tempo para estarem presentes.

Ao GENAP (Grupo de Experimentação em Nutrição e Adubação de Plantas), e todos os membros, que contribuíram através do companheirismo e aprendizado de cada um.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

À Pró-reitoria de Pós-graduação (PROPG) pela concessão do auxílio do edital de Mobilidade de discentes e docentes da Pós-graduação para que parte das análises fossem realizadas no laboratório de bromatologia na FMV Araçatuba.

Ao Carlos Renato Santos Rodrigues técnico do laboratório de bromatologia da Unesp – Câmpus de Araçatuba, pelos ensinamentos e auxílio durante as análises realizadas.

Às minhas amigas da pós-graduação, Caroline Gomes Azevedo, Júlia Paschoareli Ferro Duarte, Kátia Lirian Rocha Souza, Laura Chuba Machado Rolniche e Lucila de Sousa Vilela, que tornaram essa caminhada mais leve e divertida.

A todos os funcionários do administrativo, técnicos e todo o corpo docente da instituição, pelo acolhimento e apoio solucionando todas as dúvidas.

*“A excelência consiste em fazer algo
comum de maneira não comum.”
(BOOKER T. WASHINGTON).*

RESUMO

A substituição parcial de fertilizantes nitrogenados por microrganismos que realizam a fixação biológica de nitrogênio (N) e promovem o crescimento das plantas pode reduzir as emissões de CO₂. O objetivo dessa pesquisa foi avaliar o efeito da inoculação com bactérias promotoras do crescimento de plantas associadas a dose de N em *Megathyrsum maximum* cv. Miyagui na produção de biomassa aérea e raízes, número de perfilhos, índice relativo de clorofila (SPAD), teor e acúmulo de N e valor nutritivo (proteína bruta, fibra insolúvel em detergente neutro, fibra insolúvel em detergente ácido e digestibilidade verdadeira in vitro da matéria seca). O experimento foi conduzido em casa de vegetação em delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições. Os tratamentos foram: três bactérias promotoras de crescimento e duas doses de N (média e alta): 1- não inoculado e sem N; 2- não inoculado + 40 mg/dm³ N; 3- Não inoculado + 80 mg/dm³ de N; 4- *Azospirillum brasilense* (Ab-V5 + Ab-V6) + 40 mg/dm³ de N; 5- *Bacillus sp.* N72 + 40 mg/dm³ de N; 6 – *Bacillus sp.* S26 + 40 mg/dm³ de N; 7 – Co-inoculação com *Azospirillum brasilense* + *Bacillus sp.* N72 + *Bacillus sp.* S26 + 40 mg/dm³ de N. As plantas dos tratamentos inoculados com *A. brasilense* e *Bacillus sp.* S26 produziram 4% e 2% a mais de massa seca de forragem que o tratamento não inoculado e fertilizado com 40 mg/dm³ de N, respectivamente. A produção acumulada de massa seca das plantas inoculadas com *Bacillus sp.* S26 produziu 14,9% a mais que as não inoculadas e fertilizadas com apenas 40 mg/dm³ de N. Quanto ao teor de N, as plantas não inoculadas e fertilizadas com 80 mg/dm³ de N não diferiram estatisticamente das inoculadas com *A. brasilense* e *Bacillus sp.* S26 + 40 mg/dm³ de N. As plantas inoculadas com *Bacillus sp.* S26 tiveram um desempenho de 7% melhor que as com apenas com 40 mg/dm³ de N e 24% melhor que as com 80 mg/dm³ de N na avaliação radicular. Os mais altos valores de SPAD foram observados nas plantas com 80 mg/dm³ de N e *Bacillus sp.* S26 + 40 mg/dm³ de N. A produção de perfilhos se destacou nas plantas inoculadas com *A. brasilense* e *Bacillus sp.* S26. A inoculação com *Bacillus sp.* S26 promoveu desempenho das plantas o que justifica futuras pesquisas com essa bactéria.

Palavras-chaves: Nitrogênio - Fixação. Desempenho - Avaliação. Plantas - Nutrição.

ABSTRACT

Partial replacement of nitrogen fertilizers with microorganisms that perform biological nitrogen (N) fixation and promote plant growth can reduce CO₂ emissions. The objective of this research was to evaluate the effect of inoculation with plant growth-promoting bacteria associated with a dose of N on *Megathyrsum maximum* cv. Miyagui in the production of aerial biomass and roots, number of tillers, relative chlorophyll index (SPAD), N content and accumulation and nutritional value (crude protein, neutral detergent insoluble fiber, acid detergent insoluble fiber and true in vitro digestibility of dry matter). The experiment was conducted in a greenhouse in a completely randomized design, with five replications. The treatments were: three growth-promoting bacteria and two doses of N (medium and high): 1- not inoculated and without N; 2- not inoculated + 40 mg/dm³ N; 3- Not inoculated + 80 mg/dm³ of N; 4- *Azospirillum brasilense* (Ab-V5 + Ab-V6) + 40 mg/dm³ of N; 5- *Bacillus* sp. N72 + 40 mg/dm³ of N; 6 – *Bacillus* sp. S26 + 40 mg/dm³ of N; 7 – Co-inoculation with *Azospirillum brasilense* + *Bacillus* sp. N72 + *Bacillus* sp. S26 + 40 mg/dm³ of N. **Keywords:** Biological nitrogen fixation. Efficiency assessment. Plant nutrition. Plants from treatments inoculated with *A. brasilense* and *Bacillus* sp. S26 produced 4% and 2% more forage dry mass than the non-inoculated treatment and fertilized with 40 mg/dm³ of N, respectively. The accumulated dry mass production of plants inoculated with *Bacillus* sp. S26 produced 14.9% more than those not inoculated and fertilized with only 40 mg/dm³ of N. Regarding N content, the non-inoculated plants and fertilized with 80 mg/dm³ of N did not differ statistically from those inoculated with *A. brasilense* and *Bacillus* sp. S26 + 40 mg/dm³ of N. Plants inoculated with *Bacillus* sp. S26 performed 7% better than those with only 40 mg/dm³ of N and 24% better than those with 80 mg/dm³ of N in the root evaluation. The highest SPAD values were observed in plants with 80 mg/dm³ of N and *Bacillus* sp. S26 + 40 mg/dm³ of N. Tiller production was outstanding in plants inoculated with *A. brasilense* and *Bacillus* sp. S26. Inoculation with *Bacillus* sp. S26 promoted plant performance, which justifies future research with this bacterium.

Keywords: Nitrogen - Fixation. Performance - Evaluation. Plants - nutrition.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	OBJETIVOS	15
3	REVISÃO DE LITERATURA	16
4	MATERIAIS E MÉTODOS	24
4.1	Local do Experimento	24
4.2	Coleta do Solo	24
4.3	Espécie Forrageira e Instalação	27
4.4	Delineamento Experimental e Tratamentos	28
4.4.1	Parâmetros Avaliados	31
4.4.2	Produção de Massa Seca de Forragem	31
4.4.3	Avaliação do Sistema Radicular	32
4.4.4	Teores N-Total Foliar	33
4.4.5	Medidas do Teor de Clorofila	35
4.4.6	Análises Bromatológicas	35
4.5	Análises Estatísticas	38
5	RESULTADOS	40
5.1	Produção de Massa Seca (MS)	40
5.2	Índice Relativo de Clorofila (SPAD)	41
5.3	Teor de Nitrogênio (N)	42
5.4	Altura das Plantas	43
5.5	Número de Perfilhos	43
5.6	Produção de Massa Seca de Raízes e Teor Acumulado de N	44
5.7	Valor Nutritivo	45
5.7.1	Proteína Bruta	45
5.7.2	FDN, FDA e Digestibilidade Verdadeira <i>in vitro</i> da Matéria Seca	45
6	DISCUSSÃO	48
6.1	Produção de Massa Seca de Forragem	48
6.2	Índice Relativo de Clorofila	50
6.3	Produção de Perfilhos e Altura das Plantas	51
6.4	Teor de Nitrogênio (N) na Parte Aérea	52
6.5	Avaliação Radicular	54
6.6	Valor Nutritivo	56
7.	CONCLUSÕES	57
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58

1 INTRODUÇÃO

A pecuária brasileira possui atualmente o maior rebanho comercial mundial, totalizando cerca de 234,4 milhões de bovinos (IBGE, 2023), seguido da Índia com 193,2 milhões e da China com 120,9 milhões, além de ser o maior exportador de carne bovina. De acordo com a ABIEC (2024) até o momento no ano de 2024 foram mais de 42 milhões de cabeças abatida e mais de 10 milhões de toneladas de carne (TEC) produzidas. Dessa produção fica para o mercado interno cerca de 7 milhões de toneladas e 3 milhões de toneladas são destinadas à exportação. De acordo com o IBGE, censo agro 2017, a pecuária brasileira ocupa quase 160 milhões de hectares (Mha), equivalente a cerca de 2,8 vezes a área ocupada por lavouras de grãos, sendo 113 Mha constituídos por pastagens cultivadas, e o restante representado por pastagens nativas. Com base na área utilizada para produção de sementes forrageiras, 25,7% das pastagens plantadas no Brasil são ocupadas pela espécie *Megathyrsus maximus* (Jacq.) e 72,2% são ocupados por *Urochloa* spp. *M. maximus* vem sendo cada vez mais utilizada no Brasil, apresentando boa adaptação a todas as condições climáticas, alta produção de biomassa com bom valor nutricional e palatabilidade (Jank, 2003).

Devido aos menores custos de produção, 93% do rebanho bovino no Brasil tem sido criado em pastagens. Nesse sistema, os animais são criados em pastagens como fonte primária de alimento, com menores custos de insumos e mão de obra, mas em áreas maiores (Bahlo *et al.*, 2019). A falta de investimentos em conservação do solo, leva à degradação das pastagens e à diminuição da capacidade de suporte do gado e aumenta a pressão para abertura de novas áreas. No entanto é sabido que a recuperação de áreas degradadas, aumenta a capacidade de produção e exclui a necessidade de abertura de novas áreas de pastagens (Terra *et al.*, 2019). Cerca de 70% das áreas de pastagens do Brasil estão em algum estágio de degradação (Macedo; Araujo, 2019). A diminuição da fertilidade do solo devido ao manejo inadequado está entre os principais fatores responsáveis pela degradação das pastagens, levando à redução progressiva do vigor e baixas capacidades produtivas e de recuperação (Peron; Evangelista, 2004). O nitrogênio (N) é o nutriente mais limitante requerido para o crescimento da pastagem, seguido pelo fósforo (P). A baixa disponibilidade de N e P em solos tropicais prejudica a produção e a qualidade da forragem, diminuindo o ganho de peso animal e o desempenho reprodutivo. Além de

seu importante papel como componente de aminoácidos e proteínas, o N participa da fotossíntese, afetando a captação de luz e favorecendo uma maior produção de proteínas (Hungria; Nogueira, 2023). O fósforo desempenha um papel importante nos principais processos metabólicos, como fotossíntese, transferência de energia, transdução de sinal, biossíntese de macromoléculas e respiração (Sharma *et al.*, 2013).

Os fertilizantes nitrogenados são caros, e seu rendimento industrial, através do tradicional processo Haber-Bosch, é atualmente responsável por 1,2% das emissões antrópicas de CO₂ (Smith *et al.*, 2020), pois requer grandes quantidades de combustíveis fósseis para síntese.

Segundo Freitas *et al.* (2023), a altura, número de perfilhos, percentagem de lâmina foliar, índice relativo de clorofila e acúmulo de N apresenta um efeito positivo e benéfico com a inoculação das bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP). Epode ser uma alternativa sustentável para redução de uso de fertilizantes nitrogenados. Portanto, a substituição parcial de fertilizantes nitrogenados por microrganismos que realizam a fixação biológica de nitrogênio (FBN) e promovem o crescimento das plantas por meio de vários mecanismos pode reduzir as emissões de CO₂ (Hungria *et al.*, 2016).

Os desafios para suprir as necessidades de uma população cada vez maior, estimada globalmente em 9,7 bilhões de pessoas até 2050, e as preocupações com os impactos ambientais causados pela pecuária exigem novas estratégias e tecnologias para mitigar os impactos decorrentes da produção de proteína animal (Abramovay, 2010). Neste contexto, várias espécies de BPCP, principalmente *Azospirillum brasilense*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis*, e *Rhizobium tropici*, têm sido estudadas e utilizadas como inoculantes em gramíneas (Guimarães *et al.*, 2022). Segundo Hungria & Nogueira (2023), os principais mecanismos bacterianos de promoção do crescimento em plantas incluem a síntese de fitormônios, como ácido indol-3-acético (IAA), citocininas, giberelinas e etileno, fixação biológica de nitrogênio, síntese de enzimas como ACC (1-aminociclopropano-1-ácido carboxílico) deaminase, mineralização de nutrientes, solubilização de fosfato e uma maior tolerância a estresses abióticos e bióticos, além de outros benefícios associados a uma variedade de outras moléculas. No entanto, Lopes *et al.* (2021) relatam que a adoção de inoculantes portadores de BPCP requer maior conhecimento da interação

entre os microrganismos e a planta hospedeira, bem como o desenvolvimento de boas práticas de inoculação, incluindo o ajuste de doses e métodos de aplicação; atualmente, existem poucos estudos com foco em pastagens de gramíneas, com informações modestas.

É sabido que a vegetação natural e as espécies de plantas introduzidas numa área afetam a comunidade microbiana no solo (Garrido *et al.*, 2010; Viana *et al.*, 2011). As espécies são capazes de colonizar sementes e radículas, mas é possível observar diferenças, com maior capacidade de *A. brasilense*, em relação às características da raiz, biomassa da parte aérea e acúmulo de nutrientes na parte aérea. Além de diferenças entre os genótipos que possuem melhor desempenho como as cultivares Zuri e Mombaça, as cultivares Tamani e Massai têm menor responsividade (Heinrichs *et al.*, 2020; Guimarães *et al.*, 2023). A cultivar Miyagui foi obtida em 2009, sendo coletada em uma área da Fazenda Fortaleza em Valparaíso – SP e foi melhorada por meio de seleção de indivíduos que apresentavam características desejáveis. As principais características são alta produção de forragem, folhas largas e compridas, grande produção de sementes e panícula mais fechada (MAPA, 2017).

Neste contexto, o presente estudo tem por objetivo avaliar os efeitos da inoculação e co-inoculação via semente com três espécies de BPCP e a combinação com duas doses de N (média e alta) em *M. maximum* cv. Miyagui, sobre a produção de biomassa da parte aérea e raízes, número de perfilhos, índice relativo de clorofila, valor nutritivo, teor e acúmulo de N em um experimento conduzido em ambiente protegido.

2 OBJETIVOS

Avaliar os efeitos da inoculação e co-inoculação de três espécies de BPCP e a combinação delas associadas a duas doses de nitrogênio (média e alta) em *M. maximum* cv. Miyagui na produção de biomassa da parte aérea e raízes, número de perfilhos, índice relativo de clorofila, valor nutritivo, teor e acúmulo de N em ambiente controlado.

3 REVISÃO DE LITERATURA

A busca por espécies forrageiras altamente produtivas está em alta, impulsionada pela intensificação da pecuária e dos sistemas agrícolas (Braga *et al.*, 2019). As gramíneas pertencentes ao gênero *Megathyrsus* destacam-se como escolhas frequentes na agropecuária, devido à sua notável produtividade e valor nutricional. Similarmente às forrageiras do gênero *Urochloa*, o *Megathyrsus* é reconhecido por sua alta produção de biomassa e rápido rebrote (Soares, 2017), além de sua capacidade de estabelecimento fácil, valor nutritivo satisfatório e crescimento robusto, mesmo em períodos de seca (Silva *et al.*, 2016). A espécie *Megathyrsus maximum* sobressai-se pela disponibilidade de cultivares de qualidade superior, adaptadas a diversas regiões globais (Silva *et al.*, 2020), amplamente empregadas em sistemas de pastejo intensivo para criação, engorda e terminação de gado bovino de corte.

Em sistemas de produção pecuária baseados em pastagens tropicais, é essencial aumentar a disponibilidade de nitrogênio (N) para alcançar altos níveis de produção de massa seca (MS) e melhorar o valor nutritivo, especialmente o teor de proteína bruta (PB) (Campos *et al.*, 2016). Isso resulta em maior capacidade de suporte animal por área (Assmann *et al.*, 2004). O N desempenha um papel fundamental nas proteínas, contribuindo para o aumento da produção de massa seca das gramíneas forrageiras, sendo essencial para manter sua produtividade (Dupas *et al.*, 2016). Quando aplicado, é assimilado pelas plantas e incorporado em suas estruturas celulares, impulsionando o crescimento do rebrote e a produção total de massa seca verde, especialmente em condições climáticas favoráveis (Galindo *et al.*, 2017).

O N é um nutriente fundamental para melhorar o ambiente de produção, envolvido diretamente no seu crescimento, sendo constituinte de aminoácidos, amidas, proteínas, clorofila, ácidos nucleicos, coenzimas e hexoaminas (Taiz *et al.*, 2017). Entretanto, o N é muito dinâmico no ambiente, sendo afetado pelas condições do solo e do clima.

Embora cerca de 80% do ar seja composto por N₂, as plantas não podem assimilá-lo diretamente devido à sua forma molecular estável, caracterizada pela tripla ligação entre dois átomos de nitrogênio. Isso torna o gás N₂ inerte em temperatura

ambiente e indisponível para os eucariotos. Apenas uma parcela dos organismos procarióticos possui a capacidade de converter ou reduzir enzimaticamente o nitrogênio atmosférico em amônia, que pode então ser assimilado na biosfera. Esses organismos são conhecidos como diazotróficos. E são capazes de disponibilizar o nitrogênio atmosférico (N_2) aos vegetais pelo processo denominado fixação biológica de nitrogênio (FBN) (Sprent; Sprent, 1990; Evans; Burris, 1992; Reis *et al.*, 2006).

As perdas de N por volatilização ocorrem após a hidrólise enzimática da ureia no solo, resultando na produção de amônia (NH_3) (Wang *et al.*, 2020). Além disso, durante o ciclo do N, ocorre o processo de amonificação, que também é responsável pela liberação de NH_3 , que pode volatilizar dependendo do pH ambiente. A volatilização de N- NH_3 , que consiste na transferência de amônia gasosa do solo para a atmosfera (Martha Junior, 2003). As perdas de N- NH_3 a partir de sais amoniacaais em solos alcalinos podem chegar a até 40% do N-total (Whitehead; Raistrick, 1990).

Entender como o N atua no solo e nas plantas é fundamental para gerenciar eficientemente as pastagens, otimizando o uso deste nutriente e minimizando perdas e interações microbiológicas que possam aumentar a eficiência de uso pelas forrageiras. No entanto, a simples concentração de N no solo não é suficiente para prever sua disponibilidade para as plantas. Nesse contexto, a diagnose foliar se destaca como uma ferramenta complementar para avaliar o estado nutricional das plantas, permitindo relacionar concentrações adequadas para maximizar seu desempenho (Abreu; Monteiro, 1999). Sua deficiência é apontada como a principal causa de redução na produtividade e degradação das áreas cultivadas com gramíneas forrageiras (Vasconcelos, 2006).

O N é o nutriente mais requisitado pelas plantas e apresenta o maior potencial de resposta à adubação. Desempenhando um papel vital em processos como trocas iônicas, fotossíntese, respiração e crescimento radicular (Malavolta, 2006). Análises da composição química de forrageiras são importantes, como os teores de proteína bruta (PB) e fibra insolúvel em detergente neutro. De acordo com Edwards *et al.* (1978), os níveis de PB são indicadores úteis para avaliar o valor nutricional da forragem. Quando esses níveis estão abaixo de 7% na composição nutricional da forragem, há uma limitação no estímulo à ingestão de alimentos devido à diminuição da taxa de degradação ruminal, resultando em uma redução na passagem da digesta. Similarmente, a fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) pode levar à repleção

ruminal, dependendo de sua participação na dieta, conforme observados por Pereira *et al.* (2010). O consumo de matéria seca pelos animais e sua digestibilidade podem ser avaliados pelos teores de FDN e fibra insolúvel em detergente ácido (FDA). Esses teores indicam a proporção de material altamente indigestível. Valores baixos de FDA estão associados a maior disponibilidade de energia e alta digestibilidade; por outro lado, baixos teores de FDN indicam maior taxa de consumo, embora o material consumível com essa característica possa ser prejudicial aos animais (Moura *et al.*, 2011).

Apesar de muitas gramíneas forrageiras responderem ao N, a aplicação de fertilizantes nitrogenados é dispendiosa e seus efeitos são passageiros em solos tropicais (Canto *et al.*, 2013). Além disso, esses fertilizantes minerais podem ser prejudiciais ao ambiente, já que cerca de metade do N é perdido por volatilização ou lixiviação (Reis Junior *et al.*, 2008; Pedreira *et al.*, 2017), representando um risco de contaminação do solo e da água devido ao acúmulo de nitrato, e aumento da emissão dos gases de efeito estufa, além de serem produzidos a partir de fontes de energia não renováveis (Morais *et al.*, 2012).

A diminuição no uso de fertilizantes com N que são produzidos por meio de combustíveis fósseis não renováveis resulta em maior sustentabilidade, reduzindo a poluição ambiental relacionada à produção de gado de corte (Bergamashi, 2006).

O potencial produtivo das cultivares de *M. maximus* tem sido amplamente observado em diversos estudos. Rosado *et al.* (2016) demonstraram resposta linear da cultivar Mombaça, irrigada, à aplicação de até 600 kg ha⁻¹ de N, utilizando diferentes fontes do nutriente (nitrato de cálcio, sulfato de amônio e ureia). O N é reconhecido como o nutriente mais restritivo para o crescimento vegetal globalmente, e a adubação mineral é uma prática comum para melhorar a taxa de lotação, o desempenho animal e a produtividade dos sistemas forrageiro-pecuários (Silva *et al.*, 2020; Bourscheidt *et al.*, 2019).

Para mitigar os custos da adubação nitrogenada, tem sido essencial adotar estratégias que aumentem o seu uso para produção de biomassa forrageira sem causar danos ambientais significativos no novo paradigma da pecuária. Nesse contexto, a inoculação de bactérias promotoras do crescimento vegetal emerge como uma alternativa viável, podendo promover, ainda que modesto, o fornecimento de N para as plantas por meio da FBN, mas também pelo estímulo às raízes pela produção

de fitormônios e indução de tolerância a estresses, muitas vezes atuando de forma sinérgica (Hungria *et al.*, 2016; Leite *et al.*, 2018). Estima-se que as bactérias diazotróficas possam contribuir com 10 a 42% do N fixado em gramíneas como milho e em leguminosas como soja e feijão, essas contribuições são ainda maiores (Alves *et al.*, 2009). De acordo com Okon & Labandera-Gonzales (1994), a FBN realizada por essas bactérias pode fornecer cerca de 40 kg ha⁻¹ ano⁻¹ de N em espécies como *Pennisetum* e *Megathyrsus*.

A associação entre bactérias e o sistema radicular de gramíneas está sendo apontada como uma técnica ambientalmente correta e economicamente viável para o aumento da eficiência de uso das adubações nitrogenadas.

De acordo com Vessey (2003), o termo "inoculante" refere-se à utilização de microrganismos vivos capazes de promover o crescimento vegetal de forma direta ou indireta, por meio de diversos mecanismos, sendo conhecidos mundialmente como biofertilizantes. A produção de inoculantes em laboratório para uso em larga escala teve início em 1896, com a comercialização iniciada em 1898 (Silva, 2009), sendo o mercado brasileiro de inoculantes um dos maiores globalmente (CHUEIRE *et al.*, 2003). A legislação brasileira, por meio do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), estipula que os inoculantes comerciais para leguminosas devem conter, no mínimo, 10⁹ células por grama ou mililitro do produto ao final de sua validade. Essa concentração equivale à quantidade de inoculante que deve ser misturada a 50 kg de semente para fornecer, no mínimo, 600.000 células bacterianas viáveis por semente, no caso da soja (MAPA, 2004). No caso dos inoculantes indicados para gramíneas, a concentração deve ser a informada pelo fabricante.

Os inoculantes devem ser elaborados com suporte estéril e estarem livres de micro-organismos não especificados até o fator de diluição 1x10⁻⁵, podendo este suporte ser sólido ou fluido e ter um prazo de validade mínimo de seis meses a contar da data de fabricação (MAPA, 2004).

Bactérias promotoras do crescimento em plantas (BPCP) pertencem a um grupo de microrganismos, que possuem a capacidade de se associarem às diversas partes das plantas, sendo comumente encontradas, no solo e na rizosfera, que podem ainda colonizar além das raízes, outros tecidos de plantas (Glick, 2014). As BPCP, a partir da interação com as plantas, possibilitam a captação de recursos, a inibição de patógenos (Glick, 2014), além da produção de sideróforos, solubilização de fosfato,

produção de auxinas como ácido indol-acético (AIA), 1- aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) deaminase e FBN, usando o complexo enzimático da nitrogenase (Ahemad; Kibret, 2014).

O uso dessas BPCP surge como resposta à pressão exercida nos sistemas agrícolas, devido ao uso de potenciais poluentes ambientais, como os fertilizantes nitrogenados. Essa alternativa, graças ao aumento da eficiência de uso de N, em parte à capacidade de FBN, permite uma redução parcial na dependência de fertilizantes nitrogenados (Baldani; Baldani, 2005; Bergamaschi *et al.*, 2007; Hungria *et al.*, 2010; Mus *et al.*, 2016; Gouda *et al.*, 2018). Para promover o progresso social, econômico e ambiental nos ecossistemas dominados por pastagens no Brasil, é crucial adotar biotecnologias para o manejo adequado da fertilidade do solo nessas áreas. As bactérias envolvidas na FBN geralmente são encontradas no interior dos tecidos vegetais ou próximas à rizosfera. A disponibilidade de N assimilável produzido por essas bactérias não é suficiente para a exigência das gramíneas tropicais, requerendo um suplemento nitrogenado adicional por meio de fertilizantes. Nesse contexto, a utilização de BPCP em gramíneas é considerada uma alternativa viável para a pecuária no país, aumentando a produção de forragem e aumentando a eficiência de uso de fertilizantes químicos, com benefícios adicionais para o meio ambiente.

O gênero *Azospirillum* é encontrado em uma ampla variedade de solos e climas (Andrade *et al.*, 2016). Essas bactérias, Gram-negativas, geralmente preferem ambientes aeróbicos, mas também podem crescer em ambientes com baixa concentração de oxigênio, sendo consideradas microaerofílicas. Utilizam ácidos orgânicos e pentoses como fontes de carbono, e amônio, nitrito, nitrato, aminoácidos e nitrogênio molecular (N₂) como fontes de N (Modesto *et al.*, 2019). No Brasil, há uma tradição em estudos sobre o *Azospirillum*; já década de 1970, Johanna Döbereiner (1924-2000) descreveu a capacidade dessa bactéria, inicialmente chamada de *Spirillum*, de realizar FBN associada a gramíneas (Santos *et al.*, 2019). O *Azospirillum* é o gênero mais conhecido entre as bactérias promotoras de crescimento de plantas não simbióticas, e tem a capacidade de aumentar o crescimento das plantas por meio de diversos mecanismos (Bashan; De-Bashan, 2005). Essas bactérias são consideradas diazotróficas associativas, o que significa que podem colonizar tanto a rizosfera quanto o interior das raízes, e possuem uma distribuição ecológica ampla, colonizando tanto monocotiledôneas quanto dicotiledôneas (Marin *et al.*, 1999).

Os benefícios do *Azospirillum* para as plantas se manifestam de diversas maneiras, como sua colonização nos espaços intercelulares das raízes ou na superfície das mesmas, o que resulta no aumento da densidade e comprimento dos pelos absorventes radiculares (Rondina *et al.*, 2020). Além disso, promove o incremento na velocidade de formação de raízes laterais e no volume de superfície radicular, modifica a respiração das raízes e as atividades enzimáticas relacionadas à glicólise e ao ciclo dos ácidos tricarboxílicos. Além desses efeitos hormonais, o *Azospirillum* ainda colabora com a planta ao fixar N biologicamente, ainda que em contribuições modestas para a planta (Riggs *et al.*, 2001).

Em 2009, foi lançado o primeiro inoculante com *Azospirillum* no Brasil (Santos *et al.*, 2019). A Embrapa Soja e a Universidade Federal do Paraná (UFPR) selecionaram, e testaram a campo, várias estirpes de *A. brasilense* e concluíram que Ab-V5 e Ab-V6 proporcionaram aumento de 26% na produtividade de milho e de 31% na de trigo (Hungria, 2011).

A maioria das pesquisas sobre a inoculação de gramíneas forrageiras foi conduzida com *Azospirillum spp.*, resultando em benefícios decorrentes da FBN e da alteração na produção de raízes, o que amplia a área de absorção e o volume de solo explorado, o que aumenta a eficiência de uso de nutrientes (Duarte *et al.*, 2020). A aplicação de *A. brasilense* em gramíneas forrageiras contribui para aumentar a produtividade de forragem, a concentração de nitrogênio e a altura das plantas, tornando a inoculação uma ferramenta para aumento da eficiência de uso do N e até mesmo a substituição parcial de fertilizantes nitrogenados em alguns casos (Duarte *et al.*, 2020).

As bactérias do gênero *Bacillus* são importantes promotoras de crescimento vegetal, produzem diversos fitormônios que alteram a morfologia das raízes, melhorando sua biomassa e capacidade de exploração do solo em busca de água e nutrientes (Gazola *et al.*, 2015). O aumento na produção de pastagens do capim *Urochloa brizantha* com *Bacillus subtilis* reflete a capacidade dos microrganismos na promoção do crescimento das plantas (Manrique *et al.* 2013). A aplicação de *Bacillus spp.* aumentou a produção de auxinas e fosfatase que, portanto, aumentou o crescimento e a produção do capim *U. brizantha* (Araujo *et al.*, 2012).

De acordo com Sampaio *et al.* (2021), a inoculação de sementes de capim Marandu com cepa isolada de *Bacillus subtilis* resulta em plantas mais altas. As

plantas dos tratamentos sem inoculação e coinoculadas com *Azospirillum brasilense* e *B. subtilis* aumentaram a altura das plantas em 6,4 e 5,4% respectivamente. A inoculação de *B. subtilis* isoladamente ou em conjunto com *A. brasilense* aumentou significativamente a altura das plantas em 17,2 cm (26,3%) e 8,2 cm (12,5%), respectivamente em relação às não inoculadas e às que receberam inoculação de *A. brasilense*. A inoculação isolada de *A. brasilense* e *B. subtilis* aumentou a altura das plantas do capim Marandu em diferentes níveis de adubação nitrogenada.

Em uma pesquisa envolvendo *M. maximus* cv. BRS Zuri, Carvalho *et al.* (2020) destacaram os efeitos positivos da coinoculação com *R. tropici* CIAT 899 + *A. brasilense* Ab-V6, combinada com a aplicação de 100 kg ha⁻¹ de N. Os resultados revelaram um aumento na produtividade da biomassa aérea, um incremento no número de perfilhos por metro quadrado, maior acúmulo de nitrogênio, além de aumento no teor de proteína bruta e na digestibilidade verdadeira in vitro da matéria seca da forragem. Além disso, observou-se uma redução nos teores de fibra insolúvel em detergente neutro e de fibra insolúvel em detergente ácido. Portanto, a utilização de bactérias promotoras do crescimento vegetal, combinada com fertilizantes nitrogenados em menores doses, representa uma alternativa sustentável e de menor custo para aumentar a produtividade das pastagens (Hungria *et al.*, 2016) e melhorar seu valor nutricional (Toniato *et al.*, 2018).

A eficiência fotossintética está relacionada ao desenvolvimento de plantas cultivadas em diferentes ambientes, servindo de suporte para tomadas de decisões relacionadas à adubação nitrogenada, pois a clorofila apresenta alta relação com produtividade de diversas culturas. A taxa fotossintética diminui à medida que se reduz a concentração de N nos tecidos vegetais (Rigon *et al.*, 2013). As aplicações de N nas culturas requerem monitoramento da dose do nutriente durante o crescimento das plantas (Ravier *et al.*, 2017). O uso de instrumentos para medir o teor de clorofila é uma forma indireta de medir a absorção do nutriente e o estado nutricional da cultura relativo ao N, pois a clorofila está diretamente relacionada com o teor de N na planta, já que está envolvido na síntese de clorofila. Assim, quantidades adequadas de N podem ser aplicadas nos estágios de maior demanda e capacidade de absorção pelas plantas, através de estimativas precisas dessas necessidades (Samborski *et al.*, 2009).

Como a fração fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) representa 50 a 80%

da composição da maioria das forragens, esse constituinte e a produção de biomassa podem estar correlacionados. Além disso, a FDN pode influenciar a digestibilidade da proteína, indiretamente afetando o consumo de matéria seca pelos ruminantes devido ao efeito de enchimento. O teor de FDN na forragem está negativamente relacionado com a participação de energia, portanto, o valor da FDN pode indicar com precisão o nível energético do alimento (Cappelle *et al.*, 2001; Detmann *et al.*, 2003).

A digestibilidade é definida como a proporção do alimento consumido que é digerida e metabolizada pelo animal. A digestibilidade potencial de todos os componentes da planta, exceto a lignina, é de 100%, no entanto, a digestão completa nunca acontece devido às incrustações de hemicelulose e celulose pela lignina, que têm efeito protetor contra a ação dos microrganismos do rúmen (Whiteman, 1980).

As técnicas *in vitro* mantêm as amostras de capim em contato com conteúdo ruminal tamponado em um recipiente onde se tenta reproduzir as condições do rúmen tais como presença de microrganismos, temperatura de 39°C e pH de 6,9 (Mould *et al.*, 2005). Essa técnica permite, mediante a simulação das condições naturais da digestão, a obtenção de resultados representativos e confiáveis (Oliveira *et al.*, 1999).

Lima *et al.* (2020) avaliaram o acúmulo de nutrientes na parte aérea e raízes de gramíneas, analisando a composição química bromatológica da *M. maximus* cv. BRS Zuri, com três cortes após a rebrota. As plantas foram inoculadas ou não inoculadas com bactérias promotoras de crescimento de plantas. Houve diferenças entre cortes e interação entre os tratamentos e os cortes, mas não foi observado efeito significativo entre os tratamentos e interação entre eles com os cortes para percentagem da digestibilidade verdadeira *in vitro* da matéria seca da parte aérea. Ainda assim, houve efeito significativo dos cortes para a digestibilidade. No segundo e terceiro cortes não houve efeito dos tratamentos para a percentagem de FDA e FDN (Lima *et al.*, 2020). Carvalho *et al.* (2020) constataram acúmulo de N na parte aérea similar entre épocas de corte, em que as plantas inoculadas com *A. brasilense* Ab-V5 + Ab-V6, *P. fluorescens* e *A. brasilense* Ab-V6 + *R. tropici* apresentaram incrementos de N, em 15, 14 e 13 % para as épocas secas e 13, 14 e 13% para a época das águas em comparação com aplicação exclusiva de fertilizante nitrogenado.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Local do Experimento

O experimento foi desenvolvido sob condições controladas durante o ano de 2024 na Faculdade de Ciência Agrárias e Tecnológicas (FCAT), UNESP, Câmpus de Dracena, localizada na região oeste do Estado de São Paulo a 421 m de altitude, latitude 21°29'0" S e longitude 51°32'1" O (Figura 1).

Figura 1 – Visão geral da entrada do câmpus da Unesp Dracena / FCAT.



Fonte: Unesp Dracena

4.2 Coleta do Solo

A coleta foi realizada na profundidade de 0 a 20 cm, de um solo classificado como Argissolo vermelho amarelo distrófico (Santos *et al.*, 2018), formando-se uma amostra composta por cinco subamostras simples, destorroada, homogeneizada, seca ao ar e peneirada com malha de 2 mm de abertura (Figuras 2 e 3).

Figura 2 – Coleta de solo em área experimental da Unesp Dracena / FCAT para análise química e granulométrica.



Fonte: A autora

Figura 3 – Peneiramento e homogeneização do o solo coletado para posterior montagem de vasos.



Fonte: Elaborado pela autora

A análise química e granulométrica do solo foi realizada segundo Raij et al (2001) para P, K, Ca e Mg utilizando-se o método da resina trocadora de íons; S-SO₄²⁻ pela extração com solução de fosfato de cálcio; pH em CaCl₂; matéria orgânica por colorimetria; H + Al com solução tampão SMP; Al em KCl. Os resultados estão

expressos na Tabela 1 realizada na Arasolo análises, Araçatuba, SP.

Tabela 1. Resultado da análise química e granulométrica de solo coletado na profundidade de 0 a 20 cm de profundidade para uso no experimento.

Relatório de Análise nº 23.01068.01			
M.O.	Mat. Orgânica	g/dm ³	14
pH	pH Cloreto Cálcio	CaCl ²	4,6
P	Fósforo Resina	mg/dm ³	4,0
K	Potássio	mmolc/dm ³	4,4
Ca	Cálcio	mmolc/dm ³	7,0
Mg	Magnésio	mmolc/dm ³	5,0
Al	Alumínio	mmolc/dm ³	0,0
H	Hidrogênio	mmolc/dm ³	21,0
H+Al	Hidr.+Alumínio	mmolc/dm ³	21,0
SB	Soma de Bases	mmolc/dm ³	16,4
CTC	C.T.Cations	mmolc/dm ³	33,0
V%	Sat. por Bases	%	36,0
m%	Sat. por Al	%	0,0
S-SO ₄	Enxofre	mg/dm ³	2,0
B	Boro	mg/dm ³	0,1
Cu	Cobre	mg/dm ³	0,5
Fe	Ferro	mg/dm ³	23,0
Mn	Manganês	mg/dm ³	13,4
Zn	Zinco	mg/dm ³	0,7
Carbono	Carbono Orgânico	g/dm ³	8,1
Ca/Mg	Relação Ca/Mg		1,4
K/CTC	% de K no CTC		13,3
Ca/CTC	% de Ca no CTC		21,2
Mg/CTC	% de Mg no CTC		15,2
Granulometria			
Argila		g/kg	73
Silte		g/kg	67
Areia		g/kg	860

Fonte: Elaborado pela autora.

A correção da acidez foi efetuada pelo método de saturação por bases (Quaggio *et al.*, 1985), para atingir o valor de 70% (Boletim 100, 2022). A terra contida em cada vaso recebeu reagentes puros CaCO₃:MgCO₃, na proporção 3:1, respectivamente, para atingir a saturação desejada. Para cada vaso, 4 dm³ de terra depositados em uma bandeja de plástico, receberam uma suspensão de carbonatos,

com o auxílio de uma pipeta e posteriormente homogeneizada. Em seguida, a terra foi acondicionada no vaso de polipropileno, etiquetados e incubados durante um mês, mantendo-se a umidade adequada.

4.3 Espécie Forrageira e Instalação

A espécie forrageira foi o *M. maximus* cv. Miyagui. Após a incubação, o solo foi novamente seco ao ar durante sete dias para posterior aplicação dos nutrientes. Aplicados com pipeta graduada conforme Tabela 2, com posterior homogeneização em uma bandeja (Figura 5). Em seguida, os 4 dm³ de solo foram transferidos para os respectivos vasos de polipropileno preto providos de coletores, devidamente etiquetados e identificados. Depois de quatro dias foi realizada a semeadura da forrageira. Por ocasião da semeadura as sementes foram misturadas com o inoculante em uma placa de petri por um período de 30 minutos em condições de laboratório. Em seguida foi realizada a semeadura nos respectivos vasos. O desbaste foi realizado quando as plantas possuíam tamanho e resistência adequada, mantendo-se quatro plantas uniformes por vaso. Para a irrigação diária foi utilizada água deionizada.

Figura 5 – Adubação do solo com N, P, K.



Fonte: Elaborado pela autora

Tabela 2. Doses de nutrientes utilizadas no experimento.

Nutrientes	Fonte	Dose mg/dm ³	g L ⁻¹
N ⁽¹⁾	CO(NH ₂) ₂	80	34,28
P ⁽¹⁾	CaHPO ₄	200	63,20
K ⁽¹⁾	K ₂ SO ₄	150	26,77
B	H ₃ BO ₃	0,5	0,560 ⁽²⁾
Co	CoCl ₂ .2H ₂ O	0,05	0,0112 ⁽²⁾
Cu	CuSO ₄ .5H ₂ O	1,0	0,480 ⁽²⁾
Mn	MnSO ₄ .H ₂ O	5,0	1,840 ⁽²⁾
Mo	H ₂ MoO ₄	0,1	0,0337 ⁽²⁾
Zn	ZnSO ₄ .7H ₂ O	2,0	1,766 ⁽²⁾

⁽¹⁾ 50 mL de solução por vaso;

⁽²⁾ 25 mL de solução por vaso;

4.4 Delineamento Experimental e Tratamentos

O experimento foi conduzido em casa de vegetação em delineamento inteiramente casualizado com 4 repetições. Os tratamentos consistiram: três bactérias promotoras de crescimento de plantas e duas doses de N (média e alta): 1- não inoculado e sem N; 2- não inoculado + 40 mg/dm³ N; 3- Não inoculado + 80 mg/dm³ de N; 4- *Azospirillum brasilense* + 40 mg/dm³ de N; 5- *Bacillus sp.* N72 + 40 mg/dm³ de N; 6 – *Bacillus sp.* S26 + mg/dm³ de N; 7 - *Azospirillum brasilense* + *Bacillus sp.* N72 + *Bacillus sp.* S26 + 40 mg/dm³ de N.

As cepas de *Bacillus sp.* N72 e S26 foram isoladas no Departamento de Genética da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, pela professora Dra. Giovana Lara Desbastiani e enviadas via correios para o Laboratório de Fertilidade do Solo da Unesp Dracena. Os inoculantes foram produzidos no Campus da Unesp – FCAT, Dracena, SP, no Laboratório de Microbiologia (Figura 6 e Figura 7), e a concentração de bactérias dos inoculantes são ajustadas para 2 x 10⁸ células por mL. O inoculante *Azospirillum brasilense* (Ab-V5 + Ab-V6) foi o HOBÉRAZOS da Ballagro (Figura 8). A inoculação foi realizada por ocasião da semeadura, utilizado 600 mL/ha de inoculante para 10 kg/ha de semente (Figura 9).

Figura 6 – Produção das bactérias *Bacillus* sp. N72 e S26.



Fonte: Elaborado pela autora

Figura 7 – Inoculante pronto para a aplicação na semente.



Fonte: Elaborado pela autora

Figura 8 – Inoculante comercial.



Fonte: Elaborado pela autora

Figura 9 – Inoculação das sementes antes do plantio.



Fonte: Elaborado pela autora

4.4.1 Variáveis Avaliados

4.4.2 Produção de massa seca de forragem

As avaliações de produção de massa seca da forragem, foi realizada a cada 28 dias e/ou quando a altura média dos tratamentos atingiu 50 cm de altura (Figuras 10 e 11). Para avaliação da forragem foi realizada a mensuração total por vaso. O material foi pesado e seco em estufa de circulação forçada de ar a 65°C até peso constante, conforme descrição de Silva & Queiroz (2002). Após o material foi moído em moinho tipo Wiley para análises bromatológicas.

Antes de as plantas serem colhidas foi realizada a contagem do número de perfilhos (Figura 12), a leitura da estatura das plantas e obtido o índice relativo de clorofila (SPAD) de cada unidade experimental.

Figura 10 – Corte para avaliação da produção de massa de forragem.



Fonte: Elaborado pela autora

Figura 11 – Avaliação da altura de plantas antes do corte.



Fonte: Elaborado pela autora

Figura 12 – Contagem do número de perfilhos antes do corte.



Fonte: Elaborado pela autora

4.4.3 Avaliação do sistema radicular

A avaliação do sistema radicular foi realizada ao final do experimento. As raízes foram separadas do solo por lavagens sucessivas em água corrente em peneiras com malha de 1 mm até que ficassem livres de partículas de solo aderidas (Figura 13). Logo a seguir, as amostras de raízes foram secas em estufa com circulação forçada de ar a 65°C até peso constante. Ao final as raízes foram moídas e analisadas quanto ao teor de N-total pelo método micro-Kejeldhal, descrito por Silva & Queiroz (2002). O acúmulo do nitrogênio foi calculado multiplicando o teor pela massa seca produzida.

Figura 13 – Lavagem das raízes.



Fonte: Elaborado pela autora

4.4.4 Teores de N-total foliar

A massa de forragem seca teve o material moído e o teor de N-total foi determinado pela digestão sulfúrica seguida por destilação pelo método semi-micro Kjeldahl (Sarruge e Haag, 1974) (Figuras 14, 15 e 16). O acúmulo do nitrogênio foi calculado multiplicando-se o teor pela biomassa seca produzida em cada corte.

Figura 14 – Digestão sulfúrica das amostras para a realização da destilação pelo método Kjeldahl.



Fonte: Elaborado pela autora

Figura 15 – Destilação de N.



Fonte: Elaborado pela autora

Figura 16 – Titulação para estimativa do teor de N.



Fonte: Elaborado pela autora

4.4.5 Medidas do teor de clorofila

O índice relativo de clorofila foi determinado indiretamente, antes das plantas serem colhidas, utilizando-se o aparelho *Chlorophyll Meter* SPAD-502 (SPAD - Soil and Plant Analysis Development), tomadas leituras do valor SPAD em lâminas de folhas recém-expandidas, de cinco perfilhos por vaso, computando-se a média de cinco medições (Santos, 1997) (Figura 17).

Figura 17 – Avaliação do índice SPAD.



Fonte: Elaborado pela autora

4.4.6 Análises bromatológicas

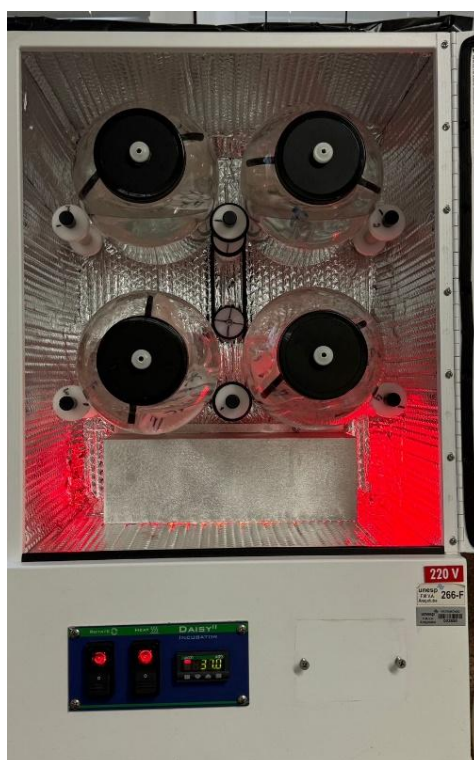
Foram analisados na composição bromatológica os teores de proteína bruta (PB), fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) e fibra insolúvel em detergente ácido (FDA) de acordo com Campos, Nussio e Nussio (2004) (Figura 18), enquanto a digestibilidade verdadeira *in vitro* da matéria seca (DIVMS) foi determinada de acordo com Holden (1999) (Figuras 19, 20, 21 e 22). O cálculo do teor de proteína bruta foi obtido pela constante $6,25 \times \text{teor N} / 10$.

Figura 18 – Determinador de Fibra utilizado para FDN e FDA.



Fonte: Elaborado pela autora

Figura 19 – Incubadora Daisy com a solução tampão e amostras.



Fonte: Elaborado pela autora

Figura 20 – Conteúdo ruminal.



Fonte: Elaborado pela autora

Figura 21 – Adição do líquido ruminal ao frasco com solução tampão e amostras.



Fonte: Elaborado pela autora

Figura 22 – Incubadora Daisy realizando a digestibilidade *in vitro*.



Fonte: Elaborado pela autora

4.5 Análises Estatísticas

Os dados foram testados quanto à normalidade dos erros, homogeneidade de variância e a variável produção de massa seca de forragem (Figuras 23, 24 e 25) e raízes, índice relativo de clorofila e composição bromatológica foram avaliados estatisticamente pela análise da variância (ANOVA), utilizando-se o programa SAS no procedimento GLM para o modelo de parcelas subdivididas no tempo, sendo os tratamentos considerados como parcela principal e os cortes como sub-parcelas (split-plot in time). Os resultados foram submetidos à ANOVA e teste de Tukey para a comparação de médias a 5% de significância (Pimentel-Gomes & Garcia, 2002). Para a produção de massa seca acumulada foi realizada a soma dos três cortes e análise em delineamento inteiramente ao acaso.

Figura 23 – Avaliação da produção de massa antes do 1º corte.



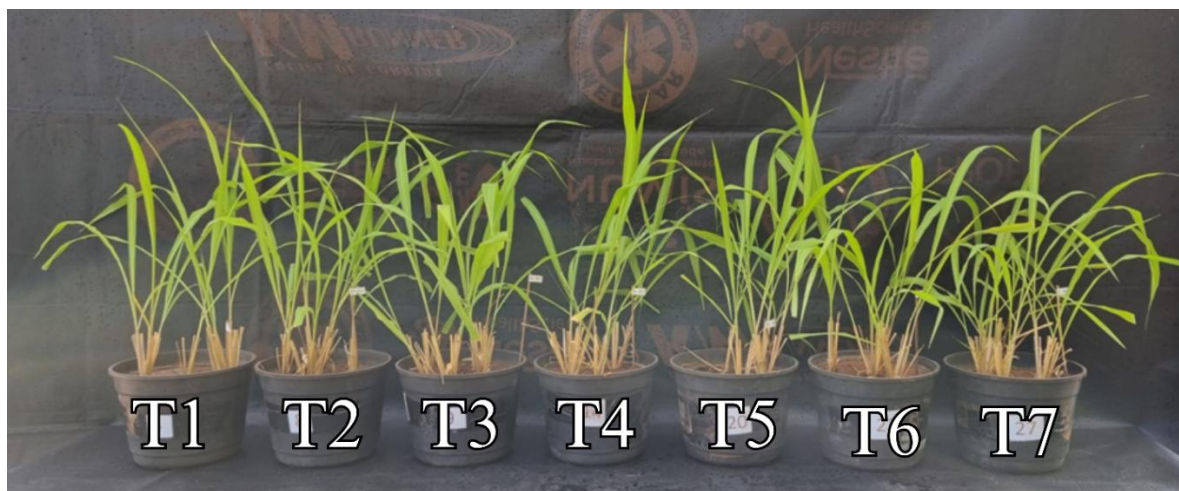
Fonte: Elaborado pela autora

Figura 24 – Avaliação da produção de massa antes do 2º corte.



Fonte: Elaborado pela autora

Figura 25 – Avaliação da produção de massa antes do 3º corte.



Fonte: Elaborado pela autora

5 RESULTADOS

5.1 Produção de Massa Seca (MS)

Houve efeito significativo de tratamentos ($P=0,0001$), cortes ($P=0,0001$) e interação tratamentos x cortes ($P=0,0001$) na produção de biomassa seca da parte aérea do capim Miyagui inoculado com BPCP associadas a N mineral (Tabela 3). Para a comparação da produção de MS pelas plantas entre os cortes observou-se que, exceto o tratamento *Bacillus sp.* N72 + 40 mg/dm³ de N, todos os outros tratamentos foram superiores na segunda avaliação, sendo que, o tratamento controle não apresentou diferença estatística entre os cortes. Para os efeitos dos tratamentos na primeira e terceira avaliação não foi encontrada diferença estatística, sendo que no segundo corte foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos.

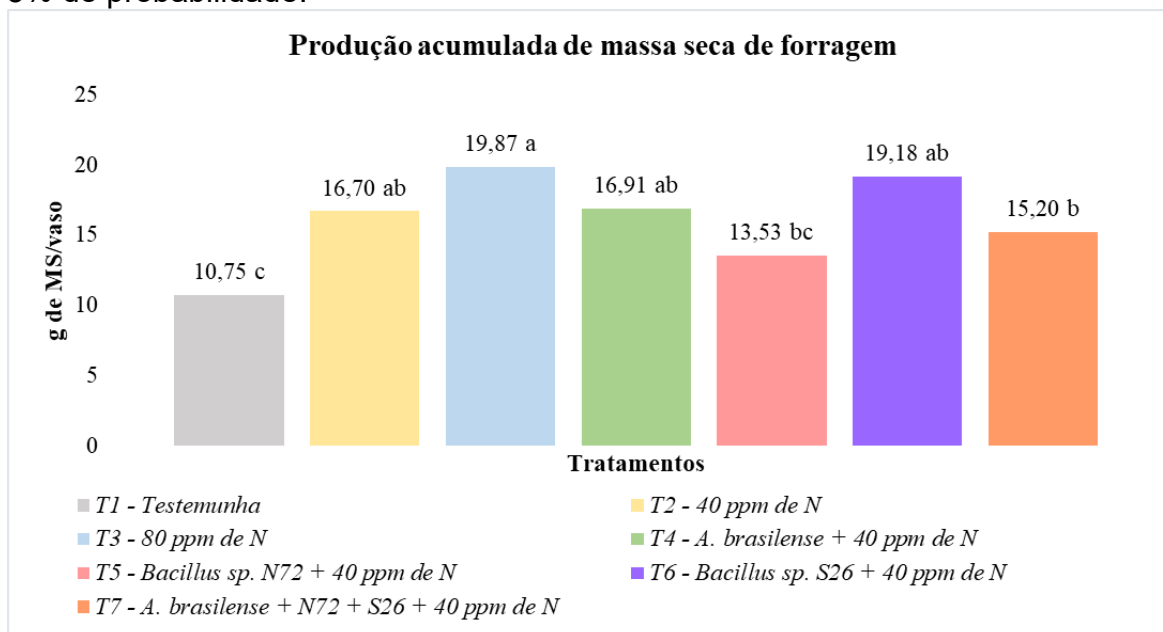
Tabela 3. Comparação de médias para a produção massa seca (MS) (g/vaso) da parte aérea dentro dos cortes avaliados do capim Miyagui com BPCP associadas a N mineral.

Tratamentos	MS (g/vaso)		
	1º Corte	2º Corte	3º Corte
T1 - Controle	3,77 A	4,17 dA	2,81 A
T2 – 40 mg/dm ³ de N	4,97 B	7,81 bA	3,93 B
T3 – 80 mg/dm ³ de N	5,01 B	10,25 aA	4,61 B
T4 – <i>Azospirillum brasilense</i> + 40 mg/dm ³ de N	4,86 B	8,13 bA	3,92 B
T5 – <i>Bacillus sp.</i> N72 + 40 mg/dm ³ de N	4,57 AB	5,73 cdA	3,23 B
T6 – <i>Bacillus sp.</i> S26 + 40 mg/dm ³ de N	4,53 B	7,97 bA	3,68 B
T7 – <i>A. brasilense</i> + N72 + S26 + 40 mg/dm ³ de N	5,27 B	6,68 bcA	3,25 C

Médias seguidas de letras minúsculas distintas na coluna indicam diferença entre os tratamentos dentro dos cortes; letras maiúsculas distintas na linha indicam diferença entre cortes dentro dos tratamentos pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Fonte: Elaborado pela autora

Conforme apresentado no Gráfico 1, foi observado efeito significativo ($P=0,0001$) dos tratamentos na produção acumulada de biomassa seca de forragem pelo capim Miyagui inoculado com BPCP.

Gráfico 1. Produção acumulada de massa seca de forragem (g/vaso) da parte aérea do capim Miyagui com BPCP associadas a N mineral. Médias seguidas de letras minúsculas distintas indicam diferença entre os tratamentos pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.



Fonte: Elaborado pela autora

5.2 Índice Relativo de Clorofila (SPAD)

Foi observado efeito significativo para tratamentos ($P=0,0165$), cortes ($P=0,0001$) e interação tratamentos x cortes ($P=0,0188$) no índice relativo de clorofila (SPAD) (Tabela 4). Na primeira avaliação observado maior índice relativo de clorofila SPAD para o efeito dos cortes em relação às demais. Com relação ao efeito significativo dos tratamentos houve diferenças estatísticas apenas na primeira e segunda avaliação.

Tabela 4. Comparação de médias para o índice relativo de clorofila (SPAD) dentro dos cortes avaliados do capim Miyagui inoculado com BPCP associadas a N mineral.

Tratamentos	SPAD		
	1º Corte	2º Corte	3º Corte
T1 - Controle	36,75 bA	17,90 bB	18,23 B
T2 – 40 mg/dm ³ de N	40,55 abA	20,50 bB	19,00 B
T3 – 80 mg/dm ³ de N	43,15 aA	27,10 aB	18,30 C
T4 – <i>Azospirillum brasilense</i> + 40 mg/dm ³ de N	40,85 abA	22,33 abB	19,08 B
T5 – <i>Bacillus sp. N72</i> + 40 mg/dm ³ de N	38,98 abA	20,05 bB	17,68 B
T6 – <i>Bacillus sp. S26</i> + 40 mg/dm ³ de N	42,53 aA	21,70 bB	18,98 B
T7 – <i>A. brasilense</i> + N72 + S26 + 40 mg/dm ³ de N	41,18 abA	20,05 bB	18,93 B

Médias seguidas de letras minúsculas distintas na coluna indicam diferença entre os tratamentos dentro dos cortes e letras maiúsculas distintas na linha indicam diferença entre cortes dentro dos tratamentos pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Fonte: Elaborado pela autora.

5.3 Teor de Nitrogênio (N)

Foi observado efeito significativo para tratamentos ($P=0,0210$), cortes ($P=0,0001$) e interação tratamentos x cortes ($P=0,0057$) no teor médio de nitrogênio (N) (Tabela 5). Na primeira avaliação o teor médio de N foi superior aos demais cortes. Para o efeito dos tratamentos na primeira avaliação não foi observada diferença estatística para as plantas inoculadas com *Azospirillum brasilense* + 40 mg/dm³ de N, *Bacillus sp.* S26 + 40 mg/dm³ de N e co-inoculadas com *A. brasilense* + N72 + S26 + 40 mg/dm³ de N em relação ao tratamento não inoculado e fertilizado com 40 e 80 mg/dm³ de N.

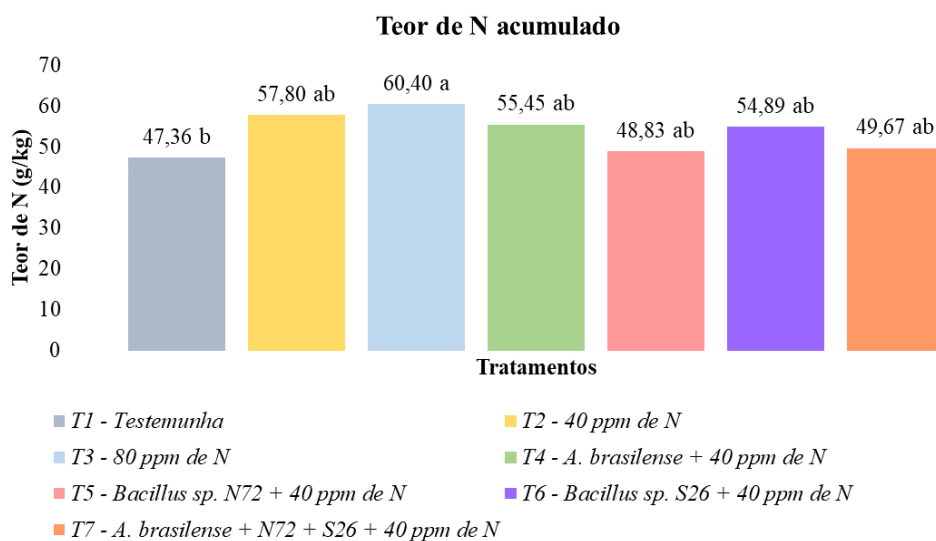
Tabela 5. Comparação de médias para o teor médio de nitrogênio (N) (g/kg) do capim Miyagui com BPCP associadas a N mineral em função dos cortes.

Tratamentos	Nitrogênio (g/kg)			
	1º Corte	2º Corte	3º Corte	4º Corte
T1 - Controle	30,0 6 cA	9 ,20 B	,10 B	8
T2 – 40 mg/dm ³ de N	39,8 7 abA	9 ,61 B	,31 B	8
T3 – 80 mg/dm ³ de N	41,4 9 aA	1 1,19 B	,72 B	7
T4 – <i>Azospirillum brasilense</i> + 40 mg/dm ³ de N	38,2 8 abA	9 ,26 B	,90 B	7
T5 – <i>Bacillus sp.</i> N72 + 40 mg/dm ³ de N	30,7 7 cA	9 ,20 B	,87 B	8
T6 – <i>Bacillus sp.</i> S26 + 40 mg/dm ³ de N	36,5 8 abcA	9 ,41 B	,90 B	8
T7 – <i>A. brasilense</i> + N72 + S26 + 40 mg/dm ³ de N	33,1 9 bcA	8 ,39 B	,09 B	8

Médias seguidas de letras minúsculas distintas na coluna indicam diferença entre os tratamentos dentro dos cortes e letras maiúsculas distintas na linha indicam diferença entre cortes dentro dos tratamentos pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Fonte: Elaborado pela autora.

Foi observado efeito significativo dos tratamentos ($P=0,0210$) no teor de N na parte aérea do capim Miyagui. As plantas não inoculadas e adubadas com 80 mg/dm³ de N apresentaram maior acúmulo de N, no entanto, não diferiram das plantas que foram inoculadas com BPCP e fertilizadas com 40 mg/dm³ de N.

Gráfico 2. Teor de N (g/kg) acumulado na biomassa do capim Miyagui inoculado com BPCP associadas a N mineral. Médias seguidas de letras minúsculas distintas indicam diferença entre os tratamentos pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

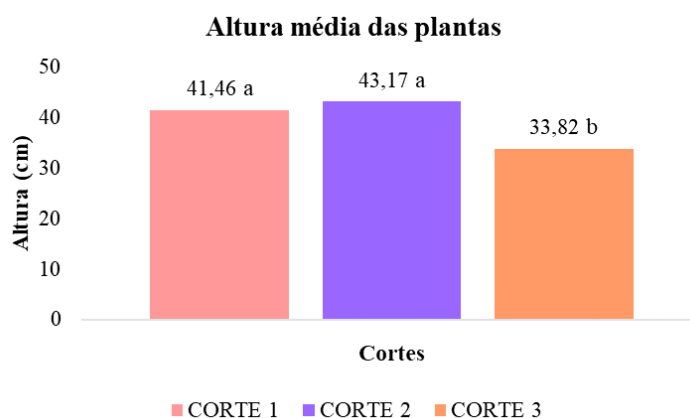


Fonte: Elaborado pela autora

5.4 Altura das plantas

Apenas a época de corte apresentou efeito significativo na altura das plantas ($P=0,0001$) (Gráfico 3).

Gráfico 3. Altura de plantas (cm) de capim Miyagui inoculadas com BPCP associadas a N mineral. Médias seguidas de letras minúsculas distintas indicam diferença entre os tratamentos pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.



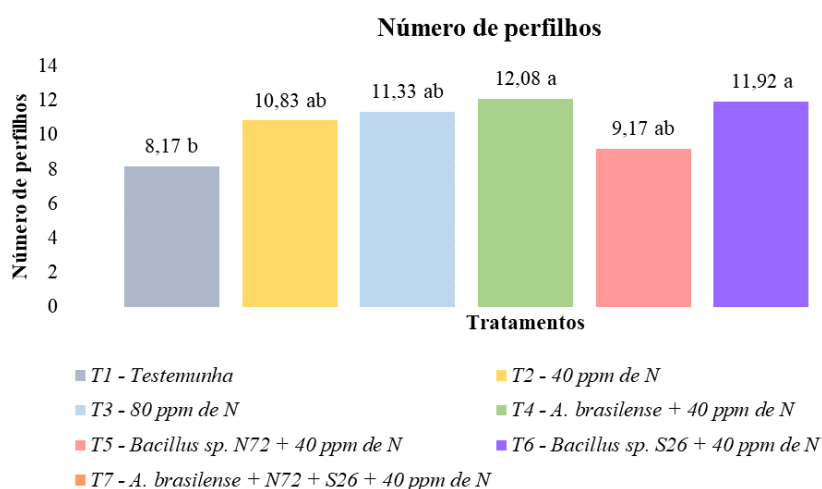
Fonte: Elaborado pela autora

5.5 Número de perfilhos

O número de perfilhos variou com efeitos isolados de tratamentos ($P=0,0115$) e cortes ($P=0,0001$) (Gráficos 4 e 5). Embora não tenha havido diferença estatística

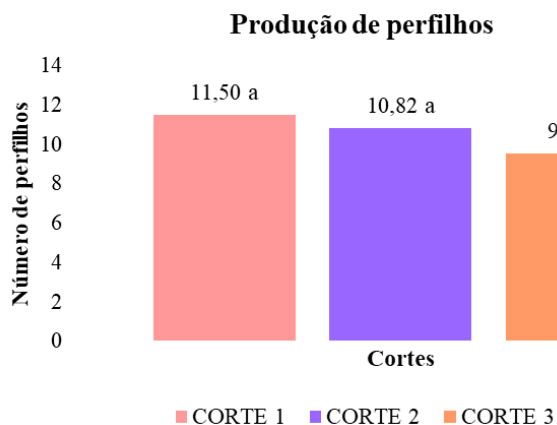
entre os tratamentos inoculados e sem inoculação com adubação, exceto o tratamento controle, a contagem do número de perfilhos foi maior para os tratamentos inoculados com *A. brasilense* e *Bacillus sp.* S26 + 40 mg/dm³ de N, que produziram em média 10,8% a mais em relação ao tratamento não inoculado e fertilizado com 40 mg/dm³ de N. Conforme observado no Gráfico 5 a contagem do número de perfilhos foi diminuindo com o decorrer das avaliações.

Gráfico 4. Número do perfilhos no capim Miyagui inoculado com BPCP associadas a N mineral. Médias seguidas de letras minúsculas distintas indicam diferença entre os tratamentos pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.



Fonte: Elaborado pela autora

Gráfico 5. Produção de perfilhos dentro dos cortes no capim Miyagui inoculado com BPCP associadas a N mineral. Médias seguidas de letras minúsculas distintas indicam diferença entre os tratamentos pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.



Fonte: Elaborado pela autora

5.6 Produção de Massa Seca de Raízes Secas e Teor de N.

Não foi observado efeito significativo na produção de massa seca de raízes

($P=0,6693$), mas houve efeito significativo para o teor de N em função dos tratamentos ($P=0,0082$). Os valores variaram de 8,06 a 11,66 g de N, sendo que o tratamento não inoculado e fertilizado com 80 mg/dm³ de N apresentou o menor valor 8,06 g de N.

Tabela 6. Produção de massa seca de raízes e teor de nitrogênio nas raízes do capim Miyagui inoculado com BPCP associadas a N mineral, na média dos cortes.

Tratamentos	MS (g/vaso)	N (g/kg)
T1 - Controle	104	11,66 a
T2 – 40 mg/dm ³ de N	103	9,32 ab
T3 – 80 mg/dm ³ de N	103	8,06 b
T4 – <i>Azospirillum brasilense</i> + 40 mg/dm ³ de N	106	9,59 ab
T5 – <i>Bacillus sp.</i> N72 + 40 mg/dm ³ de N	103	9,44 ab
T6 – <i>Bacillus sp.</i> S26 + 40 mg/dm ³ de N	105	10,00 ab
T7 – <i>A. brasilense</i> + N72 + S26 + 40 mg/dm ³ de N	105	9,25 ab

Médias seguidas de letras distintas indicam diferença entre os tratamentos pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Fonte: Elaborado pela autora.

5.7 Valor Nutritivo

5.7.1 Proteína bruta

O teor de PB variou conforme os tratamentos de inoculação/N ($P=0,0210$), cortes ($P=0,0001$) e da interação de ambos ($P=0,0058$). Entretanto, apenas a primeira avaliação apresentou diferenças entre os tratamentos, sendo que os tratamentos não inoculados e adubados com 40 e 80 mg/dm³ de N apresentaram maior valor de PB em relação aos demais. Na comparação entre os cortes o primeiro apresentou valores superiores estatisticamente em relação aos demais, sendo observada diminuição nos valores de PB ao longo do período experimental.

Tabela 7. Comparação de médias para proteína bruta (PB) dentro dos cortes do capim Miyagui inoculado com BPCP associadas a N mineral.

Tratamentos	PB (%)		
	1º Corte	2º Corte	3º Corte
T1 - Controle	18,79 cA	5,75 B	5,06 B
T2 – 40 mg/dm ³ de N	24,92 aA	6,01 B	5,20 B
T3 – 80 mg/dm ³ de N	25,93 aA	6,99 B	4,82 B
T4 – <i>Azospirillum brasilense</i> + 40 mg/dm ³ de N	23,93 abA	4,94 B	5,79 B
T5 – <i>Bacillus sp.</i> N72 + 40 mg/dm ³ de N	19,23 cA	5,75 B	5,54 B
T6 – <i>Bacillus sp.</i> S26 + 40 mg/dm ³ de N	22,86 abcA	5,88 B	5,57 B
T7 – <i>A. brasilense</i> + N72 + S26 + 40 mg/dm ³ de N	20,74 bcA	5,06 B	5,25 B

Médias seguidas de letras minúsculas distintas na coluna indicam diferença entre os tratamentos dentro dos cortes; letras maiúsculas distintas na linha indicam diferença entre cortes dentro dos tratamentos pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Fonte: Elaborado pela autora.

5.7.2 FDN, FDA e digestibilidade *in vitro* da matéria seca

Não houve efeito significativo dos tratamentos sobre o teor de FDN ($P=0,2769$), no entanto, houve efeito significativo de épocas de cortes ($P=0,0462$) e da interação entre ambos ($P=0,0001$) (Tabela 8). Somente no segundo corte foi encontrada diferença estatística entre os tratamentos, sendo que o menor teor de FDN foi 66,29 g/kg nas plantas do tratamento não inoculado e nas fertilizadas com 80 mg/dm³ de N. O maior valor de FDN foi de 71,86 g/kg, sem diferir dos demais, exceto do tratamento não inoculado e fertilizado com 80 mg/dm³ de N. Os teores de FDN aumentaram do primeiro para o terceiro corte.

Tabela 8. Comparação de médias para FDN (g/kg) dentro dos cortes do capim Miyagui inoculado com BPCP associadas a N mineral.

Tratamentos	FDN		
	1º Corte	2º Corte	3º Corte
T1 - Controle	54,03 B	71,41 abA	75,31 A
T2 – 40 mg/dm ³ de N	54,44 B	68,76 abA	72,15 A
T3 – 80 mg/dm ³ de N	57,43 C	66,29 bB	71,80 A
T4 – <i>Azospirillum brasilense</i> + 40 mg/dm ³ de N	56,89 B	70,33 abA	72,55 A
T5 – <i>Bacillus sp.</i> N72 + 40 mg/dm ³ de N	58,18 B	69,02 abA	72,51 A
T6 – <i>Bacillus sp.</i> S26 + 40 mg/dm ³ de N	56,62 B	69,33 abA	70,49 A
T7 – <i>A. brasilense</i> + N72 + S26 + 40 mg/dm ³ de N	57,75 B	71,86 aA	71,39A

Médias seguidas de letras minúsculas distintas na coluna indicam diferença entre os tratamentos dentro dos cortes; letras maiúsculas distintas na linha indicam diferença entre cortes dentro dos tratamentos pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade. Fonte: Elaborado pela autora.

Não foi observado efeito significativo de tratamentos no teor de FDA ($P=0,2852$), e interação tratamentos versus cortes ($P=0,2647$), havendo efeito significativo isolado apenas para cortes ($P=0,0001$). Os teores de FDA aumentaram do primeiro para o terceiro corte, variando de 26,69 g/kg a 36,48 g/kg. A digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) não foi influenciada pelos tratamentos ($P=0,1932$), e pela interação tratamentos versus cortes ($P=0,3399$). No entanto, houve efeito significativo apenas épocas de corte ($P=0,0001$), em que os teores de DIVMS diminuíram do primeiro para o terceiro corte, variando de 87,5 g/kg a 80,2 g/kg.

Tabela 9. Valores médios de FDA (g/kg) e Digestibilidade *in vitro* da matéria seca (g/kg) avaliados do capim Miyagui inoculado com BPCP associadas a N mineral.

Tratamentos	FDA	Digestibilidade <i>in vitro</i>	
T1 - Controle	33,01	82,20	
T2 – 40 mg/dm ³ de N	31,47	84,79	
T3 – 80 mg/dm ³ de N	30,91	83,25	
T4 – <i>Azospirillum brasilense</i> + 40 mg/dm ³ de N	31,96	84,60	
T5 – <i>Bacillus sp.</i> N72 + 40 mg/dm ³ de N	32,34	81,47	
T6 – <i>Bacillus sp.</i> S26 + 40 mg/dm ³ de N	31,15	84,60	
T7 – <i>A. brasilense</i> + N72 + S26 + 40 mg/dm ³ de N	32,55	82,87	
	Corte 1	Corte 2	Corte 3
FDA	26,69 C	32,57 B	36,48 A
Digestibilidade <i>in vitro</i>	87,49 A	82,52 B	80,18 B

Médias seguidas de letras maiúsculas distintas na linha indicam diferença entre cortes dentro dos tratamentos pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Fonte: Elaborado pela autora .

6 DISCUSSÃO

6.1 Produção de Massa Seca de Forragem

Analizando os dados apresentados na Tabela 3, observamos que houve diferença significativa na produção de MS no segundo corte realizado em abril/2024, onde as plantas dos tratamentos inoculados com *A. brasilense* e *Bacillus sp.* S26 embora não tenham diferido estatisticamente das não inoculadas e fertilizadas com 40 mg/dm³ de N produziram 4% e 2% a mais de massa seca de forragem, respectivamente. Não houve diferença significativa entre os cortes dentro dos tratamentos, quando o segundo corte teve melhor desempenho para todos os tratamentos, com exceção da controle. Na primeira avaliação não houve diferença entre os tratamentos provavelmente devido ao vigor de formação das plantas do capim Miyagui, nitrogênio disponível no solo e nutrição nitrogenada nos tratamentos que receberam N. Como os tratamentos não receberam dose adicional de nitrogênio mineral após o primeiro e segundo corte, pode-se observar que a ação das BPCP foi mais efetiva na segunda avaliação das plantas. No entanto, na terceira avaliação verificou-se uma coloração das plantas menos intensa e não foi encontrada diferença entre os tratamentos possivelmente devido à insuficiência de N para o crescimento e desenvolvimento das plantas de capim Miyagui.

Hungria *et al.* (2016) encontraram valores significativos para o acúmulo de massa seca da parte aérea (g/m²) em experimento realizado em três locais: Ponta Grossa, Londrina e Três Lagoas. Em todos os locais houve efeito das BPCP. Utilizando a espécie forrageira *U. brizantha* (*B. brizantha*) encontrou valores de 139,4 g/m² quando fertilizado com N e inoculado com *A. brasilense* e 109,2 g/m² quando fertilizado com N e sem inoculação em Ponta Grossa. Já em Londrina os dados obtidos foram de 152,7 g/m² quando fertilizado e inoculado e 126,6 g/m² quando somente fertilizado, em Três Lagoas foram obtidos 169,3 g/m² para o tratamento fertilizado e inoculado e de 125,5 g/m² quando só fertilizado, mostrando a eficiência do *A. brasilense* com a forrageira *U. brizantha* durante o primeiro ano no primeiro corte. A eficiência se manteve durante o segundo e terceiro corte.

Lima *et al.* (2020) em experimento com *Megathyrsus maximus* cv. BRS Zuri observaram produção de MS da parte aérea valores que variaram de 23,2 a 46,3 g/vaso nas plantas dos tratamentos controle e *Rhizobium tropici* CIAT899 + *A.*

brasiliense Ab-V6 + N, respectivamente.

Os valores encontrados por SáG et al. (2019) na produção acumulada de MS variaram entre 9,9 e 27,3 g/vaso para as plantas do tratamento controle sem N ou inoculação e a coinoculação de *R. tropici* e *A. brasiliense* (Ab-V6) com N, respectivamente. Os autores também pontuaram que as plantas que foram inoculadas com *P. fluorescens* apresentaram desempenho semelhante ao tratamento sem adubação nitrogenada e sem inoculação, porém, o rendimento acumulado de MS foi 12,6% maior.

A produção acumulada de massa seca (AMS) conforme o Gráfico 1 embora sem diferença estatística a 5% de significância, as plantas inoculadas com *Bacillus* sp. S26 produziram 14,9% a mais que fertilizadas com apenas 40 mg/dm³ de N, trazendo uma boa perspectiva no uso do inoculante.

As plantas inoculadas com *Bacillus* sp. S26 + 40 mg/dm³ de N foram superiores às dos tratamentos inoculados com *Bacillus* sp. N72 e a mistura *A. brasiliense* + *Bacillus* sp. S26 + *Bacillus* sp. N72, embora não tenha havido diferença estatística. Isto se deve provavelmente à competição intraespecífica das cepas. A produção de massa seca de forragem das plantas inoculadas com *Bacillus* sp. S26 foi similar à obtida nas plantas fertilizadas com N mineral na dose de 80 mg/dm³ e sem inoculação, indicando que as BPCP foram capazes de incrementar com o maior aproveitamento do N e, em parte, provável fixação simbiótica de N₂, equivalente a 40 mg/dm³ de N. As plantas inoculadas com *Bacillus* sp. N72 apresentaram a menor produção de massa seca quando comparadas com as do tratamento não inoculado e adubado com 40 mg/dm³ de N, demonstrando pouca efetividade deste isolado com a cultivar Miyagui.

De acordo com Heinrichs et al. (2020) o experimento realizado com *Urochloa brizantha* cv. Marandu e doses de *A. brasiliense* houve efeito significativo para a produção de massa seca da parte aérea, com aumento de 13% na produção acumulada em relação ao controle. Hungria et al. (2016) observaram benefícios positivos da inoculação de *A. brasiliense* em sementes no crescimento de dois genótipos de *Brachiaria* spp. em várias regiões geográficas do Brasil. A aplicação de adubo nitrogenado, tanto isoladamente quanto em combinação com a inoculação por *A. brasiliense* resultou em aumentos na biomassa seca da parte aérea variando de 5,4% a 22,1%, além de um incremento geral de 10% na concentração de proteínas. Resultados divergentes no uso de bactérias promotoras de crescimento de plantas

podem ser atribuídos a diversos fatores que influenciam tanto a planta hospedeira quanto a sobrevivência e atividade bacteriana na rizosfera, além das propriedades químicas e físicas do solo.

6.2 Índice Relativo de Clorofila

Avaliando os dados do índice relativo de clorofila (SPAD) apresentados na Tabela 4, fica clara a diminuição no índice SPAD devido à diminuição no teor de nitrogênio no tecido foliar das plantas. Na primeira avaliação as plantas do tratamento inoculado com *Bacillus sp.* S26 de apresentaram índice SPAD maior que as doo tratamento não inoculado e fertilizado com 40 mg/dm³ de N em 4,88% e similar aos demais tratamentos inoculados com BPCP + 40 mg/dm³ de N, exceto o tratamento controle, no qual podemos inferir a contribuição das BPCP na fixação simbiótica do N₂ em cerca de 40 mg/dm³ de N, embora não tenha diferença estatística a 5% de significância do tratamento sem inoculação e adubado com 40 mg/dm³ de N. Os valores do índice relativo de clorofila SPAD variaram de 36,75 a 43,85, os quais são considerados adequados, indicando que as plantas apresentam condições adequadas no quesito estado nutricional de N.

Lavres Jr. e Monteiro (2006), em experimento com capim-Aruana (*M. maximum* Jacq. Cv. Aruana) obtiveram valores de índice SPAD de aproximadamente 52 na maior (462 mg L⁻¹) dose de N e de aproximadamente 32 na menor dose (14 mg L⁻¹) do primeiro corte. Os dados do segundo corte foram de 42 para a dose mais alta e 25 para a dose mais baixa, enfatizando a influência do teor de N nos valores de índice SPAD. Com o aumento da disponibilidade de nitrogênio para a planta, geralmente há maior produção de clorofila nas folhas, o que resulta em maior intensidade do verde. Lavres Jr. e Monteiro (2006) também abordam que as diferenças dos valores de índice SPAD entre os cortes pode se dar pela variação na taxa de crescimento da planta, em que o período de crescimento do segundo corte é menor devido à taxa de senescência.

Na segunda avaliação, as plantas dos tratamentos inoculados com *A. brasilense* e *Bacillus sp.* S26 apresentaram índice relativo de clorofila SPAD superiores às do tratamento com 40 mg/dm³ de N em 8,92% e 5,85%, respectivamente, que sugere a contribuição das BPCP na fixação simbiótica do N ou ainda aumento da eficiência de uso do N obtido do solo. Os valores do índice relativo

de clorofila SPAD nesta segunda avaliação variaram de 17,90 a 27,10. Esses valores são considerados baixos segundo resultados obtidos por outros autores. Guimarães *et al.* (2016), ao utilizarem um medidor de clorofila para avaliações de SPAD em *Urochloa brizantha* cv. Marandu inoculada com BPCP em três cortes, observaram resultados similares aos encontrados neste estudo. Eles constataram que o primeiro corte apresentou os maiores valores de SPAD, seguido pelo segundo e terceiro cortes, com média de 27,4 SPAD para o grupo de tratamento inoculado com *A. brasilense*.

Na terceira avaliação não houve diferença entre os tratamentos no índice relativo de clorofila SPAD. Os valores do índice SPAD nesta segunda avaliação variaram de 17,68 a 19,08. Foi possível também observar efeito dos cortes dentro dos tratamentos, observando-se índice SPAD maior no primeiro corte, verificando maior teor de N nas plantas de todos os tratamentos. Conforme Larcher (2000), a eficiência fotossintética é maximizada com maior disponibilidade de nitrogênio, o componente principal da molécula de clorofila (Taiz e Zeiger, 2013). Portanto, o índice relativo de clorofila SPAD pode ser atribuído como um indicador do estado nutricional de nitrogênio nas plantas, medido pela quantidade de pigmentos verdes nas folhas.

De acordo com SáG *et al.* (2019), as plantas que receberam inoculação de BPCP e foram fertilizadas com nitrogênio obtiveram valores na faixa de 30 a 40 demonstrando maiores índices de capacidade de recuperação fotossintética em comparação com as plantas não fertilizadas.

6.3 Produção de Perfilhos e Altura das Plantas

Observando os dados apresentados no Gráfico 4 os tratamentos inoculados com *A. brasilense* e *Bacillus sp.* S26 tiveram desempenho superior na contagem do número de perfilhos do capim Miyagui, sendo que as plantas inoculadas com *A. brasilense* produziram 11,5% a mais que as do tratamento fertilizado com 40 mg/dm³ de N mineral sem inoculação, trazendo uma perspectiva promissora no uso de BPCP associadas ao N mineral. Por sua vez, a produção de perfilhos dentro dos cortes (Gráfico 5) caiu a cada avaliação, havendo um desempenho mais baixo no terceiro corte.

Freitas *et al.* (2023) observaram que a produção de perfilhos por m² do capim *Megathyrsus maximus* cv. BRS Zuri inoculado com *A. brasilense* + 40 mg/dm³ de N foi superior ao observado nas plantas dos demais tratamentos. Já para altura, as

plantas do mesmo tratamento apresentaram melhor desempenho quando comparadas às do tratamento com apenas 40 mg/dm³ de N sem inoculação.

SáG *et al.* (2019) apresentaram dados em que a maior produtividade de perfilhos ocorreu nas plantas inoculadas com *P. fluorescens* juntamente com aplicação de N e, em contrapartida, as plantas inoculadas com *P. fluorescens* ou *R. tropici* e *A. brasilense* apresentaram rendimento de perfilhos semelhante às do controle negativo. Já Pedreira *et al.* (2017) trazem resultados em que a inoculação com *A. brasilense* não afetou a densidade populacional nem a dinâmica de perfilhamento em pastos de capim-marandu ao longo do ciclo vegetativo, revelando um padrão sazonal influenciado pelas variáveis climáticas. Guimarães *et al.* (2011) verificaram aumento de aproximadamente 7% no número de perfilhos nas plantas inoculadas com *A. brasilense* em relação à não inoculação, em pastagens de *Urochloa brizantha* cv. Marandu (*Brachiaria brizantha*).

A altura das plantas não variou de acordo com os tratamentos e somente foi verificado efeito do primeiro para o terceiro corte (Gráfico 3). Os valores médios de altura das plantas variaram de 33 a 41 cm sendo considerado um período de descanso de 28 dias de intervalo entre cortes.

6.4 Teor de Nitrogênio (N) na Parte Aérea

Conforme apresentado na Tabela 5, os teores de N na parte aérea da forragem no primeiro corte foram superiores nas plantas dos tratamentos sem inoculação e fertilizados com 40 mg/dm³ de N, sem inoculação e fertilizadas com 80 mg/dm³ de N quando comparada às do controle, com teor médio de 35% a mais, sem diferir das plantas do tratamento *A. brasilense* + 40 mg/dm³ de N. As plantas não inoculadas e fertilizadas com 80 mg/dm³ de N não diferiram estatisticamente daquelas inoculadas com *A. brasilense* e *Bacillus sp.* S26 + 40 mg/dm³, evidenciando que as BPCP proporcionaram maior aproveitamento do N do solo, e possivelmente, aporte de N pela FBN, já que as plantas apresentaram teores similares às que receberam adubação com 80 mg/dm³ de N. Os teores variaram de 30,06 a 41,49 g/kg na primeira avaliação e são superiores às faixas de valores publicadas no Boletim 100 do IAC (2022), sendo faixa de N considerada adequada para o grupo *Megathirsus* é de 15 a 25 g/kg. As plantas inoculadas com *Bacillus sp.* N72 apresentaram o menor teor de N, exceto as do tratamento controle, quando comparadas às dos demais tratamentos,

demonstrando baixa eficiência de FBN e aproveitamento do N mineral aplicado, nas condições experimentais.

No segundo e terceiro corte não houve diferença estatística entre os tratamentos. Também foi possível observar diferença dos cortes dentro dos tratamentos, quando o primeiro corte foi superior em todos os tratamentos, apresentando maiores médias no teor de N. Os teores variaram de 8,39 a 11,19 g/kg no segundo corte, o que representou uma queda no teor de N de 3,88 vezes, demonstrando que esses valores estão bem abaixo da faixa ideal preconizada pelo Boletim 100 do IAC. Freitas *et al.* (2023) em seu estudo com capim Zuri observaram queda no teor de N de aproximadamente 65% no corte de maio/2021 em relação ao corte de março/2021 em todos os tratamentos. Após uma nova adubação os teores de N voltaram a se elevar na planta.

Avaliando o Gráfico 2, que apresenta o teor de N acumulado, não houve diferença entre as plantas dos tratamentos com inoculantes e sem inoculantes e fertilizados com N. Os valores variaram de 47,36 a 60,40 g por planta entre todos os tratamentos. No tratamento não inoculado e adubado com 80 mg/dm³ de N as plantas apresentaram maior acúmulo de N, no entanto, sem diferir das plantas inoculadas com BPCP e fertilizadas com 40 mg/dm³ de N.

Hungria *et al.* (2016) analisando o teor de N (g kg⁻¹ de N) encontraram efeitos significativos da inoculação de BPCP associadas à fertilização com N. Em Ponta Grossa o teor de N encontrado foi de 22,3 g kg⁻¹ nas plantas fertilizadas e inoculadas e de 15,0 g kg⁻¹ quando somente inoculadas. Em Londrina e Três Lagoas houve diferença estatística, com valores de 22,4 g kg⁻¹ quando fertilizadas + inoculadas e 25,7 g kg⁻¹ quando somente inoculadas, de 16,3 g kg⁻¹ fertilizadas + inoculadas e 16,5 g kg⁻¹ quando fertilizadas respectivamente, no ano 1 e primeiro corte.

De acordo com SáG *et al.* (2019), a adubação nitrogenada combinada com a inoculação mostrou resultados estatisticamente comparáveis à aplicação de N e sem inoculação (controle positivo). Embora a concentração de nitrogênio e seu acúmulo na parte aérea não tenham diferido significativamente dos encontrados nas plantas do tratamento sem adubação nitrogenada e sem inoculação (controle negativo), as plantas inoculadas com *A. brasilense* e *P. fluorescens* apresentaram um aumento de 2,4% na concentração total de nitrogênio e um aumento de 14,7% no N acumulado. Heinrichs *et al.* (2020) observaram que o teor de N foliar aumentou quando utilizado

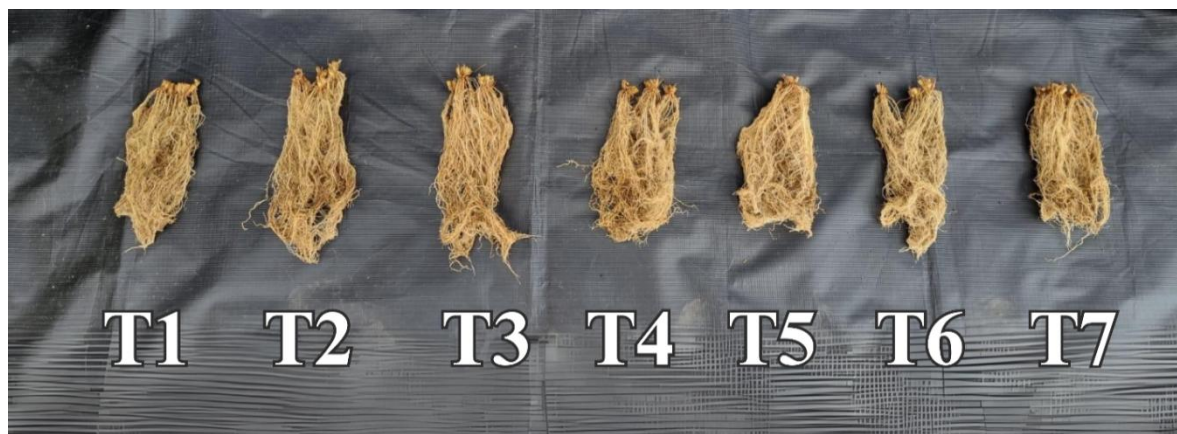
A. brasilense no segundo ano, além do aumento na concentração dos demais nutrientes, que pode ser atribuído a uma melhora na eficácia da planta em absorvê-los, resultando em aumento da eficiência de uso.

Lima *et al.* (2020) observaram que as plantas inicialmente inoculadas com *A. brasilense* Ab-V5 + Ab-V6 e *P. fluorescens* CCTB 03, seguida de reinoculação após o primeiro e segundo cortes, apresentaram melhor desempenho no acúmulo de nitrogênio, alcançando 418 e 416 mg/vaso, respectivamente. Adicionalmente, as plantas inoculadas com *A. brasilense* Ab-V5 + Ab-V6, junto com adubação nitrogenada, acumularam 2,72 mg/vaso de NH_4^+ , sendo que para ambas as variáveis (NH_4^+ e N total), a fertilização combinada com a inoculação foi estatisticamente superior ao controle positivo (2,44 mg/vaso). Embora não tenham diferido significativamente do controle negativo, as plantas inoculadas com *A. brasilense* Ab-V5 + Ab-V6, *P. fluorescens* CCTB 03 ou *R. tropici* CIAT 899 + *A. brasilense* Ab-V6 apresentaram aumentos de 17,2%, 9,7% e 13,9%, respectivamente, no acúmulo de N.

6.5 Avaliação Radicular

A avaliação do sistema radicular ao final do experimento não revelou diferença significativa entre os tratamentos para a produção de massa seca (Tabela 6). Já o teor de N foi maior nas raízes das plantas controle, embora as raízes das plantas dos tratamentos inoculados tenham apresentado resultados semelhantes. O valor mais baixo foi observado nas plantas do tratamento com 80 mg/dm³ de N, sugerindo que as BPCP podem auxiliar no aumento do teor de N pela FBN, em que a inoculação com *Bacillus sp.* S26 teve um desempenho de 7% melhor que as que receberam apenas 40 mg/dm³ de N e 24% melhor que as que receberam 80 mg/dm³ de N.

Figura 25 – Sistema Radicular.



Fonte: Elaborado pela autora

Heinrichs *et al.* (2020) observaram um comportamento distinto das raízes ao longo dos dois anos em que o experimento foi realizado, quando no primeiro ano houve aumento de 36% com relação aos demais tratamentos, já no segundo ano o aumento foi de apenas 17%, ambos inoculados com *A. brasilense*. Guimarães *et al.* (2023) observaram que para a cultivar Tamani o uso de *A. brasilense* aumentou a massa seca e volume das raízes, além do aumento da área radicular. Já na cultivar Mombaça houve um aumento na densidade do tecido radicular, sugerindo que apesar das variações entre os genótipos de plantas e as cepas bacterianas, todos os tratamentos de inoculação resultaram em melhorias nas características de crescimento radicular em todas as cultivares de *M. maximus*. No entanto, algumas cultivares, como Mombaça, Tanzânia e Zuri, apresentaram maior responsividade à inoculação, independentemente da espécie bacteriana utilizada como inóculo. Em contrapartida, outras cultivares, como Quênia e Massai, mostraram especificidade, respondendo apenas a duas espécies bacterianas. Também foram observadas diferenças significativas entre as bactérias, sendo que *A. brasilense* teve um impacto mais pronunciado nas características morfológicas das raízes em todos os genótipos avaliados. Para a cultivar Miyagui avaliada nesse trabalho, as BPCP não proporcionaram responsividade à inoculação, o que difere dos resultados apresentados e descritos acima por Guimarães *et al.* (2023). Lima *et al.* (2020) em experimento com capim Zuri obtiveram valores de produtividade de massa seca de raízes de 7,03 e 9,47 g/vaso nos tratamentos controle e no tratamento com *R. tropici* CIAT899 + *A. brasilense* Ab-V6 + N + reinoculação respectivamente.

6.6 Valor Nutritivo

Avaliando os dados de proteína bruta (PB) apresentados na Tabela 7, pode-se observar que no tratamento com *A. brasilense* os resultados foram semelhantes aos encontrados nas plantas do tratamento inoculado com apenas 40 mg/dm³ de N na primeira avaliação, variando de 18 a 25% no primeiro corte, os quais são considerados muito bons.

Para o teor de fibra insolúvel em detergente neutro (FDN), conforme apresentado na Tabela 8, não foi observado efeito dos tratamentos, apenas entre os cortes, sendo que no primeiro corte o teor médio de FDN foi de 56%, já no segundo aumentou para 69% e no terceiro corte para 72%. De acordo com Van Soest (1965), percentuais de FDN entre 55 e 60% da matéria seca do alimento estão associados à diminuição do consumo da forragem pelo animal. Forragens com baixo teor de FDN têm maiores taxas de consumo, logo, teores de FDN acima de 60% na matéria seca são prejudiciais, sendo desejáveis valores menores (Moura *et al.*, 2011). O mesmo ocorreu com os teores de fibra insolúvel em detergente ácido (FDA), conforme apresentado na Tabela 9, não havendo diferença entre os tratamentos, apenas entre os cortes. No primeiro corte o teor médio de FDA foi de 27%, no segundo aumentou para 33% e no terceiro 36%. De acordo com Van Soest (1965) o FDA estava de adequado, se mantendo nos percentuais de 23 a 35% nos três cortes, sendo que baixos valores de FDA significam maior energia e alta digestibilidade (Moura *et al.*, 2011).

Para a digestibilidade verdadeira *in vitro* da matéria seca (DIVMS), não houve efeito dos tratamentos (Tabela 9), mas houve efeito dos cortes, apresentando maior teor de DIVMS o primeiro corte com média de 88%. Já o segundo e terceiro corte não diferiram entre si, observando a taxa média de 83% no segundo corte e 80% no terceiro corte.

7 CONCLUSÕES

A produção acumulada de massa seca da parte aérea do capim Miyagui foi mais responsiva para a fertilização na dose de 80 mg/dm³ de N. As bactérias *A. brasilense* e *Bacillus sp.* S26 foram similares ao tratamento não inoculado e adubado na dose de 40 mg/dm³ N. No entanto, o *Bacillus sp.* N72 e a associação de bactérias apresentou desempenho abaixo do esperado.

Os teores de SPAD foram maiores para todos os tratamentos nas avaliações no primeiro corte, observando melhores taxas nas plantas que receberam 80 mg/dm³ de N e *Bacillus sp.* S26 + 40 mg/dm³ de N. A produção de perfilhos, os tratamentos com *A. brasilense* e *Bacillus sp.* S26 apresentaram dados superiores, apontando efeito positivo da inoculação de BPCP neste parâmetro.

No sistema radicular não observamos diferenças significativas na produção de MS e a fixação de N foi melhor no tratamento controle. Não havendo interação e efeitos benéficos do uso de BPCP no capim Miyagui.

Para o valor nutritivo do capim Miyagui obtivemos teores similares de PB e FDN nos tratamentos sem inoculação e fertilizado com 40 mg/dm³ de N e inoculado com *A. brasilense* + 40 mg/dm³ de N. Os teores de FDA e Digestibilidade verdadeira *in vitro* da matéria seca em todos os tratamentos foram semelhantes, não havendo tanta efetividade das BPCP nestes parâmetros.

A BPCP *Bacillus sp.* S26 apresentou desempenho interessante o que sugere novas pesquisas com essa bactéria.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRAMOVAY, R. Alimentos versus população: está ressurgindo o fantasma malthusiano? **Ciênc. Cult.**, v. 62, p. 38–42, 2010.
- ABREU, J. B. R.; MONTEIRO, F. A. Produção e nutrição do capim-Marandu em função de adubação nitrogenada e estágios de crescimento. **Boletim de Indústria Animal, Nova Odessa**, v. 56, p. 137-146, 1999.
- AHEMAD, M.; KIBRET, M. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective. **Journal of King Saud University-Science**, v. 26, p. 1-20, 2014.
- ALVES, J. J. A.; ARAÚJO, M. A.; NASCIMENTO, S. S. Degradação da caatinga: uma investigação ecogeográfica. **Revista Caatinga**, v. 22, n. 3, p. 126-135. 2009.
- 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.
- ARAUJO F. F.; GUABERTO L. M.; SILVA I. F. Bioprospecting of growth promoting rhizobacteria in *Brachiaria brizantha*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 41, p. 521–552, 2012.
- ASSMANN, A. L.; PELISSARI, A.; MORAES A. Produção de gado de corte e acúmulo de matéria seca em sistema de integração lavourapecuária em presença e ausência de trevo branco e nitrogênio. **Revista Brasileira de Zootenia**, v. 33, p. 37-44, 2004.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNE (ABIEC). **Números do setor**, 2024. Disponível em: <https://www.abiec.com.br/>. Acesso em: 14 out. 2025.
- BAHLO, C.; DAHLHAUS, P.; THOMPSON, H.; TROTTER, M. The role of interoperable data standards in precision livestock farming in extensive livestock systems: a review. **Comput. Electron. Agric.**, v. 156, p. 459–466, 2019.
- BALDANI, J. I.; BALDANI, V. L. History on the biological nitrogen fixation research in graminaceous plants: special emphasis on the Brazilian experience. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, p. 549-579, 2005.
- BASHAN, Y.; DE-BASHAN, L.E. Bacteria/plant growth-promoting. In: HILLEL, D. (Ed.). **Encyclopedia of soils in the environment**. Oxford: [S.n.], 2005. v. 1. p. 103-115.
- BERGAMASCHI, C. **Ocorrência de bactérias diazotróficas associadas às raízes e colmos de cultivares de sorgo**. 2006. 71 f. Dissertação, (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2006.
- BERGAMASCHI, C.; ROESCH, L. F. W.; QUADROS, P. D. D.; CAMARGO, F. A. D. O. Ocorrência de bactérias diazotróficas associadas a cultivares de sorgo forrageiro. **Ciência Rural**, p. 727-733, 2007.
- BOLETIM 100: Recomendações de adubação e calagem para o estado de São Paulo. Campinas: Instituto Agrônomo (IAC), 2022.
- BOURSCHEIDT, M. L. B.; CARNEIRO, B.P.; PEREIRA, D. H.; ZANETTE, M. C.;

- DEVENS, J. Nitrogen input strategies in pastures: mineral fertilizer, bacterial inoculant and consortium with forage peanuts. **Science Electronic Archieve**, v. 12, n. 137, 2019. DOI 10.36560/1232019784.
- BRAGA, G. J.; RAMOS, A. K. B.; CARVALHO, M. A.; FONSECA, C. E. L.; FERNANDES, F. D.; MALAQUIAS, J. V.; SANTOS, M. F.; JANK, L. **Produção de forragem e valor nutritivo de híbridos de *panicum maximum* jacq. em resposta à adubação**. Brasília: Embrapa Cerrados, 2019. 19 p.
- CAMPOS, F. P.; NUSSIO, C. M. B.; NUSSIO, L. G. **Métodos de análise de alimentos**. Piracicaba: FEALQ, 2004.
- CAMPOS, F. P.; NICÁCIO, D. R. O.; SARMENTO, P.; CRUZ, M. C. P.; SANTOS, T. M.; FARIA, A. F. G.; FERREIRA, M. E.; CONCEIÇÃO, M. R. G.; LIMA, C. G. Chemical composition and in vitro ruminal digestibility of hand-plucked samples of Xaraes palisade grass fertilized with incremental levels of nitrogen. **Animal Feed Science and Technology**, v. 215, p. 1–12, 1 maio 2016.
- CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; MATTOS Junior, D.; BOARETTO, R. M.; RAIJ, B. Van. **Boletim 100**: Recomendações de adubação e calagem para o estado de São Paulo. Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, 2022.
- CANTO, M. W.; HOESCHL, A. R.; BONA FILHO, A. Características do pasto e eficiência agrônômica de nitrogênio em capim-tanzânia sob pastejo contínuo, adubado com doses de nitrogênio. **Ciência Rural**, p. 682-688, 2013.
- CAPPELLE, E. R.; VALADARES FILHO, S. D. C.; SILVA, J. F. C. D.; CECON, P. R. Estimativas do Valor Energético a partir de Características Químicas e Bromatológicas dos Alimentos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 6, p. 1837–1856, dez. 2001.
- 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**, v. 8, n. 5, p. 437-463, 2020.
- CHUEIRE, L. M. O.; BANGEL, E. V.; MOSTASSO, F. L.; CAMPO, R. J.; PEDROSA, F. O.; HUNGRIA, M. Classificação taxonômica das estirpes de rizóbio recomendadas para as culturas da soja e do feijoeiro baseada no seqüenciamento do gene 16S rRNA. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 27, p. 833–840, 2003.
- DETMANN, E.; QUEIROZ, A. C. D.; CECON, P. R.; ZERVOUDAKIS, J. T.; PAULINO, M. F.; VALADARES FILHO, S. D. C.; CABRAL, L. D. S.; LANA, R. D. P. Consumo de fibra em detergente neutro por bovinos em confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 6 suppl 1, p. 1763–1777, dez. 2003.
- DÖBEREINER, J., MARRIEL, I., NERY, M. Ecological distribution of *Spirillum lipoferum*. **Can. J. Microbiol.** v. 22, p. 1464–1473, 1976.
- 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.
- DUPAS, E.; BUZETTI, S.; RABÊLO, F. H. S.; SARTO, A. L.; CHENG, N. C.;

TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; GALINDO, F. S.; DINALLI, R. P.; GAZOLA, R. N. Nitrogen recovery, use efficiency, dry matter yield, and chemical composition of palisade grass fertilized with nitrogen sources in the Cerrado biome. **Australian Journal of Crop Science**, v. 10, n. 9, p. 1330-1338, 2016.

EDWARDS, R. A.; HARPER, F.; HENDERSON, A. R. The potential of sunflower as a crop for ensilage. **Journal of Science of Food and Agriculture**, v.1, n. 29, p. 332-338, 1978. DOI 10.1002/jsfa.2740290406.

EVANS, H. J.; BURRIS, R. H. Highlights in biological nitrogen fixation during the last 50 years. In: STACEY, G.; BURRIS, R. H.; EVANS, H. J. (ed.). **Biological nitrogen fixation**. New York: Chapman and Hall, 1992. p.1-42.

FONSECA, P. R. B. ; FERNANDES, M. G.; DUTRA, F.; SOUZA, T. A.; PONTIM, B. C. A. Uso do SPAD-502 na avaliação dos teores foliares de clorofila, em híbridos de milho, Zea mays L., Bt e isogênico. **Revista Verde**, Mossoró, v. 7, n. 1, p. 56-60, 2012.

FREITAS, G. D. S.; MOREIRA, A.; PRUDENCIO, M. F.; HEINRICHS, R.; NOGUEIRA, M.A.; HUNGRIA, M.; SOARES FILHO, C.V. Foliar Spray Inoculation with Plant Growth Promoting Bacteria Associated with Nitrogen Doses in *Megathyrsus maximus* cv. BRS Zuri. **Agronomy**, v.13, p. 1040, 2023.

GALINDO, F.S.; BUZETTI, S.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; DUPAS, E.; LUDKIEWICZ, M. G. Z. Application of different nitrogen doses to increase nitrogen efficiency in Mombasa guineagrass (*Panicum maximum* cv. mombasa) at dry and rainy seasons. **Australian Journal of Crop Science**, v. 11, n. 12, p. 1657-1664, 2017.

GARRIDO, M. F.; CÁRDENAS, D. M.; BONILLA, R. R.; BALDANI, V. L. Efecto de los factores edafoclimáticos y la especie de pasto en la diversidad de bacterias diazotróficas. **Pastosy Forrajes**, v. 33, p. 1–11, 2010.

GAZOLA, T.; DOMINGUES, M. C. C.; DIAS, M. F.; CIPOLA FILHO, M. L.; BELAPART, D.; CASTRO, E. B. Effects of *Azospirillum brasilense* inoculation in pasture area. **Revista Unimar Ciências**, v. 24, p. 40–48, 2015.

GLICK, B. R. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. **Microbiological Research**, v. 169, n. 1, p. 30–39, 2014.

GOUDA, S.; KERRY, R. G.; DAS, G.; PARAMITHIOTIS, S.; SHIN, H. S.; PATRA, J. K. Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture. **Microbiological Research**, v. 206, p. 131-140, 2018.

GUIMARÃES, S. L.; BONFIM-SILVA, E. M.; POLIZEL, A. C.; CAMPOS, D. T. S. Produção de Capim-Marandu inoculado com *Azospirillum* spp. **Enciclopédia Biosfera**, v. 7, n. 13, p. 816-826, 2011.

SALOMAO, L. G.; CAROLINA, S. A. D. S.; EDNA, M. B. S.; ANALY, C. P.; EACUTE DER, R. B. Nutritional characteristics of marandu grass (*Brachiaria brizantha* cv. marandu) subjected to inoculation with associative diazotrophic bacteria. **African Journal of Microbiology Research**, v. 10, n. 24, p. 873–882, 28 jun. 2016. DOI 10.5897/AJMR2016.7951.

GUIMARÃES, G. S.; RONDINA, A. B. L.; OLIVEIRA JUNIOR, A. G.; JANK, L.; NOGUEIRA, M. A.; HUNGRIA, M. Inoculation with Plant Growth-Promoting Bacteria Improves the Sustainability of Tropical Pastures with *Megathyrsus maximus*.

Agronomy, v. 13, p. 734 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/agronomy13030734>. Acesso em: 14 out. 2025.

GUIMARÃES, G. S.; RONDINA, A. B. L.; SANTOS, M. S.; NOGUEIRA, M. A.; HUNGRIA, M. Pointing out opportunities to increase grassland pastures productivity via microbial inoculants: attending the society's demands for meat production with sustainability. **Agronomy**, v. 12, p. 1748, 2022.

HEINRICHS, R.; MEIRELLES, G. C.; SANTOS, L. F. M.; LIRA, M. V. S.; LAPAZ, A. M.; NOGUEIRA, M. A.; BONINI, C. S. B.; SOARES FILHO, C. V., MOREIRA, A. **Inoculação do Azospirillum em sementes de capim Marandu**: efeitos na produção de forragem e estado nutricional. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 41, n. 2, p. 465–478, 2020.. Disponível em: <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2020v41n2p465>. Acesso em: 14 out. 2025.

HOLDEN, L. A. Comparison of methods of *in vitro* dry matter digestibility for tem feeds. **Journal of Dairy Science**, v. 82, p. 1791-1794, 1999.

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

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

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; SOUZA, E. M.; PEDROSA, F. O. Inoculation with selected strains of Azospirillum brasilense and A. lipoferum improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant and Soil**, v. 331, n.1-2, p.413-425, 2010.

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

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A. Nitrogen fixation. In: RENGEL, Z.; CAKMAK, İ.; WHITE, P. J.; MARSCHNER, H. (EDS.). **Marschner's mineral nutrition of plants**. 4. ed. London: CA Cambridge; Oxford: Academic Press, 2023. p. 615–650.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, 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. **Agric. Ecosyst. Environ.**, v. 221, p. 125–131, 2016.

IBGE. **Censo Agro, resultados definitivos**. 2017. Disponível em: https://censoagro2017.ibge.gov.br/templates/censo_agro/resultadosagro/estabelecimentos.html. Acesso em: 14 out. 2025.

IBGE. **Pesquisa de pecuária**. 2023. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/bovinos/br>. Acesso em: 14 out. 2025.

JANK, L. A história do Panicum maximum no Brasil. **Ver. JC Maschietto**, v. 1, n. 14, 2003.

LARCHER, W. **Plant Ecophysiology**. São Carlos, Brasil: Rima, 2000.

LAVRES JUNIOR, J.; MONTEIRO, F. A. Diagnose nutricional de nitrogênio no capim-aruaa em condições controladas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 30, p. 829-837, 2006.

- 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 *Azospirillum brasilense*. **Crop and Pasture Science**, p. 61-67. 2018.
- LIMA, G. C. DE; HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; MOREIRA, A.; HEINRICHS, R.; SOARES FILHO, C. V. Yield, yield components and nutrients uptake in Zuri guinea grass inoculated with plant growth-promoting bacteria. **International Journal for Innovation Education and Research**, v. 8, n. 4, p. 103-124, 2020.
- LOPES, M. J. S.; DIAS-FILHO, M. B.; CASTRO, T. H. R.; GURGEL, E. S. C.; SILVA, G. B. Efficiency of biostimulants for alleviating shade effects on forage grass. **J. Agric. Stud.**, v. 9, p. 14–30, 2021
- MACEDO, M. C. M.; ARAÚJO, A. R. Sistemas de produção em integração: Alternativa para recuperação de pastagens degradadas. *In*: BUNGENSTAB, D. J.; DE ALMEIDA, R. G.; LAURA, V. A.; BALBINO, L. C.; FERREIRA, A. D. (ed.). **ILPF: Inovação com integração de lavoura, pecuária e floresta**. Brasília: Embrapa, 2019. v. 1. p. 296–317.
- MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição de plantas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2006. 638 p.
- MANRIQUE A. E. R., MAZZUCHELLI R. C. L., ARAUJO F. F. Effect of physiological conditioning and pelleting with *Bacillus subtilis* on pasture development. **Colloquium Agrariae**, v. 9, p. 57–63, 2013.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Política Agrícola. **Agropecuária brasileira em números**. [202-?]Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/ptbr/assuntos/politica-agricola/todas-publicacoesde-politicaagricola/agropecuariabrasileira-em-numeros>. Acesso em: 14 jul. 2024..
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 36, de 3 de agosto de 2004 – Anexo I. **Diário Oficial da União**, seção 1, Brasília, DF, n. 153, 10 ago. 2004.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **CultivarWeb**: detalhe da cultivar. 2017. Disponível em: https://sistemas.agricultura.gov.br/snpc/cultivarweb/detalhe_cultivar.php?codsr=37343&codverif=0. Acesso em: 14 jul. 2024.
- 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. [S.l.]: Seropédica, 1999. 34 p. (Série Documentos. Embrapa Agrobiologia).
- 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.
- 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.

- MORAIS, J. P.; CANCELLIER, L. L.; AFFÉRI, F. S.; CARVALHO, E. V.; CAMILO, A.; UATE, J. V. Crescimento Inicial e correlação com produtividade em diferentes genótipos de milho e doses de nitrogênio. *In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO*, 29., 2012, Águas de Lindóia-SP. **Anais [...]** Águas de Lindóia: [s.n.], 2012.
- MOULD, F. L.; KLIEM, K. E.; MORGAN, R.; MAURICIO, R. M. In vitro microbial inoculum: a review of its function and properties. **Animal Feed Science and Technology**, v. 123-124, p. 31-50, 2005.
- MOURA, R.; NASCIMENTO, M.; RODRIGUES, M.; OLIVEIRA, M.; LOPES, J. Razão folhas/haste e composição bromatológica da rebrota de estilosantes Campo Grande em cinco idades de corte. **Acta Scientiarum Sciences**, Maringá, v. 33, n. 3, p. 249-253, 2011.
- MUS, F.; CROOK, M. B.; GARCIA, K.; COSTAS, A. G.; GEDDES, B. A.; KOURI, E. D.; PARAMASIVAN, P.; RYU, M. H.; OLDROYD, G. E.; POOLE, P. S.; UDVARDI, M. K. Symbiotic nitrogen fixation and the challenges to its extension to nonlegumes. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 82, p. 3698-3710, 2016.
- OKON, Y.; LABANDERA-GONZALES, C. A. Agronomic applications of *Azospirillum*: an evaluation of 20 years worldwide field inoculation. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 26, n. 12, p. 1591-1601, 1994.
- OLIVEIRA, M. D. S.; SAMPAIO, A. A. M.; VIEIRA, P. F. FREITAS, J. C. M.; SHOCKEN-ITURRINO, R. P. Efeito de métodos de coleta de fluido ruminal em bovinos sobre alguns parâmetros ruminais e microbiológicos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, n. 5, p. 867-871, 1999.
- PEDREIRA, B. C. E.; BARBOSA, P. L.; PEREIRA, L. E. T.; MOMBACH, M. A.; DOMICIANO, L. F.; PEREIRA, D.H.; FERREIRA, A. Tiller density and tillering on *Brachiaria brizantha* cv. Marandu pastures inoculated with *Azospirillum brasilense*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 69, n. 4, 2017.
- PEREIRA, E. S.; PIMENTEL, P. G.; DUARTE, L. S.; MIZUBUTI, I. Y.; ARAÚJO, G. G. L.; CARNEIRO, M. S. S.; REGADAS FILHO, J. G. L.; MAIA, I. S. G. Determinação das frações proteicas e de carboidratos e estimativa do valor energético de forrageiras e subprodutos da agroindústria produzidos no Nordeste Brasileiro. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 4, p. 1079-1094, 2010.
- PERON, A. J.; EVANGELISTA, A. R. Degradação de pastagens em regiões de cerrado. **Ciênc. Agrotec.**, v. 28, p. 655–661, 2004.
- PIMENTEL-GOMES, F.; GARCIA, C. H. **Estatística aplicada a experimentos agrônomicose florestais**: exposição com exemplos e orientações para uso de aplicativos. Piracicaba:FEALQ, 2002. 309 p.
- PRIMAVESI, A. C.; PRIMAVESI, O.; CORRÊA, L. de A.; CANTARELLA, H.; SILVA, A. G. da; FREITAS, A. R.; VIVALDI, L. J. Adubação nitrogenada em capim-Coastcross: efeitos na extração de nutrientes e recuperação aparente do nitrogênio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa (MG), v. 33, n. 1, p. 68-78, 2004.
- QUAGGIO, J. A. Respostas das culturas à calagem. *In: SEMINÁRIO SOBRE CORRETIVOS AGRÍCOLAS*, Piracicaba, 1985. **Anais [...]**. Campinas: Fundação Cargill, 1985. p.123-157.
- RAIJ, B. Van; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. **Análise**

química para avaliação da fertilidade de solos tropicais. Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, 2001. p. 285.

RAVIER, C.; QUEMADA, M.; JEUFFROY, M. H. Use of a chlorophyll meter to assess nitrogen nutrition index during the growth cycle in winter wheat. **Field Crops Research**, v. 214, n. 1, p. 73-82, 2017.

REIS JUNIOR, F. B.; MACHADO, C. T. T.; MACHADO, A. T.; SODEK, L. Inoculação de *Azospirillum amazonense* em dois genótipos de milho sob diferentes regimes de nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, n. 3, p. 1139-1146, 2008.

REIS, V. M.; OLIVEIRA, A. L. M.; BALDANI, V. L. D.; OLIVARES, F. L.; BALDANI, J. I. Fixação biológica de nitrogênio simbiótica e associativa. In: FERNANDES, M. S. (ed.). **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. p.153-174.

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

RIGON, J. P. G.; CAPUANI, S.; BRITO NETO, J. F.; BELTRÃO, N. E. M. Indirect measurement of photosynthetic pigments in the leaves of *Jatropha curcas*. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 2, p. 669-674, 2013. Disponível em: www.redalyc.org/pdf/445744120039.pdf. Acesso em: 14 out. 2025.

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**, v. 24, n. 2, p. 139- 146, 2016.

SÁG, G. C. R.; SÁ, C. R.; CARVALHO, C. L. M.; MOREIRA, A.; HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; HEINRICHS, R.; SOARES FILHO, C. V. Biomass yield, nitrogen accumulation and nutritive value of mombuca grass inoculated with plant growth-promoting bacteria. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, 2019. DOI 10.1080/00103624.2019.1648498.

SAMBORSKI, S. M.; TREMBLAY, N.; FALLON, E. Strategies to make use of plant sensors-based diagnostic information for nitrogen recommendations. **Agronomy Journal**, v. 101, n. 4, p. 800-816, 2009.

SAMPAIO, F. A. R.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; DA SILVA OLIVEIRA, C. E.; JALAL, A.; BOLETA, E. H. M.; DE LIMA, B. H.; ROSA, P. A. L.; GALINDO, F. S.; DE SOUZA, J. S. Nitrogen supply associated with rhizobacteria in the first productive cycle of Marandu grass. **Journal of Crop Science and Biotechnology**, v. 24, n. 4, p. 429–439, set. 2021.

SANTOS, A. R. **Diagnose nutricional e respostas do capim-braquiária submetido a doses de nitrogênio e enxofre**. 1997. 115 f. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1997.

SANTOS, H. G.; JACOMINE, P. K. T.; ANJOS, L. H. C.; OLIVEIRA, V. A.; 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**. 5. ed. Brasília, DF: EMBRAPA, 2018.

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**, v. 9, n. 1, p. 205, 2019.

SARRUGE, J. R., HAAG, H. P. **Análises químicas em plantas**. Piracicaba: ESALQ, 1974. 56 p.

SHARMA, S. B.; SAYYED, R. Z.; TRIVED, M. H.; GOBI, T.A. Phosphate solubilizing microbes: Sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. **SpringerPlus**, v. 2, p. 1–14, 2013.

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

SILVA, E. B.; CARNEIRO, M. S. S.; FURTADO, R. N.; LOPES, M. N.; BRAGA, M. M. Chemical composition of *Panicum maximum* BRS Zuri subjected to levels of salinity and irrigation depths. **Revista Ciência Agronômica**, v. 51, n. 1, p. 1–10, 2020

SILVA, J. de L.; RIBEIRO, K. G.; HERCULANO, B. N.; PEREIRA, O. G.; PEREIRA, R. C.; SOARES, L. F. P. Massa de forragem e características estruturais e bromatológicas de cultivares de Brachiaria e Panicum. **Ciência Animal Brasileira**, v. 17, n. 3, p. 342–348, 2016.

SILVA, M. F. **Uso de inoculante polimérico contendo bactérias diazotróficas na cultura de cana-de-açúcar**. 2009. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009.

SILVEIRA, É. L. **Inoculações de bactérias promotoras de crescimento no cultivo de arroz em solução nutritiva**. 2008. Tese. (Doutorado em Microbiologia Agropecuária) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2008.

SMITH, C.; HILL, A. K.; TORRENTE-MURCIANO, L. Current and future role of Haber–Bosch ammonia in a carbon-free energy land-scape. **Energy Environ. Sci.**, v. 13, p. 331–344, 2020.

SPRENT, J. I.; SPRENT, P. **Nitrogen fixing organisms**. 2. ed. London: Chapman and Hall, 1990. 256 p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. Porto Alegre: Artmed, 2013.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6. Ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 858 p.

TERRA, A. B.; FLORENTINO, L. A.; REZENDE, A. D.; SILVA, N. C. Leguminosas forrageiras na recuperação de pastagens no Brasil. **Rev. Cienc. Agrícola**, v. 42, p. 305–313, 2019.

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.

VASCONCELOS, C. N. **Pastagens: implantação e manejo**. Salvador: EDBA, 2006. p. 177.

VESSEY, J. K. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. **Plant and Soil**, v. 255, p. 571- 586, 2003.

VIANA, L. T.; BUSTAMANTE, M. M. C.; MOLINA, M.; PINTO, A. S.; KISSELLE, K.; ZEPP, R.; BURKE, R. A. Microbial communities in Cerrado soils under native vegetation subjected to prescribed fire and under pasture. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, p. 1665–1672, 2011.

WANG, H.; WANG, S.; YU, Q.; ZHANG, Y.; WANG, R.; LI, J.; WANG, X. No tillage increases soil organic carbon storage and decreases carbon dioxide emission in the crop residue-retained farming system. **Journal of Environmental Management**, v. 261, p. 110261, 2020.

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

WHITEMAN, P. C. **Tropical pasture science**. New York: Oxford University Press, 1980. 392 p.