UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Ilha Solteira

Fernando Antônio Rebouças Sampaio

INOCULAÇÃO COM *Azospirillum brasilense* E *Bacillus subtilis* ASSOCIADA À ADUBAÇÃO NITROGENADA NA NUTRIÇÃO, DESENVOLVIMENTO E PRODUÇÃO DO CAPIM *Urochloa brizantha* cv. MARANDU

Ilha Solteira
2020

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Ilha Solteira

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

Fernando Antônio Rebouças Sampaio

INOCULAÇÃO COM *Azospirillum brasilense* E *Bacillus subtilis* ASSOCIADA À ADUBAÇÃO NITROGENADA NA NUTRIÇÃO, DESENVOLVIMENTO E PRODUÇÃO DO CAPIM *Urochloa brizantha* cv. MARANDU

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia – UNESP, Campus de Ilha Solteira, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Agronomia. Especialidade: Sistemas de Produção.

Prof. Dr. Marcelo Carvalho Minhoto Teixeira Filho

Orientador

Ilha Solteira
2020

FICHA CATALOGRÁFICA
Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

Sampaio, Fernando Antônio Rebouças.
S192i Inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Bacillus subtilis* associada à adubação nitrogenada na nutrição, desenvolvimento e produção do capim *Urochloa brizantha* cv. marandu / Fernando Antônio Rebouças Sampaio. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2020
175 f. : il.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Área de conhecimento: Sistemas de Produção, 2020

Orientador: Marcelo Carvalho Minhoto Teixeira Filho
Inclui bibliografia

1. Bactérias promotoras de crescimento de plantas. 2. *Brachiaria brizantha*. 3. Coinoculação. 4. Fixação biológica de nitrogênio. 5. Massa seca da parte aérea. 6. Recuperação de pastagens degradadas.

Raiane da Silva Santos
Supervisora Técnica de Seção
Seção Técnica de Referência, Atendimento ao usuário e Documentação
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação
CRB/8 - 9999

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Ilha Solteira

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: **Inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Bacillus subtilis* associada à adubação nitrogenada na nutrição, desenvolvimento e produção do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu.**

AUTOR: FERNANDO ANTONIO REBOUÇAS SAMPAIO
ORIENTADOR: MARCELO CARVALHO MINHOTO TEIXEIRA FILHO

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

Prof. Dr. MARCELO CARVALHO MINHOTO TEIXEIRA FILHO
Departamento de Fitossanidade, Engenharia Rural e Solos / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - UNESP

Prof. Dr. RAFAEL MONTANARI
Departamento de Fitossanidade, Engenharia Rural e Solos / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - UNESP

Profª. Drª. GLAUCIA AMORIM FARIA
Departamento de Matemática / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - UNESP

Dr. EDSON CABRAL DA SILVA
Campus de Rio Verde / Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – IFGoiano

Prof. Dr. VAGNER DO NASCIMENTO
Departamento de Agronomia / Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas de Dracena - UNESP

Ilha Solteira, 18 de agosto de 2020

Dedico...

Às memórias de meus pais, José Sampaio e Maria Rebouças Sampaio

Às memórias de meus irmãos, Natal, Lúcia e Zelitinho.

Aos meus irmãos, Airton, João, Mário e Marcos.

Às minhas irmãs, Eliane, Rejane, Bernadete e Socorro.

“Amor e Gratidão”

Ofereço...

À minha amada esposa, Maria Suely

Aos meus filhos, João Alexandre, Pedro Filipe e Maria Fernanda.

Às minhas netinhas, Maria Cecília e Amélia Kate

“Amor, Confiança e Tolerância”.

“O que vale na vida não é o ponto de
partida e sim a caminhada.
Caminhando e semeando, no fim
terás o que colher”.

(Cora Coralina)

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida, saúde, por guiar e abençoar os meus caminhos e me permitir a realizar tantos sonhos.

Aos meus pais (*in memoriam*), em especial à minha mãe, pelo carinho, confiança, incentivo e amor incondicional. Como sinto sua falta... mãe.

Aos meus irmãos (éramos doze, hoje, somos nove) e seus familiares, pela convivência humilde, compreensiva, carinhosa e de respeito mútuo.

À minha amada esposa Maria Suely, pela presença e compartilhamento de todos os nossos momentos. Por acreditar no nosso presente e futuro. Obrigado por tudo.

Aos meus filhos, razão da minha trajetória de vida.

Às minhas netas, pela beleza e inocência. O vovô ama vocês.

Ao Professor Dr. Marcelo Carvalho Minhoto Teixeira Filho, pela orientação, confiança, compreensão, apoio e amizade.

Aos Professores do Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, em especial Rafael Montanari, Gláucia Amorim Faria e Morel de Passos e Carvalho, pela transferência de conhecimentos, estímulos e amizade.

Ao professor Rafael Henrique dos Reis, pela amizade e apoio logístico.

Ao Instituto Federal de Rondônia (IFRO), por todos os procedimentos legais deste curso e pela infraestrutura disponibilizada.

À Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira (UNESP), pela oferta e execução do curso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de doutorado.

Aos funcionários do Laboratório de Nutrição de Plantas, pela contribuição na realização das análises.

Aos colegas de Doutorado, Abílio, Arnaldo, Fabíola, Gisele, Guilherme, Irlan, Jessé, Juliana, Leandro, Luciane, Luciano, Luiz, Marcel, Ponciano, Raica, Rafael, Nirvani, Thassiane e Valdique, pela convivência e companheirismo.

A todos que direto ou indiretamente contribuíram com este trabalho.

INOCULAÇÃO COM *Azospirillum brasilense* E *Bacillus subtilis* ASSOCIADA À ADUBAÇÃO NITROGENADA NA NUTRIÇÃO, DESENVOLVIMENTO E PRODUÇÃO DO CAPIM *Urochloa brizantha* cv. MARANDU

RESUMO – Bactérias dos gêneros *Azospirillum* e *Bacillus* são descritas como promotoras do crescimento de plantas e, quando associadas à adubação nitrogenada, podem reabilitar a capacidade produtiva das gramíneas forrageiras e auxiliar no processo de recuperação das pastagens degradadas. Sendo assim, este estudo teve como objetivo avaliar o efeito da inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Bacillus subtilis*, de forma isolada e combinada, associada a níveis de adubação nitrogenada, no desenvolvimento, produção e qualidade nutricional de forragem do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu em quatro cortes. O experimento foi conduzido em casa de vegetação em delineamento inteiramente casualizado distribuído em esquema fatorial 4 x 5, com cinco repetições. O primeiro fator constituiu-se da inoculação das sementes de *Urochloa brizantha* cv. Marandu: sem inoculação, inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab-V5, Ab-V6), inoculação com estirpe de *Bacillus subtilis* (CCTB04) e a coinoculação com as estirpes de *A. brasilense* e *B. subtilis*; o segundo fator correspondeu às doses de nitrogênio: 0, 25, 50, 75 e 100 mg dm^{-3} de N (equivalentes a 0, 50, 100, 150 e 200 kg ha^{-1} de N) aplicados na forma de ureia. Os vasos foram preenchidos com 15 dm^3 de solo classificado como Argissolo Vermelho Amarelo distrófico proveniente de uma área com pastagem degradada. Em todos os vasos foram feitos a calagem e corrigidos os teores de fósforo, potássio e de micronutrientes. A inoculação for realizada na proporção de 1,0 mL 50 g^{-1} de sementes. Após cada corte da forrageira, foi realizada a reinoculação aplicando-se 5,0 mL $planta^{-1}$ de solução bacteriana (1,0 mL de calda bacteriana por litro de água) e a reaplicação da adubação nitrogenada (0, 25, 50, 75 e 100 mg dm^{-3} de N) conforme os tratamentos supramencionados. As variáveis avaliadas foram: altura de planta (AP), número de perfilhos (NP) e de folhas (NF), diâmetro basal do colmo (DC), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca total (MST), proteína bruta (PB) e acúmulos de nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K) na parte aérea ceifada do capim. Para todas as variáveis houve efeitos da interação da inoculação *versus* doses de nitrogênio, exceto para NP e NF no primeiro ciclo. De modo geral, as inoculações influenciaram a produção e qualidade do capim Marandu. Em todos os ciclos, na ausência da adubação nitrogenada, os tratamentos inoculados promoveram incrementos na AP, NP, DC, NF, MSPA, MST, PB e nos acúmulos de N, P e K, em comparação ao tratamento não inoculado. Independentemente do suprimento de nitrogênio, em pelo menos um dos ciclos de cultivo, os tratamentos inoculados proporcionaram acréscimos nas variáveis analisadas. Entre os tratamentos inoculados sobre o não inoculado, os melhores desempenhos (maiores incrementos mg dm^{-3} de N) no NP, NF e acúmulo de K foram obtidos com a inoculação isolada de *B. subtilis*, enquanto que a MSPA e o acúmulo de N foram mais influenciados com a inoculação isolada de *A. brasilense*, e por sua vez, a AP, DC, MST e acúmulo de P sobressaíram com a coinoculação. Os tratamentos inoculados reduziram os teores de PB em relação ao não inoculado, por efeito diluição na MSPA. Apesar de não ter sido regra, houve uma tendência de maior influência nas variáveis com a inoculação de *A. brasilense* associada à adubação até 50 mg dm^{-3} de N, enquanto a partir dessa dose, os melhores

resultados foram obtidos com a inoculação de *B. subtilis*. Os resultados sugerem que a inoculação com *A. brasilense* e *B. subtilis* na forma isolada ou combinada, associadas ou não à adubação nitrogenada, apresentam potencial para incrementar a nutrição e o crescimento do capim Marandu, além de ser uma alternativa na recuperação das pastagens degradadas de forma sustentável e com menor consumo de nitrogênio e custos.

Palavras-chave: Bactérias promotoras de crescimento de plantas, *Brachiaria brizantha*, Coinoculação, Fixação biológica de nitrogênio, Massa seca da parte aérea, Recuperação de pastagens degradadas.

INOCULATION WITH *Azospirillum brasilense* AND *Bacillus subtilis* ASSOCIATED TO NITROGEN FERTILIZATION IN THE NUTRITION, DEVELOPMENT AND PRODUCTION OF *Urochloa brizanta* cv. MARANDU

ABSTRACT – Bacteria of the genera *Azospirillum* and *Bacillus* are described as promoters of plant-growth and when associated with nitrogen fertilization, they can rehabilitate the productive capacity of forage grasses and assist in the recovery process of degraded pastures. Thus, this study aimed to evaluate the effect of inoculation with *Azospirillum brasilense* and *Bacillus subtilis*, in an isolated and combined forms, associated to nitrogen fertilization levels, on the development, production and nutritional quality of forage of *Urochloa brizantha* cv. Marandu in four cuts. The experiment was conducted in a greenhouse in a completely randomized design distributed in a factorial scheme 4 x 5, with five replications. The first factor was the inoculation of the *U. brizantha* cv. Marandu seeds: without inoculation, inoculation with *Azospirillum brasilense* strains (Ab-V5, Ab-V6), inoculation with *Bacillus subtilis* strain (CCTB04), and co-inoculation with *A. brasilense* and *B. subtilis*; the second factor corresponded to nitrogen doses: 0, 25, 50, 75 and 100 mg dm^{-3} of N (equivalent to 0, 50, 100, 150 and 200 kg ha^{-1} of N) applied in the form of urea. Experimental pots were filled with 15 dm^3 of a Typic Hapludult soil from an area with degraded pasture. In all them, liming was done, and the phosphorus, potassium and micronutrients contents were corrected. Inoculation is performed in the proportion of 1,0 mL 50 g^{-1} of seeds. After each cut of the forage, re-inoculation was carried out by appling 5,0 mL $plant^{-1}$ de bacterial solution (1,0 mL bacterial syrup per liter of water) and the reapplying nitrogen fertilization (0, 25, 50, 75 e 100 mg dm^{-3} of N) were performed according to the treatments aforenamed. The variables evaluated were: plant height (AP), number of tillers (NP) and leaves (NF), stem basal diameter (DC), shoot dry mass (MSPA), total dry mass (MST), crude protein (PB), and accumulations of nitrogen (N), phosphorus (P) and potassium (K) in the mowed shoot of the grass. For all variables there were effects of the interaction of inoculation versus nitrogen doses, except for NP and NF in the first cycle. In general, inoculations influenced the production and quality of Marandu grass. In all cycles, in the absence of nitrogen fertilization, the inoculated treatments promoted increases in AP, NP, DC, NF, MSPA, MST, PB and in the accumulations of N, P and K in shoot, compared to the non-inoculated treatment. Regardless of the nitrogen supply, in at least one of the cultivation cycles, the inoculated treatments provided increases in the analyzed variables. Among the inoculated treatments over the non-inoculated, the best performances (highest increments of mg dm^{-3} N) in NP, NF and K accumulation were obtained with the isolated inoculation of *B. subtilis*, while MSPA and N accumulation were more influenced by the isolated inoculation of *A. brasilense*; and in turn, AP, DC, MST and P accumulation stood out with co-inoculation. The inoculated treatments reduced the CP content in relation to the non-inoculated, due to the dilution effect on the MSPA. Although it was not a rule, there was a trend of greater influence on the variables with the inoculation of *A. brasilense* associated with fertilization up to 50 mg dm^{-3} of N; as from this dose, the best results were obtained with the inoculation of *B. subtilis*. The results suggest that inoculation with *A. brasilense* and *B. subtilis,* in isolated or combined form, associated or not with nitrogen fertilization, has the potential to increase the nutrition and growth of

Marandu grass, besides being an alternative in the recovery of degraded pastures in a sustainable way and with less nitrogen consumption and costs.

Key words: Plant growth promoting bacteria, *Brachiaria brizantha*, Co-Inoculation, Biological nitrogen fixation, Shoot dry mass, Recovery of degraded pastures.

LISTA DE FIGURAS

Página

Figura 1. Localização geográfica do estado de Rondônia 25

Figura 2. Vista parcial da condução do experimento 45

Figura 3. Valores diários de temperatura do ar e umidade relativa do ar incidente na casa de vegetação durante a condução do experimento. A = primeiro ciclo de cultivo (14/04 a 24/05); B = segundo ciclo de cultivo (25/05 a 03/07); C = terceiro ciclo de cultivo (04/07 a 12/08) e D = quarto ciclo de cultivo (13/08 a 21/09). Ji-Paraná, RO, 2018 46

Figura 4. Área com pastagem degradada onde foi coletado o solo utilizado no experimento. Ji-Paraná, RO, 2018 47

Figura 5. Desenho esquemático da distribuição das parcelas experimentais após a casualização dos tratamentos (sorteio) 50

Figura 6. Procedimentos metodológicos realizados: corte da gramínea a 10 cm da superfície do solo (A); contagem das folhas recém e totalmente expandidas (B); mensuração do diâmetro do colmo (C); pesagem para determinação da massa seca da parte aérea (D) e moagem da massa seca da parte aérea (E) 53

Figura 7. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para a altura da planta (AP) do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao primeiro corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018 66

Figura 8. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para a altura da planta (AP) do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao segundo corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018 69

Figura 9. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para a altura da planta (AP) do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao terceiro corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018 70

Figura 10. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para a altura da planta (AP) do capim

Urochloa brizantha cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao quarto corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018 72

Figura 11. Número de perfilhos (NP) do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), referente ao primeiro corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018..... 76

Figura 12. Número de perfilhos (NP) do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função das doses de N, referente ao primeiro ciclo de cultivo da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018 77

Figura 13. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para o número de perfilhos (NP) do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao segundo corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018..... 78

Figura 14. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para o número de perfilhos (NP) do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao terceiro corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018..... 80

Figura 15. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para o número de perfilhos (NP) do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao quarto corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018 83

Figura 16. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para o diâmetro basal do colmo (DC) do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao primeiro corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018..... 87

Figura 17. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para o diâmetro basal do colmo (DC) do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao segundo corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018..... 89

Figura 18. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para o diâmetro basal do colmo (DC) do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao terceiro corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018.....91

Figura 19. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para o diâmetro basal do colmo (DC) do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao quarto corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018 92

Figura 20. Número de folhas (NF) do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), referente ao primeiro corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018.....95

Figura 21. Número de folhas (NF) do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função das doses de N, referente ao primeiro ciclo de cultivo da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018 96

Figura 22. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para o número de folhas (NF) do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao segundo corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018.....97

Figura 23. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para o número de folhas (NF) do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao terceiro corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018.....99

Figura 24. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para o número de folhas (NF) do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao quarto corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018 101

Figura 25. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para massa seca da parte aérea (MSPA) do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de

forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente aos primeiro corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018 104

Figura 26. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para massa seca da parte aérea (MSPA) do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente aos segundo corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018 108

Figura 27. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para massa seca da parte aérea (MSPA) do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente aos terceiro corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018 110

Figura 28. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para massa seca da parte aérea (MSPA) do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente aos quarto corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018 112

Figura 29. Desdobramento das interações inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro da inoculação (B) para massa seca total (MST) do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não a doses de N, referente aos quatro cortes da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018 114

Figura 30. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para o teor de proteína bruta (PB) da parte aérea ceifada de *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao primeiro corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018 118

Figura 31. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para o teor de proteína bruta (PB) da parte aérea ceifada de *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao segundo corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018 121

Figura 32. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para o teor de proteína bruta (PB) da parte aérea ceifada de *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao terceiro corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018. 122

Figura 33. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para o teor de proteína bruta (PB) da parte aérea ceifada de *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao quarto corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018 124

Figura 34. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para o acúmulo de nitrogênio (N_{ac}) na parte aérea ceifada de *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao primeiro corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018 127

Figura 35. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para o acúmulo de nitrogênio (N_{ac}) na parte aérea ceifada de *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao segundo corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018 131

Figura 36. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para o acúmulo de nitrogênio (N_{ac}) na parte aérea ceifada de *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e dainoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao terceiro corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018. 133

Figura 37. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para o acúmulo de nitrogênio (N_{ac}) na parte aérea ceifada de *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas à adubação nitrogenada, referente ao quarto corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018 134

Figura 38. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para o acúmulo de fósforo (P_{ac}) na parte aérea ceifada de *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao primeiro corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018..... 137

Figura 39. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para o acúmulo de fósforo (P_{ac}) na parte aérea ceifada de *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao segundo corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018..... 140

Figura 40. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para o acúmulo de fósforo (P_{ac}) a parte aérea ceifada de *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao terceiro corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018..... 141

Figura 41. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para o acúmulo de fósforo (P_{ac}) na parte aérea ceifada de *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao quarto corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018 144

Figura 42. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para o acúmulo de potássio (K_{ac}) na parte aérea ceifadade *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e dainoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao primeiro corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018 146

Figura 43. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para o acúmulo de potássio (K_{ac}) na parte aérea ceifada de *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao segundo corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018 148

Figura 44. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para o acúmulo de potássio (K_{ac}) na parte aérea ceifada de *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e

Bacillus subtilis (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas à adubação nitrogenada, referente ao terceiro corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018.....150

Figura 45. Desdobramento da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para o acúmulo de potássio (K_{ac}) na parte aérea ceifada de *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas à adubação nitrogenada, referente ao quarto corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018 152

LISTA DE TABELAS

Página

Tabela 1. Caracterização dos atributos químicos e físicos do solo coletado na profundidade de 0-0,20 m, antes da implantação do experimento. Ji-Paraná, RO, 2018. 48

Tabela 2. Combinações dos fatores testados na gramínea *Urochloa brizantha* cv. Marandu em função da ausência e presença de inoculantes com estirpes de *Azospirillum brasilense* e *Bacillus subtilis* de forma isolada e combinada, associadas ou não a doses de nitrogênio. Ji-Paraná-RO, 2018 49

Tabela 3. Síntese do desdobramento da interação inoculação na ausência de N para as variáveis analisadas do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da inoculação ou não com *Azospirillum brasilense* e *Bacillus subtilis*, de forma isolada e combinada, em cada ciclo de corte constituído por 40 dias de cultivo. Ji-Paraná-RO, 2018 55

Tabela 4. Síntese do desdobramento da interação inoculação dentro da dose de 25 mg dm^{-3} de N para as variáveis analisadas do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da inoculação ou não com *Azospirillum brasilense* e *Bacillus subtilis*, de forma isolada e combinada, em cada ciclo de corte constituído por 40 dias de cultivo. Ji-Paraná-RO, 2018.....58

Tabela 5. Síntese do desdobramento da interação inoculação dentro da dose de 50 mg dm^{-3} de N para as variáveis analisadas do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da inoculação ou não com *Azospirillum brasilense* e *Bacillus subtilis*, de forma isolada e combinada, em cada ciclo de corte constituído por 40 dias de cultivo. Ji-Paraná-RO, 2018.....59

Tabela 6. Síntese do desdobramento da interação inoculação dentro da dose de 75 mg dm^{-3} de N para as variáveis analisadas do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da inoculação ou não com *Azospirillum brasilense* e *Bacillus*

subtilis, de forma isolada e combinada, em cada ciclo de corte constituído por 40 dias de cultivo. Ji-Paraná-RO, 2018 60

Tabela 7. Síntese do desdobramento da interação inoculação dentro da dose de 100 mg dm^{-3} de N para as variáveis analisadas do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da inoculação ou não com *Azospirillum brasilense* e *Bacillus subtilis*, de forma isolada e combinada, em cada ciclo de corte constituído por 40 dias de cultivo. Ji-Paraná-RO, 2018 61

Tabela 8. Resumo da análise de variância e médias da altura da planta (AP) do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da inoculação ou não com *Azospirillum brasilense* e *Bacillus subtilis*, de forma isolada e combinada, associadas ou não a doses de nitrogênio (N) em cada ciclo de corte constituído por 40 dias de cultivo. Ji-Paraná-RO, 2018 65

Tabela 9. Resumo da análise de variância e médias do número de perfilhos (NP) do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da inoculação ou não com *Azospirillum brasilense* e *Bacillus subtilis*, de forma isolada e combinada, associadas ou não a doses de nitrogênio (N) em cada ciclo de corte constituído por 40 dias de cultivo. Ji-Paraná-RO, 2018 75

Tabela 10. Resumo da análise de variância e médias do diâmetro do colmo (DC) do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da inoculação ou não com *Azospirillum brasilense* e *Bacillus subtilis*, de forma isolada e combinada, associadas ou não a doses de nitrogênio (N), em cada ciclo de corte constituído por 40 dias de cultivo. Ji-Paraná-RO, 2018 86

Tabela 11. Resumo da análise de variância e médias do número de folhas (NF) do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da inoculação ou não com *Azospirillum brasilense* e *Bacillus subtilis*, de forma isolada e combinada, associadas ou não a doses de nitrogênio (N) em cada ciclo de corte constituído por 40 dias de cultivo. Ji-Paraná-RO, 2018 94

Tabela 12. Resumo das análises de variância para a massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca total (MST) do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da inoculação ou não com *Azospirillum brasilense* e *Bacillus subtilis*, de forma isolada ou combinada, associadas ou não a doses de nitrogênio (N), em cada ciclo constituído por 40 dias de cultivo. Ji-Paraná-RO, 2018 103

Tabela 13. Resumo da análise de variância e teores médios de proteína bruta (PB) presente na parte aérea ceifada do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da inoculação ou não com *Azospirillum brasilense* e *Bacillus subtilis*, de forma isolada e combinada, associadas ou não a doses de nitrogênio (N) em cada ciclo de corte constituído por 40 dias de cultivo. Ji-Paraná-RO, 2018 117

Tabela 14. Resumo da análise de variância e acúmulos médios de nitrogênio (N_{ac}) presente na parte aérea ceifada do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da inoculação ou não com *Azospirillum brasilense* e *Bacillus subtilis*, de

forma isolada e combinada, associadas ou não a doses de nitrogênio (N) em cada ciclo de corte constituído por 40 dias de cultivo. Ji-Paraná-RO, 2018 126

Tabela 15. Resumo da análise de variância e acúmulos médios de fósforo (P_{ac}) presente na parte aérea ceifada do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da inoculação ou não com *Azospirillum brasilense* e *Bacillus subtilis*, de forma isolada e combinada, associadas ou não a doses de nitrogênio (N) em cada ciclo de corte constituído por 40 dias de cultivo. Ji-Paraná-RO, 2018 136

Tabela 16. Resumo da análise de variância e acúmulos médios de potássio (K_{ac}) presente na parte aérea ceifada do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da inoculação ou não com *Azospirillum brasilense* e *Bacillus subtilis*, de forma isolada e combinada, associadas ou não a doses de nitrogênio (N) em cada ciclo de corte constituído por 40 dias de cultivo. Ji-Paraná-RO, 2018 145

SUMÁRIO

Página

1. INTRODUÇÃO 22

2. REVISÃO DE LITERATURA 25

2.1. Características Gerais e Econômicas do Estado de Rondônia 25
2.2. Uso do Solo e Pecuária no Estado de Rondônia 26
2.3. Gênero *Urochloa* 28
2.4. Degradação das Pastagens e Estratégias de Recuperação 31
2.5. Adubação Nitrogenada em Pastagens 34
2.6. Fixação Biológica de Nitrogênio 37
2.7. Bactérias Promotoras do Crescimento de Plantas 39
2.8. *Azospirillum brasilense* 41
2.9. *Bacillus subtilis* 42

3. MATERIAL E MÉTODOS 45

3.1. Localização e Período Experimental 45
3.2. Caracterização Climática 45
3.3. Preparo do Solo, Correção e Adubação do Solo 47
3.4. Delineamento Experimental e Tratamentos 49
3.5. Espécie Gramínea e Aplicação dos Tratamentos 50
3.6. Variáveis Analisadas 52
3.7. Análises Estatísticas 54

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO 55

4.1. Altura de Plantas 64
4.2. Número de Perfilhos 74
4.3. Diâmetro do Colmo 85
4.4. Número de Folhas 94
4.5. Massa Seca da Parte Aérea e Massa Seca Total 102
4.6. Teor de Proteína Bruta 117
4.7. Acúmulos de Nitrogênio 126
4.8. Acúmulos de Fósforo 136
4.9. Acúmulos de Potássio 144

5. CONCLUSÕES 154

REFERÊNCIAS 155

APÊNDICE 174

1. INTRODUÇÃO

A pecuária no Brasil representa um importante seguimento da economia. Nosso país possui o segundo maior rebanho mundial e o primeiro maior rebanho comercial, com efetivo bovino de 214,9 milhões de cabeças criados basicamente a pasto, o que faz com que o país apresente um dos menores custos de produção e esteja colocado entre os maiores produtores e exportadores mundiais de carne bovina (IBGE, 2017).

Em Rondônia, a atividade pecuária encontra-se em evidência no agronegócio do estado e vem se consolidando cada vez mais no cenário regional e nacional. Nos últimos 20 anos, o rebanho bovino aumentou de 3,9 milhões para 14,6 milhões de cabeças, tornando-o sexto maior rebanho do país, o quinto em produção de carne, o nono em produção de leite e o quarto em volume embarcado de carne in natura (IDARON, 2017; MDIC, 2018).

Considerando o mesmo período, a área de pastagens cultivadas aumentou de três milhões para um pouco mais de seis milhões de hectares (IDARON, 2017). Nesse contexto, enquanto o efetivo de bovinos cresceu em 3,6 vezes a área de pastos evoluíu apenas 2,2 vezes, modificando significativamente a taxa de lotação animal (bezerros e adultos) que passou de 1,3 para 2,3 cabeças ha^{-1}, com variação correspondente a 75%.

A transformação das áreas de florestas em pastagens cultivadas, geralmente formadas e mantidas pelo uso frequente do fogo, associadas com práticas de manejo inadequadas, contribuíram para o declínio da fertilidade natural dos solos e aceleraram os processos de degradação dessas pastagens, por conseguinte, a degradação do próprio solo. Aragão, Pfeifer e Borrero (2014) estimam que mais de 70% das áreas de pastagens cultivadas em Rondônia se encontram degradadas ou apresentam algum nível de degradação.

Entre as causas da degradação das pastagens destacam-se a baixa disponibilidade de nutrientes e a redução dos teores de matéria orgânica no solo, que refletem diretamente na queda da produção e qualidade das forrageiras, na diminuição da cobertura do solo, na infestação de plantas invasoras e no pastejo excessivo (VOGEL; MARTINKOSKI; RUZICKI, 2014).

A recuperação ou renovação das áreas de pastagens exige, num primeiro momento, o restabelecimento da fertilidade do solo e deve ser indicada juntamente com outras práticas de manejo que garantam a sustentabilidade dos sistemas pastoris na região, além de reduzir a expansão em novas áreas de florestas, trazendo dessa forma, benefícios de ordem ambiental, econômica e social (HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAÚJO, 2016; CARVALHO, 2017).

Nesse sentido, o uso da adubação nitrogenada é importante. Vários estudos demonstraram que as pastagens apresentam respostas positivas ao fornecimento de nitrogênio. No entanto, apesar de este nutriente ser indispensável para o desenvolvimento das forrageiras, o custo elevado dos fertilizantes nitrogenados e seus impactos negativos ao meio ambiente, impulsiona a busca por alternativas mais eficientes, com menor custo e menos impactante ao meio ambiente.

Dentre as práticas de manejo empregadas nos processos de recuperação das pastagens degradadas, o uso de microrganismos fixadores de nitrogênio atmosférico e bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCPs) podem ser fundamentais, uma vez que as ações dessas bactérias se mostram favoráveis no mecanismo da nutrição nitrogenada, tanto por meio da fixação biológica de nitrogênio (BARBERO, 2016), como na produção de fitormônios de crescimento de plantas sobre o sistema radicular, promovendo maior absorção de água e nutrientes (HUNGRIA, 2011; SANTOS, 2013). Além disso, podem atuar como agentes de controle biológico de patógenos (CORREA *et al*., 2008; VIEIRA JÚNIOR *et al*., 2013).

Dentre as bactérias fixadoras de nitrogênio e promotora do crescimento de plantas em gramíneas, destaca-se a espécie *Azospirillum brasilense*. A inoculação de estirpes de *Azospirillum* em pastagens tem apresentado efeitos positivos na produção e na qualidade nutricional das gramíneas forrageiras, pela atividade diazotrófica desenvolvida e ações de rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (RPCPs) como, a liberação de ácido indolacético (AIA), a solubilização de fósforo e a síntese de antibióticos (THAKURIA *et al*., 2004; HUNGRIA *et al*., 2016).

As RPCPs, como as do gênero *Bacillus*, também são importantes para o desenvolvimento de plantas, uma vez que, liberam hormônios (AIA) que mudam à morfologia radicular, aumentando sua biomassa e consequentemente, oferecendo

maior capacidade de exploração de água e nutrientes do solo, produção de amônia, solubilização de fósfatos, produção de sideróforos e antagonismo contra microorganismos fitopatogênicos, ou seja, podem atuar como agentes biocontroladores de fitopatógenos por ação antagônica devido à produção de alguns antibióticos e antifúngicos (JOSEPH; PATRA; LAWRENCE, 2007; WANI; KHAN, 2010; GAZOLA *et al*., 2015).

As BPCPs do solo podem atuar de forma isolada ou em associações com outras RPCPs e fungos micorrízicos arbusculares vesiculares. A interação ou a combinação com diferentes organismos no solo são capazes de produzir inúmeros efeitos benéficos nas plantas (DARTORA *et al*., 2016) por sinergia.

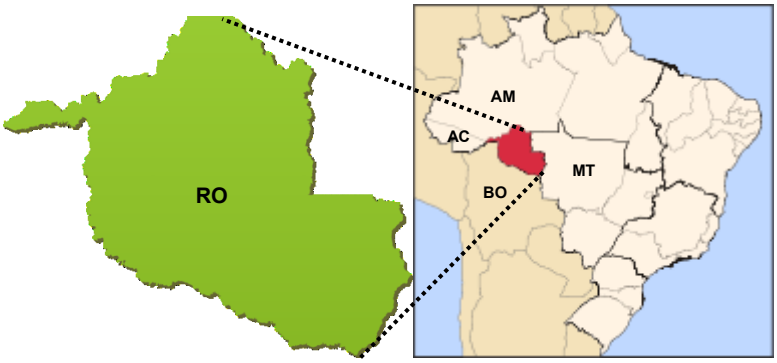
Estudos sobre a inoculação de estirpes de *Azospirillum* e *Bacillus*, isoladas ou combinadas, associadas ou não a doses de nitrogênio, precisam ser realizados nas principais gramíneas forrageiras, como em braquiárias, para aumentar a eficiência da adubação nitrogenada. Neste sentido, este estudo teve como objetivo avaliar o efeito da inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Bacillus subtilis*, de forma isolada e combinada, associada a níveis de adubação nitrogenada, no desenvolvimento, produção e qualidade nutricional de forragem do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em quatro cortes.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Características Gerais e Econômicas do Estado de Rondônia

Rondônia está localizado na Região Norte do Brasil, tem como limites geográficos os estados de Mato Grosso a leste, Amazonas ao norte, Acre e República da Bolívia a oeste e República da Bolívia ao sul (Figura 1). É constituído por 52 municípios, sendo o 23° estado mais populoso do Brasil e o 3° na região Norte. Sua população é estimada em 1.757.589 habitantes distribuídos em área territorial de 237.765,24 km^2, com densidade populacional de 7,4 habitantes km^{-2} (IBGE, 2018).

Figura 1. Localização geográfica do estado de Rondônia



Fonte: IBGE (2018)

O relevo é suavemente ondulado, com 94% do território apresentando altitudes de 100 a 600 m (ADAMY, 2010). Em 2/3 da área territorial, a tipologia da vegetação é ocupada por florestas tropicais e o restante com cerrados. O clima, segundo a classificação de Köppen é do tipo Aw – Clima Tropical Chuvoso, com média anual da precipitação variando entre 1.400 a 2.600 mm ano^{-1}, temperatura média do ar oscilando entre 24 a 26 °C e a umidade relativa do ar entre 80 a 90% (SEDAM, 2012). As classes de solos predominantes no estado são de Latossolos, ocupando 58% da área**;** Argissolos e Neossolos distribuídos em 11% cada um; Cambissolos com 10%; Gleissolos com 9% e as demais classes presentes em apenas 1% do território (SCHLINDWEIN *et al*., 2012).

Do ponto de vista da produção e da renda, Rondônia ocupa a 22ª posição entre os estados brasileiros. No ano de 2017, o Produto Interno Bruto (PIB) alcançou R$ 43,51 bilhões em valores correntes, correspondendo a 0,7% do PIB nacional e a 11,8% do PIB da região Norte, atrás dos estados do Pará e Amazonas (MAPA, 2018).

A economia do estado é constituída basicamente por atividades ligadas ao setor primário. Café, soja, milho, arroz, feijão, mandioca e banana são os principais produtos agrícolas produzidos, que contribui com 5,1% do valor do PIB, enquanto que as atividades pecuárias participam com 9,9% (IBGE, 2017).

De acordo com Klein (2018), o agronegócio é a maior fonte do crescimento econômico do estado. Tendo por base o Valor Bruto da Produção Agropecuária (VBPA) nos anos de 2010 a 2018, Rondônia está entre os nove estados que mais cresceram no Brasil, e compreende a segunda maior receita da região Norte, superado apenas pelo estado do Pará.

O agronegócio se fundamenta basicamente na produção de carne bovina e de leite, juntamente com os cultivos de café e soja. O VBPA do estado em 2017 foi de R$ 8,77 bilhões de reais. Esses quatro produtos participaram com 87,7% do VBP com destaque para a produção de carne e leite, que juntas, contribuíram com 65,3% (MAPA, 2017).

A carne bovina e a soja em grãos são os principais produtos de exportação. O estado exportou em 2017, 151,6 mil toneladas de carne e 878,1 mil toneladas de soja, com receitas respectivas de US$ 559,4 milhões e US$ 332,8 milhões (MDIC, 2018). Hong Kong, Egito, e China são os maiores compradores de carne de Rondônia sendo responsáveis por 73,7% da receita gerada, enquanto que Países Baixos, Turquia, China e Espanha são os principais destinos da soja produzida no estado (ROSA NETO; SILVA; ARAÚJO, 2019).

2.2. Uso do Solo e Pecuária no Estado de Rondônia

A partir de 1970, impulsionado pela abertura da rodovia BR 364 (Cuiabá-Porto Velho) e por projetos governamentais de integração da Amazônia, o estado de Rondônia vivenciou um acelerado programa de assentamento, que resultou num

intenso processo de desmatamento com forte efeito negativo sobre a flora e a fauna da região (ARAGÃO, 2014). A contrapartida desse crescimento populacional foi à transformação do estado numa nova espacialidade agrícola, substituindo sua cobertura de floresta por lavouras e pastagens.

No início da colonização, o modelo de uso do solo adotado foi caracterizado pelo emprego quase que exclusivo de energia humana (WATTERS, 1971), uso das queimadas como técnica de limpeza e fertilização do solo, nível de manejo extensivo e primitivo nas atividades agropecuárias e mudanças intermitentes dos locais de cultivo (HERNANI *et al*., 1987).

Os efeitos do uso do solo nessa configuração foram temas de vários estudos. Ellenberg (1986) considera essa forma de uso do solo, como atividade de risco para o ecossistema da região, e, portanto, sendo prática predatória e indesejável pelas insignificantes condições de sustentabilidade oferecidas ao ambiente e às pessoas envolvidas. Goulding *et al*. (1995) julgam ser a causa principal do abandono prematuro das terras na região, a degradação das pastagens, devido a infestações de ervas daninhas e a diminuição da produtividade do solo.

Nas duas últimas décadas, pressões ambientais e de mercado, políticas públicas governamentais de incentivos fiscais, linhas de crédito a juros subsidiados e modernização das atividades produtivas, contribuíram para uma nova postura na condução do setor produtivo de carne e de leite no estado (PEREIRA, 2015).

Nesse contexto, o setor pecuário passou a ser a atividade de maior expressão econômica de Rondônia, tanto em produção como em exportação e vem apresentado ano após anos, o maior crescimento relativo dentre todas as explorações econômicas. Registros censitários (IBGE, 2005-2006; IBGE, 2017) revelam que em pouco mais de vinte anos, o efetivo bovino do estado evoluiu de 3.937.291 para 14.091.378 de cabeças, a uma taxa de crescimento geométrico de aproximadamente 6,0% ao ano. Da mesma forma, a área com pastos aumentou de 2.992.069 para 6.089.262 hectares.

De acordo com Costa (2004), o setor pecuário em Rondônia, tende a continuar se expandindo a níveis cada vez mais elevados, e revela que fatores limitantes como escassez da mão de obra, descapitalização do produtor, solos desgastados em suas características físicas, químicas e biológicas, elevados preços

dos insumos, ocorrência de pragas e doenças e baixa lucratividade na comercialização, desestimulam as explorações agrícolas e conduz o estado para um acelerado processo de pecuarização.

Nesse cenário, o estado passou a ser o sexto maior rebanho do país, o quinto em exportação de carne, o nono em produção de leite e o quarto em volume embarcado de carne bovina in natura. Em relação à região Norte o estado possui o segundo maior rebanho, superado apenas pelo Pará, mas com a maior exportação de carne e de leite (IDARON, 2017).

2.3. Gênero *Urochloa*

Em 2017, a área ocupada com pastagens no Brasil era de 158.622.704 hectares, sendo 46.847.430 hectares em pastagem nativa e 111.775.274 hectares em pastagem plantadas (IBGE, 2017). Dentre os vários tipos de capins, às espécies do gênero *Urochloa* (Syn. *Brachiaria*) ocupam posição de destaque, estando presentes em 90% das áreas cultivadas no território brasileiro (SIMEÃO *et al*., 2016).

O grande interesse dos pecuaristas pelas espécies do capim *Urochloa* se prende ao fato de estas plantas serem de alta produção de matéria seca; possuírem boa adaptabilidade aos mais diversos climas e solos do país; facilidade de estabelecimento; persistência e bom valor nutritivo; apresentarem poucos problemas de doenças; além de mostrarem bom crescimento durante a maior parte do ano, inclusive no período seco (VALÉRIO, 2009).

As gramíneas do gênero *Urochloa* pertencem à família Poaceae e tribo Paniceae, são originárias do continente africano, encontradas naturalmente nas regiões de savanas, o que favoreceu a sua adaptação às condições edafoclimáticas do Brasil. Anteriormente conhecido por *Brachiaria*, esse gênero constava como uma subdivisão de *Panicum* e posteriormente foi elevado à categoria gênero e mais recentemente, após análises moleculares de DNA ribossomal e características morfológicas, suas espécies foram transferidas para o gênero *Urochloa* (TORRES GONZALEZ; MORTON, 2005), com cerca de 100 espécies distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais. No Brasil, são encontradas 15 espécies deste gênero, destacando-se pela sua expansão e importância forrageira a *U. brizantha* (syn. *B.*

brizantha), *U. decumbens* (syn. *B. decumbens*), *U. ruziziensis* (syn. *B.* ruzuziensis) e *U. humidicola* (syn. *B. humidicola*) (VALLE do; JANK; RESENDE, 2009).

Desde a década de 1960, espécies do gênero *Urochloa* vêm sendo cultivadas na Amazônia (SERRÃO; SIMÃO NETO, 1971). Estudos desenvolvidos no início da década de 1980 tiveram como base a seleção fenotípica de ecotipos naturais coletados da África (VALLE; JANK; RESENDE, 2009). De acordo com Simeão *et al*. (2016), o sucesso e as vantagens da obtenção de cultivares pela seleção fenotípica se deve a reprodução por meio de sementes e a significativa herdabilidade observada nos caracteres de importância agronômica, principalmente aqueles associados à produção de biomassa forrageira.

Os programas de melhoramento genético das espécies do gênero *Urochloa* trabalham, basicamente, no sentido de desenvolver cultivares que apresente elevada produtividade, resistência a cigarrinhas e a *Rhizoctonia,* adaptação a solos ácidos, produção de sementes, alto teor de proteína bruta e baixa estacionalidade entre o período seco e o das águas (VALLE do; JANK; RESENDE, 2009; TORRES *et al.,* 2016).

A *Urochloa brizantha* cv. Marandu (syn. *Brachiaria brizantha* cv. Marandu) foi introduzida no Brasil em 1967, oriunda da Zimbabwe Grassland Research Station e plantada em Ibirarema, no interior do estado de São Paulo por vários anos. Em 1976, foi cedido ao International Research Institute (IRI), em Suaimissu, MT, e em 1977 foi incluída no processo de avaliação de forrageiras pela Embrapa Gado de Corte, em Campo Grande, MS, sendo levada em 1979, para Embrapa Cerrados em Planaltina, DF (KARIA; DUARTE; ARAÚJO, 2006).

No ano de 1984 foi lançada pela Embrapa como mais uma alternativa para diversificação das áreas de pastagens e também substituir gradualmente a área ocupada com *U. decumbens*, que foi severamente atacada pela cigarrinhas-das-pastagens, que teve grande aceitação pelos pecuaristas e tornou-se o capim mais plantado no Brasil (NUNES *et al*., 1984).

Nunes *et al*. (1984) e Costa *et al*. (2004) caracterizam o capim Marandu como uma forrageira perene de hábito de crescimento cespitoso, formando touceiras de até 1,0 m de diâmetro e afilhos com altura de até 1,5 m, colmos iniciais prostrados,

porém com os perfilhos eretos. Seus rizomas são curtos, colmos eretos, perfilhamento nos nós superiores e folhas linear-lanceoladas.

Tem como principais características, boa adaptação e produção de forragem em solos de média fertilidade, persistência, boa capacidade de rebrota, tolerância ao frio, à seca e ao fogo. Exige precipitações pluviométricas mínimas de 1.000 mm anuais e solos bem drenados, sistema radicular profundo que permite melhor exploração de água durante os períodos de seca. De acordo com Valle, Jank e Resende (2009), a cultivar é resistente à cigarrinha-das-pastagens, mas susceptível a *Rhizoctonia.*

Nesse sentido, por ser rústica e adaptada aos solos de baixa fertilidade, apresentar resistência à cigarrinha-das-pastagens, responder à aplicação de fertilizantes, possuir bom valor nutritivo, além de apresentar rápido estabelecimento e alta produção de sementes a *Urochloa brizantha* cv. Marandu adquiriu grande expressividade nas áreas de pastagens estabelecidas tanto na região Centro Oeste como na região Norte. Estima-se que 65% das áreas com pastagens nas duas regiões estejam ocupadas pelo capim Marandu (CRUZ, 2010).

De acordo com Costa *et al*. (2004), a produção de massa seca do capim Marandu varia entre 10 a 12 e 2 a 4 t ha^{-1} para o período chuvoso e seco, respectivamente. O valor nutritivo é considerado de moderado a bom, considerando-se consumo, digestibilidade e composição química. Em média, com duas a seis semanas de rebrota, apresenta teores de proteína bruta (PB) entre 7 a 15 %. Entretanto, essa produção pode ser afetada por fatores como: tipo de solo, adubação, espaçamento, densidade de plantio, manejo e condições climáticas.

Apesar de todas essas características e vantagens apresentadas pelo capim Marandu, extensas áreas ocupadas com essa cultivar no estado de Rondônia, estão degradadas principalmente, devido ao manejo inadequado e à ausência de reposição dos nutrientes exportados (GUIMARÃES *et al*., 2011). Segundo Dias-Filho (2014), um dos requisitos fundamentais para a adequada formação e manutenção das pastagens é uma correta nutrição mineral, de forma a aumentar a produção de massa seca e, consequentemente, elevar e melhorar a disponibilidade de alimentos para a nutrição dos animais.

2.4. Degradação das Pastagens e Estratégias de Recuperação

As pastagens cultivadas consistem no principal uso do solo no Brasil e representam a fonte mais econômica para a alimentação do rebanho, e vem sendo explorada praticamente de forma extensiva. Este tipo de cultura é o que menos tem sido trabalhado em termos de manejo e de conservação do solo entre os pecuaristas, visto que, não consideram a importância destas práticas como necessárias para a manutenção de suas pastagens e de suas condições ecológicas.

Em razão disso, Rondônia apresenta extensas áreas de pastagens degradadas. Aragão *et al*. (2014) estimam que 70% das pastagens cultivadas no estado estejam degradadas ou em processo de degradação. Este cenário não é percebido só em Rondônia, mas, sobretudo, em todo o território brasileiro, onde 80% das áreas de pastagens se apresentam em algum estádio de degradação (DIAS-FILHO, 2014; CORDEIRO *et al*., 2015).

O processo de formação e o sistema de uso predominante extensivo contribuíram para a degradação das pastagens na região. A implantação ocorreu com a derrubada e a queima da vegetação nativa seguida pelo plantio de gramíneas (CERRI *et al*., 2007; TOWNSEND *et al*., 2009) ou sucedendo áreas desflorestadas e cultivadas com lavouras agrícolas (FUJISAKA: WHITE, 1998).

Na manutenção, os pecuaristas fazem uso do fogo para o controle das plantas daninhas e como forma de fertilizar o solo por meio dos nutrientes presentes nas cinzas (SIMON *et al.,* 2016). A razão primária para a queima é a limpeza da pastagem seca, controle de plantas arbustivas indesejadas e estimular o crescimento de brotos jovens e mais palatáveis (BEHLING *et al*., 2009).

O uso frequente do fogo conduz a médio e longo prazo, à deterioração das propriedades químicas (perda dos nutrientes e acidificação), físicas (compactação e erosão) e biológicas (perda da matéria orgânica) dos solos e consequentemente a degradação da pastagem (REDIN *et al*., 2011; DIAS-FILHO, 2014). Dick *et al*. (2008), avaliando o impacto da queima nos atributos químicos e na composição química da matéria orgânica do solo, constataram que o uso frequente do fogo facilita a infestação de plantas invasoras e as perdas dos indicadores de qualidade dos solos, e, consequentemente, a redução da produção e qualidade das forragens.

De maneira geral, a queima dos pastos enriquece o solo em função da cinza produzida atuar como fertilizante (RHEINHEIMER *et al*., 2003). No entanto, o valor da cinza como fertilizante tende a decrescer rapidamente, devido à sua exportação, lixiviação e erosão, o que reduz a fertilidade do solo e facilita à proliferação de plantas daninhas e, consequentemente a degradação da pastagem (DIAS-FILHO, 2014).

A deterioração física do solo após queimas sucessivas dos pastos fica evidenciada pela redução da taxa de infiltração de água e pelo aumento da densidade do solo nas camadas mais superficial, o que resulta numa maior resistência à penetração do sistema radicular das forrageiras (UTSET; CID, 2001), e é potencializada pela alta taxa de lotação animal (GREGO *et al.,* 2011), que torna o ainda mais susceptível aos processos erosivos.

À falta de planejamento forrageiro e o uso errôneo do manejo adotado pela grande maioria dos pecuaristas, aceleram os processos de degradação das pastagens poucos anos após o seu estabelecimento (PEDREIRA *et al*., 2014). Com o tempo de utilização do pasto, a gramínea perde vigor e reduz a produtividade, caracterizando algum estágio de degradação (NORONHA *et al*., 2010).

Vários autores consideram a degradação das pastagens como um processo evolutivo de perda de vigor das plantas, que se manifesta pela queda gradual e constante da produtividade e da qualidade das forragens, devido a fatores como a baixa fertilidade dos solos; redução dos teores de nitrogênio e indisponibilidade de fósforo; a não correção da acidez do solo; o emprego de espécies inadequadas para as condições da região; a ausência de adubações de manutenção; o pastejo contínuo; o uso indiscriminado do fogo; o superpastejo; a compactação dos solos e as altas pressões bióticas, o que culminam com a dominância total da área por plantas invasoras, mais adaptadas às condições ecológicas do ambiente (EUCLIDES; CÔRREA; EUCLIDES, 2002; ASNER *et al*., 2004; BODDEY *et al*., 2004; COSTA *et al*., 2009; CARVALHO, 2017).

Explorar ou manter as áreas de pastagens nessas condições prejudica a sustentabilidade do sistema. Alternativas tecnicamente viáveis e ambientalmente adequadas e com o menor custo possível, devem ser adotadas para a reabilitação

da capacidade produtiva das pastagens, para interromper o processo de degradação, e combater as causas associadas.

Townsend, Costa e Pereira (2012) relataram que a recuperação das pastagens potencializa o aproveitamento da área, recupera os atributos químicos, físicos e biológicos do solo e viabiliza a produção de proteína animal, devido ao aumento da capacidade de suporte, não obstante, impede novos desmatamentos preservando a fauna e a flora, favorecendo o meio ambiente.

Entender o processo de degradação de pastagens e as suas causas é essencial para elaborar estratégias de intensificação ou de recuperação da produtividade dessas áreas. De acordo com Da Silva e Corsi (2003), a definição das estratégias de manejo do pastejo passa obrigatoriamente pelo conhecimento de toda a base produtiva, do perfil do sistema de produção, das respostas de plantas e animais ao pastejo e da contextualização específica da unidade de produção.

Para qualquer situação faz-se necessário abordar a questão da fertilidade do solo, o crescimento das plantas e a produção de forragem (COSTA; FAQUIN; OLIVEIRA, 2010; HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAÚJO, 2016). Soares Filho *et al*. (2016) ressaltam que plantas bem nutridas e manejadas corretamente, mantêm uma maior cobertura do solo, que dificulta a proliferação de plantas indesejáveis, erosão e maior tolerância às secas, pragas e doenças. Maior cobertura vegetal do solo também favorece maior retenção de água no solo e o seu aproveitamento pelas plantas (BONFIM-SILVA *et al*., 2011).

A intensificação do uso das pastagens pode resultar em aumento da eficiência do sistema produtivo e do aproveitamento dos recursos naturais (ABREU; MONTEIRO, 1999). Para alcançar essa eficiência, tem que se aumentar a capacidade de suporte das pastagens, com o fornecimento de corretivos da acidez do solo e fertilizantes minerais em quantidade e proporções adequadas, particularmente o nitrogênio que assume importância fundamental no processo produtivo de pastagens (FAGUNDES *et al*., 2006; SANTINI, 2014).

Além da disponibilidade de nutrientes, o solo precisa ter cobertura, possibilidade de infiltração e retenção de água, nutrientes disponíveis, acumule carbono e tenha atividade biológica, com ciclagem de nutrientes. Assim, elevados desempenhos individuais e por área, são conseguidos somente se as pastagens

forem convenientemente adubadas e manejadas corretamente (SOARES FILHO *et al*., 2016).

2.5. Adubação Nitrogenada em Pastagens

O Nitrogênio (N) é o nutriente mais exigido para o crescimento das pastagens sendo o responsável pela manutenção da produtividade, com efeito fundamental na produção e no valor nutricional das forragens (PRIMAVESI *et al*., 2006; COSTA; FAQUIN; OLIVEIRA, 2010; PARREIRA *et al*., 2015).

A maior parte do nitrogênio presente no solo encontra-se na forma orgânica, seja na matéria orgânica ou como parte de organismos vivos. Por meio de microrganismos quimiorganotróficos (heterotróficos), o N orgânico é transformado em moléculas de NH_4^+ e NO_3^- que são prontamente absorvidos pelas plantas em grandes quantidades, o que gera a necessidade de reposição desse nutriente, seja por via orgânica ou mineral (SCHEFER *et al*., 2016).

A deficiência de nitrogênio é a principal causa de redução na produção e degradação das pastagens (MACEDO, 2005). Havendo deficiência de N na planta ocorre, no início, uma coloração verde-pálida nas folhas novas e clorose das folhas mais velhas, que promove limitações na síntese de proteínas e pigmentos dos tecidos vegetais e reduz significativamente a atividade fotossintética, o que promove redução do seu crescimento e, por conseguinte, afeta diretamente na produção de biomassa (CANTARELLA, 2007; SKONIESKI *et al*., 2017).

Assim sendo, o desenvolvimento das forrageiras se tornam mais lento, as plantas ficam com porte pequeno, com poucos perfilhos, cujo teor de proteína torna-se deficiente para o atendimento das exigências do animal, o que compromete a sustentabilidade do sistema planta-animal (HUNGRIA *et al*., 2016).

O nitrogênio tem função de destaque nas plantas, visto que afeta diretamente os processos fotossintéticos, é constituinte da molécula de clorofila, dos aminoácidos, das bases nitrogenadas, das coenzimas e enzimas, e dos ácidos nucléicos (TAIZ *et al*., 2017). Em síntese, é o responsável pelo desempenho das características morfológicas e morfogênicas das gramíneas (FAGUNDES; FONSECA; MORAIS, 2006; ALVES; PIRES; MATSUMOTO, 2008).

Estudos reportam os ganhos de produção proporcionados pela adubação nitrogenada em pastagens. Com maior disponibilidade de nitrogênio no solo, por conseguinte, na planta, todos os processos fotossintéticos são potencializados (GURGEL *et al*, 2018). O suprimento de nitrogênio aumenta o perfilhamento (BATISTA, 2002; ALENCAR *et al*., 2010; MARIANI, *et al*., 2018), acelera a formação e o crescimento de folhas novas, que eleva a taxa fotossintética; assim, resulta numa maior produção e capacidade de suporte das pastagens (ALEXANDRINO *et al*., 2004; BRAZ *et al*., 2011; ROMA *et a*l., 2012; MARTUSCELLO *et al*., 2015; SOARES FILHO, 2016), influencia o crescimento e expansão do sistema radicular (SILVEIRA, 2009; GALINDO *et al*., 2018), melhora o valor nutritivo da forragem (CASTAGNARA *et al.,* 2011), promove acréscimos no teor de proteína bruta (PB) e redução nos teores de fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) e ácido (FDA) (ALVES *et al*., 2008; COSTA *et al*., 2010) e consequentemente, aumenta a disponibilidade e o consumo de forragem.

O potencial de resposta ao N pelas forrageiras tropicais é tanto mais acentuada quanto maior for à exigência da gramínea (BARCELLOS *et al*., 2011). Costa *et al*. (2014) relataram que a maior necessidade desse nutriente ocorre após o crescimento inicial da gramínea, quando passa a contribuir expressivamente para a produtividade de massa seca e para a concentração de N na planta, causando alterações sobre número, tamanho, massa e taxa de aparecimento de perfilhos e folhas, além do alongamento do colmo, fatores esses relevantes tanto na produção de massa seca quanto no valor nutritivo da planta forrageira.

A aplicação de nitrogênio deve ser feita de maneira criteriosa e eficiente visando garantir produção sustentável. De acordo com Costa *et al.* (2016), a eficiência na utilização do nitrogênio é obtida relacionando-se a produção de matéria seca com a dose de nitrogênio aplicada, quanto maior a dose menor a eficiência de utilização.

O nitrogênio na adubação mineral é um nutriente dinâmico, que rapidamente é disponibilizado para as plantas na solução do solo, todavia, o nitrogênio que não é absorvido pelas raízes pode ser incorporado à matéria orgânica ou sofrer transformações, que resulta em perdas por volatilização da amônia, lixiviação do nitrato, erosão, desnitrificação e imobilização por microrganismos do solo (SANTINI,

2014; BERNARDI *et al*., 2018), por conseguinte, reduz a produção e pode causar danos ambientais. Quando ocorre lixiviação, o nitrato é carreado para camadas profundas do solo e pode alcançar o lençol freático, contaminando os mananciais (JADOSKI *et al.,* 2010). Isso demonstra que o parcelamento do N no processo de adubação é uma alternativa para tentar diminuir as perdas e melhorar o fornecimento do nutriente para a cultura, especialmente na região amazônica onde a precipitação pluvial é alta.

A dose de N em pastagens depende da exigência nutricional da planta, do teor de matéria orgânica do solo e da produção desejada. Costa *et al*. (2010) recomendam para o gênero *Urochloa* adubação nitrogenada variando de 100 a 300 kg ha^{-1} $ano^{-}1$ de N. Soares Filho *et al.* (2016) propõem para as gramíneas, em sistemas menos intensivo, uma aplicação de 60 a 100 kg ha^{-1} de N, enquanto para os sistemas de produção mais intensivos, recomendam a aplicação de 100 a 200 kg ha^{-1} de N. Costa (2016) orienta para solos com teor de matéria orgânica, inferior a 15 g kg^{-1}, uma aplicação de 30 a 60 kg ha^{-1} de N, em cobertura, dois meses após a emergência das plantas. Para os sistemas de produção mais intensivos, sugere-se a aplicação de 40 a 80 kg de N ha^{-1}, anualmente, parcelada em duas a três aplicações, durante o período chuvoso, a intervalos de 30 a 45 dias.

Euclides *et al.* (2007) consideram que a aplicação de 50 kg ha^{-1} de nitrogênio, no início do verão, seguida de aplicação adicional de 50 kg ha^{-1} de nitrogênio dois meses antes do período seco, tem efeito significativo e eficiente na produtividade do pasto. Os autores concluem que, o uso da adubação nitrogenada em pastagens, equilibrada com os outros nutrientes e combinada com a escolha adequada da categoria animal, pode ser a alternativa bioeconomicamente mais eficiente de se utilizar o nitrogênio em pastagens tropicais para produção animal.

A fonte de fertilizante nitrogenado pode interferir sobre o resultado econômico da adubação em pastagens. O uso do sulfato de amônio (20% N) tem como vantagens apresentar menor perda de N e ser fonte de enxofre; no entanto, acidifica mais o solo e apresenta maior custo por quilograma de N em comparação com a ureia (45% N), de fácil manipulação e causa menos acidificação no solo, porém com maiores perdas por volatilização da amônia (PRIMAVESI *et al*., 2006).

O manejo da fertilidade do solo explorando as biotecnologias existentes pode ser adotado como estratégia na recuperação dos diferentes ecossistemas pastoris do Brasil. Dentre as alternativas que podem diminuir a utilização de adubos nitrogenados, tem-se o uso de bactérias diazotróficas, capazes de fixar nitrogênio atmosférico no solo e garantir altas taxas de produtividade (HUNGRIA *et al.,* 2010). Assim, a fixação biológica de nitrogênio passa a ser uma opção para incrementar o rendimento das gramíneas forrageiras, sem prejuízos ao meio ambiente.

Dentre as bactérias fixadoras de nitrogênio e promotora do crescimento de plantas em gramíneas, destaca-se a espécie *Azospirillum brasilense*. A inoculação de estirpes de *Azospirillum* em pastagens tem apresentado efeitos positivos na produção e na qualidade nutricional das gramíneas forrageiras, pela atividade diazotrófica desenvolvida e ações de rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (RPCPs) como, a liberação de ácido indolacético (AIA), a solubilização de fósforo e a síntese de antibióticos (THAKURIA *et al*., 2004; HUNGRIA *et al*., 2016). Além da espécie *Azospirillum brasilense*, faz-se bastante necessária a avaliação de outras espécies isoladas e associadas, na busca de aumentar a produtividade das pastagens, assim como a qualidade da forragem, com menor custo de produção.

2.6. Fixação Biológica de Nitrogênio

A maioria dos estudos desenvolvidos até o presente momento propaga o potencial produtivo das gramíneas forrageiras após a aplicação dos fertilizantes nitrogenados, em contrapartida, seu preço elevado, associado à grande demanda de N pelas plantas e as frequentes necessidade de aplicação, são responsáveis por elevar o custo de produção e pode gerar danos ambientais, uma vez que, nem todo o N adicionado na forma mineral é absorvido pela planta (TEIXEIRA *et al*., 2018). De acordo com Lopes (2007), sua eficiência de utilização é de aproximadamente 50%.

O N não absorvido pelo sistema radicular das plantas pode ser incorporado à matéria orgânica, ser imobilizado pelos microrganismos do solo ou sofrer transformações, que resulta em perdas por volatilização da amônia, erosão, lixiviação do nitrato, desnitrificação com a emissão de gases N_2, N_2O e outros óxidos que potencializam o efeito estufa e contribuem para o aquecimento global

(DÖBEREINER, 1995; SANTINI, 2014; PEDREIRA *et al., 2017;* BERNARDI *et al*., 2018).

Para atender à intensificação das culturas agrícolas e a manutenção e/ou recuperação de extensas áreas de pastagens degradadas no Brasil, às projeções indicam uma demanda cada vez mais crescente por fertilizantes nitrogenados. Conforme Hungria (2011), 73% do N consumido no país são oriundos de importações. Sabe-se que as indústrias brasileiras de fertilizantes não produzem o suficiente para atender o mercado e são cada vez mais dependentes das importações.

Nesse cenário, é essencial encontrar alternativas para a redução do uso de N mineral e o emprego mais eficiente desse fertilizante. Vários estudos tem se fundamentado na necessidade de maior exploração do potencial de fixação biológica de nitrogênio e do uso de bactérias que promovam o crescimento e incrementem a produtividade das plantas, de forma econômica, sustentável e com menor dependência de importação desse insumo (HUNGRIA, 2011; SANTOS, 2013).

A Fixação biológica de nitrogênio (FBN) é um processo bioquímico de redução, restrito a alguns grupos de organismos procariotos, sejam eles de vida livre, que fixam o N para o seu próprio uso, ou associados simbioticamente a outros organismos vegetais, formando estruturas diferenciadas denominado nódulos ou rizóbios (LOPES, 2007). Por esse processo, o nitrogênio molecular (N_2) localizado na atmosfera é incorporado diretamente às plantas após ser transformado em amônia (VITTI; HEIRINCHS, 2007; MARCHETTI; BARP, 2015).

A reação de redução do N_2 a NH_3 é realizada por microrganismos do solo que contém a enzima nitrogenase e são conhecidos como fixadores de N_2 ou como bactérias diazotróficas promotoras do crescimento de plantas que se associam a diversas espécies de plantas em diferentes graus de especificidade, o que leva à classificação como bactérias associativas, endofíticas ou simbióticas (HUNGRIA, 2011; GIRIALDO *et al.,* 2018).

O potencial da FBN pelas plantas leguminosas já é bastante conhecido. A simbiose rizóbio-leguminosa é o mais importante sistema simbiótico entre microrganismos e plantas, cujo caso de maior sucesso compreende a simbiose de *Bradyrhizobium* com soja no Brasil, a tal ponto, que a FBN foi capaz de suprir as

necessidades de N da cultura (HUNGRIA; CAMPOS; MENDES, 2007). Outros exemplos é a simbiose entre leguminosas e bactérias do gênero *Rhyzobium*, *Azorizhobium*, *Photorizhobium* e *Sinorizhobium* (TAIZ; ZIEGER, 2009).

Em todos esses casos há a formação de nódulos radiculares, também chamados de rizóbios, que quando presente em grandes quantidades assegura uma melhor fixação de nitrogênio biológico para as plantas (MOREIRA *et al*., 2010). É importante destacar que, à maioria das espécies simbióticas fixadoras, apresentam algum tipo de sensibilidade à presença do nitrogênio mineral, que aplicados em doses elevadas pode inibir a fixação de N_2 (MOREIRA *et al*., 2014).

A relevância da FBN para plantas não leguminosas também tem sido demonstrados há algum tempo (BALDANI; DÖBEREINER, 1995; DÖBEREINER, 1966), da mesma forma, mais recentemente, os consórcios gramíneas e leguminosas (CANTARUTTI; SANTO, 2002; ANDRADE, 2010; PAES; LIMA, 2015). Estudos têm mostrado a presença de bactérias fixadoras de N_2 junto às raízes de gramíneas forrageiras, o que indica que estas também são capazes de estabelecer associações com microrganismos fixadores de nitrogênio (DÖBEREINER; MARRIEL; NERY, 1976; BRASIL, *et al*., 2005; HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAÚJO, 2010; GUIMARÃES, 2011; BARBERO, 2016). Isto revela efeitos positivos, negativos e, muitas vezes, inconsistentes, em relação aos benefícios dessa interação.

Quando os efeitos da interação são positivos, o N fixado pode suprir quase todas as necessidades do vegetal, o que dispensa o uso de fertilizantes nitrogenados e oferece, assim, vantagens econômicas e ecológicas, uma vez que introduz N advindo da fixação biológica em quantidade que pode variar de 30 a 45 kg ha^{-1} de N no sistema solo-planta (LOUREIRO; BODDEY, 1988).

2.7. Bactérias Promotoras do Crescimento de Plantas

Diferentes da associação nos rizóbios, às bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) endofíticas como a *Herbaspirillum seropedicae*, associativas como *Azospirillum brasilense*, ou as de vida livre, não formam nódulos e beneficiam o crescimento das plantas por diversos mecanismos, dentre os quais: incorporação de nitrogênio atmosférico no solo (MOREIRA *et al.,* 2010); capacidade

de colonizar a superfície das raízes e tecidos internos das plantas (KLOEPPER *et al*., 1989); estimular a fixação biológica de N_2 (HUERGO *et al*., 2008, SANTOS *et al*., 2017); aumentar a atividade da redutase do nitrato quando crescem endofiticamente nas plantas (CASSÁN *et al*., 2009); estimular a produção e secreção de fitormônios como auxinas, citocininas, giberilinas, etileno (TIEN *et al*., 1979; SPAEPEN *et al*., 2009; BOSA *et al*., 2016; CASSÁN; DIAZ-ZORITA, 2016); favorecer a solubilização de fosfatos (RODRIGUEZ *et al*., 2004; GALINDO *et al*., 2016); aumentar a disponibilidade de nutrientes (HUNGRIA *et al*., 2010); aumentar a eficiência do uso de N (HUNGRIA *et al*., 2016); aumentar a resistência a doenças por atuarem como agente de controle biológico de patógenos (CORREA *et al*., 2008) e aumentar a habilidade da planta de resistir aos estresses bióticos e abióticos (STURZ; NOWAK, 2000).

Entre os vários grupos de microrganismos diazotróficos capazes de estabelecer associações endofíticas, destacam-se as bactérias do gênero *Azospirillum*, conhecidas na década de 70, após estudo desenvolvido por Johanna Döbereiner que identificou a capacidade de fixação biológica do nitrogênio por essas bactérias quando em associação com gramíneas (DÖBEREINER; DAY, 1976).

O gênero *Azospirillum* abrange um grupo de BPCP de vida livre que é encontrado em quase todos os lugares da Terra. De acordo com Hungria (2011), a espécie *Spirillum lipoferum* foi inicialmente descrita por *Beijerinck*e posteriormente foi proposta a sua reclassificação para *Azospirillum*, juntamente com a descrição de duas espécies, *Azospirillum lipoferum* e *Azospirillum brasilense*. Atualmente este gênero conta com 12 espécies (KANEKO, *et al*., 2010).

Os microrganismos do gênero *Azospirillum* colonizam o interior e a superfície das raízes de gramíneas forrageiras, sendo denominados diazotróficos endofíticos facultativos (BALDANI *et al*., 1997; HUERGO *et al*., 2008). São conhecidos pela sua capacidade de produzir fitormônios reguladores do crescimento vegetal como o ácido indol-acético, auxinas, giberelinas e citocininas e liberá-los sobre o sistema radicular das plantas colonizadas, alterando sua morfologia e fisiologia (HARTMANN; ZIMMER, 1994) com a formação de pelos radiculares, aumentos da taxa de aparecimento de raízes secundárias e no comprimento das raízes. Estes fenômenos resultam em incrementos da biomassa de raízes e promove melhor

exploração dos nutrientes e água no solo (HUNGRIA, 2011; SANTOS, 2013), além de atuarem como agentes de controle biológico de patógenos (VIEIRA JÚNIOR *et al*., 2013).

Nas gramíneas, seus efeitos benéficos são observados no aumento da área foliar, altura da planta, diâmetro do caule, número de folhas, controle de doenças e aumento de produtividade. Assim, é cada vez mais crescente o uso de inoculantes contendo bactérias diazotróficas no cultivo de plantas pertencentes à família das Poáceas.

2.8. *Azospirillum brasilense*

O uso de inoculantes com estirpes de *Azospirillum brasilense* em várias gramíneas vem proporcionando resultados animadores, por atuarem no crescimento das plantas através da produção de substâncias promotoras de desenvolvimento, as quais proporcionam melhor crescimento radicular (OKON; VANDERLEYDEN, 1997; HUNGRIA *et al.*, 2011) e, por conseqüência, maior absorção de água e nutrientes (CORREA *et al*., 2008), que resulta em plantas mais vigorosas e produtivas (BASHAN; HOLGUIN; DE-BASHAN, 2004).

A inoculação com *Azospirillum brasilense* pode proporcionar incrementos de massa seca e de acúmulo de N nas plantas. Além destes fatores, o estado nutricional da planta, a qualidade dos exsudatos, a existência de microrganismos competidores e a escolha da estirpe também são fatores que podem influenciar na interação entre a planta e a bactéria, e afetar a eficiência da fixação biológica de nitrogênio (QUADROS *et al*., 2014).

Avaliando as características produtivas do capim Marandu inoculado com *Azospirillum* spp., Guimarães *et al*. (2011) constataram aumentos de 8% no número de folhas e até 7% no número de perfilhos por planta dos tratamentos inoculados em relação à ausência da bactéria. Também, não observaram diferenças na altura das plantas inoculadas quando compradas àquelas adubadas com nitrogênio.

Em trabalho desenvolvido por Hungria *et a*l. (2016), avaliando a capacidade de duas cepas de *Azospirillum brasilense* para promover o crescimento de dois genótipos de *Brachiaria* spp., verificaram aumentos de 5,4% e 22,1% em resposta

apenas à aplicação de N e em combinação com *Azospirillum,* respectivamente. O acúmulo de N na biomassa em resposta à inoculação com *Azospirillum* foi equivalente a uma segunda aplicação de 40 kg ha^{-1} de fertilizante nitrogenado.

Avaliando os efeitos da inoculação de *Azospirillum brasilense* em área de pastagem em degradação, Gazola *et al*. (2015) constataram aumentos no comprimento médio dos perfilhos, no número de perfilhos, número de folhas e massa fresca e seca da pastagem além de ganhos crescentes no teor de nitrogênio foliar.

O interesse na utilização dessa espécie tende a aumentar nos próximos anos, devido ao alto valor financeiro investido anualmente com fertilizantes minerais, sobretudo nitrogenados (HUNGRIA *et al*., 2010). A associação entre *Azospirillum* e *Urochloa* sp., tem potencial para tornar-se uma técnica aplicável a esses sistemas em condições de déficit hídrico, ou baixa fertilidade ou ambas, graças ao efeito hormonal que promove a expansão do sistema radicular e a fixação biológica de nitrogênio (ITZIGSOHN *et al*., 2000).

2.9. *Bacillus subtilis*

O *Bacillus subtilis* é uma espécie de bacilo Gram-positivo, aeróbio facultativo e saprófita. De acordo com Shoda (2000), o *B. subtilis* têm como habitat natural o solo, podem ocupar nichos ecológicos distintos em associação com plantas, toleram altas e baixas temperaturas e baixos níveis de umidade e, devido à formação de esporos resistentes, apresentam rápido crescimento em meio líquido e não são patogênicos. Além do mais, tem a capacidade de produzir fitormônios que proporcionam benefícios para as plantas, antibióticos e enzimas hidrolíticas extracelulares que degradam polissacarídeos (MAZZUCHELLI; SOSSAI; ARAÚJO, 2014).

Os efeitos destes microrganismos sobre o desenvolvimento das plantas são amplos. A adição de inoculantes contendo estirpes de *Bacillus* spp. no solo pode acelerar a reciclagem e a disponibilidade de nutrientes (COELHO *et al*, 2007), solubilizar e mineralizar o fósforo presente na matéria orgânica e em fontes inorgânicas (RICHARDSON, 2001) e enriquecer biologicamente o solo. De modo

geral, os efeitos benéficos vão desde a germinação de sementes até a produção de grãos (LAZARETTI; BETTIOL, 1997).

Zucareli *et al.* (2018) avaliaram a associação de fosfatos e *B. subtilis* no crescimento e desempenho produtivo do feijoeiro e constataram que essa associação promoveu maior crescimento de raízes e parte aérea, porém sem efeitos na produtividade de grãos.

Em estudo conduzido por Araújo (2008) com sementes de milho, algodão e soja expostas ao tratamento com bioformulado à base de *B. subtilis*, o bioformulado promoveu aumento da emergência das plântulas em algodão e soja, incrementou a produção de massa seca na parte aérea do milho e proporcionou ganhos no crescimento e nutrição das plantas.

Araújo e Pedroso (2013) preconizam que as interações de microrganismos com plantas podem ser úteis para o aumento da produtividade das gramíneas. Lima *et al.* (2011) verificaram que a inoculação das sementes de milho com estirpes de *Bacillus subtilis*, associado à adubação nitrogenada, melhorou o desenvolvimento e aumentou significativamente a produtividade de grãos e o acúmulo de nitrogênio na parte aérea da planta.

Algumas espécies podem suprimir doenças causadas por fungos, principalmente por ação antagônica, relacionado com a produção de antibióticos antifúngicos, possibilitando a utilização destas no controle biológico de fitopatógenos (LANNA FILHO; FERRO; PINHO, 2010).

Bactérias antagônicas, como *B. subtilis*, agem por antibiose e ocasionalmente, por parasitismo e competição, produzem grande variedade de metabólitos antifúngicos, entre os quais se encontram os lipopeptídicos da família surfactina, iturina e fengicina (KUPPER *et al*., 2003; ARAUJO; HENNING; HUNGRIA, 2005). LI *et al*. (2005) citam ações antagônicas de estirpes de *B. subtilis* em nematóides formadores de galhas.

O uso de bactérias BPCPs e de RPCPs tem grande potencial para ser utilizado em gramíneas forrageiras, quando comparadas à aplicação de fertilizantes nitrogenados, pois são economicamente viáveis e apresentam poucos riscos de contaminação ao meio ambiente (OKON; VANDERLEYDEN, 1997).

Mazzucheli, Sossai e Araújo (2014) avaliaram o efeito da inoculação de *Bacillus subtilis* e *Azospirilum brasilense* no crescimento e na produção de milho safrinha no norte do Paraná, e concluíram que a utilização de *B. subtilis* proporcionou o desenvolvimento da massa fresca da parte aérea em aproximadamente 15% do milho, enquanto que o uso de *A. brasilense* nas sementes aumentou em 21,9% a produtividade do milho, quando comparados ao tratamento controle.

Neste contexto, considerando-se a extensão de áreas com pastagens em algum estágio de degradação e a importância da melhoria da qualidade do solo, assim como destas pastagens no Brasil, estudos com a finalidade de mensurar os efeitos da inoculação e coinoculação em *Brachiaria*, que compreende a principal espécie (gênero) cultivada no país faz-se bastante necessários, sob os aspectos técnicos, econômicos, social e ambiental.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Localização e Período Experimental

O experimento foi desenvolvido em casa de vegetação no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Rondônia (IFRO) - *Campus* de Ji-Paraná. O município de Ji-Paraná - RO, está localizado na latitude de 10º52’51” S e longitude de 61º56’31” W, a 144 m acima do nível do mar. O período de condução do experimento foi de 14 de abril a 21 de setembro de 2018 (Figura 2).

Figura 2. Vista parcial da condução do experimento. Ji-Paraná, RO, 2018

Fonte: Arquivo do autor

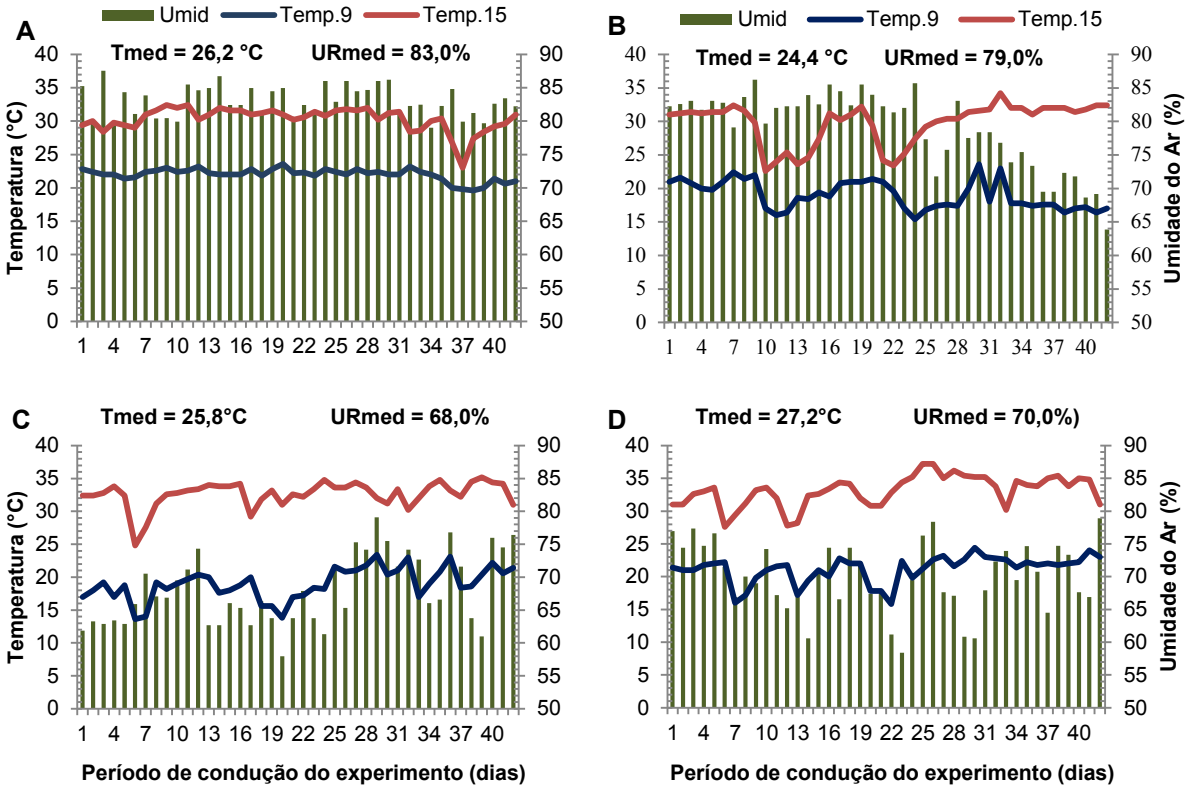
3.2. Caracterização Climática

O clima na região segundo a classificação de Köppen é do tipo “Aw” – Clima Tropical Chuvoso, com baixa amplitude térmica anual e significante amplitude térmica diária. A temperatura média anual do ar é elevada, oscilando entre 24 a 26 °C. Excepcionalmente, está sujeito ao fenômeno chamado de “friagem”. A precipitação pluvial varia em torno de 1.800 mm ano^{-1} e é regularmente distribuída

em dois períodos bem distintos: um chuvoso, principalmente nos meses de outubro a abril, e outro escasso de chuvas, entre os meses de junho a agosto, registrando-se valores de precipitações inferiores a 20 mm. Os valores médios de umidade relativa do ar oscilam em torno de 80,0% (SEDAM, 2012).

Durante a condução do experimento foram monitoradas com auxílio de Termohigrômetro (modelo Instrutherm MT 300 da SoilControl), a temperatura e a umidade relativa do ar incidente no interior da casa de vegetação. As leituras foram tomadas diariamente, a partir do corte de uniformização das plantas, sempre às 9:00 horas da manhã e às 15:00 horas da tarde. O comportamento das variáveis meteorológicas durante os quatro ciclos de cultivos da gramínea são apresentados na Figura 3. De maneira geral, a temperatura média do ar oscilou de 24,4 a 27,2°C, enquanto que a umidade relativa média do ar variou de 68,0 a 83,0%.

Figura 3. Valores diários de temperatura e umidade relativa do ar incidente na casa de vegetação durante a condução do experimento. A = primeiro ciclo de cultivo (14/04 a 24/05); B = segundo ciclo de cultivo (25/05 a 03/07);C = terceiro ciclo de cultivo (04/07 a 12/08) e D = quarto ciclo de cultivo (13/08 a 21/09). Ji-Paraná, RO, 2018



Fonte: Elaborado pelo autor

3.3. Preparo do Solo, Correção e Adubação do Solo

O solo utilizado no experimento, classificado como Argissolo Vermelho Amarelo distrófico, textura média (SANTOS *et al*., 2018), foi coletado no município de Ji-Paraná - RO (10°55’33” S, 61°57’33” W, altitude de 180 m) na camada de 0-0,20 m, em área sob pastagem, com baixa disponibilidade de forragem e predominância de plantas invasoras (Figura 4). A vegetação rasteira e os restos orgânicos foram retirados com o emprego de um trator acoplado com lâmina. Após a coleta, o material foi destorroado e tamisado em peneira de 4,0 mm de abertura de malha e posto a secar em local protegido e ventilado.

Figura 4. Área com pastagem degradada onde foi coletado o solo utilizado no experimento. Ji-Paraná, RO, 2018

Fonte: Arquivo do autor

Antes da instalação do experimento, uma amostra composta do solo foi convencionalmente preparada e dividida em duas subamostras. Na primeira, foram analisados os atributos químicos no Laboratório de Fertilidade do Solo da UNESP, *Campus* de Ilha Solteira, SP, conforme metodologias propostas por Raij *et al*. (2001). Na outra, foram analisados os atributos físicos no Laboratório de Solos e

Água do IFRO, de acordo com Teixeira *et al*. (2017). Os resultados demonstram alguns complexos de infertilidade do solo, como baixa disponibilidade de fósforo, presença de alumínio trocável e baixa saturação por bases (Tabela 1).

Tabela 1. Caracterização dos atributos químicos e físicos do solo coletado na profundidade de 0-0,20 m, antes da implantação do experimento. Ji-Paraná, RO, 2018

P (resina)	M.O	pH ($CaCl_2$)	K^+	Ca^{2+}	Mg^{2+}	Al^{3+}	H+Al
mg dm^{-3}	g dm^{-3}		---------- $mmol_c$ dm^{-3} ----------				
5,0	27,0	4,8	1,4	13,0	10,0	1,0	38,5
SB	**CTC**	**V**	**M**	**S-SO_4**	**B**	**Cu**	**Fe**
--------- $mmol_c$ dm^{-3} ---------		---------- % ----------		---------- mg dm^{-3} ----------			
24,4	62,9	38,8	3,9	3,0	0,1	4,6	47,0
Mn	**Zn**	**Areia**	**Silte**	**Argila**	**Ds**	**Dp**	**Pt**
---------- mg dm^{-3} ----------		---------- g kg^{-1} ----------			---------- g cm^{-3} ----------		%
183,2	1,9	566	174	260	1,3	2,4	45,8

P = fósforo disponível; M.O = matéria orgânica do solo; pH = acidez ativa; K^+, Ca^{2+} e Mg^{2+} = potássio, cálcio e magnésio trocáveis, respectivamente; Al^{3+} = acidez trocável; H+Al = acidez potencial; SB = soma de bases; CTC = capacidade de troca de cátions a pH 7,0; V = saturação por bases; m = saturação por alumínio; S-SO_4 = enxofre; B = boro; Cu = cobre; Fe = ferro; Mn = manganês; Zn = zinco; Ds = densidade do solo; Dp = densidade de partículas; Pt = porosidade total.
Fonte: Elaborado pelo autor.

O solo foi acondicionado em vasos plásticos com capacidade de 15 dm^3 (26,5 cm de diâmetro e 27,2 cm de altura) onde se fez a correção da acidez com o objetivo de elevar a saturação por bases para 50% (COSTA, 2004; TOWNSEND *et al*., 2011). Para tanto, fez-se a aplicação de 0,5 g dm^{-3} (1,0 t ha^{-1}) de calcário dolomítico com 27% de CaO, 16% de MgO e 70,3% de PRNT, seguida da homogeneização dos materiais com o uso de um misturador de solo (furadeira adaptada com uma broca de 8 x 25 cm). O período de incubação foi de 60 dias, mantendo o nível de umidade nos vasos próximo a capacidade de campo.

Após o período de incubação e um dia antes da transplantação das mudas para os vasos, procedeu-se a adubação de base com fósforo e potássio conforme os resultados obtidos na análise do solo e as recomendações propostas por Costa (2004). Assim, foram aplicados nos vasos 30 mg dm^{-3} de P_2O_5 (60 kg ha^{-1}) e 20 mg dm^{-3} de K_2O (40 kg ha^{-1}) nas formas de superfosfato simples (18% de P_2O_5) e de cloreto de potássio (60% de K_2O), respectivamente. A adubação com

micronutrientes foi realizada segundo Andrade *et al*. (2014), aplicando-se 20 mg dm^{-3} do produto FTE Br 12 (40 kg ha^{-1}) que continha na sua composição os seguintes teores de garantia: 1,8% de B, 0,8% de Cu, 2,1% de Mn, 0,1% de Mo e 9,0% de Zn. As adubações com fósforo, potássio e micronutrientes foram repetidas em cada ciclo de cultivo da gramínea.

3.4. Delineamento Experimental e Tratamentos

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com cinco repetições. Os tratamentos foram distribuídos em esquema fatorial 4 x 5, envolvendo inoculações (I) e doses de nitrogênio (D), perfazendo um total de 20 combinações (Tabela 2).

O primeiro fator experimental denominado de inoculação (I) correspondeu à ausência ou presença de inoculações com bactérias diazotróficas de forma isoladas e combinadas: sem inoculação (Si); inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab); inoculação com estirpe de *Bacillus subtilis (Bs);* e coinoculação das estirpes de *Azospirillum brasilense* + *Bacillus subtilis* (Ab+Bs), aplicado via semente. O segundo fator denominado doses (D) foi composto por cinco doses de nitrogênio (N): 0, 25, 50, 75 e 100 mg dm^{-3} de N (correspondentes a 0, 50, 100, 150 e 200 kg ha^{-1} de N), aplicados na forma de ureia, em dose única, após o corte de uniformização das mudas.

Tabela 2. Combinações dos fatores testados na gramínea *Urochloa brizantha* cv. Marandu em função da ausência e inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* e *Bacillus subtilis* de forma isolada e combinada, associadas ou não a doses de nitrogênio. Ji-Paraná-RO, 2018

Comb	Tratamentos		Comb	Tratamentos		Comb	Tratamentos		Comb	Tratamentos	
	I	D mg dm^{-3}		I	D mg dm^{-3}		I	D mg dm^{-3}		I	D mg dm^{-3}
I_0D_0	Si	0	I_1D_0	Ab	0	I_2D_0	Bs	0	I_3D_0	Ab+Bs	0
I_0D_1	Si	25	I_1D_1	Ab	25	I_2D_1	Bs	25	I_3D_1	Ab+Bs	25
I_0D_2	Si	50	I_1D_2	Ab	50	I_2D_2	Bs	50	I_3D_2	Ab+Bs	50
I_0D_3	Si	75	I_1D_3	Ab	75	I_2D_3	Bs	75	I_3D_3	Ab+Bs	75
I_0D_4	Si	100	I_1D_4	Ab	100	I_2D_4	Bs	100	I_3D_4	Ab+Bs	100

Comb = combinações dos tratamentos; I = inoculação; D = doses de nitrogênio; Si (I_0) = sem inoculação; Ab (I_1) = inoculação com *Azospirillum brasilense*; Bs (I_2) = inoculação com *Bacillus subtilis*; Ab+Bs (I_3) = co-inoculação de *A. brasilense* + *B. subtilis*; D_0, D_1, D_2, D_3 e D_4 = doses de 0, 25, 50, 75 e 100 mg dm^{-3} de N, respectivamente.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Cada parcela experimental foi constituída por um vaso, contendo cinco plantas vaso^{-1}, num total de 100 parcelas experimentais que foram distribuídas no interior da casa de vegetação, após a aleatorização, conforme esquema apresentado na Figura 5.

Figura 5. Desenho esquemático da distribuição das parcelas experimentais após a casualização dos tratamentos (sorteio)

1 I_1D_3	2 I_0D_3	3 I_2D_2	4 I_0D_0	5 I_3D_3	6 I_0D_2	7 I_0D_0	8 I_3D_1	9 I_1D_0	10 I_1D_3	11 I_0D_4	12 I_0D_2	13 I_3D_2	14 I_1D_0	15 I_2D_2	16 I_1D_3	17 I_0D_1	18 I_3D_0	19 I_0D_1	20 I_3D_4
21 I_0D_4	22 I_3D_4	23 I_1D_0	24 I_0D_0	25 I_2D_2	26 I_1D_2	27 I_0D_3	28 I_3D_1	29 I_1D_1	30 I_2D_4	31 I_0D_1	32 I_1D_3	33 I_2D_3	34 I_3D_3	35 I_1D_3	36 I_3D_2	37 I_2D_2	38 I_1D_4	39 I_1D_2	40 I_0D_3
41 I_1D_3	42 I_1D_1	43 I_1D_0	44 I_0D_0	45 I_1D_3	46 I_2D_1	47 I_2D_4	48 I_1D_1	49 I_3D_2	50 I_3D_1	51 I_0D_2	52 I_0D_4	53 I_1D_2	54 I_3D_0	55 I_1D_1	56 I_3D_0	57 I_3D_4	58 I_0D_2	59 I_2D_3	60 I_2D_2
61 I_2D_4	62 I_3D_3	63 I_2D_0	64 I_2D_4	65 I_2D_1	66 I_3D_4	67 I_1D_3	68 I_3D_3	69 I_0D_4	70 I_1D_1	71 I_2D_3	72 I_3D_0	73 I_2D_3	74 I_0D_1	75 I_0D_2	76 I_1D_2	77 I_0D_3	78 I_3D_3	79 I_2D_3	80 I_2D_1
81 I_3D_4	82 I_2D_1	83 I_3D_1	84 I_3D_1	85 I_0D_1	86 I_2D_1	87 I_2D_0	88 I_2D_0	89 I_1D_3	90 I_2D_4	91 I_2D_0	92 I_0D_3	93 I_0D_4	94 I_1D_0	95 I_3D_2	96 I_3D_0	97 I_1D_2	98 I_3D_2	99 I_0D_0	100 I_2D_0

I_0 = sem inoculação; I_1 = inoculação com *Azospirillum brasilense*; (I_2) = inoculação com *Bacillus subtilis*; I_3 = co-inoculação de *A. brasilense* + *B. subtilis*; D_0, D_1, D_2, D_3 e D_4 = doses de 0, 25, 50, 75 e 100 mg dm^{-3} de N, respectivamente.
Fonte: Elaborado pelo autor.

3.5. Espécie Gramínea e Aplicação dos Tratamentos

A espécie gramínea testada foi a *Urochloa brizantha* cv. Marandu (syn. *Brachiaria brizantha* cv. Marandu), cujas sementes foram previamente selecionadas e submetidas à quebra de dormência por escarificação química, conforme os procedimentos adotados por Meschede *et al*. (2004). Assim, as sementes foram imersas em ácido sulfúrico concentrado (98%) por 15 minutos, lavadas em água corrente por 5 minutos e secadas em temperatura ambiente (25 °C).

No dia da semeadura e de acordo com os tratamentos propostos, as sementes foram inoculadas com inoculantes líquidos contendo as estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab-V5 e Ab-V6, com garantia de 2,0 x 10^8 UFC mL^{-1} de calda bacteriana) e de *Bacillus subtilis* (estirpe CCTB04 = CNPSo2720), com garantia de 1,0 X 10^8 UFC mL^{-1} de calda bacteriana).

A inoculação foi realizada através da mistura dos inoculantes com as sementes, na proporção de 1,0 mL 50 g^{-1} de sementes (100 mL do produto comercial para 5 kg de sementes), conforme recomendações do fabricante (Total

Biotecnologia Indústria e Comércio S/A.), sendo que, no caso da inoculação associada, foi usada a metade desta proporção, ou seja, 0,5 mL de cada inoculante para 50 g de sementes. Após a homogeneização, as sementes foram postas a secar por 30 minutos e semeadas em seguida.

A semeadura ocorreu em 16/03/2018, em bandejas plásticas contendo substrato orgânico, composto por uma mistura de areia lavada com vermiculita, colocando-se uma semente por célula a uma profundidade de 1,0 cm, que foram mantidas em casa de vegetação com duas irrigações diária, até a transplantação para os vasos. Em 30/03/2018, foi realizado o transplantio de cinco mudas para cada vaso, considerando para tal, a homogeneidade das plantas.

O corte de uniformização foi realizado em 14/04/2018, a 5,0 cm acima do nível do solo (PREMAZZI; SANTOS, 2002), visando preservar o meristema apical das plantas. A partir daí, iniciou-se o período de avaliação do experimento.

Nestas condições e em cada tratamento definido, fez-se a reinoculação, conforme cada tratamento após cada corte, aplicando-se diretamente no solo, 5,0 ml planta^{-1} de solução bacteriana (1,0 ml de calda bacteriana por litro de água) e a reaplicação das doses de nitrogênio (0, 25, 50, 75 e 100 mg dm^{-3} de N), efetuada próximo ao sistema radicular e incorporado. Em seguida, foi realizada a irrigação para minimizar as perdas de N por volatilização da amônia (NH_3).

Em todos os quatro ciclos de cultivos, as plantas foram irrigadas em dias alternados, com volume de água suficiente para manter o teor de umidade do solo próximo de 70% do volume total de poros ocupados por água. As parcelas experimentais foram mantidas livres de plantas invasoras por meio da coleta manual.

Durante o período experimental foram realizados quatro cortes (ciclos de cultivo) para fins de avaliação das características estruturais e nutricionais da gramínea. Cada ciclo de cultivo da gramínea foi composto por 40 dias. O primeiro ciclo compreendeu o período de 14/04 a 24/05; o segundo ciclo, de 25/05 a 03/07; o terceiro ciclo, de 04/07 a 12/08 e o quarto ciclo, de 13/08 a 21/09. Todos os cortes da gramínea foram efetuados no último dia de cada ciclo de cultivo.

3.6. Variáveis Analisadas

As avaliações foram realizadas em cada ciclo de cultivo, cujas variáveis analisadas foram: altura das plantas (AP), número de perfilhos (NP), diâmetro basal do colmo (DC), número de folhas (NF), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca total (MST), concentração de proteína bruta (PB) e os acúmulos de nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K) na massa seca da parte aérea do capim ceifado.

Nos dias de corte do capim, foi medida a altura das plantas em cada vaso (cinco folhas vaso^{-1}), com o auxílio de uma fita metálica graduada em milímetros, a distância do nível do solo até a curvatura da última folha totalmente expandida (com a lígula exposta).

Os cortes da parte aérea das plantas (folhas e colmos) foram realizados a 0,10 m da superfície do solo (Figura 6A), com o auxílio de uma tesoura de poda. Após a coleta, foram colocadas em bandejas plásticas, identificadas e encaminhadas para o laboratório. Em seguida, a matéria fresca do capim ceifado foi distribuída sobre uma bancada para a contagem dos perfilhos e folhas, e determinação do diâmetro basal do colmo.

O número de perfilhos vaso^{-1} foi determinado por contagem manual total dos perfilhos “vivos” presentes na amostra. Da mesma forma, determinou-se o número de folhas vaso^{-1}, equivalente ao total de folhas recém e totalmente expandidas (Figura 6B).

Na determinação do diâmetro basal do colmo, em cada parcela experimental, foram amostrados ao acaso dez perfilhos, dispondo-os lado a lado sobre a bancada, e com uma leve pressão lateral foram fixados com fita adesiva. Com o uso de um paquímetro digital fez-se a leitura na parte basal do colmo (Figura 6C), definindo como o diâmetro basal do colmo da parcela, a média dessa leitura (leitura do paquímetro/10).

Para a determinação da produção de massa seca da parte aérea vaso^{-1}, as amostras foram acondicionadas em sacos de papel e colocadas em estufa com ventilação forçada de ar a 65 ºC por ±72 horas (até peso constante). Após a secagem, foram pesadas em balança com precisão de 0,001 g (Figura 6D), obtendo-se a massa seca da parte aérea por corte. A massa seca total (disponibilidade de

forragem total) foi determinada pela somatória das massas secas da parte aérea obtida em cada período de cultivo.

Após a pesagem da massa seca, porções das amostras foram moídas em moinho tipo Willey (Figura 6E) com peneira de abertura de 1,0 mm (18 mesh) e analisadas quanto aos teores foliares de nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K), no Laboratório de Nutrição de Plantas do Departamento de Fitossanidade, Engenharia Rural e Solos da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira (FEIS/UNESP), conforme as metodologias descritas por Malavota, Vitti e Oliveira (1997).

Figura 6. Procedimentos metodológicos realizados: corte da gramínea a 0,10 m da superfície do solo (A); contagem das folhas recém e totalmente expandidas (B); mensuração do diâmetro do colmo (C); pesagem para determinação da massa seca da parte aérea (D) e moagem da massa seca da parte aérea da forrageira (E)

Fonte: Arquivo do autor

Com as concentrações obtidas de N, foram estimados os teores de proteína bruta existente na parte aérea das plantas (SILVA; QUEIROZ, 2002) por meio da equação:

$$\textbf{Proteína Bruta (\%) = N x 6,25}$$

Os acúmulos de N, P e K na massa seca das plantas foram obtidos de acordo com a fórmula:

$$\textbf{Nutriente (g vaso}^{-1}\textbf{) = [massa seca (g vaso}^{-1}\textbf{) x teor do nutriente (g kg}^{-1}\textbf{)] x 0,001}$$

3.7 Análises estatísticas

Os valores obtidos das variáveis foram submetidos aos testes de normalidade de resíduos (Shapiro-Wilk) e de homogeneidade das variâncias (Bartlett), com o uso do programa estatístico R. (R CORE TEAM, 2019).

Atendidas as pressuposições (Apêndices A, B e C) procedeu-se a análise de variância das variáveis utilizando-se o programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2014). Para verificar os efeitos dos fatores isolados (inoculação e doses de N) e da interação (inoculação *versus* doses de N), foi utilizado o modelo estatístico:

$$\mathbf{Y_{ijk} = \mu + I_i + D_j + ID_{ij} + \varepsilon_{ijk}}$$

Onde:

- Y_{ijk} = valor na parcela que recebeu o nível i do fator inoculantes, o nível j do fator doses de nitrogênio, na repetição k;
- μ = média geral do experimento;
- I = efeito do nível i do fator inoculantes (i = 1, 2, 3, 4);
- D = efeito do nível j do fator doses de nitrogênio (j = 1, 2, 3, 4, 5);
- ID = efeito da interação entre os níveis i do fator inoculantes e dos níveis de j do fator doses de nitrogênio; e,
- ε = efeito do erro experimental associado à parcela que recebeu o nível i do fator inoculantes, o nível k do fator doses de nitrogênio, na repetição j (1, 2, 3, 4, 5).

As Interações quando significativas foram desdobradas de acordo com os fatores envolvidos. As médias dos tratamentos, com e sem inoculação, foram comparadas pelo teste Tukey a 0,05 de probabilidade de erro, e para as respostas das variáveis em função das doses de nitrogênio, utilizou-se das análises de regressão linear e quadrática. Para os ajustes das equações, foram considerados a significância das equações, o desvio da regressão não significativo e o coeficiente de determinação com valor mínimo ≥ a 70%.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 3 mostra uma síntese ilustrativa do que ocorreu com o desdobramento da interação do fator inoculação dentro da dose “zero de N” (ausência de adubação nitrogenada) para as variáveis analisadas do capim Marandu, e permite-se fazer algumas elucidações sobre os resultados alcançados.

Tabela 3. Síntese do desdobramento da interação inoculação na ausência de N em função da inoculação ou não com *Azospirillum brasilense* e *Bacillus subtilis*, para as variáveis analisadas do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em cada ciclo de corte constituído por 40 dias de cultivo. Ji-Paraná-RO, 2018

Variáveis	Ciclos de Cultivo			
	Corte 1	Corte 2	Corte 3	Corte 4
Altura da planta (AP)	*	*	*	*
Número de perfilhos (NP)	▪	ns	*	*
Diâmetro basal do colmo (DC)	ns	*	*	*
Número de folhas (NF)	▪	ns	ns	*
Massa seca da parte aérea (MSPA)	ns	ns	*	*
Massa seca total (MST)	-	-	-	*
Proteína Bruta (PB)	*	ns	ns	*
Nitrogênio (N_{ac})	ns	ns	*	*
Fósforo (P_{ac})	ns	ns	*	*
Potássio (K_{ac})	ns	*	*	ns

* significativo a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey; ns não significativo a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey; ▪ efeito isolado pelo teste F.
Fonte: Elaborado pelo autor.

Ao longo dos quatro ciclos de cultivos do capim Marandu, a combinação “inoculação+0N”, beneficiou as variáveis AP nos quatro ciclos de cultivo, NP, MSPA, N_{ac} e P_{ac} no terceiro e quarto, DC a partir do segundo, NF no quarto, PB no primeiro e quarto e K_{ac} no segundo e terceiro ciclo do capim Marandu.

Assim, com mais ênfase nos dois últimos ciclos, principalmente devido ao processo de rebrotação da gramínea, os incrementos promovidos pelos tratamentos inoculados nas variáveis com a ausência de N, revelam os efeitos benéficos das inoculações com *A. brasilense* e *B. subtilis,* tanto na forma isolada como na forma combinada.

Vários autores relataram que os benefícios das inoculações estão associados à produção de fitormônios, como auxinas, giberelinas e citocininas, que estimulam e regulam o crescimento e o desenvolvimento vegetal (REIS JÚNIOR *et al*., 2008; MOREIRA *et al*., 2010; ARAÚJO; PEDROSO, 2013; MEZA; de-BASHAN; BASHAN, 2015; BOSA *et al*., 2016), a fixação biológica de nitrogênio (SANTOS *et al*., 2017), a maior disponibilidade de nutrientes na solução do solo (HUNGRIA *et al*., 2016), solubilização de fosfatos (GALINDO *et al*., 2016), além de atuarem como agentes de controle biológico de patógenos (VIEIRA JÚNIOR *et al*., 2013). Com todos estes benefícios simultâneos, a resposta positiva das plantas à inoculação vem sendo narrada como a teoria dos mecanismos múltiplos (SALVO *et al*., 2018).

De acordo com Sobral (2003), os benefícios promovidos pelas bactérias promotoras do crescimento de plantas, podem ser caracterizados como diretos, quando estão relacionados à maior disponibilidade de nutrientes, à fixação biológica de N, à produção de fitormônios e à solubilização de fosfato; e indiretos, quando relacionados ao maior controle biológico por competição de nutrientes, resistência a doenças e produção de sideróforos, substância orgânica que forma ligações estáveis com o ferro do solo, solubilizando-o e transportando-o.

Bactérias como o *A. brasilense*, elevam a produção de auxinas, sendo este hormônio, considerado o responsável pelas alterações morfológicas no sistema radicular das plantas, que implica no aumento da densidade e no comprimento dos pelos radiculares, assim como na taxa de aparecimento de raízes laterais, o que beneficia as plantas com maior absorção de água e nutrientes, e em combinação com outras bactérias pode contribuir de modo específico e direto para o desenvolvimento das plantas (DOBBELAERE; VANDERLEYDEN; OKON, 2003; HUNGRIA, 2011; SANTOS, 2013; KHAN *et al*., 2017).

Por outro lado, por ter características de promoção de crescimento múltiplas, a inoculação com *B. subtilis* acelera a reciclagem e a disponibilidade de nutrientes (COELHO *et al*., 2007). De acordo com Lanna Filho, Ferro e Pinho (2010), a promoção de crescimento das plantas motivada por *B. subtilis* é consequência do aumento da fixação de nitrogênio, solubilização de nutrientes, síntese de fitormônios e melhoria das condições do solo. Para Krolow *et al*. (2004), o *Bacillus subtilis* induz

a planta a sintetizar fitormônios que favorecem o desenvolvimento do sistema radicular, o que promove maior crescimento da parte área das plantas.

Araújo (2008), avaliando o efeito de *B. subtilis* em formulação com farinha de ostras sobre a emergência, crescimento e nutrição de plantas, concluiu que a inoculação nas sementes de milho tem potencial para incrementar o crescimento e a nutrição das plantas. Ainda segundo o autor, a concentração de N e P nas folhas de milho, cujas sementes foram inoculadas com *B. subtilis* foi significativamente maior quando comparada ao tratamento testemunha.

Contudo, a atividade e a sobrevivência da população bacteriana do solo são influenciadas por condições internas e externas do ambiente. De acordo com Dartora *et al*. (2016), as bactérias por estarem associadas livremente à planta, seja na rizosfera ou no interior dos tecidos vegetais, sofrem influência da temperatura, umidade, características físicas e químicas do solo, competição com microrganismos do solo, potencial genético da planta hospedeira, e outras, que comprometem sua eficiência e até mesmo anulam os efeitos benéficos proporcionados às plantas, quando inoculadas isoladamente.

Sob outro ponto de vista, Silva *et al*. (2010) creditam a forte influência dos fatores ambientais, como clima e tipo de solo, o sucesso da interação entre as bactérias diazotróficas de vida livre e as gramíneas forrageiras. Nesse sentido, infere-se que a inoculação combinada com as estirpes de *A. brasilense* e *B. subtilis*, contribuíram por meio de ações sinérgicas, para a obtenção de respostas positivas nas variáveis analisadas.

Mazzuchelli, Sossai e Araújo (2014), avaliando o efeito da inoculação de *A. brasilense* e *B. subtilis* no crescimento e na produção de milho safrinha, concluíram que a utilização de *B. subtilis* possibilitou desenvolvimento da parte aérea fresca em aproximadamente 15%, enquanto que o uso de *A. brasilense* nas sementes aumentou em 21,9% a produtividade do milho, quando comparados ao tratamento controle.

Nos dois primeiros ciclos de cultivo da gramínea, a ausência de efeitos benéficos das inoculações verificados nas variáveis MSPA, PB e acúmulos de N_{ac}, P_{ac} e K_{ac} (Tabela 3), permite supor que na fase inicial do cultivo da gramínea, a baixa colonização das bactérias na rizosfera das plantas pode apontar para algum

efeito inibitório relacionado à substâncias liberadas pelas raízes das plantas. Outra suposição está relacionada ao teor de matéria orgânica presente no solo (27 g dm^{-3} – Tabela 1) antes da instalação do experimento.

Araújo e Pedroso (2013) encontraram correlação negativa significativa do teor de matéria orgânica com a concentração de *Bacillus* na rizosfera das gramíneas forrageiras estudadas. Segundo os autores, o carbono orgânico presente no solo é a principal fonte de C para diversos grupos de microrganismos e o teor de matéria orgânica no solo, indica que a maior disponibilidade deste substrato orgânico no solo desperte mais interesse nas bactérias, em situações desfavoráveis na rizosfera, e de que além da matéria orgânica presente no solo, os exsudatos radiculares, dependendo da sua composição, pode favorecer microrganismos patogênicos ou benéficos a colonizarem a rizosfera, surgindo o efeito inibitório das inoculações.

As Tabelas 4, 5, 6 e 7 representam uma síntese do desdobramento da interação inoculação dentro das doses de 25, 50, 75 e 100 mg dm^{-3} de N, respectivamente, para as variáveis AP, NP, DC, NF, MSPA, MST, PB, N_{ac}, P_{ac} e K_{ac} do capim Marandu submetido a quatro ciclos de cultivo (cortes).

Tabela 4. Síntese do desdobramento da interação inoculação dentro da dose de 25 mg dm^{-3} de N em função da inoculação ou não com *Azospirillum brasilense* e *Bacillus subtilis*, para as variáveis analisadas do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em cada ciclo de corte constituído por 40 dias de cultivo. Ji-Paraná-RO, 2018

Variáveis	Ciclos de Cultivo			
	Corte 1	Corte 2	Corte 3	Corte 4
Altura da planta (AP)	ns	ns	ns	ns
Número de perfilhos (NP)	▪	*	ns	ns
Diâmetro basal do colmo (DC)	*	ns	ns	ns
Número de folhas (NF)	▪	ns	ns	ns
Massa seca da parte aérea (MSPA)	*	*	*	ns
Massa seca total (MST)	-	-	-	*
Proteína Bruta (PB)	ns	ns	ns	ns
Nitrogênio (N_{ac})	ns	ns	*	ns
Fósforo (P_{ac})	*	*	*	ns
Potássio (K_{ac})	*	*	ns	ns

* significativo a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey; ns não significativo a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey; ▪ efeito isolado pelo teste F.
Fonte: Elaborado pelo autor.

Ao longo de todos os ciclos de cultivo e sempre em relação à ausência de inoculação, a combinação “inoculação+25N” (Tabela 4), não beneficiou as variáveis AP, NF e PB. Observou-se que o DC no primeiro; NP no segundo; MSPA e P_{ac} nos três primeiros; N_{ac} no terceiro e K_{ac} nos dois primeiros ciclos de cultivo do capim Marandu, foram beneficiados pela combinação de *Azospirillum brasilense* e *Bacillus. subtilis.*

Tabela 5. Síntese do desdobramento da interação inoculação dentro da dose de 50 mg dm^{-3} de N em função da inoculação ou não com *Azospirillum brasilense* e *Bacillus subtilis*, para as variáveis analisadas do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em cada ciclo de corte constituído por 40 dias de cultivo. Ji-Paraná-RO, 2018

Variáveis	Ciclos de Cultivo			
	Corte 1	Corte 2	Corte 3	Corte 4
Altura da planta (AP)	ns	ns	ns	ns
Número de perfilhos (NP)	▪	*	ns	ns
Diâmetro basal do colmo (DC)	ns	ns	ns	ns
Número de folhas (NF)	▪	ns	*	ns
Massa seca da parte aérea (MSPA)	*	*	*	ns
Massa seca total (MST)	-	-	-	ns
Proteína Bruta (PB)	ns	ns	*	ns
Nitrogênio (N_{ac})	ns	ns	ns	ns
Fósforo (P_{ac})	ns	ns	ns	ns
Potássio (K_{ac})	*	*	ns	*

* significativo a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey; ns não significativo a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey; ▪ efeito isolado pelo teste F.
Fonte: Elaborado pelo autor

Do mesmo modo, a combinação “inoculação+50N” (Tabela 5) não contribuiu com acréscimos significativos para as variáveis AP, DC, N_{ac} e P_{ac} nos quatro ciclos de cultivo do capim Marandu, mas influenciou o NP no segundo, NF e PB no terceiro, MSPA nos três primeiros e K_{ac} em todos os ciclos, com exceção no terceiro ciclo.

Com a combinação “inoculação+75N” (Tabela 6), não foram observados benefícios para as variáveis AP, NP, PB, N_{ac}, P_{ac} e K_{ac} nos quatro ciclos de cultivo, enquanto que, DC no primeiro, NF no quarto e MSPA no primeiro e terceiro ciclo, obtiveram benefícios da combinação.

Tabela 6. Síntese do desdobramento da interação inoculação dentro da dose de 75 mg dm^{-3} de N em função da inoculação ou não com *Azospirillum brasilense* e *Bacillus subtilis*, para as variáveis analisadas do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em cada ciclo de corte constituído por 40 dias de cultivo. Ji-Paraná-RO, 2018

Variáveis	Ciclos de Cultivo - Cortes			
	Corte 1	Corte 2	Corte 3	Corte 4
Altura da planta (AP)	ns	ns	ns	ns
Número de perfilhos (NP)	▪	ns	ns	ns
Diâmetro basal do colmo (DC)	*	ns	ns	ns
Número de folhas (NF)	▪	ns	ns	*
Massa seca da parte aérea (MSPA)	*	ns	*	ns
Massa seca total (MST)	-	-	-	ns
Proteína Bruta (PB)	ns	ns	ns	ns
Nitrogênio (N_{ac})	ns	ns	ns	ns
Fósforo (P_{ac})	ns	ns	ns	ns
Potássio (K_{ac})	ns	ns	ns	ns

* significativo a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey; ns não significativo a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey; ▪ efeito isolado pelo teste F.
Fonte: Elaborado pelo autor

Por último, com a combinação “inoculação+100N” (Tabela 7), todas as variáveis, com exceção de NP e NF, foram influenciadas positivamente no primeiro ciclo, NP, MST e PB no quarto, MSPA, N_{ac}, P_{ac} e K_{ac} no segundo ciclo de cultivo da gramínea.

Como já apresentado anteriormente, a inoculação por si só, influenciou o desempenho de todas as variáveis em relação à ausência de nitrogênio; entretanto, quando associada à adubação nitrogenada, proporcionou desempenhos diferentes (positivos, negativos e indiferentes) com o aumento das doses de N, dentro e ao longo de cada ciclo de cultivo do capim Marandu. Nesse sentido, em termos de produção e qualidade da forragem, os resultados revelam que a aplicação de N mineral na cultura do capim Marandu não pode ser substituída integralmente pela inoculação.

De modo geral, independentemente das doses de N, a combinação “inoculação+nitrogênio” promoveu benefícios em todas as variáveis apenas no primeiro ciclo de cultivo, quando comparadas aos valores obtidos sem inoculação, com destaque para a combinação “inoculação+100N” (Tabela 7). Á medida que foi evoluindo os ciclos de cultivo, esses efeitos benéficos nas variáveis foram reduzidos

e até mesmo cessados, principalmente no quarto ciclo, onde praticamente todas as variáveis deixaram de ser beneficiadas, independentemente das doses de N.

Tabela 7. Síntese do desdobramento da interação inoculação dentro da dose de 100 mg dm^{-3} de N em função da inoculação ou não com *Azospirillum brasilense* e *Bacillus subtilis*, para as variáveis analisadas do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em cada ciclo de corte constituído por 40 dias de cultivo. Ji-Paraná-RO, 2018

Variáveis	Ciclos de Cultivo - Cortes			
	Corte 1	Corte 2	Corte 3	Corte 4
Altura da planta (AP)	*	ns	ns	ns
Número de perfilhos (NP)	▪	ns	ns	*
Diâmetro basal do colmo (DC)	*	ns	ns	ns
Número de folhas (NF)	▪	ns	ns	ns
Massa seca da parte aérea (MSPA)	*	*	ns	ns
Massa seca total (MST)	-	-	-	*
Proteína Bruta (PB)	*	ns	ns	*
Nitrogênio (N_{ac})	*	*	ns	ns
Fósforo (P_{ac})	*	*	ns	ns
Potássio (K_{ac})	*	*	ns	ns

* significativo a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey; ns não significativo a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey; ▪ efeito isolado pelo teste F.
Fonte: Elaborado pelo autor

Essa tendência foi observada por Lima *et al*. (2020) que verificaram nos tratamentos inoculados e fertilizados com N, ausência de significância nas variáveis após o primeiro corte, demonstrando que os efeitos das bactérias e da fertilização com N foram mais pronunciados na fase de estabelecimento da planta. Conforme Primavesi *et al*. (2006), o comportamento de resposta à aplicação de N na fase inicial de crescimento da planta está de acordo com a fisiologia da gramínea, pois é quando as condições para o desenvolvimento das plantas tendem a ser mais favoráveis.

Pelo visto, vincular à adubação nitrogenada à inoculação, beneficia à produção e a qualidade nutricional do capim Marandu, por proporcionar maior produção de biomassa e teores de PB, além de maiores acúmulos de N, P e K.

O estímulo proporcionado pela adubação nitrogenada no desenvolvimento da planta como um todo se deve ao fato do N está ligado diretamente ao processo de crescimento da planta. De acordo com Taiz *et al*. (2017), o nitrogênio é um nutriente

essencial para as plantas, por ser constituinte de proteínas e ácidos nucleicos, por participar da síntese de vitaminas, coenzimas, hormônios, alcalóides, hexosaminas e outros compostos. Segundo Silva *et al*. (2013), a utilização do N reduz o tempo de aparecimento de folhas sucessivas, aumentando a formação de novas células, desenvolvimento de perfilhos e número de folhas por perfilhos, consequentemente, aumentando a produção de forragem da gramínea.

Bactérias promotoras de crescimento de plantas como *A. brasilense* e *B. subtilis*, dentre outros mecanismos, podem fixar N, produzir fitormônios como auxinas e giberelina, promover alterações na morfologia do sistema radicular que permite maior absorção de água e nutrientes, solubilizar fosfatos, proteção contra fitopatógenos, e consequentemente, aumentar a produção das plantas (BASHAN; HOLGUIN; DE-BASHAN, 2004).

Apesar de os benefícios que as bactérias proporcionam às gramíneas, aparentemente sua eficiência é prejudicada em função de está associada livremente à planta, tornando-se muito vulnerável aos fatores ambientais, o que tem sido frequentemente relacionado à ausência de resposta à inoculação. Assim, a coinoculação de bactérias pode contribuir com diversos processos biológicos resultando em um efeito sinérgico, tendendo a superar os resultados produtivos obtidos quando esses organismos são usados de forma isolada (BÁRBARO *et al*., 2008).

Vários estudos têm reportado o comportamento da inoculação de bactérias promotoras do crescimento de plantas associadas à adubação nitrogenada e encontrado os mais diferentes tipos de efeitos, assim como os encontrados com as variáveis neste estudo.

De acordo com Matsumura *et al*. (2015), a resposta da inoculação pode variar de acordo com o genótipo de cada planta, estirpes de bactérias usadas, condições ambientais onde foram desenvolvidos os experimentos, práticas agrícolas adotadas, bem como com a quantidade e qualidade das células de bactérias promotoras de crescimento utilizadas como inoculante.

Oliveira, Oliveira e Barioni (2007), avaliando a produção de forragem e a qualidade do capim Marandu com *Azospirillum brasilense*, associadas a doses de 0, 150, 200 e 300 kg ha^{-1} de N, observaram que quando realizada a adubação, não foi

encontrado efeito da inoculação sobre a produção forrageira, e com adubações parceladas de 75 kg ha^{-1} de N mais inoculação, obteve redução da produção de forragem em relação à pastagem apenas com inoculação. Os autores também verificaram interação entre a inoculação e as doses de N no primeiro corte da gramínea, em que o tratamento sem aplicação de N e com inoculação produziu mais forragem do que a testemunha.

Estudo desenvolvido por Silva *et al*. (2010) com população de bactérias diazotróficas em pastagens com diferentes intensidades de cortes, observaram que com a aplicação de 80 kg ha^{-1} de N na pastagem com *P. purpureum*, a população de bactérias testadas, como *A. brasilense*, foi inibida pelo N aplicado.

A ocorrência de alta disponibilidade de N no solo ocasiona baixa contribuição da fixação biológica de poáceas. Dartora *et al*. (2013) verificaram que plantas de milho inoculadas com *A. brasilense* alcançaram a máxima produção em massa seca da parte aérea com a dose de 118 kg ha^{-1} em cobertura, sendo que em doses maiores, ocorreram decréscimos da produção de massa seca.

Guimarães *et al*. (2011), mensurando a produção de capim Marandu inoculado com *Azospirillum s*pp., observaram efeitos expressivos e positivos na altura das plantas, número de folhas, número de perfilhos e massa de raiz.

Pereira *et al*. (2015), estudando a morfogênese do capim Marandu submetido à inoculação de *Azospirillum* e adubação nitrogenada, verificaram com 50 kg ha^{-1} de N, efeitos positivos na taxa de alongamento foliar, taxa de aparecimento de folha, filocrono e comprimento final de folhas, indo de encontro ao de Pedreira *et al*. (2017), que quando combinaram a aplicação de 80 kg ha^{-1} mais inoculação com *A. brasilense*, não encontram efeitos significativos para as variáveis taxa de aparecimento de folhas e número de perfilhos.

Bosa *et al*. (2016), avaliando as características produtivas e nutricionais do capim-xaraés inoculado com bactérias diazotróficas associativas, observaram acréscimos de 11,3% nas forrageiras inoculadas e maior acúmulos de N com adubação nitrogenada, quando comparadas à testemunha (ausências de inoculação e de nitrogênio).

Hungria *et al*. (2016), avaliando a inoculação de *A. brasilense* na presença de fertilizante nitrogenado no capim Marandu observaram aumento na produção de

massa seca em 22,1% quando associado à adubação nitrogenada. Ainda de acordo com os autores, o acúmulo de N na parte aérea da planta foi equivalente ao uso de uma adubação de 40 kg ha^{-1} de N, além de contribuir com o sequestro de carbono em 0,309 t CO_2-eq ha^{-1}.

Hanisch, Balbinot Jr e Vogt (2017), estudando o efeito do tratamento de sementes do capim Marandu com um inoculante comercial de *A. brasilense*, associado a diferentes doses de N mineral, concluíram que em clima subtropical e em solo com alto teor de matéria orgânica, a produção de forragem e a composição química da gramínea não são influenciadas pela inoculação das sementes ou pela interação entre a inoculação e doses de N mineral até a dose de 150 kg ha^{-1} aplicado em uma única cobertura.

A coinoculação entre bactérias promotoras do crescimento de plantas tem como objetivo somar ou potencializar o efeito benéfico individual de cada bactéria. Picazevicz, Kusdra e Moreno (2017), verificaram aumento na massa seca da parte aérea do milho com a coinoculação entre *A. brasilense* e *R. tropici*, com acréscimos de 21,4 e 15,1%, em relação à ausência e presença de nitrogênio (30 kg ha^{-1} de N).

Dartora *et al*. (2013) observaram que a inoculação combinada de *A. brasilense* (estirpe Ab-V5) e *Herbaspirillum seropedicae* (estirpe SmR1) na cultura do milho proporcionou incrementos de 12% na matéria seca de parte aérea e 7% na produtividade em relação à testemunha, indicando benefícios da coinoculação destas bactérias diazotróficas que interagem de forma diferenciada com a planta.

4.1. Altura da Planta

Para a altura de plantas (AP) do capim Marandu, a análise de variância revelou em todos os ciclos de cultivos (cortes), efeitos individuais significativos dos fatores inoculação ($P<0,05$) e doses de N ($P<0,01$) e também da interação ($P<0,01$) dos fatores inoculação *versus* doses de N (Tabela 8). Os resultados indicam comportamento diferenciado do capim Marandu em relação à AP pelo uso de inoculantes contendo estirpes de *A. brasilense* e *B. subtilis*, aplicados de forma isolada ou combinada, associadas ou não a doses de nitrogênio (N).

Tabela 8. Resumo da análise de variância e médias da altura da planta (AP) do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da inoculação ou não com *Azospirillum brasilense* e *Bacillus subtilis*, de forma isolada e combinada, associadas ou não a doses de nitrogênio (N) em cada ciclo de corte constituído por 40 dias de cultivo. Ji-Paraná-RO, 2018

F.V	G.L	AP			
		Corte 1	Corte 2	Corte 3	Corte 4
		Quadrados Médios			
Tratamentos	19	287,63**	334,60**	563,51**	288,76**
Inoculação (I)	3	59,98**	39,10*	199,83*	120,77**
Doses de N (D)	4	1064,90**	1321,99**	2051,26**	1029,41**
I x D	12	85,46**	79,34**	158,51**	83,87**
Erro	80	5,71	13,03	51,33	27,35
C.V. (%)		3,34	5,01	9,67	6,84
Média Geral		71,59	72,05	74,13	76,48
Inoculação		Médias			
		---------- cm ----------			
Sem Inoculação		70,27 b	70,36 a	72,68 b	77,63 a
Azospirillum brasilense		72,04 ab	73,02 a	78,05 a	77,14 a
Bacillus subtilis		73,59 a	72,97 a	74,20 ab	73,22 b
A. brasilense + B. subtilis		70,47 b	71,85 a	71,58 b	77,94 a
D.M.S		1,77	2,68	5,32	3,88

C.V = coeficiente de variação; D.M.S = diferença mínima significativa; ** 1% e * 5% significativos ao teste de F; ns = não significativo ao teste de F; médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.
Fonte: Elaborado pelo autor.

Considerando apenas os efeitos individuais ao longo dos ciclos de cultivos, observou-se que os tratamentos inoculados com as estirpes de *A. brasilense* e *B subtilis*, sempre apresentaram valores superiores de AP, quando comparados aos tratamentos sem inoculação, com destaques para *B. subtilis* no primeiro corte e *A. brasilense* no terceiro corte, onde ocorreram acréscimos significativos de 3,3 cm (4,7%) e 5,4 cm (7,4%) na altura das plantas, respectivamente (Tabela 8).

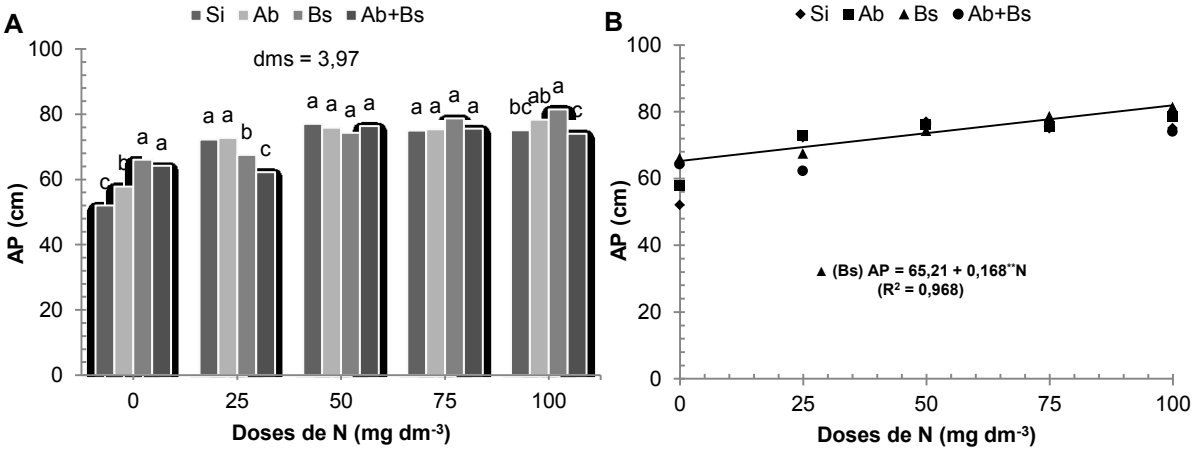
Comparando os tratamentos inoculados entre si, verificou-se que as inoculações isoladas de *B. subtilis* e *A. brasilense* foram superiores (P<0,05) à aplicação combinada entre ambos, no primeiro e terceiro corte, com incrementos na AP de 3,1 e 6,5 cm em média; porém, não foram observadas distinções entre eles (P>0,05), a exceção no quarto corte, onde o uso de *A. brasilense foi* superior (P<0,05) ao *B. subtilis*em 5,4% (Tabela 8).

As doses de N influenciaram positivamente (P<0,01) os valores da AP nos quatro ciclos de cortes do capim Marandu (Tabela 8). Resultados semelhantes foram também observados por Germano *et al*. (2018), quando da determinação da AP de *Brachiaria brizantha* cv. Paiaguás em condições de campo, em quatros cortes avaliados.

O desdobramento das interações mostrou que em todos os ciclos de cultivo do capim Marandu, os tratamentos inoculados sem a presença de N influenciaram positivamente a AP da gramínea, e quando associados à adubação nitrogenada, os benefícios deixaram de existir, com raras exceções, como serão relatados a seguir.

No primeiro ciclo, o desdobramento da interação inoculação dentro de cada nível de N (Figura 7A) revelou que na ausência de N, as inoculações influenciaram (P<0,05) positivamente no crescimento das plantas, com acréscimos de 5,8 (11,2%), 14,0 (27,0%) e 12,2 cm (23,4%) quando inoculadas com *A. brasilense*, *B. subtilis* e coinoculada, respectivamente, indicando que o N disponibilizado pelas bactérias, atendeu as exigências nutricionais das plantas em relação a este nutriente.

Figura 7. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para a altura da planta (AP) do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao primeiro corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018



Médias seguidas de mesma letra dentro de cada tratamento não diferem estatisticamente a 0,05 de probabilidade pelo teste de Tukey; dms = diferença mínima significativa.
Fonte: Elaborado pelo autor.

Guimarães *et al*. (2011) avaliando o efeito da inoculação de isolados do gênero *Azospirillum* na produção de capim Marandu, em condições semelhantes às desenvolvidas neste estudo, encontraram após 40 dias de cultivo, altura média aproximada de 59,0 cm entre todos os isolados de *Azospirillum*, com destaque para o isolado AZ02, que não diferiu da AP obtido com o tratamento adubado com 200 mg dm^{-3} de N. Comparando os dois estudos, neste, foram obtidos 57,8, 66,1 e 64,2 cm para AP, na ausência de adubação nitrogenada.

Entre os tratamentos inoculados, a inoculação com *B. subtilis* teve melhor desempenho em relação aos inoculados com *A. brasilense* e coinoculado, proporcionando incrementos respectivos de 8,2 (14,2%) e 6,4 cm (11,0%) (Figura 7A), o que revela o potencial destas bactérias como promotora do crescimento de plantas no início do cultivo da gramínea.

Com o suprimento de 25 mg dm^{-3} de N, a inoculação com *B. subtilis* e a coinoculação não contribuíram ($P<0,05$) na AP em comparação ao tratamento não inoculado, reduzindo o crescimento em 4,7 (6,6%) e 10,0 cm (13,9%) (Figura 7A), que provavelmente se deu, pela presença de N, apesar da pouca quantidade, prejudicando a colonização destas bactérias junto às plantas ou até mesmo, por ações competitivas entre as bactérias inoculadas e as bactérias nativas presentes no solo usado neste estudo, visto que o mesmo não foi esterilizado. De outra parte, a inoculação com *A. brasilense* teve comportamento semelhante ($P>0,05$) ao não inoculado e superior ($P<0,05$) em 5,2 (7,6%) e 10,4 cm (16,8%) quando comparado, nessa ordem, com os tratamentos inoculados com *B. subtilis* e coinoculado, que por sua vez, não contribuíram ($P>0,05$) para o crescimento das plantas.

A partir da aplicação de 50 mg dm^{-3} de N, não são verificados efeitos das inoculações isoladas e combinadas com *A. brasilense* e *B. subtilis* em relação ao tratamento não inoculado (Figura 7A), corroborando com Boddey *et al*. (2004), que relataram desempenhos insignificantes das bactérias fixadoras de N nas braquiárias em solos com alta disponibilidade de N. No entanto, em contradição, neste estudo, com adubação de 100 mg dm^{-3}, a inoculação com *B. subtilis* contribuiu ($P<0,05$) para o crescimento das plantas em 6,4 cm (8,5%).

Entre os tratamentos inoculados, associados às aplicações de 50 e 75 mg dm^{-3} de N, não foram observados efeitos ($P>0,05$) na promoção do crescimento

das plantas. Entretanto, com o suprimento de 100 mg dm^{-3} de N, as inoculações isoladas de *A. brasilense* e *B. subtilis* proporcionaram acréscimos respectivos, de 4,3 (5,8%) e 7,4 cm (10,0%) na AP, comparados ao tratamento coinoculado (Figura 7A).

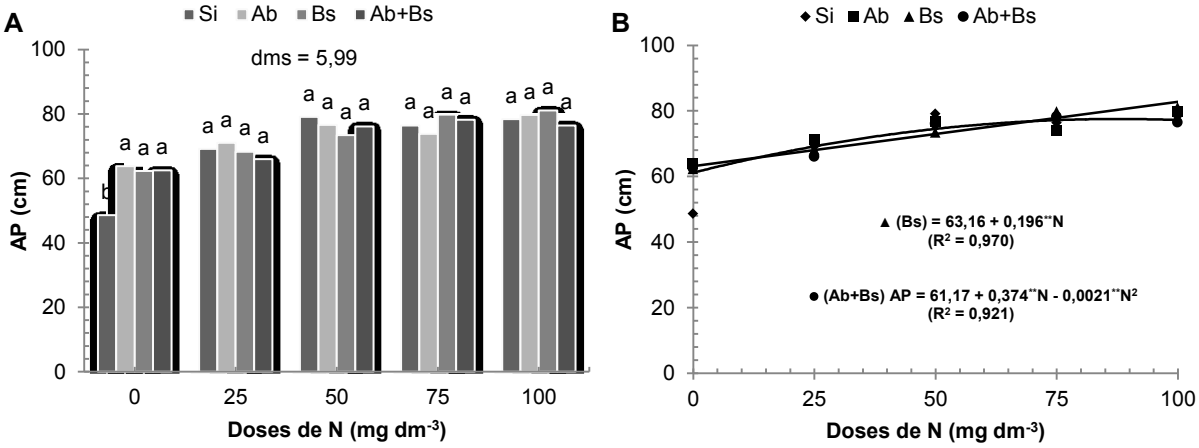
Mediante o desdobramento da interação dose de N em cada nível de inoculação (Figura 7B), não foi possível ajustes (P>0,05) de equações de regressão (propostas neste estudo) para a AP nos tratamentos sem inoculação, inoculado com *A. brasilense* e coinoculado, obtendo alturas médias, independentemente das doses de N, de 70,3, 70,4 e 77,6 cm, respectivamente. Houve ajuste linear (P<0,01) crescente na AP com a inoculação de *B. subtilis*, obtendo altura máxima teórica de 82,0 cm com aplicação de 100 mg dm^{-3} de N, o que possibilitou incrementos de 16,8 cm (29,8%) sobre a menor AP obtida sem a realização dessa combinação, ou seja, acréscimos próximos de 17,0 cm para cada mg dm^{-3} de N aplicado. Em relação ao tratamento não inoculado, a inoculação com *B. subtilis* aumentou em 11,7 cm (16,6%) a altura do capim Marandu, resultado bem interessante para o aumento da produção de forragem da gramínea.

Fernandes (2016), avaliando em casa de vegetação o efeito da inoculação de *A. brasilense* e da adubação nitrogenada sobre a produção da *Brachiaria decumbens*, obteve alturas de 70 cm com e sem inoculação com a dose de 200 kg ha^{-1} de N (100 mg dm^{-3} de N). Considerando as características agronômicas das plantas a parte, estes resultados foram semelhantes às alturas obtidas neste estudo com a ausência de inoculação (70,3 cm), inoculação com *A. brasilense* (70,4 cm), porém, inferior em 10,9 e 17,1% a coinoculação e inoculação com *B. subtilis* (Figura 7B).

Nos demais ciclos de cultivo, o desdobramento da interação inoculação dentro de cada dose de N, identificou incrementos na AP apenas na ausência de N. Desse modo, no segundo ciclo (Figura 8A), os tratamentos inoculados com *A. brasilense*, *B. subtilis* e a coinoculação, promoveram (P<0,05) acréscimos de 15,2 (31,2%), 13,6 (28,0%) e 13,8 cm (28,5%), quando comparados ao tratamento controle (sem inoculação e ausência de N). Entre os tratamentos inoculados não foram observados diferenças (P>0,05) na AP, entre si. A partir da adubação com 25 mg dm^{-3} os benefícios das inoculações no aumento da AP foram cessados (P>0,05),

atingindo médias, independentemente dos níveis de inoculações, de 68,7; 76,3; 77,1 e 78,9 cm, quando associadas às aplicações de 25, 50, 75 e 100 mg dm^{-3} de N, respectivamente.

Figura 8. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para a altura da planta (AP) de *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao segundo corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018



Médias seguidas de mesma letra dentro de cada tratamento não diferem estatisticamente a 0,05 de probabilidade pelo teste de Tukey; dms = diferença mínima significativa.
Fonte: Elaborado pelo autor.

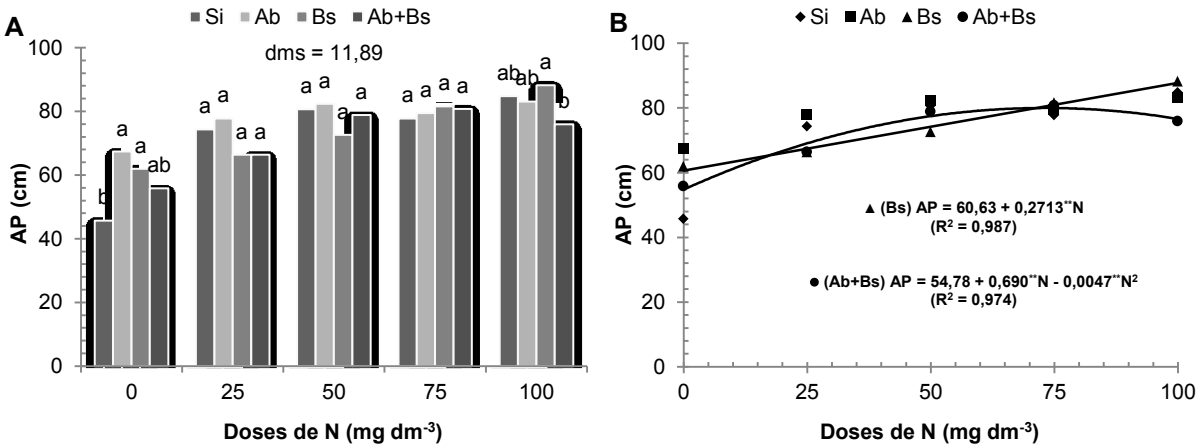
Por outro lado, o desdobramento da interação das doses de N dentro de cada nível de inoculação (Figura 8B), não propiciou (P>0,05) ajustes de funções para a AP, tanto na ausência de inoculação como na presença com *A. brasilense*, obtendo-se valores médios de AP de 70,4 e 73,0 cm, nessa ordem, similares aos já apresentados por Fernandes (2016). Contudo, possibilitou ajustes (P<0,05) de equação linear e quadrática com a inoculação de *B. subtilis* e a coinoculação, respectivamente.

Com ajuste ao modelo linear, a AP de 82,8 cm foi alcançada com a dose de 100 mg dm^{-3} de N, enquanto que, com o modelo quadrático, a máxima AP (77,8 cm) foi obtida com a dose de 89 mg dm^{-3} de N, proporcionando incrementos respectivos de 19,6 (31,1%) e 16,6 cm na AP (27,2%) em relação ao que seria obtido na ausência dessas combinações (Figura 8B).

Supondo o nível de adubação limitado a 89,0 mg dm^{-3} de N e inserindo esse valor na função linear ajustada (*B. subtilis*), a AP passaria a ser 80,6 cm, ou seja, 2,8 cm a mais (3,6%) ao obtido com a função quadrática (coinoculação), o que demonstra o potencial positivo da inoculação com *B. subtilis*, tanto na forma isolada como na forma coinoculada com *A. brasilense* no crescimento do capim Marandu (Figura 8B).

No terceiro ciclo, com o desdobramento da interação dos fatores inoculação dentro das doses de N (Figura 9A), foram observados efeitos (P<0,05) da inoculação na AP, apenas quando relacionado à testemunha absoluta (ausências de inoculação e adubação com N). Nesse sentido, as inoculações isoladas com *A. brasilense* e *B. subtilis* contribuíram para acréscimos, respectivos, de 21,6 (47,3%) e 16,2 cm (35,4%) na altura da gramínea. Entre os tratamentos inoculados, não foram identificados (P>0,05) destaques entre si e nem da coinoculação em relação à testemunha.

Figura 9. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para a altura da planta (AP) do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao terceiro corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018



Médias seguidas de mesma letra dentro de cada tratamento não diferem estatisticamente a 0,05 de probabilidade pelo teste de Tukey; dms = diferença mínima significativa.
Fonte: Elaborado pelo autor.

A partir do suprimento da adubação nitrogenada até a dose de 100 mg dm^{-3} de N, as inoculações, tanto na forma isolada como na forma combinada, não influenciaram (P>0,05) a AP quando comparadas com o obtido na ausência de inoculação, ficando a média estimada entre os tratamentos iguais a 71,3, 78,7 e 79,9 cm, quando associadas às doses de 25, 50 e 75 mg dm^{-3} de N, respectivamente (Figura 9A). Na dose de 100 mg dm^{-3} de N, a inoculação com *B. subtilis* aumentou (P<0,05) a AP em 12,3 cm (16,2%) em relação ao tratamento coinoculado, não se verificando mais variações (P>0,05) entre os demais tratamentos.

O desdobramento da interação doses de N em cada nível das inoculações (Figura 9B), propiciou (P<0,05) ajustes ao modelo linear e modelo quadrático para AP, quando relacionados às inoculações com *B. subtilis* e a coinoculação, respectivamente. Por outro lado, não foi possível (P>0,05) ajustes nos níveis sem inoculação e inoculado com *A. brasilense*, ficando as médias da AP com 72,7 e 78,1, nessa ordem, para os dois tratamentos.

Com as equações ajustadas, a AP "linear" de 87,8 cm foi alcançada com a aplicação de 100 mg dm^{-3}, enquanto que a máxima AP "quadrática" (80,1 cm) foi obtida com a aplicação de 73,4 mg dm^{-3} de N, o que possibilitou incrementos de 27,2 (44,8%) e 25,3 cm (46,2%) na AP, quando comparados ao menor valor obtido sem inoculação e adubação nitrogenada (Figura 9B).

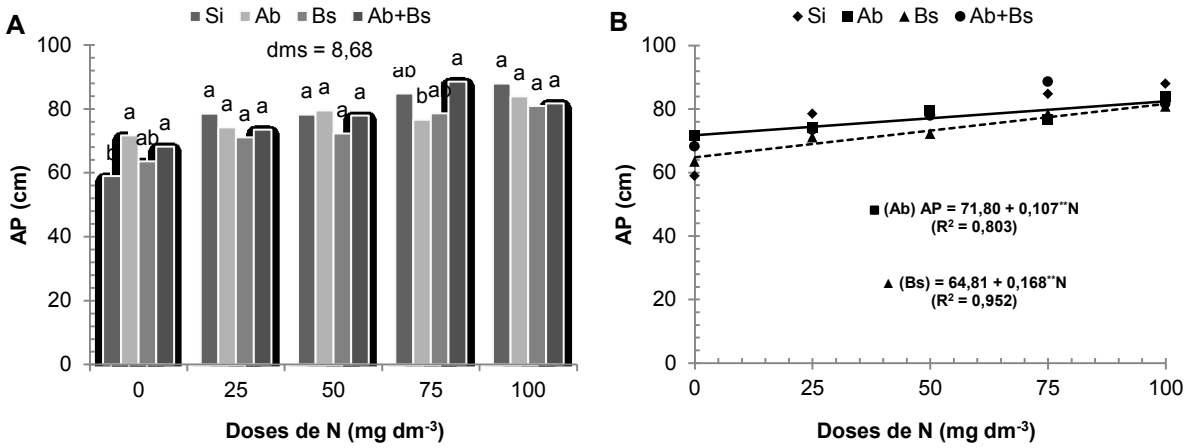
Ainda sobre esses resultados obtidos, verifica-se que com a aplicação de 26,6 mg dm^{-3} de N (53,2 kg ha^{-1} de N) a mais, a AP foi aumentada em 7,7 cm (9,6%), sugerindo um melhor estudo da relação custo benefício no uso destas combinações, mesmo sabendo que cada cm a mais na AP, vai refletir diretamente na quantidade de biomassa da forrageira no campo.

Seguindo o raciocínio anterior (no segundo ciclo), aplicando 73,4 mg dm^{-3} ao modelo linear (*B. subtilis*), a AP alcançaria 80,5 cm, crescimento igual ao obtido no modelo quadrático *(A. brasilense* + *B. subtilis*) (Figura 9B). Tal fato demonstra novamente, o potencial da inoculação com *B. subtilis*, tanto na forma isolada como na forma combinada, no crescimento do capim Marandu, quando associada à adubação nitrogenada.

No quarto ciclo de cultivo, com o desdobramento da interação da inoculação dentro das doses de N (Figura 10A), verificou-se comportamento muito semelhante

na AP em relação aos resultados obtidos nos dois ciclos anteriores, com algumas variações. Com isso, nas ausências de N e de inoculação, os tratamentos inoculados com *A. brasilense* e coinoculado proporcionaram acréscimos respectivos (P<0,05) de 12,3 (21,7%) e 9,3 cm (15,8%) na AP da forrageira. Entre os tratamentos inoculados, não houve desempenhos diferentes (P>0,05) entre si, para o crescimento da gramínea.

Figura 10. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para a altura da planta (AP) do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao quarto corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018



Médias seguidas de mesma letra dentro de cada tratamento não diferem estatisticamente a 0,05 de probabilidade pelo teste de Tukey; dms = diferença mínima significativa.
Fonte: Elaborado pelo autor.

Com o suprimento de N até a dose de 100 mg dm^{-3} de N, os efeitos das inoculações no crescimento da AP deixaram de existir (P>0,05) em relação ao tratamento não inoculado, obtendo-se alturas médias de 74,3, 76,9 e 83,6 cm, quando associadas às adubações de 25, 50 e 100 mg dm^{-3} de N, respectivamente (Figura 10A). Entre os tratamentos inoculados, no nível de 75 mg dm^{-3}, a co-inoculação proporcionou (P<0,05) incrementos de 11,9 cm (15,6%) na AP sobre o tratamento inoculado com *A. brasilense*, não se verificando mais significâncias (P>0,05) entre os demais tratamentos.

A ausência de incrementos na AP com os tratamentos inoculados associados à adubação nitrogenada sugere que estas práticas são competitivas e não aditivas entre si e podem estar relacionadas à maior disponibilidade de N mineral no solo fornecido pela adubação com ureia, uma vez que a presença de amônio em quantidade elevada no solo inativa à atividade da enzima nitrogenase, que é a responsável pela redução do N_2 atmosférico à forma assimilável pela planta.

Carvalho *et al*. (2014), avaliando a interação entre bactérias endofíticas associativas, verificaram que a eficiência da fixação de N pelas bactérias é rapidamente inibida na presença de alta concentração de N no solo e mostram evidências de que o teor de N no solo pode também regular a colonização bacteriana na rizosfera. Oliver e Silva (2018) relatam que a associação de inoculante com doses de N elevadas, causa reduções na matéria seca da cana-de-açúcar, no acúmulo de N e na eficiência do fertilizante nitrogenado, e concluem que o excesso de N deve ter prejudicado a multiplicação das bactérias testadas junto à planta.

Por intermédio do desdobramento da interação das doses de N em cada nível de inoculação (Figura 10B), observou-se que a AP do capim Marandu não foi beneficiada ($P>0,05$) na ausência de inoculação e quando inoculada na forma combinada (coinoculada), obteve alturas médias respectivas de 77,6 e 77,9 cm. Entretanto, quando foram inoculadas com *A. brasilense* e *B. subtilis*, houve ajustes ($P<0,01$) de equações lineares positivas, atingindo alturas teóricas de 82,5 e 81,6 cm com adubação de 100 mg dm^{-3} de N, respectivamente, proporcionando incrementos de 10,7 (14,9%) e 16,8 cm (25,9%) em comparação aos menores valores obtidos sem o uso dessas combinações. Em relação ao tratamento não inoculado, os incrementos na AP foram de 4,9 (6,3%) e 4,0 cm (5,2%), nessa ordem.

No geral, na ausência de N, as inoculações contribuíram ($P<0,05$) para o crescimento do capim Marandu. Com as adubações de 50 a 100 mg dm^{-3} esses efeitos foram praticamente anulados ($P>0,05$), com exceção no primeiro ciclo, onde com o nível máximo de N, a inoculação com *B. subtilis* teve resposta diferente ($P<0,05$) em relação a ausência de inoculação (Figura 10B).

Em síntese e ao longo dos quatro ciclos de cultivo, os tratamentos inoculados com *B. subtilis*, *A. brasilense* e coinoculado, proporcionaram incrementos médios na AP de 11,6 (16.0%), 4,9 (6,3%) e 7,4 cm (10,4%) respectivamente, em relação à

testemunha absoluta, sendo que a maior AP (84,3 cm) foi alcançada com a inoculação de *B. subtilis* (Figura 10B). Contudo, os índices respectivos de 0,84, 0,98 e 0,83 cm mg dm^{-3} de N, indicam que a coinoculação foi mais eficiente em 16,7 e 18,0% no crescimento das plantas, quando comparado aos índices obtidos com *B. subtilis* e *A. brasilense*, nessa ordem.

Avaliando o efeito da inoculação de *A. brasilense* e *B. subtilis* no crescimento e na produção de milho safrinha, Mazzuchelli, Sossai e Araújo (2014) observaram maior desenvolvimento das plantas com a coinoculação de *A. brasilense* e *B. subtilis*, caracterizando essas bactérias como promotoras do crescimento de plantas, e esses efeitos positivos podem estar relacionados com a produção de fitorreguladores vegetais por essas bactérias na rizosfera das plantas.

Apesar de não ser significativa, e muito menos uma regra, houve uma tendência da inoculação isolada com *A. brasilense* apresentar melhor desempenho na AP, quando associada à adubação até 50 mg dm^{-3} de N, a partir daí, o melhor desempenho foi obtido com a inoculação isolada de *B. subtilis* (Figura 10B).

4.2. Número de Perfilhos

O resumo da análise de variância e as médias para o número de perfilhos (NP) do capim Marandu, após quatro ciclos de cultivos (cortes), estão apresentados na Tabela 9. Os dados revelam significância (P<0,01) na ausência e presença da inoculação com estirpes de *A. brasilense* e *B. subtilis*, tanto de forma isolada como na forma combinada (coinoculada) apenas no primeiro ciclo de cultivo da gramínea. Foram observados efeitos benéficos (P<0,01) com as doses isoladas de nitrogênio em todos os ciclos de cultivos. Houve interação (P<0,01) dos fatores inoculação *versus* doses de N a partir do segundo ciclo de cultivo.

No primeiro ciclo de cultivo do capim Marandu, os tratamentos inoculados não contribuíram (P>0,05) para o aumento do número de perfilhos quando comparados ao tratamento não inoculado (Figura 11). O NP obtido com a inoculação de *A. brasilense* e a coinoculação foram inferiores (P<0,05) em 7,3 e 9,1%, respectivamente, ao NP obtido sem inoculação (22,0 perfilhos $vaso^{-1}$). Por sua vez, o

tratamento inoculado com *B. subtilis* apresentou comportamento semelhante (P>0,05) ao obtido na ausência de inoculação (20,8 perfilhos vaso^{-1}) e indiferente aos inoculados com *A. brasilense* e coinoculada.

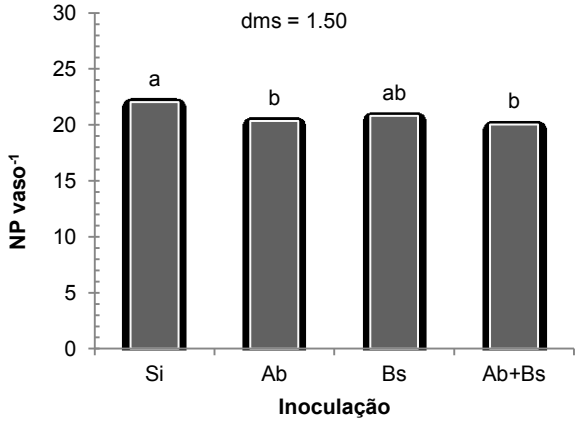
Tabela 9. Resumo da análise de variância e médias do número de perfilhos (NP) de *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da inoculação ou não com *Azospirillum brasilense* e *Bacillus subtilis*, de forma isolada e combinada, associadas ou não a doses de nitrogênio (N) em cada ciclo de corte constituído por 40 dias de cultivo. Ji-Paraná-RO, 2018

F.V	G.L	NP			
		Corte 1	Corte 2	Corte 3	Corte 4
		Quadrados Médios			
Tratamentos	19	128,85**	748,64**	1781,23**	2561,96**
Inoculação (I)	3	19,24**	24,51^{ns}	91,80^{ns}	76,83^{ns}
Doses de N (D)	4	579,04**	3429,16**	7509,94**	11222,65**
I x D	12	6,20^{ns}	36,17**	294,01**	296,34**
Erro	80	4,07	10,90	43,37	83,34
C.V. (%)		9,69	8,41	13,19	14,49
Média Geral		20,81	39,24	49,93	63,00
Inoculação		Médias ---------- n° ----------			
Sem Inoculação		22,04 a	39,08 a	48,88 a	61,12 a
Azospirillum brasilense		20,36 b	40,56 a	47,80 a	62,16 a
Bacillus subtilis		20,80 ab	38,16 a	51,92 a	65,16 a
A. brasilense + B. subtilis		20,04 b	39,16 a	51,12 a	63,56 a
D.M.S		1,50	2,45	4,89	6,78

C.V = coeficiente de variação; D.M.S = diferença mínima significativa; ** 1% e * 5% significativos ao teste de F; ^{ns} = não significativo ao teste de F; médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente a 0,05 de probabilidade pelo teste de Tukey.
Fonte: Elaborado pelo autor.

O maior perfilhamento encontrado no tratamento sem inoculação (Figura 11) sugere ações competitivas e não aditivas na rizosfera entre as bactérias elites e as bactérias nativas, e provavelmente, efeito diluição, uma vez que neste ciclo de cultivo, a testemunha apresentava menor porte (AP) em relação aos tratamentos inoculados, ou seja, 5,8, 14,0 e 12,2 cm inferiores aos tratamentos inoculados com *A. brasilense*, *B.subtilis* e coinoculado, respectivamene, conforme foi discutido no ítem anterior (Figura 7A), que sugere que a planta investiu mais energia para o crescimento do que para aumentos na densidade de perflhos.

Figura 11. Número de perfilhos (NP) do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), referente ao primeiro corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018



Médias seguidas de mesma letra sobre as colunas não diferem estatisticamente a 0,05 de probabilidade pelo teste de Tukey; dms = diferença mínima significativa.
Fonte: Elaborado pelo autor.

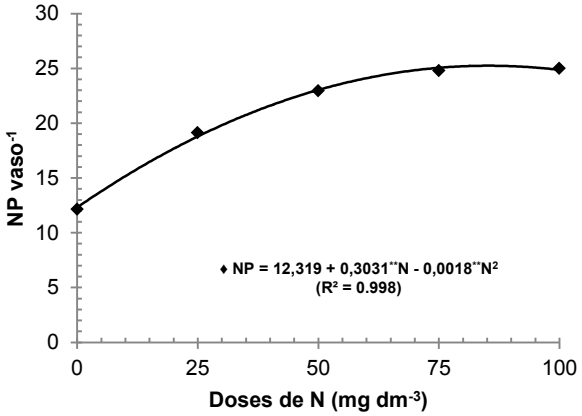
Os resultados obtidos neste estudo, reforçam os apresentados por Costa *et al*. (2014), que avaliando o desenvolvimento de forrageiras do gênero *Brachiaria* e *Panicum* sob efeito da inoculação com bactérias do gênero *Azospirillum*, verificaram que a emissão de perfilhos pelas gramíneas forrageiras estudadas, não foram beneficiadas pela inoculação com as bactérias diazotróficas, em relação à testemunha (sem inoculação e sem adubação nitrogenada) e concluíram que os capins Marandu, Massai e Quicuio, tiveram o perfilhamento reduzido quando foram inoculados.

Houve efeitos (P<0,01) da adubação nitrogenada para o NP cujos dados se ajustaram ao modelo polinomial quadrático (Figura 12), o que possibilitou obter 25,1 perfilhos vaso^{-1} com a aplicação de 84,2 mg dm^{-3} de N, e produção de 12,8 perfilhos vaso^{-1} (104,1%) a mais, em relação ao que seria obtido na ausência de N. Com adubação acima de 84,2 mg dm^{-3} de N, o perfilhamento da gramínea é reduzido, comprometendo a produção de biomassa do capim Marandu.

Avaliando as características morfogênicas e estruturais em plantas de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu submetidas a doses de N, Alexandrino *et al*. (2004) encontraram diferenças positivas no perfilhamento quanto ao suprimento de N. De

acordo com os autores, as plantas que não receberam suprimento de N praticamente não perfilharam ao longo dos dias de cultivo.

Figura 12. Número de perfilhos (NP) do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função das doses de N, referente ao primeiro ciclo de cultivo da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018



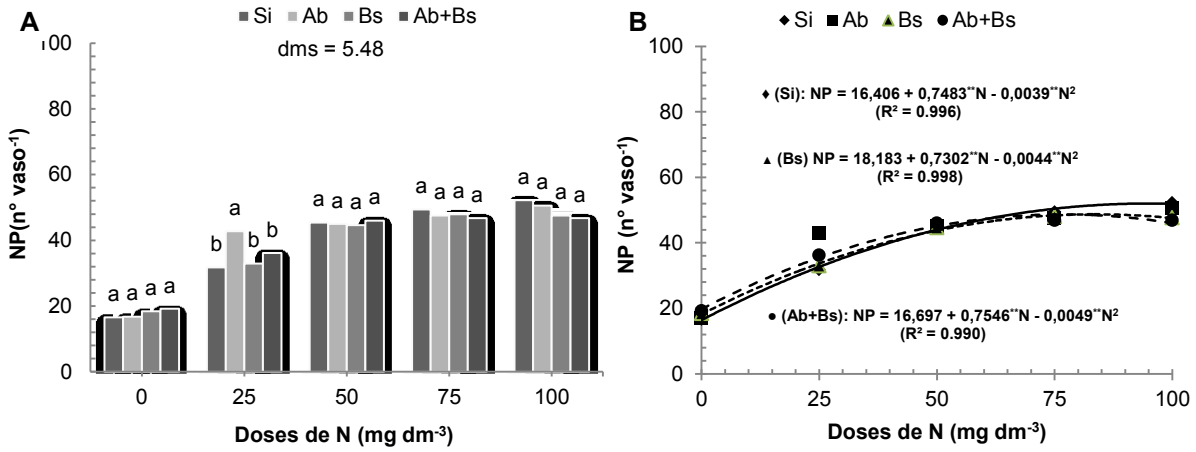
Fonte: Elaborado pelo autor.

O nitrogênio é constituinte da estrutura das proteínas, atua diretamente no processo de fotossíntese, sendo indispensável para a nutrição das plantas e crescimento vegetativo da gramínea; logo, a disponibilidade de N no solo interfere no perfilhamento das plantas forrageiras. Vários autores comprovaram os efeitos positivos de diferentes doses de N no perfilhamento do capim Marandu e outras gramíneas, e consideram a densidade populacional de perfilhos como um dos principais componentes que definem a produção de biomassa das gramíneas (MOREIRA *et al*., 2009; ALEXANDRINO; VAZ; SANTOS, 2010; GERMANO, *et al*, 2018).

Nos demais ciclos de cultivos do capim Marandu, os desdobramentos da interação inoculação dentro das doses de N, identificaram efeitos ($P<0,05$) no NP com os tratamentos inoculados na ausência de N no terceiro (Figura 14B) e quarto ciclo (Figura 15A), no segundo ciclo quando associado à dose de 25 mg dm^{-3} de N (Figura 13A), no terceiro com 50 mg dm^{-3} de N, com 75 mg dm^{-3} de N não contribuíram para acréscimos no NP ao longo de todo o período experimental, e com 100 mg dm^{-3} de N, reduziram o NP no terceiro ciclo e aumentaram o NP no quarto ciclo, como veremos na sequência.

No segundo ciclo, observou-se que nas ausências de inoculação e adubação nitrogenada, os tratamentos inoculados não contribuíram (P>0,05) para aumentar o perfilhamento do capim Marandu, obtendo-se média de 17,8 perfilhos vaso^{-1} entre os tratamentos (Figura 13A).

Figura 13. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para o número de perfilhos (NP) do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao segundo corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018



Médias seguidas de mesma letra dentro de cada tratamento não diferem estatisticamente a 0,05 de probabilidade pelo teste de Tukey; dms = diferença mínima significativa.
Fonte: Elaborado pelo autor.

Os resultados obtidos estão de acordo aos alcançados por Gazola *et al*. (2015), porém em conduções metodológicas diferentes. Os autores não observaram aumentos do perfilhamento em touceiras do capim *B. decumbens* em relação à testemunha, 21 e 42 dias após a aplicação de diferentes doses de um inoculante contendo isolados de *A. brasilense*. Ambos os resultados, vão de encontro aos observados por Oliveira, Oliveira e Júnior Barioni (2007), que avaliando a produção de forragem do capim Marandu com *Azospirillum brasilense* e fertilizada com nitrogênio, identificaram no tratamento inoculado desempenho superior quando comparado à testemunha absoluta (sem inoculação e sem adubação com N), que proporcionou acréscimos no perfilhamento, sem a necessidade de recorrer à adubação nitrogenada.

Com o suprimento de 25 mg dm^{-3} de N, foram constatados (P<0,05) incrementos no perfilhamento apenas com a inoculação isolada de *A. brasilense*, atingindo incrementos de 11,0 perfilhos $vaso^{-1}$ (34,6%) em comparação ao tratamento não inoculado, de 9,8 (29,7%) e 6,6 (18,2%) perfilhos $vaso^{-1}$ em relação aos tratamentos inoculados com *B. subtilis* e coinoculado com as estirpes de *A. brasilense* e *B. subtilis*, respectivamente (Figura 13A). Nas demais doses de N, não foram observadas influências (P>0,05) das inoculações no perfilhamento do capim Marandu, obtendo médias respectivas de 45,3, 47,9 e 49,3 perfilhos $vaso^{-1}$ com as doses de 50, 75 e 100 mg dm^{-3} de N.

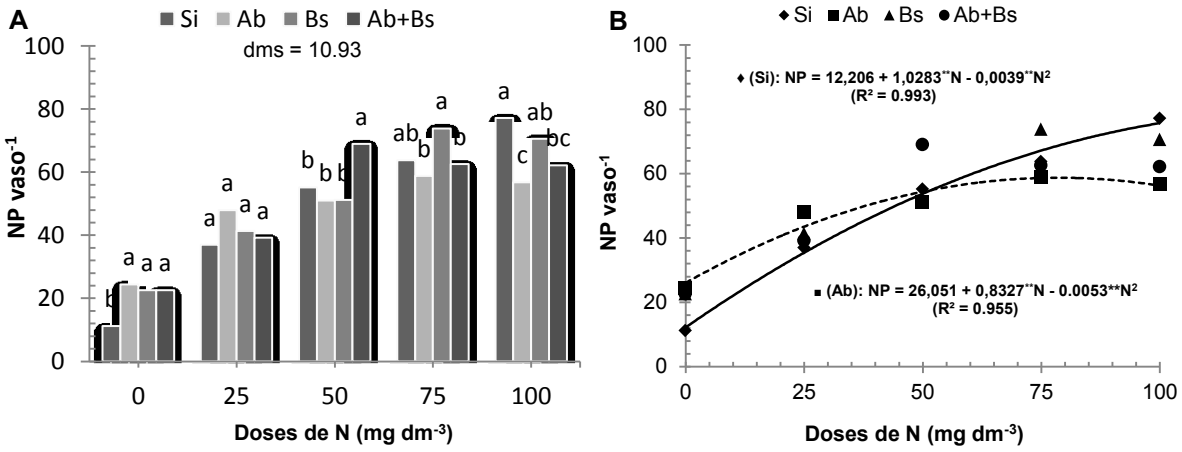
O desdobramento da interação doses de N em cada nível de inoculação (Figura 13B) não possibilitou ajustes (P>0,05) de equações de regressão para o NP quando associada à inoculação com *A. brasilense* nos diferentes níveis de N, obtendo em média, 40,6 perfilhos $vaso^{-1}$. Contudo, promoveu ajustes (P<0,01) de modelos quadráticos para os tratamentos não inoculado, inoculado com *B. subtilis* e coinoculado. Desse modo, e nessa sequência, as equações ajustadas permitiram estimar números máximos de 52,3, 48,5 e 45,7 perfilhos $vaso^{-1}$, com adubações respectivas de 95,9, 83,0 e 77,0 mg dm^{-3} de N, que possibilitaram acréscimos, nessa mesma sequência, de 35,9 (218,8%), 30,3 (166,7%) e 29,0 (173,7%) perfilhos $vaso^{-1}$, em relação a não aplicação desses tratamentos.

Analisando melhor esses resultados, observou-se que com a inoculação de *B. subtilis* e a coinoculação, houve redução de 3,8 (-7,3%) e 6,6 (-12,6%) perfilhos $vaso^{-1}$, em relação à ausência de inoculação, no entanto, com economia de 12,9 (7,8%) e 18,9 (14,4%) mg dm^{-3} de N (25,8 e 37,8 kg ha^{-1} de N). Em relação aos inoculados, a inoculação com *B. subtilis* proporcionou acréscimos de 2,8 perfilhos $vaso^{-1}$ (6,1%) sobre a inoculação combinada, mas com 6,0 mg dm^{-3} a mais (12 kg ha^{-1}) (Figura 13B). Em síntese, na prática, para cada perfilho formado na planta, seriam necessários 1,83, 1,71 e 1,68 mg dm^{-3} de N com os tratamentos sem inoculação, inoculado com *B. subtilis* e coinoculado, respectivamente, evidenciando o potencial das inoculações no perfilhamento do capim Marandu, principalmente quando realizado de forma combinada e associada à adubação nitrogenada.

No terceiro ciclo, o desdobramento da interação do fator inoculação em cada nível de N (Figura 14A), influenciou (P<0,05) o perfilhamento do capim Marandu com

as inoculações, tanto na forma isolada como combinada, em relação à testemunha absoluta (ausências de inoculação e adubação nitrogenada). Os incrementos no NP foram de 13,2 perfilhos vaso^{-1} (117,9%) com a inoculação de *A. brasilense* e 11,4 perfilhos vaso^{-1} (101,8%) com a inoculação de *B. subtilis* e coinoculação, o que evidencia os efeitos benéficos das bactérias promotoras do crescimento de plantas no perfilhamento da gramínea. Entre os tratamentos inoculados, não houve respostas (P>0,05) no NP, obtendo média entre si, de 23,2 perfilhos vaso^{-1}.

Figura 14. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para o número de perfilhos (NP) do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao terceiro corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018



Médias seguidas de mesma letra dentro de cada tratamento não diferem estatisticamente a 0,05 de probabilidade pelo teste de Tukey; dms = diferença mínima significativa.
Fonte: Elaborado pelo autor.

Esses resultados confirmam os obtidos por Leite *et al*. (2018), que avaliaram a inoculação do capim Marandu com *A. brasilense* associada à adubação nitrogenada, e verificaram a contribuição da inoculação para a maior altura de planta, número de perfilhos e produção de massa seca, em relação a plantas não inoculadas, independentemente das doses de N utilizadas.

De acordo com Pedreira *et al*. (2017), o aumento do perfilhamento das gramíneas inoculadas com *A. brasilense* está relacionado à produção e liberação de fitormônios como auxinas, às plantas, que induz o crescimento de raízes e colmos e

estimula a diferenciação nos tecidos meristemáticos. O maior desenvolvimento das raízes possibilita melhor absorção de água e nutrientes e tolerância a estresses ambientais (FUKAMI *et al*., 2018), o que proporciona maior produção de perfilhos e aumentos na biomassa das gramíneas.

Com adubação de 25 mg dm^{-3} de N, as inoculações não contribuíram (P>0,05) com incrementos no perfilhamento, cuja média entre os tratamentos foi de 41,4 perfilhos $vaso^{-1}$ (Figura 14A). Apesar da ausência de efeitos, foi observado entre todos os níveis, um melhor desempenho na emissão de perfilhos com a inoculação de *A. brasilense*, obtendo acréscimos indiferentes de 10,5 perfilhos $vaso^{-1}$ em relação ao tratamento não inoculado. Contudo, na prática, considerando a média de quatro folhas $perfilho^{-1}$, seriam obtidas 42 folhas a mais $vaso^{-1}$, o que implica diretamente na produção de biomassa da forrageira, ou seja, a disponibilidade de forragem e a produção de massa seca na pastagem estão diretamente relacionadas com a densidade populacional de perfilhos.

A coinoculação com as estirpes de *A. brasilense* e *B subtilis* associada à adubação de 50 mg dm^{-3} de N, contribuiu (P<0,05) para o aumento do número de perfilhos em comparação a ausência de inoculação e aos tratamentos inoculados com *A. brasilense* e *B. subtilis*, onde os incrementos obtidos foram de 13,8 (25,0%), 18,0 (35,3%) e 17,8 (34,8%) perfilhos $vaso^{-1}$, respectivamente (Figura 14A). Não foram evidenciados efeitos (P>0,05) no NP com as inoculações de *A. brasilense* e *B. subtilis*, em relação ao não inoculado.

Na adubação com 75 mg dm^{-3} de N, o destaque ficou para a inoculação com *B. subtilis* que apresentou melhor desempenho (P<0,05) em relação à inoculação com *A. brasilense* (25,5%) e coinoculação (17,9%), porém não diferindo (P>0,05) do tratamento sem inoculação.

Com o aumento das doses de N, a partir de 75 mg dm^{-3}, os efeitos da inoculação e coinoculação sobre o perfilhamento do capim Marandu foram reduzidos e até mesmo cessados, como observado na adubação com 100 mg dm^{-3} de N. Nesse nível de adubação, a inoculação com *A. brasilense* e a coinoculação, atuaram negativamente (P<0,05) em relação ao tratamento não inoculado, com redução 20,4 (-26,4%) e 15,0 (-19,4%) perfilhos $vaso^{-1}$ (-19,4%), respectivamente. Com a inoculação de *B. subtilis* foram obtidos 70,6 perfilhos $vaso^{-1}$, 8,5% a menos em

relação ao não inoculado, no entanto, com perfilhamento semelhante (P>0,05), entre si (Figura 14A).

Com o desdobramento das doses de N dentro dos níveis de inoculação (Figura 14B), os tratamentos inoculados com *B. subtilis* e coinoculado não contribuíram (P>0,05) para o aumento do número de perfilhos, obtendo valores médios respectivos de 65,2 e 63,6 perfilhos vaso^{-1}. De outra forma, houve ajustes (P<0,01) de funções polinomiais quadráticas para os tratamentos não inoculado e inoculado com *A. brasilense*, obtendo o máximo de 80,0 e 58,8 perfilhos vaso^{-1}, com adubações respectivas de 131,8 e 78,6 mg dm^{-3} de N, portanto, propiciando incrementos em relação aos menores valores obtidos de NP nas equações, de 67,8 perfilhos vaso^{-1} quando apenas adubado com N e 32,7 perfilhos vaso^{-1} quando fertilizado e associado à inoculação com *A. brasilense*.

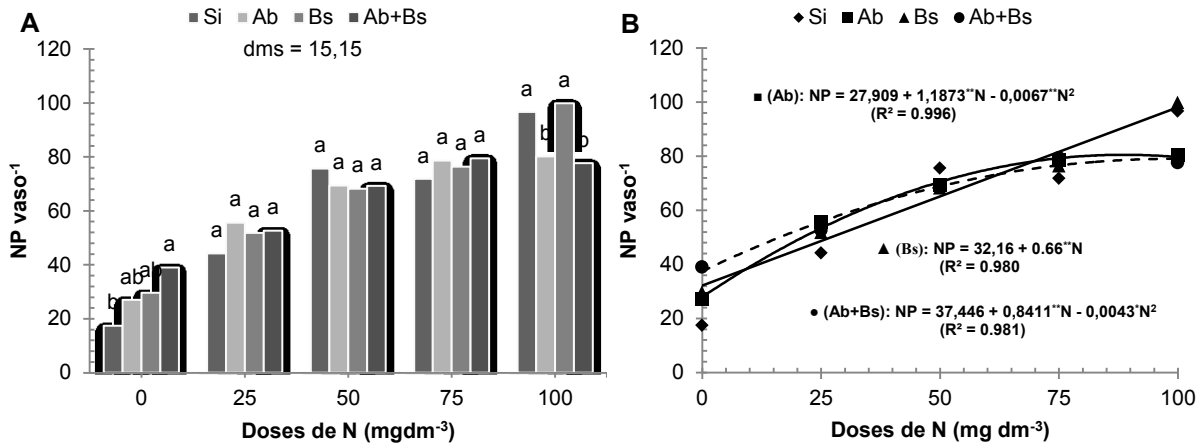
Contextualizando, foi observado que o máximo NP (80,0 perfilhos vaso^{-1}) associado à ausência de inoculação, foi alcançado com a adubação de 131,8 mg dm^{-3} de N, dose superior ao limite proposto neste estudo (Figura 14B). Nesse sentido, considerando o mesmo nível de adubação estimado para o máximo NP, associado à inoculação com *A. brasilense* (78,6 mg dm^{-3} de N), e inserindo esse valor na equação ajustada com a ausência de inoculação, seriam obtidos 68,9 perfilhos vaso^{-1}, ou seja, 10,1 perfilhos vaso^{-1} a mais, em relação ao inoculado. Sob outra perspectiva, esses resultados indicam que neste ciclo de cultivo do capim Marandu, houve uma redução de 14,7% do NP em decorrência da inoculação na gramínea.

No quarto ciclo de cultivo, o desdobramento da interação do fator inoculação em cada nível de N (Figura 15A), proporcionou efeitos positivos (P<0,05), indiferentes (P>0,05) e negativos (P<0,05) no NP do capim Marandu. Na ausência de N, as inoculações isoladas de *A. brasilense* e *B. subtilis* não contribuíram (P>0,05) para o incremento de perfilhos nem em relação à ausência de inoculação e nem entre si. No entanto, quando foi realizada na forma combinada, houve (P<0,05) incrementos de 21,6 perfilhos vaso^{-1} (124,1%) em relação à testemunha.

Com suprimentos de 25, 50 e 75 mg dm^{-3} de N, não foram identificados acréscimos (P>0,05) no NP, por meio das inoculações, tanto nas formas isoladas

como na forma combinada, em relação à ausência de inoculação, obtendo médias respectivas 51,1, 70,6 e 76,6 perfilhos vaso^{-1} (Figura 15A).

Figura 15. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para o número de perfilhos (NP) do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao quarto corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018



Médias seguidas de mesma letra dentro de cada tratamento não diferem estatisticamente a 0,05 de probabilidade pelo teste de Tukey; dms = diferença mínima significativa.
Fonte: Elaborado pelo autor.

Com a adubação elevada ao nível de 100 mg dm^{-3} de N, observou-se que a inoculação com *B. subtilis* teve respostas semelhante (P>0,05) ao não inoculado; e estes,foram superiores (P<0,05) aos inoculado com *A. brasilense* e coinoculado, com incrementos no NP de 19,6 (24,4%) e 22,2 perfilhos vaso^{-1} (28,6%). No entanto, quando inoculado com *A. brasilense* e coinoculado, houve redução (P<0,05) de 16,4 (-17,0%) e 19,0 perfilhos vaso^{-1} (-19,7%).

Mediante o desdobramento da interação das doses de N em cada nível do fator inoculação (Figura 15B), não foi possível ajustes (P>0,05) de funções para o tratamento não inoculado, obtendo dessa forma, média, 61,1 perfilhos vaso^{-1}. Contudo, houve ajustes quadráticos (P<0,01) para o número de perfilhos, quando associadas à inoculação com *A. brasilense* e a coinoculação de *A. brasilense* e *B. subtilis*, e linear positivo (P<0,01) associada à inoculação isolada de *B. subtilis*.

Com os modelos quadráticos, foram estimados os NP máximos de 80,5 e 78,6 perfilhos vaso^{-1} com doses respectivas de 88,6 e 97,8 mg dm^{-3} de nitrogênio, nessa ordem, com *A. brasilense* e coinoculação, que proporcionaram incrementos de 52,6 e (188,4%) e 41,2 perfilhos vaso^{-1} (110,0%), comparados aos menores valores obtidos nas ausências dessas combinações (Figura 15B). Com o modelo linear, obteve-se 98,2 perfilhos vaso^{-1} com a adubação de 100 mg dm^{-3} de N, que permitiu incremento de 0,66 perfilho para cada mg dm^{-3} de N aplicado.

De outro modo, numa visão prática, supondo a adubação limitada à dose de 88,6 mg dm^{-3} e a insersão desse valor nas equações ajustadas, seriam obtidos 80,5, 90,6 e 78,2 perfilhos vaso^{-1}, com as combinações de N com *A. brasilense*, *B. subtilis* e coinoculação, respectivamente (Figura 15B). Assim sendo, a emissão de 1,0 perfilho na planta seria obtido com aplicações de 1,10, 0,98 e 1,13 mg dm^{-3} de N. Nesse sentido, a menor relação (N+*B. subtilis*) proporcionaria uma redução de 12,2 e 15,3% nos custos do fertilizante, comparado as combinações de *A. brasilense* e coinoculação.

De modo geral e de forma mais simplificada, ao longo de todos os ciclos de cultivo do capim marandu, o desdobramento da interação da inoculação dentro das doses de N, mostrou no terceiro ciclo efeitos das inoculações com *A. brasilense* e *B. subtilis*, tanto na forma convencional como na forma combinada, que propiciaram acréscimos respectivos de 13,2 (117,9%), 11,4 (101,2%) perfilhos vaso^{-1} (Figura 14A), em relação à testemunha, o mesmo acontecendo no quarto ciclo com a coinoculação, com incrementos de 21,6 (124,1%) perfilhos por vaso^{-1} (Figura 15A).

No segundo ciclo, com o suprimento de 25 mg dm^{-3} de N, a inoculação com *A. brasilense* proporcionou aumentos de 11,0 (34,6%), 9,8 (29,7%) e 6,6 (18,2%) perfilhos vaso^{-1} em relação ao tratamento não inoculado, inoculado com B. subtilis e coinoculado, respectivamente (Figura 13A). Nos demais ciclos não foram observados efeitos das inoculações em relação à testemunha e entre os tratamentos. No terceiro ciclo, a coinoculação associada à dose de 50 mg dm^{-3} de N, promoveu acréscimos de 13,8 (25,0%) perfilhos vaso^{-1} em relação ao tratamento sem inoculação e foi superior aos demais tratamentos inoculados.

Em todos os ciclos de cultivo do capim, quando associada à adubação de 75 mg dm^{-3} de N, as inoculações não contribuíram com incrementos no NP em relação

à ausência de inoculação e entre si, e quando associadas a 100 mg dm^{-3} de N, tiveram comportamento negativo no terceiro (Figura 14A) e quarto ciclo (15A). No terceiro, a inoculação com *A. brasilense* e a coinoculação reduziram em 20,4 (-26,4%) e 15,0 (-19,4%) perfilhos $vaso^{-1}$ em relação ao tratamento sem inoculação e no quarto ciclo, nessa mesma sequência, a redução foi de 16,4 (17,0%) e 19,0 (-19,7%) perfilhos $vaso^{-1}$. Nestes dois ciclos, a inoculação com *B. subtilis* teve comportamento semelhante ao tratamento sem inoculação.

Com o desdobramento da interação das doses de N dentro dos níveis de inoculação, verificou-se que o maior NP (98,2 perfilhos $vaso^{-1}$) foi alcançado com a dose de 100 mg dm^{-3} de N associada à inoculação com *B. subtilis* no quarto ciclo de cultivo do capim Marandu (Figura 15B). No segundo e terceiro ciclo, o tratamento sem inoculação apresentou melhor desempenho em relação aos tratamentos inoculados, porém, associados a doses maiores de N. Entre todos os tratamentos a melhor relação de formação de perfilhos foi obtida com o tratamento inoculado com *B. subtilis* (0,98 perfilhos para cada mg dm^{-3} de N aplicado).

Em síntese, ao longo de todos os ciclos de cultivos, o tratamento inoculado com *B. subtilis* teve melhor desempenho no perfilhamento do capim Marandu quando comparados aos tratamentos inoculados com *A. brasilense* e coinoculado.

4.3. Diâmetro Basal do Colmo

Na avaliação do diâmetro basal do colmo (DC) do capim Marandu, a análise de variância revelou significância entre os fatores envolvidos (Tabela 6). As inoculações com estirpes de *A. brasilense* e *B. subtilis* apresentaram diferenças ($P<0,01$) no DC apenas no segundo ciclo de cultivo, enquanto que a adubação nitrogenada proporcionou efeitos ($P<0,01$) nos quatro ciclos de cultivo. Houve influência da interação ($P<0,05$) inoculação *versus* doses de N ao longo de todos os períodos de cultivos.

No primeiro ciclo de cultivo da gramínea, com o desdobramento da interação inoculação dentro de cada dose de N (Figura 16A), não foram identificados acréscimos ($P>0,05$) no DC com as inoculações, em relação à testemunha

(ausências de inoculação e adubação nitrogenada). Apesar de não significativo, verificou-se que, a inoculação com *A. brasilense* teve um desempenho melhor de 3,7% e 8,7% sobre o tratamento não inoculado e o inoculado com *B. subtilis*, e superior (P<0,05) em relação ao coinoculado, com acréscimos de 0,18 mm (13,1%) no DC. Nesse mesmo seguimento, apesar de insignificantes, a inoculação de *B. subtilis* e a coinoculação, reduziram 0,10 (-4,6%) e 0,18 mm (-8,3%) o DC, em relação à ausência de inoculação.

Tabela 10. Resumo da análise de variância e médias do diâmetro do colmo (DC) da *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da inoculação ou não com *Azospirillum brasilense* e *Bacillus subtilis*, de forma isolada e combinada, associadas ou não a doses de nitrogênio (N), em cada ciclo de corte constituído por 40 dias de cultivo. Ji-Paraná-RO, 2018

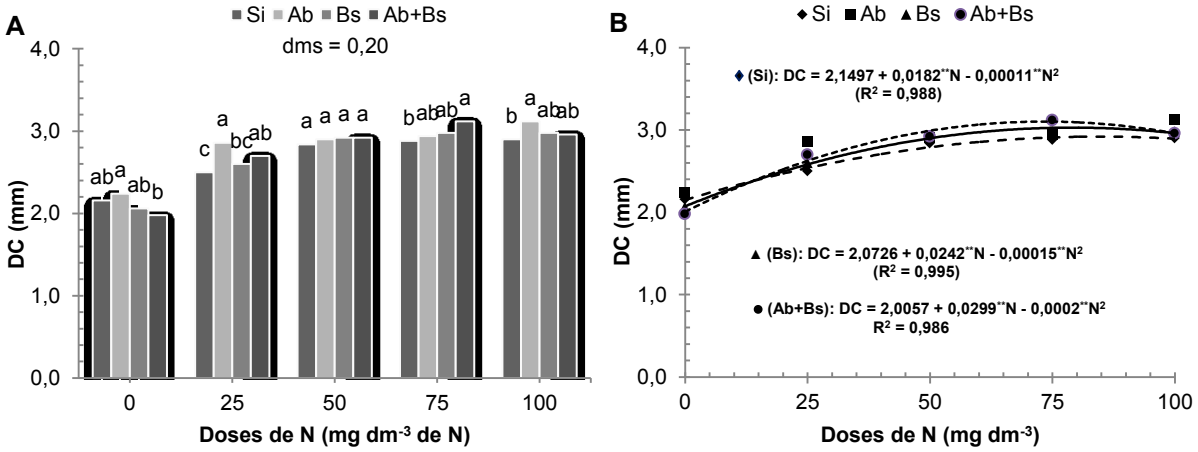
F.V	G.L	DC			
		Corte 1	Corte 2	Corte 3	Corte 4
		Quadrados Médios			
Tratamentos	19	0,62**	0,24**	0,46**	0,08**
Inoculação (I)	3	0,11^{ns}	0,10**	0,01^{ns}	0,01^{ns}
Doses de N (D)	4	2,73**	0,88**	1,75**	0,22**
I x D	12	0,04**	0,07**	0,14*	0,04*
Erro	80	0,01	0,02	0,06	0,02
C.V. (%)		4,31	5,24	8,14	4,65
Média Geral		2,73	2,98	3,03	3,14
Inoculação		Médias ---------- mm ----------			
Sem Inoculação		2,66 b	2,96 ab	3,04 a	3,15 a
Azospirillum brasilense		2,81 a	3,07 a	3,03 a	3,14 a
Bacillus subtilis		2,71 b	2,92 b	3,01 a	3,10 a
A. brasilense + B. subtilis		2,74 ab	2,96 ab	3,06 a	3,15 a
D.M.S		0,09	0,12	0,18	0,11

C.V = coeficiente de variação; D.M.S = diferença mínima significativa; ** 1% e * 5% significativos ao teste de F; ^{ns} = não significativo ao teste de F; médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente a 0,05 de probabilidade pelo teste de Tukey.
Fonte: Elaborado pelo autor.

Com adubação de 25 mg dm^{-3} de N, a inoculação com *A. brasilense* possibilitou incrementos (P<0,05) de 0,26 (10,0%) e 0,35 mm (14,4%) no DC, comparados, nessa ordem, aos diâmetros de colmo obtidos na ausência de N e com a inoculação de *B. subtilis* (Figura 16A). A coinoculação também se comportou de modo eficiente (P<0,05), aumentando em 0,20 mm (8,0%) o DC, em relação ao

diâmetro do tratamento não inoculado. Não foram observadas diferenças (P>0,05) no DC entre os tratamentos coinoculado e inoculado com *B. subtilis*, e deste último, em relação ao não inoculado.

Figura 16. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para o diâmetro basal do colmo (DC) do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao primeiro corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018



Médias seguidas de mesma letra dentro de cada tratamento não diferem estatisticamente a 0,05 de probabilidade pelo teste de Tukey; dms = diferença mínima significativa.
Fonte: Elaborado pelo autor.

Na adubação com 50 mg dm^{-3} de N, os tratamentos inoculados não contribuíram (P>0,05) para incrementos no DC da gramínea, nem em relação ao tratamento sem inoculação e nem entre os tratamentos inoculados, obtendo-se média de 2,90 mm no DC, independentemente dos níveis do fator inoculação (Figura 16A). Entretanto, com o aumento da adubação para 75 mg dm^{-3} de N, a coinoculação promoveu incrementos (P<0,05) de 0,24 mm (8,3%) no DC, em comparação ao diâmetro obtido sem inoculação e efeitos indiferentes (P>0,05) em relação aos DC obtidos com as inoculações isoladas de *A. brasilense* e *B. subtilis*.

A inoculação com *A. brasilense* associada à aplicação de 100 mg dm^{-3}, incrementou (P<0,05) o DC em 0,22 mm (7,6%) enquanto que, a inoculação com *B. subtilis* e a coinoculação, apresentaram valores semelhantes (P>0,05) aos obtidos com *A. brasilense* e sem a presença de inoculação (Figura 16A).

O desdobramento da interação das doses de N dentro de cada nível de inoculação (Figura 16B) possibilitou ajustes (P<0,01) de modelos quadráticos na determinação do DC do capim Marandu, exceto quando associada (P>0,05) à inoculação com *A. brasilense*, obtendo média de 2,81 mm, independentemente dos níveis de adubação nitrogenada.

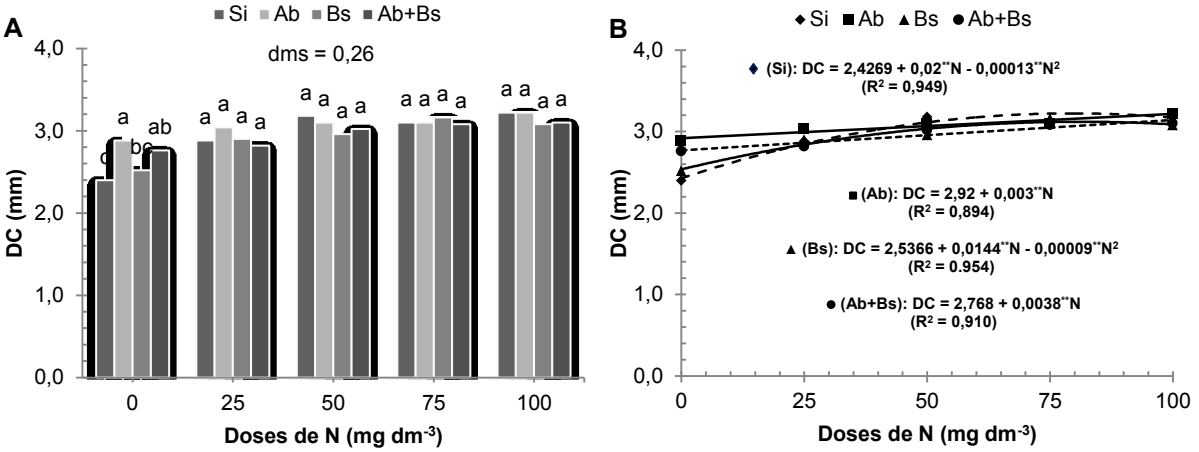
Com a função ajustada na ausência de inoculação, o maior diâmetro (2,90 mm) foi teoricamente alcançado com a aplicação de 82,7 mg dm^{-3} de N, correspondendo a um incremento de 0,76 mm (35,5%) em relação ao DC do capim Marandu cultivado sem adubação nitrogenada (Figura 16B).

Quando as adubações nitrogenadas foram associadas à inoculação com *B. subtilis* e a coinoculação, os DC máximos de 3,05 e 3,12 mm, foram obtidos com doses respectivas de 80,7 e 74,8 mg dm^{-3} de N, com incrementos de 0,98 mm (47,3%) e 1,06 mm (51,4%) nessa ordem, em relação aos diâmetros obtidos sem a aplicação dessas combinações (N+*B. subtilis* e N+coinoculação) (Figura 16B). Além disso, as inoculações com *B. subtilis* e a coinoculação, proporcionaram incrementos respectivos, de 0,15 (5,2%) e 0,22 mm (7,6%) mm no DC, com aplicação de doses menores (2,0 e 7,9 mg dm^{-3} de N), em comparação ao tratamento sem inoculação.

Posto isso, numa visão prática desses resultados, e considerando todos os demais fatores de produção adequados, para cada 1,0 mm no DC do capim Marandu, foram necessárias aplicações de 28,5, 26,5 e 24,0 mg dm^{-3} de N nos cultivos sem a presença de inoculação e associados à inoculação com *B. subtilis* e a coinoculação, respectivamente. Ou seja, foram obtidos o mesmo DC, com redução de 7,0% (com a associação N+*B. subtilis*) e 15,8% (com a associação N+coinoculação) na quantidade de N, comparados ao cultivo sem inoculação, refletindo assim, o potencial da coinoculação e da inoculação com *B. subtilis*, associadas à adubação nitrogenada, no desenvolvimento e produção do capim Marandu (Figura 16B).

No segundo ciclo, o desdobramento da interação inoculação em cada dose de N (Figura 17A), não influenciou (P>0,05) o DC, ao longo de todo o ciclo de cultivo da gramínea, com exceção na ausência de N, onde a inoculação de *A. brasilense* em comparação à testemunha (ausências de inoculação e de N) propiciou incremento (P<0,05) de 0,48 mm (20,0%) no diâmetro do colmo da gramínea.

Figura 17. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para o diâmetro basal do colmo (DC) do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao segundo corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018



Médias seguidas de mesma letra dentro de cada tratamento não diferem estatisticamente a 0,05 de probabilidade pelo teste de Tukey; dms = diferença mínima significativa.
Fonte: Elaborado pelo autor.

Em relação aos tratamentos inoculados, a inoculação com *A. brasilense* também foi superior (P<0,05), com acréscimos de 0,36 mm (14,3%) no DC, sobre o tratamento inoculado com *B. subtilis*, e comportamento inexpressivo (P>0,05) sobre o coinoculado, que por sua vez, foi indiferente ao *B. subtilis* (Figura 17A). Com a adubação nitrogenada, as inoculações de forma isolada e coinoculada, não proporcionaram incrementos (P>0,05) no DC em comparação à ausência de inoculação, obtendo-se médias de 2,91, 3,06, 3,11 e 3,16 mm, com adubações respectivas de 25, 50, 75 e 100 mg dm^{-3} de N, independentemente da inoculação.

O desdobramento da interação das doses de N dentro de cada nível de inoculação (Figura 17B) possibilitou ajustes lineares e positivos (P<0,01) no DC do capim Marandu com a inoculação de *A. brasilense* e coinoculação, e ajustes quadráticos (P<0,01) para o tratamento não inoculado e o inoculado com *B. subtilis*.

Com os modelos ajustados, na ausência de inoculação, o maior diâmetro (3,20 mm) foi obtido com adubação de 76,9 mg dm^{-3} de N, enquanto que, com a inoculação de *B. subtilis* o maior diâmetro (3,11 mm) foi alcançado com a aplicação de 80,0 mg dm^{-3} de N, que proporcionaram incrementos respectivos de 0,77 (31,9%)

e 0,57 mm (22,6%), comparados ao DC obtidos na ausência de nitrogênio (Figura 17B). Com a inoculação de *A. brasilense* e coinoculação, foram obtidos diâmetros de 3,22 e 3,15 mm após adubações de 100 mg dm^{-3} de N, respectivamente, que contribuíram, nessa mesma ordem, com acréscimos de 0,30 (10,3%) e 0,38 mm (13,7%) no DC, em relação aos menores valores obtidos na ausência dessas práticas.

Numa visão prática destes resultados, considerando-se os demais fatores constantes neste ciclo de cultivo do capim Marandu, cada mm acrescentado no DC, foi obtido com aplicações de 24,0; 25,7; 31,0 e 31,7 mg dm^{-3} de N, na ausência de inoculação e inoculação com *B. subtilis*, *A. brasilense* e coinoculação, respectivamente, proporcionando a "sequência de eficiência" Si>Bs>Ab>Ab+Bs (Figura 17B). Interpretando de outro modo, as inoculações, quando associadas à adubação nitrogenada, apresentaram incrementos menores no DC em relação à ausência de inoculação e com consumos maiores do fertilizante nitrogenado, o que evidencia efeitos competitivos entre os fatores envolvidos.

Com o desdobramento da interação da inoculação nas doses de N, no terceiro ciclo de cultivo do capim, o comportamento do DC em relação às inoculações, foi similar ao ciclo anterior, independentemente das doses de N (Figura 18A). Em relação à testemunha (ausências de inoculação e N), a coinoculação promoveu ($P<0,05$) acréscimos de 0,60 mm (26,1%) no DC do capim Marandu, não diferindo ($P>0,05$) das inoculações com *A. brasilense* e *B. subtilis*, que por sua vez, não produziram efeitos ($P>0,05$) sobre o não inoculado.

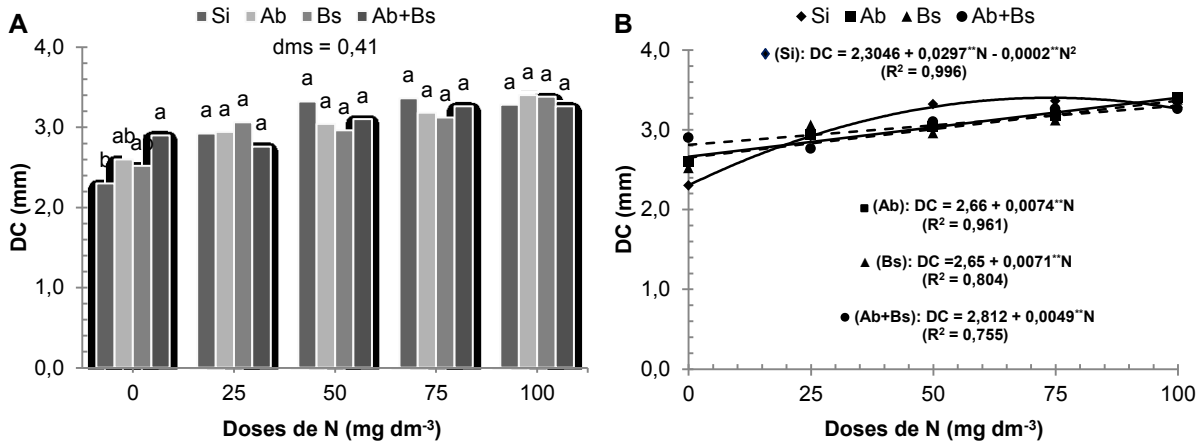
Nas demais aplicações de N, em relação à ausência de inoculação, não foram comprovados ($P>0,05$) ganhos no DC com as inoculações e a coinoculação, atingindo-se médias de 2,92; 3,20; 3,23 e 3,33 mm no diâmetro, com doses de 25, 50, 75 e 100 mg dm^{-3} de N (Figura 18A).

O desdobramento das doses de N nos níveis de inoculação na determinação do DC da gramínea (Figura 18B) possibilitou ajuste ao modelo quadrático ($P<0,01$) na ausência de inoculação e ajustes lineares crescentes ($P<0,01$) com as inoculações isolada e combinada.

Sem inoculação, o maior valor de DC (3,41 mm) foi obtido com a aplicação de 74,3 mg dm^{-3} de N, promovendo acréscimos de 1,11 mm (48,3%) em relação ao

menor valor obtido sem adubação nitrogenada (Figura 18B). Enquanto que, com adubação de 100 mg dm^{-3} de N, associada às inoculações com *A brasilense*, *B subtilis* e coinoculação, propiciaram valores de DC correspondentes a 3,40; 3,36 e 3,30 mm, respectivamente, que proporcionaram, nessa ordem, incrementos de 0,74 (27,8%), 0,71 (26,8%) e 0,49 mm (17,4%) em relação aos menores valores obtidos sem essas combinações.

Figura 18. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para o diâmetro basal do colmo (DC) do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao terceiro corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018



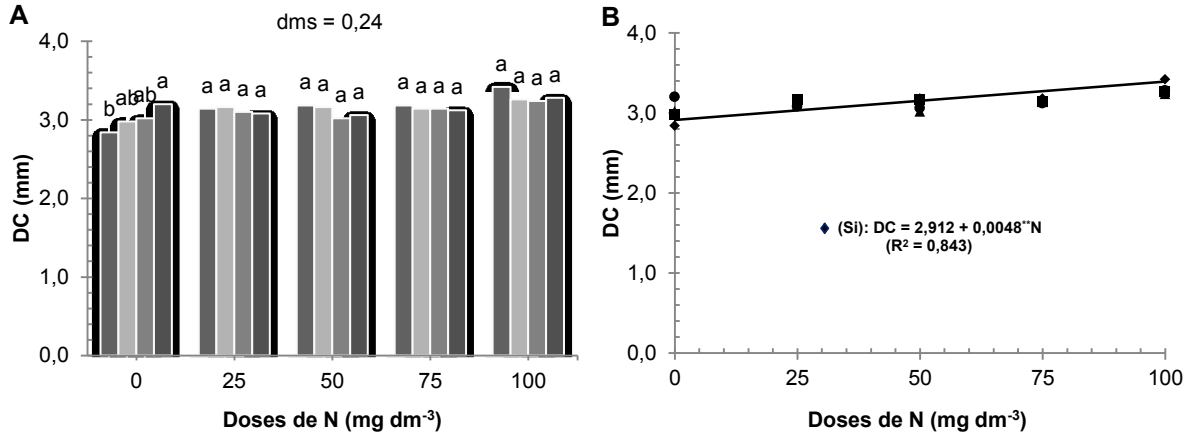
Médias seguidas de mesma letra dentro de cada tratamento não diferem estatisticamente a 0,05 de probabilidade pelo teste de Tukey; dms = diferença mínima significativa.
Fonte: Elaborado pelo autor

Seguindo na avaliação, esses resultados indicam que na combinação para formação de 1,0 mm no DC, com os tratamentos sem inoculação, inoculados com *A. brasilense*, *B. subtilis* e coinoculado, foram consumidos 21,8; 29,4; 29,8 e 30,3 mg dm^{-3} de N (Si<Ab<Bs<Ab+Bs), isto indica comportamentos diferenciados negativos de -25,9; -26,8 e -28,5% dos tratamentos inoculados, nessa ordem, em relação ao não inoculado, uma vez que responderam com menores valores de DC e com maiores consumos de N (Figura 18B).

No quarto ciclo de cultivo, o desdobramento da interação da inoculação dentro das doses de N revela valores de DC do capim Marandu maiores em relação

aos ciclos anteriores, entretanto, com o mesmo comportamento em relação ao segundo e ao terceiro ciclo de cultivo (Figura 19A).

Figura 19. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para o diâmetro basal do colmo (DC) do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao quarto corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018



Médias seguidas de mesma letra dentro de cada tratamento não diferem estatisticamente a 0,05 de probabilidade pelo teste de Tukey; dms = diferença mínima significativa.
Fonte: Elaborado pelo autor.

Na ausência de N, a coinoculação promoveu (P<0,05) acréscimos de 0,36 mm (12,7%) no DC em relação à testemunha, não diferindo (P>0,05) dos valores obtidos com as inoculações de *A. brasilense* e *B. subtilis*, e estes, por sua vez, foram indiferentes (P>0,05) em relação à testemunha. Com suprimentos de 25, 50, 75 e 100 mg dm^{-3} de N, não foram observados incrementos nos valores de DC entre os tratamentos não inoculados, inoculados com *A. brasi*lense, *B. subtilis* e coinoculado, obtendo-se médias respectivas de 3,12; 3,11; 3,15 e 3,30 mm, independentemente dos níveis do fator inoculação (Figura 19A).

Com o desdobramento da interação doses de N dentro de cada nível de N (Figura 19B), não houve ajustes (P>0,05) de equações de regressão para o DC do capim Marandu quando associada à inoculação com *A. brasilense*, *B. subtilis* e coinoculação, obtendo-se valores médios respectivos, de 3,14; 3,10 e 3,15 mm de DC, independentemente das doses de N. Contudo, houve ajuste (P<0,01) linear

crescente do DC na ausência de inoculação, obtendo-se 3,39 mm com a dose de 100 mg dm^{-3} de N, que permitiu incremento de 0,48 mm (16,5%) em relação ao menor valor obtido sem o uso da adubação nitrogenada.

De uma forma mais resumida, ao longo de todos os ciclos do capim Marandu, o desdobramento da interação da inoculação dentro das doses de N, demonstrou que o DC foi influenciado pela inoculação com *A. brasilense* e coinoculação no segundo ciclo, com incrementos respectivos de 0,48 (20%) e 0,36 mm (15,0%) em relação à testemunha (Figura 17A), enquanto que no terceiro (Figura 18A) e quarto ciclo (Figura 19A), a coinoculação promoveu acréscimos de 0,60 (26,1%) e 0,36 mm (12,7%), respectivamente. Entre os inoculados, a inoculação com *A. brasilense* aumentou o DC em 0,36 mm (14,3%) em relação ao tratamento inoculado com *B. subtilis.*

Com adubação de 25 mg dm^{-3} de N, os tratamentos inoculados com *A. brasilense* e coinoculado, propiciaram acréscimos respectivos de 0,36 (14,4%) e 0,20 mm (8,0%) em relação ao não inoculado no primeiro ciclo (Figura 16A), nos demais ciclos, não houve influência das inoculações. Entre os inoculados, o tratamento com *A. brasilense* foi superior ao tratamento com *B. subtilis*.

Quando associados à dose 50 mg dm^{-3} de N os tratamentos inoculados não contribuíram para aumentos no DC em relação ao tratamento sem inoculação, e nem entre si, ao longo de todo o período experimental. No primeiro ciclo, com suprimento de 75 mg dm^{-3} de N, o tratamento coinoculado aumentou em 0,24 mm (8,3%) o DC, e com 100 mg dm^{-3} de N o inoculado com *A. brasilense* contribuiu para acréscimos de 0,24 mm (8,3%) no DC do capim Marandu, ambos em relação ao tratamento sem inoculação (Figura 16A). Nos demais ciclos (Figuras 17A, 18A e 19A), não houve influência das inoculações entre os tratamentos.

Com o desdobramento da interação das doses de N dentro dos níveis de inoculação, em todos os ciclos de cultivo do capim marandu, o maior DC (3,41 mm) foi alcançado com a dose de 74,3 mg dm^{-3} de N sem a presença de inoculação. Entre os tratamentos inoculados o maior DC (3,40 mm) foi atingido com adubação de 100 mg dm^{-3} de N com *A. brasilense*, entretanto, o melhor rendimento no DC foi obtido com a coinoculação (0,042 mm para cada mg dm^{-3} de N).

4.4. Número de Folhas

A análise de variância referente ao número de folhas vaso^{-1} (NF) nos quatro ciclos de cultivo do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu apresenta-se na Tabela 11. Os dados revelam efeitos significativos (P<0,01) da inoculação e doses de N sobre o NF em todos os ciclos de cultivo, bem como da interação inoculação *versus* doses de N, exceção feita no primeiro ciclo, onde o NF não foi beneficiado (P>0,05) pela interação.

Tabela 11. Resumo da análise de variância e médias donúmero de folhas (NF) de *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da inoculação ou não com *Azospirillum brasilense* e *Bacillus subtilis*, de forma isolada e combinada, associadas ou não a doses de nitrogênio (N) em cada ciclo de corte constituído por 40 dias de cultivo. Ji-Paraná-RO, 2018

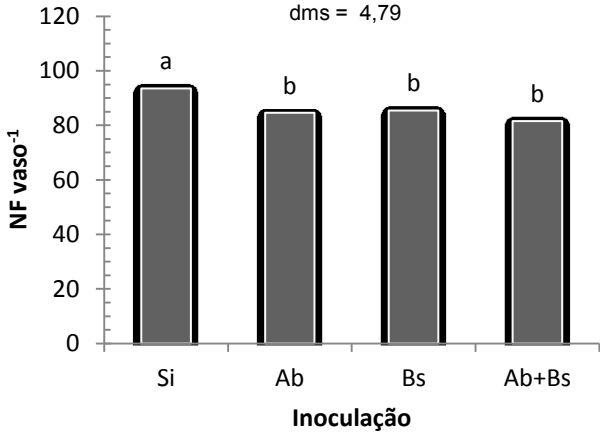
F.V	G.L	NF			
		Corte 1	Corte 2	Corte 3	Corte 4
		Quadrados Médios			
Tratamentos	19	3773,80**	8522,28**	26257,97**	54165,92
Inoculação (I)	3	645,05**	400,35**	4145,77**	3644,38^{ns}
Doses de N (D)	4	17223,79**	39063,27**	113630,59**	238557,07**
I x D	12	72,65^{ns}	372,44**	2661,81**	5332,59**
Erro	80	41,60	73,89	644,24	1693,57
C.V. (%)		7,48	7,49	14,24	15,72
Média Geral		86,27	114,72	178,21	261,77
Inoculação		**Médias** ---------- folhas vaso^{-1} ----------			
Sem Inoculação		93,48a	116,92 a	161,48 b	244,68 a
Azospirillum brasilense		84,56 b	109,44 b	174,76 ab	262,80 a
Bacillus subtilis		85,44b	118,56 a	187,28 a	267,04 a
A. brasilense + B. subtilis		81,60 b	113,96 ab	189,32 a	272,56 a
D.M.S		4,79	6,38	18,84	30,55

C.V = coeficiente de variação; D.M.S = diferença mínima significativa; ** 1% e * 5% significativos ao teste de F; ^{ns} = não significativo ao teste de F; médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.
Fonte: Elaborado pelo autor.

No primeiro ciclo de cultivo, as inoculações de forma isolada com *A. brasilense* e *B. subtilis* e a coinoculação com *A. brasilense* e *B. subtilis*, não contribuíram (P<0,05) para o aumento do número de folhas do capim Marandu. Na ausência de inoculação, a média atingida de 93,5 folhas vaso^{-1} foi superior em 8,9;

8,0 e 11,8 folhas em relação aos NF obtidos com a inoculação de *A. brasilense*, *B. subtilis* e coinoculação, nessa ordem (Figura 20). Em média, as inoculações reduziram em 10,2% o número de folhas do capim marandu, em relação à ausência de inoculação. Não houve distinções (P>0,05) do NF entre os tratamentos inoculados.

Figura 20. Número de folhas (NF) de *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e dainoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), referente ao primeiro corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018



Médias seguidas de mesma letra sobre as colunas não diferem estatisticamente a 0,05 de probabilidade pelo teste de Tukey; dms = diferença mínima significativa.
Fonte: Elaborado pelo autor.

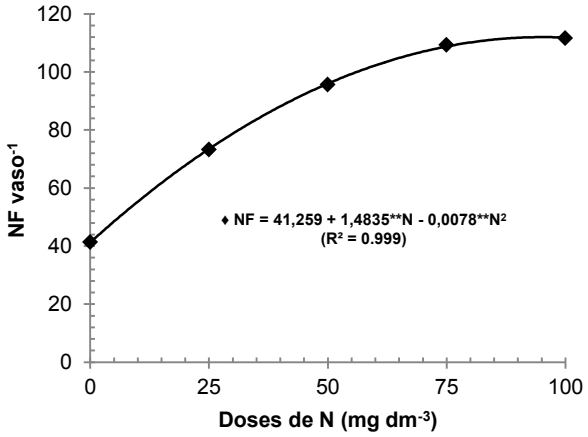
Estes resultados acompanham aos obtidos para o número de perfilhos neste estudo, reforça aos obtidos por Costa *et al*. (2014) e contrasta com os de Guimarães *et al.* (2011).

O maior NF encontrado no tratamento sem inoculação pode estar relacionado com a colonização de diferentes bactérias na rizosfera das plantas, que pode ter promovido ações competitivas e não aditivas entre às bactérias inoculadas e as bactérias nativas, o que influencia na disponibilidade e absorção de água e nutrientes para as plantas, reduz a emissão de perfilhos e, consequentemente, o NF no capim Marandu.

A adubação nitrogenada proporcionou ajuste (P<0,01) de função polinomial quadrática para o NF do capim Marandu (Figura 21), atingindo produção teórica de

111,8 folhas vaso^{-1} com a dose de 95,1 mg dm^{-3} de N, que possibilitou incrementos de 70,5 folhas vaso^{-1}, em relação ao que seria produzido sem a aplicação da adubação nitrogenada.

Figura 21. Número de folhas (NF) do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função das doses de N, referente ao primeiro ciclo de cultivo da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018



Fonte: Elaborado pelo autor.

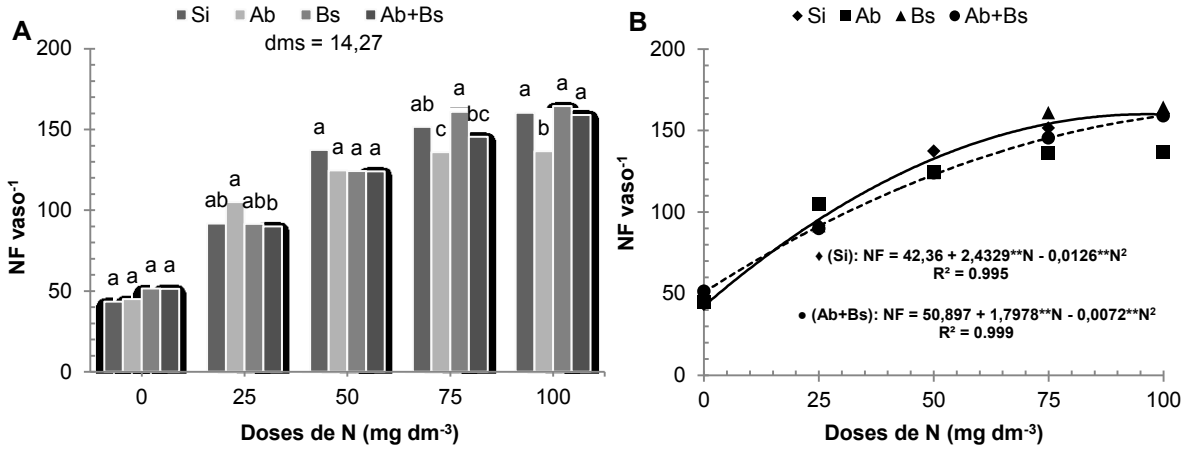
No segundo ciclo de cultivo, o desdobramento da interação inoculação dentro de cada dose de N (Figura 22A), revelou que na ausência de N, as inoculações com *A. brasilense* e *B. subtilis*, tanto na forma isolada como na combinada, não proporcionaram incrementos (P>0,05) no número de folhas em relação à testemunha (ausências de inoculação e adubação nitrogenada) e nem entre si, atingindo média de 47,9 folhas vaso^{-1}.

Com o suprimento de 25 mg dm^{-3} de N, a inoculação com *A. brasilense* teve comportamento semelhante (P>0,05) no NF em relação aos obtidos sem inoculação e com inoculação de *B. subtilis*, sendo superior (P<0,05) em 15 folhas vaso^{-1} (16,7%) quando comparado ao NF obtido com a coinoculação. Por sua vez, não foram observados acréscimos (P>0,05) do NF entre a inoculação de *B. subtilis* e a coinoculação, e destes, em relação ao tratamento sem inoculação (Figura 22A).

Os resultados também apontam que a partir da adubação com 50 mg dm^{-3} de N, a inoculação com *A. brasilense* teve seus efeitos neutralizados (P>0,05) e até mesmo deficitários (P<0,05) na produção de folhas do capim Marandu, em

comparação aos tratamentos não inoculado,inoculado com *B. subtilis* e coinoculado (Figura 22A).

Figura 22. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para o número de folhas (NF) do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao segundo corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018



Médias seguidas de mesma letra dentro de cada tratamento não diferem estatisticamente a 0,05 de probabilidade pelo teste de Tukey; dms = diferença mínima significativa.
Fonte: Elaborado pelo autor.

Senão, vejamos, com o suprimento de 25 mg dm^{-3} de N, as inoculações tiveram respostas semelhantes (P>0,05) entre si e em relação ao não inoculado, obtendo média de 127,5 folhas $vaso^{-1}$ entre os tratamentos, apesar de terem reduzidos (P>0,05) em média, 13,1 folhas $vaso^{-1}$, quando comparados ao NF (137,4 folhas $vaso^{-1}$) obtido sem inoculação. Com a adubação de 75 e 100 mg dm^{-3} de N, o NF de 136,0 e 136,6 $vaso^{-1}$ obtidos com a inoculação de *A. brasilense*, foram inferiores (P<0,05) em 10,3 e 14,8%, respectivamente, em comparação ao tratamento não inoculado (Figura 22A).

Em relação aos inoculados, a inoculação com *B. subtilis* associada à dose de 75 mg dm^{-3} de N, teve desempenho na produção do NF semelhante (P>0,05) ao não inoculado e superior aos inoculados com *A. brasilense* (18,4%) e coinoculado (10,7%), não se verificando distinções (P>0,05) entre estes dois últimos e do coinoculado em relação ao não inoculado (Figura 22A).

Com o aumento da dose para 100 mg dm^{-3} de N, verificou-se que as inoculações com *B. Subtilis* e coinoculação não contribuíram (P>0,05) para acréscimos do NF em relação ao não inoculado, mas influenciaram (P<0,05) quando comparado ao inoculado com *A. brasilense*, superando em 27,8 (20,4%) e 22,4 folhas $vaso^{-1}$ (16,4%), respectivamente (Figura 22A). Por fim, a inoculação com *A. brasilense* teve desempenho inferior (P<0,05) ao não inoculado, com redução de 23,8 folhas $vaso^{-1}$ (-14,8%).

O desdobramento da interação das doses de N em cada nível do fator inoculação (Figura 22B) possibilitou ajustes (P<0,01) de equações de regressão quadrática para o NF, na ausência de inoculação e quando associada à coinoculação. Não houve ajustes de equações (P>0,05) para o NF quando associadas às inoculações com *A. brasilense* e *B. subtilis*, atingindo-se médias respectivas, de 109,4 e 118,4 folhas $vaso^{-1}$.

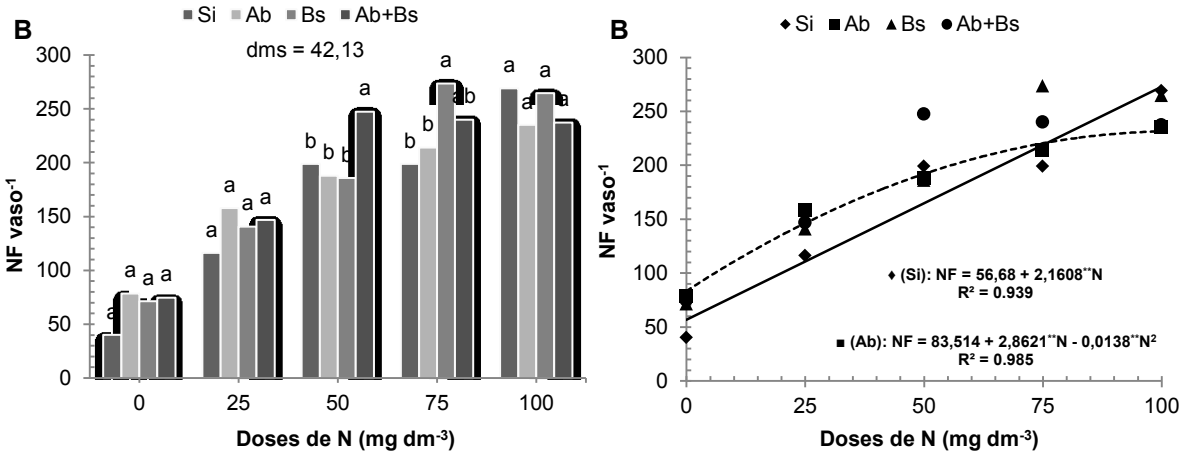
Na ausência de inoculação, o modelo quadrático ajustado permitiu obter o máximo de 159,8 folhas $vaso^{-1}$ com 96,5 mg dm^{-3} de N, com incrementos de 117,4 folhas $vaso^{-1}$ (277,2%) quando comparado ao valor estimado na ausência da adubação nitrogenada (Figura 22B). Quando associada à coinoculação com as estirpes de *A. brasilense* e *B. subtilis*, o máximo de 163,1 folhas $vaso^{-1}$ foi alcançado com 124,8 mg dm^{-3} de N, quantidade superior ao maior nível de adubação proposto neste estudo.

Comparando-se os NF obtidos nos dois modelos, verificou-se que a associação N+coinoculação proporcionou incrementos de 3,3 folhas $vaso^{-1}$ em relação ao não inoculado, porém com 28,3 mg dm^{-3} de N a mais (equivalente a 56,6 kg ha^{-1}), o que provavelmente inviabiliza o emprego da coinoculação nesse ciclo de cultivo do capim Marandu, devido ao maior consumo de N (29,3%) (Figura 22B).

Considerando a adubação de 100 mg dm^{-3} de N (nível máximo de N) e inserindo-a no modelo ajustado com coinoculação, o NF teórico máximo de 158,7 folhas $vaso^{-1}$ proporcionaria incrementos de 107,8 folhas $vaso^{-1}$ se comparado a produção de folhas $vaso^{-1}$ sem adição de N, e NF igual ao obtido na ausência de inoculação, com 3,5 g dm^{-3} de N a mais (Figura 22B).

No terceiro ciclo de cultivo, o desdobramento da interação da inoculação dentro das doses de N, possibilitou incrementos (P<0,05) das inoculações no NF, apenas quando foram associadas a doses de 50 e 75 mg dm^{-3} de N (Figura 23A).

Figura 23. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para o número de folhas (NF) do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao terceiro corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018



Médias seguidas de mesma letra dentro de cada tratamento não diferem estatisticamente a 0,05 de probabilidade pelo teste de Tukey; dms = diferença mínima significativa.
Fonte: Elaborado pelo autor.

Na ausência de N e com o suprimento de 25 mg dm^{-3} N, não foram observados acréscimos (P>0,05) no NF com as inoculações, em relação a ausência de inoculação e entre os inoculados, apesar de verificar um melhor desempenho da inoculação com *A. brasilense* sobre todos os tratamentos, principalmente sobre o não inoculado, com acréscimos (P>0,05) respectivos de 38,2 e 41,6 folhas $vaso^{-1}$, na ausência de N e com 25 mg dm^{-3} de N, atingindo médias de 66,2 e 140,6 folhas por $vaso^{-1}$, nessa ordem (Figura 23A).

A coinoculação com as estirpes de *A. brasilense* e *B. subtilis* associada à aplicação de 50 mg dm^{-3} de N, propiciou incrementos médios (P<0,05) de 48,4 (24,3%), 59,4 (31,6%) e 61,4 folhas $vaso^{-1}$ (33,0%), em comparação aos valores obtidos na ausência de inoculação e com inoculações isoladas de *A. brasilense* e *B.*

subtilis, respectivamente. As inoculações com *A. brasilense* e *B. subtilis* tiveram desempenhos semelhantes (P>0,05) em relação ao não inoculado (Figura 23A).

Com suprimento de 75 mg dm^{-3} de N, a inoculação com *B. subtilis* promoveu acréscimos (P<0,05) respectivos no NF de 74,6 (37,5%) e 59,4 (27,7%) sobre os tratamentos sem inoculação e inoculado com *A. brasilense*, não havendo distinções (P>0,05) em relação ao NF obtido com a coinoculação, que por sua vez, teve comportamento semelhante (P>0,05) ao NF obtidos na ausência de inoculação e inoculado com *A. brasilense* (Figura 23A).

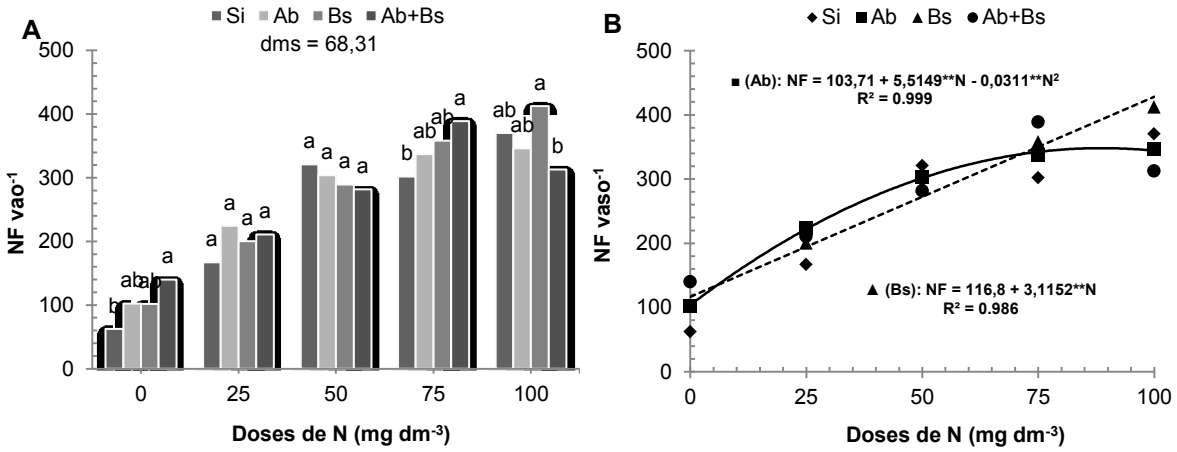
Quando associadas à adubação de 100 mg dm^{-3} de N, as inoculações tanto na forma isolada como na forma coinoculada, não contribuíram (P>0,05) para o aumento do NF do capim, em relação ao tratamento não inoculado e entre si, obtendo média de 215,6 folhas $vaso^{-1}$, apesar de observar desempenhos inferiores dos inoculados, principalmente com *A. brasilense* e coinoculação (Figura 23A).

O desdobramento da interação doses de N em cada nível das inoculações (Figura 23B) permitiu ajustes de equação linear (P<0,01) na ausência de inoculação e quadrático (P<0,01) para a inoculação com *A. brasilense*. Não foi possível ajustes (P>0,05) com a inoculação de *B. subtilis* e a coinoculação, alcançando-se médias respectivas de 187,3 e 189,3 folhas $vaso^{-1}$, independentemente das doses de N.

Com o modelo linear ajustado, na ausência de inoculação, obteve-se 273,0 folhas $vaso^{-1}$ com adubação de 100 mg dm^{-3} de N, que proporcionou incrementos de 216,3 folhas $vaso^{-1}$ em comparação ao menor valor obtido sem a presença do fertilizante. Já no modelo quadrático, o número máximo de folhas $vaso^{-1}$ (231,9) foi alcançado com adubação de 103,7 mg dm^{-3} de N, quantidade superior ao limite de adubação imposto neste trabalho (Figura 23B). Contudo, aplicando-se a dose de 100 mg dm^{-3} de N, alcançaria 231,7 folhas $vaso^{-1}$, ou seja, o mesmo NF com menor dose (3,6%) de fertilizante nitrogenado, possibilitando incrementos de 146,4 folhas $vaso^{-1}$ em relação à produção de folhas na ausência de adubação.

Ao longo do quarto ciclo de cultivo do capim Marandu, a interação inoculação dentro de doses de N, promoveu efeitos significativos (P<0,05) e também efeitos indiferentes (P>0,05) das inoculações no NF obtidas com as inoculações, tanto na ausência como na presença da adubação nitrogenada (Figura 24A).

Figura 24. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para o número de folhas (NF) do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao quarto corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018



Médias seguidas de mesma letra dentro de cada tratamento não diferem estatisticamente a 0,05 de probabilidade pelo teste de Tukey; dms = diferença mínima significativa.
Fonte: Elaborado pelo autor.

Na ausência de N, a coinoculação promoveu incrementos (P<0,05) de 77,4 folhas vaso^{-1} (123,6%) sobre o tratamento não inoculado, e comportamento similar (P>0,05) em relação aos inoculados com *A. brasilense* e *B. subtilis,* que por sua vez, não contribuíram (P>0,05) para acréscimos do NF em relação ao tratamento sem inoculação (Figura 24A).

Com suprimentos de 25 e 50 mg dm^{-3} de N, as inoculações com as estirpes de *A. brasilense* e *B. subtilis* seja na forma isolada ou na forma combinada, não contribuíram (P>0,05) para o aumento do NF da gramínea, a despeito de se verificar valores de NF maiores dos inoculados sobre o não inoculado com a aplicação de 25 mg dm^{-3} de N, e redução do NF dos inoculados em relação ao não inoculado com o aumento da adubação para 50 mg dm^{-3} de N (Figura 24A).

Com a dose de 75 mg dm^{-3} de N, a coinoculação promoveu incrementos (P<0,05) de 87 folhas vaso^{-1} (28,8%) em relação ao NF obtido na ausência de inoculação, e não se verificando acréscimos (P>0,05) no NF em relação aos tratamentos inoculados com *A. brasilense* e *B. subtilis* e destes, em relação ao não inoculado (Figura 24A).

Quando associada à adubação de 100 mg dm^{-3} de N, as inoculações não contribuíram para incrementos (P>0,05) no NF em relação à ausência de inoculação, e entre os inoculados, a inoculação com *B. subtilis* promoveu acréscimos (P<0,05) de 96,6 folhas $vaso^{-1}$, comparado ao NF obtido na coinoculação, e teve comportamento indiferente (P>0,05) ao NF obtido com a inoculação de *A. brasilense* (Figuraa 24A).

O desdobramento da interação das doses de N em cada nível do fator inoculação (Figura 24B) impossibilitou ajustes de regressão (P>0,05) no NF, na ausência de inoculação e na inoculação combinada de *A. brasilense* e *B. subtilis*, obtendo médias respectivas de 244,7 e 267,0 folhas $vaso^{-1}$. Entretanto, possibilitou ajustes (P<0,01) ao modelo quadrático para a inoculação com *A. brasilense* e modelo linear para a inoculação com *B. subtilis*. Sendo assim, foram obtidas 348,2 folhas $vaso^{-1}$ com a aplicação de 88,7 mg dm^{-3} de N e 428,3 folhas $vaso^{-1}$ com a adubação de 100 mg dm^{-3} de N, respectivamente, portanto, proporcionou nessa ordem, incrementos de 244,5 e 311,5 folhas $vaso^{-1}$ sem a presença de nitrogênio mineral.

Posto isto, verificou-se que com a aplicação de 1,0 mg dm^{-3} de N, foram produzidas 3,9 e 4,3 folhas $vaso^{-1}$ com as inoculações de *A. brasilense* e *B. subtilis*, respectivamente, ou seja, para este ciclo de cultivo, a associação N+*B. subtilis* foi 10,3% mais eficiente na produção de forragem do que a associação N+*A. brasilense*.

4.5. Massa Seca da Parte Aérea e Massa Seca Total

A análise de variância, as médias dos resultados de produção de massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca total (MST) estão apresentadas na Tabela 12. Os dados revelam efeitos significativos (P<0,01) na produção de MSPA e MST do capim Marandu para os fatores inoculação e doses de N, ao longo dos ciclos de cultivos, exceto no quarto corte, onde o fator inoculação não contribuiu (P>0,05) para o aumento da produção de MSPA. Em todos os ciclos de cultivos houve significância da interação (P<0,01) entre os fatores inoculação *versus* doses de nitrogênio sobre a produção de MSPA e MST do capim Marandu. As médias de MSPA com os

tratamentos sem inoculação e inoculados foram crescendo ao longo dos ciclos de cultivos contribuindo significativamente para a MST.

Tabela 12. Resumo das análises de variância para a massa seca da parte aérea (MS) e massa seca total (MST) da gramínea *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da inoculação ou não com *Azospirillum brasilense* e *Bacillus subtilis*, de forma isolada ou combinada, associadas ou não a doses de nitrogênio (N), em cada ciclo constituído por 40 dias de cultivo. Ji-Paraná-RO, 2018

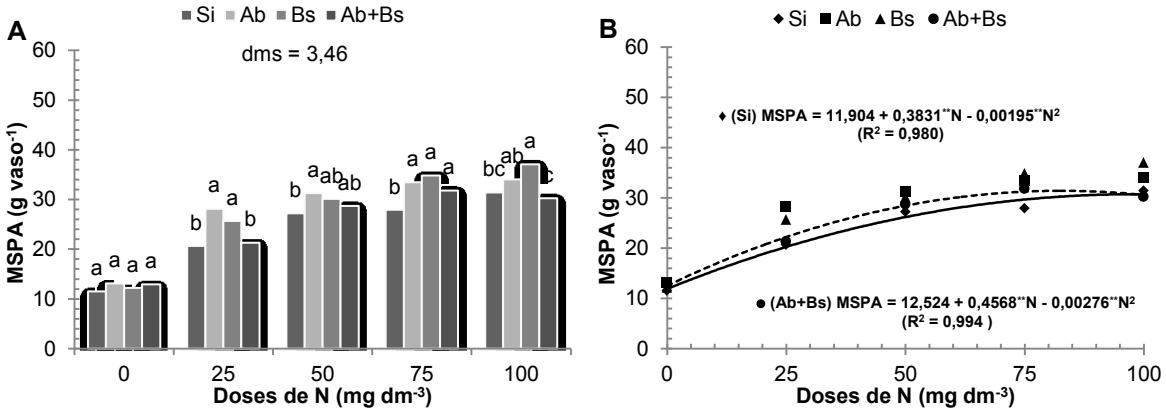
F.V	G.L	MS				MST
		Corte 1	Corte 2	Corte 3	Corte 4	
		Quadrados Médios				
Tratamentos	19	329,09**	1155,81**	4961,05**	6399,76**	37065,66**
Inoculação (I)	3	116,50**	320,17**	485,44**	95,68^{ns}	744,64*
Doses de N (D)	4	1433,27**	4687,07**	19514,17**	28613,22**	168657,80**
I x D	12	14,18**	187,63**	1228,91**	571,30**	2281,87**
Erro	80	4,35	8,89	65,05	122,78	218,32
C.V. (%)		7,96	8,71	13,00	13,71	7,26
Média Geral		26,20	34,22	62,06	80,83	203,31
Inoculação		Médias				
		---------- g vaso^{-1} ----------				
Sem Inoculação		23,76 b	28,99 b	67,39 a	79,83 a	199,97 ab
Azospirillum brasilense		28,03 a	36,55 a	61,39 bc	83,49 a	209,46 a
Bacillus subtilis		27,99 a	34,80 a	62,78 ab	81,01 a	206,58 ab
A. brasilense + B. subtilis		25,01 b	36,53 a	56,69 c	79,00 a	197,23 b
D.M.S		1,55	2,21	5,99	8,23	10,97

C.V = coeficiente de variação; D.M.S = diferença mínima significativa; ** 1% e * 5% significativo ao teste de F; ^{ns} = não significativo ao teste de F; médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.
Fonte: Elaborado pelo autor.

No primeiro corte do capim, com o desdobramento da interação inoculação dentro de cada dose de N, verificou-se que os tratamentos inoculados não contribuíram (P>0,05) para o aumento da produção de MSPA em relação à testemunha e nem entre si. Nesse sentido, as produções obtidas foram estatisticamente iguais, apesar de observados ganhos não expressivos de biomassa com as inoculações em relação à testemunha (Figura 25A).

Contextualizando os resultados, as inoculações com *A. brasilense*, *B. subtilis* e coinoculação proporcionaram aumentos na MSPA de 1,6 (14%), 0,7 (5,8%) e 1,4 g vaso^{-1} (12,0%) respectivamente, em relação ao tratamento não inoculado (Figura 25A).

Figura 25. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A)e doses de N dentro de inoculações (B) para massa seca da parte aérea (MSPA) do capim*Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente aos primeiro corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018



Médias seguidas de mesma letra dentro de cada tratamento não diferem estatisticamente a 0,05 de probabilidade pelo teste de Tukey; dms = diferença mínima significativa.
Fonte: Elaborado pelo autor.

Assim, pode se inferir, que na ausência de fertilização nitrogenada, a inoculação com estas bactérias contribui para o aumento da produção de forragem, uma vez que esses acréscimos estão relacionados a diversos fatores, dentre os quais, a fixação biológica de N e a produção de fitormônios que estimulam o desenvolvimento do sistema radicular das plantas, possibilitando maior habilidade de exploração e absorção de água e nutrientes disponíveis na solução do solo (HUNGRIA *et al*., 2016; GALINDO *et al*., 2018).

Oliveira *et al*. (2002), avaliando a produção de forragem e a qualidade da *Brachiaria brizantha* fertilizada com nitrogênio e inoculada com *Azospirillum brasiliense*, também observaram variações no tratamento sem aplicação de nitrogênio e inoculado com *A. brasilense*, os quais produziram mais forragem do que a testemunha (sem aplicação de N e sem inoculação).

Com o suprimento de 25 mg dm^{-3} de N, as inoculações isoladas com *A. brasilense* e *B. subtilis*, promoveram incrementos ($P<0,05$) respectivos de 7,5 (36,4%) e 5,0 g $vaso^{-1}$ (24,4%) na produção de massa seca do capim Marandu em relação ao tratamento não inoculado. Nessa mesma ordem, as inoculações com *A.*

brasilense e *B. subtilis* também apresentaram aumentos (P<0,05) de 6,8 (32,1%) e 4,4 g vaso (20,4%) superiores aos obtidos com a inoculação combinada. A produção de massa seca com coinoculação foi igual (P>0,05) a produção obtida na ausência de inoculação (Figura 25A).

Considerando apenas as inoculações isoladas de *A. brasilense* e *B. subtilis* em relação à ausência de inoculação, observou-se que, com a adubação de 1,0 mg dm^{-3}, foram produzidas 1,13; 1,03 e 0,83 g $vaso^{-1}$, respectivamente, de massa seca, o que revela o potencial das inoculações, principalmente do *A. brasilense* quando associada a doses menores de N (Figura 25A).

Comparando-se as produções de MSPA obtidas com as combinações (inoculação sem N) e (inoculação mais N) observou-se que com a presença de N, a produção de MSPA aumentou em 15,0, 13,5 e 8,4 g $vaso^{-1}$ com os tratamentos inoculados com *A. brasilense*, *B. subtilis* e coinoculado (Figura 25A). Tal fato indica que somente com a inoculação, não se pode deixar de realizar a adubação nitrogenada, mas que a combinação entre os dois fatores, propiciam uma maior absorção e utilização do N disponível no solo, o que resulta em um efeito sinérgico entre a inoculação de bactérias promotoras do crescimento de plantas e a adubação nitrogenada (LANA *et al*., 2012), o que reflete diretamente na produção de biomassa.

Aumentando a adubação para 50 mg dm^{-3} de N, a inoculação com *A. brasilense* propiciou acréscimos (P<0,05) de 4,1 g $vaso^{-1}$ (15,0%) na produção de massa seca confrontado com o tratamento não inoculado, sendo essa produção igual (P>0,05) às obtidas com a inoculação de *B. subtilis* e coinoculação, que por sua vez, não contribuíram (P>0,05) para aumentar a produção de massa seca do capim Marandu, comparadas à produção na ausência de inoculação (Figura 25A).

Seguindo o mesmo raciocínio anterior, para cada mg dm^{-3} de N usado na adubação, possibilitou a produção de 0,54 g $vaso^{-1}$ de massa seca na ausência de inoculação e 0,63 g $vaso^{-1}$ com a inoculação de *A. brasilense*, refletindo os efeitos benéficos da inoculação dessa bactéria quando associada à adubação de 50 mg dm^{-3} de N (Figura 25A).

As inoculações com *A. brasilense* e *B. subtilis*, tanto na forma isolada como na forma combinada, associadas à adubação de 75 mg dm^{-3} de N, propiciaram

aumentos (P<0,05) de 5,6 (19,9%), 6,9 (24,8%) e 3,9 g vaso^{-1} (13,9%) de massa seca, respectivamente, quando confrontadas com a produção obtida na ausência de inoculação. Nessas condições, com a aplicação de 1,0 mg dm^{-3} de N associado às inoculações de *B. subtilis*, *A. brasilense* e coinoculação, foram produzidos 0,46; 0,45 e 0,42 g vaso^{-1}de massa seca, respectivamente, enquanto que, na ausência de inoculação obteve-se 0,37 g vaso^{-1}. Entre os inoculados, não houve distinções (P>0,05) na produção de MSPA, entre si (Figura 25A).

Com o aumento da adubação para o nível de 100 mg dm^{-3} de N, a inoculação com *B. subtilis* promoveu incrementos (P<0,05) de 5,6 (17,9%) e 6,8 g vaso^{-1} (22,5%) na MSPA em relação aos tratamentos não inoculado e coinoculado, e não diferiu (P>0,05) da produção obtida com a inoculação de *A. brasilense*, que por sua vez, não foi diferente (P>0,05) da produção sem inoculação. A produção de massa seca na inoculação combinada foi igual (P>0,05) a produção na ausência de inoculação (Figura 25A).

Numa visão mais prática desses resultados, verificou-se que, para cada mg dm^{-3} de N aplicado obtiveram-se 0,37 g vaso^{-1} de MSPA quando associada à inoculação com *B. subtilis*, superando (P<0,05) a produção de 0,31g vaso^{-1} obtida na ausência de inoculação, dessa forma, vislumbrando um maior potencial da inoculação do *B. subtilis* com doses mais elevadas de N, na produção de massa seca do capim Marandu (Figura 25A).

O desdobramento da interação das doses de N dentro de cada nível do fator inoculação (Figura 25B), não possibilitou ajustes de funções de regressão (P>0,05) na produção de massa seca, quando associadas às inoculações com *A. brasilense* e *B. subtilis*. Com isso, as produções médias de MSPA foram, respectivamente, 28,0 e 27,9 g vaso^{-1}.

Na ausência de inoculação, o modelo de regressão quadrático ajustado (P<0,01), propiciou obter a máxima produção de MSPA (30,7 g vaso^{-1}) com a dose de 98,2 mg dm^{-3} de N, permitindo aumentos de 18,8 g vaso^{-1} de massa seca quando comparado a menor produção de MSPA obtido sem adubação nitrogenada. Por sua vez, quando associado à coinoculação com estirpes de *A. brasilense* e *B. subtilis*, o modelo quadrático ajustado (P<0,01) permitiu estimar a produção máxima de 35,5 g vaso^{-1} de biomassa seca com a aplicação de 82,8 mg dm^{-3} de N, promovendo

incrementos de 23,0 g vaso^{-1} em relação a ausência dessa combinação (Figura 25B).

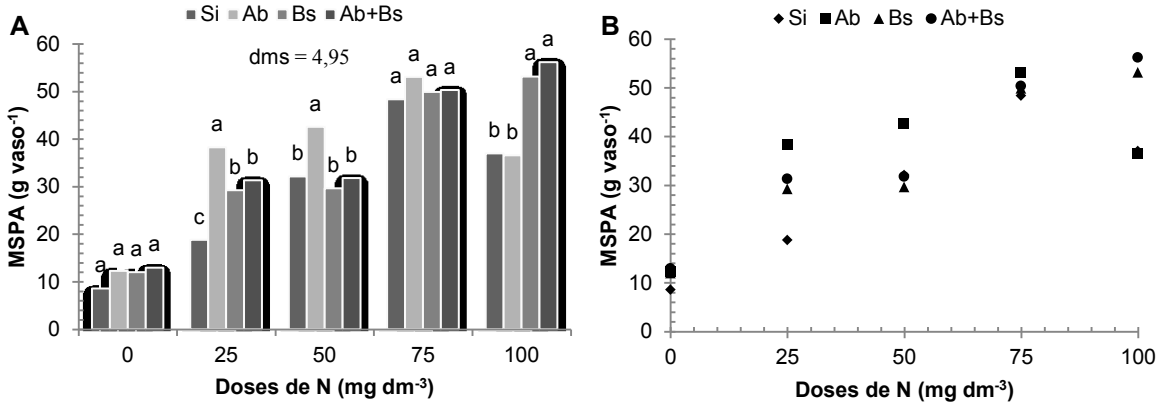
Nesse sentido, confrontando as produções de MSPA obtidas na ausência e na presença de inoculação, observou-se que, com a coinoculação, foi possível obter ganhos de massa seca de 4,8 g vaso^{-1} (15,6%) com menor quantidade de N (15,4 mg dm^{-3} de N), que permite obter economia de 18,6% na aquisição do fertilizante nitrogenado (Figura 25B).

De outro modo, considerando os demais fatores de produção constantes, para se produzir 1,0 g vaso^{-1} de massa seca foram necessários aplicar 3,2 mg dm^{-3} de N na ausência de inoculação, e 2,3 mg dm^{-3} de N na presença da inoculação combinada de *A. brasilense* e *B. subtilis*, isto demonstra que, a combinação N+coinoculação, foi 39,1% mais eficiente na conversão de biomassa da parte aérea do capim Marandu do que a produção de massa seca obtida apenas com a adubação nitrogenada (Figura 25B), o que demonstra os efeitos benéficos da coinoculação quando praticada em associação com a adubação nitrogenada.

No segundo corte, o desdobramento da interação da inoculação dentro das doses de N (Figura 26A), não viabilizou (P>0,05) aumentos na MSPA do capim Marandu com as inoculações, tanto na forma isolada como na forma coinoculada, em relação à testemunha absoluta (ausência de inoculação e adubação nitrogenada) e nem entre si, obtendo produção média de 11,5 g vaso^{-1}, independentemente dos níveis de inoculação. Mesmo não sendo significativa, a média entre os tratamentos inoculados, foi superior em 3,7 g vaso^{-1} (42,8%) a massa seca obtida com o não inoculado (8,6 g vaso^{-1}).

A inoculação com *A. brasilense* associada à adubação de 25 mg dm^{-3} de N, propiciou acréscimos significativos (P<0,05) na produção de massa seca equivalentes a 19,5 (103,4%), 9,0 (30,8%) e 6,9 g vaso^{-1} (22,1%) quando confrontadas com a massa seca produzida na ausência de inoculação, inoculação com *B. subtilis* e coinoculação, respectivamente. Por sua vez, as inoculações com *B. subtilis* e coinoculação tiveram incrementos (P<0,05) de 10,5 (55,5%) e 12,5 g vaso^{-1} (66,6%) de massa seca defrontados com a produção alcançada sem a presença de inoculação, e entre si, obtendo produções semelhantes de biomassa seca (P>0,05) (Figura 26A)

Figura 26. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para massa seca da parte aérea (MSPA) do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente aossegundo corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018



Médias seguidas de mesma letra dentro de cada tratamento não diferem estatisticamente a 0,05 de probabilidade pelo teste de Tukey; dms = diferença mínima significativa.
Fonte: Elaborado pelo autor.

Em síntese, para cada mg dm^{-3} de N aplicado, foram produzidas 1,53; 1,17; 1,25 e 0,75 g $vaso^{-1}$ de massa seca, com os tratamentos inoculados com *A. brasilense*, *B. subtilis*, coinoculado e sem inoculação, nessa ordem (Figura 26A), isto revela o potencial das inoculações na produção de massa seca da parte aérea do capim Marandu, principalmente com *A. brasilense*, quando associadas à adubação de 25 mg dm^{-3} de N.

Com o aumento da dose para 50 mg dm^{-3} de N, a inoculação com *A. brasilense* promoveu aumentos ($P<0,05$) de massa seca de 10,4 (32,5%), 12,9 (43,5%) e 10,8 g $vaso^{-1}$ (33,8%) comparada aos tratamentos não inoculado, inoculado com *B. subtilis* e coinoculado, respectivamente (Figura 26A). Não houve diferenças significativas ($P>0,05$) entre eles, com produções semelhantes de biomassa seca (31,2 g $vaso^{-1}$).

Assim sendo, a relação de produção de massa seca (g $vaso^{-1}$/mg dm^{-3} de N) de 0,64; 0,85; 0,59 e 0,64 obtidas na ausência de inoculação, e com as inoculações de *A. brasilense*, *B. subtilis* e coinoculação, nessa ordem, evidenciam os benefícios

da inoculação com *A. brasilense* na conversão de biomassa, quando associada a adubação de 50 mg dm^{-3}.

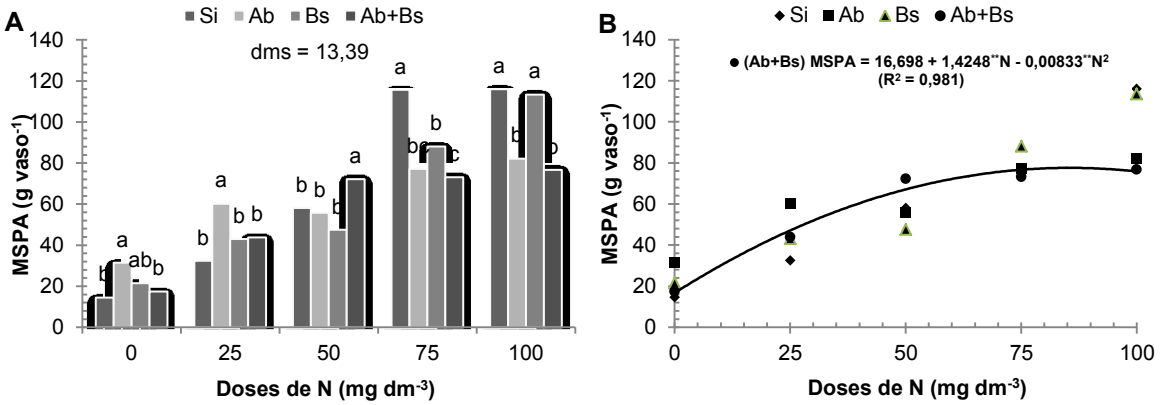
Com o suprimento de 75 mg dm^{-3} de N, as inoculações com *A. brasilense*, *B. subtilis* e a coinoculação, não contribuíram (P>0,05) para o aumento de MSPA entre si e nem quando confrontadas com a massa seca obtida na ausência de inoculação, obtendo-se média de 50,4 g $vaso^{-1}$, independentemente dos níveis de inoculação. Contudo, quando associada à dose de 100 mg dm^{-3} de N, a coinoculação e a inoculação com *B. subtilis* promoveram aumentos (P<0,05) de biomassa seca equivalentes a 19,2 (51,8%) e 19,6 g $vaso^{-1}$ (53,6%) em relação às massas secas produzidas na ausência de inoculação e inoculação com *A. brasilense*, nessa ordem. Não houve distinções (P>0,05) de biomassa seca entre a coinoculação e a inoculação com *B. subtilis*, nem tampouco entre a ausência de inoculação e a inoculação com *A. brasilense* (Figura 26A).

Com isto, as relações de produção de massa seca (g $vaso^{-1}$/mg dm^{-3}) de 0,56; 0,53; 0,37 e 0,37, obtidas com a coinoculação, inoculações com *B. subtilis* e *A. brasilense* e sem inoculação, nessa ordem, mostram os efeitos benéficos na conversão de biomassa do capim Marandu com a coinoculação e inoculação com *B. subtilis*, quando associadas à dose de 100 mg dm^{-3} de N.

O desdobramento da interação das doses de N dentro dos níveis do fator inoculação (Figura 26B) impossibilitou (P>0,05) ajustes de equações de produção de massa seca na parte aérea do capim Marandu, independentemente da ausência ou presença de inoculações com *A. brasilense* ou *B. subtilis*. As médias de produção alcançadas foram de 29,0; 36,6; 34,8 e 36,5 g $vaso^{-1}$, na ausência de inoculação, inoculações isoladas com *A. brasilense* e *B. subitilis* e coinoculação, respectivamente.

No terceiro corte da gramínea, o desdobramento da interação inoculação dentro das doses de N (Figura 27A) identificou efeitos (P<0,05) das inoculações isoladas com *A. brasilense* e *B. subtilis* e também da coinoculação na produção de MSPA, independentemente da presença ou ausência de adubação nitrogenada.

Figura 27. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para massa seca da parte aérea (MSPA) do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente aosterceiro corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018



Médias seguidas de mesma letra dentro de cada tratamento não diferem estatisticamente a 0,05 de probabilidade pelo teste de Tukey; dms = diferença mínima significativa.
Fonte: Elaborado pelo autor

Na ausência de nitrogênio, a inoculação com *A. brasilense* promoveu aumentos (P<0,05) de 17,0 (116,6%) e 14,0 g vaso^{-1} (80,2%) em relação às obtidas sem inoculação e com a coinoculação nessa ordem, e semelhante (P>0,05) a obtida com a inoculação de *B. subtilis*. As MSPA obtidas sem inoculação, inoculada com *B. subtilis* e coinoculada, foram estatisticamente iguais (P>0,05), entre si. Os valores de MSPA obtidos com *A. brasilense*, *B. subtilis* e coinoculação foram de 31,5, 21,6 e 17,5 g vaso^{-1}, respectivamente (Figura 27A).

Os resultados evidenciam os efeitos benéficos da inoculação das bactérias, em especial a *A. brasilense,* como promotora do crescimento de gramíneas. Como já relatado anteriormente, o principal benefício das bactérias no crescimento de plantas resulta da síntese de fitormônios como auxinas, ácido indol-acético (IAA), giberalinas e outros. O IAA tem efeito no crescimento das raízes resultando em aumentos na absorção de água e nutrientes disponíveis no solo (HUNGRIA *et al*., 2010). As auxinas e giberalinas atuam no crescimento e alongamento de colmos, folhas e raízes, e induzem mudanças na expansão, divisão e alongamento celular das regiões meristemáticas, onde ocorre o crescimento das plantas (TAIZ *et al*., 2017). A

solubilização de fosfato pelas bactérias também contribui para o aumento da produção de biomassa.

Com adubação de 25 mg dm^{-3}, a inoculação com *A. brasilense* contribuiu (P<0,05) para a produção de massa seca do capim Marandu, com acréscimos de 27,8 (85,5%), 17,2 (39,8%) e 16,4 g $vaso^{-1}$ (37,3%) sobre os tratamentos não inoculado, inoculado *com B. subtilis* e coinoculado, respectivamente. Entre estes tratamentos, as produções de massa seca foram estatisticamente iguais (P>0,05) (Figura 27A).

Do ponto de vista prático, para cada mg dm^{-3} de N aplicado na cultura, foram obtidos 1,30; 2,41; 1,72 e 1,75 g $vaso^{-1}$ de MSPA, com os tratamentos não inoculado, inoculados com *A. brasilense*, *B. subtilis* e coinoculado, nessa sequência, o que demonstra que a inoculação com *A. brasilense* associada a 25 mg dm^{-3} de N, é a mais eficiente na conversão de massa seca, em relação aos demais tratamentos (Figura 27A).

A coinoculação com as estirpes de *A. brasilense* e *B. subtilis*, quando associada à adubação de 50 mg dm^{-3} de N, possibilitou aumentos (P<0,05) de massa seca equivalentes a 14,1 (24,2%), 16,4 (29,3%) e 24,6 (47,6%) confrontados com os valores obtidos sem inoculação e com as inoculações isoladas de *A. brasilense* e *B. subtilis*, nessa ordem, e entre estes, as produções de massa seca obtidas foram indiferentes (P>0,05) (Figura 27A).

Com o suprimento de 75 mg dm^{-3} de N, as inoculações com *A. brasilense*, *B. subtilis* e coinoculação, influenciaram negativamente (P<0,05) a produção de MSPA, quando confrontadas com a produção obtida sem inoculação, obtendo, nessa ordem, 38,5 (33,3%), 27,6 (23,8%) e 42,6 g $vaso^{-1}$ (36,8%) de biomassa seca inferiores à produção obtida na ausência de inoculação. Entre os inoculados, a inoculação com *B. subtilis* apresentou melhor desempenho (P<0,05) em relação ao coinoculado, com incrementos de 15 g $vaso^{-1}$ (20,5%). A massa seca obtida com as inoculações de *A. brasilense* e *B. subtilis* foram equivalentes (P>0,05) (Figura 27A).

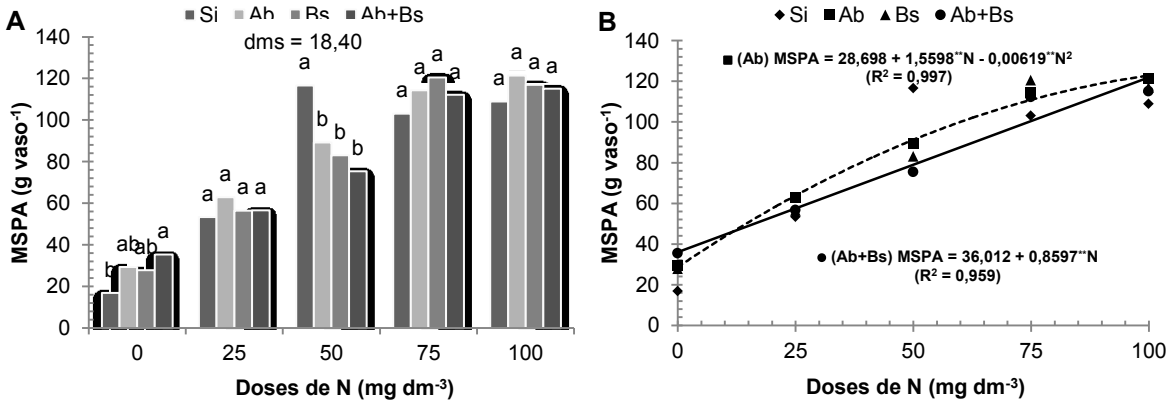
A inoculação com *A. brasilense* e a coinoculação, associadas à adubação de 100 mg dm^{-3} de N, propiciaram perdas (P<0,05) de 33,9 (29,2%) e 30,3 g $vaso^{-1}$ (33,9%) nessa ordem, na produção de massa seca comparado à produção obtida na ausência de inoculação. Em relação aos tratamentos inoculados, a inoculação com

B. subtilis aumentou (P<0,05) em 31,3 (38,0%) e 36,7 g vaso^{-1} (47,8%) a produção de massa seca do capim Marandu comparado com as produções obtidas com *A. brasilense* e a coinoculação (Figura 27A).

O desdobramento da interação das doses de N dentro das inoculações (Figura 27B) impossibilitou (P>0,05) ajustes de equações de regressão na ausência de inoculação e nas inoculações isoladas com *A. brasilense* e *B. subtilis*, obtendo-se produções médias 67,4, 61,4 e 62,8 g vaso^{-1} de MSPA, respectivamente. Contudo, houve ajuste ao modelo quadrático (P<0,01) com a coinoculação, propiciando obter a máxima produção de MSPA (77,6 g vaso^{-1}) com a dose de 85,5 mg dm^{-3} de N, permitindo aumentar em 60,6 g vaso^{-1} de biomassa seca, quando comparado ao menor valor obtido sem adubação nitrogenada.

No quarto corte do capim Marandu, a produção de massa seca foi influenciada (P<0,01) pelas inoculações, com a ausência de N e quando associadas à adubação de 50 mg dm^{-3} de N (Figura 28A).

Figura 28. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para massa seca da parte aérea (MSPA) do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao quarto corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018



Médias seguidas de mesma letra dentro de cada tratamento não diferem estatisticamente a 0,05 de probabilidade pelo teste de Tukey; dms = diferença mínima significativa.
Fonte: Elaborado pelo autor.

Na ausência de N, a coinoculação propiciou aumentos de massa seca ($P<0,01$) de 18,5 g vaso^{-1} (109,1%) sobre a produção obtida sem inoculação. Com relação aos tratamentos inoculados, não foram observadas distinções estatísticas ($P>0,05$) na produção de massa seca entre eles, e nem dos tratamentos inoculados com *A. brasilense* e *B. subtilis* sobre o não inoculado (Figura 28A).

As inoculações associadas às adubações com 25, 75 e 100 mg dm^{-3} de N, não propiciaram aumentos significativos ($P>0,05$) na massa seca da parte aérea do capim Marandu, obtendo em média, valores de massa seca de 57,4; 112,6 e 115,6 g vaso^{-1}, respectivamente (Figura 28A).

Quando associadas à adubação de 50 mg dm^{-3}, as massas secas obtidas com as inoculações de *A. brasilense*, *B. subtilis* e coinoculação, foram inferiores ($P<0,01$) em 27,4 (23,5%), 33,6 (28,7%) e 41,2 g vaso^{-1} (35,3%) quando comparadas com a massa seca alcançada sem inoculação. As massas secas obtidas com as inoculações não propiciaram acréscimos ($P>0,05$) entre si (Figura 28A).

Após o quarto corte da gramínea, os valores obtidos de massa seca não permitiram ($P>0,05$) ajustes aos modelos de regressão, na ausência de inoculação e com a inoculação de *B. subtilis*, obtendo produções médias respectivas de 79,8 e 81,0 g vaso^{-1} de massa seca. Houve ajustes ($P<0,01$) de modelo quadrático quando associado à inoculação com *A. brasilense* e de modelo linear com a coinoculação (Figura 28B).

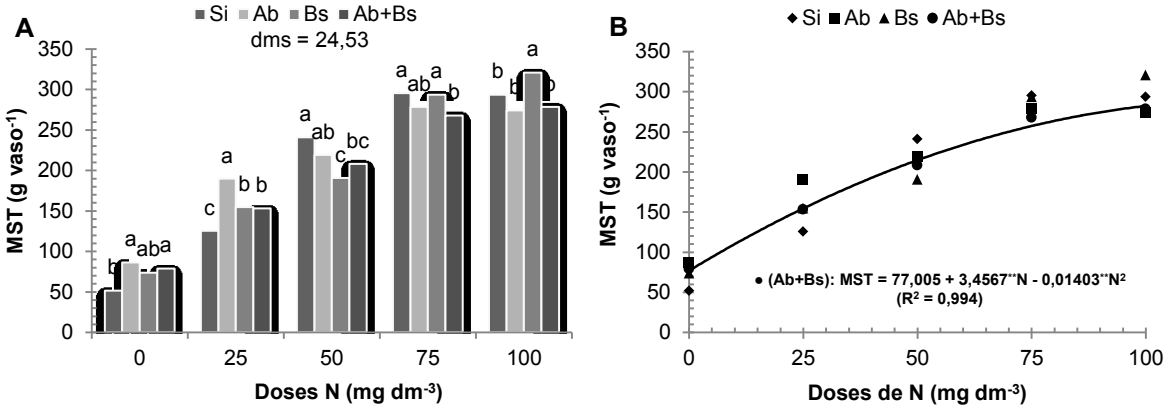
Com a função quadrática ajustada, a maior produção de massa seca (126,0 g vaso^{-1}) foi alcançada com a dose de 126,8 g dm^{-3} de N, acima do limite imposto para este estudo. Contudo, realizando a adubação apenas com 100 mg dm^{-3} de N, seria obtida a produção de 122,8 g vaso^{-1} de massa seca, ou seja, 3,2 g vaso^{-1} a menos, porém, com redução de 26,8 g dm^{-3} de N (21,1%) e com incrementos de 94,1 g vaso^{-1} em relação à produção de biomassa na ausência do fertilizante nitrogenado (Figura 28B).

A função linear ajustada permitiu obter com 100 mg dm^{-3} de N produção de 122,0 g vaso^{-1} de massa, representando um ganho de 0,86 g vaso^{-1} de biomassa para cada mg dm^{-3} de N aplicado, e incrementos de 85,0 g vaso^{-1} de massa seca, em relação à ausência de adubação com N (Figura 28B).

Assim, com a aplicação de 100 mg dm^{-3} de N, a produção de massa seca envolvendo a inoculação com *A. brasilense* e a coinoculação, tiveram respostas iguais, diferenciando apenas nos incrementos de 9,1 g $vaso^{-1}$ (10,7%) com a presença de *A. brasilense* (Figura 28B).

No desdobramento da interação dos fatores inoculação dentro de cada dose de N, observou-se que as inoculações, tanto nas formas isoladas como na forma combinada, contribuíram (P<0,05) para a produção de massa seca total do capim Marandu, independentemente dos níveis de adubação (Figura 29A).

Figura 29. Desdobramento das interações inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro da inoculação (B) para massa seca total (MST) do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não a doses de N, referente aos quatro cortes da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018



Médias seguidas de mesma letra dentro de cada tratamento não diferem estatisticamente a 0,05 de probabilidade pelo teste de Tukey; dms = diferença mínima significativa.
Fonte: Elaborado pelo autor.

Comparada às ausências de inoculação e de nitrogênio (testemunha), a inoculação com *A. brasilense* e a coinoculação propiciaram aumentos de (P<0,05) 34,7 (67,2%) e 27,2 g $vaso^{-1}$ (52,7%) de massa seca total, não diferindo (P>0,05) da produção obtida com a inoculação de *B. subtilis*, que por sua vez, não contribuiu (P>0,05) para o aumento da biomassa total em relação à produção obtida pela testemunha (Figura 29A).

Estes resultados revelam que o uso destas bactérias promove uma maior absorção e utilização dos nutrientes disponíveis no solo, o que reflete positivamente

no crescimento e desenvolvimento, consequentemente no aumento da produção de forragem. De acordo Vogel, Martinkoski e Ruzicki (2014), uma das contribuições do uso da inoculação com *A. brasilense* é o aumento da biomassa final da forrageira.

A inoculação com *A. brasilense* associada à adubação de 25 mg dm^{-3} de N, proporcionou (P<0,05) acréscimos na massa seca total do capim Marandu, de 64,2 (51,3%), 35,1 (22,7%) e 36,5 g $vaso^{-1}$ (23,8%), quando confrontado com as produções obtidas na ausência de inoculação, inoculação com *B. subtilis* e a coinoculação, respectivamente. Ainda neste seguimento, a inoculação com *B. subtilis* e a coinoculação, também contribuíram (P<0,05) para a produção de biomassa total, incrementando em 29,2 (23,3%) e 27,8 g $vaso^{-1}$ (22,2%) em relação à produção obtida na ausência de inoculação. As produções de biomassa total obtidas com *B. subtilis* e a coinoculação, foram indiferentes (P>0,05) entre si (Figura 29A).

Com adubações de 50 e 75 mg dm^{-3} de N, as inoculações, tanto nas formas isoladas como na forma combinada, não contribuíram (P>0,05) para o aumento de massa seca total do capim Marandu, quando comparadas a produção obtida na ausência de inoculação (Figura 29A).

Na dose de 50 mg dm^{-3}, a produção de MST com *A. brasilense* foi igual (P>0,05) as obtidas na ausência de inoculação e com a coinoculação, sendo superior (P<0,05) em 28,4 g $vaso^{-1}$ (14,9%) a produção de MST *com B. subtilis*, que por sua vez, teve produção semelhante (P>0,05) a alcançada pela coinoculação. As produções de MST conseguidas pela inoculação com *B. subtilis* e coinoculação, foram inferiores (P<0,05) em 50,3 (20,9%) e 32,4 g $vaso^{-1}$ (13,5%) quando confrontadas com a MST na ausência de inoculação.

Quando associada à adubação de 75 mg dm^{-3} de N, as inoculações com *A. brasilense* e *B. subtilis* não promoveram aumentos (P>0,05) na MST em relação a MST na ausência de inoculação, que por sua vez, tiveram produções indiferentes (P>0,05) entre si. Nesse mesmo sentido, a produção de MST com *A. brasilense* foi igual (P>0,05) a obtida através da coinoculação. Na ausência de inoculação, a produção de MST foi indiferente (P>0,05) a conseguida com *B. subtilis* e diferente (P<0,05) a coinoculada, com incremento de 27,7 g $vaso^{-1}$ (10,3%). A MST com *B.*

subtilis foi superior (P<0,01) em 25,9 g vaso^{-1} (9,7%) comparada com a coinoculada (Figura 29A).

A inoculação com *B. subtilis* associada a 100 mg dm^{-3} de N proporcionou ganhos (P<0,05) de MST de 27,2 (9,3%), 46,4 (16,9%) e 42,5 g vaso^{-1} (15,2%) sobre as produções de MST conseguidas na ausência de inoculação, inoculação com *A. brasilense* e coinoculação, nessa ordem, e estas por sua vez, tiveram produções indiferentes (P>0,05) entre si (Figura 29A).

No desdobramento da dose de N dentro de cada nível de inoculação, não foi possível (P>0,05) ajustes de equações de regressão para a produção de MST do capim Marandu, quando associadas à ausência de inoculação e inoculações isoladas com *A. brasilense* e *B. subtilis*, que obtiveram produções médias de 201,3; 209,5 e 206,6 g vaso^{-1}, respectivamente (Figura 29B).

Houve ajuste (P<0,01) ao modelo de regressão quadrático associado à coinoculação, onde teoricamente, a maior produção de MST (289,9 g vaso^{-1}) foi alcançada com adubação de 123,2 mg dm^{-3} de N.

Considerando uma adubação com 100 mg dm^{-3}, a produção de MST seria de 282,4 g vaso^{-1}, comparando esses valores entre si, a produção de biomassa reduzida em 7,5 g vaso^{-1}, porém, com 23,2 g dm^{-3} de N (18,8%) a menos, além disso, com ausência de adubação nitrogenada, o incremento em produção seria de 205,4 g vaso^{-1} (Figura 29B)

Com o modelo ajustado para MST, ficou evidente que o incremento na produção de biomassa associada com a coinoculação, diminuiu à medida que as doses de N foram aumentando. O maior incremento entre as doses aplicadas foi obtido (77,7 g vaso^{-1}) com 25 mg dm^{-3} de N, o que representa uma variação percentual de 108% em relação ao obtido na ausência de N (Figura 29B). Comparando as produções obtidas com 75 e 100 mg dm^{-3} de N, o incremento foi de 6,0 g vaso^{-1}, com aplicação de 25 mg dm^{-3} de N a mais, o que não é interessante em termos econômicos e ambientais.

De outra forma, em termos de transformação de biomassa (g mg dm^{-3} de N), a combinação “coinoculação+N” obteve com 25, 50, 75, 100 e 123,2 mg dm^{-3} de N, 6,19; 4,30; 3,43; 2,82 e 2,35 g vaso^{-1} para cada mg dm^{-3} de N aplicado,

repectivamente (Figura 29B). Estes valores indica ser uma boa alternativa agronômica, a adoção da coinoculação associada a adubação até 50 mg dm^{-3} de N.

4.6. Proteína Bruta

A análise de variância, referente às médias dos resultados referentes ao teor de proteína bruta (PB) determinado em cada corte do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu estão apresentadas na Tabela 13.

Tabela 13. Resumo da análise de variância e teores médios de proteína bruta (PB) presente na massa seca da parte aérea do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da inoculação ou não com *Azospirillum brasilense* e *Bacillus subtilis*, de forma isolada e combinada, associadas ou não a doses de nitrogênio (N) em cada ciclo de corte constituído por 40 dias de cultivo. Ji-Paraná-RO, 2018

F.V	G.L	PB			
		Corte 1	Corte 2	Corte 3	Corte 4
		Quadrados Médios			
Tratamentos	19	22,66**	13,45**	9,91**	7,41**
Inoculação (I)	3	13,07**	30,02**	13,48**	3,06^{ns}
Doses de N (D)	4	70,25**	20,09**	13,23**	6,38**
I x D	12	9,19**	7,09**	7,91**	8,84**
Erro	80	0,72	0,90	0,73	1,38
C.V. (%)		9,09	9,66	9,74	14,90
Média Geral		9,32	9,84	8,75	7,90
Inoculação		Médias ---------- % ----------			
Sem Inoculação		10,20 a	11,48 a	9,69 a	8,35 a
Azospirillum brasilense		8,80 b	9,22 b	8,88 b	7,56 a
Bacillus subtilis		9,61 a	9,30 b	8,50 bc	7,69 a
A. brasilense + B. subtilis		8,66 b	9,37 b	7,94 c	7,99 a
D.M.S		0,63	0,71	0,63	0,87

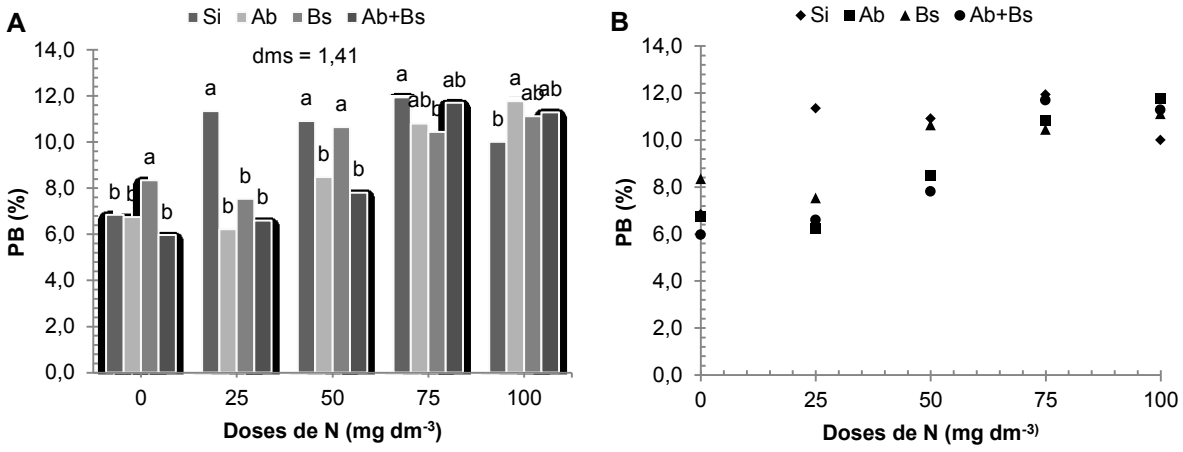
C.V = coeficiente de variação; D.M.S = diferença mínima significativa; ** 1% e * 5% significativos ao teste de F; ^{ns} = não significativo ao teste de F; médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.
Fonte: Elaborado pelo autor.

Os resultados indicam diferenças (P<0,01) dos fatores inoculação e doses de N sobre o teor de PB em todos os ciclos de cultivo, com exceção para o quarto corte, onde o fator inoculação não interferiu (P>0,05) no conteúdo de PB. Houve interação entre inoculação e doses de nitrogênio em todos os cortes do capim

Marandu. As médias obtidas com os níveis do fator inoculação revelam redução nos teores de PB, a partir do segundo corte da gramínea.

No primeiro corte o desdobramento da interação da inoculação dentro das doses de N (Figura 30A), mostrou que na ausência de N, a inoculação com *B. subtilis* proporcionou acréscimos (P<0,05) nos teores de PB de 1,5 (21,9%), 1,6 (23,7%) e 2,4% (39,9%), sobre os teores de PB obtidos nos tratamentos sem inoculação, com inoculação de *A. brasilense* e coinoculação das estirpes de *A. brasilense* e *B. subtilis*, respectivamente, não se verificando distinções (P>0,05) nos teores de PB entre esses tratamentos (média de 6,5% de PB).

Figura 30. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para o teor de proteína bruta (PB) da parte aérea ceifada de *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao primeiro corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018



Médias seguidas de mesma letra sobre as colunas não diferem estatisticamente a 0,05 de probabilidade pelo teste de Tukey; dms = diferença mínima significativa.
Fonte: Elaborado pelo autor

Com o suprimento de 25 mg dm^{-3} de N, comparado ao teor de PB obtido no tratamento sem inoculação, as inoculações tanto nas formas isoladas como na forma combinada, não contribuíram (P<0,05) para o aumento do teor de PB na massa seca do capim Marandu. Com as inoculações de *A. brasilense*, *B. subtilis* e a coinoculação, os teores de PB foram reduzidos em 5,1 (45,2%), 3,8 (33,6%) e 4,8%

de PB (41,9%) nessa ordem, ao serem confrontados com o teor de PB obtido na ausência de inoculação. Entre os tratamentos inoculados não foram detectadas diferenças (P>0,05) nos valores de PB, ficando a média entre eles em torno de 6,8% de PB (Figura 30A).

Quando associada à adubação de 50 mg dm^{-3} de N, a inoculação com *B. subtilis* teve resposta semelhante (P>0,05) ao tratamento não inoculado e acréscimos (P<0,05) de 2,2 (25,5%) e 2,8% de PB (36,4%) em relação ao inoculado com *A. brasilense* e coinoculado, respectivamente, e entre estes, não se verificou diferenças (P>0,05) nos valores de PB (8,1% em média). A inoculação com *A. brasilense* e a coinoculação tiveram comportamento negativo (P<0,05) quando comparados ao tratamento sem inoculação, com decréscimos de 2,4 (22,3%) e 3,1% (28,5%) nos teores de PB, respectivamente (Figura 30A).

Provavelmente, os maiores teores de PB obtidos com ausência de inoculação e associada às doses de 25 e 50 mg dm^{-3} de N, estão relacionados ao fato de o nitrogênio atuar ativamente na síntese de compostos orgânicos que formam a estrutura da gramínea e também da disponibilidade de N via adubação mineral. De acordo com Bonfim-Silva e Monteiro (2006), a disponibilidade de nitrogênio na solução do solo é fundamental na nutrição das plantas, contribuindo para a produção e qualidade da forragem.

Os teores de PB obtidos com a inoculação de *A. brasilense* e coinoculação, associadas à adubação de 75 mg dm^{-3} de N, não diferiram (P>0,05) do obtido com o tratamento sem inoculação (média de 11,5% PB). Não foram observadas diferenças (P>0,05) entre os tratamentos inoculados (média de 11,0% PB). A inoculação isolada com *B. subtilis* reduziu (P<0,05) em 1,5% (12,1%) o valor de PB em comparação ao obtido na ausência de inoculação (Figura 30A).

A inoculação com *A. brasilense* associada à adubação com 100 mg dm^{-3} de N, promoveu incrementos (P<0,05) de 1,8% (17,6%) no teor de PB em relação ao tratamento não inoculado, não diferindo (P>0,05) dos teores de PB obtidos com a inoculação de *B. subtilis* e com a coinoculação (média de 11,4%), que por sua vez, tiveram comportamentos semelhantes (P>0,05) quando comparados ao tratamento sem inoculação (média de 10,8% PB) (Figura 30A).

No desdobramento da interação das doses de N dentro de cada nível de inoculação (Figura 30B), não foi possível ajustes (P>0,05) de equações de regressão para o teor de PB, obtendo-se médias correspondentes a 10,2; 8,8; 9,6 e 8,7% de PB, quando associada aos tratamentos sem inoculação e inoculados com *A. brasilense*, *B. subtilis* e coinoculado, respectivamente, o que indica que no início do cultivo do capim Marandu, a inoculação com *A. brasilense* e *B. subtilis* associada à adubação nitrogenada, não contribuíram para o aumento de PB na parte aérea do capim Marandu, inclusive com teores menores (insignificantes) em relação ao não inoculado, mas mantiveram os níveis de PB acima de 7,0%, que é o mínimo aceitável para o adequado funcionamento da microbiota do rúmen. Segundo Milfor e Minson (1966), teores de PB inferior a 7,0% na matéria seca de gramíneas tropicais promovem a redução da digestão das mesmas em função dos níveis inadequados de nitrogênio.

No segundo corte do capim Marandu, a interação inoculação dentro das doses de N (Figura 31A), demonstrou que nas ausências de inoculação e adubação nitrogenada, as diferentes formas de inoculação, não contribuíram (P>0,05) para o aumento do teor de PB, obtendo entre os tratamentos, média de 8,6% de PB.

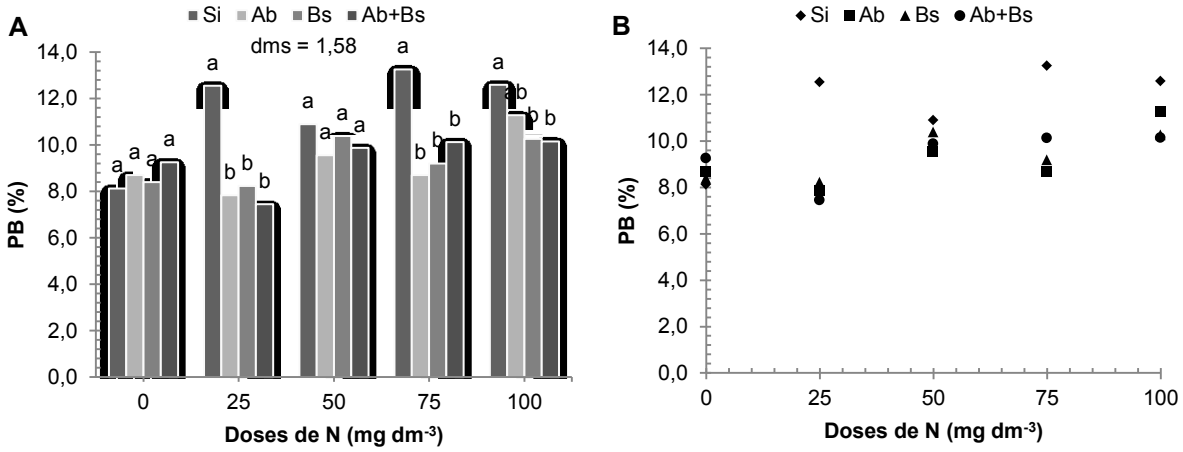
Quando associadas à adubação de 25 mg dm^{-3} de N, as inoculações com *A. brasilense* e *B. subtilis* na forma isolada e coinoculada, apresentaram comportamento negativo (P<0,05) no teor de PB quando comparadas ao obtido no tratamento sem inoculação, apresentando conteúdos de PB inferiores de 4,7 (37,5%), 4,3 (34,4%) e 5,1% de PB (40,6%), respectivamente. Entre os tratamentos inoculados, os teores de PB obtidos foram semelhantes (P>0,05), com média de 7,8% de PB (Figura 31A).

Com o suprimento de 50 mg dm^{-3} de N, as inoculações isoladas com *A. brasilense*, *B. subtilis* e coinoculada, tiveram respostas semelhantes (P>0,05) nos teores de PB comparadas ao teor de PB obtido no tratamento sem inoculação, com valores médios de 10,2% de PB, entre todos os tratamentos (Figura 31A).

Com adubação de 75 mg dm^{-3} de N, as inoculações proporcionaram respostas negativas (P<0,05) em relação ao tratamento não inoculado (13,3% PB) apresentando decréscimos de 4,6 (34,3%), 4,1 (30,6%) e 3,1% de PB (23,5%) quando foram inoculadas com *A. brasilense* e *B. subtilis* na forma isolada, e

coinoculada, respectivamente. Entre os tratamentos inoculados, não houve distinções (P>0,05) nos valores de PB, ficando a média em torno de 9,3% de PB.

Figura 31. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para o teor de proteína bruta (PB) da parte aérea ceifada de *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao segundo corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018



Médias seguidas de mesma letra sobre as colunas não diferem estatisticamente a 0,05 de probabilidade pelo teste de Tukey; dms = diferença mínima significativa.
Fonte: Elaborado pelo autor

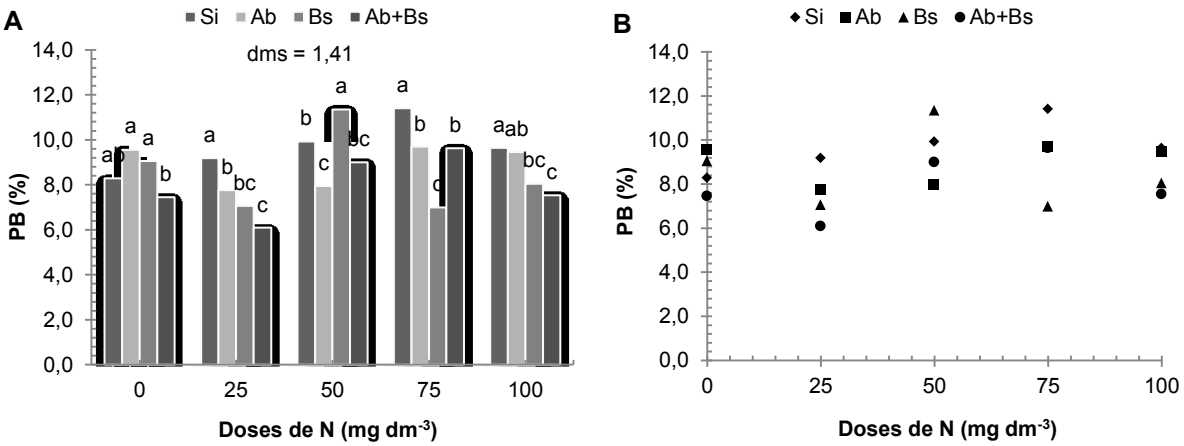
Com suprimento de 100 mg dm^{-3} de N, apenas o tratamento inoculado com *A. brasilense* teve resposta semelhante (P>0,05) ao obtido na ausência de inoculação. Os tratamentos com *B. subtilis* e coinoculado apresentaram respostas negativas (P<0,05) em relação ao tratamento não inoculado, com decréscimos de 2,3 (18,4%) e 2,4% de PB (19,4%), respectivamente. Não houve distinções (P>0,05) nos valores de PB entre os tratamentos inoculados, apresentando, em média, 10,6% de PB (Figura 31A).

O desdobramento da interação das doses de N em cada nível do fator inoculação, não permitiu ajustes de equações de regressão (P>0,05) para o teor de PB na massa seca do capim Marandu (Figura 31B). Independentemente das doses de N, as médias associadas aos tratamentos não inoculados, inoculados com *A.*

brasilense, *B. subtilis* e coinoculado com *A. brasilense* e *B. subtilis*, foram estimados em 11,5; 9,2; 9,1 e 9,4% de PB, respectivamente.

No terceiro corte do capim Marandu, o desdobramento da interação da inoculação dentro das doses de N mostrou que na ausência da adubação nitrogenada, as inoculações com *A. brasilense* e *B. subtilis*, tanto nas formas isoladas como na forma combinada, não contribuíram (P>0,05) para o aumento do teor de PB, quando confrontadas com o tratamento não inoculado, cuja média entre os tratamentos, foi estimada em 8,6% de PB (Figura 32A). Os tratamentos inoculados com *A. brasilense* e *B. subtilis* promoveram acréscimos (P<0,05) de 2,1 (28,3%) e 1,6% (21,5%) nos teores de PB em comparação ao tratamento coinoculado, sendo indiferentes (P>0,05) entre si, com valores médios de 9,3% de PB.

Figura 32. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para o teor de proteína bruta (PB) da parte aérea ceifada de *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao terceiro corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018



Médias seguidas de mesma letra sobre as colunas não diferem estatisticamente a 0,05 de probabilidade pelo teste de Tukey; dms = diferença mínima significativa.
Fonte: Elaborado pelo autor

Com a aplicação de 25 mg dm^{-3} de N, os tratamentos inoculados com *A. brasilense*, *B. subtilis* e coinoculado, reduziram (P<0,05) os teores de PB em 1,4

(15,6%), 2,1 (23,2%) e 3,1% (33,7%) nessa ordem, quando comparado ao tratamento não inoculado (9,2% PB). Entre os tratamentos inoculados, o *A. brasilense* teve melhor desempenho (P<0,05) em relação ao coinoculado, com acréscimos de 1,7% de PB (27,4%), e resposta indiferente (P>0,05) em relação ao inoculado com *B. subtilis*, com 7,4% de PB, em média, para os dois tratamentos.

A inoculação com *B. subtilis* associada à dose de 50 mg dm^{-3} de N, proporcionou acréscimos (P<0,05) de 1,4 (14,3%), 3,4 (42,8%) e 2,4% no teor de PB (26,1%), quando confrontados com os teores de PB obtidos na ausência de inoculação e inoculados com *A. brasilense* e coinoculado, respectivamente. O teor de PB obtido com *A. brasilense* foi inferior (P<0,05) em 2,0% (19,9%) em relação ao não inoculado (9,9% PB). Não houve resposta (P>0,05) da coinoculação sobre o tratamento não inoculado, ficando com 7,5% de PB, em média (Figura 32A).

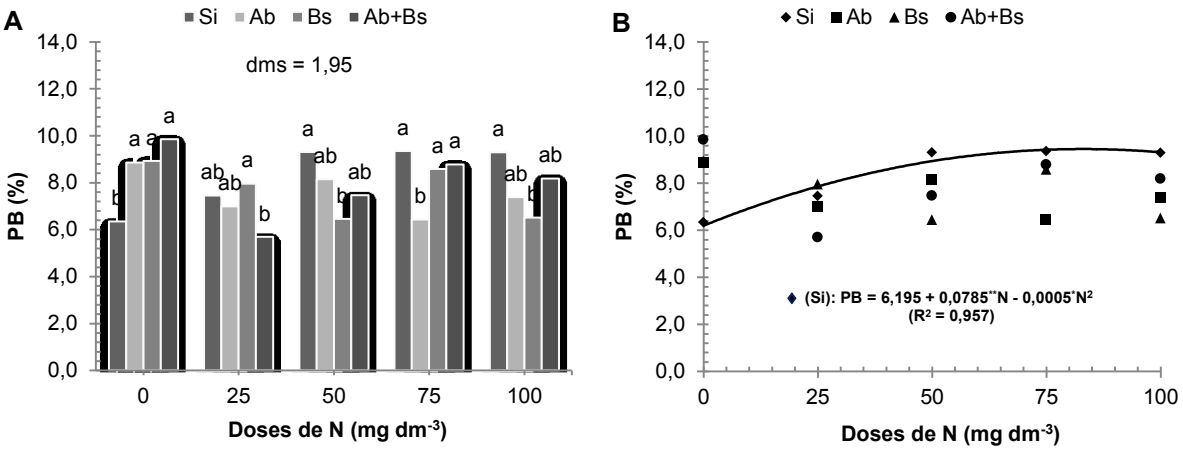
Com adubação de 75 mg dm^{-3} de N, os tratamentos inoculados proporcionaram efeitos negativos (P<0,05) em relação ao tratamento não inoculado (11,4% PB) com reduções de 1,7 (15,1%), 4,4 (38,7%) e 1,8% de PB (15,6%) quando inoculados com *A. brasilense*, *B. subtilis* e coinoculado, respectivamente (Figura 32A). A inoculação com *A. brasilense* e a coinoculação obtiveram acréscimos (P<0,05) de 2,7 (38,6%) e 2,6% de PB (37,8%) sobre o valor de PB obtido com *B. subtilis*, não diferindo (P>0,05) estes, entre si (média de 9,7% de PB).

Com adose de 100 mg dm^{-3} de N, a inoculação com *B. subtilis* e a co-inoculação, tiveram desempenhos inferiores (P<0,05) ao obtido no tratamento sem inoculação, com redução de 1,6 (16,9%) e 2,1% nos teores de PB (21,8%), respectivamente. O valor de PB alcançado com a inoculação de *A. brasilense* foi indiferente (P>0,05) aos obtidos no tratamento sem inoculação (média de 9,5%) e inoculado com *B. subtilis* (média de 8,8% PB). O teor de PB com a inoculação de *B. subtilis* foi semelhante (P>0,05) ao obtido com a coinoculação (Figura 32A).

O desdobramento da interação das doses de N dentro dos níveis de inoculação (Figura 32B), não possibilitou ajustes (P>0,05) de equações de regressão para o teor de PB quando associadas aos tratamentos não inoculado, inoculados com *A. brasilense, B. subtilis* e coinoculação, obtendo-se, independentemente dos níveis de adubação, médias respectivas de 9,7; 8,9; 8,5 e 7,9% de PB.

No quarto corte do capim Marandu, o desdobramento da interação inoculação dentro dos níveis de N (Figura 33A) mostrou que, na ausência de N, as inoculações isoladas com *A. brasilense* e *B. subtilis*, e a inoculação combinada com as estirpes de *A. brasilense* e *B. subtilis*, propiciaram acréscimos (P<0,05) de 2,5 (39,7%), 2,6 (40,9%) e 3,5% (55,4%), respectivamente, no teor de PB, quando comparadas ao tratamento não inoculado. Entre os tratamentos inoculados, os valores de PB foram indiferentes (P>0,05) entre si, com valores médios de 9,2% de PB.

Figura 33. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para o teor de proteína bruta (PB) da parte aérea ceifada de *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao quarto corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018



Médias seguidas de mesma letra sobre as colunas não diferem estatisticamente a 0,05 de probabilidade pelo teste de Tukey; dms = diferença mínima significativa.
Fonte: Elaborado pelo autor

Quando associada à adubação com 25 mg dm^{-3} de N, as inoculações tanto na forma isolada como na forma combinada, não contribuíram (P>0,05) para o aumento dos teores de PB em relação a tratamento sem inoculação, ficando a média dos tratamentos em torno de 7,0% de PB. Nesse nível de adubação, a inoculação com *B. subtilis* propiciou incrementos (P<0,05) de 2,3% de PB (39,9%) sobre o tratamento coinoculado (Figura 33A). Já com a dose de 50 mg dm^{-3} de N, a inoculação isolada com *B. subtilis* apresentou efeito negativo (P<0,05), em relação

ao tratamento não inoculado, com decréscimos de 2,9% no teor de PB. A inoculação com *A. brasilense* e a coinoculação obtiveram teores de PB semelhantes (P>0,05), com média em torno de 8,3% de PB.

O tratamento inoculado com *A. brasilense* associado à adubação de 75 mg dm^{-3} de N teve comportamento negativo (P<0,05) em relação ao não inoculado, com redução de 2,9% no teor de PB, enquanto que os tratamentos inoculados com *B. subtilis* e coinoculado, tiveram comportamento similar (P>0,05) ao não inoculado (média de 8,9% de PB), e superiores (P<0,05) ao inoculado com *A. brasilense* em 2,2 (33,4%) e 2,4% de PB (36,5%), respectivamente (Figura 33A).

Já quando associado à adubação de 100 mg dm^{-3} de N, os tratamentos inoculados com *A. brasilense* e coinoculado, não contribuíram (P>0,05) nos valores de PB quando confrontados com o tratamento não inoculado, obtendo produção média de 8,3% de PB, entre eles.

A inoculação com *B. subtilis* reduziu (P<0,05) em 2,8% o teor de PB (30,4%) em relação ao tratamento sem inoculação. Entre os tratamentos inoculados, os teores obtidos de PB foram indiferentes (P>0,05) entre si, obtendo média de 7,4% de PB.

O desdobramento da interação das doses de N dentro de cada nível de inoculação (Figura 33B), não possibilitou ajustes de equações (P>0,05) para os tratamentos inoculados com *A. brasilense*, *B. subtilis* e coinoculado, obtendo médias respectivas de 7,6; 7,7 e 8,0% de PB.

Contudo, foi possível ajuste ao modelo quadrático (P<0,01) quando associado ao tratamento não inoculado. Com a equação ajustada, o valor máximo estimado de 9,3% de PB foi alcançado com adubação de 78,5 mg dm^{-3} de N, proporcionando incrementos de 3,1% no teor de PB na ausência do fertilizante nitrogenado.

Os valores médios obtidos com os tratamentos inoculados indicam uma redução de 1,7 (-18,2%), 1,6 (-17,2%) e 1,3% (-14,0%) de PB em relação ao tratamento não inoculado, o que sugere uma perda da qualidade nutricional da forragem produzida com as inoculações de *A. brasilense*, *B. subtilis* e coinoculação, respectivamente, com essas bactérias.

4.7. Acúmulos de Nitrogênio

A análise de variância e as médias de acúmulos de nitrogênio (N_{ac}) na massa seca do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, para cada ciclo de corte, estão apresentadas na Tabela 14. Em todos os cortes da gramínea, houve efeitos (P<0,01) da interação dos fatores inoculação *versus* doses de N no acúmulo de nitrogênio nas plantas.

Tabela 14. Resumo da análise de variância e acúmulos médios de nitrogênio (N_{ac}) na parte aérea ceifada de *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da inoculação ou não com *Azospirillum brasilense* e *Bacillus subtilis*, de forma isolada e combinada, associadas ou não a doses de nitrogênio em cada ciclo de corte constituído por 40 dias de cultivo. Ji-Paraná-RO, 2018

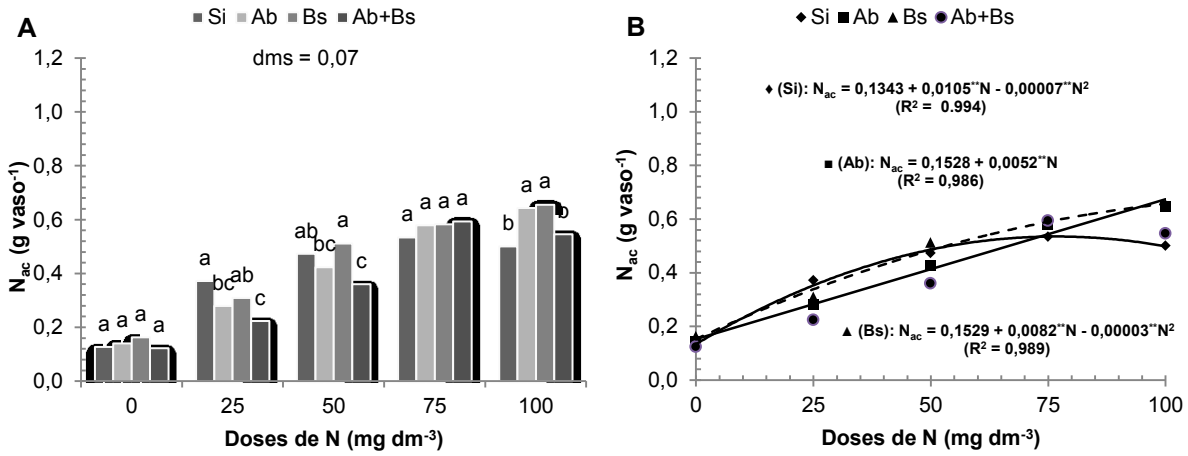
F.V	G.L	N_{ac}			
		Corte 1	Corte 2	Corte 3	Corte 4
		Quadrados Médios			
Tratamentos	19	0,1644**	0,3616**	1,3178**	1,2120**
Inoculação (I)	3	0,0240**	0,0065^{ns}	0,5731**	0,1552*
Doses de N (D)	4	0,7254**	1,5610**	4,5784**	4,7598**
I x D	12	0,0125**	0,0506**	0,4171**	0,2937**
Erro	80	0,0019	0,0045	0,0157	0,0398
C.V. (%)		10,79	12,18	14,19	19,49
Média Geral		0,41	0,55	0,88	1,02
Inoculação		**Médias** ---------- g vaso^{-1} ----------			
Sem Inoculação		0,401 bc	0,564 a	1,096 a	1,139 a
Azospirillum brasilense		0,413 ab	0,540 a	0,872 b	0,979 b
Bacillus subtilis		0,445 a	0,530 a	0,816 bc	0,967 b
A. brasilense + B. subtilis		0,370 c	0,559 a	0,745 c	1,009 ab
D.M.S		0,033	0,050	0,093	0,148

C.V = coeficiente de variação; D.M.S = diferença mínima significativa; ** 1% e * 5% significativos ao teste de F; ^{ns} = não significativo ao teste de F; médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.
Fonte: Elaborado pelo autor.

No primeiro corte, mediante o desdobramento da interação da inoculação dentro das doses de N (Figura 34A), verificou-se que na ausência de N, os tratamentos inoculados com *A. brasilense* e *B. subtilis*, tanto na forma isolada como na forma combinada, não contribuíram (P>0,05) para o aumento da quantidade de N

na parte aérea das plantas, comparado ao tratamento não inoculado, obtendo-se acúmulo de 0,14 g vaso^{-1} de N, em média.

Figura 34. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para o acúmulo de nitrogênio (N_{ac}) na parte aérea ceifada de *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao primeiro corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018



Médias seguidas de mesma letra dentro de cada tratamento não diferem estatisticamente a 0,05 de probabilidade pelo teste de Tukey; dms = diferença mínima significativa.
Fonte: Elaborado pelo autor.

A ausência de efeitos da inoculação, seja na forma isolada como na forma combinada, sobre o tratamento não inoculado, pode estar relacionada com o teor inicial de matéria orgânica presente no solo, já dito anteriormente.

Nesse sentido, a decomposição da matéria orgânica pode ter disponibilizado nitrogênio na solução do solo, o suficiente para atender as exigências nutricionais de nitrogênio da gramínea, por conseguinte, ter reduzido o potencial de associação entre as bactérias na rizosfera das plantas e inibido os efeitos benéficos das inoculações no comportamento da gramínea.

Araújo e Pedroso (2013), verificando a colonização da rizosfera de *Brachiaria decumbens*, *Brachiaria brizantha* e *Panicum maximum*, com bactérias do gênero *Bacillus* spp., observaram correlação negativa entre a colonização bacteriana e o teor de matéria orgânica no solo indicando que a maior disponibilidade deste

substrato orgânico no solo seja mais interessante para as bactérias, em situações desfavoráveis na rizosfera.

O tratamento inoculado com *A. brasilense* e coinoculado, associados à adubação de 25 mg dm^{-3} de N, tiveram comportamento negativo ($P<0,05$) em relação ao tratamento não inoculado, com redução de 0,09 (24,3%) e 0,15 g $vaso^{-1}$ de N (41,7%) na massa seca do capim Marandu. O acúmulo de N obtido com a inoculação de *B. subtilis* não diferiu ($P>0,05$) do não inoculado, mas foi superior ($P<0,05$) ao coinoculado em 0,09 g $vaso^{-1}$ (40,9%) (Figura 34A).

A inoculação com *A. brasilense* e *B. subtilis* mais a adubação com 50 mg dm^{-3} de N, não contribuíram ($P>0,05$) para o acúmulo de N na parte aérea do capim, enquanto que a coinoculação reduziu ($P<0,05$) em 0,11 g $vaso^{-1}$ (23,4%), quando estas foram confrontadas com o N_{ac} obtido sem inoculação. Entre os tratamentos inoculados, a inoculação com *B. subtilis* apresentou melhor desempenho ($P<0,05$) em relação ao inoculado com *A. brasilense* e coinoculado, com aumentos respectivos de 0,09 (21,4%) e 0,15 g $vaso^{-1}$ (41,7%) na parte aérea do capim Marandu (Figura 34A). Já com a adubação de 75 mg dm^{-3} de N, os tratamentos inoculados tiveram o mesmo comportamento ($P>0,05$) em relação ao não inoculado, com acúmulo de 0,57 g $vaso^{-1}$ de N, em média.

Os tratamentos inoculados com *A. brasilense* e *B. subtilis* e adubados com 100 mg dm^{-3} de N, promoveram aumentos ($P<0,05$) respectivos de 0,14 (28,0%) e 0,16 g $vaso^{-1}$de N (32,0%) em relação ao tratamento não inoculado, e com melhor desempenho ($P<0,05$) sobre o coinoculado, com acréscimos de 0,09 (16,4%) e 0,11 g $vaso^{-1}$ de N na parte aérea da gramínea (Figura 34A).

No geral, os resultados mostram respostas da gramínea ao acúmulo de N pela adubação nitrogenada e pelas inoculações isoladas de *A. brasilense* e *B. subtilis* no acúmulo de N na biomassa do capim Marandu e insinuam o potencial dessas bactérias na assimilação de nitrogênio.

Ao longo do ciclo de cultivo do capim Marandu, as extrações de N foram aumentando com o aumento das doses de N associadas ou não as inoculações; assim, pode inferir que estes acréscimos estão relacionados com o aumento da produção de biomassa seca, uma vez que o aumento na disponibilidade de N na solução do solo promove o crescimento da gramínea. De acordo com Silva *et al*.

(2009), aumentando a produção de massa seca, aumenta os teores de N_{ac} na biomassa.

Os maiores valores de N_{ac} nos tratamentos inoculados com *A. brasilense* e *B. subtilis* demonstram que existe alguma influência microbiana na disponibilização deste nutriente para a planta, e pode ter sido promovido pela fixação biológica de N e pelos efeitos benéficos das bactérias na assimilação de nitrogênio e no aumento da superfície de absorção de água e nutrientes das raízes.

O desdobramento da interação das doses de N dentro dos níveis de inoculação (Figura 34B) proporcionou ajustes ($P<0,01$) de regressão quadrática na ausência de inoculação e quando associada à inoculação com *B. subtilis*, e linear com a inoculação de *A. brasilense*. Não foi possível ajuste ($P>0,05$) de função para o tratamento coinoculado com as estirpes de *A. brasilense* e *B. subtilis*, obtendo acúmulos médios de 0,37 g $vaso^{-1}$ de N na massa seca do capim Marandu.

Com os modelos quadráticos ajustados, na ausência de inoculação, a máxima quantidade de N_{ac} (0,53 g $vaso^{-1}$ de N) na massa seca da gramínea foi obtida com a aplicação de 75 mg dm^{-3} de N, proporcionando incremento de 0,40 g $vaso^{-1}$ (294,6%), em relação a menor quantidade de N_{ac} na ausência da adubação nitrogenada. Por sua vez, quando associada à inoculação com *B. subtilis*, o máximo N_{ac} (0,71 g $vaso^{-1}$) foi atingido com dose de 136,7 g dm^{-3} de N, valor acima do limite máximo de adubação neste estudo, contudo, representando um incremento 0,56 g $vaso^{-1}$ de N (364,4%), em relação ao menor valor de N_{ac} na ausência dessa combinação (Figura 34B)..

O modelo linear ajustado à inoculação com *A. brasilense* proporcionou acúmulos de 0,67 g $vaso^{-1}$de N com aplicação de 100 mg dm^{-3} de N, e permitiram incrementos de 0,0052 g N_{ac} para cada mg dm^{-3} de N aplicado (5,2 mg N_{ac} g^{-1} dm^{-3} de N). Além disso, possibilitou acréscimos de 0,51 g $vaso^{-1}$ (338,5%) com o uso dessa associação, quando comparada ao N_{ac} na ausência dessa técnica agronômica.

Numa análise mais simples desses resultados, para cada g $vaso^{-1}$ de N_{ac}, foi necessário aplicar 141,5, 149,3 e 192,5 mg dm^{-3} de N com os tratamentos sem inoculação e inoculados com *A. brasilense* e *B. subtilis*, respectivamente. De outra forma, considerando os demais fatores de produção constantes neste ciclo de cultivo

da gramínea, o acúmulo de 1,0 g vaso^{-1} de N obtido sem inoculação representa redução de 5,5 e 36,0% no uso de N, em relação às inoculações com *A. brasilense* e *B. subtilis*, nessa ordem (Figura 34B).

De outra forma, supondo a limitação de 75 mg dm^{-3} de N sobre as equações ajustadas nos tratamentos sem inoculação e nos inoculados com *A. brasilense* e *B. subtilis*, as quantidades acumuladas de N na massa seca do capim, após os primeiros 40 dias de cultivo do capim Marandu foram nessa ordem, 0,53; 0,67 e 0,60 g vaso^{-1}, que correspondem a "taxa de acúmulo" de 71, 89 e 80 mg N_{ac} g^{-1} dm^{-3} de N aplicado (Figura 34B). Isto indica que os maiores incrementos de N na planta, são obtidos através da associação de N com as inoculações de *A. brasilense* (25,4%) e *B. subtilis* (12,6%), quando confrontadas ao tratamento não inoculado. Entre as duas bactérias, a inoculação com *A. brasilense* foi mais eficiente (11,3%) do que a inoculação com *B. subtilis*.

No segundo corte, através do desdobramento da interação da inoculação dentro das doses de N (Figura 35A), contatou-se que, sem adubação nitrogenada, as inoculações com as estirpes de *A. brasilense* e *B. subtilis* tiveram comportamentos semelhantes (P>0,05) entre si e quando comparadas ao tratamento sem inoculação, acumulando em média, 0,16 g vaso^{-1} de N na massa seca da gramínea.

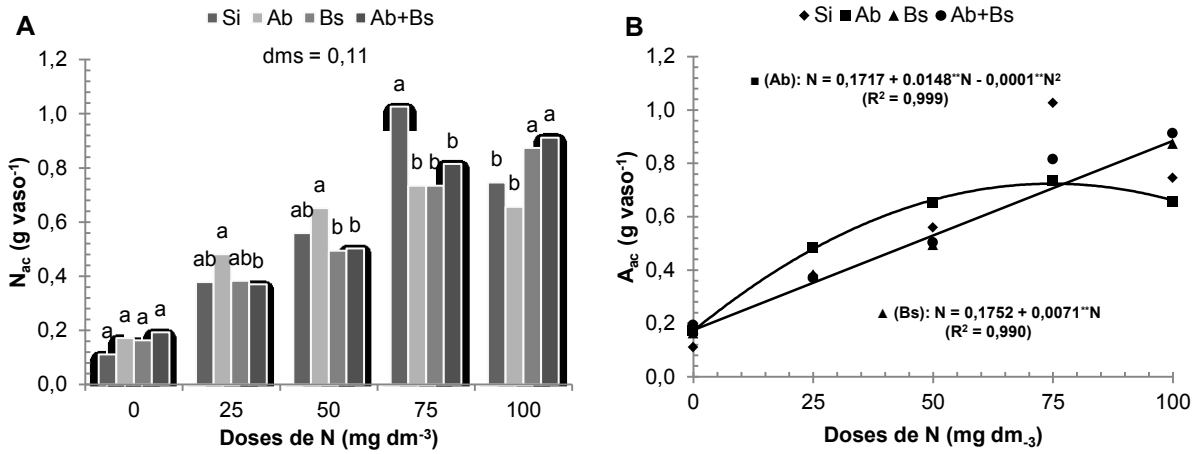
Os tratamentos inoculados associados à dose de 25 mg dm^{-3} de N, não contribuíram (P>0,05) para o acúmulo de N na parte aérea do capim, em relação ao tratamento não inoculado. Entre os inoculados, a inoculação com *A. brasilense* proporcionou acréscimos (P<0,05) de 0,11 g vaso^{-1} de N (29,7%) em relação ao acúmulo de N obtido no tratamento coinoculado (Figura 35A).

Já com o suprimento de 50 mg dm^{-3}, os tratamentos inoculados não proporcionaram acréscimos (P>0,05) nos acúmulos de N na massa seca do capim em relação ao tratamento não inoculado. Entre os tratamentos inoculados, destaque para a inoculação com *A. brasilense*, que obteve acréscimos (P<0,05) de 0,15 g vaso^{-1} (30,0%) sobre os tratamentos com *B. subtilis* e coinoculado.

As inoculações acompanhadas da adubação de 75 mg dm^{-3} de N, tiveram comportamento negativo (P<0,05) em relação ao tratamento não inoculado, o que proporcionou redução (P<0,05) no acúmulo de N, correspondentes a 0,29 g vaso^{-1}

(28,2%) em relação aos tratamentos inoculados com *A. brasilense* e com *B. subtilis* e 0,21 g vaso^{-1} (20,4%) sobre o coinoculado (Figura 35A).

Figura 35. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B)para o acúmulo de nitrogênio (N_{ac}) na parte aérea ceifadade *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e dainoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao segundo corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018



Médias seguidas de mesma letra dentro de cada tratamento não diferem estatisticamente a 0,05 de probabilidade pelo teste de Tukey; dms = diferença mínima significativa.
Fonte: Elaborado pelo autor.

No entanto, quando combinado à aplicação de 100 mg dm^{-3} de N, os tratamentos inoculado com *B. subtilis* e coinoculado, proporcionaram aumentos (P<0,05) no acúmulo de N de 0,12 (16%) e 0,16 g vaso^{-1} (21,3%) sobre o não inoculado, respectivamente, e de 0,21 (31,8%) e 0,25 g vaso^{-1} (37,9%) ao inoculado com *A. brasilense*, nessa ordem, que por sua vez, teve comportamento igual (P>0,05) ao tratamento não inoculado.

O desdobramento da interação das doses de N em cada nível de inoculação (Figura 35B) constatou que na ausência de inoculação, a adubação nitrogenada não contribuiu (P>0,05) para o aumento de N na massa seca do capim Marandu, o mesmo ocorreu, quando da aplicação de N vinculada a coinoculação, obtendo-se médias respectivas, de 0,57 e 0,56 g vaso^{-1}de Nna massa seca do capim Marandu.

A adubação nitrogenada associada à inoculação com *A. brasilense* promoveu ajuste quadrático (P<0,01) no acúmulo de N na planta, alcançando 0,72 g

vaso^{-1} com dose de 74,0 mg dm^{-3} de N, superando em 4,2 vezes o menor valor obtido na ausência dessa combinação. Por sua vez, a adubação de N associada à inoculação com *B. subtilis*, propiciou aumentos lineares crescentes (P<0,01) de N_{ac}, obtendo-se com aplicação de 100 mg dm^{-3}, acúmulo de 0,89 g vaso^{-1}, o que possibilitou incrementos de 0,0071 g de N_{ac} em cada mg dm^{-3} de N aplicado (7,1 mg N_{ac} para cada g dm^{-3} de N) (Figura 35B).

Comparando esses resultados com os modelos ajustados, observou-se que o N_{ac} com inoculação de *B. subtilis* foi superior em 23,6% ao N_{ac} com *A. brasilense*, no entanto, com 35,1% a mais de N na adubação. De outro modo, a "taxa de acúmulo de N_{ac}" obtida com *A. brasilense* (9,7 mg N_{ac} g^{-1} dm^{-3} N) foi superior em 9,0% à obtida com *B. subtilis* (8,9 mg N_{ac} g^{-1} dm^{-3} N), o que indica ser a combinação N+*A. brasilense* mais eficiente na extração de N (Figura 35B).

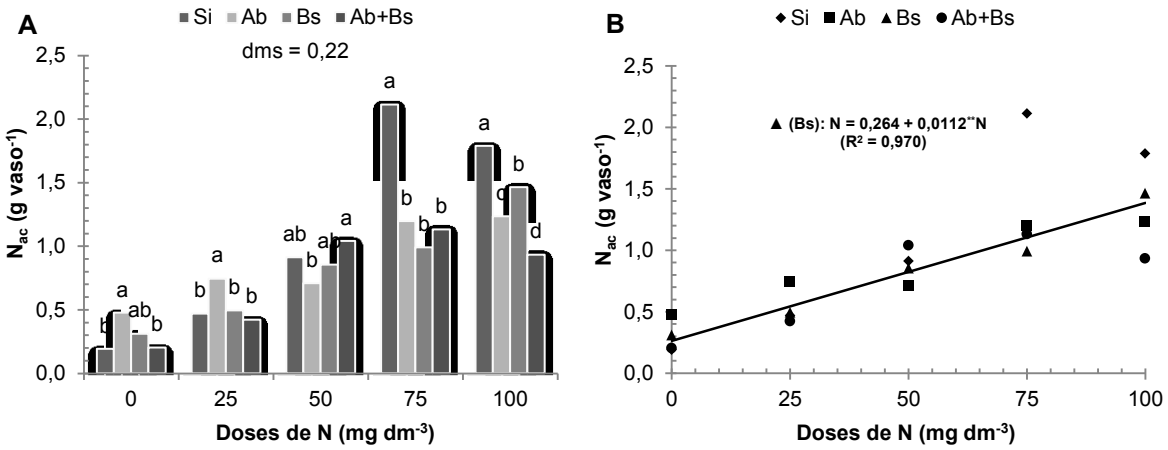
No terceiro corte do capim Marandu, o desdobramento da interação da inoculação dentro de doses de N (Figura 36A), proporcionou efeitos positivos, indiferentes e negativos das inoculações, no acúmulo de N na massa seca da parte aérea do capim Marandu, quando associadas à ausência ou presença de adubação nitrogenada.

Na ausência de N, o tratamento inoculado com *A. brasilense* proporcionou acréscimos (P<0,05) no acúmulo de N de 0,29 (152,6%) e de 0,28 g vaso^{-1} (140,0%) quando comparado aos obtidos nos tratamentos sem a presença de inoculação e coinoculado, respectivamente, e efeitos indiferentes (P>0,05) em relação ao inoculado com *B. subtilis*. A inoculação com *B. subtilis* e a coinoculação apresentaram resultados semelhantes (P>0,05) entre si e quando comparados ao tratamento sem inoculação (Figura 36A).

Com a adição de 25 mg dm^{-3} de N, a inoculação com *A. brasilense* possibilitou aumentos (P<0,05) de N na massa seca do capim Marandu de 0,27 (57,4%), 0,24 (48,0%) e 0,32 g por vaso^{-1} (76,2%), quando confrontados com os obtidos nos tratamentos sem inoculação, inoculado com *B. Subtilis* e coinoculado, que por sua vez, tiveram comportamentos iguais (P>0,05) entre si (Figura 36A). Já os tratamentos inoculados e combinados com a aplicação de 50 mg dm^{-3} de N, não contribuíram (P>0,05) para o aumento da quantidade de N na massa seca do capim

Marandu quando relacionados ao tratamento sem inoculação, e quando aumentada as doses para 75 e 100 mg dm^{-3} de N, apresentaram efeitos negativos.

Figura 36. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para o acúmulo de nitrogênio (N_{ac}) na parte aérea ceifada de *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao terceiro corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018



Médias seguidas de mesma letra dentro de cada tratamento não diferem estatisticamente a 0,05 de probabilidade pelo teste de Tukey; dms = diferença mínima significativa.
Fonte: Elaborado pelo autor.

Com adubação de 75 mg dm^{-3} de N, as inoculações com *A. brasilense*, *B. subtilis* e a coinoculação, promoveram reduções (P<0,05) no acúmulo de N da ordem de 0,91 (43,1%), 1,12 (53,1%) e 0,98 g $vaso^{-1}$ (46,4%), respectivamente, não sendo observados diferenças (P>0,05) entre as inoculações (Figura 36A).

Também com a adição de 100 mg dm^{-3} de N, as reduções (P<0,05) no acúmulo de N, nessa mesma sequência, foram de 0,55 (30,7%), 0,33 (18,4%) e 0,86 g $vaso^{-1}$ (48,0%). Houve diferenças (P<0,05) entre os tratamentos inoculados, onde a inoculação com *B. subtilis* promoveu acréscimos de 0,22 (17,4%) e 0,53 g $vaso^{-1}$de N(57,0%) em relação aos inoculados com *A. brasilense* e coinoculado, respectivamente, enquanto que a inoculação com *A. brasilense* foi superior a coinoculação em 0,31 g $vaso^{-1}$ (33,3%).

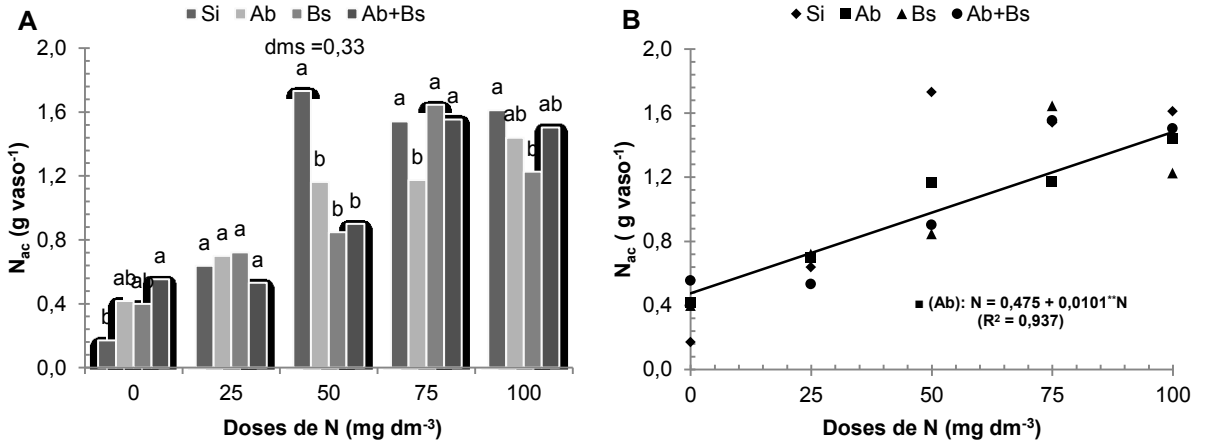
Mediante ao desdobramento da interação das doses de N em cada nível de inoculação (Figura 36B), a aplicação de N associada aos tratamentos não inoculado,

inoculado com *A. brasilense* e coinoculado, não contribuíram (P>0,05) para o aumento da quantidade de N na parte aérea do capim Marandu, obtendo valores médios de 1,09, 0,87 e 0,74 g vaso^{-1} de N, respectivamente.

A adubação nitrogenada associada à inoculação com *B. subtilis*, promoveu resposta linear crescente (P<0,01) no acúmulo de N na planta, alcançando 1,38 g por vaso^{-1} quando adicionada a dose de 100 mg dm^{-3} de N, o que possibilitou acréscimos de N na massa seca do capim Marandu de 1,12 g vaso^{-1} (422,7%), em relação ao menor valor obtido na ausência de N+*B. subtilis* (Figura 36B).

No quarto corte da gramínea, balizado pelo desdobramento da interação da inoculação dentro das doses de N (Figura 37A), verificou-se que, as inoculações com *A. brasilense* e *B. subtilis*, tanto na forma isolada como na forma combinada, promoveram acréscimos de N na parte aérea do capim marandu, apenas em relação à testemunha absoluta (ausências de N e de inoculação).

Figura 37. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para o acúmulo de nitrogênio (N_{ac}) na parte aérea ceifada de *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao quarto corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018



Médias seguidas de mesma letra dentro de cada tratamento não diferem estatisticamente a 0,05 de probabilidade pelo teste de Tukey; dms = diferença mínima significativa.
Fonte: Elaborado pelo autor.

Nesse sentido, foram observados acréscimos de (P<0,05) de 0,25 (147,1%), 0,23 (135,3%) e 0,38 g vaso^{-1} de N_{ac} (223,5%), quando realizadas as inoculações

com *A. brasilense*, *B. subtilis* e coinoculação, respectivamente, não havendo distinções (P>0,05) entre os tratamentos inoculados.

Quando combinados com a adubação de 25 mg dm^{-3} de N, os tratamentos inoculados não proporcionaram efeitos (P>0,05) no acúmulo de N na matéria seca das plantas em relação ao tratamento não inoculado e nem entre si, ficando a média entre os tratamentos de 0,65 g $vaso^{-1}$de N_{ac} (Figura 37A).

Já a partir da aplicação de 50 mg dm^{-3} de N, os tratamentos inoculados proporcionaram efeitos negativos (P<0,05) e indiferentes (P>0,05) na quantidade de N acumulado, quando confrontados com o tratamento não inoculado. Nesse suprimento, os tratamentos inoculados com *A. brasilense*, *B. subtilis* e coinoculado, reduziram o N nas plantas em 0,57 (32,9%), 0,88 (50,9%) e 0,83 g $vaso^{-1}$ (48,0%), nessa ordem, não havendo destaques (P>0,05) entre eles.

O tratamento inoculado com *A. brasilense* associada à dose de 75 mg dm^{-3} de N, reduziu (P<0,05) em 0,37 g $vaso^{-1}$ (24,0%) quando comparado ao não inoculado, enquanto que os tratamentos inoculados com *B. subtilis* e coinoculado, não contribuíram (P>0,05) para o acumulo de N, sendo indiferentes entre si (P>0,05), contudo, estes, incrementaram (P<0,05) em 0,48 (41,0%) e 0,38 g $vaso^{-1}$ (32,5%) quando comparado ao inoculado com *A. brasilense* (Figura 37A).

Da mesma forma a inoculação com *B. subtilis* associada à dose de 100 mg dm^{-3}, interferiu (P<0,05) no acúmulo de N, com decréscimos de 0,38 g $vaso^{-1}$ (23,6%) em relação ao tratamento sem inoculação, e indiferente (P>0,05) aos outros tratamentos inoculados. A inoculação com *A. brasilense* e a coinoculação tiveram comportamentos semelhantes (P>0,05) ao não inoculado.

Por meio do desdobramento da interação das doses de N dentro dos níveis de inoculação (Figura 37B), verificou-se que a adubação nitrogenada, quando associada aos tratamentos sem inoculação, inoculado com *B. subtilis* e coinoculado, não propiciou ajustes de equações (P>0,05) para determinação do acúmulo de N nas plantas, obtendo médias de 1,14; 0,97 e 1,01 g $vaso^{-1}$ de N, nessa ordem.

Houve efeito significativo (P<0,01) linear e positivo, da associação doses de N e inoculação com *A. brasilense* na determinação do N acumulado, obtendo-se 1,49 g $vaso^{-1}$de N com a dose de 100 mg dm^{-3} de N, proporcionado ganhos de 1,02 g $vaso^{-1}$ (114,7%) em comparação ao N_{ac} obtido sem a presença da adubação e

inoculação com *A. brasilense*. Nesse modelo foi possível obter acúmulos de 10,1 mg de N_{ac} em cada g dm^{-3} de N aplicado na adubação.

4.8. Acúmulos de Fósforo

A análise de variância e as médias de acúmulos de fósforo (P_{ac}) na massa seca do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, para cada ciclo de cultivo, estão exibidas na Tabela 15. Em todos os cortes da gramínea, houve efeitos (P<0,01) dos fatores isolados e da interação da inoculação *versus* doses de nitrogênio no acúmulo de fósforo nas plantas.

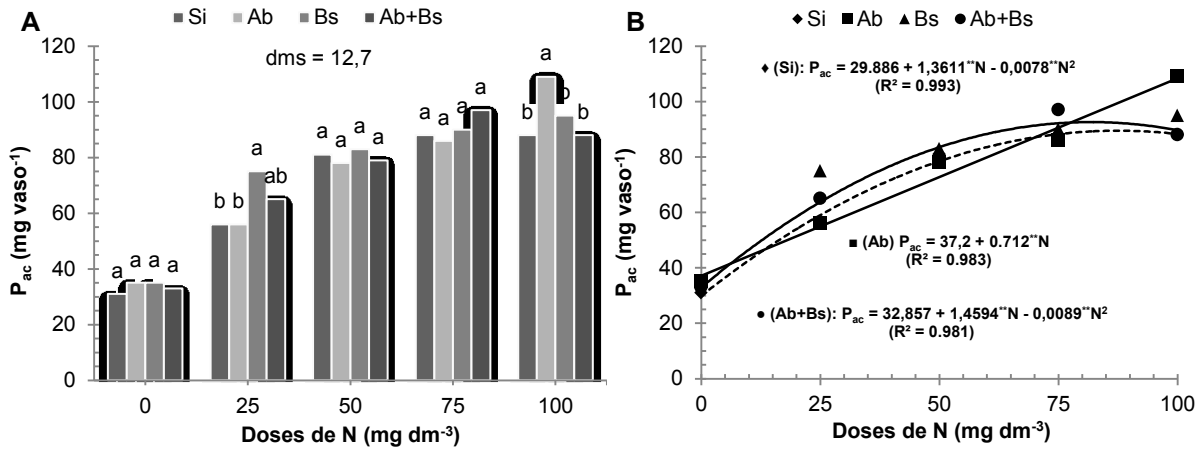
Tabela 15. Resumo da análise de variância e acúmulos médios de fósforo (P_{ac}) na parte aérea ceifada de *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da inoculação ou não com *Azospirillum brasilense* e *Bacillus subtilis*, de forma isolada e combinada, associadas ou não a doses de nitrogênio em cada ciclo de corte constituído por 40 dias de cultivo. Ji-Paraná-RO, 2018

F.V	G.L	P_{ac}			
		Corte 1	Corte 2	Corte 3	Corte 4
		Quadrados Médios			
Tratamentos	19	2746,73**	5240,33**	16940,93**	18659,00**
Inoculação (I)	3	158,86**	781,38**	5583,38**	1518,92ns
Doses de N (D)	4	12281,73**	21311,75**	61684,16**	74690,42**
I x D	12	214,65**	997,92**	4865,91**	4266,88**
Erro	80	58,15	122,10	349,71	859,40
C.V. (%)		10,52	13,84	15,52	19,53
Média Geral		72,5	79,5	120,0	150,3
Inoculação		Médias (mg vaso^{-1})			
Sem Inoculação		69 b	74 c	141 a	145 a
Azospirillum brasilense		73 ab	80 ab	119 b	145 a
Bacillus subtilis		75 a	78 bc	115 bc	162 a
A. brasilense + B. subtilis		73 ab	86 a	105 c	149 a
D.M.S		5,66	8,20	13,88	21,76

C.V = coeficiente de variação; D.M.S = diferença mínima significativa; ** 1% e * 5% significativos ao teste de F; ns = não significativo ao teste de F; médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.
Fonte: Elaborado pelo autor.

No primeiro corte da gramínea, por meio do desdobramento da interação da inoculação em cada dose de N (Figura 38A), verificou-se que as inoculações realizadas sem a presença de N, e quando combinadas com aplicações de 50 e 75 mg dm^{-3} de N, não contribuíram (P>0,05) para acúmulos de P na massa seca do capim, obtendo-se acúmulos médios, com essas associações, de 33,5; 80,3 e 90,3 mg $vaso^{-1}$ de P, respectivamente.

Figura 38. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para o acúmulo de fósforo (P_{ac}) na parte aérea ceifada de *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao primeiro corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018



Médias seguidas de mesma letra sobre as colunas, dentro de cada tratamento, não diferem estatisticamente a 0,05 de probabilidade pelo teste de Tukey; dms = diferença mínima significativa.
Fonte: Elaborado pelo autor.

Embora não tenham sido significativamente diferentes, comparados à testemunha (ausência de N e de inoculação), os tratamentos inoculados com *A. brasilense* e *B. subtilis* aumentaram em 4,0 mg $vaso^{-1}$ o P acumulado (12,9%), enquanto que no tratamento coinoculado o aumento foi de 2,0 mg $vaso^{-1}$ (6,5%). Com o suprimento de 50 mg dm^{-3} de N, os tratamentos inoculados com *A. brasilense* e coinoculado, reduziram em 3,0 (-3,7%) e 2,0 mg $vaso^{-1}$ (-2,5%) o acúmulo de P em relação ao tratamento sem inoculação, ao passo que, com *B. subtilis* houve aumento de 2,0 mg $vaso^{-1}$ no acúmulo de P.

Na adubação com 75 mg dm^{-3} de N, quando comparados ao tratamento sem inoculação, os tratamentos inoculados com *B. subtilis* e coinoculado proporcionaram aumentos respectivos de 2,0 (2,3%) e 9,0 mg $vaso^{-1}$ (10,2%) em acúmulo de P, enquanto que, com a inoculação de *A. brasilense*, houve redução de 2,0 mg dm^{-3} $vaso^{-1}$.

No que se refere aos resultados obtidos em relação à testemunha, sugere um despontamento inicial dos efeitos positivos das bactérias na promoção do crescimento das plantas, enquanto que, com a fertilização nitrogenada, neste primeiro ciclo, efeitos de diluição de P nos compartimentos estruturais da gramínea (Figura 38A).

Com o suprimento de 25 mg dm^{-3} a inoculação com *B. subtilis* promoveu incrementos ($P<0,05$) de 19 mg $vaso^{-1}$de P (33,9%) em relação aos tratamentos sem inoculação e inoculado com *A. brasilense*. Não foram detectados efeitos significativos ($P>0,05$) da coinoculação em comparação aos tratamentos avaliados (Figura 38A).

Quando associada à adubação com 100 mg dm^{-3} de N, a inoculação com *A. brasilense* proporcionou acréscimos ($P<0,05$) de 21 mg $vaso^{-1}$ de P (23,9%) em referência aos tratamentos não inoculado e coinoculado e de 14 mg $vaso^{-1}$de P (13,5%) sobre o inoculado com *B. subtilis*. Entre estas referidas combinações, não foram observadas diferenças ($P>0,05$) no acúmulo de P na massa seca do capim Marandu (Figura 38A).

No desdobramento da interação das doses de N dentro dos níveis de inoculação (Figura 38B), constatou-se que, sem inoculação, houve ajuste quadrático ($P<0,01$) para acúmulos de fósforo na massa seca do capim Marandu, onde a máxima quantidade acumulada (89,1 mg $vaso^{-1}$) foi alcançada com dose de 82,3 mg dm^{-3} de N, que corresponde a acúmulos de 59,2 mg $vaso^{-1}$ de P a mais, em relação a menor quantidade acumulada sem a presença de N.

Quando combinada a inoculação com *A. brasilense*, à adubação nitrogenada promoveu acúmulo linear ($P<0,01$) de P na parte aérea da gramínea, obtendo com a aplicação de 100 mg dm^{-3} de N, 108,4 mg $vaso^{-1}$ de P, tornando possível, assim, obter 71,2 mg de P a mais (191,4%), em comparação a não utilização desse consórcio (Figura 38B).

.Entre os tratamentos inoculados neste primeiro ciclo de cultivo, a combinação entre adubação nitrogenada e *B. subtilis*, não contribuíram para incrementos de P na massa seca do capim Marandu, alcançando média de 75,6 mg vaso^{-1} de P. Entretanto, quando associada à coinoculação com estirpes de *A. brasilense* e *B. subtilis*, houve ajuste polinomial quadrático (P<0,01), obtendo acúmulos de 92,7 mg vaso^{-1} de P com a aplicação de 82,0 mg dm^{-3} de N, e também acúmulos de 59,8 mg vaso^{-1} de P em comparação com a não realização dessa técnica (Figura 38B).

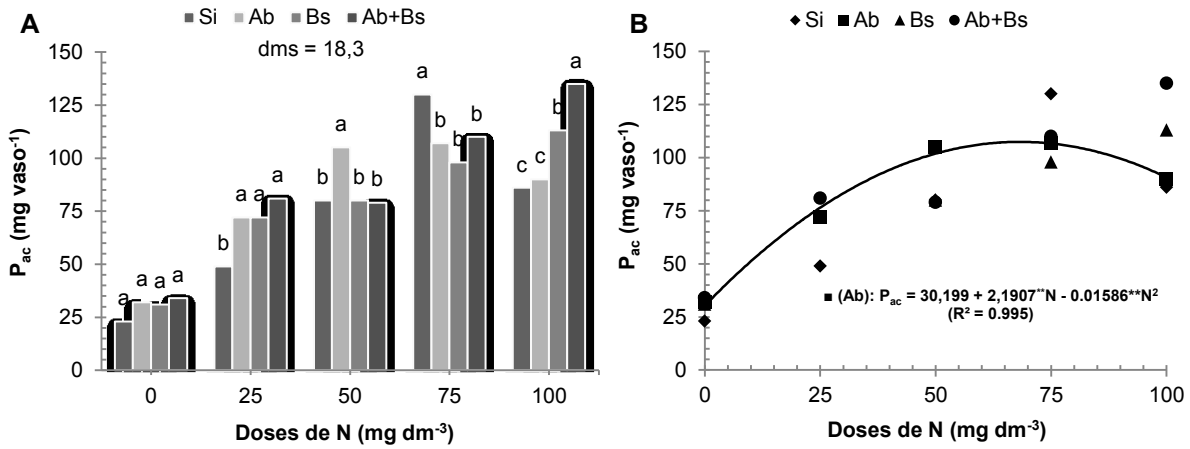
Considerando as equações ajustadas e a aplicação média de 82,0 mg dm^{-3} de N, as combinações N+*A. brasilense* e N+coinoculação, aumentaram em 16,1 e 12,6% respectivamente, a quantidade de P na massa seca do capim Marandu comparado à combinação N–Inoculação.

No segundo corte, mediante o desdobramento da interação da inoculação dentro das doses de N, apenas com a ausência de N, não foram observados efeitos estatísticos das inoculações sobre a quantidade acumulada de P na massa seca do capim Marandu (Figura 39A). Comparados à testemunha, as inoculações sem a presença de N tiveram comportamento semelhante (P>0,05), obtendo acúmulos de 30 mg vaso^{-1} de P. Contudo, quando inoculados com *A. brasilense* e *B. subtilis* em associação com a aplicação 25 mg dm^{-3} de N, houve incrementos (P<0,05) de 23 mg vaso^{-1} de P (46,9%) em relação ao tratamento não inoculado. Da mesma forma, com a coinoculação, os acúmulos foram maiores, atingindo 32 mg vaso^{-1} de P (65,3%). Entre as combinações inoculadas, não foram verificadas distinções obtendo acúmulos médios de 75 mg vaso^{-1} de P.

A inoculação com *A. brasilense* combinada à adubação de 50 mg dm^{-3} de N, promoveram acréscimos (P<0,05) de 25 mg vaso^{-1} de P (31,3%) na massa seca do capim em relação aos tratamentos não inoculado e inoculado com *B. subtilis* e de 26 mg vaso^{-1} de P (32,9%) sobre o tratamento coinoculado (Figura 39A).

Já quando combinadas com adubação de 75 mg dm^{-3}, as inoculações produziram efeitos negativos (P<0,05) comparadas ao tratamento não inoculado, apresentando decréscimos de 23 (17,7%), 32 (24,6%) e 20 mg vaso^{-1} de P nas combinações de N com *A. brasilense*, *B. subtilis* e coinoculação, respectivamente, não havendo distinções (P>0,05) no incremento de P na planta, entre si.

Figura 39. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para o acúmulo de fósforo (P_{ac}) na parte aérea ceifada de *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao segundo corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018



Médias seguidas de mesma letra sobre as colunas, dentro de cada tratamento, não diferem estatisticamente a 0,05 de probabilidade pelo teste de Tukey; dms = diferença mínima significativa.
Fonte: Elaborado pelo autor.

A coinoculação e a inoculação com *B. subtilis* simultaneamente à adubação com 100 mg dm^{-3} de N, contribuíram para acréscimos (P<0,05) de P nas plantas em comparação aos tratamentos não inoculado e inoculado com *A. brasilense*, que por sua vez, apresentaram comportamento semelhante (P>0,05) entre si.

A combinação coinoculação+N promoveu acúmulos de P de 49 (57,0%), 45 (50,0%) e 22 mg $vaso^{-1}$ (19,5%) em relação aos tratamentos sem inoculação e inoculados com *A. brasilense* e *B. subtilis*, respectivamente. Enquanto que a associação Bs+N, propiciou acréscimos de P de 27 (31,4%) e 23 mg $vaso^{-1}$ (25,5%) sobre o não inoculado e inoculado com *A. brasilense*, nessa ordem.

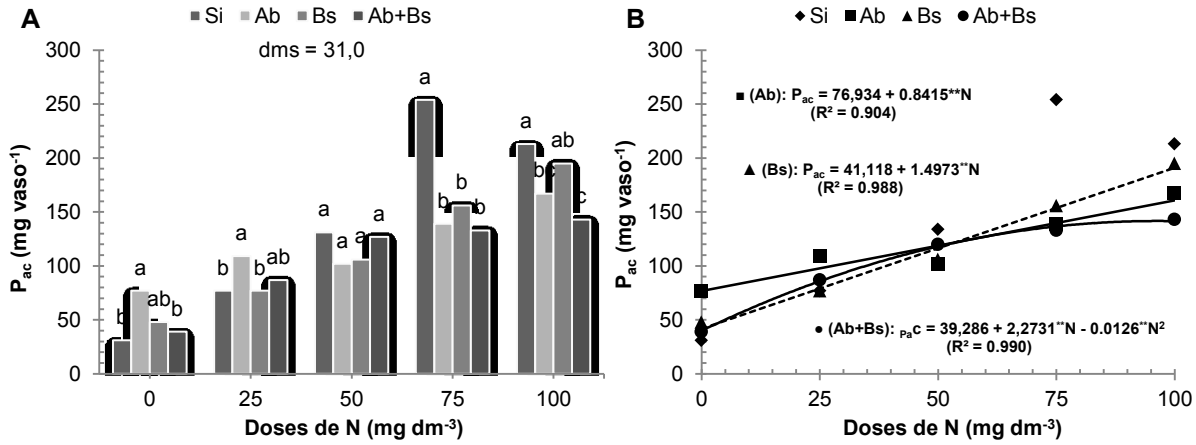
Aplicações de N na ausência de inoculação ou associadas à inoculação com *B. subtilis* e com coinoculação, não influenciaram (P>0,05) na quantidade de P na massa seca das plantas, obtendo nesta ordem, acúmulos médios de 73,6, 78,8 e 87,8 mg $vaso^{-1}$ de P (Figura 39B). Contudo, quando combinada a inoculação com *A. brasilense*, foi possível ajuste de função de produção quadrático (P<0,01), obtendo

acúmulos de 105,9 mg vaso^{-1} de P com a aplicação de 69,1 mg dm^{-3} de N, que correspondem a incrementos de 75,6 mg vaso^{-1} de P (249,5%).

No terceiro corte da gramínea, com o desdobramento da interação da inoculação *versus* doses de N, foram verificados efeitos das inoculações, tanto na ausência como na presença de N, na quantidade de P presente na massa seca (Figura 40A).

Na ausência de N, a inoculação com *A. brasilense* proporcionou acréscimos (P<0,05) de 46 (148,0%) e 38 mg vaso^{-1} de P (97,4%), em relação às quantidades obtidas sem inoculação e com a coinoculação, que por sua vez, foram indiferentes (P>0,05) entre si. Também não se identificou distinções (P>0,05) entre os inoculados com *A. brasilense* e *B. subtilis* (Figura 40A).

Figura 40. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para o acúmulo de fósforo (P_{ac}) na parte aérea ceifada de *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao terceiro corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018



Médias seguidas de mesma letra sobre as colunas, dentro de cada tratamento, não diferem estatisticamente a 0,05 de probabilidade pelo teste de Tukey; dms = diferença mínima significativa.
Fonte: Elaborado pelo autor.

Comportamento semelhante foi verificado quando as inoculações foram associadas com a adubação de 25 mg dm^{-3} de N. Nesta combinação, a inoculação com *A. brasilense* colaborou (P<0,05) para incrementar acúmulos de 32 mg vaso^{-1} de P (41,6%) na massa seca do capim, quando comparado aos tratamentos sem

inoculação e inoculado com *B. subtilis*, não diferindo da quantidade acumulada de P quando coinoculado.

No entanto, não foram observados incrementos (P>0,05) entre todos os tratamentos nos acúmulos de fósforo na massa seca da gramínea, quando realizadas as combinações de inoculações e coinoculação com estirpes de *A. brasilense* e *B. subtilis* associadas à aplicação de 50 mg dm^{-3} de N, ficando a média entre esses tratamentos equivalentes a 115,5 mg $vaso^{-1}$ de P.

As combinações dos tratamentos inoculados com a aplicação de 75 mg dm^{-3} de N, reduziram (P<0,05) a quantidade armazenada de P, comparados ao obtido no tratamento sem inoculação, com decréscimos correspondentes a 115 (-45,3%), 98 (-38,6%) e 121 mg $vaso^{-1}$ de P (-47,6%) proporcionados pelas associações com *A. brasilense*, *B. subtilis* e coinoculação, respectivamente (Figura 40A).

Com o aumento da dose de adubação para 100 mg dm^{-3}, a inoculação com *A. brasilense* e a coinoculação, também atuaram de forma negativa (P<0,05) na quantidade de fósforo acumulado na massa seca do capim, em relação ao tratamento não inoculado, com reduções de 46 (21,6%) e 70 mg $vaso^{-1}$ de P (32,9%). Entre os inoculados, a combinação de *B. subtilis* com N, foi superior (P<0,05) em 52 mg $vaso^{-1}$ (36,4%) em relação ao tratamento coinoculado mais adubação e indiferente (P>0,05) aos tratamentos não inoculado e inoculado com *A. brasilense*+ N.

Com o desdobramento da interação doses de N *versus* inoculação (Figura 40B), verificou-se que, com a ausência de inoculação, não foi possível ajustes de equações (P>0,05) para avaliar o efeito da aplicação de N na quantidade de P acumulado na massa seca do capim Marandu, obtendo acúmulo médio de 141,8 mg $vaso^{-1}$. Entretanto, as combinações de N com inoculações de *A. brasilense*, *B. subtilis* e coinoculação, permitiram ajustes (P<0,01) de equações para estimar o nível de P acumulado.

Assim, quando associadas à adubação com 100 mg dm^{-3} de N, os tratamentos inoculados com *A. brasilense* e com *B. subtilis* promoveram acúmulos respectivos de P de 161,1 e 190,8 mg $vaso^{-1}$, que geraram incrementos de 84,2 (109,4%) e 149,7 mg de P (364,0%), comparados com a não realização dessa prática.

Por sua vez, a combinação de N com a coinoculação, permitiu obter acúmulos de 141,8 mg de P com a aplicação de 90,2 mg dm^{-3} de N, que proporcionaram acréscimos de 39,9 mg $vaso^{-1}$ de P com o uso desse consórcio (Figura 40B).

Comparando estes resultados entre si, e supondo adubação de apenas 90,2 mg dm^{-3} de N sobre as equações ajustadas, a combinação N + *B. subtilis* propiciou acréscimos de 23,4 (15,3%) e 34,4 mg $vaso^{-1}$ de P (24,3%) em relação as combinações N + *A. brasilense* e N + coinoculação.

No quarto corte do capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, o desdobramento da interação da inoculação dentro de cada nível de N, identificou ausência de efeitos (P>0,05) para acúmulos de P na massa seca, quando foram realizadas inoculações com estirpes de *A. brasilense* e *B. subtilis* associadas às adubações com 25 e 100 mg de N dm^{-3}, em comparação com os valores encontrado na ausência de inoculação, ficando as médias entre os tratamentos, nessas combinações, correspondentes a 113,5 e 214,5 mg $vaso^{-1}$ a adubação com 100 mg dm^{-3} de N (Figura 41A).

Na ausência de N, a coinoculação aumentou (P<0,05) a quantidade de P em 63 mg $vaso^{-1}$ (196,9%) em referência ao não inoculado, não diferindo (P>0,05) dos valores obtidos com as inoculações de *A. brasilense* e *B. subtilis*, e estes, por sua vez, indiferentes (P>0,05) ao tratamento sem inoculação (Figura 41A).

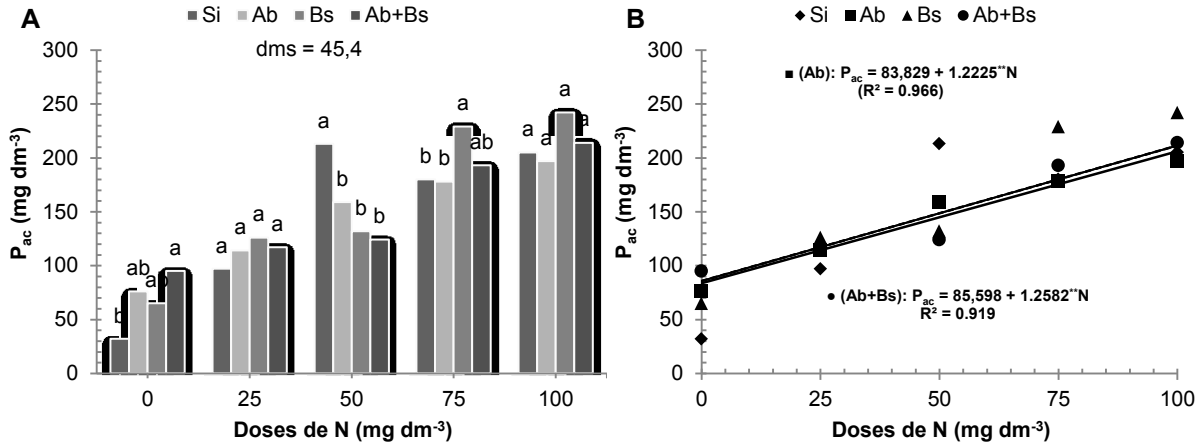
Já quando praticadas as inoculações em associação com 50 mg dm^{-3} de N, verificaram-se reduções (P<0,05) nos acúmulos de P, em relação ao tratamento não inoculado, com decréscimos de 54 (25,4%), 81 (38,0%) e 89 mg $vaso^{-1}$ de P. No que diz respeito aos tratamentos inoculados, não foram observadas influências (P>0,05) destes, para o incremento de fósforo na massa seca do capim, entre si.

A inoculação com *B. subtilis* juntamente com 75 mg dm^{-3} de N, contribuíram para aumentar (P<0,05) o teor de fósforo nas plantas, que proporcionaram acréscimos de 49 (27,2%) e 51 mg de P $vaso^{-1}$ (28,7%) sobre os tratamentos não inoculado e inoculado com *A. brasilense*. Não foram identificados efeitos (P>0,05) dessa combinação em relação ao coinoculado, e esta, em relação ao tratamento não inoculado e ao inoculado com *A. brasilense* (Figura 41A).

O desdobramento da interação das doses de N em cada nível das inoculações (Figura 41B) não possibilitou ajustes (P>0,05) de equações de

regressão para os tratamentos sem inoculação e inoculado com *B. subtilis*, obtendo acúmulos médios respectivos de 145,4 e 148,6 mg vaso^{-1} de P. Contudo, possibilitou ajustes (p<0,01) lineares crescentes para os tratamentos inoculados com *A. brasilense* e *B. subtilis*.

Figura 41. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para o acúmulo de fósforo (P_{ac}) na parte aérea ceifada de *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao quarto corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018



Médias seguidas de mesma letra sobre as colunas, dentro de cada tratamento, não diferem estatisticamente a 0,05 de probabilidade pelo teste de Tukey; dms = diferença mínima significativa.
Fonte: Elaborado pelo autor.

Com os modelos ajustados, obteve-se com a dose de 100 mg dm^{-3} de N acúmulos de 206,1 e 211,4 mg vaso^{-1} de P, para os tratamentos inoculados com *A. brasilense* e *B. subtilis*, respectivamente, proporcionando aumentos de P na planta de 122,3 (145,9%) e 125,8 mg vaso^{-1}(147,0%), nessa ordem, em comparação aos menores valores obtidos na ausência dessas associações.

4.9. Acúmulos de Potássio

A análise de variância e as médias de acúmulos de potássio (K_{ac}) na massa seca do capim Marandu, para cada ciclo de corte, estão apresentadas na Tabela 16.

Em todos os cortes, foram identificados efeitos (P<0,01) da interação dos fatores inoculação e doses de N no acúmulo de potássio nas plantas.

Tabela 16. Resumo da análise de variância e acúmulos médios de potássio (K_{ac}) na parte aérea ceifada de *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da inoculação ou não com *Azospirillum brasilense* e *Bacillus subtilis*, de forma isolada e combinada, associadas ou não a doses de nitrogênio em cada ciclo de corte constituído por 40 dias de cultivo. Ji-Paraná-RO, 2018

F.V	G.L	K_{ac}			
		Corte 1	Corte 2	Corte 3	Corte 4
		Quadrados Médios			
Tratamentos	19	0,7314**	0,7281**	1,5070**	0,8820**
Inoculação (I)	3	0,1564**	0,2350**	0,5334**	0,0060^{ns}
Doses de N (D)	4	3,1120**	2,8733**	5,2208**	3,8044**
I x D	12	0,0826**	0,1362**	0,5124**	0,1288**
Erro	80	0,0206	0,0101	0,0306	0,0246
C.V. (%)		13,38	11,13	14,57	14,33
Média Geral		1,072	0,902	1,201	1,095
Inoculação		Médias ---------- g vaso^{-1} ----------			
Sem Inoculação		0,958 b	0,797 b	1,393 a	1,107 a
Azospirillum brasilense		1,082 a	0,852 b	1,198 b	1,074 a
Bacillus subtilis		1,136 a	0,942 a	1,176 b	1,094 a
A. brasilense + B. subtilis		1,110 a	1,016 a	1,038 c	1,107 a
D.M.S		0,106	0,074	0,130	0,117

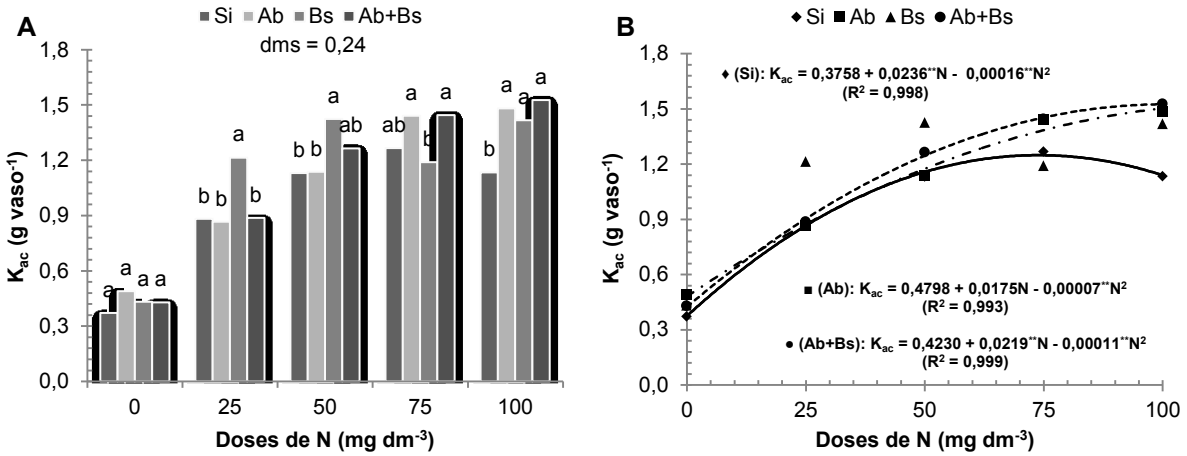
C.V = coeficiente de variação; D.M.S = diferença mínima significativa; ** 1% e * 5% significativos ao teste de F; ^{ns} = não significativo ao teste de F; médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente a 0,05 de probabilidade pelo teste de Tukey.
Fonte: Elaborado pelo autor.

No primeiro corte da gramínea, mediante o desdobramento da interação das inoculações em cada nível de adubação nitrogenada, o acúmulo de K nas plantas só não foi influenciado (P>0,05) com a ausência de adubação nitrogenada, obtendo valor médio de 0,43 g vaso^{-1} de K, entre os tratamentos (Figura 42A).

Na presença de N, as inoculações, tanto na forma isolada como na forma coinoculada, contribuíram (P<0,05) para o acúmulo de K no tecido foliar das plantas (Figura 42A). Estes resultados indicam que gramíneas como o capim Marandu, quando inoculadas com estirpes de *A. brasilense* e *B. subtilis*, conseguem extrair quantidades adequadas de nutrientes através do sistema radicular. Nesse sentido, o

incremento de potássio no tecido foliar dos tratamentos inoculados, associados à adubação nitrogenada, demonstra que existe interferência das bactérias na disponibilização deste nutriente na gramínea, em condições específicas e variadas.

Figura 42. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para o acúmulo de potássio (K_{ac}) na parte aérea ceifada de *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao primeiro corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018



Médias seguidas de mesma letra sobre as colunas, dentro de cada tratamento, não diferem estatisticamente a 0,05 de probabilidade pelo teste de Tukey; dms = diferença mínima significativa.
Fonte: Elaborado pelo autor.

A inoculação com *B. subtilis* associada à dose de 25 mg dm^{-3} de N, promoveu incrementos (P<0,05) de 0,33 (37,6%), 0,35 (40,2%) e 0,33 g $vaso^{-1}$ de K (36,9%) na massa seca do capim sobre os tratamentos não inoculado, inoculado com *A. brasilense* e coinoculado, não se verificando influências (P>0,05) destes, entre si, no acúmulo de K_{ac} (Figura 42A).

Comportamento semelhante também foi observado quando se aumentou a dose da adubação para 50 mg dm^{-3} de N. Novamente a inoculação com *B. subtilis* promoveu acréscimos (P<0,05) de 0,29 (26,0%) e 0,29 g $vaso^{-1}$ de K, em relação aos tratamentos não inoculado e inoculado com *A. brasilense*, que por sua vez, juntamente com o tratamento coinoculado, não contribuíram (P>0,05) para o incremento de K no tecido foliar das plantas (Figura 42A).

A influência das inoculações no acúmulo de K nas plantas, em relação à ausência de inoculação, deixa de existir (P>0,05) com a adubação de 75 mg dm^{-3} de N, mas volta a influenciar (P<0,05) com a aplicação de 100 mg dm^{-3}, em que os tratamentos inoculados com *A. brasilense*, *B. subtilis* e coinoculado promoveram incrementos de 0,35 (30,6%), 0,28 (25,0%) e 0,39 g $vaso^{-1}$de K (34,6%) nas plantas, respectivamente, em relação ao não inoculado. Entre os tratamentos inoculados, não foram observados diferenças (P>0,05) entre si(Figura 42A).

Os resultados apresentados fortalecem em parte, relatos, como os de Dobbelaere, Vanderleyden e Okon (2003), de que bactérias como as do gênero *Azospirillum*, tem seu desempenho reduzido em solos com níveis elevados de fertilizantes e contrasta com os de Hungria (2011), que observou a cessação dos benefícios das inoculações com doses elevadas de fertilizante nitrogenado.

O desdobramento da interação das doses de N *versus* inoculação permitiu ajustes de equações de regressão para estimar a quantidade de K acumulado na massa seca do capim Marandu (Figura 42B).

Na ausência de inoculação, a adubação com 73,8 mg dm^{-3} de N contribuiu (P<0,01) para o acúmulo de 1,25 g $vaso^{-1}$ de K na massa seca do capim, permitindo acréscimos de 0,87 mg de K (233,6%) quando comparado ao menor valor de K obtido sem adubação nitrogenada(Figura 42B).

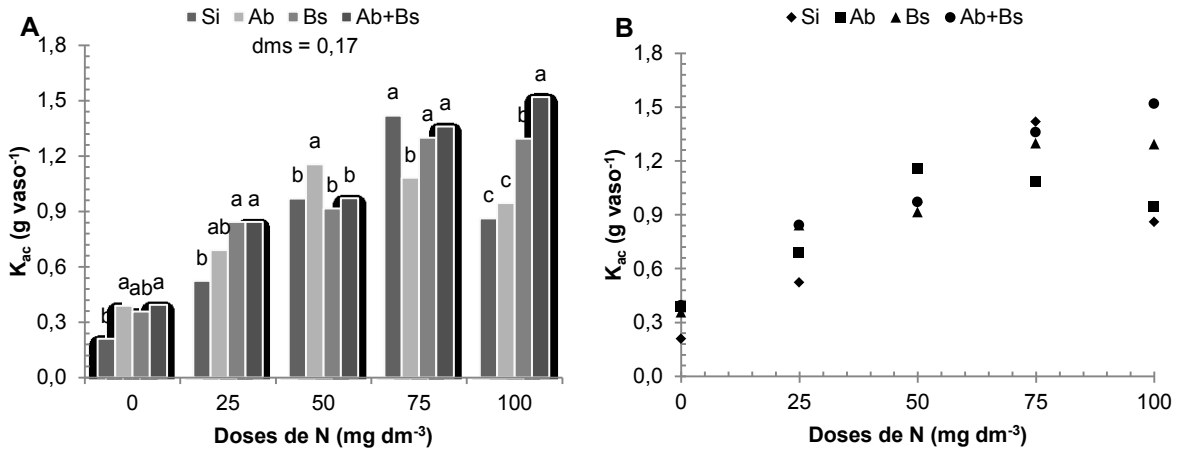
A inoculação isolada com *B. subtilis* não influenciou (P>0,05) na quantidade de K presente na massa seca do capim, atingindo em média, 1,14 g $vaso^{-1}$, independentemente dos níveis de adubação nitrogenada (Figura 42B). Entretanto, com as inoculações de *A. brasilense* e coinoculação, houve respostas quadráticas (P<0,01) no teor de K presente na massa seca do capim, com acúmulos máximos de 1,57 e 1,51 g $vaso^{-1}$, através de adubações de 125,0 mg dm^{-3} de N (acima do limite máximo de adubação neste estudo) e 99,5 mg dm^{-3} de N, respectivamente, o que possibilitou acréscimos de 1,09 g $vaso^{-1}$ de K em cada tratamento.

Considerando o nível de adubação de 73,8 mg dm^{-3}, determinado no tratamento sem inoculação, e substituindo este valor nas equações ajustadas com *A. brasilense* e coinoculação, seriam obtidos acúmulos teóricos de K na parte aérea das plantas de 1,25; 1,39 e 1,44 g $vaso^{-1}$, nessa ordem, com variações percentuais de 11,2 e 15,2% em relação ao tratamento não inoculado(Figura 42B). Isto indica

que a adubação nitrogenada associada à coinoculação, representa a melhor alternativa para promover acúmulos de K no tecido foliar do capim Marandu.

No segundo corte da gramínea, as inoculações em cada nível de N, influenciaram (P<0,05) na quantidade de K acumulado no tecido foliar do capim Marandu (Figura 43A). Nesse seguimento, na ausência de N, a inoculação com *A. brasilense* e a coinoculação contribuíram (P<0,05) para o aumento de K no tecido foliar do capim Marandu, com incrementos médios de 0,18 g de K (87,4%) em relação ao tratamento não inoculado. Entre os tratamentos inoculados, não foram observados efeitos (P>0,05) entre si, no teor de K acumulado nas plantas (Figura 43A).

Figura 43. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para o acúmulo de potássio (K_{ac}) na parte aérea ceifada de *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao segundo corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018



Médias seguidas de mesma letra sobre as colunas, dentro de cada tratamento, não diferem estatisticamente a 0,05 de probabilidade pelo teste de Tukey; dms = diferença mínima significativa.
Fonte: Elaborado pelo autor.

Quando associadas à aplicação de 25 mg dm^{-3} de N, a inoculação com *B. subtilis* e a coinoculação, promoveram acréscimos (P<0,05) de 0,30 g de K vaso^{-1} (60,7%) sobre o tratamento não inoculado, não havendo distinções (P>0,05) no acúmulo de K entre os tratamentos inoculados (Figura 43A).

Na dose de 50 mg dm^{-3} de N, a inoculação com *A. brasilense* propiciou acréscimos (P<0,05) de K no tecido foliar das plantas de 0,19 (19,1%), 0,24 (26,1%) e 0,18 g $vaso^{-1}$ de K (18,8%), em relação aos tratamento não inoculado, inoculado com *B. subtilis* e coinoculado, respectivamente, e entre estes, não foram identificados diferenças estatísticas (P>0,05) nos teores de K acumulado na massa seca do capim Marandu (Figura 43A).

A inoculação com *A. brasilense* quando combinada à dose de 75 mg dm^{-3} de N, reduziu em 0,34 g $vaso^{-1}$ de K (23,8%) em relação ao tratamento sem inoculação, enquanto que as inoculações com *B subtilis* e a coinoculação, apresentaram desempenhos mais eficientes (P<0,05) com acréscimos, nessa ordem, de 0,22 (20,2%) e 0,28 g por $vaso^{-1}$ de K (25,7%), sobre o tratamento inoculado com *A. brasilense* (Figura 43A).

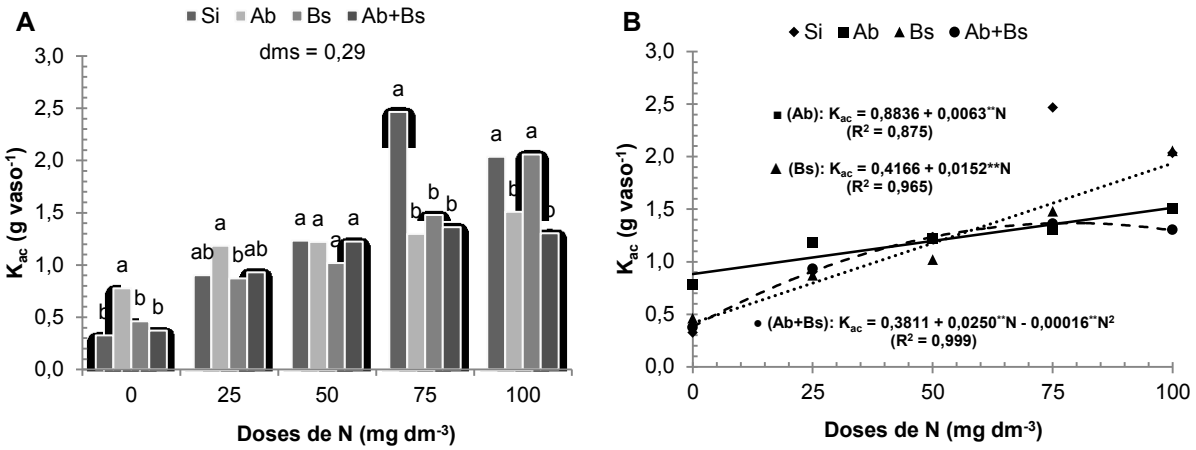
Com a dose máxima de 100 mg dm^{-3}, o tratamento coinoculado foi o que mais contribuiu para o acúmulo de K nas plantas, com incrementos (P<0,05) de 0,66 (76,4%), 0,57 (60,7%) e 0,23 g de K (17,4%) em relação aos tratamentos não inoculado, inoculado com *A. brasilense* e coinoculado, respectivamente (Figura 43A). Em seguida, veio à inoculação com *B. subtilis* que apresentou melhor desempenho (P<0,05) em relação aos tratamentos não inoculado e inoculado com *A. brasilense*, que proporcionou acréscimos respectivos de 0,43 (50,3%) e 0,35 g $vaso^{-1}$ de K (36,9%). Entre o não inoculado e inoculado com *A. brasilense*, não foram observados efeitos (P>0,05) na presença de K nas plantas.

O acúmulo de K na massa seca do capim Marandu não foi influenciado (P>0,05) pelo desdobramento da interação doses de N dentro de cada nível do fator inoculação (Figura 43B), o que impossibilitou o ajuste de equações de regressão na determinação do teor de K acumulado na massa seca da gramínea. Assim, independentemente dos níveis de N, foram obtidos acúmulos médios de 0,80; 0,85; 0,94 e 1,02 g $vaso^{-1}$ de K, com os tratamentos sem inoculação e inoculados com *A. brasilense*, *B. subtilis* e coinoculação, respectivamente.

No terceiro corte do capim Marandu, o desdobramento da interação inoculação dentro de cada nível de N (Figura 44A), revelou que o efeito positivo das inoculações no acúmulo de K, só se manifestou na ausência de N e com a inoculação isolada de *A. brasilense*, que possibilitou (P<0,05) acréscimo de 0,45

g vaso^{-1} de K (138,8%) sobre o tratamento não inoculado e melhor desempenho (P<0,05) entre os tratamentos inoculados, com incrementos de 0,32 (68,7%) e 0,41 g vaso^{-1} de K (109,2%) em relação ao inoculado com *B. subtilis* e coinoculado, respectivamente.

Figura 44. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para o acúmulo de potássio (K_{ac}) na parte aérea ceifada de *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao terceiro corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018



Médias seguidas de mesma letra sobre as colunas, dentro de cada tratamento, não diferem estatisticamente a 0,05 de probabilidade pelo teste de Tukey; dms = diferença mínima significativa.
Fonte: Elaborado pelo autor.

Com aplicações de 25 e 50 mg dm^{-3} de N, os efeitos dos tratamentos inoculados sobre o não inoculado deixam de existir (P>0,05) e passam a atuar de forma negativa (P<0,05) com adubações de 75 a 100 mg dm^{-3} de N (Figura 44A).

Nesse contexto, quando foi associada à aplicação de 25 mg dm^{-3} de N, a inoculação com *A. brasilense* aumentou (P<0,05) em 0,32 g vaso^{-1} de K comparado ao obtido com *B. subtilis* e indiferente (P>0,05) aos demais tratamentos. Aumentando a dose para 50 mg dm^{-3} de N, não houve respostas (P>0,05) dos tratamentos inoculado sobre o não inoculado, e entre si, com acúmulo médio de 1,17 g vaso^{-1} de K (Figura 44A).

As inoculações com *A. brasilense*, *B. subtilis* e a coinoculação com essas bactérias, quando associadas à adubação de 75 de mg dm^{-3}, reduziram (P<0,05) o

acúmulo de K com valores correspondentes a 1,17 (47,3%), 0,99 (40,0%) e 1,10 g vaso^{-1} de K, nessa ordem, em relação ao tratamento sem inoculação, e não se verificou distinções (P>0,05) entre os inoculados (Figura 44A)

Com o aumento da adubação para 100 mg dm^{-3}, os tratamentos inoculado com *A. brasilense* e coinoculado, atuaram negativamente no acúmulo de K na planta, com decréscimos (P<0,05) de 0,52 (25,9%) e 0,73 g vaso^{-1} de K (36,0%) em relação ao não inoculado, e 0,55 (26,7%) e 0,75 g vaso^{-1} de K (36,6%) em relação ao inoculado com *B. subtilis*. Nessa combinação, a inoculação com *B. subtilis* não estimulou (P>0,05) o incremento de K na planta quando comparado ao tratamento não inoculado (Figura 44A).

Com o desdobramento da interação das doses de N dentro dos níveis de inoculação (Figura 44B) foi possível o ajuste (P<0,01) de equações de regressão para o acúmulo de K, com exceção na ausência de inoculação (P>0,05) onde o valor médio obtido foi estimado em 1,39 g vaso^{-1} K_{ac}.

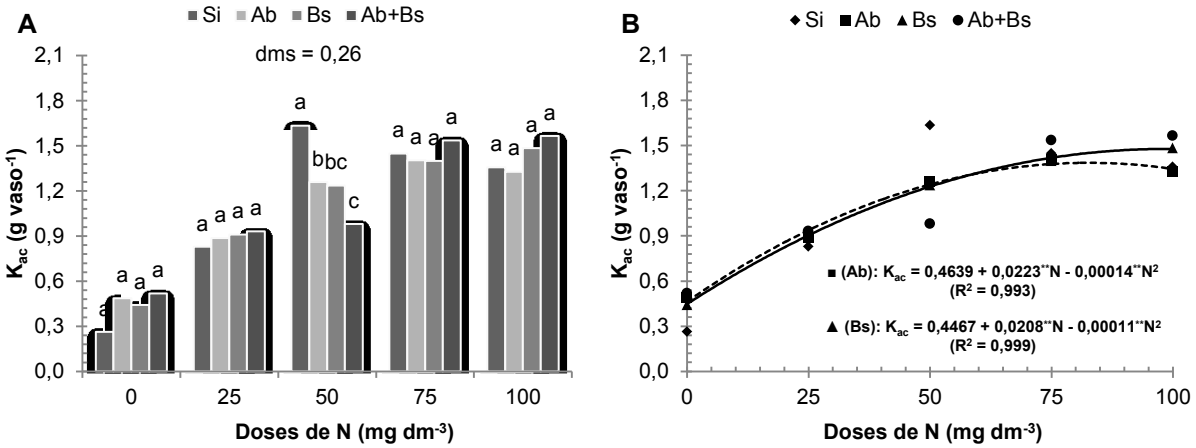
Quando associada à inoculação de *A. brasilense* e *B.subtilis*, os ajustes foram lineares e crescentes (P<0,01), o que possibilitou, com a adubação de 100 mg dm^{-3} de N, acúmulos respectivos de 1,51 e 1,94 g vaso^{-1} de K, que resutou em acréscimos de 0,63 (70,9%) e 1,52 g de K (365,7%), em comparação ao menor valor obtido sem o emprego dessas combinações (Figura 44B).

Houve ajuste de equação quadrática (P<0,01) com a coinoculação, o que possibilitou com a adubação de 78,1 mg dm^{-3} de N, acúmulos máximos de 1,36 g vaso^{-1} de K, que resultou em incrementos de 0,98 g vaso^{-1} (257,8%) em comparação ao obtido na ausência dessa prática(Figura 44B).

Considerando as equações ajustadas e a adubação de 78,1 mg dm^{-3} de N, a combinação N+*B. subtilis* pode-se obter acúmulos de K superiores em 15,9% e 17,6% em relação as combinações N+*A. brasilense* e N+coinoculação, respectivamente (Figura 44B).

Com os dados obtidos no quarto corte da gramínea e mediante o desdobramento da interação da inoculação nos níveis de N (Figura 45A), verificou-se que com o aumento das doses de N, as inoculações com *A. brasilense* e *B. subtilis* não proporcionaram incrementos positivos no acúmulo de K na parte aérea do capim Marandu.

Figura 45. Desdobramentos da interação inoculação dentro de doses de N (A) e doses de N dentro de inoculações (B) para o acúmulo de potássio (K_{ac}) na parte aérea ceifada de *Urochloa brizantha* cv. Marandu, em função da ausência de inoculação (Si) e da inoculação com estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab) e *Bacillus subtilis* (Bs) de forma isolada e combinada (Ab+Bs), associadas ou não à adubação nitrogenada, referente ao quarto corte da gramínea. Ji-Paraná, RO, 2018



Médias seguidas de mesma letra sobre as colunas, dentro de cada tratamento, não diferem estatisticamente a 0,05 de probabilidade pelo teste de Tukey; dms = diferença mínima significativa.
Fonte: Elaborado pelo autor.

Na ausência de N e com adubação de 25 mg dm^{-3} de N, as inoculações tiveram comportamentos semelhantes (P>0,05) em comparação ao tratamento não inoculado, e entre os inoculados, obtendo-se acúmulos médios de 0,43 e 0,89 g $vaso^{-1}$ de K (Figura 45A).

O suprimento de 50 mg dm^{-3} de N e as inoculações com *A. brasilense*, *B. subtilis* e a coinoculação, provocaram, nessa ordem, reduções (P<0,05) de 0,38 (23,0%), 0,40 (24,3%) e 0,66 g $vaso^{-1}$ de K (40,1%) quando relacionadas ao tratamento não inoculado. Entre os inoculados, a inoculação com *A. brasilense* incrementou (P<0,05) em 0,28 g $vaso^{-1}$ de K, em comparação ao teor obtido com a coinoculação (Figura 45A). Já com adubações de 75 e 100 mg dm^{-3}, os tratamentos inoculados não proporcionaram acréscimos (P>0,05) nos teores de K em relação ao tratamento não inoculado, obtendo acúmulos médios respectivos de 1,45 e 1,43 g por $vaso^{-1}$ de K (Figura 45A).

Mediante o desdobramento da interação das doses de N dentro de cada nível de inoculação (Figura 45B), verificou-se que a ausência de inoculação e a inoculação combinada de *A. brasilense* e *B. subtilis*, não contribuíram (P>0,05) para

incrementos na quantidade de K na parte aérea da gramínea, obtendo média de 1,11 g $vaso^{-1}$ de K nos dois tratamentos, independentemente da quantidade de nitrogênio aplicado.

O acúmulo de K apresentou respostas quadráticas ($P<0,01$) quando associadas às inoculações isoladas de *A. brasilense* e *B. subtilis*, obtendo acúmulos máximos respectivos de 1,35 e 1,43 g $vaso^{-1}$ de K quando adubados com 79,6 e 94,5 mg dm^{-3} de N (Figura 45B). Desse modo, a inoculação com *A. brasilense* e *B. subtilis* proporcionaram acréscimos respectivos de 0,24 e 0,32 g $vaso^{-1}$ de K_{ac} em relação aos tratamentos sem inoculação e coinoculado.

Apesar do tratamento inoculado com *B. subtilis* ter contribuído para o maior acúmulo de K em relação ao tratamento com *A. brasilense*, observou-se que isso ocorreu com a maior quantidade de N. Ao fazer a relação de acúmulo de K acumulado por mg dm^{-3} de N aplicado, observou-se que o tratamento com *A. brasilense* foi o mais eficiente.

5. CONCLUSÕES

Em todos os ciclos de cultivo do capim Marandu, na ausência da adubação nitrogenada, os tratamentos inoculados promoveram incrementos nas variáveis AP, NP, DC, NF, MSPA, MST, PB e nos acúmulos de N, P e K, em comparação ao tratamento não inoculado, sendo mais evidente nos dois primeiros ciclos de cultivo.

Independentemente do suprimento de nitrogênio, em pelo menos um dos ciclos de cultivo do capim Marandu, os tratamentos inoculados proporcionaram acréscimos nas variáveis analisadas.

Entre os tratamentos inoculados sobre o não inoculado, os melhores desempenhos (maiores incrementos mg dm^{-3} de N) no NP, NF e acúmulo de K do capim marandu foram obtidos com a inoculação isolada de *B. subtilis*, enquanto que a MSPA e o acúmulo de N foram mais influenciados com a inoculação isolada de *A. brasilense*, e por sua vez, a AP, DC, MST e o acúmulo de P tiveram melhores respostas com a coinoculação. Os tratamentos inoculados reduziram os teores de PB em relação ao não inoculado, por efeito diluição na MSPA.

Apesar de não ter sido regra, houve uma tendência de maior influência nas variáveis com a inoculação de *A. brasilense* associada à adubação até 50 mg dm^{-3} de N, enquanto que a partir dessa dose, os melhores resultados foram obtidos com a inoculação de *B. subtilis*.

Os resultados sugerem que a inoculação com *A. brasilense* e *B. subtilis* nas formas isolada ou combinada, associadas ou não à adubação nitrogenada, apresenta potencial para incrementar a nutrição e o crescimento do capim Marandu, além de ser uma alternativa na recuperação das pastagens degradadas de forma sustentável e com menor consumo de nitrogênio e custos.

REFERÊNCIAS

ABREU, J. B. R.; MONTEIRO, F. A. Produção e nutrição do capim-Marandu em função de adubação nitrogenada e estádios de crescimento. **Boletim de Indústria Animal**, Nova Odessa, v. 56, n.2, p. 137-146, 1999.

ADAMY, A. Geodiversidade do estado de Rondônia / Organização, Amilcar Adamy. – Porto Velho: CPRM. 1. DVD. Programa Geologia do Brasil. Levantamento da Geodiversidade. 2010.

ALENCAR, C. A. B.; OLIVEIRA, R. A.; CÓSER, A. C.; MARTINS, C. E.; FIGUEIREDO, J. L. A.; CUNHA, F. F.; CECON, P. R.; LEAL, B. G. Produção de seis capins manejados por pastejo sob efeito de diferentes doses nitrogenadas e estações anuais. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 11, n. 1, p. 48-58, 2010.

ALEXANDRINO, E.; NASCIMENTO, J. R. D.; MOSQUIM, P. R.; REGAZZI. A. J.; ROCHA, F. C. Características morfogênicas e estruturais na rebrotação da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu submetida a três doses de nitrogênio. **Revista Brasileira de Zootecnia,** v. 33, n. 6, p. 1372-1379, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1516-35982004000600003>.

ALEXANDRINO, E.; VAZ, R.G.M.V.; SANTOS, A.C. Características da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu durante o seu estabelecimento, submetida a diferentes doses de nitrogênio. **Bioscience Journal**, v.26, p.886-893, 2010.

ALVES, J.S.; PIRES, A.J.V.; MATSUMOTO, S.N. FIGUEIREDO, M. P. de; RIBEIRO, G.S. Características morfológicas e estruturais da *Brachiaria decumbens* Stapf., submetidas a diferentes doses de nitrogênio e volumes de água. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 2, n. 1, p.1-10, 2008.

ANDRADE, C. M. S. Produção de Ruminantes em Pastos consorciados. In: V SIMFOR, SIMPÓSIO SOBRE MANEJO ESTRATÉGICO DA PASTAGEM. III SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE PRODUÇÃO ANIMAL EM PASTEJO. **Anais**... Viçosa: UFV, p. 171-214, 2010.

ANDRADE, C. M. S de; WADT, P. G. S; ZANINETTI, R. A; VALENTIM, J. F. **Recomendação de Calagem e Adubação para Pastagens no Acre**. Rio Branco: Embrapa: Acre, 2014. 11 p. (Embrapa-Acre. Circular Técnica, 46).

ARAGÃO, J. L.; PFEIFER, L. F. M.; BORRERO, M. A. V. Ocupação tardia e o desenvolvimento da agropecuária no Estado de Rondônia: uma história da bovinocultura no desenvolvimento regional. **Semina**, Londrina, v. 13, p. 154-171, 2014.

ARAÚJO, F. F. de; PEDROSO, R. A.; Interação de *Bacillus* sp. com a rizosfera de três espécies de plantas forrageiras. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 29, n. 1, p. 152-158, 2013.

ARAÚJO, F. F. de. Inoculação de sementes com *Bacillus subtilis*, formulado com farinha de ostras e desenvolvimento de milho, soja e algodão. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, p. 456-462, 2008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542008000200017>.

ARAÚJO, F. F. de; HENNING, A. A.; HUNGRIA, M. Phytohormones and antibiotics produced by *Bacillus subtilis* and their effects on seed pathogenic fungi and on soybean root development. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 21, p.1639-1645, 2005. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1007/s11274-005-3621-x>

ASNER, G. P.; TOWNSEND, A. R.; BUSTAMANTE, M. M. C.; NARDOTO, G. B.; OLANDER, L.P. Pasture degradation in the central Amazon: linking changes in carbon and nutrient cycling with remote sensing. **Global Change Biology**, v. 10, p. 844-862, 2004.

BALDANI, J. I.; CARUSO, L.; BALDANI, V. L. D.; GOI, S. R.; DOBEREINER, J. Recent advances in bnf with non-legume plants. **Soil Biolgy and Biochemistry**, v. 29, n. 5-6, p.911-922, jun. 1997. <DOI: https://doi.org/10.1016/S0038-0717(96)00218-0>.

BALDANI, J.I.; DOBEREINER, J. Recent advances in BNF with non-legumes plants. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON SUSTAINABLE AGRICULTURE FOR THE TROPICS – THE ROLE OF BIOLOGICAL NITROGEN FIXATION, Angra dos Reis, 1995. **Anais...** Angra dos Reis: The National Centre for Agrobiology Research (Embrapa-CNPAB), 1995. p. 53-54.

BÁRBARO, I.M. BRANCALIÃO, S. R.; TICELLI, M.; MIGUEL, F. B.; SILVA, J. A. da. **Técnica alternativa: co-inoculação de soja com *Azospirillum* e *Bradyrhizobium* visando incremento de produtividade**, 2008. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2008_4/coinoculacao/index.htm>.

BARBERO, L. Inovações em nutrição de plantas forrageiras: adubação foliar, fixação biológica de nitrogênio e biorreguladores. In: TORRES, A. de M., OLIVEIRA FILHO, F. P. W.; MARZOCCHI, M. Z. **Anais...** Ribeirão Preto, 2016. 288 p.

BARCELOS, A. F.; LIMA, J. A.; PEREIRA, J. P.; GUIMARÃES, P. T. G.; EVANGELISTA, A. R.; GONÇALVES, C. C. M. **Adubação de capins do gênero *Brachiaria*.** Belo Horizonte: EPAMIG, 2011. 84 p.

BASHAN, Y.; HOLGUIN, G; DE-BASHAN, L. E. *Azospirillum*-plant relations physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 50, n. 8, p. 521-577, 2004.

BATISTA, K.; MONTEIRO, F. A. Respostas morfológicas e produtivas do capim-marandu adubado com doses combinadas de nitrogênio e enxofre. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n.4, 2006. Disponível em: https://doi.org/10.1590/S1516-35982006000500005.

BEHLING, H.; JESKE-PIERUSCHKA, V.; SCHÜLER, L.; PILLAR, V. D. Dinâmica dos campos no sul do Brasil durante o Quaternário Tardio. In: PILLAR, V. D.; MÜLLER, S. C.; CASTILHOS, Z. M. S.; JACQUES, A. V. A. (Eds**). Campos Sulinos: Conservação e Uso Sustentável da Biodiversidade**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2009. p. 13-25.

BERNARDI, A.; SILVA, A. W. L.; BARETTA, D. Estudo metanalítico da resposta de gramíneas perenes de verão à adubação nitrogenada. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 70, n. 2, p. 545-553, 2018. Disponível em: <DOI: http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-9501>.

BODDEY, R. M., MACEDO, R., TARRÉ, R. M., FERREIRA, E., De OLIVEIRA, O. C., De REZENDE, C. P., CANTARUTTI, R. B., PEREIRA, J. M., ALVES, B. J. R., URQUIAGA, S. Nitrogen cycling in *Brachiaria* pastures: the key to understanding the process of pasture decline. **Agriculture, Ecosystems & Environment,** v. 103, p. 389–403, 2004.

BONFIM-SILVA, E. M., SILVA, T. J. A., LUZ, V. S., GUIMARÃES, S. L., POLIZEL, A. C. Capim-Marandu no primeiro ano de recuperação em sistemas de manejo no Cerrado. **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer**, Goiânia, v. 7, n. 12, p. 1-9, 2011.

BOSA, C. K.; GUIMARÃES, S. L.; POLIZEL, A. C.; BONFIM-SILVA, E. M.; CANUTO, E. L. Características produtivas e nutricionais do capim-xaraés inoculado com bactérias diazotróficas associativas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 68, n. 5, p.1360-1368, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-829>.

BRASIL, M. S.; BALDANI, J. I.; BALDANI, V. L. D. Ocorrência e diversidade de bactérias diazotróficas associadas a gramíneas forrageiras do Pantanal Sul-matogrossense. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 29, p. 179-190, 2005.

BRAZ, T. G. S.; FONSECA, D. M.; FREITAS, F. P.; MARTUSCELLO, J. A.; SANTOS, M. E. R.; SANTOS, M. V.; PEREIRA, V. V. Morphogenesis of Tanzania guinea grass under nitrogen doses and plant densities. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 40, n. 7, p. 1420-1427, 2011. Disponível em: <DOI: 10.1590/S1516-35982011000700004>.

CANTARELLA, H. Nitrogênio. In: NOVAIS, R. F. et al. (Eds.). **Fertilidade do solo**. Viçosa: SBCS, 2007. p. 375- 470.

CANTARUTTI, R.B.; SANTO, H.Q. Entrada e conservação de nutrientes nos sistemas de produção de bovinos a pasto. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 3., 2002, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa, MG: SIMCORTE, p. 133-152, 2002.

CARVALHO, T. L. G.; BALSEMÃO-PIRES, E.; SARAIVA, R. M.; FERREIRA, P. C. G.; HEMERLY, A. S. Nitrogen signalling in plant interactions with associative and endophytic diazotrophic bacteria. **Journal of Experimenal Botany**, v. 65, p. 5631-5642, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jxb/eru319>.

CARVALHO, W. T. V.; MINIGHIN, D. C.; GONÇALVES, L. C.; VILANOVA, Q.; MAURÍCIO, R. M.; PEREIRA, R. V. G. Pastagens degradadas e técnicas de recuperação. **Revista Pubvet**, v. 11, n. 10, p. 1036-1045, 2017.

CASSÁN, B; DIAZ-ZORITA, M. *Azospirillum* sp. in current agriculture: from the laboratory to the field. **Soil Biology and Biochemitry**, n. 103, p. 117-130, 2016

CASSÁN, F.; MAIALE, S.; MASCIARELLI, O.; VIDAL, A.; LUNA, V.; RUIZ, O. Cadaverine production by *Azospirillum brasilense* and its possible role in plant growth promotion and osmotic stress mitigation. **European Journal of Soil Biology**, v. 45, p.12-19, 2009.

CASTAGNARA, D. D.; MESQUITA, E. E.; NERES, M. A.; OLIVEIRA, P. S. R. DEMINICIS, B. B.; BAMBERG, R. Valor nutricional e características estruturais de gramíneas tropicais sob adubação nitrogenada. **Archivos de Zootecnia**, v. 60, n. 232, p. 931-941. 2011.

CERRI, C. E. P.; EASTER, M.; PAUSTIAN, K.; KILLIAN, K.; COLEMAN, K.; BERNOUX, M.; FALLON, P.; POWLSON, D.; MILNE, E.; CERRI, C.C. Simulating soil organic carbon changes in eleven land use change chronosequences from the Brazilian Amazon with Roth C and Century models. **Agriculture, Ecosystems & Environment,** p. 122:46-57, 2007.

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

CORDEIRO, L. A. M.; VILELA, L.; MARCHÃO, R. L.; KLUTHCOUKI, J.; MARTHA-JÚNIOR, G. B. Integração Lavoura-Pecuária e Integração Lavoura-Pecuária-Floresta: Estratégias para Intensificação Sustentável do Uso do Solo. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, Brasília, v.32, n.1/2, p.15-53, 2015.

CORREA, O. S.; ROMERO, A. M.; SORIA, M. A.; ESTRADA, M. de. *Azospirillumbrasilense*-plant genotype interactions modify tomato response to bacterial diseases, and root and foliar microbial communities. In: CASSÁN, F. D.; GARCIA DE SALAMONE, I. (Ed.) ***Azospirillum*** **ssp.: cell physiology, plant**

interactions and agronomic research in Argentina, 2008. Argentina: Asociación Argentina de Microbiologia, p. 87-95, 2008.

COSTA, B. M. da; LEDO, C. A. S.; SILVA, M. C.; TEIXEIRA, V. I. Estimativa da produção de forragem em pastagem de *Brachiaria decumbens*. **Archivos de Zootecnia**, Córdoba, v. 58, n. 221, p. 141-144, 2009.

COSTA, K. A. P., FAQUIN. V., OLIVEIRA I. P. Doses e fontes de nitrogênio na recuperação de pastagens do capim-marandu. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, n. 62, p. 192-199, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0102-09352010000100026>.

COSTA, L. R. F.; SANTOS, J. G. D. Desenvolvimento de forrageiras do gênero *Brachiaria* e *Panicum* sob efeito da inoculação com bactérias fixadoras de nitrogênio. In: 10° SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFT. **Anais...** Palmas, 2014
COSTA, N. de L. Calagem e adubação de pastagens de Brachiaria brizantha cv. Marandu. 2016.

COSTA, N. de L. **Formação, manejo e recuperação de pastagens em Rondônia**. Porto Velho: Embrapa Rondônia, 2004. 215 p.

COSTA, N. L.; GONÇALVES, C. A.; OLIVEIRA, J. R. C.; OLIVEIRA, M. A. S.; MAGALHÃES, J. A. **Resposta de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu a regimes de cortes**. Porto Velho: Embrapa, 2004. 4 p. (Embrapa-CPAF, Comunicado Técnico, 279).

COSTA, N. L.; PAULINO, V. T.; MAGALHÃES, J. A.; RODRIGUES, B. H. N.; SANTOS, F. J. S. Eficiência do nitrogênio, produção de forragem e morfogênese do capim-massai sob adubação. **Nucleus**, Ituverava, v. 13, n. 2, p. 31-40, 2016. DOI:10.3738/1982.2278.1695.

COSTA, N. R.; ANDREOTTI, M.; LOPES, K. S. M.; DOS SANTOS, F. G. Adubação nitrogenada em capins do gênero Urochloa implantados em consórcio com a cultura do milho. **Revista Brasileira Ciências Agrárias,** Recife, v. 9, n. 3, p. 376-383, 2014.

CRUZ, V. T.; PEIXOTO, C. P.; MARTINS M. C. Crescimento e produtividade de soja em diferentes épocas de semeadura no oeste da Bahia. **Scientia Agraria**, Piracicaba, v. 11, n. 1, 2010.

DA SILVA, S. C.; CORSI, M. Manejo do Pastejo. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DE PASTAGENS, 20., 2003, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 2003. p. 155-186.

DARTORA, J.; MARINI, D.; GONÇALVES, E. D. V.; GUIMARÃES, V. F. Coinoculation of *Azospirillum brasilense* and *Herbaspirillum seropedicae* in maize. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental,** Campina Grande, v. 20, n. 6, p. 545-550, jun. 2016.

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

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

DICK, D. P.; MARTINAZZO, R.; DALMOLIN, R. S. D.; JACQUES, A. V. Á.; MIELNICZUK, J.; ROSA, A. S. Impacto da queima nos atributos químicos e na composição química da matéria orgânica do solo e na vegetação. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, n. 43, p. 633-640, 2008.

DOBBELAERE, S.; VANDERLEYDEN, J.; OKON, Y. Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Amsterdan, v. 22, n. 2, p. 107-149, 2003.

DÖBEREINER, J. *Azotobacter paspali* sp.n., uma bactéria fixadora de nitrogênio na rizosfera de *Paspalum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 1, p. 357-365, 1966.

DÖBEREINER, J. Biological nitrogen fixation in the tropics: social and economic contributions. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON SUSTAINABLE AGRICULTURE FOR THE TROPICS – THE ROLE OF BIOLOGICAL NITROGEN FIXATION, Angra dos Reis, 1995. **Anais...** Angra dos Reis: The National Centre for Agrobiology Research (Embrapa-CNPAB), 1995. p.3-4.

DÖBEREINER, J.; DAY, J.M. Associative symbiosis in tropical grasses: characterization of microorganisms and dinitrogen-fixing sites. In: NEWTON W.E.; NYMAN, C.T. (Ed.) INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON NITROGEN FIXATION, vol. 2. **Proceedings**… Pullman, USA: Washington State University Press, 1976. p. 518-538.

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

DUCA, D.; LORV, J.; PATTEN, C. L.; GLICK, B. R. Indole-3-acetic acid in plant–microbe interactions. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 106, p. 85–125, 2014. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s10482-013-0095-y.

ELLENBERG, H. The effects of invironmental factors and use alternatives upon the species diversity and regeneration of tropical rain forests. **Applied Geography and Development**, Tubingen, v. 28, n. 1, p. 19-36, 1986.

EUCLIDES, F. K., CORRÊA, E.S., EUCLIDES, V.P.B. **Boas práticas na produção de bovinos de corte**. Campo Grande: EMBRAPA: CNPGC, 2002. 25 p. (EMBRAPA-CNPGC. Documentos, 129).

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

EUCLIDES, V. P. B., MACEDO, M. C. M., do VALLE, C. B., dos DIFANTE, G. S., BARBOSA, R. A., GONÇALVES, W. V. Valor nutritivo da forragem e produção animal em pastagens de Brachiaria brizantha. **Pesquisa Agropécuaria Brasileira**, Brasília, n. 44, p. 98–106, 2009.

FAGUNDES, J. L.; FONSECA, D. M.; MISTURA, C.; MORAIS, R. V.; VITOR, C. M. T.; GOMIDE, J. A.; NASCIMENTO JUNIOR, D.; CASAGRANDE, D. R.; COSTA, L. T. Características morfogênicas e estruturais do capim-braquiária em pastagem adubada com nitrogênio avaliada nas quatro estações do ano. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, p. 21-29, 2006.

FERNANDES, J. S. ***Azospirillum brasilense* e adubação nitrogenada na *Brachiaria decumbens***. 2016. 49 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2016.

FERREIRA, D.I. F. Sisvar: A guide for its bootstrap procedures in multiple comparisons. **Revista Ciência e Agrotecnologia,** Lavras, v.38, n.2, p.109-112, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542014000200001>.

FUJISAKA, S.; WHITE, D. Slash-and-burn agriculture, conversion to pasture, and deforestation in two Brazilian Amazon colonies. **Agroforestry Systems,** n. 42, p. 45-59, 1998.

FUKAMI, J.; CEREZIN, P.; HUNGRIA, M. *Azospirillum*: benefits that go far beyond biological nitrogen fixation. **AMB Express,** v. 8, 73. Disponível em: <doi:10.1186/ s13568-018-0608-1>.

GALINDO, F. S.; BUZETTI, S.; TEIXEIRA-FILHO, M. C. M.; DUPAS, E.; CARVALHO, F. C. Manejo da adubação nitrogenada no capim-mombaça em função de fontes e doses de nitrogênio. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 41, n. 4, p. 900-913, 2018. DOI: http://dx.doi.org/10.19084/RCA18131.

GALINDO, F.S.; TEIXEIRA-FILHO, M. C. M.; BUZETTI, S.; SANTINI, J. M. K.; ALVES, C. J; NOGUEIRA, L. M.; LUDKIEWICZ, M. G. Z.; ANDREOTTI, M.; BELLOTTE, J;L. M. Corn yield and foliar diagnosis affected by nitrogen fertilization and inoculation with *Azospirillum brasilense*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 40:e015036, 2016.

GAZOLA, T.; DOMINGUES, M. C. C.; DIAS, M. F.; CIPOLA FILHO, M. L.; BELAPART, D.; CASTRO, E. B. de. Efeitos da inoculação de *Azospirilium brasilense* em área de pastagem. **Revista Unimar Ciéncias**, v. 24, p. 40-48, 2015.

GERMANO, L. H. E.; VENDRUSCOLO, M. C.; DANIEL, D. F.; DALBIANCO, A. B. Produtividade e características agronômicas de *Brachiaria brizanyha* cv. Paiaguás submetida a doses de nitrogênio sob cortes. **Boletim de Indústria Animal**, Nova Odessa, v. 75, p. 1-14, 2018. Disponível em: < Diponível em: <DOI: https://doi.org/10.17523/bia.2018.v75.e1419>.

GIRIALDO, J. G.; FRANCO, G. M. R.; VANEGAS, N. F. G.; RODRIGUEZ, A. H. Bactérias diazotróficas con actividad promotora del crecimiento vegetal en *Daucus carota* L. **Revista Ciência y Agricultura,** Tunja, v. 15, n. 1, p. 19-27, 2018. Diponível em: <DOI: https://doi.org/10.19053/01228420.v15.n1.2018.7753>.

GOULDING, K. W. T., HUSTSCH, B. W., WEBSTER, C. P., WILLISON, T. W, POWLSON, D. S. The effect of agriculture on methane oxidation in soil, Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series **A Matematical Physical and Engineering Sciences**, n. 351, p. 313–325, 1995.

GREGO, C. R.; RODRIGUES, C. A. G.; VIEIRA, S. R.; KOBAYASHI, A. G.; FURTADO, A. L. S. Degradação de pastagens avaliada por atributos físicos do solo de fácil obtenção analisados por geoestatística. **II Simpósio de Geoestatística em Ciências Agrárias**, São Paulo, 2011.

GUIMARÃES, S. L.; BOMFIM-SILVA, E. M.; POLIZEL, A. C.; CAMPOS, D. T. S. Produção de capim-marandu inoculado com *Azospirillum* spp. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 7, n. 13, p. 816-825, 2011.

GURGEL, A. L. C.; DIFANTE, G. dos S,; MONTAGNER, D. B.; ARAÚJO, A. R. de; VÉRAS, E. L. de L.; BRIXNER, B. M.; RODRIGUES, J. G.; PEREIRA, M. G. Uso do nitrogênio em pastagens tropicais. In: XI MOSTRA CIENTÍFICA FAMEZ / UFMS, CAMPO GRANDE, **Anais...** Campo Grande, 2018.

HARTMANN, A.; ZIMMER, W. Physiology of *Azospirillum*. In: OKON, Y. (Ed). Azospirillum/plant associations. Boca Raton: **CRC Press**, 1994. P. 15-39.

HERNANI, L. C., SAKAI, E., ISHIMURA, I., LEPSCH, I. F. Influência de métodos de limpeza de terreno sob floresta secundária em Latossolo Amarelo do Vale do Ribeira, SP. I. Dinâmica de atributos químicos, físicos e produção de milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 1, n. 1, p. 205-213, 1987.

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

HUERGO, L. F.; MONTEIRO, R. A.; BONATTO, A. C.; RIGO, L. U.; STEFFENS, M. B. R.; CRUZ, L. M.; CHUBATSU, L. S.; SOUZA, E. M.; PEDROSA, F. O. Regulation of nitrogen fixation in *Azospirillum brasilense*. In: CASSÁN, F. D.; GARCIA DE SALAMONE, I. ***Azospirillum* sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina**. Asociación Argentina de Microbiologia, Argentina, 2008, p. 17-35.

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

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. **A importância do processo de fixação biológica do nitrogêncio para a cultura da soja: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro.** Londrina: Embrapa-Soja, 2007. 80 p. (Emprpa-Soja. Documentos, 283).

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**, Dordrecht, v. 331, p. 413-425, 2010. DOI: 10.1007/s11104-009-0262-0.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAÚJO, R. S. Inoculation of *Brachiaria* spp. with the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense*: An environment-friendly component in the reclamation of degraded pastures in the tropics. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 221, p. 125–131, jan.2016. DOI: https://doi.org/10.1016/j.agee.2016.01.024.

IBGE. Grupo de Coordenação de Estatísticas Agropecuárias – GCEA/RO. **Levantamento Sistemático da Produção Agropecuária – LSPA: Safra 2016/2017.** IBGE: Porto Velho, ago. 2017.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Projeções da população: Brasil e unidades da federação.** 2 ed. Rio de Janeiro, 2018, 58 p. (Relatórios Metodológicos, 40).

IDARON. Agência de Defesa Agrosilvopastoril do Estado de Rondônia. **Informe semestral de campo referente à 43ª etapa de vacinação contra febre aftosa do estado de Rondônia, bovinos de corte**. Porto Velho: Idaron, out./nov. 2017.

ITZIGSOHN, R.; BURDMAN, S.; OKON, Y.; ZAADY, E.; YONATAN, R.; PEREVOLOTSKY, A. Plant-growth promotion in natural pastures by inoculation with *Azospirillum brasilense* under suboptimal growth conditions. **Arid Soil Res. Rehab**, v. 13, p. 151-158, 2000. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1080/089030600263076.

JADOSKI, S. O.; SAITO, L. R.; PRADO, C.; LOPES, E. C.; SALES, L. L. S. R. Characteristics of the Nitrate leaching in intensive farming areas. **Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia**, Guarapuava, v. 3, n. 1 p. 193-200, 2010.

JANK, L.; CARVALHO, P. F.; VALLE, C. B. New grasses and legumes: advances and perspectives for the tropical zones of Latin America. In: REYNOLDS, S. G.; FRAME, J. (Org.) Grasslands: developments, opportunities, perspectives. Roma: FAO, India, **Science Publishers**, 2005. p. 55-79.

JOSEPH, B.; PATRA, R.R.; LAWRENCE, R. 2007. Characterization of plant growth promoting rhizobacteria associated with chickpea (*Cicer arietinum* L.). **International Journal of Plant Production**, v. 2, p. 141–152, 2007.
KANEKO, T.; MINAMISAWA, K.; ISAWA, T.; NAKATSUKASA, H.; MITSUI, H.; KAWAHARADA, Y.; NAKAMURA, Y.; WATANABE, A.; KAWASHIMA, K.; ONO, A.; SHIMIZU, Y.; TAKAHASHI, C.; MINAMI, C.; FUJISHIRO, T.; KOHARA, M.; KATOH, M.; NAKAZAKI, N.; NAKAYAMA, S.; YAMADA, M.; TABATA, S.; SATO, S. Complete genomic structure of the cultivated rice endophyte *Azospirillum* sp. B510. **DNA Research**, v, 17, p. 37-50. 2010,

KARIA, C. T.; DUARTE, J. B.; ARAÚJO, A. R. G. **Desenvolvimento de cultivares do gênero *Brachiaria* (trin.) Griseb. No Brasil.** Planaltina, DF: Embrapa: Cerrados, 2006. 58 p. (Embrapa-Cerrados. Documentos, 163).

KHAN, M. S; ZAIDI, A.; RIZVI, A.; SAIF, S. Inoculation effects of associative plant growth-promoting Rhizobacteria on the performance of legumes. In: ZAIDI.; A, KHAN.; M, MUSARRAT, J. editors. **Microbes for Legume Improvement.** Springer, Cham. 2017, p. 261-276.

KLEIN, Z. H. L. A Expansão do Agronegócio e seu Crescimento em Rondônia. **Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento,** v. 11, n. 8, p. 29-38, 2018.

KLOEPPER, J. W.; LIFSHITZ, R.; ZABLOTOWICZ, R. M. Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. **Trends in Biotechnology**, v. 7, p. 39-43, 1999. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/0167-7799(89)90057-7.

KROLOW, R. H.; MISTURA, C.; COELHO, R. W.; SIEWERDT, L.; ZONTA, E. P.; Efeito do fósforo e do potássio sobre desenvolvimento e a nodulação de três leguminosas anuais de estação fria. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 33, n. 6, p. 2224-2230, 2004.

KUPPER, K. C.; GIMENES-FERNANDES, N.; GOES, A. de. Controle biológico de *Colletotrichum acutatum*, agente causal da queda prematura dos frutos cítricos. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, p. 251-257, 2003.

LANNA FILHO, R.; FERRO, H. M.; PINHO, R. C. de. Controle biológico mediado por *Bacillus subtilis*. **Revista Trópica**, Lavras, v. 4, n. 2, p. 12-20, 2010.

LANA, M. C.; DARTORA, J.; MARINI, D.; HANN, J.E. Inoculation with *Azospirillum*, associated with nitrogen fertilization in maize. **Revista Ceres**, v. 59, n.3, p. 399-405, 2012. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1590/S0034-737X2012000300016.

LAZZARETTI, E.; BETTIOL, W. Tratamento de sementes de arroz, trigo, feijão e soja com um produto formulado a base de células e de metabólitos de *Bacillus subtilis*. **Scientia Agricola**, v. 54, n. 1-2, p. 89-96, 1997. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-90161997000100013>.

LI, B.; XIE, G.; SOAD, A.; COOSEMANS, J. Supression of *Meloidogyne javanica* by antagonistic and plant growth-promoting rhizobacteria. **Journal Zhejiang Univ SCI,** v. 6, p. 496-501, 2005. Disponível em: <doi:10.1631/jzus.2005.B0496>.

LEITE, R. C.; SANTOS, J. G. D.; SILVA, E. L.; ALVES, C. R. C. R.; HUNGRIA, M.; LEITE, R. C.; 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 Pasture Sci**., v. 70, p. 61-67, 2018.

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

LIMA, G. C.; HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; TEIXEIRA-FILHO, M. C. M.; MOREIRA, A.; HEINRICHS, R.; SOARES FILHO, C. V. 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. 04, p. 103-124, 2020. Disponívelem:<DOI: https://doi.org/10.31686/ijier.vol8.iss4.2268>.

LOPES, E. S. Fixação biológica do nitrogênio no sistema solo-planta. In: YAMADA, T.; ABDALLA, S. R. S; VITTI, G. C. (Ed.). **Nitrogênio e enxofre na agricultura brasileira.** Piracicaba: INPI Brasil, 2007. 722 p.

LOUREIRO, M. F.; BODDEY, R. M. Balanço de nitrogênio em quatro gramineas do gênero *Brachiaria.* **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, n. 23, p. 1343-1353, 1988.

MACEDO, M. C. M. Pastagens nos ecossistemas Cerrados: pesquisas para o desenvolvimento sustentável. In: SIMPÓSIO SOBRE PASTAGENS NOS ECOSSISTEMAS BRASILEIROS, 1995, Brasília. **Anais...** Brasília: SBZ, 1995. p. 28-62.

MACEDO, M. C. M. Pastagens nos ecossistemas Cerrados: evolução das pesquisas para o desenvolvimento sustentável. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 42., 2005, Goiânia. **Anais...** Goiânia: SBZ, 2005. p. 56-84.

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

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Valor Bruto da Produção Agropecuária**. Brasília: MAPA, dez. 2018. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/politica-agricola/valor-bruto-da producaoagropecuaria-vbp>. Acesso em 19 jan. 2019.

MARCHETTI, M. M.; BARP, E. A. Efeito rizosfera: a importância de bactérias fixadoras de nitrogênio para o solo/planta – revisão. **Ignis**, Caçador, v. 4, n. 1, p. 61-71, 2015.

MARIANI, L.; MARTINS, L. P.; SILVA, R. L. M.; DALMOLIN, V. R. F.; BRANDÃO, A. A. produtividade da forrageira *Panicum maximum* cv. MG 12 paredão submetido a diferentes níveis de adubação nitrogenada e de diferentes fontes. **Connectoin**, n. 18, p. 111-117, 2018.

MARTUSCELLO, J. A.; SILVA, L. P.; CUNHA, D. N. F.; BATISTA, A. C. S.; BRAZ, T. G. S.; FERREIRA, P. S. Adubação nitrogenada em capim-massai: morfogênese e produção. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v.16, n.1, p. 1-13, 2015.

MATSUMURA, E. E.; SECCO, V. A.; MOREIRA, R. S.; SANTOS, O. J. P.; HUNGRIA, M.; OLIVEIRA, A. L. M. Composition and activity of endophytic bacterial communities in field-grown maize plants inoculated with *Azospirillum brasilense*. **Annals of Microbiology**, First published online: April 01, 2015, 1-14. Disponível em: <http://dx.doi.org/ 10.1007/s13213-015-1059-4>.

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

MDIC. Ministério da Indústria, Comércio Exterior e Serviços. AliceWeb. **Exportação 1997 – 2017**. MDIC, 2018.

MESCHEDE, D. K.; SALES, J. G. C.; LUCCA e BRACCINI, A de.; SCAPIM, C. A.; SCHUAB, S. R. P. Tratamentos para superação da dormência das sementes de capim-braquiária cultivar Marandu. **Revista Brasileira Sementes**, Pelotas, v. 26, n. 1, p. 44-50, 2004. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-31222004000200011>

MEZA, B.; de-BASHAN.L. E.; BASHAN Y. Involvement of indole-3-acetic acid produced by *Azospirillum brasilense* in accumulating intracellular ammonium in *Chlorella vulgaris*. **Research in Microbiology**, v. 166, n. 72-83, 2015.

MILFORD, R.; MINSON, D. J. Intake of tropical pasture species. In: International Grassland Congress, 9, 1966, São Paulo. **Proceedings...** São Paulo: Alarico, 1966. p. 815-822.

MOREIRA, F. M. de S.; SILVA, K. da; NÓBREGA, R. S. A.; CARVALHO, F. de. Bactérias diazotróficas associativas: Diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata Scientiae**, v. 1, n. 2, p. 74-99, 2010.

MOREIRA, V.; JUSTINO, G. C.; CAMARGOS, L. S.; AGUIAR, L. F. Características adaptativas da associação simbiótica e da fixação biológica do nitrogênio molecular em plantas jovens de *Lonchocarpus muehlbergianus* Hassl., uma leguminosa arbórea nativa do Cerrado. **Rodriguésia**, v. 65, n. 2, p. 517-525, 2014. <DOI: http://dx.doi.org/10.1590/S2175-78602014000200013>.

MOREIRA, L.M.; MARTUSCELLO, J.A.; FONSECA, D. M.; MISTURA, C.; MORAIS, R.V.; RIBEIRO JÚNIOR, J.I. Perfilhamento, acúmulo de forragem e composição bromatológica do capim-braquiária adubado com nitrogênio. **Revista Brasileira de Zootecnia,** Viçosa, v.38, p.1675-1684,2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s1516-35982009000900006>.

NORONHA, N. C.; ANDRADE, C. A.; LIMONGE, F. C.; CERRI, C. C.; CERRI, C. E. P.; PICCOLO, M. C.; FEIGL, B. J. Recovery of degraded pasture in Rondônia: macronutrients and productivity of *Brachiaria brizantha*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 34, n. 5, p. 1711-1720, 2010. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1590/S0100-06832010000500023>.

NUNES, S.G.; BOOCK, A.; PENTEADO, I. de O.; GOMES, D.T. ***Brachiaria brizantha* cv. Marandú**. Campo Grande, EMBRAPA - CNPGC, 1988. 31p. (EMBRAPA - CNPGC. Documento, 21).

OLIVEIRA, A. L. M.; URQUIAGA, S.; DÖBEREINER, J.; BALDANI, J. I. The effect of inoculating endophytic N2 - fixing bacteria on micropropagated sugarcane plants. **Plant and Soil**, v. 242, p. 205–215, 2002.

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

OLIVER, R.; SILVA, M. A. Interaction between diazotrophic bacteria and N-fertilizer doses on sugarcane crop. **Journal of Plant Nutrition**, v. 41, p. 722-736, 2018.

PAES, H. M., LIMA, E. S. Pastagens consorciadas como alternativa sustentável na produção de ruminantes. **Atas de Saúde Ambiental**, São Paulo, v. 3, n. 2, p. 112-118, 2015.

PARREIRA, L. H. M.; MARTINS, M. E. P.; RIBEIRO, M. M.; SENA-JÚNIOR J. M. Efeito da bactéria Azospirillum brasilense na adubação química e orgânica em pastagens constituídas de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. **Enciclopédia Biosfera**, v. 11, n. 21, p. 838-850, 2015.

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, p. 1039-1046, 2017**.** Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-9034>.

PEDREIRA, B. C.; PITTA, R. M.; ANDRADE, C. M. S de.; DIAS-FILHO, M. B. **Degradação de pastagens de Braquiarão (*Brachiaria brizantha* cv. Marandu) no Estado de Mato Grosso**. Sinop, MT: Embrapa Agrossilvipastoril, 2014. 28 p. (Embrapa Agrossilvipastoril. Documentos, 2).

PEREIRA, M. F. V. A modernização recente da pecuária bovina em Rondônia: normas territoriais e a nova produtividade espacial. **Revista Geo UERJ**, Rio de Janeiro, n. 26, p. 95-112, 2015. DOI: https://doi.org/10.12957/geouerj.2015.13534

PEREIRA, T.P.; GOMES, M. B.; CARNEIRO, R. D.C. Morfogênese do capim Marandu submetido à inoculação de *Azospirillum* e adubação nitrogenada. Interdisciplinar: **Revista Eletrônica da UNIVAR**, v. 2, n. 14, p. 6-10, 2015.

PERRIG, D.; BOIERO, L.; MASCIARELLI, O.; PENNA, C.; CASSÁN, F.; LUNA, V. Plant growth promoting compounds produced by two agronomically important strains of *Azospirillum brasilense*, and their implications for inoculant formulation. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 75, p. 1143-1150, 2007.

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

PREMAZZI, L. M; MATTOS, H. B. de. Saturação por bases como critério para recomendação de calagemem duas espécies de gramíneas tropicais. **Boletim de Indústria Animal**, Nova Odessa, v. 59, n. 2, p. 125-136, 2002.

PRIMAVESI, A. C.; PRIMAVESI, O.; CORRÊA, L. A.; SILVA, A. G.; CANTARELLA, H. Nutrientes na fitomassa de capim-marandu em função de fontes e doses de nitrogênio. **Ciência e Agrotecnologia**, n. 30, p. 562-568, 2006.

QUADROS, P. D.; ROESCH, L. F. W.; SILVA, P. R. F.; VIEIRA, V. M.; ROEHRS, D. D.; CAMARGO, F. A. O. Desempenho agronômico a campo de híbridos de milho inoculados com *Azospirillum*. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 61, p. 209-218, 2014. Disponível em: >http://dx.doi.org/ 10.1590/S0034-737X2014000200008.

R Core Team (2019). **R: A language and environment for statistical computing.** R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.URL https://www.R-project.org/.

RAIJ, B. V.; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. **Análise química para Avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agronômico de Campinas, 2001. 285 p.

REDIN, M.; SANTOS, G. F.; MIGUEL, P.; DENEGA, G. L.; LUPATINI, M.; DONEDA, A.; SOUZA; E. L. Impactos da queima sobre atributos químicos, físicos e biológicos do solo. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 21, n. 2, p. 381-392, 2011.

REIS JÚNIOR, 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**, Viçosa, v. 32, n. 3, p. 1139-1146, 2008.

RHEINHEIMER, D. S; SANTOS, J. C. P.; FERNANDES, V. B. B.; MAFRA, A. L.; ALMEIDA, J. A. Modificações nos atributos químicos de solo sob campo nativo submetido à queima. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 1, p. 49-55, 2003.

RICHARDSON, A. E. Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants. **Australian Journal of Plant Physiology**, n. 28, p. 897-906. 2001.

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

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

ROMA, C. F. C.; CECATO, U.; SOARES FILHO, C. V.; SANTOS, G. T.; RIBEIRO, O. L.; IWAMOTO, B. S. Morphogenetic and tillering dynamics in Tanzania grass fertilized and non fertilized with nitrogen according to season. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 41, n. 3, p. 565-573, 2012. DOI: 10.1590/S1516-35982012000300013.

ROSA NETO, C.; SILVA, F. A. C.; ARAÚJO, L. V. **Boletim Agropecuário de Rondônia: evolução da produção agropecuária**. Porto Velho, RO: Embrapa Rondônia, 2019. 29 p.

RUDNIK, P.; MELETZUS, D.; GREEN, A.; HE, L.; KENNEDY, C. Regulation of nitrogen fixation by ammonium in diazotrophic species of proteobacteria. **Soil Biology Biochemistry**, v. 29, p. 831-841, 1997.

SALVO, L. P.; FERRANDO, L.; FERNANDÉZ-SCAVINO.A.; SALAMONE, I. E. G. Microorganisms reveal what plants do not: wheat growth and rhizosphere microbial communities after *Azospirillum brasilense* inoculation and nitrogen fertilization under field conditions. **Plant and Soil**, v. 424, p. 405-417, 2018.

SANTINI, J. M. K. Fontes e doses de nitrogênio na cultura da *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés sob condições edafoclimáticas de cerrado. **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer:** Goiânia, v. 11, n. 21, p. 850. 2014.

SANTOS, C. S. A dos. **Capim Marandu submetido à inoculação com bactérias diazotróficas associativas em Latossolo Vermelho de Cerrado**. Rondonópolis: UFMT, 2013. 69 p.

SANTOS, H. G. dos. JACOMINE, P. K. T.; ANJOS, L. H. C. dos; OLIVEIRA, V. A. de; LUMBRERAS, J. F.; COELHO, M. R.; ALMEIDA, J. A. de; ARAÚJO FILHO, J. C. de; OLIVEIRA, J. B. de; CUNHA, T. J. F. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 5 ed. ver. ampl. Brasília: Embrapa, 2018. 356 p.

SANTOS, K. F. D. N.; MOURE, V. R.; HAUER, V.; SANTOS, A. R. S.; DONATTI, L.; GALVÃO, C. W.; PEDROSA, F. O; SOUZA, E. M.; WASSEM, R.; STEFFENS, M. B. R. Wheat colonization by an *Azospirillum brasilense* ammonium-excreting strain reveals up regulation of nitrogenase and superior plant growth promotion. **Plant and Soil**, v. 415, p. 245-255, 2017.

SCHEFER, A.; CIPRIANI, K.; CERICATO, A.; SORDI, A.; LAJÚS, C. R. Eficiência técnica e econômica da cultura da soja submetida à aplicação de fertilizantes nitrogenados em semeadura e cobertura. **Revista Scientia Agraria**, Curitiba v. 17, n. 2, p. 14-20. 2016.

SCHLINDWEIN, J. A.; MARCOLAN, A.L.; FIORELI-PEREIRA, E. C.; PEQUENO, P.L. L.; MILITÃO, J. S. T. Solos de Rondônia: usos e perspectivas. **Revista Brasileira de Ciências da Amazônia**, v. 1, n. 1, p. 213-231, 2012.

SEDAM. **Boletim Climatológico de Rondônia - Ano 2010**, COGEO - SEDAM / Coordenadoria de Geociências – Secretaria de Estado do Desenvolvimento Ambiental, v. 12, 2010, Porto Velho: COGEO, SEDAM, 2012.

SERRÃO, E. A. S.; SIMÃO NETO, M. **Informações sobre duas espécies de gramíneas forrageiras do gênero *Brachiaria* na Amazônia: *B. decumbens* Stapf e *B. ruzizienses.*** Germain et Evrad**.** Belém, PA: IPEAN, 1971. 3 p. (Estudos sobre forrageiras na Amazônia, 1).

SHODA, M. Review: Bacterial control of plants diseases. **Journal of Bioscience**, v. 89, n. 6, p. 515-521. 2000.

SILVA, C. C. F.; BONOMO, P.; PIRES, A. J. V.; MARANHÃO, C. M. A.; PATÊS, N. M. S.; SANTOS, L. C. Características morfogênicas e estruturais de duas espécies de braquiária adubadas com diferentes doses de nitrogênio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 4, p. 657-661, 2009. Disponível em <https://doi.org/10.1590/S1516-35982009000400010>.

SILVA, L. L. G. G.; ALVES, G. C.; RIBEIRO, J. R. A.; URQUIAGA, S.; SOUTO, S. M.; FIGUEIREDO, M. V. B.; BURITY, H. A. Fixação biológica de nitrogênio em pastagens com diferentes intensidades de corte. **Archivos de Zootecnia**, v. 59, n. 225, p. 21-30. 2010.

SILVA, D. R. G.; COSTA, K. A. P.; FAQUIN, V.; OLIVEIRA, I. P.; BERNARDES, T. F. Doses e fontes de nitrogênio na recuperação das características estruturais e produtivas do capim-Marandu. **Revista Ciência Agronômica**, v.44, p.184-191, 2013.

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

SILVEIRA, C. P. **Doses de nitrogênio e de enxofre para a recuperação de pastagem com capim-braquiária: atributos de parte aérea, raízes e fertilidade**

do solo. 2009. 124 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

SIMEÃO, R. M.; VALLE, C. B.; RESENDE, M. D. V.; MEDEIROS, S. R.; SILVA, A. S.; RAGALZI, C. M.; JANK, L.; BARRIOS, S. C. L.; SANTOS, M. F. **Melhoramento de *Brachiaria ruziziensis* Germain & Evrard (sin. *Urochloa ruziziensis*) autotetraploide**: resultados da avaliação genética de subpopulações, progênies e indivíduos [recurso eletrônico] – Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte, 2016. 30 p. (Embrapa-CNPGC. Boletim, 37). Disponível em: <http://www.cnpgc.embrapa.br/publicacoes/bp/BP37.pdf>

SIMON, C. A.; RONQUI, M. B.; ROQUE, C. G.; DESENSO, P. A. Z.; SOUZA, M. A. V.; KÜHN, I. E.; SILVA CAMOLESE, H.; PENHA SIMON, C. Efeitos da queima de resíduos do solo sob atributos químicos de um latossolo vermelho distrófico do cerrado. **Nativa**, n. 4, p. 217- 221, 2016.

SKONIESKI, F. R.; VIÉGAS, J.; MARTIN, T. W.; NORNBERG, J. L.; MEINERZ, G. R.; TONIN, T. J.; BERNHARD, P.; FRATA, M. T. Effect of seed inoculation with Azospirillum brasilense and nitrogen fertilization rates on maize plant yield and silage quality. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 46, n. 9, p. 722-730, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/s1806-92902017000900003>.

SOARES FILHO, C. V.; HEIRINCHS, R.; OLIVEIRA, F. C. DE; SILVA LIRA, M. V. Uso racional de adubação de pastagens. In: SIMPÓSIO DE MANEJO SUSTENTÁVEL DAS PASTAGENS DE RONDÔNIA, 2, 2016, Porto Velho. **Anais**... Porto Velho, 2016. p. 102-142.

SOBRAL, J. K. **A comunidade bacteriana endofítica e epifitica de soja (Glycine max) e estudo da interação endófitos-planta**. Piracicaba: ESALQ, 2003. 174f. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

SPAEPEN, S.; VANDERLEYDEN, J.; OKON, A. Y. Plant Growth-Promoting Actions of Rhizobacteria. **Advances in Botanical Research**, v. 51, p. 283-320, 2009.<DOI:10.1016/S0065-2296(09)51007-5>.

STURZ, A. V., NOWAK, J. Endophytic communities of rhizobacteria and the strategies required to create yield enhancing associations with crops. **Applied Soil Ecology**., n. 15, p. 183-190, 2000.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

TEIXEIRA, P. C.; DONAGEMMA, G. K.; FONTANA, A.; TEIXEIRA, W. G. **Manual de métodos de análise de solo**. 3 ed. rev. e ampl. Brasília, DF: Embrapa, 2017. 574 p.

TEIXEIRA, R. N. V; PEREIRA, C. E; KIKUTI, H; DEMINICIS, B. B. *Brachiaria brizantha* (Syn. *Uroclhoa brizantha*) cv. Marandu sob diferentes doses de nitrogênio

e fósforo em Humaitá-AM, Brazil. **Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia**, Guarapuava, v. 11, n. 2, p. 35-41, 2018.

THAKURIA, D.; TALUKDAR, N. C.; GOSWAMI, C.; HAZARIKA, S.; BORO, R.C.; KHAN, M.R. Characterization and screening of bacteria from rhizosphere of rice grown in acidic soils of Assam. **Current Science**, v. 86, p. 978–985, 2004.

TIEN, T. M.; GASKINS, M. H.; HUBBELL, D. H. Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.). **Applied and Enviromental Microbiology**, v. 37, n. 6, p. 1016-1024, 1979. <DOI:0099-2240/79/05-1016/09$02.00/0>.

TORRES, F. E.; VALLE, C. B.; LEMPP, B.; TEODORO, P.E.; SANTOS, A.; RIBEIRO. Contribuição dos caracteres de qualidade da forragem ao teor de proteína bruta em *Urochloa brizantha*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira,** Brasília, v.51, n.3, 2016.

TORRES-GONZALEZ, A. M.; MORTON, C. M. Molecular and morphological phylogenetic analysis of *Brachiaria* and *Urochloa* (Poaceae). **Molecular phylogenetics and evolution**, Amsterdam, v. 37, p. 36-44, 2005.

TOWNSEND, C. R.; COSTA, N. de L.; PEREIRA, R. G. D. A. **Aspectos econômicos da recuperação de pastagens no bioma Amazônia.** Porto Velho: Embrapa Rondônia, 2009. 23 p. (Embrapa Rondônia. Documentos, 131).

TOWNSEND, C. R.; COSTA, N. de L.; PEREIRA, R. G. D. A. **Recuperação e práticas sustentáveis de manejo de pastagens na Amazônia**. Porto Velho: Embrapa Rondônia, 2012. 23 p. (Embrapa Rondônia. Documentos, 148).

TOWNSEND, C. R.; SALMAN, A. K. D.; TEIXEIRA, C. A. D.; MARCOLAN, A. L.; RIBEIRO, M. A. G.; ALVES, J. R. Formação e manejo de pastagens. In: BRITO, L. G.; MARCOLAN, A. L.; SALMAN, A. K. D.; TOWNSEND, C. R.; TEIXEIRA, C. A. D.; BARBIERI, F. S.; ARAGAO, J. L.; ALVES, J. R.; ARAUJO, L. V.; RIBEIRO, M. A. G.; FIGUEIRÓ, M. R.; PEREIRA, R. G. A. (Ed.) **Sistema de produção de leite para Rondônia**. Porto Velho: Embrapa Rondônia, 2011. p. 25-44. (Sistemas de Produção, 34).

UTSET, A.; CID, G. Soil penetrometer resistance spatial variability in a ferralsol at several soil moisture conditions. **Soil Tillage Research**, Oxford, v. 61, n. 3-4, p. 193-202, 2001.

VALÉRIO, J. R. **Cigarrinhas-das-pastagens**. Campo Grande: Embrapa: Gado de Corte, 51 p., 2009. (Embrapa-CNPGC. Documentos 179).

VALLE, C. B.; EUCLIDES, V. C. B.; MACEDO, M. C. M. Características das plantas forrageiras do gênero *Brachiaria.* In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DE PASTAGEM, 17, 2001, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 2001. p.133-176.

VALLE, C. B.; JANK, L.; RESENDE, R. M. S. O melhoramento de forrageiras tropicais no Brasil. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 56, n. 4, p. 460-472, 2009

VIEIRA JÚNIOR, J. R.; FERNANDES C. S.; JÚNIOR, H. A.; DOMINGOS, M. S. da S.; SILVA, S. G. da.; SILVA, U. O. da. **Rizobactérias como agentes de controle biológico e promotores decrescimento de plantas**. Porto Velho: Embrapa Rondônia, 2013. 15 p. (Embrapa Rondônia, Documentos, 155).

VITTI, G. C., HEIRINCHS, R. Formas tradicionais e alternativas de obtenção e utilização do nitrogênio e do enxofre: uma visão holística. In: SIMPÓSIO SOBRE NITROGÊNIO E ENXOFRE NA AGRICULTURA BRASILEIRA, 2006, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: IPNI Brasil, 2007.

VOGEL, G. F.; MARTINKOSKI, L.; RUZICKI, M. Efeitos da utilização de *Azospirillum brasilense* em poáceas forrageiras: Importâncias e resultados. **Agropecuária Científica no Semi-Árido**, v. 10, n. 1, p. 01-06, 2014.

WANI, P. A.; KHAN, M. S. *Bacillus* species enhance growth parameters of chickpea (*Cicer arietinum* L.) in chromium stressed soils. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, p. 3262–3267, 2010.

WATTERS, R. F. Shifting cultivation in Latim America. **Forestry Development Paper**, v. 17, p. 179-196. Roma: FAO, 1971.

ZUCARELI, C.; BARZAN, R. R.; da SILVA, J. B.; CHAVES, D. P. Associação de fosfatos e inoculação com *Bacillus subtilis* e seu efeito no crescimento e desempenho produtivo do feijoeiro. **Revista Ceres**, Viçosa, v.65, n. 2, p. 189-195, mar/abr, Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0034-737x2018650200112018>.

APÊNDICE

Apêndice A. Pressuposições da análise de variância determinadas pelos testes de Shapiro-Wilk (normalidade dos erros) e Bartlett (homocedasticidade das variâncias) para altura da planta (AP), número de perfilhos (NP), diâmetro basal do colmo (DC), número de folhas (NF), massa seca da parte aérea (MSPA) e proteína bruta (PB), referente aos cortes do capim *Urochloa brizantha* cv. MARANDU, submetido à inoculação ou não com *Azospirillum brasilense* e *Bacillus subtilis*, de forma isolada ou combinada, associadas ou não a doses de nitrogênio. Ji-Paraná, RO, 2018

Variáveis	Primeiro Corte					
	Shapiro-Wilk			Bartlett		
	W	p-value	H0	χ^2	p-value	H0
AP	0,98	0,2570	NR	12,71	0,8530	NR
NP	0,98	0,3130	NR	7,10	0,9937	NR
DC	0,98	0,1288	NR	8,94	0,9745	NR
NF	0,99	0,8304	NR	19,75	0,4096	NR
MSPA	0,99	0,8299	NR	25,27	0,1520	NR
PB	0,98	0,0688	NR	22,91	0,2412	NR
	Segundo Corte					
AP	0,99	0,7068	NR	11,64	0,9003	NR
NP	0,97	0,0512	NR	9,81	0,9573	NR
DC	0,98	0,2450	NR	8,34	0,9829	NR
NF	0,99	0,5206	NR	16,73	0,6083	NR
MSPA	0,99	0,7657	NR	27,72	0,0889	NR
PB	0,98	0,1289	NR	10,42	0,9417	NR
	Terceiro Corte					
AP	0,98	0,0586	NR	13,14	0,8312	NR
NP	0,98	0,0834	NR	10,67	0,9344	NR
DC	0,99	0,3473	NR	17,81	0,5351	NR
NF	0,99	0,4555	NR	15,59	0,6843	NR
MSPA	0,99	0,8436	NR	14,22	0,7710	NR
PB	0,99	0,5435	NR	21.34	0,3185	NR
	Quarto Corte					
AP	0,98	0,0629	NR	7,41	0,9917	NR
NP	0,98	0,2837	NR	25,34	0,1497	NR
DC	0,98	0,1067	NR	13,10	0,8336	NR
NF	0,99	0,3189	NR	29,78	0,0546	NR
MSPA	0,99	0,3364	NR	27,75	0,0883	NR
PB	0,98	0,1845	NR	26,42	0,1190	NR

W = estatística do teste de Shapiro-Wilk; χ^2 = estatística do teste de Bartlett, H0 = hipótese de nulidade; NR = não rejeitar H0 quando p-value ≥ a 0,05 de probabilidade.
Fonte: Elaborado pelo autor

Apêndice B. Pressuposições da análise de variância determinadas pelos testes de Shapiro-Wilk (normalidade dos erros) e Bartlett (homocedasticidade das variâncias) para a massa seca total (MST) referente aos cortes do capim *Urochloa brizantha* cv. MARANDU, submetido à inoculação ou não com *Azospirillum brasilense* e *Bacillus subtilis*, de forma isolada ou combinada, associadas ou não a doses de nitrogênio. Ji-Paraná, RO, 2018

Variáveis	Shapiro-Wilk			Bartlett		
	W	p-value	H0	χ^2	p-value	H0
MST	0,99	0,6074	NR	18,76	0,4722	NR

W = estatística do teste de Shapiro-Wilk; χ^2 = estatística do teste de Bartlett, H0 = hipótese de nulidade; NR = não rejeitar H0 quando p-value ≥ a 0,05 de probabilidade.
Fonte: Elaborado pelo autor

Apêndice C. Pressuposições da análise de variância determinadas pelos testes de Shapiro-Wilk (normalidade dos erros) e Bartlett (homocedasticidade das variâncias) para acúmulos de nitrogênio (N), de fósforo (P) e de potássio (K) obtidos na massa secada parte aérea ceifada do capim *Urochloa brizantha* cv. MARANDU submetido à inoculação ou não com *Azospirillum brasilense* e *Bacillus subtilis*, de forma isolada ou combinada, associadas ou não a doses de nitrogênio. Ji-Paraná, RO, 2018

Variáveis	Primeiro Corte					
	Shapiro-Wilk			Bartlett		
	W	p-value	H0	χ^2	p-value	H0
N	0,98	0,0855	NR	29,83	0,0540	NR
P	0,99	0,6319	NR	19,57	0,4212	NR
K	0,98	0,2978	NR	27,02	0,1041	NR
	Segundo Corte					
N	0,98	0,2006	NR	26,93	0,1063	NR
P	0,98	0,0544	NR	26,69	0,1121	NR
K	0,99	0,4652	NR	28,28	0,0783	NR
	Terceiro Corte					
N	0,99	0,8584	NR	23,44	0,2186	NR
P	0,99	0,5711	NR	11,33	0,9123	NR
K	0,99	0,9352	NR	16,34	0,6345	NR
	Quarto Corte					
N	0,99	0,5499	NR	28,09	0,0817	NR
P	0,99	0,3363	NR	25,46	0,1459	NR
K	0,99	0,4401	NR	23,49	0,2165	NR

W = estatística do teste de Shapiro-Wilk; χ^2 = estatística do teste de Bartlett, H0 = hipótese de nulidade; NR = não rejeitar H0 quando p-value ≥ a 0,05 de probabilidade.
Fonte: Elaborado pelo autor