

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

Caroline Lopes Monteiro de Carvalho

Zootecnista

**INOCULAÇÃO COM BACTÉRIAS PROMOTORAS DO
CRESCIMENTO NO ACÚMULO DE NUTRIENTES, PRODUÇÃO
DE MASSA SECA E COMPOSIÇÃO BROMATOLÓGICA DO
CAPIM ZURI (*Megathyrsus maximus*)**

Dracena

2020

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

Caroline Lopes Monteiro de Carvalho

**INOCULAÇÃO COM BACTÉRIAS PROMOTORAS DO
CRESCIMENTO NO ACÚMULO DE NUTRIENTES, PRODUÇÃO
DE MASSA SECA E COMPOSIÇÃO BROMATOLÓGICA DO
CAPIM ZURI (*Megathyrsus maximus*)**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas-UNESP, Campus de Dracena, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia Animal.

Orientador: Prof. Dr. Cecílio Viegas Soares Filho
Coorientador: Prof. Dr. Marcelo Carvalho Minhoto Teixeira Filho

Dracena

2020

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

C331i

Carvalho, Caroline Lopes Monteiro de.

Inoculação com bactérias promotoras do crescimento no acúmulo de nutrientes, produção de massa seca e composição bromatológica do capim Zuri (*Megathyrsus maximus*). / Caroline Lopes Monteiro de Carvalho. -- Dracena: [s.n.], 2020.

73 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp). Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas de Dracena. Área do conhecimento: Produção Animal, 2020.

Orientador: Cecílio Viegas Soares Filho

Coorientador: Marcelo Carvalho Minhoto Teixeira Filho

1. Fixação biológica de nitrogênio. 2. *Pseudomonas fluorescens*. 3. *Azospirillum brasilense*. 4. *Rhizobium tropici*. 5. Nitrogênio. 6. Proteína bruta. I. Título.



Bibliotecário Fábio Sampaio Rosas
CRB 8/6665



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Dracena



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: INOCULAÇÃO COM BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO NO ACÚMULO DE NUTRIENTES, PRODUÇÃO DE MASSA SECA E COMPOSIÇÃO BROMATOLÓGICA DO CAPIM ZURI (*Megathyrus maximus*)

AUTORA: CAROLINE LOPES MONTEIRO DE CARVALHO

ORIENTADOR: CECILIO VIEGA SOARES FILHO

COORDENADOR: MARCELO CARVALHO MINHOTO TEIXEIRA FILHO

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

Prof. Dr. CECILIO VIEGA SOARES FILHO

Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal / Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba - UNESP

Prof. Dr. REGES HEINRICHS

Departamento de Agronomia / Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas de Dracena - UNESP

Drª MARIANGELA HUNGRIA DA CUNHA

Embrapa Soja - Londrina/PR

Dracena, 05 de agosto de 2020

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Caroline Lopes Monteiro de Carvalho, nascida em 8 de dezembro de 1994 no município de Santa Rita do Passa Quatro, São Paulo. Graduada em Zootecnia pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Dracena, dezembro de 2017. Ingressou no curso de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia Animal em março de 2019, na área de produção animal, sendo bolsista FAPESP.

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho às mulheres do campo e da ciência, que lutaram e lutam para que hoje esse trabalho e outros possam ser lidos e feitos por outras mulheres.

Ao meu pai, Carlos, que sempre me incentivou a estudar e hoje partilha comigo a vida de pós graduando.

À minha mãe, Nereide, pelo apoio, conversas e suporte nas minhas mudanças.

À minha irmã, Tu, pelo apoio, ajudas, por me abrigar na sua casa e por dar vida ao Otávio, que é o motivo de nossas alegrias e à Olivia, que chegará com muito amor.

À “Tia Maria”, minha mãe de Dracena, que é uma grande fonte de inspiração na minha vida, e ensinou muito sobre o trabalho no campo e sobre a vida.

À Ana Carla, não consigo descrever o quanto sua amizade significa para mim, você é a “minha pessoa”.

Ao Prof. Dr. Reges Heinrichs, que é o motivo da minha vida acadêmica ter continuidade e se tornou um grande amigo.

Ao Diego, pelo carinho, por toda a ajuda com esta dissertação e por estar ao meu lado sempre.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de ressaltar a impossibilidade de agradecer a todos que me ajudaram durante o percurso que constitui o desenvolvimento da pesquisa científica. Desse modo, limitarei os agradecimentos aqueles que atuaram de forma mais direta no desenvolvimento desse trabalho.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, em especial à Faculdade de Ciência e Tecnologia Animal de Dracena e a Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba, pelo suporte.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), processo nº 2018/12363-4 pelo financiamento do projeto de pesquisa, tornando possível a produção desta dissertação.

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

Ao Professor Dr. Cecílio Viegas Soares Filho pela orientação, aconselhamentos, paciência na condução do trabalho e redação da dissertação, contribuindo no meu amadurecimento e crescimento pessoal e profissional. Minha eterna gratidão, muito obrigado “Ceci”.

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

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

Aos docentes e funcionários da UNESP que contribuíram para minha formação acadêmica, proporcionando-me experiências incríveis desde a graduação e ao longo do mestrado, contribuindo para o meu crescimento profissional e pessoal.

À Geovana Sá, pela amizade e carinho.

Aos alunos e amigos pelo companheirismo e ajuda na execução dos trabalhos em campo e no laboratório.

**“Me levanto
Sobre o sacrifício
De um milhão de mulheres que vieram antes
E penso
O que é que eu faço
Para tornar essa montanha mais alta
Para que as mulheres que vierem depois de mim
possam ver além”.**

(Rupi Kaur)

RESUMO

Estima-se que no território brasileiro existem aproximadamente 167 milhões de hectares de pastagens, sejam de espécies nativas ou introduzidas para alimentação de animais. Provavelmente 130 milhões já estejam degradadas e precisam de uma intervenção para que ocorra a reversão do estado em que se encontram. Existe uma alta demanda do setor agropecuário na busca por tecnologias que diminuam os impactos ao meio ambiente, principalmente em organismos não-alvos ou na contaminação de recursos hídricos. Nesse contexto, a utilização de bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP) é considerada uma alternativa viável para a criação de bovinos de corte no país, pois poderia aumentar a produção de forragem e reduzir o manejo com produtos químicos, com menor impacto ambiental. O objetivo deste projeto foi avaliar os efeitos da inoculação do capim Zuri [*Megathyrsus* (syn. *Panicum*) *maximus*] com BPCP sobre a produtividade de massa seca de forragem, composição morfológica, número de perfilhos, índice relativo de clorofila (IRC), composição bromatológica e acúmulo de nutrientes. O experimento foi conduzido em delineamento em blocos completos casualizados com 8 tratamentos e 4 repetições. Os tratamentos corresponderam ao controle negativo (sem nitrogênio (N) e sem inoculação), controle positivo (com N e sem inoculação) e com N-mineral em todos os tratamentos inoculados com *Azospirillum brasilense* (Ab-V5 + Ab-V6), *A. brasilense* (Ab-V5 + Ab-V6) + reinoculação após cada corte, com *Pseudomonas fluorescens* CCTB 03, inoculação de *P. fluorescens* + reinoculação após cada corte, coinoculação entre *Rhizobium tropici* CIAT 899 + *A. brasilense* (Ab-V6) e coinoculação entre *R. tropici* + *A. brasilense* (Ab-V6) + reinoculação após cada corte. As variáveis foram analisadas pelo teste de comparação múltipla de Scott-Knott ($p \leq 0,05$). Para número de perfilhos por m², os tratamentos inoculados com BPCP foram superiores ao controle positivo, em 36%. A produção de massa seca de forragem foi superior nos tratamentos inoculados com *P. fluorescens* em 7% em relação ao controle positivo. BPCP combinadas com adubação mineral de N aumentaram a produção acumulada de massa seca, o IRC, acúmulo de N, fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), proteína bruta (PB) e digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) do capim Zuri. Os valores de IRC e número de perfilhos foram superiores quando inoculados com *P. fluorescens* e Ab-V6 + *R. tropici*, com valores de 30,8 a 31,1, para IRC. Os teores de FDN e FDA, para os tratamentos inoculados, foram próximos de 69% e 40%, respectivamente. A PB aumentou em média 12% com a inoculação Ab-V5 + Ab-V6, e coinoculação de Ab-V6 + *R. tropici* e *P. fluorescens* e a DIVMS apresentou resultados semelhantes. Houve incremento no acúmulo de N, P, K, Ca, S, Mg, Cu, Fe, Zn pelas estirpes de Ab-V5 + Ab-V6. A reinoculação com *P. fluorescens* CCTB 03 após cada corte proporcionou aumento em 7% na produção de massa seca da parte aérea do capim Zuri em relação ao controle positivo. As BPCP podem ser uma alternativa sustentável para reduzir o uso de fertilizantes nitrogenados, a determinação do método de aplicação e a periodicidade da inoculação ainda requerem investigação.

Palavras-chave: Fixação biológica de nitrogênio. *Pseudomonas fluorescens*. *Azospirillum brasilense*. *Rhizobium tropici*. Nitrogênio. Proteína bruta.

ABSTRACT

Esteem if in Brazilian territory there are approximately 167 million hectares of pasture, either of native species or introduced for animal feed. Probably 130 million are already degraded and need an intervention for the reversion of the state they are in. There is a high demand from the agricultural sector in the search for technologies that reduce the impacts on the environment, mainly in non-target organisms or in the contamination of water resources. In this context, the use of plant growth promoting bacteria (PGPB) is considered a viable alternative for beef cattle breeding in the country, as it could increase forage production and reduce handling with chemicals, with less environmental impact. The objective of this project was to evaluate the effects of inoculation of Zuri grass [*Megathyrsus* (syn. *Panicum*) *maximus*] with PGPB on the forage dry matter productivity, morphological composition, number of tillers, relative chlorophyll index (RCI), bromatological composition and accumulation of nutrients. The experiment was conducted in a complete randomized block design with eight treatments and four replications. The treatments corresponded to the negative control (without nitrogen (N) and without inoculation), positive control (with N and without inoculation) and with N-mineral in all treatments inoculated with *Azospirillum brasilense* (Ab-V5 + Ab-V6), *A. brasilense* (Ab-V5 + Ab-V6) + reinoculation after each cut, with *Pseudomonas fluorescens* CCTB 03, inoculation of *P. fluorescens* + reinoculation after each cut, co-inoculation between *Rhizobium tropici* CIAT 899 + *A. brasilense* (Ab-V6) and co-inoculation between *R. tropici* + *A. brasilense* (Ab-V6) + reinoculation after each cut. The variables were analyzed by the Scott-Knott multiple comparison test ($p \leq 0.05$) For the number of tillers per m², treatments inoculated with PGPB were superior to the positive control, by 36%. The production of forage dry matter was higher in treatments inoculated with *P. fluorescens* by 7% in relation to the positive control. PGPB combined with mineral fertilization of N increased the accumulated dry mass production, RCI, N accumulation, neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), crude protein (CP) and in vitro digestibility of dry matter (IVDMD) of Zuri grass. The values of CRF and number of tillers were higher when inoculated with *P. fluorescens* and Ab-V6 + *R. tropici*, with values from 30.8 to 31.1, for CRF. The levels of NDF and ADF, for the inoculated treatments, were close to 69% and 40%, respectively. RCI increased by an average of 12% with Ab-V5 + Ab-V6 inoculation, and co-inoculation of Ab-V6 + *R. tropici* and *P. fluorescens* and IVDMD showed similar results. There was an increase in the accumulation of N, P, K, Ca, S, Mg, Cu, Fe, Zn by the strains of Ab-V5 + Ab-V6. The reinoculation with *P. fluorescens* CCTB 03 after each cut provided a 7% increase in the dry matter production of the aerial part of Zuri grass in relation to the positive control. BPCPs can be a sustainable alternative to reduce the use of nitrogen fertilizers, the determination of the application method and the frequency of inoculation still require investigation.

Keywords: Biological nitrogen fixation. *Pseudomonas fluorescens*. *Azospirillum brasilense*. *Rhizobium tropici*. Nitrogen. Crude protein.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Temperaturas do ar máxima e mínima (°C) e precipitação acumulada (mm) mensais durante o período experimental.	29
Figura 2 Acúmulo de massa seca de forragem (kg/ha) em <i>Megathyrus maximus</i> cv. BRS Zuri	35
Figura 3 Produção de massa seca por corte (kg/ha) em <i>Megathyrus maximus</i> cv. BRS Zuri.	37
Figura 4 Produção de massa seca foliar (MSFL) em kg/ha em <i>Megathyrus maximus</i> cv. BRS Zuri.....	38
Figura 5 Produção de massa de colmo e bainha (MSCB) em kg/ha em <i>Megathyrus maximus</i> cv. BRS Zuri	40
Figura 6 Porcentagem de lâmina foliar (%LF) em <i>Megathyrus maximus</i> cv. BRS Zuri.....	41
Figura 7 Número de perfilhos por metro quadrado em <i>Megathyrus maximus</i> cv. BRS Zuri	43
Figura 8 Índice Relativo de Clorofila (IRC) em <i>Megathyrus maximus</i> cv. BRS Zuri.....	44
Figura 9 Teores médios de fibra em detergente neutro (FDN) (%) em <i>Megathyrus maximus</i> cv. BRS Zuri.	47
Figura 10 Teores médios de fibra em detergente ácido (FDA) (%) em <i>Megathyrus maximus</i> cv. BRS Zuri.	48
Figura 11 Teores de Proteína Bruta (%) em <i>Megathyrus maximus</i> cv. BRS Zuri.....	50
Figura 12 Digestibilidade in vitro da matéria seca (DIVMS) (%) em <i>Megathyrus maximus</i> cv. BRS Zuri.	52
Figura 13 Acúmulo de nitrogênio (g/kg) (a), de fósforo (g/kg) (b), de potássio(g/kg) (c), de enxofre (g/kg) (d), de cálcio (g/kg) (e) e de magnésio (g/kg) (f) em <i>Megathyrus maximus</i> cv. BRS Zuri.....	54
Figura 15 Acúmulo de nitrogênio (g/kg) (a), de fósforo (g/kg) (b), de potássio(g/kg) (c), de enxofre (g/kg) (d), de cálcio (g/kg) (e) e de magnésio (g/kg) (f) em <i>Megathyrus maximus</i> cv. BRS Zuri.....	55
Figura 16 Acúmulo de cobre (mg/kg) (a), de ferro (mg/kg) (b), de zinco (mg/kg) (c) e de manganês (mg/kg) em <i>Megathyrus maximus</i> cv. BRS Zuri	57
Figura 17 Acúmulo de cobre (mg/kg) (a), de ferro (mg/kg) (b), de zinco (mg/kg) (c) e de manganês (mg/kg) em <i>Megathyrus maximus</i> cv. BRS Zuri.	58

LISTA DE ABREVIações

AIA	Ácido indol-3-acético
BPCP	Bactérias Promotoras de Crescimento em Plantas
Ca	Cálcio
Cu	Cobre
DIVMS	Digestibilidade in vitro da matéria seca
FDA	Fibra em Detergente Ácido
FDN	Fibra em Detergente Neutro
Fe	Ferro
GEE	Gases do Efeito Estufa
IRC	Índice Relativo de Clorofila
K	Potássio
Mg	Magnésio
Mn	Manganês
MSCB	Massa Seca de Colmo e Bainha
MSLF	Massa Seca de Lâmina Foliar
N	Nitrogênio
P	Fósforo
PB	Proteína Bruta
S	Enxofre
Zn	Zinco

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1	As Pastagens No Brasil	15
2.2	<i>Megathyrus maximus</i> CV. BRS Zuri	16
2.3	Bactérias Que Atuam Como Promotoras Do Crescimento Em Plantas	18
2.4	<i>Azospirillum</i> spp.	19
2.5	<i>Pseudomonas</i> spp.	21
2.6	Co-Inoculação Entre <i>Rhizobium tropici</i> e <i>Azospirillum brasilense</i>	22
2.7	Adubação Nitrogenada	25
2.8	Análise Bromatológica e Índice de Clorofila de <i>M. Maximus</i> cv. Brs Zuri	27
3	MATERIAL E MÉTODOS	29
3.1	Local e Condições Climáticas	29
3.2	Condução do Experimento	30
3.3	Colheitas e Composição Bromatológica	31
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
4.1	Produtividade do Capim Zuri	34
4.2	Composição Bromatológica do Capim Zuri	45
4.3	Acúmulo de Nutrientes da Parte Aérea	52
5	CONCLUSÕES	60
6	REFERÊNCIAS	61
	APÊNDICE	71

1 INTRODUÇÃO

Cerca de 95% do rebanho de bovinos nacional é mantido em regime de pastagem, que atualmente ocupa uma área 167 milhões de hectares (IBGE,2018) aumentado a competitividade do produto brasileiro por apresentar um menor custo de produção e não concorrer com a alimentação humana (EMBRAPA, 2020).

As plantas forrageiras constituem a principal fonte de alimentos para os bovinos e são representadas, principalmente, pelos gêneros *Urochloa* spp. (syn.*Brachiaria*). e *Megathyrsus* spp. (syn. *Panicum*)(RESENDE, 2015). No gênero *Megathyrsus*, a espécie *M. maximus* tem sido amplamente cultivada em regiões tropicais e subtropicais (SILVA, 2016) e grandes avanços têm ocorrido na melhoria das pastagens existentes. O Capim Zuri (*M. maximus* cv. BRS Zuri) é uma das cultivares importantes devido às suas qualidades agronômicas e nutricionais. Além de um rápido crescimento e alto rendimento de biomassa, o Capim Zuri se regenera bem ao longo dos ciclos sucessivos (JANK *et al.*, 2017).

As bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP) facilitam o desenvolvimento destas plantas por estimulação direta ou indireta (GAMALERO; GLICK, 2011; DE LA TORRE-RUIZ *et al.*, 2016). Se, por um lado, a produção pecuária é colocada como protagonista na emissão de gases do efeito estufa (GEE)(SÁ, 2017), iniciativas como o uso do BPCP representam uma alternativa importante para aumentar a produção com sustentabilidade (HUNGRIA *et al.*, 2016; LEITE *et al.*, 2019; DUARTE, 2020).

A estimulação direta do crescimento das plantas pode ser uma consequência dos seguintes processos: fixação biológica de nitrogênio (FBN), solubilização do fosfato, sequestro de ferro, síntese de fitormônios, ou por modulação dos níveis de etileno das plantas (GAMALERO; GLICK, 2011; EGAMBERDIEVA *et al.*, 2017). O controle biológico é uma consequência da capacidade das bactérias para sintetizar antibióticos, enzimas que degradam a parede celular dos fungos, atividade siderófora, ou indução de resistência sistêmica (COMPANT *et al.*, 2005; KARTHIKEYAN *et al.*, 2006; GAMALERO; GLICK, 2011). Desta forma, qualquer BPCP pode contribuir em uma ou vários desses mecanismos e, com isso, promover o crescimento vegetal.

Afixação biológica de nitrogênio(FBN)é realizada por bactérias presentes no solo, ou adicionadas por meio de inóculos, e que se associam às raízes das plantas para capturar e transformar o nitrogênio atmosférico (N_2) em amônia (NH_3) que é assimilável pelas plantas(GAMALERO; GLICK, 2011; CHAUHAN *et al.*, 2017). Como as plantas não conseguem fazer realizar a FBN, precisam destas bactérias associadas que apresentam a enzima nitrogenase funcional para desenvolver este processo. Por outro lado, outras bactérias possuem a capacidade de solubilizar fosfatos para que as plantas possam absorvê-los (CHAGAS JUNIOR *et al.*, 2010; GAMALERO; GLICK, 2011). No caso, o fósforo (P) é um nutriente que possui uma reduzida disponibilidade em alguns tipos de solo, o que limita o crescimento das plantas. As BPCP podem aumentar a disponibilidade de P por meio de sua solubilização e, com isso, favorecer o crescimento de plantas (CHAGAS JUNIOR *et al.*, 2010; CHAUHAN *et al.*, 2017).

Neste ponto, vale a pena descrever que a maior eficiência no estímulo ao crescimento das plantas tem sido observada quando bactérias solubilizantes de fosfato foram coinoculadas com bactérias com outras capacidades fisiológicas, como a FBN(PEREIRA, 2012). Assim, o uso de inoculantes mistos com diferentes atividades benéficas para as plantas parece ser uma estratégia promissora para o crescimento vegetal.

Atualmente, as alternativas que promovem melhorias na produção animal são prioridades, especialmente as estratégias de manejo que associem sustentabilidade à lucratividade. Portanto, o uso de BPCP como inoculantes de gramíneas forrageiras pode representar uma importante alternativa de manejo para melhorar a produção e a qualidade das pastagens e a produção animal.

A hipótese deste trabalho foi de que a inoculação do *M. maximus* com BPCP associadas à adubação nitrogenada, permitiria obter produção de massa seca de forragem elevada e com alto valor nutritivo.

Objetivou-se avaliar o efeito de estirpes selecionadas de *Azospirillum brasilense* (Ab-V5 e Ab-V6), *Pseudomonas fluorescens* CCTB 03ecoinoculação com *Rhizobium tropici* CIAT 899 + Ab-V6 no crescimento, produção, acúmulo de nutrientes e composição bromatológica de *Megathyrus maximus* cv. BRS Zuri.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 As Pastagens No Brasil

A pecuária é fundamental na economia nacional e mundial. De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, o rebanho nacional de bovinos é de cerca de 167 milhões de animais (IBGE, 2020). A produção, em sua maioria, ocorre em pastagens, pois apresenta maior eficácia na segurança da posse de terra quando comparada a outras atividades agrícolas, é menos onerosa, além de ser uma atividade histórica para o brasileiro na ocupação de terras localizadas na fronteira do país (EMBRAPA, 2020; EUCLIDES; MEDEIROS, 2005).

Estima-se que no território brasileiro existem, aproximadamente, 167 milhões de hectares de pastagens, sejam de espécies nativas ou introduzidas para a alimentação de animais. Provavelmente 130 milhões estejam em algum estado de degradação e precisam de uma intervenção para que ocorra a reversão do estado em que se encontram (EMBRAPA, 2020). Hoje, pode-se dizer que existe uma alta demanda do setor agropecuário na busca por tecnologias que diminuam os impactos ao meio ambiente, principalmente em organismos não-alvos e na contaminação de rios e outros cursos d'água. Estudos relacionados com a promoção de crescimento das forragens são necessários por estimular as práticas que aumentem os níveis de matéria orgânica no solo, podendo também representar uma estratégia para a introdução de algumas espécies de leguminosas (EMBRAPA, 2020; EUCLIDES; MEDEIROS, 2005).

A alternativa prática e simples de fornecer energia e proteína para esses animais de criação é a manutenção de pastagens para fins alimentícios (EUCLIDES; MEDEIROS, 2005). Nesse sistema, o Brasil apresenta como vantagem a sua composição florística, que permite que forrageiras tropicais tenham condições de proporcionar desempenhos aos bovinos, sem a necessidade de confinar e ter o preço constantemente modificado pelas oscilações no preço de rações (VILELA *et al.*, 2007). Porém, para que haja o devido valor nutricional é necessário que sejam utilizadas boas práticas no manejo das gramíneas, além da escolha apropriada das espécies a serem utilizadas (MAIXNER *et al.*, 2007).

Todavia, com o baixo investimento no campo em insumos e tecnologias no manejo das pastagens, houve um aumento do processo de degradação, gerando uma redução na eficiência produtiva dos pastos nacionais, sendo considerada a prática de criar bovinos no pasto como uma ação que prejudica o meio ambiente. Contudo, o cenário passou a ser melhorado a partir de 2012, caracterizado pelo aumento do ritmo de crescimento do rebanho bovino, que tem superado as áreas de pastagem no Brasil, principalmente atribuído ao uso de fertilizantes nitrogenados (MARTHA JÚNIOR *et al.*, 2012). Entretanto, com o aumento crescente anual da demanda de alimentos, a pecuária tem enfatizado a necessidade do uso de gramíneas tropicais, por ser uma alternativa econômica e sustentável (EMBRAPA, 2020).

2.2 *Megathyrsus maximus* cv. BRS Zuri

Somente em 2007, a espécie *Megathyrsus maximus* ocupava uma área de um quinto de toda área de pastagem que é cultivada no Brasil, com cerca de 20 milhões de hectares, além de ter sido uma das espécies mais estudadas e com investimento nos programas de pesquisa nacional de melhoramento genético (MINGOTTE *et al.*, 2011). Originalmente essa espécie é nativa da África, assim como a maioria das espécies de plantas forrageiras que possuem grande importância econômica na agropecuária, sendo que é mais provável que a espécie tenha se originado entre a Tanzânia e o Quênia (VALLE *et al.*, 2001).

No Brasil, embora a data de introdução da espécie não seja conhecida, é provável que tenha sido introduzida por meio dos navios que transportaram escravos, pois era utilizada como cama para essas pessoas, sendo disseminada a partir dos lugares onde esses navios aportaram (JANK, 1995).

A Embrapa Gado de Corte intensificou, no início do ano de 1980, os estudos de melhoramento e caracterização da espécie *M. maximus*, tendo como início os estudos agrônomicos e morfológicos derivados da caracterização de plantas originadas de Quênia e Tanzânia e de como essa espécie tem se comportado nas condições climáticas brasileiras (COMBES; PERNES, 1970). A caracterização demonstrou uma alta variabilidade genética, sendo possível a seleção de 25

espécimes que foram utilizados em alguns estados brasileiros por cinco anos (JANK *et al.*, 1997). Na década de 80 era comum o cultivo de Colonião e Sempre Verde e a introdução dessas novas plantas repercutiram em um aumento significativo na produção. Dentre os espécimes avaliados, os acessos referentes ao litoral do Quênia e Tanzânia apresentaram vantagens sobre as plantas já utilizadas, entre essas vantagens a maior produtividade, menor exigência nutricional do solo e menor estacionalidade no fator de produção (JANK *et al.*, 1994).

A cultivar Tanzânia-1 quando comparada ao capim Colonião permitiu um aumento de 30% no ganho de peso em bovinos a pasto, além de um aumento de 38% na produção por área (EUCLIDES; ZIMMER; VIEIRA, 1993). Outro cultivar lançado em seguida foi o capim Mombaça, lançado em 1993, que apresentava como vantagem um ganho de 28% em peso por área quando comparado ao cultivar Tanzânia-1.

Recentemente foi lançado novos materiais dentre eles o capim Zuri, originado de plantas da espécie *M. maximus* coletadas na Tanzânia. Essa cultivarapresenta como vantagens no país uma maior produtividade, garantindo um melhor desempenho animal, maior resistência aalgumas pragas (como a cigarrinha das pastagens) e apresentar vigor elevado, além de possuir maior capacidade de suporte quando comparada a sua linhagem de origem. Quando adulta essa planta mostra folhas de coloração verde escura de proporções largas, longas e com arqueamento, sendo uma planta cespitosa de tamanho elevado. Essa variedade ainda possui uma alta tolerância a solos encharcados, mas sua alta produtividade ocorre quando semeada em solos bem drenados, se tornando uma opção viável para diversificar pastagens nos biomas do Cerrado e da Amazônia (EMBRAPA, 2014).

A produção do cultivar BRS Zuri atingiu cerca de 21,8 toneladas por hectare no período de um ano apenas de massa seca foliar, sendo que esse valor é 50% superior quando comparado com o capim do cultivar Tanzânia-1. Mesmo durante a estacionalidade esse cultivar apresentou uma produção similar aos cultivares Mombaça e Tanzânia-1com mais de 15% no período seco do total produzido no ano. Além disso, apresentou 87% a mais de folhas e uma maior composição proteica de até 15% nas folhas e 12% nos caules (EMBRAPA, 2014).

2.3 Bactérias que Atuam como Promotoras do Crescimento em Plantas

Com o intuito de potencializar o avanço social, econômico e ecológico que existe nos ecossistemas dominados pelo pasto no Brasil é necessária a adoção das biotecnologias que já existem para o manejo adequado da fertilidade do solo nessas áreas. As bactérias que realizam a FBN atmosférico geralmente são encontradas no interior de tecidos vegetais ou próximas à rizosfera. A disponibilidade de nitrogênio (N) que essas bactérias produzem é moderada para as culturas de gramíneas tropicais, necessitando de um suplemento nitrogenado.

Nesse contexto, a utilização de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) em gramíneas é considerada uma alternativa viável para a criação de bovinos de corte no país, que aumentaria a produção de forragem e reduziria o uso de produtos químicos no solo, diminuindo também o impacto ambiental. A contribuição da FBN realizada por essas bactérias é estimada em 180×10^6 toneladas métricas de N anualmente no mundo, sendo as associações de simbiose entre planta e bactérias responsáveis por 80% dessa produção enquanto que as bactérias de vida livre seriam responsáveis pelo restante. Esse processo, restrito às bactérias, além de reduzir o N atmosférico também resulta em quantidades substanciais de N que podem enriquecer o solo (SIVASAKTHI; USHARANI; SARANRAJ, 2014). A diminuição no uso de fertilizantes N que são produzidos por meio de combustíveis fósseis não renováveis resulta em maior sustentabilidade, reduzindo a poluição ambiental relacionada à produção de gado de corte (BERGAMASHI, 2006). Somente no Brasil, estima-se que as BPCP podem gerar uma economia de até 50 kg por hectare com fertilizantes N-mineral (FANCELLI, 2010).

As BPCP permitem maior disponibilidade de nutrientes para as plantas, aumentos nos níveis de N fixado no solo, aumento da produção de hormônios que promovem o crescimento vegetal e solubilização de fosfatos. Além disso, ocorre um maior controle biológico, tanto por conferir maior capacidade de tolerar doenças às plantas, como também por mecanismos como uma maior produção de sideróforos, responsáveis pela captação de ferro no solo e, com isso, apresentando capacidade competitiva frente a outros microrganismos do solo, incluindo patógenos (SOBRAL, 2003). Não foram identificados estudos que

relacionam impactos negativos na produção pela inoculação dessas bactérias nas gramíneas tropicais, porém, são necessários mais estudos com o propósito de estabelecer o potencial dessas BPCP no crescimento das plantas (REIS JUNIOR, 2002).

2.4 *Azospirillum* spp.

As bactérias do gênero *Azospirillum* são heterotróficas, Gram-negativas. A espécie mais estudada do gênero foi descoberta ainda na década de 70, classificada no século passado como *A. brasiliense* e concentra o maior número de trabalhos científicos, sendo um modelo nessa área de estudo (REIS; TEIXEIRA, 2005). A descoberta da capacidade de fixar N atmosférico foi realizada por meio da introdução do meio NFb semi-sólido e livre de N. *Azospirillum*, mesmo apresentando um metabolismo dependente de oxigênio, quando fixando N₂. (DÖBEREINER; BALDANI; BALDANI, 1995).

Ao contrário das bactérias que possuem a interação simbiótica rizóbios-leguminosa, as bactérias pertencentes a gêneros como o *Azospirillum* não estabelecem relação simbiótica, não modificando qualquer tecido vegetal, como a maioria das bactérias que fazem simbiose o fazem (BERGAMARSCI, 2006). Essas bactérias costumam estar localizadas na zona de alongação encontradas nas raízes e, também, nos pelos radiculares, embora algumas espécies possam ser encontradas no interior das células vegetais, sendo então chamadas de endofíticas facultativas (BALDANI *et al.*, 1997). Quando não associadas com as plantas, as bactérias do gênero *Azospirillum* possuem a capacidade de sobreviver no solo, podendo ainda formar uma agregação sob estresse originado pela produção de cistos de poli-β-hidroxibutirato, que podem servir como reserva energética na ausência de fontes alimentares (BURDMAN *et al.*, 1999).

Em regiões de clima tropical, as espécies mais comumente encontradas são as *A. amazonense* (agora reclassificada como *Nitrospirillum amazonense*), *A. brasiliense* e *A. lipoferum* que apresentam uma grande distribuição geográfica. As principais fontes dessa bactéria são a rizosfera e as partes aéreas de várias gramíneas. Seu metabolismo com baixa exigência de oxigênio permite que estirpes bacterianas sobrevivam em uma variedade de condições edafoclimáticas,

auxiliando no desenvolvimento de culturas por meio da produção de fitormônios e na fixação do nitrogênio no solo (FRANCO; BALEIRO, 1999).

Em especial, as bactérias do gênero *Azospirillum* possuem efeitos benéficos no desenvolvimento de gramíneas, diminuindo a necessidade de fertilizantes derivados de combustíveis fósseis, o que indiretamente diminui os custos de produção, além de evitar problemas de contaminação ambiental (NEISON, 2004). O mecanismo pelo qual essas bactérias incentivam o desenvolvimento vegetal inclui principalmente produção de hormônios vegetais, fixação de N₂ no solo, aceleração do processo de mineralização de nutrientes, a síntese de sideróforos (auxiliando na captação de ferro), além da solubilização de fosfatos encontrados no solo. Além disso, essas bactérias atuam no aumento da tolerância das plantas a doenças por meio da indução da resistência sistêmica, atuam como antagonismos a outras bactérias (que podem ser patogênicas) e auxiliam na resistência das plantas ao estresse (OLIVEIRA; URQUIAGA; BALDANI, 2003).

Dentro da produção de fitormônios, *Azospirillum* é reconhecido pela produção de auxinas, que compõem os hormônios responsáveis pelo crescimento vegetal. Esse fitormônio, quando é absorvido pelas plantas, causa modificações radiculares, melhorando a absorção de nutrientes presentes no solo e na água (KUSS, 2006). Essa produção pode ocorrer por meio de vias dependentes de L-triptofano, ou por meio do ácido-3-indol-pirúvico (OLIVEIRA; URQUIAGA; BALDANI, 2003). Todavia quando produzidos em plantas sensíveis a altas concentrações desse hormônio, pode causar efeitos nocivos a esses vegetais, como a redução do comprimento radicular (EL-KHAWAS; ADASHI, 1999).

Azospirillum apresenta preferência, quanto às fontes de carbono, por ácidos orgânicos, como o piruvato, malato e succinato e, também, uma preferência sobre a frutose em relação à glucose (QUADROS, 2009). Em relação ao N, as principais fontes são amônia, nitrato, aminoácidos e o nitrogênio atmosférico (N₂) (TRENTINI, 2010).

O Brasil apresenta um papel de destaque nos estudos relacionados com o gênero *Azospirillum* produzindo cepas comerciais dessas bactérias para serem utilizadas em culturas de trigo, milho e arroz. Essa bactéria já demonstrou capacitar a planta a tolerar estresses hídricos e resistência a patógenos (NÓBREGA *et al.*, 2004). Assim, já foi demonstrada que é possível empregar uma tecnologia limpa e

barata na recuperação de pastagens degradadas, o uso de inoculantes microbianos como o *Azospirillum* spp. ajudaria o país a atingir seus objetivos nos esforços mundiais para reduzir a emissão de gases de efeito estufa e o global mudanças climáticas, bem como manter sua posição de liderança no ranking de países que podem ajudar a prevenir a fome no mundo (HUNGRIA *et al.*, 2016).

2.5 *Pseudomonas* spp

As *Pseudomonas* spp. são bactérias Gram-negativas, na forma de bacilo, com metabolismo aeróbico e alta mobilidade. Elas pertencem à Classe Gamma proteobacteriae se caracterizam, principalmente, pela baixa necessidade nutricional, permitindo que sobrevivam em diversos tipos de ambientes (RAMOS, 2004).

Diversas bactérias deste gênero possuem relações benéficas às plantas, como as bactérias endofíticas, promovendo um maior crescimento e aumentando o desenvolvimento vegetal. Isso ocorre principalmente pela produção de fitohormônios, sideróforos, ácidos orgânicos, antibióticos e enzimas, que auxiliam no desenvolvimento das plantas que estão associadas em troca de nutrientes fotoassimilados para sua nutrição (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

O favorecimento do crescimento de plantas geralmente é associado à produção de auxinas pelas bactérias, estimulando a divisão e diferenciação celular das plantas, além da solubilização de alguns componentes como fosfatos inorgânicos que são liberados próximos ao sistema radicular. Além disso, sua intensa produção de sideróforos auxilia na nutrição de fósforo e ferro para as plantas, além de suprir as necessidades dos vegetais que apresentam limitação de mobilidade no solo (NOVAIS, 2007). Da mesma forma, são responsáveis pelo controle biológico de fitopatógenos, já que possuem atividade antimicrobiana, conseguindo assim mitigar o crescimento de bactérias e até mesmo de fungos que trazem algum prejuízo para essas plantas (TIAN *et al.*, 2017).

Outra característica de bactérias desse gênero é sua capacidade de solubilizar altos níveis de fosfato no solo (BRADY; WELL, 2013). Como esse elemento acaba sendo escasso na agricultura, sendo encontrado naturalmente em

formas insolúveis e indisponíveis para nutrição vegetal, *Pseudomonas* possuem como vantagem a transformação desse fosfato em uma forma utilizável para a planta, diminuindo custos de produção, compras de fertilizantes baseados em fosfatos.

As bactérias do gênero *Pseudomonas* já demonstraram sua capacidade de disponibilizar no fósforo próximo ao sistema radicular, estimulando o desenvolvimento de gramíneas, demonstrando alta capacidade de produzir ácidos orgânicos, como o ácido-2-ketoglucônico, capaz de solubilizar o fosfato derivado do alumínio e do ferro, também do fosfato tricálcico (OLIVEIRA *et al.*, 2009). Essas bactérias são capazes de absorver o P por meio de poros a distâncias que são geralmente inacessíveis às raízes, além de possuir a capacidade de absorver esse P diretamente da liteira que pode cair antes da realização de drenagem no solo, reciclando esse elemento para que ele integre novamente o ciclo biológico (HERRERA *et al.*, 1978).

Outra forma encontrada pelas bactérias de dissolver o mineral fosfático é a liberação de enzimas, como as fosfatases alcalinas, que hidrolisam esse material no solo. A produção dessas enzimas ocorre por meio da expressão dos genes *phoA*, *phoD* e *phoX*, que são responsáveis pela catálise da hidrólise de fofomonoésteres e fosfodiésteres. As bactérias do gênero *Pseudomonas* ainda podem expressar genes que auxiliam na disponibilização de fósforo inorgânico por meio da reciclagem de alguns gliceróis fosfodiésteres (SHARMA *et al.*, 2013).

2.6 Co-Inoculação Entre *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense*

A mistura de inoculantes na agricultura é algo recente, devido a seus efeitos benéficos em diferentes processos microbianos. Essa tecnologia, denominada de inoculação mista é composta pela união de bactérias que contribuem em diferentes processos microbianos e que ultrapassam os resultados que seriam obtidos cada uma isoladamente (FERLINI, 2006).

Esse tipo de associação tem sido estudado em diferentes combinações, desde que os microrganismos interajam sinergicamente, assim como quando associados. em que um microrganismo pode atuar como um auxiliador bacteriano

com o intuito de potencializar o desempenho do outro microrganismo benéfico. Os efeitos sinérgicos geralmente relatados envolvem o fornecimento de nutrientes, remoção de alguns produtos inibitórios e um positivo de estímulo para ambos os microrganismos, por meio de mecanismos físicos e bioquímicos (BASHAN; HOLGUIN, 1997).

A ação da bactéria da espécie *A. brasilense* quando associada com rizóbios em leguminosas resulta em um desenvolvimento mais rápido do vegetal, principalmente do seu sistema radicular, pois essa bactéria amplia a produção de fitormônios responsáveis pelo crescimento vegetal, assim a planta possui uma área maior de solo para explorar seus recursos (BARBARO *et al.*, 2008). Como exemplo, em soja, quando associadas a *A. brasilense* com *Bradyrhizobium japonicum* são capazes de incrementar os rendimentos das leguminosas, refletindo em uma resistência a estresses hídricos e de suplementação de nitrogênio fixado ao solo. Estudos ainda demonstraram que a bactéria *A. brasilense* além de potencializar o desenvolvimento radicular, melhora a iniciação e o desenvolvimento de estruturas denominadas nódulos em plantas pela inoculação conjunta com bactérias do gênero *Bradyrhizobium* (MOLLA *et al.*, 2001; FERLINI, 2006).

Na soja essa associação reflete em um aumento significativo do peso dos nódulos vegetais mesmo em condições de estresse hídrico, com um rendimento superior à inoculação dessas bactérias quando inoculadas separadamente. Também houve um aumento no acúmulo de matéria seca quando comparado à inoculação individual (BENINTENDE *et al.*, 2010). Ainda em plantações de soja, a união das duas bactérias permitiu uma maior produção e excreção de metabólitos pela bactéria *A. brasilense*, como por exemplo a produção de compostos que regulam o crescimento radicular, como o fitohormônios AIA (CASSÁN *et al.*, 2009).

A união das bactérias dos gêneros *Azospirillum* com *Rhizobium* teve um efeito positivo no crescimento do feijoeiro, com um aumento do número total de nódulos e potencialização da fixação de nitrogênio atmosférico quando comparado com inoculações individuais. Ainda sob condições de estresse salino em cultivo hidropônico, houve um aumento do desenvolvimento das raízes, uma maior produção de flavonoides, mais nitrogênio fixado no solo, além de uma amenização dos efeitos deletérios causados pela presença de cloreto de sódio. Os autores ainda

sugerem que as bactérias do gênero *Azospirillum* permitiram uma maior produção de exsudado contendo flavonoides nas raízes do feijão (DARDANELLI *et al.*, 2008).

Outras culturas têm mostrado um aumento de produtividade em resposta à inoculação conjunta de bactérias do gênero *Azospirillum* com rizóbios. Essas inoculações mistas possuem uma maior taxa de sucesso com fornecimento de uma nutrição com maior equilíbrio de nutrientes somado a adsorção constante de nitrogênio, fósforo e minerais. A união estimula não só o crescimento de nódulos, mas também estimula sua ação de diferenciação de células epidérmicas que estão presente nos pelos radiculares, levando a uma maior produtividade de grãos (BASHAN; BASHAN, 2005).

A inoculação tem sido utilizada nas últimas décadas em alguns países da América do Sul possuindo como resultado um aumento expressivo no crescimento e também da produtividade das culturas que apresentam grande importância econômica. Esse aumento de produtividade pode ainda aumentar quando se usa em conjunto a coinoculação o uso de fixadores de N sendo uma metodologia viável, e de ser ambientalmente mais segura. É possível observar um aumento de produtividade nas culturas somado com o rendimento monetário adquirido pelo produtor rural e ao fato de diminuir significativamente as emissões de gases que aumentam o efeito estufa (HUNGRIA; MENDES; MERCANTE, 2013).

Os efeitos benéficos da associação das bactérias do gênero *Azospirillum* com rizóbios se deve à forte atração microaerofílica que essa bactéria sofre no nicho rizosférico encontrado nas raízes das leguminosas, e pela sua capacidade de se locomover mais rápido do que as bactérias do gênero *Rhizobium*. Desta maneira, é comum que as raízes das plantas sejam primeiramente colonizadas por *Azospirillum* que fornece um pré-condicionamento destas para uma colonização mais efetiva do *Rhizobium*. Esse condicionamento ocorre pela nodulação precoce, que acarreta no aumento do número e matéria seca desses nódulos, além da potencialização de sua atividade pelas bactérias pioneiras (OKON; ITZIGSOHN, 1995).

As culturas que já demonstraram ser beneficiadas pela coinoculação dessas bactérias são as culturas de soja (*Glycine max*), alfafa (*Medicago sativa*), feijão(*Phaseolus vulgaris*) e amendoim(*Arachishypogaea*), sendo que outras culturas necessitam de mais estudos. Em culturas de feijão, o crescimento radicular pode aumentar em até 95% no comprimento e peso fresco das raízes quando comparado

com o tratamento sem inoculação. Além disso, nessa cultura pode ocorrer um aumento na produtividade dos grãos em quase 20% apenas com os efeitos relacionados com o desenvolvimento radicular (HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAÚJO, 2013).

2.7 Adubação Nitrogenada

O N é o nutriente com maior interação no meio ambiente, pelas possíveis reações possíveis no solo que são mediadas geralmente por microrganismos condicionados às variáveis de temperatura e umidade, sendo encontrado em apenas 1% de toda a biomassa seca total dos vegetais (EPSTEIN; BLOOM, 2006).

Todavia, as restrições desse elemento no solo acarretam em diminuição da síntese de clorofila, também levam à diminuição de aminoácidos essenciais, reduzindo conseqüentemente a quantidade de energia que está disponível, interferindo no desenvolvimento vegetal (MALAVOLTA, 2006).

No solo, o N não pode ser utilizado diretamente pelos vegetais, sendo preciso que ocorra uma mineralização do elemento que origina o amônio, que pode ser absorvido pelas plantas.

No Brasil ocorrem perdas significativas de N por meio da lixiviação, por exemplo, em cultivos de cana-de-açúcar, onde podem perder até 22,5 quilos de nitrato por hectare relacionados com a proximidade do período de chuva com o período de fertilização (CANTARELLA, MONTEZANO, 2010).

Na utilização de plantas forrageiras a produtividade e o valor nutritivo dos vegetais estão intimamente ligados ao manejo de adubação adotado. Na avaliação de escolha de espécies estudos de adubação são fundamentais para que a planta escolhida seja capaz de expressar todo seu potencial na produção. Em futuros sistemas de produção de gado leiteiro existe a possibilidade de não haver espaço para gramíneas de baixos índices de produtividade, já que essa atividade deve ser potencializada pelo manejo das pastagens juntamente com o uso de espécies com maior potencial de resposta aos tratamentos de adubação N (VILELA, 1997).

Em outras culturas como a de milho a obtenção de alta produtividade é diretamente dependente de doses elevadas de nitrogênio, já que esse elemento,

junto com o fósforo, são os mais limitantes na produção de grãos no Brasil. Trabalhos demonstram que cerca de 90% dos estudos com cultura de milho indicam que essa cultura responde positivamente a doses elevadas de nitrogênio, de 30 a 90 quilos por hectare na adubação. Isso se deve, principalmente, à absorção mais intensa desse elemento, que ocorre em 50 dias após a germinação, absorvendo cerca de 50% do nitrogênio que precisa após o início do florescimento (CANTARELLA, 2007).

Na cana-de-açúcar a decomposição obtida da biomassa utilizada na adubação N realizada pelos organismos retiram uma parte significativa de N do solo para decompor totalmente o carbono, havendo uma momentânea competição com a planta pelo recurso. No Brasil é preciso cerca de três anos para que 70% de toda matéria seca utilizada na adubação nitrogenada seja decomposta e para que comece a liberar nutrientes como N, cálcio e potássio. Só é possível fazer um estoque desses nutrientes cerca de 40 anos depois da adoção desse sistema. Esse longo tempo característico desse tipo de adubação, é derivado da taxa de mineralização dos resíduos de palha seca serem dependentes de características bioquímicas do solo somado a fatores ambientais, evapotranspiração, umidade, temperatura do solo e de sua aeração (GONÇALVES *et al.*, 2010).

A cultura da cana de açúcar necessita absorver o N para produzir seus colmos, que demandam de uma alta concentração desse elemento no solo, sendo que em geral a cultura pode absorver de 100 a 300 kg de N fixado por hectare para uma produção de 100 mg/hectare de colmo. Para ocorrer uma larga produção é necessário a aplicação do chamado N-fertilizante. Suas doses podem variar até 120 kg por hectare de cana. As doses elevadas são necessárias devido à faixa de extração de N da cana-de-açúcar para uma produção de uma tonelada de colmos, já que nas condições encontradas no Centro e Sul do Brasil. Os valores médios de extração são de cerca de 2 kg de N para cada tonelada de colmo produzida (COLETTI *et al.*, 2006).

2.8 Análise Bromatológica e Índice de Clorofila de *M. Maximus* cv. BRSZuri

O consumo animal da matéria seca e a digestibilidade podem ser estudados através dos teores de fibra em detergente neutro (FDN) e de fibra em detergente ácido (FDA). No caso, os teores de FDA e FDN, podem indicar a porcentagem de material altamente indigestível. Baixos valores de FDA apontam uma maior energia e alta digestibilidade; em contrapartida, baixo teor de FDN representa maior taxa de consumo, sendo que o material consumível que possui esta característica resulta ser prejudicial para o consumo animal (MOURA *et al.*, 2011).

Lima (2018) avaliou o acúmulo de nutrientes na parte aérea e raízes de gramíneas, analisando a composição química bromatológica da *M. maximus* cv. BRS Zuri, com três cortes após a rebrota. As plantas foram cultivadas em solos com e sem bactérias promotoras de crescimento vegetal. Análise de variância indicou diferenças entre cortes e interação entre os tratamentos e os cortes ($P=0,0001$). Não foi observado efeito significativo entre os tratamentos e interação entre eles com os cortes para porcentagem da digestibilidade verdadeira *in vitro* da matéria seca da parte aérea ($P=0,6717$). Ainda assim, houve efeito significativo dos cortes para a digestibilidade. No segundo e terceiro cortes não houve efeito dos tratamentos para a porcentagem de FDA e FDN (LIMA, 2018). Os valores de FDN demonstrados no trabalho de Lima (2018) ficaram acima de 60%, estando em uma faixa não recomendada para que os animais os consumam. As plantas mais altas foram as que apresentam os teores mais elevados de PB, seguido das plantas menores, que tiveram um mesmo comportamento padrão relacionado ao índice de clorofila foliar (ICF). Para a digestibilidade verdadeira *in vitro*, não foi observado efeito significativo para os tratamentos em nenhuma das alturas, entretanto, o primeiro e segundo corte foram superiores ao terceiro corte.

Pode-se se dizer que o índice de clorofila na folha é utilizado para prever o nível nutricional de N em plantas. As condições de rebrotação (manejo do pastejo) podem exercer influência nestes teores. No caso, Lima *et al.* (2020) avaliaram a clorofila relativa de *M. maximus* cv. BRS Zuri utilizando um medidor de clorofila Falker.

Foram realizadas três avaliações nas plantas com intervalos de quatro semanas. Na análise de variância, o índice relativo de clorofila (RCI) foi altamente

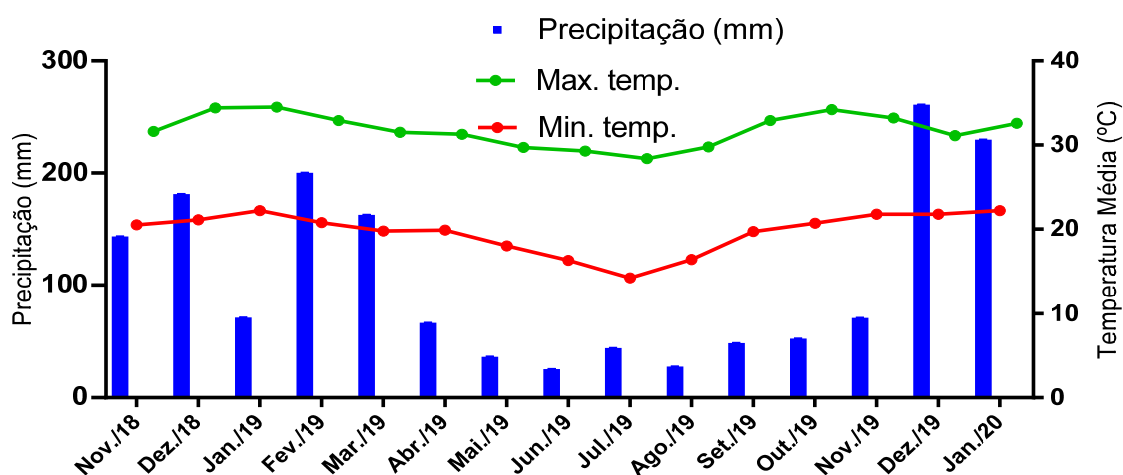
significativo, indicando que tratamentos à base da inoculação das bactérias promotoras de crescimento vegetal e que receberam fertilizantes nitrogenados aumentaram a quantidade de clorofila nas folhas. Quando se utiliza um fertilizante à base de N é possível potencializar o desempenho dessa gramínea. Com esse estudo foi possível demonstrar que a utilização dessas bactérias atua no crescimento das plantas por meio do aumento significativo de clorofila em suas folhas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local e Condições Climáticas

O experimento foi conduzido nos anos de 2018 a 2020 no setor de Zootecnia da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”(UNESP), no município de Araçatuba, SP, Brasil (21 ° 11'12" LS, 50 ° 26'20" LW, 390 m de altitude mar). Durante o período experimental a temperatura do ar média anual é de 24°C com temperaturas médias máxima de 31°C e mínima de 19°C e o acúmulo médio anual das chuvas de 1.300mm (Figura 1).

Figura 1 - Temperaturas do ar máxima e mínima (°C) e precipitação acumulada (mm) mensais durante o período experimental.



Fonte: INPE (2020)

O solo local foi classificado como Argissolo Vermelho-Amarelo distrófico segundo o Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (SANTOS *et. al.*, 2018). Foram realizadas coletas de solo na profundidade de 0-20 cm, formando-se uma amostra composta por 15 amostras, e enviado para análises químicas. Os resultados foram: M.O. = 24 g dm³; pH = 4,9; P (fósforo resina), S, B, Cu, Fe, Mn e Zn de 9; 1; 0,19; 1; 80; 9,8 e 1,2 mg dm³ respectivamente; K, Ca, Mg, Al, H+Al, Al,

SB e CTC de 1,9; 13; 11; 30; 1; 25,9; e 55,9 mmolc/dm³, e saturação por base V=46,3%, respectivamente. A necessidade de calagem foi determinada a partir do método de saturação por bases para atingir 70% da capacidade de troca de cátions (QUAGGIO; VAN RAIJ; MALAVOLTA, 1985).

Foi utilizado o calcário dolomítico com 90% de PRNT para correção do solo 15 dias antes da semeadura. Para a correção com fósforo foram aplicados 100 kg de P₂O₅ por ha na forma superfosfato simples e 60 kg de K₂O por ha na forma de cloreto de potássio antes do estabelecimento do capim. Quinze dias após a emergência foram aplicados 60 kg de N por ha na forma de ureia nos tratamentos que deveriam levar esse nutriente, ou seja, todos os tratamentos inoculados e o controle não inoculado positivo. Após o segundo corte foram aplicados 40 kg de N por ha na forma de ureia nos tratamentos, totalizando 100 kg de N por hectare.

A população de bactérias diazotróficas no solo foi estimada pela técnica do número maior provável (NMP), em meio de cultura NFb semi-sólido forma, de acordo com DÖBEREINER *et al.* (1976) e Hungria e Araújo (1994), obtendo-se o valor de $9,5 \times 10^4$ bactérias/g de solo.

3.2 Condução do Experimento

O experimento foi instalado em novembro de 2018, semeado em parcelas de 3x4m, utilizando o delineamento de blocos casualizados com quatro repetições. Os tratamentos foram semeados com a espécie forrageira *Megathyrsus* (syn. *Panicum*) *maximus* cv. BRS Zuri.

Os tratamentos foram: (1) controle negativo sem nitrogênio e sem inoculação, (2) controle positivo com nitrogênio e sem inoculação, (3) inoculação com *Azospirillum brasilense* estirpes Ab-V5 (CNPSo 2083) e Ab-V6 (CNPSo 2084), (4) inoculação de *A. brasilense* Ab-V5 e Ab-V6 somada à reinoculação após cada corte, (5) inoculação com *Pseudomonas fluorescens* CCTB 03 (CNPSo 2719) (6) inoculação com *P. fluorescens* somada à reinoculação após cada corte, (7) coinoculação com *Rhizobium tropici* CIAT 899 (CNPSo 103, SEMIA 4077) e *Azospirillum brasilense* Ab-V6 e (8) coinoculação de *R. tropici* e *A. brasilense* somada à reinoculação após cada corte. Todos os tratamentos inoculados e

coinoculadas receberam a mesma dose de nitrogênio que o controle positivo (100 kg de N).

As estirpes resultam de programa de seleção realizados no Brasil e são utilizadas comercialmente. *A. brasilense* Ab-V5 e Ab-V6 são utilizados como inoculantes para milho (*Zea mays* L.) (HUNGRIA *et al.*, 2010), trigo (*Triticum aestivum* L.) (HUNGRIA *et al.*, 2010), *Urochloa* spp. (*Brachiaria* spp.) (HUNGRIA *et al.*, 2016) e coinoculação de soja (*Glycine max*) (HUNGRIA *et al.*, 2013b) e feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) (HUNGRIA *et al.*, 2013b); *P. fluorescens* é usado em milho (VENANCIO *et al.*, 2019), *R. tropici* em feijão (HUNGRIA *et al.*, 2013b).

Os inoculantes foram produzidos no Laboratório de Biotecnologia do Solo da Embrapa Soja (Londrina, Paraná, Brasil), *A. brasilense* foram preparados em meio DYGS (FUKAMI *et al.*, 2017a), *P. fluorescens* em meio TSB (HUNGRIA; ARAUJO, 1994), enquanto *R. tropici* foi produzido em meio YM (HUNGRIA; ARAUJO, 1994). Na semeadura, a concentração de cada inoculante bacteriano foi ajustada para 2×10^8 células por mL. Foram utilizados 150 mL para cada 10 kg de sementes viáveis por hectare, após a contagem e antes da inoculação. As sementes foram dispostas dentro de um saco plástico, adicionou-se o inoculante e depois foram deixadas por aproximadamente 30 minutos em local fresco e protegido do sol.

De acordo com a legislação brasileira, experimentos com o objetivo de identificar cepas microbianas de elite devem incluir dois controles não inoculados, com e sem fertilizantes minerais. Portanto, esses dois controles foram incluídos, no nosso caso com e sem fertilizantes nitrogenados (HUNGRIA *et al.*, 2010; HUNGRIA *et al.*, 2013a; HUNGRIA *et al.*, 2016).

Nos tratamentos que receberam a reinoculação, as doses foram na concentração de 3×10^9 CFU planta⁻¹ diluída para completar 300 mL com água destilada para pulverização que foi realizada diretamente nas folhas das plantas com uma semana de rebrota, na área total da parcela cobrindo completamente o solo.

3.3 Colheitas e Composição Bromatológica

Durante os meses de experimento (14 meses), os cortes foram realizados em dezembro/2018, janeiro/2019, fevereiro/2019, março/2019, abril/2019, junho/2019,

dezembro/2019 e janeiro/2020. Para a determinação do rendimento, as áreas de bordaduras foram desconsideradas. Os cortes foram realizados oito vezes durante a estação seca e chuvosa para determinar a massa seca da planta, quando o melhor tratamento alcançou 0,7m de altura (EMBRAPA GADO DE CORTE, 2014), quando as brotações foram colhidas a 0,15m acima da superfície do solo. As amostras para estimar a massa seca da parte aérea foram colhidas com um quadrado amostrador com área de 1m² e cortando as plantas do interior com uma foice de cortar arroz.

Antes de cada corte, as leituras de altura da planta foram realizadas com régua milimetrada e o índices relativo de clorofila (SPAD) foram obtidos utilizando um clorofilômetro digital SPAD-502 Plus (SPAD - Desenvolvimento de análises de solo e plantas)e em ambos os casos as leituras foram realizadas em laminas de folhas recém expandidas. O número de perfilhos foi contado utilizando um círculo 0,25m² dentro de cada parcela. Após foi multiplicado por quatro para expressar o número de perfilhos por m².

Após a colheita o material vegetal foi pesado, separou-se uma amostra de aproximadamente 200ge as frações de lâmina foliar e colmo + bainha foram identificadas, pesadas e secas na estufa de circulação forçada de ar à temperatura de 55°C, por 72 horas, conforme descrição de Silva e Queiroz(2002). O material seco foi pesado em uma balança de precisão para quantificar o rendimento de massa seca de forragem e as amostras foram moídas em moinho tipo Wiley com peneira de 1mm e a composição bromatológica (proteína bruta, fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido) foi determinada de acordo com Campos, Nussio e Nussio(2004), enquanto que a digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) foi determinada de acordo com Holden (1999).

As concentrações dos macronutrientes (N, P, K, Ca, Mg e S) e micronutrientes (Zn, Fe, Mn e Cu) foram determinadas de acordo com MALAVOLTA *et al.* (1997) no Laboratório de Nutrição de Plantas, na UNESP de Ilha Solteira. O acúmulo dos nutrientes foi calculado multiplicando a concentração pela quantidade de massa seca produzida de cada corte, e após agrupado o acúmulo na estação das águas (primavera e verão, 5 cortes) e estação das secas (outono e inverno, 3 cortes).

3.4 Análise Estatística

Os dados foram testados quanto à normalidade dos erros e homogeneidade de variância anteriormente à ANOVA, seguidos pelo teste de comparação múltipla de Scott-Knott a $P \leq 0,05$ usando o programa SISVAR (FERREIRA, 2001).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Produtividade do Capim Zuri

Os tratamentos inoculados receberam a mesma quantidade de fertilizante N mineral que o controle positivo, pois as bactérias diazotróficas rizosféricas não podem suprir toda a demanda de N da planta, enquanto o controle negativo é representado por plantas não fertilizadas e não inoculadas.

Houve efeito significativo dos tratamentos para o acúmulo de massa seca (MS) de forragem, nos oito cortes de avaliação do capim Zuri. O tratamento reinoculado com *P. fluorescens* após cada corte produziu de 19.332 kg/há de MS, sendo que foi estatisticamente superior 7% ao tratamento com N mineral e sem inoculante produziu 18.103 kg/ha de MS (Figura 2), Entretanto, não diferiu estatisticamente dos tratamentos Ab-V5 + Ab-V6 e coinoculadas com Ab-V6 + *R. tropici* com valores de 18.345 e 18.199 kg/ha de MS, respectivamente, que foram reinoculados após cada corte. Essa maior taxa de acúmulo está possivelmente relacionada ao aumento da atividade de enzimas fotossintéticas e enzimas de assimilação de N (HUNGRIA, 2010).

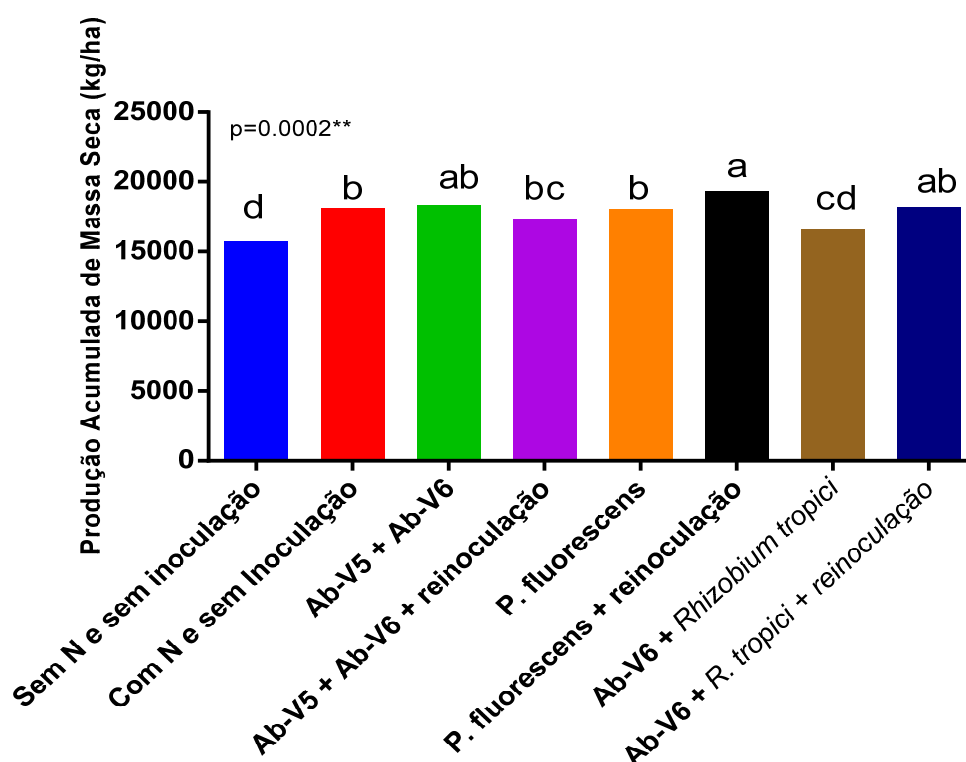
Avaliando o efeito da inoculação por *P. fluorescens* em *Pennisetum clandestinum* durante o inverno, Criollo *et al.* (2012) verificaram maior produção de massa seca da planta em comparação com as que receberam apenas adubação N, e enfatizaram que tais resultados foram proporcionados pela liberação de fitormônios.

Os resultados obtidos no presente experimento estão de acordo com o encontrado por Duarte (2018), que avaliou o desempenho de *Urochloa brizantha* cv. Paiaguás sob efeito da inoculação com BPCP e doses de N. Foi verificado incrementos significativos na biomassa radicular na dose 50 kg/há de N e inoculados com *P. fluorescens* e *A. brasilense* (Ab-V5 + Ab-V6), quando comparados ao tratamento sem inoculação.

A inoculação pode ser uma alternativa sustentável para aumentar a produção de forragem devido à produção de auxinas e de sideróforos que auxiliam no desenvolvimento e podem suprir as limitações de mobilidade no solo (NOVAIS, 2007); uma vez que as bactérias secretam substâncias que aumentam o

crescimento radicular, e as plantas têm uma maior sustentação e condições para produtividade e crescimento.

Figura 2 - Acúmulo de massa seca de forragem dos oito cortes de *Megathyrus maximus* cv. BRS Zuri inoculado com bactérias promotoras do crescimento. Médias seguidas por letras diferentes são significativas pelo teste Scott-Knott ($P \leq 0,05$).



Fonte: Elaborado pelo autor.

Houve um efeito significativo dos tratamentos para a produção de massa seca por cortes na primeira, segunda, quarta e sexta avaliações (Figura 3).

Na primeira avaliação, os tratamentos inoculados com as BPCP foram superiores, mas não diferiram do controle positivo, provavelmente devido ao vigor inicial do crescimento do capim. Na segunda avaliação, os tratamentos inoculados com *P. fluorescens* foram superiores aos demais, mas não apresentaram diferença estatística em relação ao controle positivo. Embora o tratamento reinoculado com *P. fluorescens* após o corte da grama não tenha diferido do controle positivo, a produção foi 7% maior. No quarto corte de avaliação do capim Zuri, os tratamentos

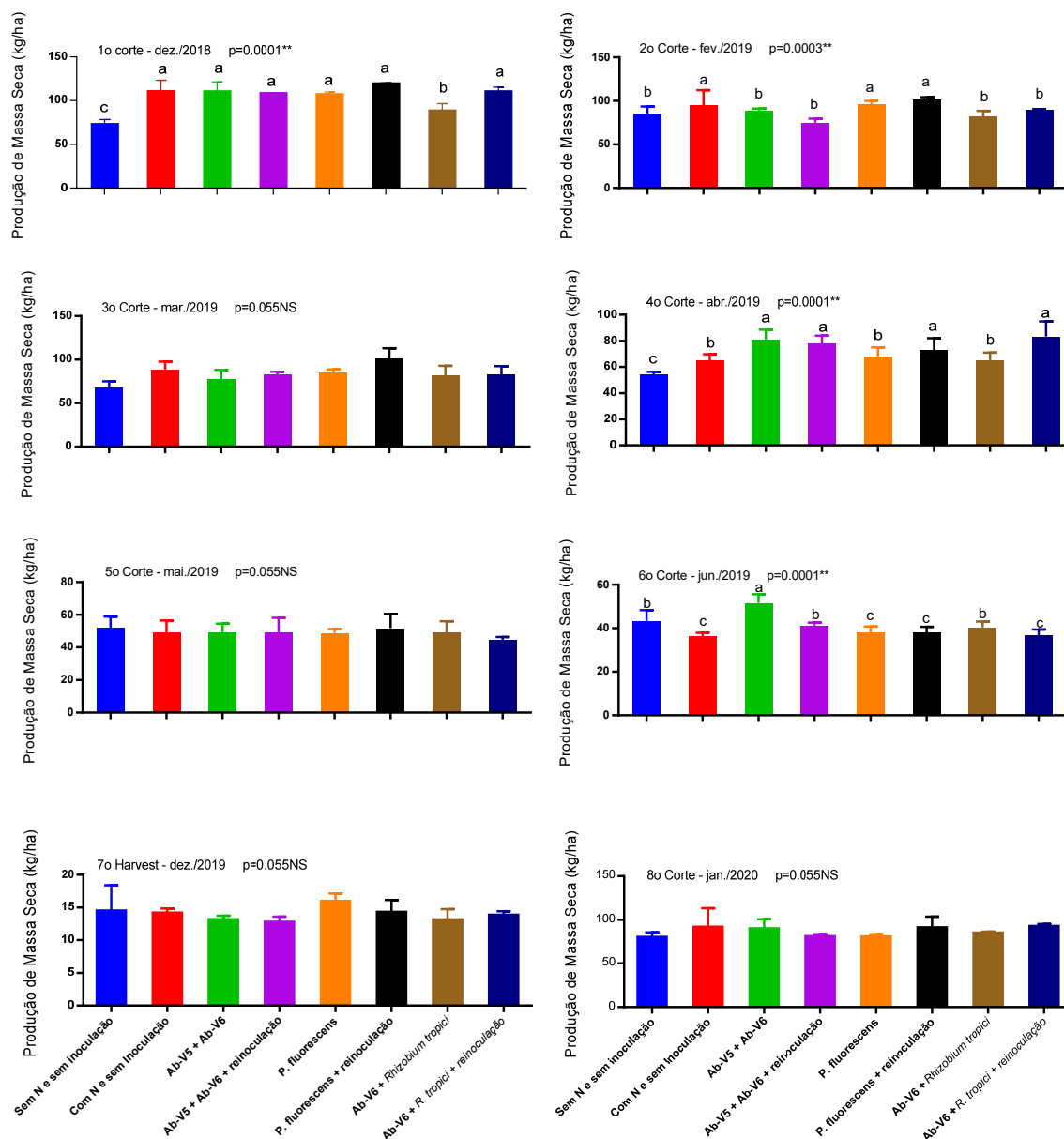
reinoculados com as BPCP foram superiores ao controle positivo, com uma produção maior em 29%. No sexto corte, o tratamento inoculado com Ab-V5 + Ab-V6 foi superior aos demais e, em relação ao controle positivo, produziu 42% a mais.

De acordo com Resende (2015), efeitos da inoculação Ab-V5 + Ab-V6 e coinoculação com *R. tropici* + Ab-V6 no milho, aumentaram a altura e, consequentemente, a produção de massa seca de parte aérea das plantas.

Os resultados obtidos estão de acordo com Muleta (2013), trabalhando com o capim Coastcross-1 (*Cynodon dactylon*), inoculado com as estirpes de *Azospirillum* Ab-V5 e Ab-V6 e fertilizado com 100 kg/ha de N, com efeito positivo na produção de forragem da parte aérea quando comparado aos tratamentos não inoculados. Hungria (2016) também relatou efeitos benéficos na parte aérea da parte aérea de *Urochloa* spp. combinada com Ab-V5 e Ab-V6 e 40 kg/ha de N, que promoveu aumentos na produção de 17,4 para 29,5%, em relação ao tratamento não inoculado.

Guimarães (2016) também avaliou os efeitos de inoculação de sementes de *U. brizantha* cv. Marandu com estirpes de *A. brasilense* Ab-V5 e Ab-V6 e constatou que o incremento na massa da parte aérea seca devido à inoculação foi de 13 e 6% no primeiro e no segundo ano, respectivamente, em comparação com o tratamento não inoculado. Outros autores também observaram aumentos no rendimento de massa seca da parte aérea em *Megathirsus* spp. inoculadas com BPCP (CRIOLLO, 2012; AGUIRRE, 2018) demonstrando seu potencial geral e inespecífico como promotor de crescimento de plantas.

Figura 3 - Produção de massa seca por corte em *Megathyrsus maximus* cv. BRS Zuri inoculado com bactérias promotoras do crescimento. Barras de erro representam a média erro padrão (n = 4). Médias seguidas por letras diferentes são significativas pelo teste Scott-Knott ($P \leq 0,05$).

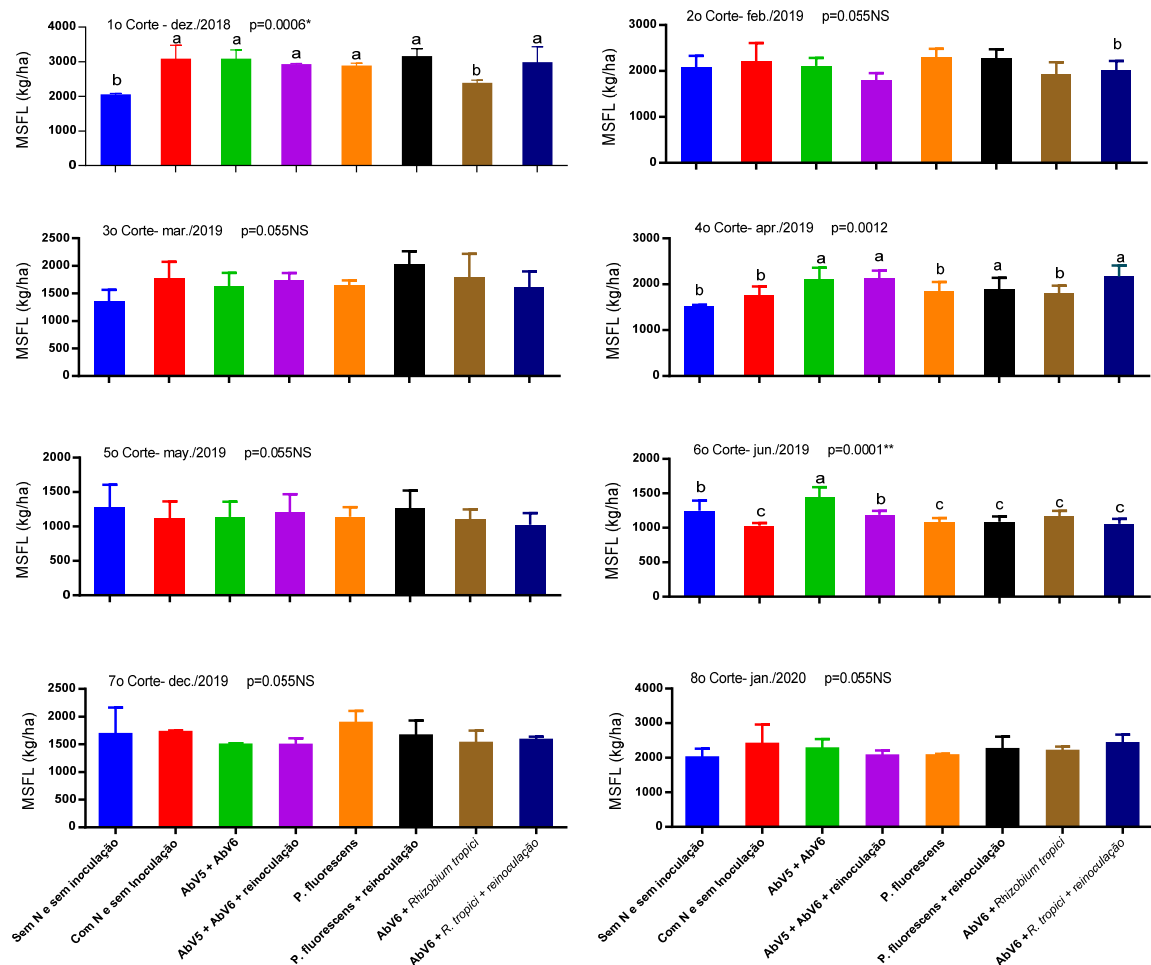


Fonte: Elaborado pelo autor.

A produção de massa de colmo + bainha (MSCB) e de massa seca foliar (MSLF) apresentou efeito significativos nos tratamentos ($p \leq 0,05$) e os resultados para porcentagem de lâmina foliar não apresentaram efeito significativos.

Os resultados para MSLF foram significativos no primeiro, quarto e sexto cortes. No primeiro corte os tratamentos não apresentaram diferença estatística em relação ao controle positivo. No quarto corte, os tratamentos inoculados com Ab-V5 + Ab-V6 e reinoculados com *P. fluorescens* e Ab-V6 + *R. tropici* apresentaram incrementos em 12, 12,16, 10,79 e 12,39%, respectivamente. Os tratamentos inoculados com Ab-V5 + Ab-V6 apresentaram incrementos em 13,95% no sexto corte (Figura 4).

Figura 4 - Produção de massa seca foliar em *Megathyrsus maximus* cv. BRS Zuri inoculado com bactérias promotoras do crescimento. Barras de erro representam a média erro padrão (n = 4). Médias seguidas por letras diferentes são significativas pelo teste Scott-Knott ($P \leq 0,05$).



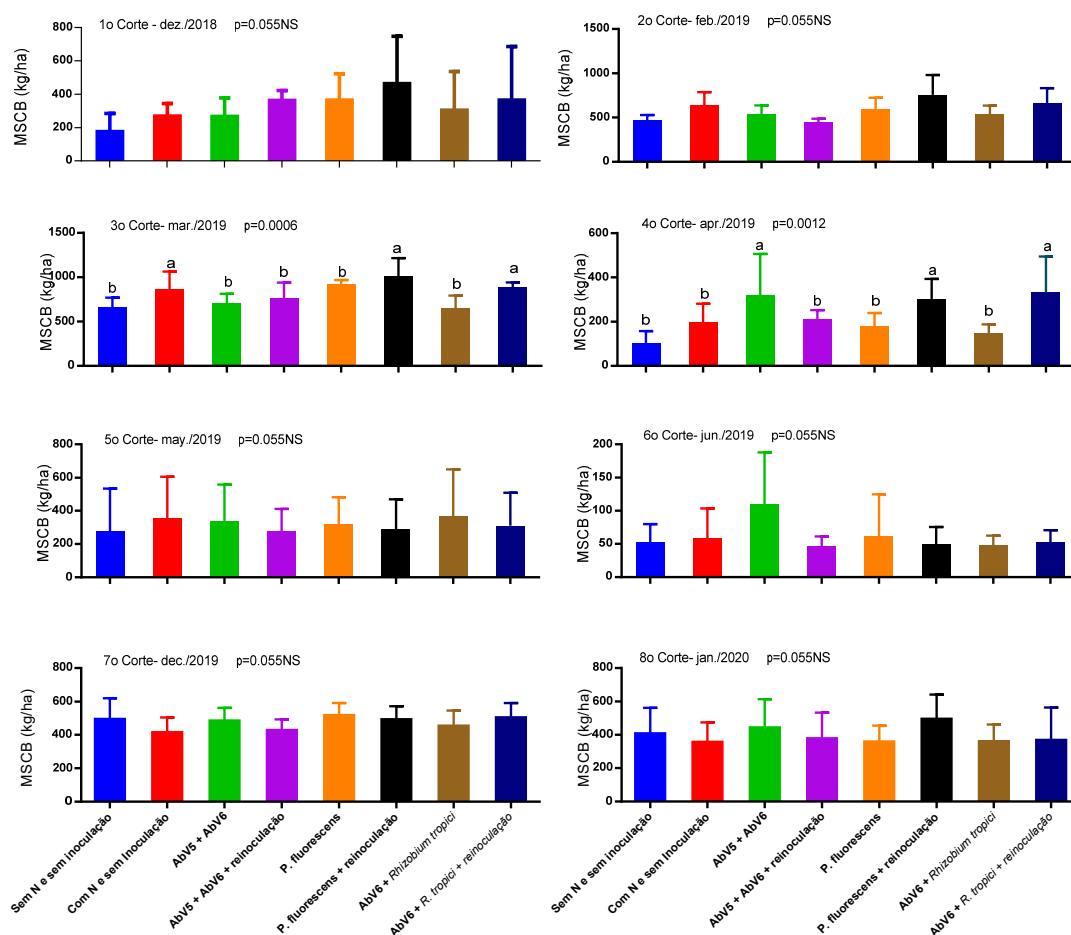
Fonte: Elaborado pelo autor.

Para MSCB, os tratamentos inoculados com Ab-V5 + Ab-V6 no quarto corte apresentaram ganhos em 16,30%. Apesar de não apresentar diferença estatística em relação ao controle positivo, os tratamentos do terceiro corte inoculados com *P. fluorescens* e reinoculados com *P. fluorescens* e coinoculadas com Ab-V6 + *R. tropici* apresentaram ganhos de 10,68, 11,73 e 10,33%, respectivamente (Figura 5).

Duarte (2018) avaliou o crescimento e desenvolvimento de *U. brizantha* cv. BRS Paiaguás inoculada com BPCP e encontrou efeito benéfico da *P. fluorescens* e Ab-V5 com contribuição de 16% a mais de MSLF e os ganhos de MSCB, foram de 17% para *P. fluorescens* e 21% para Ab-V5.

Entre os principais mecanismos de ação da *P. fluorescens* destacam-se o aumento na absorção de água, solubilização de fosfatos e produção de fitormônios (Muleta *et al.*, 2013). Os resultados da inoculação e re-inoculação com *P. fluorescens* indicam que essas estirpes promovem maiores benefícios em plantas forrageiras.

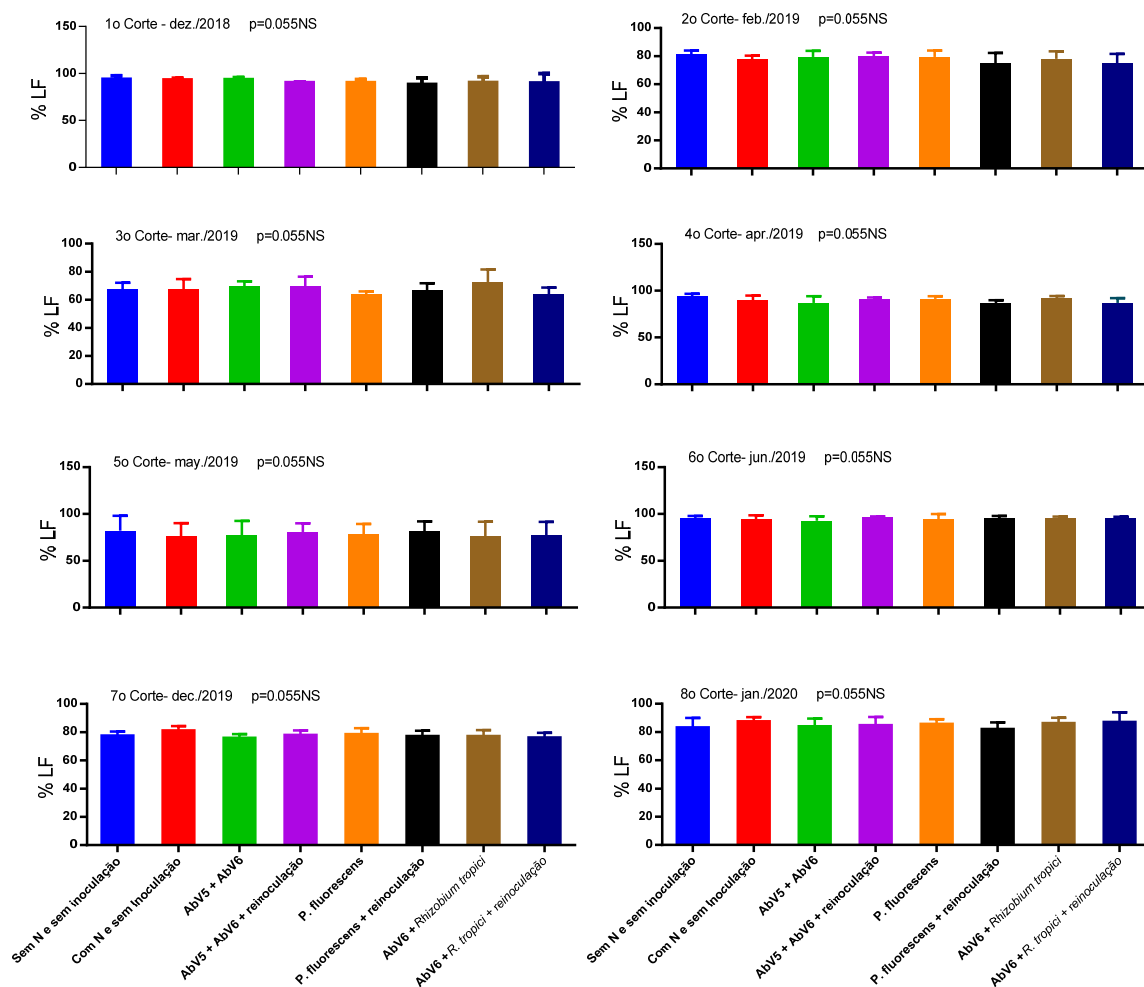
Figura 5 - Produção de massa de colmo e bainha em *Megathyrsus maximus* cv. BRS Zuri inoculado com bactérias promotoras do crescimento. Barras de erro representam a média erro padrão (n = 4). Médias seguidas por letras diferentes são significativas pelo teste Scott-Knott ($P \leq 0,05$).



Fonte: Elaborado pelo autor.

Apesar da porcentagem de lâmina foliar não apresentar diferença estatística em relação ao controle positivo (Figura 6), os tratamentos co-inoculados com Ab-V6 + *R. tropici* e reinoculados com Ab-V5 + Ab-V6 foram os que apresentaram os maiores ganhos, que variam de 10,01 a 10,78% nas avaliações.

Figura 6 - Porcentagem de lâmina foliar em *Megathyrus maximus* cv. BRS Zuri inoculado com bactérias promotoras do crescimento. Barras de erro representam a média erro padrão (n = 4). Médias seguidas por letras diferentes são significativas pelo teste Scott-Knott ($P \leq 0,05$).



Fonte: Elaborado pelo autor.

Não houve efeito significativo entre os cortes para a altura das plantas, foi observada altura média de 68,2cm para o tratamento controle positivo e um incremento de 10,41% na altura dos tratamentos inoculados com Ab-V5 + Ab-V6, Ab-V6 + *R. tropici* e *P. fluorescens* oitavo corte.

Galindo *et al.* (2015) avaliando o IRC da cultura do trigo irrigado em função de diferentes épocas de aplicação de estirpes de *A. brasilense* via foliar, também não constataram diferença significativa entre a inoculação foliar e o tratamento testemunha.

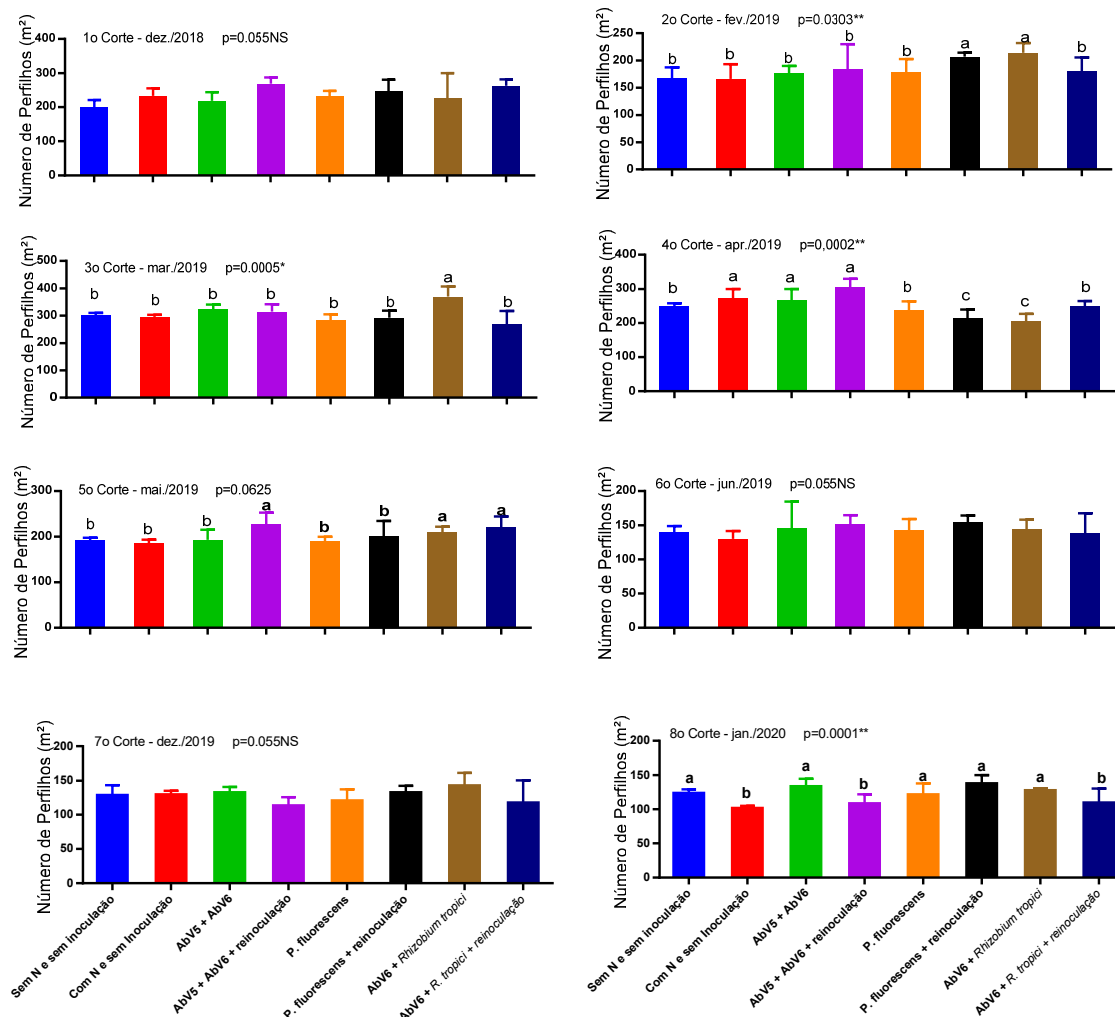
Houve efeito significativo dos tratamentos ($p \leq 0,005$), para o número de perfilhoso índice relativo de clorofila, indicando maiores rendimentos nos tratamentos inoculados com BPCP ($p \leq 0,05$) (Figura 7 e Figura 8).

Para o número de perfilhos por m^2 , houve significância estatística na segunda, terceira, quinta e oitava avaliações (Figura 7). Na segunda avaliação o número de perfilhos para tratamentos inoculados com *P. fluorescens* reinoculados após o corte e coinoculadas com Ab-V6 + *R. tropici* foram superiores aos demais, com aumento de 12,38 e 12,85% em relação ao controle positivo (com fertilizante N e sem inoculação). Na terceira avaliação, a coinoculação com Ab-V6 + *R. tropici* foi superior aos demais níveis e, em relação ao controle positivo, com aumento de 12,4%. Na quinta avaliação, os tratamentos inoculados com Ab-V5 + Ab-V6 reinoculados após cada corte e os tratamentos coinoculadas e reinoculados com *R. tropici* + Ab-V6 apresentaram aumento em 12, 11 e 11%, respectivamente. Para o oitavo corte, os tratamentos inoculados com Ab-V5 + Ab-V6, *P. fluorescens* e reinoculados com *P. fluorescens* após cada corte apresentaram aumento em 13, 12 e 13%, respectivamente. O tratamento coinoculadas com *R. tropici* + Ab-V6 apresentou aumento de 12% em relação ao controle positivo.

De forma geral, os tratamentos coinoculadas com *R. tropici* + Ab-V6 e reinoculados após cada corte apresentaram aumentos nos tratamentos com significância estatística.

Duarte (2018), avaliando o perfilhamento de *U. brizantha* cv. Xaraés, submetido à inoculação de BPCP associado a 50 kg/ha, encontrou efeitos significativos quando comparado às plantas somente adubadas com N.

Figura 7 - Número de perfílios por metro quadrado em *Megathyrsus maximus* cv. BRS Zuri inoculado com bactérias promotoras do crescimento. Barras de erro representam a média erro padrão (n = 4). Médias seguidas por letras diferentes são significativas pelo teste Scott-Knott ($P \leq 0,05$).



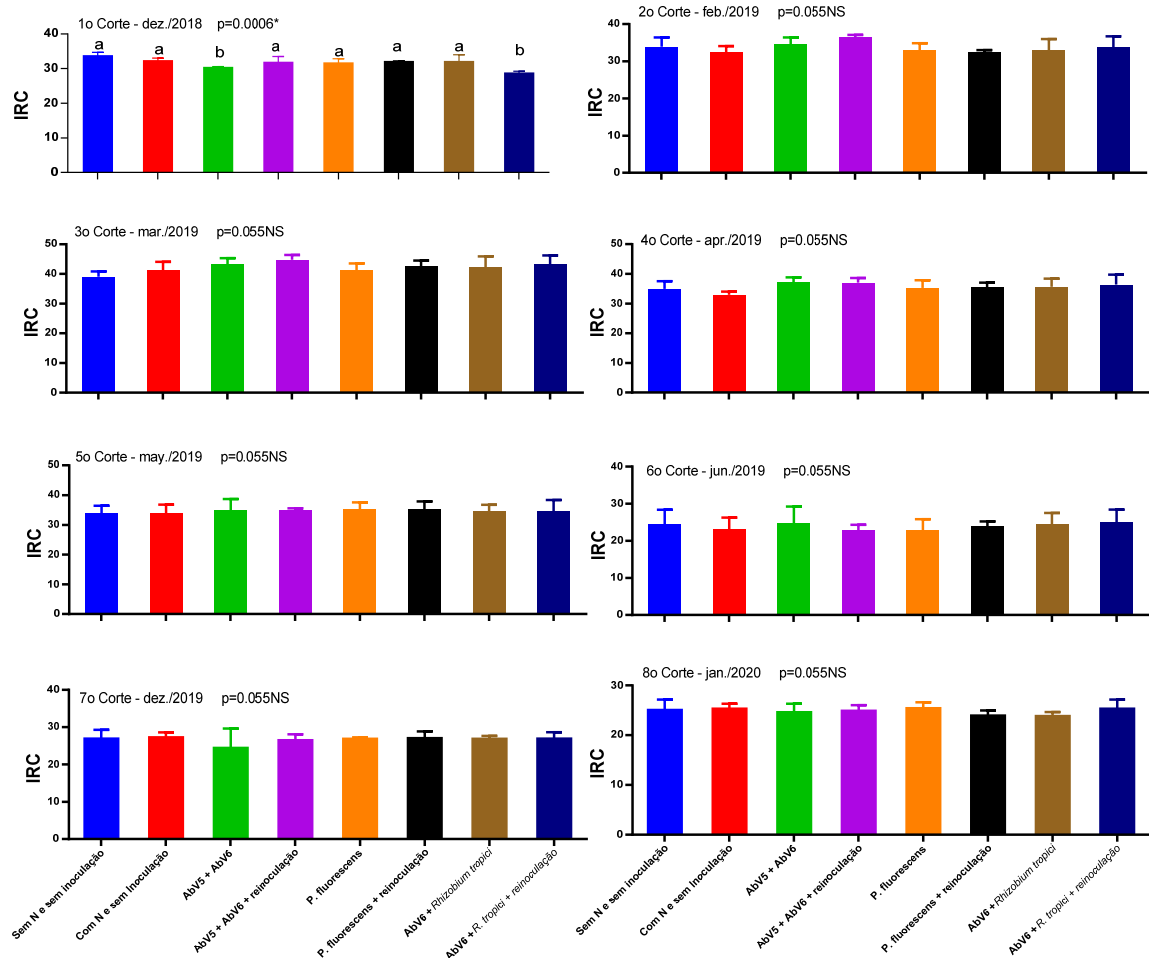
Fonte: Elaborado pelo autor.

Para o Índice relativo de clorofila (IRC), houve significância estatística na primeira avaliação (Figura 8). Os tratamentos inoculados e reinoculados foram iguais estatisticamente ao controle positivo e negativo.

Os tratamentos com *P. fluorescens* e Ab-V6 + *R. tropici* foram superiores com valores de IRC de 30,8 e 31,3 em relação aos demais tratamentos inoculados que apresentaram diferença estatística. Já nos tratamentos reinoculados, o

tratamento com Ab-V5 + Ab-V6 e *P. fluorescens* foram superiores aos demais tratamentos reinoculados, com valores de IRC de 31, 31,1 e 26.

Figura 8 - Índice Relativo de Clorofila em *Megathyrus maximus* cv. BRS Zuri inoculado com bactérias promotoras do crescimento. Barras de erro representam a média erro padrão (n = 4). Médias seguidas por letras diferentes são significativas pelo teste Scott-Knott ($P \leq 0,05$).



Fonte: Elaborado pelo autor.

A capacidade fotossintética é otimizada com maior disponibilidade de N, principal constituinte da molécula de clorofila (TAIZ; ZEIGER, 2013). Assim, o IRC pode ser utilizado para prever o estado nutricional de N nas plantas, por meio da leitura de pigmentos verdes nas folhas da forragem (LARCHER, 2000). Guimarães *et al.* (2016), utilizando o aparelho de clorofila para leituras de IRC em *Urochloa brizantha* cv. Marandu inoculada com BPCP ao longo de três cortes verificaram que

o primeiro corte apresentou os maiores valores, seguido pelo terceiro e segundo cortes, com um valor médio para o grupo de tratamento inoculado com *A. brasilense* de 27,4 RCI.

Portanto, há efeitos positivos da inoculação de BPCP na produção de massa seca, acúmulo de massa seca e no perfilhamento do capim Zuri, o que promoveu aumentos na produção quando comparado aos tratamentos sem inoculação, uma vez que as bactérias secretam substâncias que aumentam o crescimento radicular, as plantas têm maior suporte e condições para o crescimento e produção de biomassa. Os resultados mostram que as BPCP não substituem o uso de fertilizantes minerais N nas gramíneas, mas quando associados, promovem maior absorção e uso do N disponível no solo (DIAZ-ZORITA, 2009; KAZI, 2016) mostrando um possível efeito sinérgico entre inoculação x adubação nitrogenada

4.2 Composição Bromatológica do Capim Zuri

As porcentagens de fibra solúvel em detergente neutro (FDN), fibra solúvel em detergente ácido (FDA), proteína bruta (PB) e digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) da parte aérea do capim Zuri apresentaram significância na análise de variância para os tratamentos ($p \leq 0,05$) (Figuras 9, 10, 11 e 12).

A concentração de FDN do tratamento controle negativo (sem N e sem inoculação) foi superior em relação ao controle positivo (com N e sem inoculação), sendo os tratamentos inoculados com Ab-V5 + Ab-V6, *P. fluorescens* e Ab-V6 + *R. tropici* estatisticamente superiores aos demais tratamentos e ao controle positivo.

Com exceção do quarto e sexto corte, em que o controle negativo apresentou valores de 75,53 e 75,17%, os tratamentos inoculados com Ab-V5 + Ab-V6 apresentaram diferença estatística quando comparados ao controle positivo. No segundo e quinto cortes, os tratamentos inoculados com Ab-V6 + *R. tropici* apresentaram porcentagem de 72,38 e 72,19%, respectivamente. No primeiro, terceiro, quinto, sétimo e oitavo corte, os resultados dos tratamentos com *R. tropici* apresentaram resultados superiores.

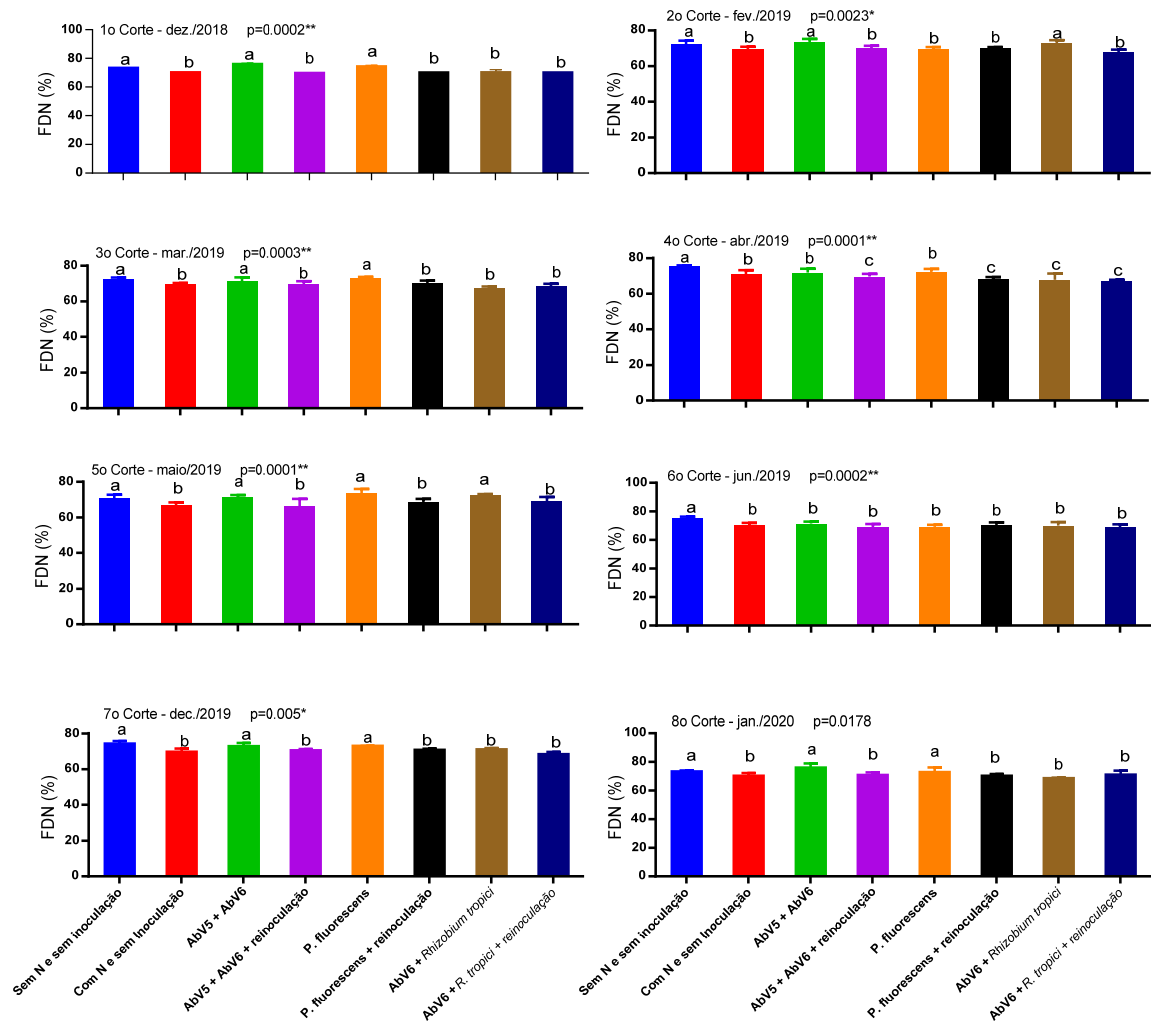
De forma geral, os valores de FDN ficaram em uma média de 69% (Figura 9). De acordo com Van Soest (1965), percentuais de FDN entre 55 a 60% da matéria

seca do alimento estão negativamente associados ao consumo. As forragens com baixo teor de FDN têm maior taxa de consumo, logo, teores de FDN maiores que 60% na matéria seca do alimento são prejudiciais ao consumo, sendo desejáveis valores inferiores (MOURA *et al.*, 2011).

Para o FDA, houve efeito no segundo, quarto, sexto e oitavo cortes. O FDA indica a porcentagem de material altamente indigestível presente na forragem. Inversamente, os baixos valores de FDA significam maior energia e alta digestibilidade (MOURA *et al.*, 2011).

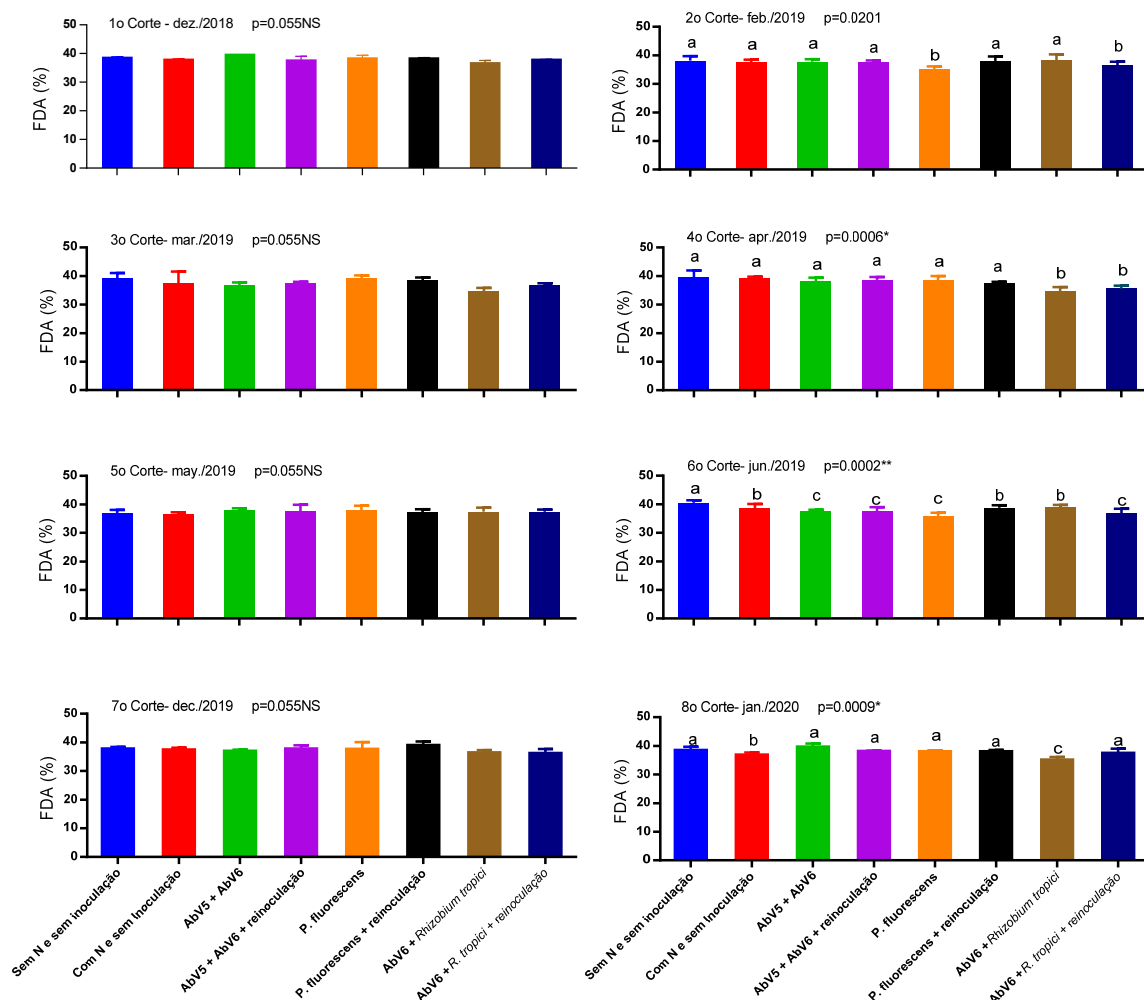
No segundo corte, os tratamentos inoculados com *P. fluorescens* e reinoculados com *R. tropici* + Ab-V6, apresentaram valores 35 e 36%, inferiores ao controle positivo. No quarto corte, os tratamentos coinoculados com *R. tropici* + Ab-V6 e reinoculados após o corte com *R. tropici* + Ab-V6 apresentaram valores de 34 e 35% de FDA. Para o sexto corte, os tratamentos inoculados com Ab-V5 + Ab-V6, reinoculados após o corte com Ab-V5 + Ab-V6, inoculados com *P. fluorescens* e reinoculados com *R. tropici* + Ab-V6 após cada corte apresentaram valores de 37, 37, 35 e 36%, respectivamente. No oitavo corte, o tratamento coinoculados de *R. tropici* + Ab-V6 apresentou valores de 34% de FDA, inferiores ao controle positivo.

Figura 9 - Teores médios de fibra em detergente neutro em *Megathyrus maximus* cv. BRS Zuri inoculado com bactérias promotoras do crescimento. Barras de erro representam a média erro padrão (n = 4). Médias seguidas por letras diferentes são significativas pelo teste Scott-Knott ($P \leq 0,05$).



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 10 - Teores médios de fibra em detergente ácido em *Megathyrus maximus* cv. BRS Zuri inoculado com bactérias promotoras do crescimento. Barras de erro representam a média erro padrão (n = 4). Médias seguidas por letras diferentes são significativas pelo teste Scott-Knott ($P \leq 0,05$).



Fonte: Elaborado pelo autor.

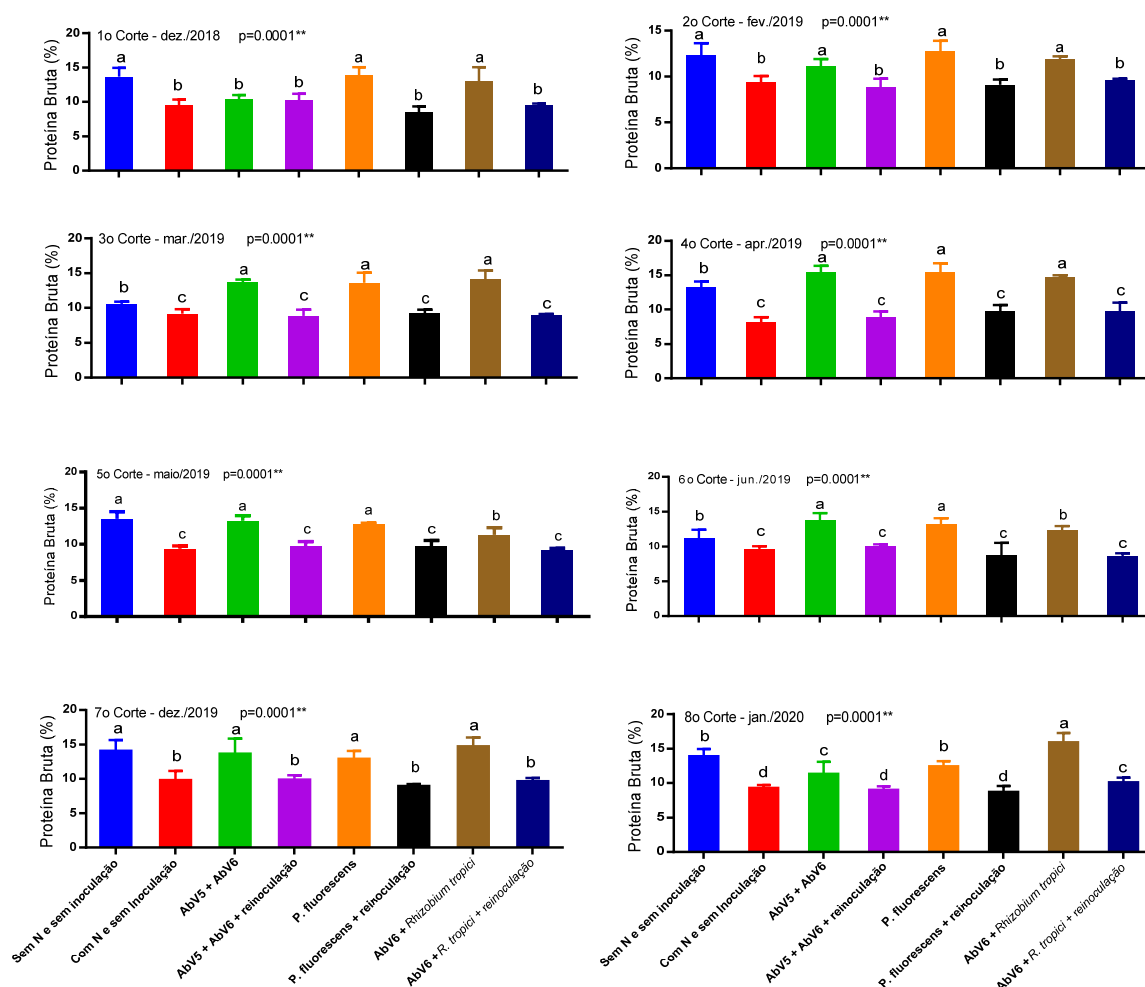
Para a variável proteína bruta, observou-se que o controle negativo foi estatisticamente superior ao controle positivo no primeiro, no segundo, no quinto e no sétimo cortes. No primeiro corte, os tratamentos reinoculados com *P. fluorescens* e coinoculados com *R. tropici* + Ab-V6 apresentaram aumento de 14,52 e 13,58% em relação ao controle positivo. No segundo, terceiro e quarto cortes, comparado ao controle negativo, os tratamentos Ab-V5 + Ab-V6, *P. fluorescens* e Ab-V6 + *R. tropici* apresentaram aumento de 11,88, 13,65 e 12,66% para o segundo corte, 12,93,

11,93 e 12,25% para o terceiro corte e 11,63, 11,63 e 11,07% para o quarto corte. No quinto e sexto corte, os tratamentos Ab-V5 + Ab-V6 e *P. fluorescens* apresentaram aumento de 13 e 13,6% para o quinto corte e 12,32 e 11,73% para o sexto corte, em comparação ao controle negativo. No sétimo corte, os tratamentos inoculados com Ab-V5 + Ab-V6, *P. fluorescens* e coinoculadas com *R. tropici* + Ab-V6 apresentaram aumento de 14,14, 13,15 e 15% e, no oitavo corte, o tratamento Ab-V6 + *R. tropici* apresentou um aumento de 11,47% (Figura 11). O aumento da proteína pode ser explicado pela eficiência em que a fixação biológica de nitrogênio tem em transformar o N_2 em NH_3 na forma metabolicamente utilizável pelas plantas (HUERGO, 2006). Os valores encontrados neste estudo são considerados adequados para ruminantes. De acordo com Van Soest (1994), pastagens com níveis inferiores 7% de proteína bruta em matéria seca são consideradas deficientes para ruminantes.

Avaliando o efeito da inoculação por *A. brasilense* em sementes de *Urochloa brizantha* cv. Marandu associado ao uso de N, Hanisch *et al.* (2017) observaram valores médios de 15% para proteína bruta, indicando manejo adequado da pastagem. A elevação nos teores de proteína bruta observada nos experimentos com gramíneas proporcionadas pela adubação nitrogenada ocorre devido ao fato de o nitrogênio participar ativamente na síntese de compostos orgânicos que formam a estrutura do vegetal (PRADO, 2008). Para Bonfim-Silva e Monteiro (2006), a disponibilidade do nitrogênio exerce grande influência na nutrição das plantas, o que reflete na produção e qualidade da forragem.

Os maiores valores encontrados no controle negativo podem ter ocorrido devido ao menor porte das plantas, aumentando a concentração de N na parte aérea (BOSA, 2016).

Figura 11 - Teores de Proteína Bruta em *Megathyrus maximus* cv. BRS Zuri inoculado com bactérias promotoras do crescimento. Barras de erro representam a média erro padrão (n = 4). Médias seguidas por letras diferentes são significativas pelo teste Scott-Knott ($P \leq 0,05$).



Fonte: Elaborado pelo autor.

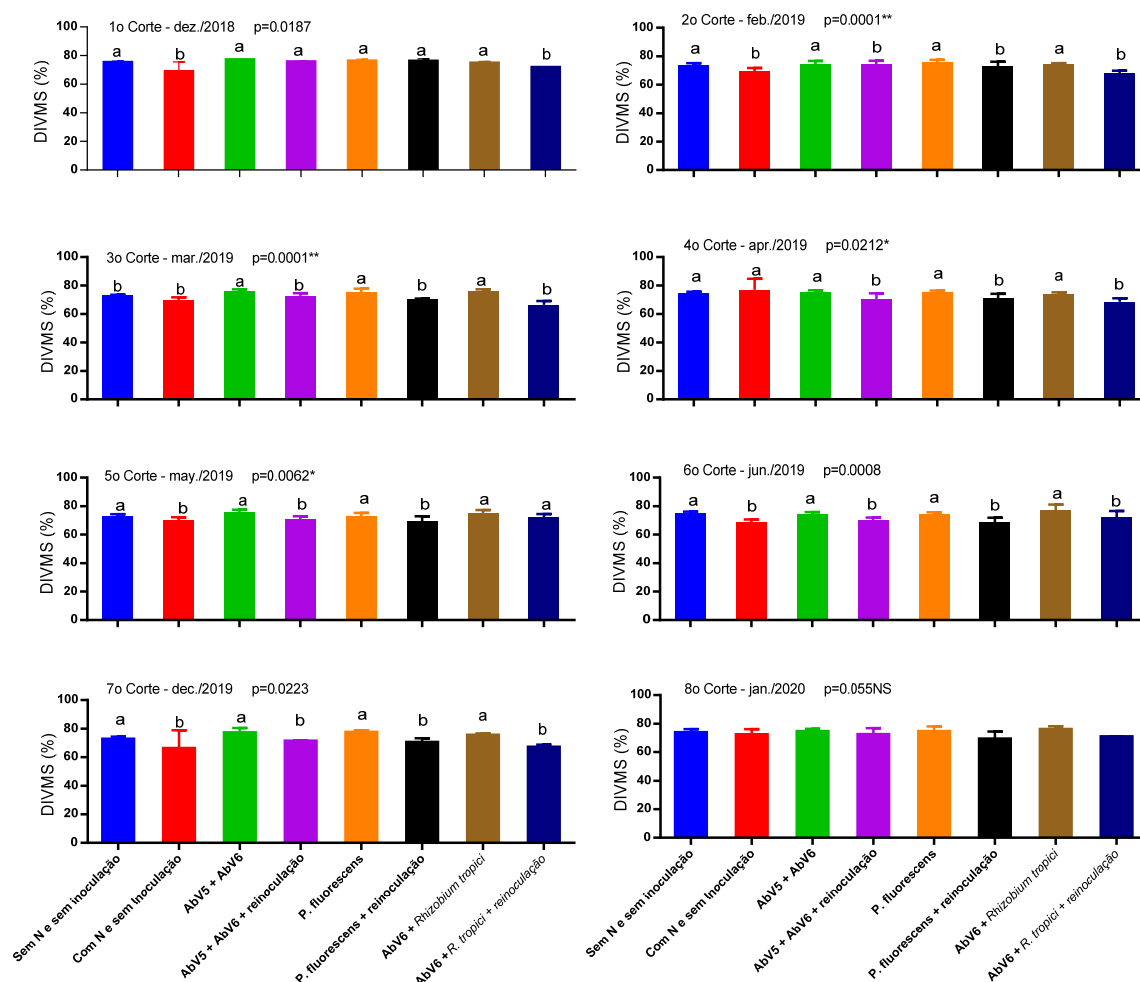
Para a digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), os resultados no primeiro corte, os tratamentos inoculados e reinoculados apresentaram aumento de 10,8 a 11,23% quando comparados com o controle negativo, exceto o tratamento de reinoculação do Ab-V6 + *R. tropici* que apresentou valores inferiores ao controle positivo (Figura 12).

No segundo, terceiro, sexto e sétimo cortes os valores foram semelhantes estatisticamente, com Ab-V5 + Ab-V6, *P. fluorescens* e Ab-V6 + *R. tropici* apresentando valores superiores em 10%, seguindo o mesmo comportamento dos valores encontrados em PB (Figura 11). No quinto corte, os tratamentos inoculados com Ab-V5 + Ab-V6, *P. fluorescens*, coinoculadas com *R. tropici* + Ab-V6 e reinoculados com *R. tropici* + Ab-V6 apresentaram aumento em 10% em relação ao controle positivo.

No quarto corte, o controle positivo apresentou resultado igual estatisticamente aos demais tratamentos. Não houve efeito significativo para os tratamentos no oitavo corte.

Tais dados são divergentes dos encontrados por Hanish *et al.* (2017), que avaliando o desempenho produtivo de *U. brizantha* cv Marandu inoculado com *Azospirillum brasilense* associado à adubação nitrogenada, não verificaram efeitos significativos da inoculação nos teores de DIVMS, com valores médios de 66%.

Figura 12 -Digestibilidade in vitro da matéria seca em *Megathyrsus maximus* cv. BRS Zuri inoculado com bactérias promotoras do crescimento. Barras de erro representam a média erro padrão (n = 4). Médias seguidas por letras diferentes são significativas pelo teste Scott-Knott ($P \leq 0,05$).



Fonte: Elaborado pelo autor.

4.3 Acúmulo de Nutrientes da Parte Aérea

O acúmulo dos nutrientes foi calculado multiplicando a concentração pela quantidade de massa seca produzida de cada corte e, após agrupado o acúmulo na estação das águas (primavera e verão, 5 cortes) e estação das secas (outono e inverno, 3 cortes). Houve efeitos positivos quando as plantas foram inoculadas com as BPCP, isso se explica pelo aumento na produção de massa que remete a uma maior absorção de água e nutrientes.

Os nutrientes que tiveram os maiores acúmulos foram N e K, resultado este que se deve ao fato de serem os nutrientes mais absorvidos e acumulados no tecido vegetal das forrageiras (TORRES *et al.*, 2005; BOER *et al.*, 2007). Sendo o N um nutriente estrutural importante nas funções da planta, participando na biossíntese de proteínas e clorofila (LIMA, 2020).

O acúmulo de macronutrientes na MS da parte aérea do capim Zuri, apresentaram significância ($p \geq 0,05$) na análise de variância para os tratamentos na época das águas (Figura 13) e das secas (Figura 14).

O acúmulo de nitrogênio (N) na parte aérea (Figura 13a e Figura 14a) foi similar nas épocas, onde os tratamentos inoculados com Ab-V5 + AbV6, *P. fluorescens* e Ab-V6 + *R. tropici* apresentaram incrementos de N, em 15, 14,29 e 12,99 % para as épocas secas e 13,19, 14,28 e 13,45% para a época das águas em comparação com o controle positivo. Apenas na seca o controle negativo foi maior em 14,79% em comparação com o controle positivo da seca.

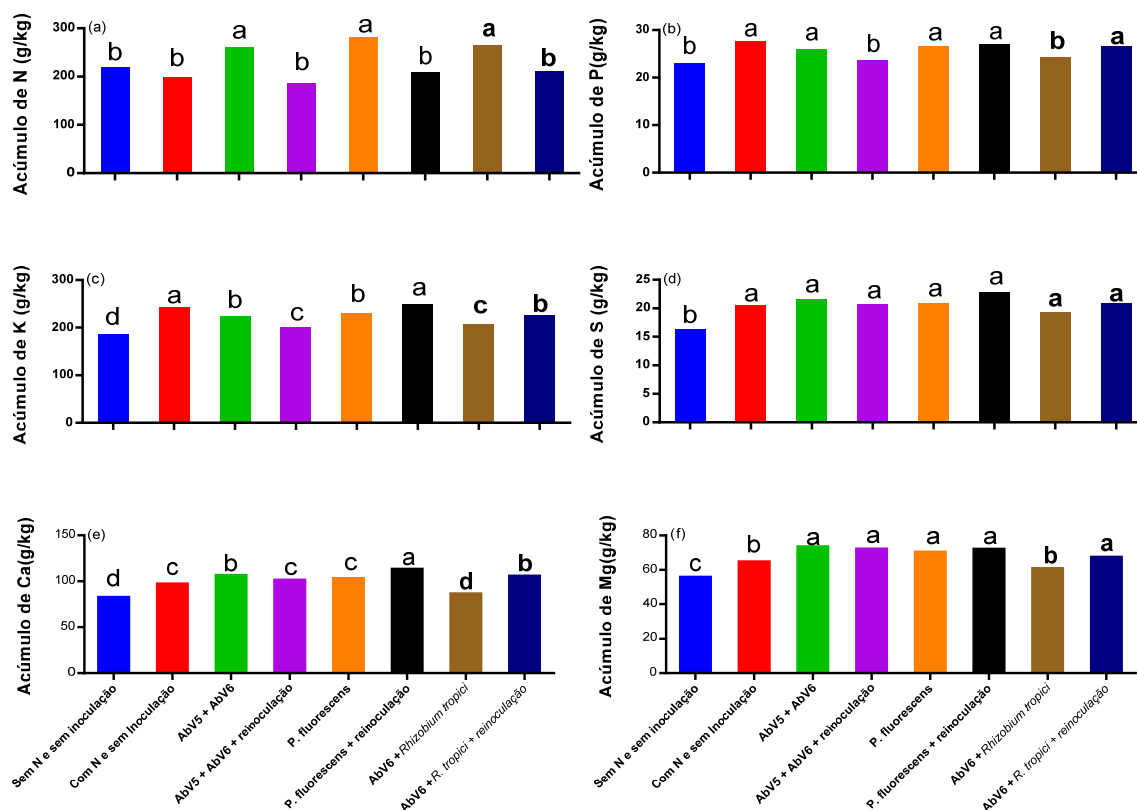
Avaliando as mesmas estirpes e reinoculação em BRS Zuri, Lima *et al.* (2020) afirmaram que as plantas inoculadas com Ab-V5 + Ab-V6, *P. fluorescens* ou Ab-V6 + *R. tropici* apresentaram aumento de 17,2%, 9,7% e 13,9% no acúmulo de N, respectivamente.

Da mesma forma, Hungria *et al.* (2016) avaliaram os efeitos da inoculação de estirpes de *A. brasilense* (Ab-V5 + Ab-V6) em *U. brizantha* e *U. ruziziensis*, encontrando incrementos de 4 a 15% no acúmulo de N.

Os resultados para o acúmulo de fósforo (P) na época das águas não apresentaram diferença significativa com o tratamento controle positivo que apresentou valor de 27,77 g/kg (Figura 13b).

Para o acúmulo de potássio (K) os resultados foram semelhantes aos de fósforo, nas épocas das secas e das águas, os resultados não apresentaram diferença significativa do controle positivo, mas na época das secas houve incremento em 10,24% no tratamento reinoculado com *P. fluorescens*, em comparação ao controle positivo (Figura 13c e Figura 14c).

Figura 13 - Acúmulo de nitrogênio (a), de fósforo(b), de potássio (c), de enxofre (d), de cálcio (e) e de magnésio (f) em *Megathyrus maximus* cv. BRS Zuri inoculado com bactérias promotoras do crescimento no período das águas. Barras de erro representam a média erro padrão (n = 4). Médias seguidas por letras diferentes são significativas pelo teste Scott-Knott ($P \leq 0,05$).



Fonte: Elaborado pelo autor.

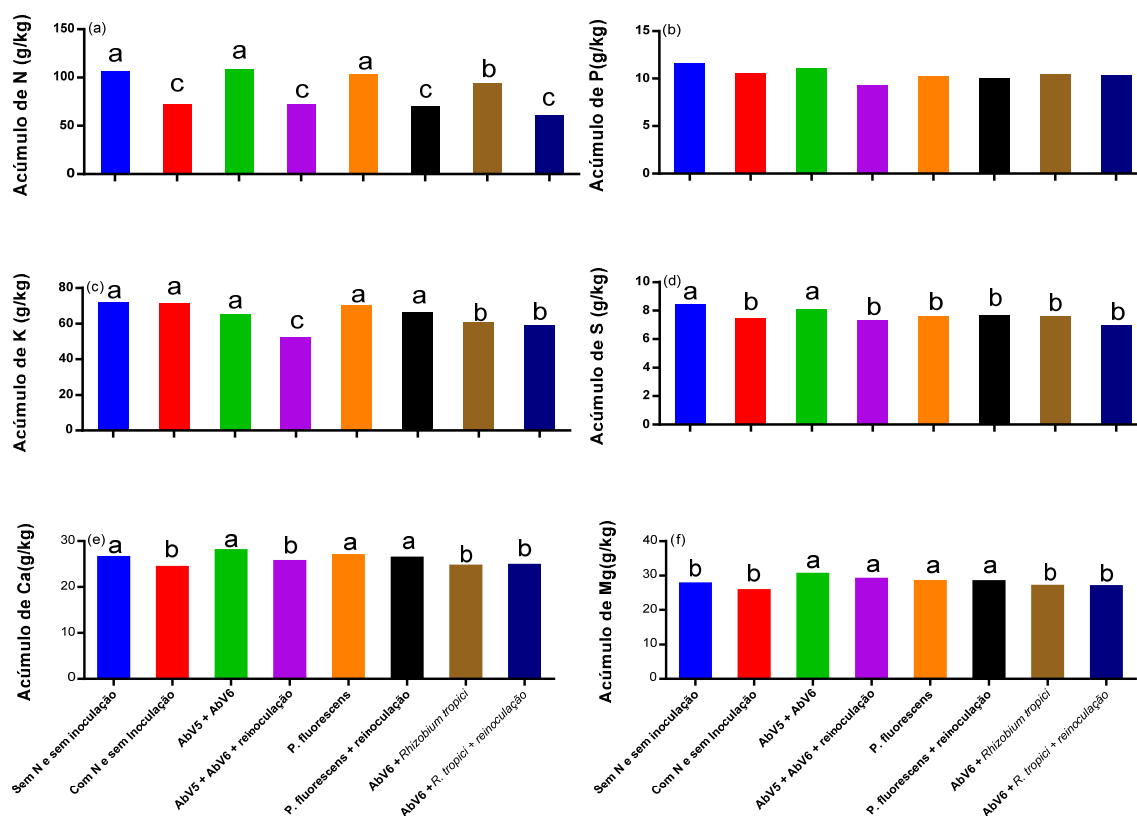
Os resultados para o acúmulo de enxofre (S) na época das águas não apresentaram diferença significativa com o tratamento controle positivo (Figura 13d) e, para a época das secas, os tratamentos inoculados com Ab-V5 + Ab-V6 apresentaram incremento de 10,76% (Figura 14d).

Na época das secas, para os acúmulos de cálcio (Ca) os tratamentos inoculados com Ab-V5 + Ab-V6, *P. fluorescens* e re-inoculados com *P. fluorescens* apresentaram incremento de 11,50, 11,06 e 10,82% (Figura 14e) e, para a época das águas, o tratamento inoculado com *P. fluorescens* apresentou incremento em 10,82% em relação ao tratamento controle positivo (Figura 13e).

Os resultados para acúmulo de magnésio (Mg) foram semelhantes nas épocas das secas e águas. Na época das secas, os tratamentos inoculados e

reinoculados com Ab-V5 + Ab-V6 e *P. fluorescens* apresentaram incremento de 11,87 e 11,06% para os inoculados e 11,30 e 11,03% para os tratamentos reinoculados (Figura 13f). Da mesma forma, para a época das águas, os tratamentos inoculados e reinoculados com Ab-V5 + Ab-V6 e *P. fluorescens* apresentaram incremento de 11,35 e 10,86% para os inoculados e 11,15 e 11,11% para os tratamentos re-inoculado, houve também, incremento nos tratamentos re-inoculados com Ab-V6 + *R. tropici* de 10,41% (Figura 14f).

Figura 14 - Acúmulo de nitrogênio (a), de fósforo (b), de potássio (c), de enxofre (d), de cálcio (e) e de magnésio (f) em *Megathyrus maximus* cv. BRS Zuri inoculado com bactérias promotoras do crescimento no período das secas. Barras de erro representam a média erro padrão (n = 4). Médias seguidas por letras diferentes são significativas pelo teste Scott-Knott ($P \leq 0,05$).



Fonte: Elaborado pelo autor.

Avaliando o efeito da resposta de crescimento *Panicum maximum* cv. BRS Zuri inoculada com *A. brasilense*, Picazevitz *et al.* (2020) verificaram aumento no

acúmulo total na parte aérea das plantas para N em 28%, K 18%, Ca 20% e Mg 24%. Tais resultados vão de acordo com os resultados deste trabalho para os acúmulos de N, K, Ca e Mg na época das águas, onde os tratamentos inoculados com Ab-V5 + Ab-V6 foram estatisticamente superiores aos controles positivos.

O acréscimo de nutrientes como K, Ca e Mg acumulados na parte aérea das plantas pode ter ocorrido em razão do possível aumento de pelos radiculares e superfície de contato das raízes, o que potencializou maior absorção e acúmulo destes macronutrientes (PICAZEVITZ *et al.*, 2020).

Os acúmulos de cobre (Cu), ferro (Fe), zinco (Zn) e manganês(Mn) na parte aérea do capim Zuri apresentaram significância ($p < 0,05$) na análise de variância para as épocas das secas (Figura 15) e para época das águas os acúmulos não apresentaram diferença significativa ao tratamento controle positivo (Figura 16).

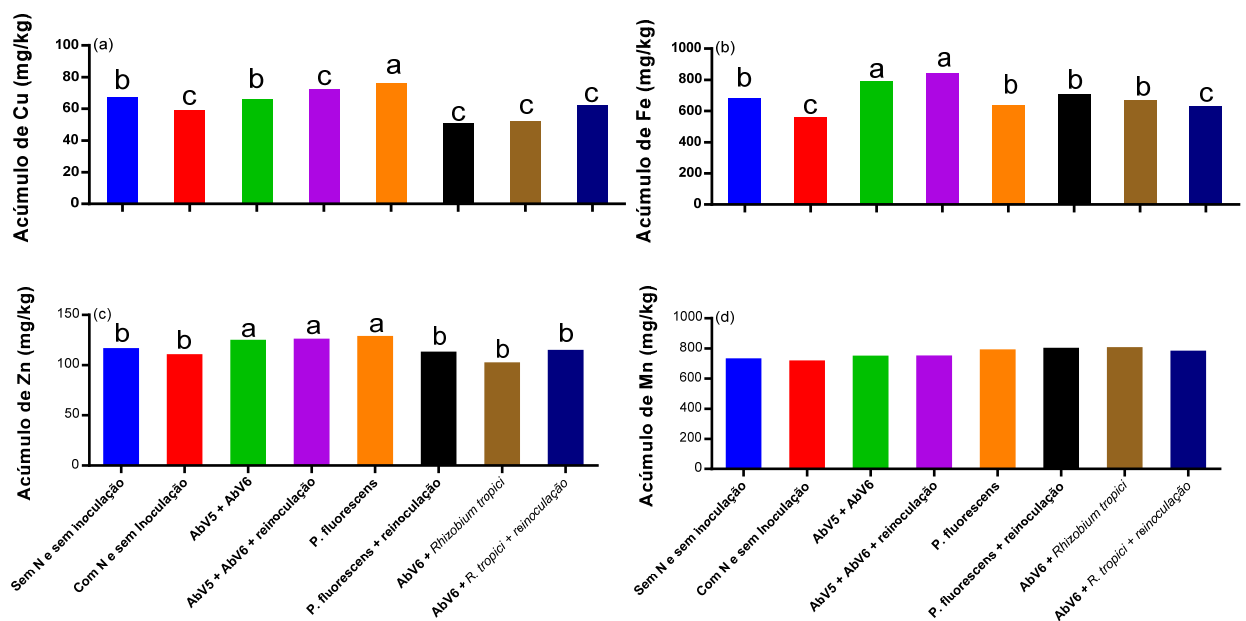
Para o acúmulo de Cu, houve incremento nos tratamentos inoculados com *P. fluorescens* de 12,86% em comparação ao controle positivo (Figura 15a). Os valores de acúmulo de Fe, apresentaram incremento nos tratamentos inoculados e reinoculados com Ab-V5 + Ab-V6 de 14,17 e 15,03% (Figura 15b). As bactérias do gênero *Pseudomonas* secretam sideróforos (GRAY; SMITH, 2005), essas moléculas de baixo peso molecular se ligam ao Fe com alta afinidade e transportam o Fe de volta a célula microbiana (VANDENDERGH; GONZALEZ, 1984) e o Fe fica disponível para o crescimento da bactéria (DOBBELAERE *et al.*, 2003). Essa ligação ferro-sideróforos também impede a proliferação de patógenos, devido ao sequestro do ferro no ambiente. Ao contrário dos fitopatógenos microbianos, as plantas não são prejudicadas com a depleção de ferro pelas BPCP (LIMA *et al.*, 2020). Algumas plantas podem capturar o complexo ferro-sideróforos bacteriano, transportando-o para dentro de suas células, onde o ferro é liberado do sideróforos e fica disponível para a planta (CROWLEY *et al.*, 1988). Essas reações explicam o maior acúmulo de Fe promovida pela inoculação de *P. fluorescens*.

Os valores para acúmulo de Zn apresentaram incremento nos tratamentos inoculados com Ab-V5 + Ab-V6 e *P. fluorescens* de 11,31 e 11,40% e nos tratamentos reinoculados com Ab-V5 + Ab-V6 houve incremento de 11,65% em relação ao controle positivo (Figura 15d).

O acúmulo de micronutrientes apresentou efeito positivo quando os tratamentos foram inoculados com BPCP, principalmente os tratamentos inoculados

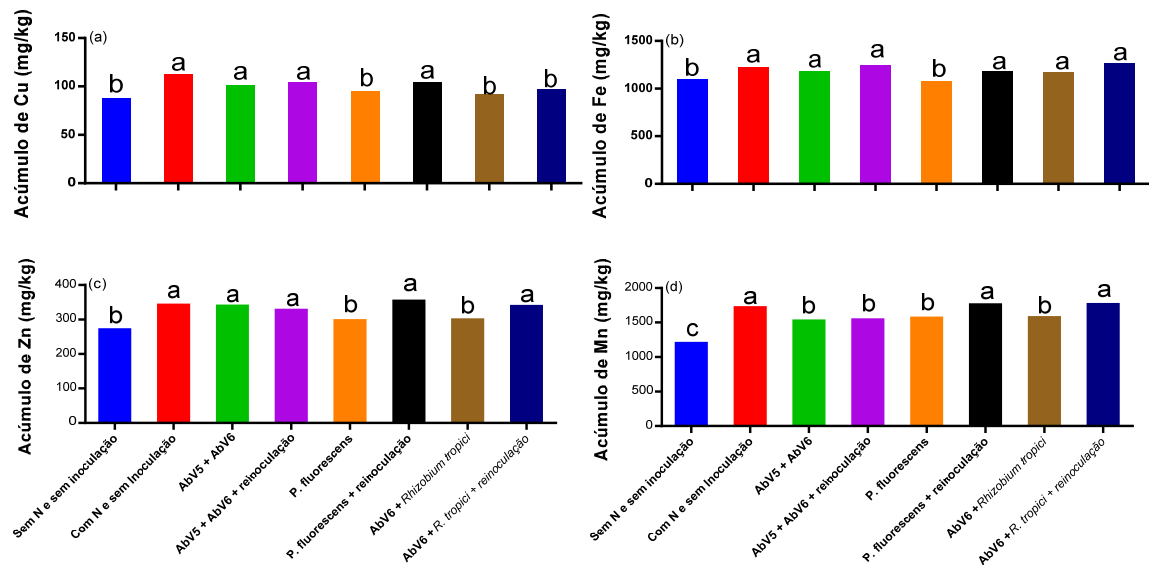
com as estirpes de Ab-V5 + Ab-V6 e *P. fluorescens*. De acordo com Lima *et al.* (2020), o aumento no acúmulo de micronutrientes pode ser explicado pelo maior crescimento radicular, consequentemente maior contato íon/raiz por interceptação radicular e maior absorção.

Figura 15 - Acúmulo de cobre (a), de ferro(b), de zinco (c) e de manganês (d) em *Megathyrus maximus* cv. BRS Zuri inoculado com bactérias promotoras do crescimento no período das secas. Médias seguidas por letras minúsculas diferem entre si para tratamentos da forrageira pelo teste Scott-Knott ($P \leq 0,05$).



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 16 - Acúmulo de cobre (a), de ferro (b), de zinco (c) e de manganês (d) em *Megathyrus maximus* cv. BRS Zuri inoculado com bactérias promotoras do crescimento no período das águas. Barras de erro representam a média erro padrão (n = 4). Médias seguidas por letras diferentes são significativas pelo teste Scott-Knott ($P \leq 0,05$).



Fonte: Elaborado pelo autor.

Considerando o potencial para aumentar a produção de biomassa do capim Zuri, os resultados deste trabalho indicam que *Azospirillum* e *Pseudomonas* são PGPB promissores. A identificação de PGPB para pastagens é de grande relevância, por exemplo, conforme indicado em trabalho conduzido com *Urochloa* spp., a inoculação de *Azospirillum* associada a 40 kg/ha de N como cobertura 30 dias após a semeadura correspondeu a uma aplicação extra de 40 kg/ha de mineral N (HUNGRIA *et al.*, 2013). Esta é uma questão importante a ser considerada para a redução dos impactos ambientais dos fertilizantes minerais N, devido ao uso mais eficiente. Além de ser convertido em proteínas na biomassa vegetal, o uso mais eficiente de N mineral pelas plantas inoculadas com PGPB reduz as perdas de nitrato nas águas subterrâneas por lixiviação ou emissão de gases de efeito estufa na atmosfera via desnitrificação. Assim, o uso de ferramentas mais ecológicas para o estabelecimento de pastagens é importante para manter a sustentabilidade das atividades pecuárias, pois melhora a eficiência da terra e o uso de nutrientes, ajuda

a conservação do solo e da água e contribui para o sequestro de C na biomassa de brotações de plantas (DUARTE, 2020) ou no solo como raízes.

5 CONCLUSÕES

A inoculação com *Azospirillum brasilense*, *Pseudomonas fluorescens* e coinoculação com *Azospirillum brasilense* + *Rhizobium tropici* se apresenta como boa alternativa para o cultivo de *Megathyrsus maximus*, com incremento na produção de perfilhos, produção de massa de forragem, composição bromatológica e acúmulo de nutrientes. A reinoculação com *P. fluorescens* CCTB 03 após cada corte proporcionou 7% a mais de produção de massa seca da parte aérea do capim Zuri em relação ao controle positivo.

As BPCP mostram ser uma alternativa sustentável para a redução de fertilizantes nitrogenados aplicados. A baixa resposta à reinoculação com BPCP na nutrição e produção de capim Zuri, mostra que o método de aplicação e a periodicidade da inoculação ainda requerem investigação.

6 REFERÊNCIAS

- AGUIRRE, P. F.; OLIVO, C. J.; RODRIGUES, P.F.; FALK, D.R.; ADAMS, C. S. Forage yield of Coastcross-1 pastures inoculated with *Azospirillum brasilense*. **Animal Science**, Maringá, v. 40, e36392, 2018.
- ARAUJO, S. C. Realidade e perspectivas para o uso de *Azospirillum* na cultura do milho. **Informações Agronômicas**, Piracicaba, n. 122, p. 4-6, 2008.
- BALDANI, J. I.; BALDANI, V. L. D.; AZEVEDO, M. S.; REIS, V. M. Diversidade de bactérias diazotróficas endofíticas dos gêneros *Herbaspirillum* e *Burkholderia* na cultura do arroz inundado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 2, p. 275-284, 2006.
- BÁRBARO, I. M.; BRANCALÃO, S. R.; TICELLI, M.; MIGUEL, F. B.; SILVA, J. A. A. **Técnica alternativa: co-inoculação de soja com *Azospirillum* e *Bradyrhizobium* visando incremento de produtividade**. [S. l.: s.n.], 2008.
- BARCELLOS, A. O. Sistemas extensivos e semiextensivos de produção: pecuária bovina de corte nos Cerrados. In: SIMPÓSIO SOBRE O CERRADO, 8.; INTERNACIONAL SYMPOSIUM ON TROPICAL SAVANNAS, 1., 1996, Brasília, DF. **Anais** [...]. Planaltina, DF: Embrapa-CPAC, 1996. p. 130-136.
- BASHAN, Y.; BASHAN, L.E. de. Bacteria/Plant Growth-Promoting. In: HILLEL, D. (Ed.) **Encyclopedia of soils in the environment**. v. 1. Oxford: Elsevier, 2005. p. 103-115.
- BASHAN, Y.; HOLGUIN, G. *Azospirillum* - plant relationships: environmental and physiological advances (1990-1996). **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 43, n. 2, p. 103-121, 1997.
- BENINTENDE, S.; UHRICH, W.; HERRERA, M.; GANGGE, F.; STERREN, M.; BENINTENDE, M. Comparación entre coinoculación com *Bradyrhizobium japonicum* y *Azospirillum brasilense* e inoculación simple con *Bradyrhizobium japonicum* en la nodulación, crecimiento y acumulación de N en el cultivo de soja. **Agriscientia**, Córdoba, v. 27, n. 2, p. 71-77, 2010.
- BERGAMASCHI, C. **Ocorrência de bactérias diazotróficas associadas às raízes e colmos de cultivares de sorgo**. 2006. 71 f. Dissertação, (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2006.
- BONFIM-SILVA, E.M.; MONTEIRO, F.A. Nitrogênio e enxofre em características produtivas do capim-braquiária proveniente de área de pastagem em degradação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, p. 1289-1297, 2006.
- 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.

BRADY, N.C.; WEIL, R.R. **Elementos da natureza e propriedades dos solos**. 3. ed. Porto Alegre: Bookman, 2013. 704 p.

BURDMAN, S.; JURKEVITCH, E.; SCHWARTSBURD, B.; HAMPEL, M.; OKON, Y. Aggregation in *Azospirillum brasilense*: effects of chemical and physical factors and involvement of extracellular components. **Microbiology**, v. 144, n. 7, p. 1989-1999, 1998.

CAMPOS, D.V.B.; RESENDE, A.S.; ALVES, B.J.R.; BODDEY, R.M.; URQUIAGA, S. Contribuição da fixação biológica de nitrogênio para a cultura de arroz sob inundação. **UFRRJ: Agronomia**, v. 37, n.2, p. 41-46, 2003.

CANTARELA, H. Nitrogênio. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ-VENEGAS, V.H.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.F.; CANTARUTTI, R.B.; NEVES, J.C.L. (Ed.). **Fertilidade do solo**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p. 375-470,

CANTARELLA, H.; MONTEZANO, Z.F. Nitrogênio e Enxofre. In: PROCHNOW, L.I.; CASARIN, V.; STIPP, S.R. (Ed.) **Boas práticas para o uso eficiente de fertilizantes**: volume 2: nutrientes. Piracicaba: International Plant Nutrition Institute (IPNI), 2010. p. 5-72

CAMPOS, F. P.; NUSSIO, C. M. B.; NUSSIO, L. G. **Métodos de análise de alimentos**. Piracicaba: FEALQ, 2004.

CASSÁN, F.; PERRIG, D.; SGROY, V.; MASCIARELLI, O.; PENNA, C.; LUNA, V. *Azospirillum brasilense* Az39 and *Bradyrhizobium japonicum* E109, inoculated singly or in combination, promote seed germination and early seedling growth in corn (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.). **European Journal of Soil Biology**, **Braunschweig**, v. 45, n. 1, p. 28–35, 2009.

CHAGAS JUNIOR, A.; OLIVEIRA, L. A. de; OLIVEIRA, A. N. de; WILLERDING, A.L. Capacidade de solubilização de fosfatos e eficiência simbiótica de rizóbios isolados de solos da Amazônia. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringa, n. 2, p. 359–366, 2010.

CHAUHAN, A.; GULERIA, S.; BALGIR, P. P.; WALIA, A.; MAHAJAN, R.; MEHTA, P. SHIRKOT, C. K. Tricalcium phosphate solubilization and nitrogen fixation by newly isolated *Aneurinibacillus aneurinilyticus* CKMV1 from rhizosphere of *Valerianajamansi* and its growth promotional effect. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 48, n. 2, p. 294–304, 1 abr. 2017.

COLETI, J.T.; CASAGRANDE, J.C.; STUPIELLO, J.J.; RIBEIRO, L.D.; OLIVEIRA, G.R. Remoção de macronutrientes pela cana-planta e cana-soca, em Argissolo, variedades RB835486 e SP813250. **STAB. Açúcar, Alcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 24, n. 5, p. 32- 36, 2006.

COMBES, D.; PERNÈS, J. Variations dans le nombres chromosomiques du *Panicum maximum* Jacq. en relation avec le mode de reproduction. **Compt. Rendus Acad. Sci., Sér D**, v. 270, p. 782-785, 1970.

COMPANT, S.; DUFFY, B.; NOWAK, J.; CLÉMENT, C.; BARKA, E. A. Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: Principles, mechanisms of action, and future prospects. Applied and Environmental Microbiology **American Society for Microbiology (ASM)**, v. 71, n. 3, p. 4951-4959, 2005.

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

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

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

DE LA TORRE-RUIZ, N.; RUIZ-VALDIVIEZO, V. M.; RINCÓN-MOLINA, C. I. Effect of plant growth-promoting bacteria on the growth and fructan production of Agave americana L. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 47, n. 3, p. 587–596, 2016.

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

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

DÖBEREINER, J.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I. **Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas**. Brasília: EMBRAPA – SPI; Itaguaí: EMBRAPA – CNPAB, 1995. 60 p.

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

EGAMBERDIEVA, D., WIRTH, S. J., ALQARAWI, A. A., ABD_ ALLAH, E.F. Phytohormones and beneficial microbes: Essential components for plants to balance stress and fitness. **Frontiers in Microbiology Frontiers Media S.A.**, 31 out. 2017.

EL-KHAWAS, H.; ADASHI, K. Identification and quantification of auxins in culture media of *Azospirillum* and *Klebsiella* and their effect on rice roots. **Biology and Fertility of Soils**, v. 28, p. 377-381, 1999.

EMBRAPA - AGROBIOLOGIA. **Empresas vão começar a produzir o inoculante para cana**. [2020?]. Disponível em: <http://www.cnpab.embrapa.br/destaques/empresa-inoculo.html>. Acesso em: 17 de maio de 2020.

EMBRAPA - AGROBIOLOGIA. **Pastagens**.2020. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agrobiologia/pesquisa-e-desenvolvimento/pastagens>. Acesso em: 17 de maio de 2020.

EMBRAPA GADO DE CORTE. BRS Zuri. **Produção e resistência para a pecuária. Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte**, 2014. 2 p. Disponível em: <https://www.embrapa.br/web/mobile/busca-de-produtos-processos-eservicos/-/produto-servico/1309/panicum-maximum---brs-zuri>, 2014. Acesso em: 29 maio de 2020.

EMBRAPA GADO DE CORTE. ***Panicum maximum* - BRS Zuri**. 2014. Disponível em: <https://www.embrapa.br/web/mobile/busca-de-produtos-processos-eservicos/-/produto-servico/1309/panicum-maximum---brs-zuri>. Acesso em: 10 out. 2019.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisas de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Embrapa, 2006. 306 p.

EMBRAPA. **Pastagem**. 2020. Disponível em: <https://www.embrapa.br/qualidade-da-carne/carne-bovina/producao-de-carne-bovina/pastagem>>. Acesso em: 18 maio 2020.

EUCLIDES, V.P.B.; MEDEIROS, S.R. Suplementação animal em pastagens e seu impacto na utilização da pastagem. *In*: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM. 22., 2005, Piracicaba. **Anais**[...]. Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, 2005. p. 33-70.

EUCLIDES, V. P. B.; ZIMMER, A. H.; VIEIRA, A. Evaluation of *Brachiaria decumbens* and *Brachiaria brizantha* undergrazing. *In*: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 17., 1993, Rockhampton. **Proceedings** [...]. Palmerstone North: New Zealand Grassland Association, 1993. p. 1997-1998

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

FERLINI, H. A. **Co-Inoculación en Soja (*Glycine max*) con *Bradyrhizobium japonicum* y *Azospirillum brasilense***. [S.l.: s.n.], 2006. Disponível em: http://www.engormix.com/co_inoculacion_soja_glycine_s_articulos_800_AGR.htm. Acesso: 25 maio 2020.

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

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

FRANCO, A. A.; BALEIRO, F. de C. Fixação biológica de nitrogênio: alternativa aos fertilizantes nitrogenados. *In*: SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S; LOPES, A. S. (Ed) **Inter-relação fertilidade, biologia do solo e nutrição de plantas**. Viçosa: SBCS, Lavras: UFLA/DCS, 1999. p. 577-595.

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

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

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

GAMALERO, E.; GLICK, B. R. Mechanisms used by plant growth-promoting bacteria. In: BACTERIA in agrobiolgy: plant nutrient management. [s.l.] Springer Berlin Heidelberg, 2011. p. 17–46.

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

GONÇALVES, S.L.; SARAIVA, O.F.; FRANCHINI, J.C.; TORRES, E. **Decomposição de resíduos de milho e soja em função do tempo e do manejo do solo**. Londrina: Embrapa Soja, 2010. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 3)

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

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

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

HERRERA, R.; MERIDA, T.; STARK, N.; JORDAN, C. F. Direct phosphorus transfer from leaf litter to roots. **Naturwissenschaften**, v. 65, n. 4, p. 208-209, 1978.

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

HUERGO, L.F. **Regulação do metabolismo de nitrogênio em *Azospirillumbrasilense***. 2006. 190 f. Tese (Doutorado em Bioquímica) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

HUNGRIA, M. *Azospirillum*: um velho novo aliado. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 32.; REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 16.; SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 14., REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO, 11., 2016, Goiânia. Rumo aos novos desafios. **Resumos**[...]. Goiânia: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2016.

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

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

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

HUNGRIA, M.; MENDES, I. C.; MERCANTE, F. M. **Tecnologia de fixação biológica de nitrogênio com feijoeiro**: viabilidade em pequenas propriedades familiares e em propriedades tecnificadas. Londrina: Embrapa Soja, 2013. 32 p. (Embrapa Soja. Documentos, 338).

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

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

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

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA- IBGE. **Censo Agropecuário 2017**: resultados preliminares. Rio de Janeiro: [s.n.], 2018. 7 v. Disponível em:

https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/3093/agro_2017_resultados_preliminares.pdf. Acesso em: 23 set. 2020.

JANK, L. Melhoramento e seleção de variedades de *Panicum maximum*. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 12, Piracicaba, 1995. **Anais** [...]. Piracicaba: FEALQ, 1995. p.21-58.

JANK, L.; CALIXTO, S.; COSTA, J. C. G.; SAVIDAN, Y. H.; CURVO, J. B. E. **Catalog of the characterization and evaluation of the *Panicum maximum* germplasm**: morphological description and agronomical performance. Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte, 1997.

JANK, L.; SANTOS, M. F.; VALLE, C. B. do; BARRIOS, S. C. L.; RESENDE, R. M. S. Novas alternativas de cultivares de forrageiras e melhoramento para a sustentabilidade da pecuária. *In: SIMPÓSIO DE ADUBAÇÃO E MANEJO DE PASTAGENS*, 4.; *SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO ANIMAL À PASTO*, 4., 2017, Dracena. **Anais [...]**. Dracena: EMBRAPA,, 2017. p.107-117.

JANK, L.; SAVIDAN, Y. H.; SOUZA, M. T. de; COSTA, J. C. G. Avaliação do germoplasma de *Panicum maximum* introduzido da África: 1. Produção forrageira. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v. 23, n. 3, p. 433-440, 1994.

KARTHIKEYAN, M.; RADHIKA, K.; MATHIAZHAGAN, S.; BRASKARAN, R. Induction of phenolics and defense-related enzymes in coconut (*Cocos nucifera* L.) roots treated with biocontrol agents. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 18, n. 3, p. 367–377, 2006.

KUSS, A. V. **Fixação de nitrogênio por bactérias diazotróficas em cultivares de arroz irrigado**. 2006. 109 f. Tese (Doutorado-Ciência do Solo) – Programa de Pós-graduação em Ciência do Solo, Universidade Federal de Santa Maria, 2006.109 p.

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

LIMA, G.; HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; FILHO; M.C.M.; MOREIRA, A.; HEINRICHS, R.; SOARES FILHO, C.V. Yield, yield components and nutrients uptake in Zuri Guinea grass inoculated with plant growth-promoting bacteria. **International Journal for Innovation Education and Research**, v. 8, p.103-124, 2020.

MAIXNER, A. R.; QUADROS, F. L. F.; KOZLOSKI, G. V.; MONTARDO, D. P.; ROSSI, G.E.; AURÉLIO, N. D. Consumo de forragem e desempenho de vacas Holandesas sob pastejo em gramíneas tropicais. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v. 29, n. 3, p. 241-248, 2007.

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

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA S. A. **Evaluation of plant nutrient status: principles and their application**. 2. ed. Piracicaba: POTAFOS, 1997.

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

MINGOTTE, F. L. C.; SANTOS, C. L. R.; PRADO, R. M.; FLORES, R. A.; TOGORO, A. H.; SILVA, J. A. S.; POLIT, L. S.; PINTO, A. S.; AQUINO, D. S. Manganês na nutrição e na produção de massa seca do capim-mombaça. **Bioscience Journal**, v. 27, n. 6, p. 879-887, 2011.

MOLLA, A. H.; SHAMSUDDIN, Z. H.; HALIMI, M. S.; MORZIAH, M., PUTEH, A. B. Potential for enhancement of root growth and nodulation of soybean co-inoculated with *Azospirillum* and I in laboratory systems. **Soil Biology & Biochemistry**, Elmsford, v. 33, n. 4, p. 457-463, 2001

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e biotecnologia do solo**. 2. ed. atual. ampl. Lavras: Editora UFLA, 2006. 729 p.

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

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

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

NELSON, L. M. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): prospects for new inoculants. **Crop Management**, mar. 2004. Disponível em: <http://www.plantmanagementnetwork.org/pub/cm/review/2004/rhizobacteria/>. Acesso em: 10 maio de 2020.

NÓBREGA, R. S. A.; MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O.; LIMA, A. S. Caracterização fenotípica e diversidade de bactérias diazotróficas associativas isoladas de solos em reabilitação após a mineração de bauxita. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 28, n. 2, p. 269-279, 2004.

NOVAIS, R. F.; NEVES, J. C. L.; BARROS, N. F. Ensaio em ambiente controlado. **Métodos de Pesquisa em Fertilidade do Solo**, v. 1, p. 89-253, 1991.

OKON, Y.; ITZIGSOHN, R. The development of *Azospirillum* as commercial inoculant for improving crop yields. **Biotechnology Advances**, New York, v. 13, n. 3, p. 415-424, 1995.

OLIVEIRA, A. L. M. de; URQUIAGA, S.; BALDANI, J. I. **Processos e mecanismos envolvidos na influência de microrganismos sobre o crescimento vegetal**. Seropédica: CNPAB, ago. 2003. 40 p. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 161).

OLIVEIRA, C. A.; ALVES, V. M. C.; MARRIEL, I. E.; GOMES, E. A. Phosphatesolubilizingmicroorganismsisolated from rhizosphere of maizecultivated in an oxisol of the Brazilian Cerrado Biome. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 41, p. 1782-1787, 2009.

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

PRADO, R.M. **Manual de nutrição de plantas forrageiras**. Jaboticabal: FUNEP, 2008. 500 p.

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

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

RAMOS, J. L. **Pseudomonas- Genomics, lifestyle and molecular architecture**. v. 1. Granada: CSIC, 2004.

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

REIS, V. M.; TEIXEIRA, K. R. dos S. Fixação biológica do nitrogênio: estado da arte. In: AQUINO, A. M. de; ASSIS, R. L. de (Ed.). **Processos biológicos no sistema solo-planta: ferramentas para uma agricultura sustentável**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. 368 p.

SÁ, G. C. R.; CARVALHO, C. L. M.; MOREIRA, A.; HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; HEINRICHS, R.; SOARES FILHO, C. V. Biomass yield, nitrogen accumulation and nutritive value of Mavuno grass inoculated with plant growth-promoting bacteria. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 50, n. 15, p. 1931–1942, 2019.

SANDINI, I.E.; PACENTCHUK, F.; HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M.A.; CRUZ, S.P.; NAKATANI, A.S.; ARAUJO, R.S. Seed inoculation with *Pseudomonas fluorescens* promotes growth, yield and reduces nitrogen application in maize. **International Journal of Agriculture and Biology**, v. 22, p. 1369-1375, 2019.

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

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

SHARMA, S. B.; SAYYED, R. Z.; TRIVEDI, M. H.; GOBI, T. A. Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. **SpringerPlus**, v. 2, n. 1, p. 587, 2013.

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

SILVA, L. R. **Produção experimental de inoculantes agrícolas à base de *Azospirillum spp.* para fixação biológica de nitrogênio em gramíneas e**

forrageiras. 2006. 137 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade do Estado de São Paulo, São Paulo, 2006.

SIVASAKTHI, S.; USHARANI, G.; SARANRAJ, P. Biocontrol potentiality of plant growth promoting bacteria (PGPR) - *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis*: A review. **African Journal of Agricultural Research**, Lagos, v. 16, n. 9, p. 1265-1277, 2014.

SOBRAL, J.K. **A comunidade bacteriana endofítica e epifítica de soja (*Glycine max*) e estudo da interação endófitos-planta**. 2003. 174 f. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

SOUTO, S.M. **Variação estacional da fixação de N₂ e desnitrificação em gramíneas forrageiras tropicais**. 1982. 268 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1982.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artemed, 2013. 954 p.

TIAN, B.; ZHANG, C.; YE, Y.; WEN, J.; WU, Y.; WANG, H.; LEI, S. Beneficial traits of bacterial endophytes belonging to the core communities of the tomato root microbiome. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 247, p. 149-156, 2017.

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

VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2. ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476 p.

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

VILELA, D. Pastejo rotativo na intensificação da produção de leite. **Revista dos Criadores**, n. 2, p. 34-39, 1997.

VILELA, D.; FERREIRA, A. M.; RESENDE, J. C.; LIMA, J. A.; VERNEQUE, R. S. Efeito do concentrado no desempenho produtivo, reprodutivo e econômico de vacas da raça Holandesa em pastagem de Coast-cross. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 2, p. 443-450, 2007.

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

APÊNDICE – FOTOS DO EXPERIMENTO

Foto 1 – Coleta do capim Zuri.



Fonte: Acervo do autor.

Foto 2 – Adubação a lanço de fonte mineral de N.



Fonte: Acervo do autor.

Foto 3 – Área experimental com os tratamentos delimitados.



Fonte: Acervo do autor.

Foto 4 – Coleta de material e análises de SPAD, perfilho e altura.



Fonte: Acervo do autor.

Foto 5 – Aplicação das estirpes de BPCP nas sementes do BRS Zuri.



Fonte: Acervo do autor.

Foto 6 – Preparação do solo.



Fonte: Acervo do autor.

Foto 7 – Coleta da forragem BRS Zuri.



Fonte: Acervo do autor.

Foto 8 – Equipamento para as análises de FDN e FDA.



Fonte: Acervo do autor.

Foto 9 – Medição da altura da pastagem BRS Zuri.



Foto 10 – Pastagem BRS Zuri no período das águas

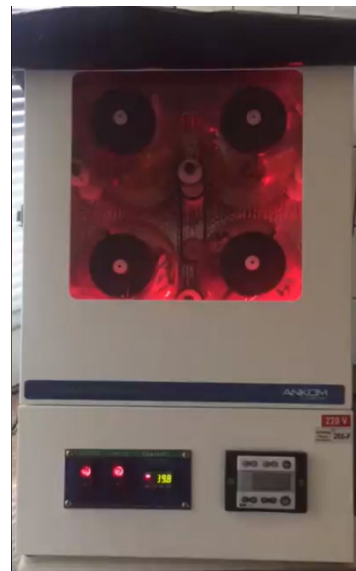


Foto 12 – Área experimental após nivelamento da pastagem BRS Zuri.



Fonte: Acervo do autor.

Foto 13 – Equipamento DAISY II com amostras de BRS realizando a digestibilidade *in vitro*.



Fonte: Acervo do autor.