

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO VEGETAL
E NITROGÊNIO NO ESTABELECIMENTO E NO
DESENVOLVIMENTO DE *UROCHLOA* spp.

Autora: Camila Fernandes Domingues Duarte
Orientador: Prof. Dr. Ulysses Cecato
Coorientadora: Dr.^a Mariangela Hungria

MARINGÁ
Estado do Paraná
Abril - 2018

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO VEGETAL
E NITROGÊNIO NO ESTABELECIMENTO E NO
DESENVOLVIMENTO DE *UROCHLOA* spp.

Autora: Camila Fernandes Domingues Duarte

Orientador: Prof. Dr. Ulysses Cecato

Coorientadora: Dr.^a Mariangela Hungria

Tese apresentada, como parte das exigências para a obtenção do título de DOUTOR em ZOOTECNIA, Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá – Área de Concentração Pastagem e Forragicultura.

MARINGÁ
Estado do Paraná
Abril – 2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá, PR, Brasil)

0812b Duarte, Camila Fernandes Domingues
Bactérias promotoras do crescimento vegetal e
nitrogênio no estabelecimento e no desenvolvimento
de Urochloa spp. / Camila Fernandes Domingues
Duarte. -- Maringá, 2018.
72 f. : il., color, figs., tabs.

Orientador(a): Prof. Dr. Ulysses Cecato.
Co-orientador(a): Prof. Dr. Mariângela Hungria.
Tese (doutorado) - Universidade Estadual de
Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia - Área de Concentração:
Pastagem e Forragicultura, 2018.

I. Biotecnologia. 2. Brachiaria. 3. Fitormônios do
crescimento vegetal. 4. Microorganismos endofíticos.
5. Rizobactérias. I. Cecato, Ulysses, orient. II.
Hungria, Mariângela, coorient. III. Universidade
Estadual de Maringá. Centro de Ciências Agrárias.
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia - Área de
Concentração: Pastagem e Forragicultura. IV. Título.

CDD 21.ed. 633.202
AMS-CRB-9/1065




UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

**BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO
VEGETAL E NITROGÊNIO NO ESTABELECIMENTO
E NO DESENVOLVIMENTO DE *UROCHLOA* SPP.**


Autora: Camila Fernandes Domingues Duarte
Orientador: Prof. Dr. Ulysses Cecato

TITULAÇÃO: Doutora em Zootecnia - Área de Concentração Pastagens e
Forragicultura

APROVADA em 05 de abril de 2018.



Prof. Dr. Clóves Gabreira Jobim



Prof. Dr. Marco Antonio
Nogueira



Prof. Dr. Sandra Galbeiro



Prof. Dr. Valdo Rodrigues
Herling



Prof. Dr. Ulysses Cecato
(Orientador)

*E lá vai ela, sorrindo, chorando, vivendo, orando, crendo,
confiando e em Deus esperando...*

@irmãojota

Aos meus pais,

Abel Duarte (*in memoriam*) e **Márcia Fernandes**

Que incansavelmente batalharam para minha formação e crescimento pessoal,
abdicando diversas vezes de seus próprios sonhos para me deixar sonhar.

Ao meu namorado,

Thiago Trento Biserra

Pelo apoio e por se manter sempre presente, não deixando desaminar mesmo nas piores
situações.

À minha avó e tia,

Maria Conceição Fernandes e Nídia Fernandes

Pela ajuda, compreensão, carinho e orações

Com muito carinho

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus Pai Todo Poderoso, pelas bênçãos concedidas, sendo minha esperança e alegria em todos os momentos da minha vida. Tudo o que sou e o que quero ser pertence a Ti.

Ao Prof. Dr. Ulysses Cecato, pela orientação, dedicação na minha formação e especialmente, pelas conversas e conselhos sempre oportunos. Agradeço a Deus pela oportunidade de trabalhar com o senhor e, principalmente, conhecer esse ser humano incrível e honesto.

Ao Prof. Dr. Henrique Jorge Fernandes, pela orientação nas análises estatísticas e por dedicar seu conhecimento ao meu desenvolvimento profissional e pessoal, certamente a suas considerações foram e serão sempre valiosas em minha vida.

À Dr.^a Mariangela Hungria, pela confiança depositada em mim, pelo carinho, disponibilidade na condução dos experimentos e elaboração dos artigos.

À Prof.^a Dr.^a Sandra Galbeiro, pela atenção, conselhos e ensinamentos.

À Profa. Dr.^a Luísa Melville Paiva, que acreditou no meu potencial e investiu tempo e paciência para minha formação acadêmica, mas também pela amizade e carinho construídos durante esse processo.

Ao meu namorado Thiago Trento Biserra, por me ajudar na realização das atividades do experimento e lealdade, nunca mediu esforços para fazer as coisas acontecerem. Você faz parte de todo esse processo e sem a sua ajuda ficaria bem difícil terminar esse doutorado.

Ao Grupo de estudo em forragicultura Cecato, em especial ao Diogo Rodrigues da Silva e Anny Toniato, que desde o início estiveram presente. Aos demais companheiros,

Gracielle, Renan, Pablo, Hudson, Maria Augusta, Suzana, Artur e Divaney, agradeço por toda ajuda e amizade, sem sombra de dúvidas que toda separação e coleta não seriam tão legais sem a presença de vocês.

Ao “Seu” Milton, carinhosamente chamado de “Tio do CTP”, por cuidar e ajudar na condução do experimento em casa de vegetação e, principalmente, pela amizade construída.

Aos funcionários do LANA, Augusto e Angélica, pela ajuda nos trabalhos desenvolvidos no LANA, mas também pelas conversas e ensinamentos.

Aos funcionários da Fazenda Experimental de Iguatemi, em especial ao “Seu Valdir” sempre disposto a nos atender.

Aos amigos Matheus Ribeiro, Jessica Ribeiro e Diego de Paula, pela amizade e momentos de descontração. E aos colegas de turma de doutorado Dheyne e Ubiara, pelas conversas e momentos de alegria.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Zootecnia, por contribuírem com minha formação acadêmica. Em especial, Prof. Dr. Ricardo Vasconcelos, por disponibilizar seu tempo para a construção da curva do NIRS, sempre solícito e dedicado.

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, pela oportunidade de realizar meu doutorado. À CAPES, pela concessão da bolsa, ao CNPq e Fundação Agrisus, pelo financiamento do projeto de pesquisa.

A todos os que contribuíram com a realização deste trabalho.

MUITO OBRIGADA!

BIOGRAFIA DA AUTORA

CAMILA FERNANDES DOMINGUES DUARTE, filha de Abel Duarte e Márcia Fernandes Domingues, nasceu na cidade de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil, no dia 21 de dezembro de 1989. Fez o ensino médio na Escola Estadual General Malan, situada na capital do Estado do Mato Grosso do Sul, concluindo no ano de 2007.

Em fevereiro de 2008, entrou no curso de graduação em Zootecnia, na Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Unidade Universitária de Aquidauana, Mato Grosso do Sul, concluindo em janeiro de 2013. Em março de 2013, iniciou no Mestrado em Zootecnia, na Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul e Unidade Universitária que fez a graduação, realizando estudos na área de Manejo de Pastagem, tornando-se Mestre em Zootecnia em fevereiro de 2015.

Em março de 2015, ingressou no Doutorado em Pastagem e Forragicultura do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá e no dia 5 de abril de 2018 submeteu-se a banca para defesa da Tese de Doutorado.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE ABREVIATURAS.....	viii
RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xii
I - INTRODUÇÃO.....	1
1. Revisão de literatura.....	2
1.1. Situação das pastagens no Brasil.....	2
1.2. Gênero <i>Urochloa</i>	3
1.3. Bactérias promotoras do crescimento vegetal em gramíneas forrageiras.....	5
1.4. <i>Azospirillum</i> spp.	7
1.5. <i>Pseudomonas</i> spp.	10
1.6. <i>Pantoea</i> spp.	11
2. Adubação nitrogenada.....	13
2.1. Associação entre bactérias promotoras do crescimento vegetal e adubação nitrogenada.....	14
3. Teor de clorofila.....	15

4. Referências bibliográficas.....	15
II – HIPÓTESE E OBJETIVO GERAL	
Hipótese.....	25
Objetivo Geral.....	25
III – CARACTERÍSTICAS MORFOGÊNICAS E ESTRUTURAIS DE <i>UROCHLOA</i> spp. EM FUNÇÃO DA INOCULAÇÃO COM BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO VEGETAL E DA ADUBAÇÃO NITROGENADA	
Resumo.....	26
Abstract.....	27
Introdução.....	27
Material e Métodos.....	28
Resultados.....	32
Discussão.....	37
Conclusão.....	41
Referências.....	41
IV – BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO VEGETAL NA PRODUTIVIDADE DA <i>UROCHLOA BRIZANTHA</i> CV. PAIAGUÁS	
Resumo.....	46
Abstract.....	47
Introdução.....	47
Material e Métodos.....	48
Resultados.....	52
Discussão.....	63
Conclusão.....	68
Referências.....	68
V – CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	72

LISTA DE ABREVIATURAS

- ABA: ácido abscísico
- AIA: ácido-3-inodolácetico
- BPCV: bactérias promotoras do crescimento vegetal
- CO₂: gás carbônico
- DVF: duração de vida das folhas
- DVMS: digestibilidade da matéria seca
- FBN: fixação biológica de nitrogênio
- Filo: filocrono
- IAM: ínodule-3-acetamida
- IpyA: ínodule-3-piruvato
- N: nitrogênio
- NFV: número de folhas vivas
- PB: proteína bruta
- PMF: produção de massa de forragem
- PMFT: produção de massa de forragem total
- PMR: produção de massa de forragem
- RF:C: razão folha:colmo
- TAIC: taxa de alongamento de colmo
- TAIF: taxa de alongamento de folhas

TApF: taxa de aparecimento de folhas

TCT: teor de clorofila total

TSeF: taxa de senescência foliar

RESUMO

A inoculação de bactérias promotoras do crescimento vegetal pode ser uma alternativa sustentável na recuperação e manutenção de pastagens. Neste sentido, objetivou-se avaliar o efeito da inoculação de bactérias promotoras de crescimento de plantas nas características morfogênicas, estruturais e produtivas de três genótipos de *Urochloa* (*U. brizantha* cv. BRS Paiaguás, *U. ruziziensis* e *U. brizantha* cv. Xaraés). O experimento foi desenvolvido em delineamento inteiramente ao acaso, em casa de vegetação, com período experimental de 12 meses. Os tratamentos consistiram de cinco bactérias (sem bactéria, *Azospirillum brasilense* Ab-V5, *Azospirillum brasilense* Ab-V6, *Pseudomonas fluorescens* CCTB03, *Pseudomonas fluorescens* ET76 e *Pantoea ananatis* AMG521) e três níveis de nitrogênio (zero, 50 e 100 kg ha⁻¹ de N), em um esquema fatorial 6x3. Os inóculos foram preparados na concentração final de 10⁸ células mL⁻¹ no Laboratório de Biotecnologia do Solo da Embrapa Soja, sendo misturados 15 mL de inóculo a cada quilo de sementes de cada capim e deixados secar à sombra por 30 minutos. Os vasos foram preenchidos com 15 dm³ de solo proveniente do arenito Caiuá. Em todos os vasos foram corrigidos os teores de fósforo, potássio e aplicado o equivalente a 20 kg ha⁻¹ de N. Para caracterização morfogênica foram demarcados dois perfilhos por vaso diferidos por fios de arame colorido. Uma vez por semana foram mensurados a altura de pseudocolmo e comprimento de cada lâmina foliar, registrando-se as ocorrências de senescência, quebra (corte), morte e expansão da lâmina foliar dos perfilhos demarcados. Essas medidas foram utilizadas na determinação das taxas de alongamento de colmo (TAIC), taxa de aparecimento de folhas (TApF), filocrono, taxa de alongamento de folhas (TAIF), taxa de senescência (TSeF), duração de vida da folha (DVF) e número de folhas vivas (NFV) por perfilho. Quando as plantas atingiram, em média, 35 cm de altura, foram cortadas, deixando-se 15 cm como resíduo. Após o corte, as amostras foram pesadas e secas em estufa para determinação da massa seca. Essas amostras foram moídas e determinada a concentração de proteína bruta e digestibilidade

da matéria seca. Para a mensuração da clorofila foi utilizado o equipamento clorofiLOG - CFL1030 da Falker. Foi determinada a produção de massa de raízes e a geometria das raízes. Quando cabível, as médias entre os grupos controle (sem bactérias ou sem adubação nitrogenada) e os grupos tratados foram comparados utilizando o teste de Dunnet e as médias entre os tratamentos foram comparadas entre si pelo teste de *t* student. Em todas as análises estatísticas utilizou-se PROC GLM do pacote estatístico “Statistical Analysis System” – SAS V 9.2 (SAS Institute Inc. Cary, CA), a 5%. De modo geral, para *U. brizantha* cv. BRS Paiaguás e Xaraés, os melhores desempenhos foram obtidos com as estirpes *P. fluorescens* CCTB03 e *P. ananatis* AMG521, nos parâmetros de taxa de alongamento foliar e do caule e número de perfilhos basais. Para *U. ruziziensis*, o melhor desempenho foi em relação à duração e taxa de renovação das folhas e de senescência foliar, favorecidos pelas estirpes AMG521, Ab-V5 e Ab-V6, indicando especificidade de estirpes com os genótipos de braquiárias. Verificou-se, também, diferença na interação entre BPCV e a adubação nitrogenada, pois em *U. brizantha* os efeitos foram aditivos, enquanto em *U. ruziziensis* foram competitivas. Os resultados indicam viabilidade de inoculação de braquiárias com estirpes elite de BPCV, com impactos positivos na produção de biomassa forrageira, com possibilidade de redução ou aumento de eficiência de uso de N-fertilizante. Observou-se efeito do uso das BPCV na produção de massa de forragem, massa de raízes e concentração de proteína bruta do capim-paiaguás. Em relação às estirpes, novamente destaca-se *P. fluorescens* CCTB03 e *P. ananatis* AMG521, as quais promoveram incrementos apenas com a adubação à base de nitrogênio e associadas a 50 kg de N, com menor efeito associado a 100 kg de N. No geral, as bactérias promotoras do crescimento vegetal beneficiam o crescimento e desenvolvimento de espécies do gênero *Urochloa*, podendo ser uma nova opção no manejo em busca da sustentabilidade das plantas forrageiras nos trópicos.

Palavras-chaves: biotecnologia, *Brachiaria*, fitormônios do crescimento vegetal, microrganismos endofíticos, rizobactérias

ABSTRACT

Inoculation of plant growth-promoting bacteria can be a sustainable alternative in pastures recovery and maintenance. In this sense, the objective of this study was to evaluate the inoculation effect of plant growth promoter bacteria on the morphogenic, structural and productive characteristics of three *Urochloa* genotypes (*U. brizantha* cv. BRS Paiaguás, *U. ruziziensis* and *U. brizantha* cv. Xaraés). The treatments consisted of five bacteria (without bacterium, *Azospirillum brasilense* Ab-V5, *Azospirillum brasilense* Ab-V6, *Pseudomonas fluorescens* CCTB03, *Pseudomonas fluorescens* ET76 and *Pantoea ananatis* AMG521) and three doses of nitrogen (0, 50 and 100 kg ha⁻¹ N) in a 6x3 factorial scheme. Bacteria were identified and inoculum prepared with a final concentration of 10⁸ cells mL⁻¹ in the Biotechnology Laboratory Emulsion soil, then 15 mL of inoculum was mixed to 1 kg of each grass seed and allowed to dry in the shade for 30 minutes. Experimental pots were filled with 15 dm³ of Caiuá sandstone. In all them, phosphorus and potassium contents were corrected and the equivalent of 20 kg of N ha⁻¹ was applied. For morphogenic characterization, two tillers per pots were demarcated by colored wire and once a week the pseudocolus height and length of each leaf blade were measured, recording the occurrence of senescence, breaking (cutting), death and expansion of the leaf blade. These measures were used to determine stem elongation rates (SER) leaf renewal rate (LAR), phyllochron, leaf elongation rate (LER), senescence rate (SR), leaf life span (LLS) and number of live leaves (NLL) per tiller. When the plants reached an average of 35 cm in height, they were cut, leaving 15 cm as residue. After cutting, the samples were weighed and dried in an oven to determine the dry mass. These samples were ground and the crude protein concentration and dry matter digestibility were determined. Chlorophyll measurement was performed using the chlorofiLOG - CFL1030 equipment from Falker. Root mass production and root geometry were determined. When appropriate, the means between the control groups (without bacteria or without nitrogen fertilization) and treated groups were compared using the Dunnet test and the means among treatments were compared by the t student test. In all statistical analyzes, PROC GLM was used from the statistical

package "Statistical Analysis System" - SAS V 9.2 (SAS Institute Inc. Cary, CA), at 5%. In general, for *U. brizantha* cv. BRS Paiaguás and Xaraés, the best performances were observed with the strains *P. fluorescens* CCTB03 and *P. ananatis* AMG521, in the parameters of leaf and stem elongation rate and number of basal tillers. For *U. ruziziensis*, the best performance was in relation to the duration and leaf renewal rate as well as leaf senescence, favored by strains AMG521, Ab-V5 and Ab-V6, indicating strains specificity with *Urochloa* genotypes. It was also verified difference in the interaction between PGPB and nitrogen fertilization, because in *U. brizantha* the effects were additive, whereas in *U. ruziziensis* they were competitive. The results indicate the feasibility of *Brachiaria* inoculation with PGPB elite strains, with positive impacts on the forage biomass production, perhaps reducing or increasing the efficiency of N-fertilizer use. PGPB effect on the forage mass production, root mass and crude protein concentration of paiaguás grass were observed. In relation to the strains, again we highlight *P. fluorescens* CCTB03 and *P. ananatis* AMG521, which promoted increases only with nitrogen fertilization and associated with 50 kg of N, with lower effect associated with 100 kg of N. Overall, the plant growth-promoting bacteria benefit the growth and development of *Urochloa* genus species and may be a new option in the management in the sustainability search of forage plants in the tropics.

Key words: biotechnology, *Brachiaria*, plant growth phytohormones, endophytic microorganisms, rhizobacteria

I. INTRODUÇÃO

No Brasil, onde a produção pecuária baseia-se principalmente na alimentação a pasto, a baixa fertilidade do solo e o manejo incorreto das pastagens são as principais causas da degradação e diminuição da produtividade do setor. Assim, a degradação de pastagem é considerada um dos maiores problemas da produtividade da pecuária brasileira. Dias-Filho (2011) estimou que cerca de 50% das áreas cobertas por pastagens no país apresentam algum estágio de degradação.

Dentre os fatores que levam a degradação das pastagens, o baixo fornecimento de nutrientes para as plantas é considerado um dos mais importantes (BATISTA et al. 2002), resultando em baixa qualidade e produtividade. Dentre os nutrientes, o nitrogênio (N) é considerado o principal limitante para crescimento e desenvolvimento das pastagens tropicais (WERNER, 1994), isso demanda seu fornecimento via fertilização mineral. Porém, é uma prática onerosa e prejudicial ao ambiente, uma vez que em torno de 50% do N pode ser perdido por volatilização, lixiviação e desnitrificação (REIS JUNIOR et al., 2010).

Nesse sentido, utilizar alternativas sustentáveis para a nutrição de plantas forrageiras, como a exploração do potencial da fixação biológica de nitrogênio atmosférico (FBN) em gramíneas tropicais se torna fundamental para restabelecer a produtividade e qualidade forrageira. A FBN é realizada por bactérias diazotróficas, também conhecidas como bactérias promotoras do crescimento vegetal (BPCV). A FBN ocorre pela conversão do N₂ atmosférico em outras substâncias nitrogenadas, sendo

assimilado pela planta na síntese de proteína, ácidos nucleicos e outras macromoléculas (NUNES et al., 2013).

De acordo com Okon & Labandera-Gonzales (1994), a FBN pelas BPCV pode introduzir aproximadamente $40 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ de N, quando utilizada em gramíneas *Pennisetum americanum* e *Panicum maximum*. As BPCV também contribuem para o melhor aproveitamento de água e nutrientes, maior atividade fotossintética, produção de hormônios (auxinas, citocininas, giberelinas e ácido indol-acético) e maior solubilização de fosfatos (PERSELLO-CARTINEAUX et al., 2003; HUERGO et al., 2008).

No ecossistema da pastagem, a FBN é fundamental no ciclo do nitrogênio e as bactérias diazotróficas podem desempenhar importante papel no fornecimento de N para as plantas. Nesse contexto, a utilização dessa tecnologia parece ser promissora, contribuindo para a promoção do crescimento e nutrição das plantas forrageiras, tornando a inoculação uma alternativa viável em substituição total ou parcial da adubação nitrogenada, auxiliando assim, na manutenção e conservação dos recursos naturais (VOGEL et al., 2014).

No entanto, apesar dos benefícios promovidos pelas BPCV em culturas agrícolas (milho, trigo, arroz), seus efeitos em plantas forrageiras ainda são restritos e necessitam de mais aprofundamento. Neste sentido, avaliar os efeitos das BPCV no estabelecimento, manutenção e produção das pastagens se torna fundamental na busca de uma exploração econômica e sustentável.

1. Revisão de literatura

1.1. Pastagens no Brasil

A principal característica da pecuária brasileira é a criação de grande parte do seu rebanho a pasto, acarretando em menores custos de produção de carne (CARVALHO et al., 2009). De acordo com Dias-Filho (2013), por demandar menores investimentos e infraestrutura, a pecuária, especialmente a criação de bovinos de corte a pasto, tem sido realizada em áreas de fronteira agrícola, e contribuiu para a baixa adesão de tecnologias e insumos na formação e no manejo das pastagens brasileiras.

Em razão disso, existe no Brasil alta ocorrência de pastagens degradadas e a classificação da produção de carne a pasto com ineficiente, de baixa rentabilidade e prejudicial ao meio ambiente. Entretanto, com as recentes mudanças ambientais e

comportamentais, aliada a maior disponibilidade de tecnologias têm garantido mudanças no setor produtivo de carne e leite do país (DIAS-FILHO, 2014).

Estimativas do último Censo Agropecuário Brasileiro, no ano de 2006, relatou que a área total de pastagens, naturais e cultivadas, é de 172,3 milhões de hectares, com redução nas regiões Sudeste, Sul e Centro-Oeste (IBGE,2007). Neste levantamento, foi possível observar que a expansão das áreas de pastagem foi de aproximadamente 4% desde os anos 70, por causa da expansão agrícola, de reflorestamento e de urbanização (DIAS-FILHO, 2014). Contudo, apesar de um crescimento relativamente baixo, os autores verificaram que nos últimos 30 anos, em todo o território nacional, houve aumento na taxa de lotação, que garantiu aumento de 90% nesse parâmetro (0,62 para 1,19 UA/hectare).

Torres Júnior et al. (2013) inferiu que a produtividade da pecuária de corte no Brasil é de 5,1 arrobas/hectare/ano, podendo ser melhorada com a aplicação de tecnologias e manejo das pastagens. Neste sentido, Martha Júnior et al. (2012) constaram que esse aumento de produtividade já está acontecendo, uma vez que o ritmo de crescimento do rebanho bovino vem superando o aumento das áreas de pastagem do País. Isso indica, que o aumento da produtividade brasileira está sendo obtido, pela melhoria na produtividade das pastagens, decorrente da adoção de tecnologia, que resultou no aumento da capacidade de suporte.

1.2. Gênero *Urochloa*

As gramíneas desse gênero são originárias do continente africano e são encontradas naturalmente nas regiões de savanas (VALLE et al., 1994). Trinius (1834) descreveu esse gênero como uma subdivisão de *Panicum*, posteriormente foi elevado a gênero por Grisebach (1853). Mais recentemente, transferiram as espécies forrageiras de *Brachiaria* ao gênero *Urochloa* (GOUVEIA-SANTOS, 2001).

São catalogadas mais de 100 espécies dentro desse gênero, distribuídas em regiões tropicais e subtropicais. Dentre as espécies, as mais utilizadas em países tropicais são: *U. dictyoneura* (Fig. et De Not.) Stapf, *U. brizantha* (Hochst. ex A. Rich) Stapf cv. Marandu, *U. decumbens* cv. Basilisk., *U. humidicola* (Rendle) Schweick e *U. ruziziensis* R. Germ. et. Evrard (BUXTON & FALES, 1994).

Espécies desse gênero boa adaptação, podendo ser cultivada em várzeas inundáveis, margens de florestas ralas e até regiões semidesérticas. Esse gênero também

é caracterizado pela adaptabilidade a solos de média a baixa fertilidade e mal drenados (VALLE et al., 2004). As plantas desse gênero foram descritas por Leitão Filho (1977) como, herbáceas, eretas ou prostradas, geralmente perenes, rizomatosas ou não, raízes adventícias emitidas dos nós quando em contato com o solo. Possui bainha foliar glabra ou pilosa, comumente excedendo as dimensões dos internódios. A lâmina foliar desenvolvida lanceolada, glabra ou pilosa e lígula branca e translúcida, formada por um curto anel membranáceo.

Segundo Vale et al. (2001), 80% das pastagens brasileiras são formadas por espécies do gênero *Urochloa*, sendo a região Centro-Oeste detentora de grande percentagem. Valle et al. (2001) atribuíram a esse gênero a expressividade da pecuária do Brasil conquistada a partir da década de 1960. Os autores afirmam ainda que a substituição das pastagens nativas por gramíneas de *Urochloa* foi favorável devido às características oportunas tais como; propagação por sementes, possibilidade de consórcio com outras culturas anuais, facilidade de manejo e persistência em solos de baixa fertilidade. Andrade (2003) reporta que esse gênero possibilitou aumento do rebanho nacional e melhoria dos índices zootécnicos.

A primeira espécie introduzida no país foi a *U. decumbens* na década de 1950, posteriormente a *U. ruziziensis* em 1960 e a *U. brizantha* em 1965 (VALLE et al., 2004). O capim-ruziziensis é uma planta perene, estolonífera, com rizomas curtos, colmo piloso, folhas lanceoladas, inflorescência em forma de raques em fita e plana e floração nos meses de dezembro a janeiro. Atualmente, tem sido bastante utilizada como planta de cobertura em sistemas de plantio direto e forrageira na integração lavoura-pecuária.

A *U. brizantha* foi relatada por Soares Filho (1994) como uma espécie cosmopolita, perene, cespitosa, robusta, lâminas foliares linear-lanceoladas e perfilhos eretos. No ano de 2003 foi lançada a *U. brizantha* cv. Xaraés após a avaliação e seleção de dezenas de acessos coletados na região de Cibitoke, África. De acordo com Valle et al. (2004) o capim-xaraés é recomendado para regiões caracterizadas com o clima tropical, com solos de média fertilidade e podendo produzir até 21 t ha⁻¹ de matéria seca (MS). Essa cultivar se destaca pela rápida rebrota e elevado crescimento de folhas.

A última cultivar de *U. brizantha* lançada foi a BRS Paiaguás no ano de 2013, com o objetivo de diversificar o catálogo cultivares de *Urochloa* existente no país. Essa cultivar foi selecionada com base na produtividade, vigor e produção de sementes

apesar de, não apresentar boa resistência à cigarrinha das pastagens, apresenta o maior acúmulo de massa de forragem, com melhor valor nutritivo durante o período seco. Também é recomendada para a integração lavoura-pecuária, especialmente com o milho safrinha e para formação de palhada para o plantio direto, em razão da sua dessecação com baixas doses de glifosato.

1.3. Bactérias promotoras do crescimento vegetal em gramíneas forrageiras

Os sistemas agrícolas têm promovido mudanças para evitar a degradação ambiental sem afetar a produção. O manejo da fertilidade do solo explorando as biotecnologias existentes podem ser adotados para potencializar a produção e o correto avanço econômico, social e ecológico dos diferentes ecossistemas pastoris do Brasil. Neste sentido, a associação entre gramíneas e as bactérias promotoras de crescimento de plantas podem representar uma vantajosa alternativa para a produção animal a pasto, produção de forragem, manejo do solo e qualidade ambiental.

Seguindo ainda o contexto de sustentabilidade, Bergamashi (2006) observou a potencialidade da FBN para substituir total ou parcialmente a adubação nitrogenada, uma vez que inoculação pode auxiliar na economia de fertilizantes nitrogenados oriundos de combustíveis fósseis não renováveis. Segundo Fancelli (2010), o Brasil tem potencial para gerar economia de 30 a 50 kg ha⁻¹ de fertilizantes minerais com a adoção da técnica de inoculação na cultura do milho na safra e safrinha. Também devem ser considerados os benefícios pela menor poluição ambiental que resulta da produção e uso de fertilizantes nitrogenados, bem como pela redução na emissão de gases de efeito estufa (HUNGRIA, 2011).

Em conjunto com os benefícios ambientais e econômicos, a inoculação de BPCV apresenta capacidade para se tornar uma prática de manejo eficiente para repor o N no sistema solo-planta, além de assegurar maior rendimento, distribuição uniforme de forragem e, conseqüentemente, aumento da produção animal (MOOJEN, 2002). As plantas forrageiras respondem positivamente às adubações, especialmente o nitrogênio, responsável pela manutenção da produtividade, e sua deficiência é decisiva na degradação da pastagem.

Sobral (2003) categorizou os benefícios promovidos pelas BPCV em diretos e indiretos. De acordo com o autor, os benefícios diretos estão relacionados a maior

disponibilidade de nutrientes, a FBN, produção de hormônios promotores de crescimento e solubilização de fosfatos. Os indiretos são o maior controle biológico por competição por nutrientes, resistência a doenças e produção de substâncias que captam o ferro, os sideróforos. Além disso, Itzigsohn et al. (2000) não observaram impactos negativos ao meio ambiente com a inoculação destes microrganismos nas pastagens.

Okon & Vandeleyden (1997) copilaram dados de 22 anos de experimentos com inoculação a campo e concluíram que as BPCV promoveram ganhos em diversas gramíneas em diferentes condições ambientais. Os autores ainda destacaram que os ganhos estão além da FBN, modificando também a produção de raízes e, conseqüentemente, a superfície de absorção e volume de solo explorado. Fallik & Okon (1996) também observaram acréscimo na matéria seca e maior crescimento panicular em plantas de *Setaria itálica* cultivadas em vasos e inoculadas com *A. brasilense*.

Brasil et al. (2005) ao estudarem os efeitos da inoculação de bactérias diazotróficas em gramíneas forrageiras nativas do Pantanal, constataram que os efeitos advindos da inoculação se tornaram notáveis aos 60 e 90 dias de cultivo. Os autores também verificaram que a associação de *A. brasilense* e *A. lipoferum* proporcionou maior produção de matéria seca da parte aérea, raiz e acúmulo de N. Itzigsohn et al. (2000) avaliando o efeito da inoculação de *A. brasilense* em pastagem natural também constataram maior produção de matéria seca da pastagem em relação ao controle.

Reis Junior et al. (2008) observaram que a inoculação favoreceu a produção simultânea de matéria seca da parte aérea e raiz, e maiores teores de P e N nas folhas, em razão da maior eficiência de uso desses nutrientes. Essa maior taxa de acúmulo de matéria seca está relacionada possivelmente como o aumento da atividade das enzimas fotossintéticas e de assimilação de N (HUNGRIA et al., 2010).

Resultados semelhantes foram obtidos por Oliveira et al. (2007), os quais também verificaram aumento na produção de matéria seca do capim-marandu com a inoculação. Os autores apontaram a inoculação como alternativa sustentável para aumentar a produção forrageira.

Fiori et al. (2010) também constataram a eficácia da inoculação com BPCV no aumento na produtividade de gramíneas. Bashan et al. (2004) justificaram essa maior produtividade em função da excreção de hormônios vegetais essenciais para o crescimento que melhoram a absorção de macro e micronutrientes.

Guimarães et al. (2011) encontraram incrementos de 9% no número de folhas e 12% no número de perfilhos por planta no capim-marandu inoculado com *Azospirillum*. Esses autores não observaram diferenças na altura das plantas inoculadas quando comparadas àquelas adubadas com N.

De acordo com Alves et al. (2009), a contribuição do N proveniente da FBN pelas bactérias diazotrófica pode variar de 10 a 42%. No entanto, Quesada (2001) verificou contribuição da FBN no *P. purpureum* acima de 50% na época das águas. Ficagna & Gai (2012) ao compararem o efeito do N e do inoculante de gramíneas nos teores de proteína bruta (PB) e MS em Tifton 85, observaram aumento na PB após 60 dias de aplicação na dose de 300 ml ha⁻¹.

Neste contexto, as bactérias promotoras do crescimento vêm ao encontro da necessidade de aliar a produção animal com a conservação ambiental. Isso denota, que o interesse pela biotecnologia do solo tende a aumentar, pois é, em grande parte, responsável pela conservação, fertilidade do solo e nutrição da planta.

Porém, Voguel et al. (2014) apontaram a necessidade de mais estudos sobre os mecanismos e efeitos da inoculação sobre a MS, teor de N e altura da planta, em especial no que se refere à área foliar e PB, a fim de que possam ser realizadas recomendações a respeito de seu uso aliada à adubação nitrogenada. Existe ainda uma escassez de dados conclusivos que indiquem se os efeitos da inoculação são decorrentes da FBN ou se são efeitos hormonais.

1.3.1. *Azospirillum* spp.

Esse gênero de BPCV foi identificado pela Dr.^a Johana Dobereiner e, ganharam destaque na década de 1970 por meio da capacidade de fixar biologicamente o nitrogênio atmosférico. Em razão da aptidão de fixar nitrogênio em vida livre, essa bactéria foi denominada de *Azospirillum* (TARRAND et al., 1978). Esse gênero apresenta grande distribuição geográfica, sendo encontrado em regiões de clima temperado e tropical (PATRIQUIN et al., 1983).

As bactérias do gênero *Azospirillum* são Gram-negativas, em forma de bastonete, com movimento ativo, com diâmetro entre 0,8 a 2 µm e 2 a 4 µm de comprimento e com grânulos intracelulares de poli-hidroxiburitrato (DOBBELAERE et al., 2002). De acordo com Dobereiner et al. (1995), essas bactérias são estritamente

aeróbias, quando supridas com fontes de nitrogenadas, ou microaerofílicas quando em ambiente livre de N disponível, quando necessitam realizar a FBN. Os autores ainda observaram que para promover um ambiente microaerófilo as bactérias em meio semissólido produzem uma película delgada em forma de véu, com concentração de oxigênio essencial para a fixação do nitrogênio e para iniciar seu crescimento, mas não o suficiente para oxidar a nitrogenase.

O *Azospirillum* possui um metabolismo de carbono e nitrogênio flexível que aumenta a competitividade para a colonização da rizosfera (TRENTINI, 2010) e são denominados diazotrofos endofíticos facultativos, por colonizar tanto o interior quanto a superfície das raízes (Dobereiner & Baldani, 1982). A colonização ocorre principalmente na zona de alongação e pelos radiculares (DOBBELAERE et al., 2002). No solo, estão localizadas no mucigel presente na rizosfera, caracterizando uma colonização externa. Já na colonização interna, as células alojam-se nos espaços intercelulares das raízes.

Segundo Eckert et al. (2001) essa bactéria apresenta alta competitividade durante os estágios de colonização e utiliza para seu metabolismo fontes de nitrogênio com amônia, nitrato, nitrito, nitrogênio molecular e aminoácidos e sua temperatura ótima de desenvolvimento varia entre 28 e 41°C. As fontes de carbono preferidas são ácidos orgânicos, como malato, piruvato e succinato, e uma preferência aparente por frutose.

Atualmente, existem 17 espécies de *Azospirillum* descritas, sendo *A. lipoferum*, *A. brasilense*, *A. amazonense*, *A. halopraeferens*, *A. irakense*, *A. largimobile*, *A. doebereinereae*, *A. oryzae*, *A. melinis*, *A. canadense*, *A. zaeae*, *A. rugosum*, *A. palatum*, *A. picis* e *A. thiophilum*. Contudo, as espécies mais pesquisadas são *A. lipoferum* e *A. brasilense*, geralmente encontradas em regiões tropicais associadas com gramíneas e forrageiras (ZAMBRANO et al. 2007). Dobereiner (1992) relatou que nem todas as espécies podem ser encontradas colonizando plantas em diferentes localidades. O *A. amazonense*, por exemplo, só foi isolado no Brasil.

O *Azospirillum brasilense* apresenta ampla distribuição nos solos tropicais e subtropicais e contribuiu na sua difusão e uso em estudos e pesquisas (REIS et al., 2000). Os ensaios comprovaram que essa bactéria promove o crescimento vegetal e, conseqüentemente, o aumento da produtividade (HARTMANN & BALDINI, 2006).

Segundo Dobereiner (1977) o *A. brasilense* exibe resultados satisfatórios quando associado às plantas da família *Poaceae* como milho, aveia, trigo e arroz.

O *Azospirillum* ssp. atua por diferentes mecanismos de promoção de crescimento de plantas. A produção de reguladores vegetais é um dos principais mecanismos, pois altera o crescimento das plantas, modificando a morfologia das raízes e, assim maximizando a exploração do solo, que por sua vez eleva o processo da redução assimilatória de nitrato disponível no solo e da fixação biológica do N₂ (BODDEY et al., 1986; BASHAN; HOLGUIN, 1997; INIGUEZ et al., 2004).

Outro modo de ação do *Azospirillum* ocorre pela redução do NO₃⁻ nas raízes, que promove o crescimento vegetal, em função do menor gasto energético das plantas para reduzir o nitrato até amônia, sendo essa energia alocada em outros processos vitais. Já Machado et al. (1998) verificaram que essas bactérias podem influenciar a atividade da glutamina sintetase em raízes de plantas de milho. Segundo Unno et al. (2006) a glutamina sintetase é extremamente importante no processo de incorporação do nitrogênio, sendo essencial para as plantas expressarem todo seu potencial produtivo. O *Azospirillum* pode atuar indiretamente nas plantas, protegendo e reduzindo a infecção de fungos ou outros patógenos do solo, através de vários mecanismos, tais como a produção de sideróforos, quitinases, glucanases e antibiose.

O aumento do sistema radicular também é um dos mecanismos que podem resultar em maior absorção de minerais e de água. Esse aumento no sistema radicular é provocado pela produção de substâncias promotoras do crescimento radicular (OKON & LABANDERA-GONZALEZ, 1994). O principal hormônio produzido é a auxina, especificamente o ácido 3-indolacético (AIA) (CROZIER et al., 1988).

As estirpes de *Azospirillum* também produzem outros compostos indólicos, citoquininas e giberilinas (CACCIARI et al., 1989; BOTTINI et al., 1989). Segundo Lambrecht et al. (2000) existem pelo menos três vias biossintéticas para a produção de AIA em *Azospirillum*, sendo duas dependentes de triptofano: via índole-3-acetamida (IAM) e o índole-3-piruvato (IpyA), e a última que não depende do triptofano.

O ácido 3-indolacético é a principal auxina produzida pelo *Azospirillum* (MEHNAZ, 2015). Contudo, existem alguns relatos que afirmam que o ácido 3-inodolbutírico também é secretado (COUILLEROT et al., 2013). Madhaiyan et al. (2010) verificaram que em meio de cultura, o *A. brasilense* produziu ácido 3-

indolacético e, quando inoculado em sementes de tomate e pimentão vermelho, o comprimento de raiz foi de 9,68 e 6,76 cm, enquanto os tratamentos controles apresentaram 7,21 e 6,20 cm, respectivamente. Os autores ainda observaram que o *Azospirillum* promoveu aumento na parte aérea dessas plantas, ratificando a capacidade de promoção de crescimento das plantas.

A síntese de fitormônios pelo *A. brasilense* pode ser diferente em cada estirpe. Assim, ficou perceptível que a estirpe 42 M produziu maiores níveis de AIA em relação a sp7, Cd, Az39, 40 e 42 (DI SALVO et al., 2014). O AIA tem a capacidade de alterar a fotossíntese, a biossíntese de alguns metabolitos e de outros fitohormônios, como a citocininas e giberilinas (ILYAS & BANO, 2010). As citocininas nas plantas regulam a divisão celular e formação de novos tecidos na parte aérea e raiz (SPAEPEN et al. 2009).

Estirpes de *Azospirillum* podem secretar ácido abscísico, que está relacionado a mecanismos e defesa a estresse hídrico em plantas (COHEN et al., 2015). O ácido abscísico é um fitormônios que induz resposta ao estresse hídrico, ambiental e salino (BAUER et al., 2013). Cohen et al. (2009) inocularam *A. lipoferum* em plantas de milho e verificaram elevados níveis de ácido abscísico, aumentando a tolerância das plantas à seca. Segundo esses autores, essa tolerância ao estresse ambiental proporcionado pelo *Azospirillum* pode ser relacionada ao ácido abscísico e também com a prolina e poliaminas. As poliaminas (cadaverina, espermina e espermidina) são polímeros orgânicos que estão associados com o crescimento radicular e supressão de estresses nas plantas (GRUPTA et al., 2013).

Ao inocular mudas de arroz com *A. brasilense*, Cassán et al. (2009) constataram que a produção de cadaverina aumentou o crescimento da raiz e reduziu o estresse osmótico. Em milho inoculado com *A. brasilense*, Rodriguez-Salazar et al. (2009) observaram maior resistência à seca e maior produção de biomassa nas plantas inoculadas.

1.3.2. *Pseudomonas* spp.

O gênero *Pseudomonas* pertence à Família *Pseudomonadaceae*, caracterizadas como bacilos Gram-negativos, não esporulados, com flagelos, totalizando dez espécies

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

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

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

Hunter et al. (2014), ao inocularem a estirpe ANP15 de *P. fluorescens* em trigo, verificaram maior germinação das sementes e produção de massa seca das plantas inoculadas. Avaliando o efeito da inoculação de *Pseudomonas* em milho, Cardoso et al. (2008) constataram maior altura de plantas proporcionada pela inoculação dessa bactéria. Chaves et al. (2013) verificaram maior eficiência do superfosfato triplo na cultura do milho quando associado à inoculação com *P. fluorescens*. Esses autores observaram ainda que a inoculação dessa bactéria com fosfato natural reativo aumentou o teor de fósforo nas folhas de milho. Zamariolli (2016) notou que a capacidade de solubilização de fosfatos com *P. fluorescens* é maior nas fontes de fósforo menos solúveis, sendo uma alternativa sustentável para melhorar eficiência dessa fonte de P.

Benizri et al. (1997) observaram maior produção de AIA ao inocular *P. fluorescens* em sementes de milho e, conseqüentemente maior produtividade. Diversos trabalhos já relataram os benéficos da inoculação de *P. fluorescens* no milho (ANDREOTTI et al., 2008; BALDOTTO et al., 2012). No entanto, ainda são escassos os resultados do uso desse gênero de bactéria em plantas forrageiras.

1.3.3. *Pantoea* spp.

O gênero *Pantoea* spp. compreende bactérias Gram-negativas, pertence à Família *Enterobacteriaceae* e suas espécies são denominadas como heterogêneas (FENG et al., 2003; MEGÍAS et al., 2016). Podem ser encontradas em diversos ambientes: solo, água, insetos, humanos e vegetais (MOSSO et al., 1994; YEUNG et al., 1998; CHAMPS et al., 2000; DILLON et al., 2001). Foi relatada a ocorrência de *Pantoea* spp. associada a diversas plantas de interesse agrícola tais como: milho (MCINROY & KLOPPER, 1995), eucalipto (PROCÓPIO, 2004), soja (KUKLINSKY-SOBRAI et al., 2004) e, recentemente, em arroz (MEGÍAS et al., 2016; MEGÍAS et al., 2017). Por causa da baixa especificidade quanto a plantas hospedeiras, esse gênero tem sido amplamente explorado na agricultura.

Estirpes de *Pantoea* foram observadas em associação endofítica em cana-de-açúcar, propiciando a promoção do crescimento vegetal e maior rendimento da cultura (QUECINE, 2010). Também em cana-de-açúcar, Loiret et al. (2009) constataram maiores teores de aminoácidos pela inoculação de *Pantoea* spp. e relacionaram esse aumento com a fixação biológica de N. Resultados obtidos por Tsavkelova et al. (2007) mostram a potencialidade de estirpes de *P. ananatis* na produção de fitohormônios e na fixação biológica de nitrogênio.

Estudando o efeito da inoculação de *Pantoea* spp. em *Raphanus sativus* L. (Rabanete), Elvia et al. (2008) verificaram alta solubilização de P e maior concentração desse nutriente nos tecidos foliares. Por outro lado, Kang et al. (2008) ao inocular pimentas com *P. ananatis* observaram maior crescimento e resistência a patógenos.

Dastager et al. (2009) isolaram a estirpe NII-186 do gênero *Pantoea* dos solos de Gath, na Índia e, caracterizaram esse isolado como promissor por sintetizar grandes quantidades de AIA. Megías et al. (2016) isolaram uma nova estirpe de *P. ananatis* em arrozais, localizados no sul da Espanha e denominaram AMG521. Essa estirpe

apresentou características importantes, como a capacidade de sintetizar sideróforos, AIA e de solubilizar fosfatos *in vitro*. No arroz, essa estirpe elevou significativamente o crescimento da planta e o rendimento da cultura. Apesar dos benefícios oriundos da inoculação desse gênero de bactérias, ainda não existe relatos em gramíneas forrageiras tropicais.

1.4. Adubação nitrogenada

Para elevar a competitividade da produção de ruminantes a pasto, a fertilização nitrogenada tem assumido posição de destaque. O nitrogênio quando adicionado ao solo, eleva a produção de matéria seca das plantas, a disponibilidade de forragem e, conseqüentemente, a capacidade de suporte. Em pastagens tropicais, a recomendação de dose de nitrogênio tem sido de 50 até 500 kg ha⁻¹ ano⁻¹, usualmente, é aconselhado a aplicação de dose anual mínima de 50 kg ha⁻¹, para evitar a degradação da pastagem.

Segundo Trivelin et al. (1994), a eficiência bioeconômica da adubação nitrogenada em pastagem depende da interação entre a eficiência de conversão do N-fertilizante em forragem (kg de matéria seca/kg de N aplicado), da eficiência com que a forragem é consumida pelo animal (eficiência de pastejo) e da eficiência com que a forragem é convertida em produto animal (kg de matéria seca/kg de carne produzida).

Existem várias fontes de nitrogênio que podem ser usadas em pastagens, as mais comuns são a ureia (44 a 46% N), o sulfato de amônio (20 a 21% N) e o nitrato de amônio (32 a 33% N). A ureia tem como vantagem menor custo por quilograma de nitrogênio, mas comumente, mostra maior perda de N por volatilização, apresenta alta concentração de N, é de fácil manipulação e causa menor acidificação no solo, o que a torna potencialmente superior as outras fontes, do ponto de vista econômico (PRIMAVESI et al., 2004). Porém, a ureia, por ser mais sujeita à perda por volatilização, tem resultado em eficiência média equivalente a 88% da obtida com sulfato de amônio ou nitrato de amônio (Martha Júnior et al., 2004).

Dourado et al. (2009), avaliando as características estruturais do capim-piatã submetido a doses de nitrogênio, verificaram que as doses de nitrogênio influenciaram a altura das plantas, densidade de perfilhos e o índice de área foliar, afetando positivamente todas as características estruturais do capim-piatã. O sistema radicular das gramíneas forrageiras também é beneficiado pelo suprimento de nitrogênio, com

aumento da produção de massa de raízes, do comprimento e da superfície das raízes dessas plantas (ARTUR, 2010).

1.4.1. Associação entre bactérias promotoras do crescimento vegetal e adubação nitrogenada

A fixação biológica de nitrogênio em gramíneas não é tão eficiente como em leguminosas. Para Okon & Labandera-Gonzales (1994), a FBN em gramíneas pode adicionar ao sistema até 40 kg ha⁻¹ ano⁻¹ de N, uma quantidade abaixo da necessária. Costa et al. (2008) recomendaram para o gênero *Urochloa* adubação nitrogenada variando de 100 a 300 kg ha⁻¹ ano⁻¹ de N, em função da exigência da cultivar quanto a fertilidade do solo.

Assim, fica evidente a necessidade de complementar a quantidade de N para as gramíneas via fertilizante mineral. Contudo, os resultados encontrados na literatura são contraditórios, uma vez que a associação dessas tecnologias pode ser competitiva ou aditiva, dependendo da dose de N-fertilizante, da estirpe e da planta. A associação entre 40 kg N ha⁻¹ e a inoculação com *A. brasilense* estirpes Ab-V5 e Ab-V6 em três distintas regiões do Brasil, resultou em maiores rendimentos na biomassa de forragens de *Urochloa* spp. (Hungria et al. 2016).

Dartora et al. (2013) não verificaram interação entre o N-fertilizante e a inoculação (*A. brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae*) na cultura do milho. O mesmo foi observado por Lana et al. (2012), ao estudarem as respostas do milho à inoculação com *Azospirillum* em conjunto com a adubação nitrogenada. Avaliando a inoculação de *Azospirillum brasilense* associado ao N-fertilizante (150 kg ha⁻¹ de N) em milho, Tagliari (2014) não observou efeito da inoculação associada ou não à adubação nitrogenada no desenvolvimento da cultura.

Contudo, Gosal et al. (2012) descreveram que em cana-de-açúcar o uso de inoculante promoveu maior acúmulo de biomassa quando combinada com N-fertilizante. Gírio et al. (2015), ao observar o uso de BPCV e adubação nitrogenada em cana-de-açúcar, também constataram que essa associação beneficiou o crescimento inicial da parte aérea.

1.4.2. Teor de clorofila

Clorofila é a denominação dada a um grupo de pigmentos fotossintéticos elaborados nos cloroplastos das folhas e outros tecidos, conferindo às plantas a cor verde. Os receptores de radiação da fotossíntese são as clorofilas, com máximos de absorção na faixa do vermelho e do azul, bem como os pigmentos acessórios (caroteno e xantofila) com absorção no azul e no Ultravioleta. A absorção da radiação depende em grande parte da concentração da clorofila, que em condições de forte radiação, pode se tornar o fator limitante para o processo fotoquímico (LARCHER, 2000).

Em resumo, a clorofila absorve a luz solar e utiliza a energia para a produção de carboidratos a partir de gás carbônico (CO₂) e água, sendo o processo denominado fotossíntese. O teor de clorofila pode ser utilizado para prever o estado nutricional de nitrogênio nas plantas, pela correlação existente entre esse pigmento e o teor de N na planta. Segundo Larcher (2000), a capacidade fotossintética é otimizada com a maior disponibilidade de nitrogênio, uma vez que esse nutriente é o principal constituinte da molécula de clorofila.

Segundo Malavolta et al. (1997), o medidor de clorofila SPAD tem sido amplamente utilizado para estimar a concentração de nitrogênio nas folhas. Em plantas forrageiras, em especial genótipos de festuca, Kantety et al. (1996) observaram relação quadrática entre a leitura SPAD e doses de nitrogênio que foram aplicadas à forragem.

Paulino et al. (1998) concluíram que a leitura de SPAD de clorofila pode indicar deficiências de nitrogênio nas plantas forrageiras. Em *Panicum maximum* esses autores verificaram que teores de clorofila abaixo de 38 unidades de SPAD são indicativos de deficiência de N. Em *U. decumbens* cultivada em casa de vegetação, observou-se que o teor estimado de clorofila em condição de deficiência de nitrogênio variou de 17 a 23 unidades SPAD e de 50 a 52 unidades para doses de nitrogênio acima de 300 mg L⁻¹.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, J.J.A.; ARAÚJO, M.A. & NASCIMENTO, S.S. Degradação da caatinga: uma investigação ecogeográfica. **Revista Caatinga**, v.22, n.3, p. 126-135, 2009.

ANDRADE, R.P. Tecnologia de produção de sementes do gênero *Brachiaria*. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 11., Piracicaba, 1994. **Anais...**Piracicaba: FEALQ, 1994. p.49-71.

ANDREOTTI, M.; LODO, B. N.; BASSO, F. C.; PARIZ, C. M.; BUZETTI, S. Avaliação da eficiência agrônômica do inoculante Rizofós contendo *Pseudomonas fluorescens* em cultivo de milho safrinha. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 28, 2010, Londrina. Anais...Londrina: Fertibio, 2008.

BALDOTTO, L. E. B.; SILVA JÚNIOR, L. G. S.; CARNELLAS, L. P.; OLIVARES, F. L.; BALDOTTO, M. A. Initial growth of maize in response to application of rock phosphate, vermicompost and endophytic bacteria. **Revista Ceres**, v. 59, n. 2, p. 262-270, 2012.

BASHAN, Y.; HOLGUIN, G.; DE-BASHAN, L. E. *Azospirillum*-plant relationships: physiological, molecular, agricultural and environmental advances (1997-2003). **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 50, n. 8, p. 521-577, 2004.

BATISTA, K. **Resposta do capim-marandu a combinações de doses de nitrogênio e enxofre**. 2002. 91f. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

BAUER, H.; ACHE, P.; LAUTNER, S.; et al. The stomatal response to reduced relative humidity requires guard cell-autonomous ABA synthesis. **Curr Biol** 23(1):53–57, 2013.

BENIZRI, E.; SCHOENY, A.; PICARD, C.; COURTADE, A.; GUCKERT, A. External and internal root colonization of maize by two *pseudomonas* strains: enumeration by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Current Microbiology**. v.34, p.297-302, 1997.

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

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

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

BRASIL, M.S.; BALDANI, D.; BALDANI, J.I.; SOUTO, S.M. Efeitos da inoculação de bactérias diazotróficas em gramíneas forrageiras do Pantanal. **Pasturas Tropicais**, v. 27, n. 3, p. 22-33; 2005.

BUXTON, T.R.; FALES, S.L. **Plant environment and quality**. In: FAHER JR, G.C. (Ed.). Forage quality, evaluation and utilization. Madison: American Society. Agronomy, 1994. p. 155-199.

CACCIARI, I.; LIPPI, D.; PIETROSANTI, T.; PIETROSANTI, W. Phytohormone like substances produced by single and mixed diazotrophic cultures of *Azospirillum* and *Arthrobacter*. **Plant and Soil**, v.115, p.151-153, 1989.

CARDOSO, I. C. M.; MARIOTTO, J. R.; KLAUBERG FILHO, O.; SANTOS, J. C. P.; FELIPE, A. F.; NEVES, A.N.; MIQUELUTTI, D. J. Resposta de milho (*Zea mays* L.)

precoce à inoculação de rizobactérias em casa-de-vegetação. In: Reunião Brasileira de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas, 28, 2008, Londrina. **Anais...**Londrina: SBCS, 2008. CD Rom.

CARVALHO, T.B. de; ZEN, S. de.; TAVARES, E.C.N. Comparação de custo de produção na atividade de pecuária de engorda nos principais países produtores de carne bovina. In: Congresso da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural, 47. Porto Alegre: SOBER. 2009.

CASSÁN, F.; MAIALE, S.; MASCIARELLI, O.; et al. Cadaverine production by *Azospirillum brasilense* and its possible role in plant growth promotion and osmotic stress mitigation. **Eur J Soil Biol** 45:12–19, 2009.

CHAMPS, C., LE SEAUX, S., DUBOST, J.J., BOISGARD, S., SAUVEZIE, B. AND SIROT, J. Isolation of *Pantoea agglomerans* in two cases of septicmono arthritis after plant thorn and woods liver injuries. **J Clin Microbiol** 38, 460 -461, 2000.

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

COELHO, L.F.; FREITAS, S.S.; DE MELO, A.M.T.; AMBROSANO, G.M.B. Interação de bactérias fluorescentes do gênero *Pseudomonas* e de *Bacillus* spp. com a rizosfera de diferentes plantas. **R. Bras. Ci. Solo**, 31:1413-1420, 2007.

COHEN, A.C.; BOTTINI, R.; PONTIN, M.; et al. *Azospirillum brasilense* ameliorates the response of *Arabidopsis thaliana* to drought mainly via enhancement of ABA levels. **Physiol Plant** 153:79–90, 2015.

COHEN, A.C.; TRAVAGLIA, C.N.; BOTTINI, R.; PICCOLI, P.N. Participation of abscisic acid and gibberellins produced by endophytic *Azospirillum* in the alleviation of drought effects in maize. **Botany** 87:455–462, 2009.

COSTA, K.A.P.; FAQUIN, V.; OLIVEIRA, I.P.; RODRIGUES, C.; SEVERINO, E.C. Nitrogen doses and sources in marandu pasture. I - changes in soil chemical properties. **Rev. Bras. Ciênc. Solo** vol.32 no.4, 2008.

COUILLEROT O.; RAMIREZ-TRUJILLO A.; WALKER V.; et al. Comparison of prominent *Azospirillum* strains in *Azospirillum-Pseudomonas-Glomus* consortia for promotion of maize growth. **Appl. Microbiol. Biot.** 97 4639–4649, 2013.

CROZIER, A.; ARRUDA, P.; JASMIM, J.M.; MONTEIRO, A.M.; SANDBERG, G. Analysis of indole-3-acetic acid and related indoles in culture medium from *Azospirillum lipoferum* and *Azospirillum brasilense*. **Applied and Environmental Microbiology**, v.54, p.2833-2837, 1988.

DARTORA, J., GUIMARÃES, V. F., MARINI, D. AND SANDER, G. (2013). Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, 17, 1023-1029.

DASTAGER, S.G.; DEEPA, C.K. S.C.; PUNEET, C.S. NAUTIYAL, A. Pandey Isolation and characterization of plant growth-promoting strain *Pantoea* NII-186 from Western Ghat Forest soil Ind. **Lett. Appl. Microbiol.**, 49 (2009), pp. 20-25.

DIAS-FILHO, M. B. Degradação de pastagens: processos, causas e estratégias de recuperação. 4. ed. rev. atual. e ampl. Belém, PA, 2011. 215 p.

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

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

DI SALVO LP, SILVA E, TEIXEIRA KRS, COTE RE, PEREYRA MA, GARCÍA DE SALAMONE IE (2014) Physiological and biochemical characterization of *Azospirillum brasilense* strains commonly used as plant growth-promoting rhizobacteria. **J Basic Microbiol** 54(12):1310-1321.

DILLON, R.J., VENNARD, C.T.; CHARNLEY, A.K. Exploitation of gut bacteria in the locust. **Nature** 403, 851, 2001.

DOBBELAERE, S.; CROONENBORGH, A.; THYS, A.; PTACEK, D.; OKON, Y.; VANDERLEYDEN, J. Effect of inoculation with wild type *Azospirillum brasilense* and *A. irakense* strains on development and nitrogen uptake of spring wheat and grain maize. **Biology and Fertility of Soils**, v.36, p.284–297, 2002.

DÖBEREINER J. N₂-fixation associated with non-leguminous plants. In: HOLLAENDER A (Ed), **Genetic engineering for nitrogen fixation**. New York: Plenum, p. 451-461, 1977.

DÖBEREINER, J. Fixação de nitrogênio em associação com gramíneas. In: CARDOSO, E.J.B.N., TSAI, S.M., NEVES, M.C.P. **Microbiologia do solo**. Campinas : SBCS, 1992. p. 173-180.

DÖBEREINER, J.; BALDANI, I. J. Bases científicas para uma agricultura biológica. **Ciência e Cultura**, v.34, p.869-881, 1982.

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

DOURADO, R.L.; SOUZA de, A.L.; SILVA, D.R.G. et al. Respostas morfogênicas da *Brachiaria brizantha* cv. Piata submetida a doses de nitrogênio. **Anais...Zootec**, Aguas de Lindóia, 2009.

DUCA S.; VERDERIO E.; SERAFINI-FRACASSINI D.; et al. The plant extracellular trans glutaminase: what mammalian homolog? **Amino Acids** 46 777–792, 2014.

DUIJFF B. J., GIANINAZZI-PEARSON V., LEMANCEAU P. Involvement of the outer membrane lipopolysaccharides in the endophytic colonization of tomato roots by biocontrol *Pseudomonas fluorescens* strain WCS417r. **New Phytol.** 135 325–334, 1997.

ECKERT, B.; WEBER, O.B.; KIRCHHOF, G.; HALBRITTER, A.; STOFFELS, M.; HARTMANN, A. *Azospirillum doebereineriae* sp. new nitrogen-fixing bacterium associated with the C4-grass Miscanthus. **Int J SystEvol Microbiol.** v. 51, p.17-26, 2001.

ELVIA, J. C.; ORTEGA-RODÉS, P.; ORTEGA, E. Plant inoculation with *Pantoea* sp., phosphate solubilising-bacteria in creases P concentration in leaf issues. **Rev. Colomb. Biotecnol**, v. 10, p. 111-121, 2008.

FALLIK, E.; OKON, Y. (1996), The response of maize (*Zea mays*) to *Azospirillum* inoculation in various types of soils in the field. **World J. Microb. Biot.**, 12, 511-515.

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

FENG, Y., SHEN, D., DONG, X. AND SONG, W. In vitro sympl as mataformation in the rice diazotrophic endophyte *Pantoea agglomerans* YS19. **Plant Soil** 255, 435 444, 2003.

FICAGNA, T.; GAI, T. Adubação nitrogenada e inoculante de gramínea em tifton 85. **Cultivando o Saber**, v.5, n.2, p.113-119, 2012.

FIORI, C. C. L. et al. Efeito da inoculação de *Azospirillum brasiliense* na produtividade da cultura do milho (*Zea mays* L). **Revista Campo Digit@l**, Campo Mourão, v. 5, n. 1, p. 56- 59, 2010.

GÍRIO, L.A.S.; DIAS, F.L.F.; REIS, V.M.; URQUIAGA, S.; SCHULTZ, N.; BOLONHEZI, D.; MUTTON, M.A. Bactérias promotoras de crescimento e adubação nitrogenada no crescimento inicial de cana-de-açúcar proveniente de mudas pré-brotadas. **Pesq. agropec. bras., Brasília**, v.50, n.1, p.33-43, 2015.

GOSAL, S.K.; KALIA, A.; UPPAL, S.K.; KUMAR, R.; WALIA, S.S.; SINGH, K.; SINGH, H. Assessing the benefits of *Azotobacter* bacterization in sugar cane: a field appraisal. **Sugar Tech**, v.14, p.61-67, 2012.

GOUVEIA-SANTOS, A. Urochloa. In: LONGHI-WAGNER, H.M.; BITTRICH, V.; WANDERLEY, M.G.L.; SHEPHERD, G.J. **Flora Faneromica do Estado de São Paulo. Volume 1- Poaceae**. São Paulo: Hucitec, 2001. p.243-245.

GRISEBACH, A. *Gramineae*. In: LEDEBOUR, C.F. (Ed.). *Flora Rossica*. 1853. v. 4. 469 p.

GUIMARÃES, S. L.; BONFIM-SILVA, E. M.; KROTH, B. E.; MOREIRA, J. C. F.; REZENDE, D. Crescimento e desenvolvimento inicial de *Brachiaria decumbens* inoculada com *Azospirillum* spp. **Enciclopédia Biosfera**, v.7, n. 13, pp.286-296, 2011.

GUPTA, K.; DEY, A.; GUPTA, B. Plant polyamines in abiotic stress responses. **Acta PhysiolPlant** 35(7):2015–2036, 2013.

HARTMANN, A; BALDAM, J.I. **The genus *Azospirillum***. In: DWORKIN, M. et al. (eds.) *The Prokaryotes*. New York: Springer, 2006. p.115-140.

HUERGO, L.F.; MONTEIRO, R.A.; BONATTO, A.C.; RIGO, L.U.; STEFFENS, M.B.R.; CRUZ, L.M.; CHUBATSU, L.S.; SOUZA, E.M.; PEDROSA, F.O. **Regulation of nitrogen fixation in *Azospirillum brasilense***. In: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. *Azospirillum* sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Argentina, 2008. p.17-35.

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo**. EmbrapaSoja, 2011. 36p.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; SOUZA, E. M. S.; 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.

HUNTER, P. J., TEAKLE, G. R.; BENDING, G. D. Root traits and microbial community interactions in relation to phosphorus availability and acquisition, with particular reference to Brassica. *Front. Plant Sci.* 5:27, 2014.

IBGE. Censo agropecuário 1920/2006. Até 1996, dados extraídos de: Estatística do Século XX. Rio de Janeiro: IBGE, 2007.

ILYAS, N.; BANO, A. *Azospirillum* strains isolated from roots and rhizosphere soil of wheat (*Triticum aestivum* L.) grown under different soil moisture conditions. **Biol Fert Soils** 46(4):393–406, 2010.

INIGUEZ, A.L.; DONG, Y. & TRIPLETT, E.W. Nitrogen fixation in wheat provided by *Klebsiella pneumoniae*. **Molec. Plant Microbiol. Interact.**, 17:1078-1085, 2004.

ITZIGSOHN, R.; BURDMAN, S.; OKON, Y. et al. Plant-growth promotion in natural pastures by inoculation with *Azospirillum brasilense* under sub optimal growth conditions. **Arid Soil Research**, v.13, p.151-158, 2000.

KANG, S.H., CHO, H.S., CHEONG, H., RYU, C.M., KIM, J.F. AND PARK, S.H. Two bacterial endophytes eliciting both growth promotion and plant defense on pepper (*Capsi cumannum* L.). **J. Microbiol. Biotechnol**, v. 17, p. 96-103, 2007.

KANTETY, R.V.; SANTEN, E.; WOODS, F.M. et al. Chlorophyll meter predicts nitrogen of tall fescue. **Journal of Plant Nutrition**, v.19, n.6, p.881-899, 1996.

KUKLINSKY-SOBRAL J, ARAU' JO WL, MENDES R, GERALDI IO, PIZZIRANIKLEINER, A.A.; AZEVEDO, J.L. Isolation and characterization of soybean-associated bacteria and their potential for plant growth promotion. **Environ Microbiol** 6: 1244–1251, 2004.

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

LAMBRECHT, M.; OKON, Y.; VANDE BROEK, A.; VANDERELEYDEN, J. Indole-3-acetic acid: a reciprocal signalling molecule in bacteria-plant interactions. **Trends in Microbiology**, v.8, p.298-300, 2000.

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

LEITÃO FILHO, H.F. **Espécie do gênero *Brachiaria* nativas e exóticas cultivadas no Estado de São Paulo**. 2.ed. Campinas, CIAT, 1977. 27p. (Boletim Técnica, 97).

LOIRET FG, ORTEGA E, KLEINER D, ORTEGA-RODES P, RODES R, DONG Z. A putative new endophytic nitrogen-fixing bacterium *Pantoea* sp. From sugarcane. **Journal of Applied Microbiology**. 2004;97(3):504–511.

MACEDO, M. C. M. Pastagens no ecossistema Cerrado: evolução das pesquisas para o desenvolvimento sustentável. In: Reunião anual da sociedade brasileira de zootecnia, 42, 2005, Goiânia. **Anais...** Goiânia: SBZ/UFG, 2005. p.56-84.

MACHADO, A.T.; SODEK, L.; DÖBEREINER, J. & REIS, V.M. Efeito da adubação nitrogenada e da inoculação com bactérias diazotróficas no comportamento bioquímico da cultivar de milho Nitroflint. **Pesq. Agropec. Bras.**, 33:961-970, 1998.

MADHAIYAN, M.; POONGUZHALI, S.; KWON, S. W.; et al. *Bacillus methyl trophicus* sp. nov., a methanol-utilizing, plant growth-promoting bacterium isolated from rice rhizosphere soil. **Int J Syst Evol Microbiol** 60, 2490–2495, 2010.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional de plantas: princípios e aplicações**. 2.ed. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa de Potássio e do Fosfato, 1997.319p.

MARCHNER, H. **Mineral nutrition in higher plants**. Berlin: Academic Press, 1995. 674 p.

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

MCINROY, J.A.; KLOEPPER, J.W. Survey of indigenous bacterial endophytes from cotton and sweet corn. **Plant and Soil**173, 337–342, 1995.

MEGÍAS E, REIS FB, JR, RIBEIRO RA, OLLERO FJ, MEGÍAS M, HUNGRIA M. Genome sequence of *Pantoea* sp. strain 1.19, isolated from rice rhizosphere, with the capacity to promote growth of legumes and non legumes. **Genome Announc** 5(31):e00707-17, 2017.

MEGÍAS, E.; MEGÍAS, M.; OLLERO, F.J.; HUNGRIA, M. Draft genome sequence of *Pantoea ananatis* strain AMG521, A rice plant growth-promoting bacterial endophyte isolated from the Guadalquivir marshes in southern Spain. **Genome Announc** 4(1):e01681-15, 2016.

MEHNAZ, S. **Azospirillum: a biofertilizer forever crop**. In: Arora NK (ed) **Plant microbes symbiosis: applied facets**, 2015.

MOOJEN, E. L. Potencial produtivo, alterações da estrutura e qualidade da pastagem de milheto submetida a diferentes níveis de nitrogênio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 31, n. 2, p. 875-882, 2002. Suplemento.

MOSSO, M.A., DE LA ROSA, M.C., VIVAR, C.; MEDINA, M.R. Hetero trophic bacterial populations in the mineral water of thermal springs in Spain. **J Appl Bacteriol** 77,370–381, 1994.

NAIK P. R., RAMAN G., NARAYANAN K. B., SAKTHIVEL N. Assessment of genetic and functional diversity of phosphate solubilizing fluorescent pseudomonas isolated from rhizospheric soil. **BMC Microbiol.** 8:230, 2008.

NUNES, F. S.; RAIMONDI, A.C.; NIEDWIESKI, A. C. Fixação de nitrogênio: estrutura, função e modelagem bioinorgânica das nitrogenases. **Química Nova.** v. 26, n. 6, p. 872-879, 2003.

OKON, Y.; LABANDERA-GONZALEZ, C. A. Agronomic applications of *Azospirillum*: an evaluation of 20 years worldwide field inoculation. **Soil Biol. Biochem.** v.12, n.26, p.1591-1601, 1994.

OKON, Y.; VANDERLEYDEN, J. Root-associated *Azospirillum* species can stimulate plants. **Applied and Environmental Microbiology**, New York, v.63, n.7, p.366-370, 1997.

OLIVEIRA, P. P. A.; OLIVEIRA, W. S.; BARIONI, W. J.; Produção de forragem e qualidade de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu com *Azospirillum brasilense* e fertilizada com nitrogênio. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2007, 6p. (Circular Técnico, 54).

PATRIQUIN, D. G., NBEREINER, J. & JAIN, D. K. Sites and processes of association between diazotrophs and grasses. **Canadian Journal of Microbiology** 29, 900-915, 1983.

PAULINO, V.T.; SCHUNKE, R.; CANTARELLA, H. Avaliação do nível de nitrogênio em quatro cultivares de *Panicum maximum* Jacq. Através da medida indireta de clorofila. In: REUNIÃO ANNUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35., Botucatu, 1998. **Anais...Botucatu:Sociedade Brasileira de Zootecnia**, 1998. p.508-511.

PERSELLO-CARTINEAUX, F.; NUSSAUME, L.; ROBAGLIA, C. Tales from the underground: molecular plant rhizobacteria interactions. **Plant Cell and Environment.** v.26, p. 189-199, 2003.

PRIMAVESI, A. C.; PRIMAVESI, O.; CORRÊA, L. de A.; CANTARELLA, H.; SILVA, A. G. da; FREITAS, A. R. de; VIVALDI, L. J. Adubação nitrogenada em capim-Coast cross: efeitos na extração de nutrientes e recuperação aparente do nitrogênio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 33, n. 1, p. 68-78, jan./fev. 2004.

PROCOPIO, R.E.L. (2004) Diversidade bacteriana endofítica de *Eucalyptus* spp. e avaliação do seu potencial biotecnológico. Doutorado (Tese), Universidade de São Paulo, São Paulo.

QUECINE, M.C.. **Aspectos biotecnológicos da interação entre bactérias e cana-de-açúcar (*Saccharum* sp. L.)** Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, escola superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2010, 196p.

QUESADA, D.M. 2001. **Seleção de genótipos de capim elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) para a alta produção de biomassa e eficiência da fixação biológica de nitrogênio (FBN).** 128 pp. Tese (Mestrado). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica.

- REIS JUNIOR, F. B. dos; MACHADO, C. T. de T.; MACHADO, A. T.; SODEK, L. Inoculação de *Azospirillum amazonense* em dois genótipos de milho sob diferentes regimes de nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 32, n. 3, p. 1139- 1146, 2008.
- REIS, V.M; BALDINI, J.I; BALDINI, V.L.D; DOBEREINER, J. Biological dinitrogen fixation in *gramineae* and *palm Trees*. **Critical Review in Plant Science**, v.19, p.227-247, 2000.
- RODRÍGUEZ-SALAZAR, J.; SUÁREZ, R.; CABALLERO-MELLADO, J.; ITURRIAGA, G. Trehalose accumulation in *Azospirillum brasilense* improves drought tolerance and biomass in maize plants. **Microbiol Lett** 296(1):52–59, 2009.
- SOARES FILHO, C.V. Recomendações de espécies e variedades de *Brachiaria* para diferentes condições. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DE PASTAGEM, 11., 1994, Piracicaba. Anais... Piracicaba: FEALQ, 1994. p.25-48.
- SOBRAL, J.K. **A comunidade bacteriana endofítica e epifítica de soja (*Glycine max*) e estudo da interação endófitos-plantas**. Piracicaba: ESALQ, 2003. 174f. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.
- SOTTERO, A, N. **Colonização radicular e promoção de crescimento vegetal por rizobactérias**. Campinas, 2003. viii, 47 p. Dissertação (mestrado em agricultura tropical e subtropical) - Instituto Agrônômico.
- SPAEPEN, S.; VANDERLEYDEN, J.; OKON, Y. Plant growth-promoting action of rhizobacteria. **AdvBot Res** 51:283–320, 2009.
- TAGLIARI, L. P. Inoculação de *Azospirillum brasilense* associada à adubação nitrogenada na cultura do milho cultivado sobre palhada de aveia e nabo. 2014. 33 f. TCC (Graduação) - Curso de Agronomia, Universidade Federal de Santa Catarina, Curitiba, 2014.
- TARRAND, J. J., KRIEG, N. R. & DOBEREINER, J. A taxonomic study of the *Spirillum lipoferum* group, with descriptions of a new genus, *Azospirillum* gen. nov., and two species, *Azospirillum lipoferum* (Beijerinck) comb. nov. and *Azospirillum brasilense* sp. nov. **Can J Microbiol** 24, 967–980, 1978.
- TORRES JUNIOR, A. de M.; AGUIAR, G. A. M. Pecuária de corte no Brasil – potencial e resultados econômicos. In: ENCONTRO DE ADUBAÇÃO DE PASTAGENS DA SCOT CONSULTORIA - TEC - FÉRTIL, 1., 2013, Ribeirão Preto. Anais... Bebedouro: Scot Consultoria, 2013. p. 9-14.
- TRENTINI, D. B. **Identificação dos alvos celulares das proteínas de transdução de sinal PII do diazotrófico de vida livre *Azospirillum amazonense***. 2010, 122p. Dissertação – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.
- TRINIUS, C.B. *Panicarum genera*. Mem. Acad. Sci. Petersb. ser. 6, v. 3, p. 194, 1834.

- TRIVELIN, P. C. O.; LARA CABEZAS, W. A. R.; BOARETTO, A. E. Dinâmica do nitrogênio de fertilizantes fluidos no sistema solo-planta. In: VITTI, G. C.; BOARETTO, A. E. (Ed.). **Fertilizantes fluídos**. Piracicaba: Potafos, 1994. p. 314-330.
- TSAVKELOVA EA, CHERDYNTSEVA TA, BOTINA SG & NETRSOV AI. Bacteria associated with or chid roots and microbial production of auxin. **Microbiol Res** 162: 69–76, 2007.
- UNNO, H. et al. Atomic Structure of Plant Glutamine Synthetase. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 281, n. 39, p. 29287-29296, 2006.
- VALLE, C.B.; MILES, J.W. Melhoramento de gramíneas do gênero *Brachiaria*. In: SIMPOSIO SOBRE O MANEJO DA PASTAGEM, 11., Piracicaba, 1994. **Anais...**Piracicaba: FEALQ, 1994. P. 1-24
- VALLE, C.B.; EUCLIDES, V.P.B.; MACEDO, M.C. Características de plantas forrageiras do gênero *Brachiaria*. In: SIMPOSIO SOBRE O MANEJO DA PASTAGEM, 17., Piracicaba, 2001. **Anais...**Piracicaba: FEALQ, 2001. p.133-176.
- VOGEL, G.F.; MARTINKOSKI, L.; RUZICKI, M. Efeitos da utilização de *Azospirillum brasilense* em poáceas forrageiras: Importâncias e resultados. **ACSA – Agropecuária Científica no Semi-Árido**. v. 10, n. 1, p. 01-06, 2014.
- VYAS, P.; GULATI, A. Organic acid production in vitro and plant growth promotion in maize under controle denvironment by phosphate-solubilizing *fluorescent Pseudomonas*. **BMC Microbiol.** 9:174, 2009.
- WERNER, J.C. Adubação de pastagens de *Brachiaria* spp. In: Anais do XI Simpósio Sobre Manejo de Pastagens, 1994, Piracicaba, FEALQ.
- YEUNG, K.F., LEE, K.M. AND WOODARD, R.W. Isolation and identification of two l-azetidine-2-carboxylic acid degrading soil microorganisms, *Enterobacter agglomerans* nad *Enterobacter amnigenus*. **J Nat Prod** 61, 207–211, 1998.
- ZAMARIOLII, L.E.R. 87f. **Inoculação de *Pseudomonas* via semente e eficiência agrônômica de fosfatos na cultura do milho**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2016.
- ZAMBRANO, E. R.; JIMÉNEZ SALGADO, T.; TAPIA HERNÁNDEZ, A. Estudo de bactéria sasociadas a orquídeas (*Orchidaceae*). **Lankesteriana**, n. 71-2, p. 322-325, 2007.

II. HIPÓTESE E OBJETIVOS GERAIS

Hipótese

Sementes de braquiárias inoculadas com bactérias promotoras do crescimento vegetal e associadas a adubação nitrogenada, possibilita a obtenção de elevada produção de massa de forragem e valor nutritivo.

Objetivos gerais

- Avaliar características morfogênicas e estruturais de *Urochloa brizantha* cv. Xaraés, *Urochloa ruzizienses* e *Urochloa brizantha* cv. BRS Paiaguás, inoculadas com bactérias promotoras do crescimento vegetal associadas a adubação nitrogenada.
- Avaliar a massa de forragem, massa de raízes, concentração de proteína bruta e digestibilidade da matéria seca de *Urochloa brizantha* cv. BRS Paiaguás, inoculada com bactérias promotoras do crescimento vegetal associada a adubação nitrogenada.

III. CARACTERÍSTICAS MORFOGÊNICAS E ESTRUTURAIS DE *UROCHLOA* spp. EM FUNÇÃO DA INOCULAÇÃO COM BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO VEGETAL E DA ADUBAÇÃO NITROGENADA¹

¹ Artigo escrito nas normas da revista Applied Soil Ecology

Resumo O manejo incorreto das pastagens é o principal problema da pecuária brasileira, sendo a recuperação da fertilidade do solo um fator determinante para a recuperação dos solos. Nesse contexto e em sintonia com a adoção de tecnologias sustentáveis, o uso de bactérias promotoras do crescimento vegetal (BPCV) pode representar uma alternativa complementar ao uso de fertilizantes químicos, reduzindo custos e impactos ambientais. Neste estudo, foram avaliadas características morfogênicas e estruturais em três genótipos de braquiária (*Urochloa* spp.), gênero que compõe a maior parte das pastagens degradadas no Brasil, inoculadas com cinco BPCV (*Azospirillum brasilense* Ab-V5 e Ab-V6, *Pseudomonas fluorescens* CCTB 03 e ET76 e *Pantoea ananatis* AMG521) e diferentes doses de N-fertilizante (zero, 50 e 100 kg N ha⁻¹), em vasos com solo arenoso, sob condições de casa de vegetação. De modo geral, para *U. brizantha* cv. BRS Paiaguás e Xaraés, os melhores desempenhos foram obtidos com as estirpes CCTB 03 e AMG521, nos parâmetros de taxa de alongamento foliar e do caule e número de perfis basais. Para *U. ruziziensis*, o melhor desempenho foi em relação a duração e taxa de renovação das folhas e de senescência foliar, favorecidos pelas estirpes AMG521, Ab-V5 e Ab-V6, indicando especificidade de estirpes com os genótipos de braquiárias. Verificou-se, também, diferença na interação entre BPCV e a adubação nitrogenada, pois em *U. brizantha* os efeitos foram aditivos, enquanto em *U. ruziziensis* foram competitivas. Os resultados indicam viabilidade de inoculação de braquiárias com estirpes elite de BPCV, com impactos positivos na produção de biomassa forrageira, com redução de N-fertilizante.

Palavras-chave: alongamento foliar, mitigação de carbono, N-mineral, perfilhamento, rizobactérias, sustentabilidade em pastagem

MORPHOGENETIC AND STRUCTURAL CHARACTERISTICS OF *UROCHLOA* ssp. IN FUNCTION OF INOCULATION WITH PLANT GROWTH-PROMOTING BACTERIA AND NITROGEN FERTILIZATION

Abstract The incorrect management of pastures is the main problem of the Brazilian livestock, being the soil fertility recovery a determinant factor for the soils recovery. In this context and in line with the adoption of sustainable technologies, the use of plant growth promoting bacteria (PGPB) may represent a complementary alternative to the use of chemical fertilizers, reducing costs and environmental impacts. In this study morphogenetic and structural characteristics were evaluated in three brachiaria genotypes (*Urochloa* spp.), genus that composes the most degraded pastures in Brazil, inoculated with Five PGPB (*Azospirillum brasilense* Ab-V5 and Ab-V6, *Pseudomonas fluorescens* CCTB 03 and ET76 and *Pantoea ananatis* AMG521) and different doses of N-fertilizer (0, 50 and 100 kg ha⁻¹ N), in pots filled with sandy soil, under greenhouse conditions. In a general way, for *U. brizantha* cv. BRS Paiaguás and Xaraés, the best performances were obtained with the strains CCTB03 and AMG521, for the parameters of leaf elongation rate and stem and number of basal profiles. For *U. ruziziensis*, the best performance was in relation to the duration and rate of renewal of leaves and leaf senescence, favored by the strains AMG521, AbV5 and Ab-V6, indicating strains specificity with the brachiarias genotypes. There was also differences in the interaction between PGPB and nitrogen fertilization, because in *U. brizantha* the effects were additives, while in *U. ruziziensis* they were competitive. The results indicate the feasibility of inoculation of *Urochloa* with PGPB elite strains, with positive impacts on the forage biomass production, with reduction of N-fertilizer.

Key words: leaf elongation, carbon mitigation, N-mineral, tillering, rhizobacteria, sustainability in pasture

1. Introdução

O manejo incorreto das pastagens é o principal problema da pecuária brasileira. Pastagens mal manejadas e estabelecidas em solos de baixa fertilidade resultam em menor taxa de lotação, menor ganho de peso, menor biomassa de forragem e maiores chances de degradação. O cenário é particularmente preocupante em áreas degradadas

ocupadas com pastagens, estimando-se que ocupem, aproximadamente, 126 milhões de hectares no Brasil (Dias-Filho, 2014). Neste contexto, é essencial a adoção de estratégias ambientalmente sustentáveis, mas que maximizem a produção de massa de forragem.

A correção do solo e o fornecimento de nutrientes às plantas, em especial o nitrogênio (N), são fatores determinantes para a recuperação da produtividade de uma pastagem (Hungria et al., 2016). No entanto, o fornecimento de nutrientes via adubação mineral tem sido alvo de discussão, estando associado a vários relatos de impactos ambientais negativos, como a eutrofização de águas (rios, lagos, subterrâneas) e a emissão de gases de efeito estufa (GEE) (Ormeño-Orrillo et al., 2013; Sá et al., 2017).

A conscientização da importância de adoção de tecnologias sustentáveis vem crescendo na agricultura, com grande destaque para o uso de bactérias promotoras do crescimento vegetal (BPCV). Essas bactérias promovem o crescimento das plantas por meio de vários mecanismos, incluindo a fixação biológica de nitrogênio (FBN), a produção de fitohormônios, a indução de tolerância a estresses bióticos e abióticos, que podem, inclusive, agir em combinação (Bashan & Bashan 2010; Hungria et al., 2010; Bashan et al., 2014). As BPCV mais estudadas têm sido os rizóbios, no caso da FBN com leguminosas e, no caso de gramíneas, bactérias do gênero *Azospirillum*. Contudo, Brasil, ainda há poucos estudos sobre BPCV em gramíneas forrageiras.

Outro fator determinante para o êxito das pastagens é o entendimento dos mecanismos morfofisiológicos e sua interação com o ambiente (Chapman & Lemaire, 1993). Através dessas informações, podem-se adotar estratégias que alterem a dinâmica do acúmulo de biomassa, uma vez que modificações na morfogênese ocasionam mudanças na estrutura do dossel das plantas, como tamanho das folhas, colmos e perfilhos (Martuscello et al., 2011).

Este estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar as características morfogênicas e estruturais (taxa de alongamento de folhas, taxa de alongamento de colmos, taxa de aparecimento de folhas, filocrono, duração de vida das folhas, número de folhas vivas, taxa de senescência foliar e número de perfilhos basais) de três genótipos de braquiárias, inoculadas com diferentes BPCV e adubadas com diferentes níveis de N-fertilizante.

2. Material e Métodos

2.1. Estabelecimento e condução dos ensaios

O experimento foi desenvolvido no setor de ambientes protegidos, em estufa agrícola, no Centro Técnico de Irrigação da Universidade Estadual de Maringá, em Maringá - PR, no período de outubro de 2015 a outubro de 2016. Os tratamentos consistiram de cinco bactérias promotoras do crescimento vegetal (BPCV): *Azospirillum brasilense* Ab-V5 (=CNPSo 2083), *Azospirillum brasilense* Ab-V6 (=CNPSo 2084), *Pseudomonas fluorescens* CCTB 03 (=CNPSo 2719); *Pseudomonas fluorescens* ET76 (=CNPSo 2799) e *Pantoea ananatis* AMG521 (=CNPSo 2798) e um controle não inoculado. Cada tratamento inoculado foi estudado em combinação com três doses de nitrogênio (zero, 50 e 100 kg ha⁻¹ N), usando-se ureia. As estirpes estão depositadas na “Coleção de Microrganismos Multifuncionais da Embrapa Soja: Bactérias Diazotróficas e Promotoras do Crescimento de Plantas” (World Federation Culture Collection-WFCC # 1213, Word Data Centre for Microorganisms-WDCM # 1054). As bactérias são provenientes de programas de seleção de BPCV da Embrapa Soja ([Ab-V5 e Ab-V6, selecionadas no Brasil, inicialmente para as culturas do milho (*Zea mays*) e do trigo (*Triticum aestivum*) (Hungria et al., 2010)]; da empresa Total Biotecnologia (CCTB 03); da Universidade de Sevilha (ET 76, isolada no Marrocos, Aaarab et al., 2016); AMG 521, isolada na Espanha, (Megías et al., 2016). Os tratamentos foram avaliados em três genótipos de braquiárias: capim-xaraés (*Urochloa brizantha* (Hochst.) Stapf. cv. Xaraés); capim-paiaguás (*Urochloa brizantha* cv. BRS Paiaguás) e capim-ruziziensis (*Urochloa ruziziensis* [Germain e Evrard]). O ensaio foi conduzido em um esquema fatorial 6 x 3, com 4 repetições, totalizando 72 unidades experimentais para cada uma das três forrageiras.

Os ensaios foram conduzidos em vasos de 15 kg de capacidade, que foram preenchidos com 15 kg de solo Arenito Caiuá, Latossolo Vermelho distrófico, de classe textural franco-areno-argilosa com as seguintes características químicas: pH = 4,7; Ca = 1,0 cmol_c dm⁻³; Mg = 0,5 cmol_c dm⁻³; Al = 0,1 cmol_c dm⁻³; P (Mehlich) = 5,0 mg dm⁻³; K = 0,16 cmol_c dm⁻³; V = 31,56%; M.O. = 2,1%. Em todos os vasos foram aplicados o equivalente a 20 kg ha⁻¹ de N (ureia 45% N), 42,5 kg ha⁻¹ de K₂O (cloreto de potássio 48% K₂O) e 84 kg ha⁻¹ de P₂O₅ (superfosfato simples 18% P₂O₅), incorporados ao solo no momento da semeadura.

Os inóculos das bactérias foram preparados em meio líquido específico para cada bactéria e, no momento da semeadura, ajustados para a concentração final de 10⁸ células

mL⁻¹. Foram misturados 15 mL de cada inóculo por kg de sementes, deixando-se secar à sombra por 30 minutos. Foram semeadas 10 sementes por vaso de cada espécie forrageira e, uma semana após a emergência das plântulas, foi realizado o desbaste, deixando-se cinco plantas por vaso.

Imediatamente após o desbaste iniciou-se a aplicação de N-fertilizante, nos tratamentos correspondentes a 100 kg ha⁻¹ de N e 50 kg ha⁻¹ de N. Para 100 kg ha⁻¹ de N foram adicionados 0,75 g vaso⁻¹ de N (1,67 g vaso⁻¹ de ureia) e, para 50 kg ha⁻¹ de N, 0,375 g vaso⁻¹ de N (0,83 g vaso⁻¹ de ureia), parceladas em duas doses e incorporadas no solo do vaso. Metade da dose foi aplicada logo após o desbaste, e a outra metade após 28 dias.

As plantas foram irrigadas diariamente, através de irrigação automatizada, programada três vezes ao dia em dias com temperaturas amenas e quatro vezes ao dia em dias com altas temperaturas com água destilada esterilizada durante dois minutos cada, para atingir a capacidade de campo. Foram anotados os dados de temperatura máxima e mínima na estufa durante o período de estudo (Figura 1).

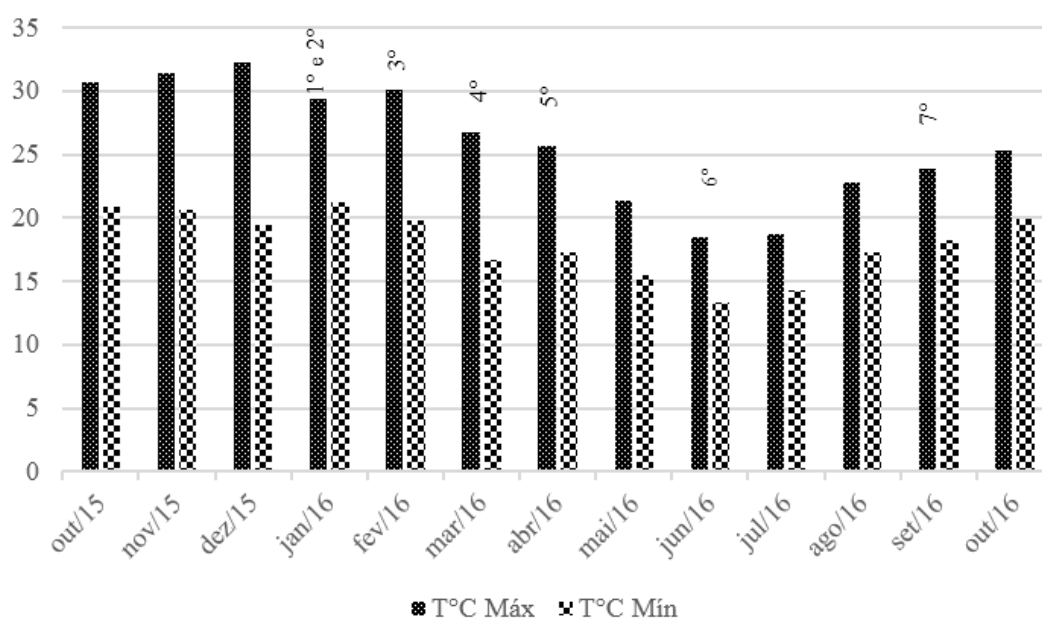


Figura 1. Temperatura máxima (T°C Máx) e mínima (T°C Mín) durante o período experimental

2.2. Avaliações realizadas

Quando as plantas atingiram, em média, 35 cm de altura, procedeu-se o corte da parte aérea, deixando-se o resíduo de 15 cm. As medições de altura foram realizadas três vezes por semana, com auxílio de uma régua milimetrada. O primeiro corte ocorreu dia 04 de janeiro de 2016, o segundo corte 20 de janeiro de 2016, o terceiro 09 de fevereiro de 2016, o quarto 05 de março de 2016, o quinto corte 20 de abril de 2016, o sexto corte dia 03 de junho de 2016 e o corte final dia 30 de setembro de 2016 (Figura 1).

Para a caracterização morfogênica foram demarcados dois perfilhos vaso⁻¹, diferidos por fios de arame colorido. Com auxílio de uma régua milimetrada, foram medidos o comprimento das folhas verdes e do pseudocolmo. As mensurações foram realizadas de dezembro de 2015 a outubro de 2016, duas vezes por semana durante os meses de primavera e verão e, uma vez por semana nos meses de outono e inverno, quando os perfilhos entravam em processo de senescência ou morriam, eram trocados por perfilhos novos. Nas folhas em expansão, a mensuração foi realizada a partir da lígula da última folha expandida como referencial. Nas folhas expandidas, foram medidas da lígula até a ponta da folha verde. O comprimento do pseudocolmo foi obtido medindo a distância do solo até a lígula da folha mais jovem completamente expandida. Também foram realizados os registros de folhas expandidas, folhas cortadas e folhas mortas. Essas medidas foram utilizadas na determinação das seguintes taxas:

- Taxa de aparecimento foliar (TApF): quociente entre o número de folhas por perfilho surgidas no período avaliado e número de dias do período;
- Filocrono (Filo): número de dias em que duas folhas crescem em um mesmo perfilho;
- Taxa de alongamento foliar (TAIF): relação entre o somatório de todo alongamento das lâminas foliares (cm) e o número de dias do período de avaliação (comprimento final – comprimento inicial) / n° de dias contabilizados;
- Taxa de senescência de folhas (TSeF): variação média no comprimento da porção senescente da folha, resultado do produto entre o comprimento da lâmina foliar senescente e a proporção de tecido senescente correspondente, observada ao longo do período de avaliação;
- Número de folhas vivas (NFV): contagem do número de folhas vivas, não senescentes;
- Duração de vida das folhas (DVF): NFV X Filo e,

- Taxa de alongamento de colmo (TAIC): diferença do comprimento do pseudocolmo no final e no início do período experimental pelo número de dias deste (comprimento final - comprimento inicial) / n° de dias contabilizados.

A densidade populacional de perfilhos foi obtida por meio da contagem de perfilhos em cada vaso individualmente de dezembro de 2015 a outubro de 2016. A contagem dos perfilhos foi realizada antes de cada corte e os perfilhos classificados em perfilhos basais ou aéreos, de acordo com a gema que deu origem ao mesmo.

2.3. Análise estatística

Os dados foram analisados separadamente pro forrageira, considerando-se o fatorial de 6 tratamentos de inoculação x 3 níveis de N-fertilizante. As médias entre os grupos controle (sem bactérias ou sem adubação nitrogenada) e os grupos tratados foram comparadas utilizando o teste de Dunnet e as médias entre os tratamentos foram comparadas entre si pelo teste de Tukey. Quando foi identificado efeito da interação entre os fatores, as respostas a cada tipo de bactéria foram comparadas dentro de cada nível de adubação nitrogenada. Em todas as análises estatísticas utilizou-se o PROC GLM do pacote estatístico “Statistical Analysis System” – SAS V 9.2 (SAS Institute Inc. Cary, CA), e um nível de significância de 5%.

3. Resultados

Houve interação entre a inoculação com as BPCV e as doses de N-fertilizante para TAIF e número de perfilhos basais em *U. brizantha* Paiaguás (Tabela 1).

As plantas inoculadas com as bactérias *P. fluorescens* CCTB 03 e *P. ananatis* AMG521 (na dose zero de N) apresentaram maior TAIF, propiciando aumentos superiores a 100% no alongamento de folhas em relação àquelas do tratamento não inoculado. Não foram constatadas diferenças no parâmetro TAIF na dose de 50 kg ha⁻¹ de N. Na dose de 100 kg ha⁻¹ de N, a inoculação com *P. ananatis* AMG521 proporcionou incremento de 62% em relação ao tratamento somente com 100 kg ha⁻¹ de N. Na dose de 100 kg de N ha⁻¹ associada à inoculação com *A. brasilense* Ab-V6, *P. fluorescens* CCTB 03 e *P. fluorescens* ET76, houve a elevação de 36, 54 e 51% da TAIF (Tabela 1).

Tabela 1.

Taxa de alongamento de folhas (TAIF) e número de perfilhos basais do *Urochloa brizantha* cv. BRS Paiaguás inoculada com bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) sob diferentes doses de N-fertilizante.

Nitrogênio (kg ha ⁻¹)	Bactérias promotoras do crescimento vegetal						CV (%)
	Não inoculad o	<i>A. brasilense</i> Ab-V5	<i>A. brasilense</i> Ab-V6	<i>P. fluorescens</i> CCTB 03	<i>P. fluorescens</i> ET76	<i>P. ananatis</i> AMG521	
TAIF (cm dia ⁻¹)							
0	1,06 c ^a	1,87 ab	1,31 bc	2,28 a	1,58 ab	2,14 a	28,6
50	1,50 a	1,29 a	1,24 a	1,36 a	1,51 a	1,29 a	20,8
100	1,77 c	2,11 c	2,41 ab	2,73 ab	2,67 ab	2,87 a	19,9
Perfilhos basais (vaso ⁻¹)							
0	30,8 d	31,5 cd	36,4 c	65,2 a	43,7 b	63,7 a	10,1
50	38,8 a	30,7 c	32,9 bc	37,2 ab	35,6 ab	36,5 ab	12,9
100	33,7 b	32,0 b	33,3 b	36,0 ab	35,6 ab	41,0 a	14,6

CV: coeficiente de variação

^a Médias de quatro repetições e, quando seguidas de diferentes letras, em cada linha, diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 5%.

Assim como foi verificado para o parâmetro de TAIF, sem N, a inoculação com *P. fluorescens* CCTB 03 e *P. ananatis* AMG521 promoveu o maior incremento no número de perfilhos basais, sendo superior a 100% em relação aos demais tratamentos, exceto a *P. fluorescens* ET76, que foi de 42%, em relação ao controle não inoculado (Tabela 1). Na dose de 50 kg ha⁻¹ de N, não foram constatados incrementos significativos no número de perfilhos basais pela inoculação, exceto com a inoculação com *A. brasilense* Ab-V5, em que o número foi menor (Tabela 1).

Na dose de 100 kg ha⁻¹ de N, a inoculação com a *P. ananatis* AMG521 proporcionou maior número de perfilhos basais nas plantas, porém, similar as duas estirpes de *P. fluorescens*. A associação entre *Pantoea ananatis* AMG521 e 100 kg ha⁻¹ de N elevou o número de perfilhos basais vaso⁻¹ em 22% em relação a essa dose de N.

Houve efeito do N-fertilizante para TApF, filocrono e DVF no capim-paiaguás. A dose de 100 kg ha⁻¹ de N proporcionou maior TApF, menor filocrono e DVF (Tabela 2).

Tabela 2.

Taxa de alongamento de colmo (TAIC), taxa de aparecimento de folha (TApF), filocrono (Filo), duração de vida das folhas (DVF), número de folhas vivas (NFV) e taxa de senescência foliar (TSeF) de *Urochloa brizantha* cv. BRS Paiaguás sob diferentes doses de N-fertilizante

Parâmetros	Nitrogênio (kg ha ⁻¹ N)			CV (%)
	0	50	100	
TAIC (cm dia ⁻¹)	0,73 a ^a	0,72 a	0,84 a	33,4
TApF (folhas dia ⁻¹)	0,11 b	0,10 b	0,14 a* ^b	18,6
Filo (dias folha ⁻¹)	9,98 a	10,34 a	7,49 b*	21,6
DVF (dias)	47,3 a	46,6 a	33,9 b*	17,8
NFV (número de folhas vivas perfilho ⁻¹)	4,87 a	4,70 a	4,76 a	14,1
TSeF (cm dia ⁻¹)	0,82 a	1,21 a	0,76 a	96,9

CV: coeficiente de variação

^a Médias de quatro repetições e, quando seguidas de letras minúsculas diferentes, em cada linha, diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 5%.

^b Médias de quatro repetições e, quando seguidas de asterisco (*) diferem do tratamento não inoculado pelo teste de Dunnet ao nível de 5%.

A bactéria *P. fluorescens* CCTB 03 propiciou as plantas a maior TAIC (Tabela 3) em relação aos demais tratamentos, com incremento de 62% em relação ao tratamento não inoculado. Contudo, nas demais características, não foram observadas diferenças entre os tratamentos.

Tabela 3.

Taxa de alongamento de colmo (TAIC), taxa de aparecimento de folha (TApF), filocrono (Filo), duração de vida das folhas (DVF), número de folhas vivas (NFV) e taxa de senescência foliar (TSeF) de *Urochloa brizantha* cv. BRS Paiaguás inoculada com bactérias promotoras do crescimento vegetal (BPCV).

Parâmetros	Bactérias promotoras do crescimento vegetal						CV (%)
	Não inoculado	<i>A. brasilense</i> Ab-V5	<i>A. brasilense</i> Ab-V6	<i>P. fluorescens</i> CCTB 03	<i>P. fluorescens</i> ET76	<i>P. ananatis</i> AMG521	
TAIC (cm dia ⁻¹)	0,62 b ^a	0,81 b	0,66 b	0,94 a* ^b	0,72 b	0,81 b	33,4
TApF (folhas dia ⁻¹)	0,11 a	0,12 a	0,11 a	0,12 a	0,12 a	0,12 a	18,6
Filo (dias folha ⁻¹)	9,55 a	8,83 a	10,00 a	8,88 a	8,81 a	9,55 a	21,6
DVF (dias)	45,26 a	39,62 a	43,04 a	42,32 a	42,22 a	43,22 a	17,8
NFV (número de folhas vivas perfilho ⁻¹)	4,79 a	4,78 a	4,46 a	4,98 a	4,98 a	4,67 a	14,1
TSeF (cm dia ⁻¹)	0,79 a	0,95 a	1,18 a	0,92 a	0,76 a	0,98 a	96,9

CV: coeficiente de variação

^a Médias de quatro repetições e, quando seguidas de letras minúsculas diferentes, em cada linha, diferem entre si pelo teste t ao nível de 5%.

^b Médias de quatro repetições e, quando seguidas de um asterisco (*) diferem do tratamento não inoculado pelo teste de Dunnet ao nível de 5%.

Para o capim-xaraés, observou-se interação entre a adubação nitrogenada e as BPCV nos parâmetros de TAIF, TSeF e perfilhos basais (Tabela 4). Na ausência de adubação nitrogenada, as bactérias *P. fluorescens* ET76 e *P. ananatis* AMG521 promoveram incrementos de 51% e 52%, respectivamente, na TAIF em relação ao tratamento não inoculado. As demais estirpes, *P. fluorescens* CCTB 03, *A. brasilense*

Ab-V5 e Ab-V6 também proporcionaram alongamento de folhas superiores ao tratamento não inoculado, em 48, 43 e 34%, respectivamente. Quando associadas à dose de 50 kg ha⁻¹ de N, nenhuma estirpe promoveu incremento da TAIF em relação ao tratamento não inoculado, havendo decréscimo para a *A. brasilense* Ab-V6. Por fim, usando 100 kg ha⁻¹ de N, a *P. fluorescens* CCTB 03 proporcionou maior TAIF, estatisticamente superior (16%) ao controle não inoculado e a *A. brasilense* Ab-V5 (18%) (Tabela 4).

Em relação ao TSeF na ausência de adubo nitrogenado, destacou-se a inoculação com *P. fluorescens* CCTB 03, que elevou a renovação de tecidos em mais de 100% em relação ao controle não inoculado, não sendo observado incremento pela inoculação com as demais bactérias (Tabela 4). Quando associado à aplicação de 50 kg ha⁻¹ de N, nenhum tratamento diferiu do controle não inoculado. Por fim, na maior dose de N (100 kg ha⁻¹ de N), apenas *P. fluorescens* ET76 influenciou negativamente, não havendo diferença entre as demais estirpes e o tratamento não inoculado (Tabela 4).

Tabela 4.

Taxa de alongamento de folha (TAIF), Taxa de senescência foliar (TSeF) e perfilhos basais de *Urochloa brizantha* cv. Xaraés, inoculada com diferentes bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) sob diferentes doses de N-fertilizante.

Nitrogênio (kg ha ⁻¹)	Bactérias promotoras do crescimento vegetal						CV (%)
	Sem bactéria	<i>A.</i> <i>brasilense</i> Ab-V5	<i>A.</i> <i>brasilense</i> Ab-V6	<i>P.</i> <i>fluorescens</i> CCTB 03	<i>P.</i> <i>fluorescens</i> ET76	<i>P.</i> <i>ananatis</i> AMG521	
TAIF (cm dia ⁻¹)							
0	1,60 c ^a	2,37 ab	2,14 b	2,29 ab	2,41 a	2,43 a	7,5
50	2,21 ab	1,93 bc	1,83 c	2,25 ab	2,43 a	2,39 a	11,8
100	3,11 b	3,05 b	3,37 ab	3,61 a	3,48 ab	3,37 ab	9,5
TSeF (cm dia ⁻¹)							
0	0,23 bc	0,63 b	0,13 c	1,42 a	0,42 bc	0,52 bc	63,7
50	1,12 ab	1,37 a	0,77 b	0,75 b	0,90 ab	0,55 b	42,4
100	0,99 a	0,88 ab	0,91 a	0,98 a	0,64 b	0,83 ab	18,9
Perfilhos basais (vaso ⁻¹)							
0	28,3 d	27,8 d	24,3 e	40,0 b	35,0 c	43,7 a	4,5
50	33,6 bc	38,3 a	38,1 a	34,6 bc	31,4 c	35,2 ab	8,1
100	36,0 ab	32,7 ab	32,2 b	36,8 a	35,6 ab	34,9 ab	10,4

CV: coeficiente de variação

^a Médias de quatro repetições e, quando seguidas de diferentes letras, em cada linha, diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 5%.

Em relação ao número de perfilhos basais do capim-xaraés, constatou-se incremento pela inoculação com *P. ananatis* AMG521, com aumento de 54% em relação ao controle não inoculado (Tabela 4). Incrementos significativos também foram

observados pela inoculação com *P. fluorescens* estirpes CCTB 03 (42%) e ET76 (24%). Na dose de 50 kg N ha⁻¹, nenhum dos tratamentos inoculado diferiu estatisticamente do controle não inoculado, enquanto na dose 100 kg N ha⁻¹ houve redução pela inoculação com *P. fluorescens* ET76 (Tabela 4), que divergiu apenas da inoculação com *A. brasilense* Ab-V6.

Verificaram-se diferenças entre as doses de N na TApF, filocrono, DVF e NFV em *Urochloa brizantha* cv. Xaraés (Tabela 5). A dose de 50 kg ha⁻¹ de N aumentou o filocrono, DVF e NFV em 4%, 13% e 5,5% sobre a dose zero de N, respectivamente. A maior TApF foi proporcionada pela dose de 100 kg ha⁻¹ de N. Não foram constatadas diferenças entre os tratamentos de inoculação e o controle não inoculado nos parâmetros de TAIC, TApF, Filo, DVF, NFV e TSeF da *U. brizantha* cv. Xaraés.

Tabela 5.

Taxa de alongamento de colmo (TAIC), taxa de aparecimento de folha (TApF), filocrono (Filo), duração de vida das folhas (DVF), número de folhas vivas (NFV) e taxa de senescência foliar (TSeF) em *Urochloa brizantha* cv. Xaraés sob diferentes doses de N-fertilizante.

Parâmetros	Nitrogênio (kg ha ⁻¹ N)			CV (%)
	0	50	100	
TAIC (cm dia ⁻¹)	0,36 a ^a	0,37 a	0,35 a	27,3
TApF (folhas dia ⁻¹)	0,07 b	0,06 c	0,09 a* ^b	11,8
Filo (dias folha ⁻¹)	14,90 b	15,50 a	12,70 b	10,4
DVF (dias)	58,90 b	66,70 a*	44,20 c	13,0
NFV (número de folhas vivas perfilho ⁻¹)	4,05 b	4,27 a*	3,56 b	11,8
TSeF (cm dia ⁻¹)	1,20 a	1,27 a	1,29 a	40,5

CV: coeficiente de variação

^a Médias de quatro repetições e, quando seguidas de letras minúsculas diferentes, em cada linha, diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 5%.

^b Médias de quatro repetições e, quando seguidas de um asterisco (*) diferem do tratamento não inoculado pelo teste de Dunnet ao nível de 5%.

Verificaram-se diferenças entre as doses de N para TAIF, TAIC, TApF, Filo, DVF, NFV e TSeF do capim-ruziziensis (Tabela 6). O tratamento com 100 kg ha⁻¹ de N diferiu estatisticamente da dose de 0 kg ha⁻¹ de N em todos os parâmetros avaliados, exceto no número de perfilhos basais, sendo superior em todos os parâmetros e inferior no NFV. Na dose de 50 kg ha⁻¹ de N, houve superioridade apenas no parâmetro de TSeF em comparação com a ausência de N-fertilizante (Tabela 6).

Tabela 6.

Taxa de alongamento de folha (TAIF), taxa de alongamento de colmo (TAIC), taxa de aparecimento de folha (TApF), filocrono (Filo), duração de vida das folhas (DVF), número de folhas vivas (NFV), taxa de senescência foliar (TSeF) e perfilhos basais (basais) de *Urochloa ruziziensis* sob diferentes doses de N-fertilizante.

Parâmetros	Nitrogênio (kg ha ⁻¹ N)			CV (%)
	0	50	100	
TAIF (cm dia ⁻¹)	1,71 b ^a	1,60 b	2,21 a ^{*b}	17,1
TAIC (cm dia ⁻¹)	0,87b	0,84b	1,02 a [*]	19,6
TApF (folhas dia ⁻¹)	0,12 b	0,12 b	0,14 a [*]	12,1
Filo (dias folha ⁻¹)	8,94 b	8,36 ab	8,00 a [*]	15,1
DVF (dias)	48,02 b	50,42 b	35,15 a [*]	19,8
NFV (número de folhas vivas perfilho ⁻¹)	5,67 a	6,11 a	4,59 b	22,0
TSeF (cm dia ⁻¹)	0,64 c	1,36 a [*]	0,99 b [*]	62,6
Basais (n° planta ⁻¹)	23,50 a	24,50 a	24,30 a	17,8

CV: coeficiente de variação

^a Médias de quatro repetições e, quando seguidas de letras minúsculas diferentes, em cada linha, diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 5%.

^b Médias de quatro repetições e, quando seguidas de um asterisco (*)diferem do tratamento não inoculado pelo teste de Dunnet ao nível de 5%.

Verificou-se efeito da inoculação com BPCV na DVF e TSeF em *U. ruziziensis* (Tabela 7). A inoculação de *A. brasilense* Ab-V6 favoreceu a DVF (51,59 dias), com incremento de 21,6% em relação ao tratamento não inoculado. Observou-se que a inoculação com as bactérias *A. brasilense* Ab-V5 e *P. ananatis* AMG521 promoveu maior TSeF, possivelmente pelo rápido desenvolvimento dos perfilhos (Tabela 7).

Tabela 7.

Taxa de alongamento de folha (TAIF), taxa de alongamento de colmo (TAIC), taxa de aparecimento de folha (TApF), filocrono (Filo), duração de vida das folhas (DVF), número de folhas vivas (NFV), taxa de senescência foliar (TSeF) e perfilhos basais (Basais) de *Urochloa ruziziensis* inoculada com bactérias promotoras do crescimento vegetal (BPCV).

Parâmetros	Bactérias promotoras do crescimento vegetal						CV (%)
	Não inoculado	<i>A. brasilense</i> Ab-V5	<i>A. brasilense</i> Ab-V6	<i>P. fluorescens</i> CCTB 031	<i>P. fluorescens</i> ET76	<i>P. ananatis</i> AMG521	
TAIF (cm dia ⁻¹)	1,75 a ^a	1,71 a	1,83 a	1,88 a	1,89 a	1,99 a	17,1
TAIC (cm dia ⁻¹)	0,85 a	0,86 a	0,93 a	0,95 a	0,90 a	0,97 a	19,6
TApF (folhas dia ⁻¹)	0,12 a	0,12 a	0,12 a	0,12 a	0,14 a	0,13 a	12,1
Filo (dias folha ⁻¹)	8,76 a	8,49 a	8,92 a	8,49 a	7,95 a	7,98 a	15,1
DVF (dias)	42,4 b	40,03 b	51,59 a ^{*b}	46,81 b	45,58 b	40,76 b	19,8
NFV (número de folhas vivas perfilho ⁻¹)	5,00 a	4,85 a	6,14 a	5,54 a	5,89 a	5,31 a	22,0
TSeF (cm dia ⁻¹)	0,48 b	1,26 a [*]	0,86 b	0,87 b	1,15 b	1,37 a [*]	62,6
Basais (n° planta ⁻¹)	22,40 a	23,00 a	23,10 a	25,60 a	26,00 a	24,40 a	17,8

CV: coeficiente de variação

^a Médias de quatro repetições e, quando seguidas de letras minúsculas diferentes, em cada linha, diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 5%.

^b Médias de quatro repetições e, quando seguidas de um asterisco (*)diferem do tratamento não inoculado pelo teste de Dunnet ao nível de 5%.

4. Discussão

Os benefícios na TAlF, TALC, TSeF, DVF e número de perfilhos basais com a utilização das BPCV podem resultar da maior produção de hormônios de crescimento como auxinas, citocininas e giberelinas, sintetizados por diversas dessas bactérias. Brown (1972) verificou que os metabólitos produzidos por alguns tipos de bactérias, como auxinas, giberelinas e seus precursores, afetavam o crescimento vegetal, uma vez que tais substâncias são responsáveis por diversos eventos fisiológicos, que resultam em rápido crescimento. Segundo Taiz and Zeiger (2013), a atividade dos hormônios auxina e giberelina pode modificar a expansão celular, alterando a maneira como a parede é expandida, modificando o alongamento de colmo, folhas e a duração de vida desses órgãos.

Segundo Duca et al. (2014), o crescimento vegetal acontece por meio da divisão e alongamento celular nas regiões meristemáticas, que são fortemente influenciados pelas auxinas. Esse grupo hormonal estimula o alongamento celular e age no crescimento de colmos, folhas e raízes, pela alteração na divisão celular desses componentes morfológicos da planta e, conseqüentemente, acelera o processo de senescência dos mesmos, em razão da rápida renovação dos tecidos. Tais fatos justificam a maior taxa de alongamento de folhas, colmos e taxa de senescência verificadas na inoculação de *Urochloa* spp.

Recentemente, foi descrita a síntese de ácido indol-3-acético, (AIA), etanol-3-indol e ácido láctico-3-indol pelas estirpes de *A. brasilense* Ab-V5 e Ab-V6 (Fukami et al., 2017). Também há relatos de síntese de AIA por *P. ananatis* AMG521 (Megías et al., 2016). Segundo Pan et al. (1999), a maior produção de hormônios vegetais, em especial o AIA, resulta em incremento no alongamento das folhas, uma vez que a maior concentração desse hormônio promove o crescimento e desenvolvimento de órgãos das plantas. Além disso, o AIA tem a capacidade de alterar a taxa fotossintética, a biossíntese de alguns metabolitos e de outros fitormônios, como as citocininas e as giberelinas (Ilyas and Bano, 2010).

Madhaiyan et al. (2010) verificaram que, em meio de cultura, *A. brasilense* produziu AIA e, quando inoculado em sementes de tomate (*Solanum lycopersicum*) e pimentão vermelho (*Capsicum annuum*), o comprimento de raízes foi de 9,68 e 6,76 cm, enquanto os tratamentos sem inoculação apresentaram 7,21 e 6,20 cm, respectivamente. Os autores observaram, ainda, que o *Azospirillum* promoveu aumento da parte aérea dessas plantas, ratificando a capacidade de promoção de crescimento.

Megías et al. (2016) verificaram que *P. ananatis* AMG521 promoveu o crescimento e maior rendimento da cultura do arroz (*Oryza sativa*), sendo produtora de AIA, além de apresentar outras características como a capacidade de solubilizar fosfato. Figueiredo et al. (2010), avaliando a produção de AIA por bactérias associadas à *Urochloa* spp., reportaram que, de 80 bactérias estudadas, 91% produziram AIA, enfatizando o impacto que as BPCV podem ter na recuperação de pastagens.

No arroz, Zucarelli et al. (2011) observaram maior crescimento das plantas inoculadas com *P. fluorescens* e justificaram tal efeito pelo maior aporte de citocinina nas plantas. De acordo com Queiroz et al. (2006), as *P. fluorescens* promovem o crescimento vegetal, pela maior produção e concentração de hormônios vegetais que influenciam os processos fisiológicos. Brennecke et al. (2016), ao avaliarem o efeito da *P. fluorescens* no índice de crescimento da *Urochloa decumbens*, concluíram que a bactéria promoveu incremento nas taxas de alongamento de colmo e número de folhas. No caso da estirpe ET76 de *P. fluorescens*, cabe destacar que ela foi isolada da rizosfera de arroz, e apresenta outras propriedades promotoras do crescimento, como capacidade de solubilizar fosfato, além de grande potencial como agente biocontrolador de doenças (Aaarab et al., 2016).

A maior resistência aos fatores estressores proporcionada pelo uso das bactérias pode ter prolongado a duração de vida das folhas e resultado em maior número de perfilhos basais, garantindo a persistência e perenidade dos mesmos por um período maior. Nesse sentido, Cohen et al. (2015) verificaram que estirpes de BPCV podem secretar ácido abscísico (ABA), que está relacionado a mecanismos de defesa a estresses ambientais em plantas (Bauer et al., 2013). Cohen et al. (2009) inocularam *A. lipoferum* em plantas de milho e verificaram elevados níveis de ABA, que aumentou a tolerância das plantas a seca. Segundo esses autores, essa tolerância ao estresse ambiental proporcionado pelo *Azospirillum* pode ser relacionada com o ABA e, também, com a prolina e poliaminas. As poliaminas (cadaverina, espermina e espermidina) são polímeros orgânicos que estão associados ao crescimento radicular e supressão de estresses nas plantas (Gupta et al., 2013). Ao inocular mudas de arroz com *A. brasilense*, Cássan et al. (2009) constataram que a produção de cadaverina aumentou o crescimento da raiz e reduziu o estresse osmótico. Em milho inoculado com *A. brasilense*, Rodriguez-Salazar et al. (2009) observaram maior resistência à seca e, conseqüentemente, maior produção de biomassa pelas plantas inoculadas. Em relação às

estirpes de Ab-V5 a Ab-V6 de *A. brasilense* utilizadas neste estudo, também foi constatado incremento na expressão de genes relacionados à tolerância a estresses em milho pela inoculação dessas estirpes, ou de seus metabólitos, via sementes ou via foliar (Fukami et al., 2017).

Outro mecanismo de ação das BPCV, que possivelmente proporcionou melhores respostas morfogênicas e estruturais das plantas forrageiras foi a FBN. Bulow & Döbereiner (1975) foram pioneiros em constatar que algumas bactérias, identificadas como *Azospirillum*, presentes na rizosfera das gramíneas forrageiras eram capazes de fixar o N₂, abrindo novas perspectivas sobre o uso das forrageiras nos trópicos adubadas com menores quantidades de N. Recentemente, a inoculação com as estirpes Ab-V5 e Ab-V6 de *A. brasilense* beneficiou a produção de massa de forragem de duas espécies de *Urochloa*, com aumentos de 5,4% a 22,1% (Hungria et al., 2016). Esses resultados podem estar relacionados, com o modo de ação do gênero *Azospirillum*, tanto pela FBN, como pela produção de fitormônios, neste caso alterando a morfologia das raízes e permitindo maior a exploração do solo, com melhor absorção de nutrientes (Iniguez et al., 2004).

Entre os fatores que influenciam as características morfogênicas e estruturais das gramíneas forrageiras, o N é o que mais proporciona modificações. Nesse sentido, Gomide e Gomide (2000) descreveram que mudanças na luz interceptada, nível hídrico e adubação nitrogenada interferem na TApF, TAIC, DVF e TSeF. O N, quando disponível para as plantas, estimula o desenvolvimento de novos tecidos, justificando os incrementos observados em função do N-fertilizante. Fagundes et al. (2006) observaram que, em condições favoráveis, o N é rapidamente utilizado pela planta, aumentando o alongamento e o aparecimento de novas folhas.

O menor filocrono e duração de vida das folhas observados na dose de 100 kg ha⁻¹ de N demonstra que, possivelmente, o N acelerou o crescimento do perfilho, tornando os eventos fisiológicos mais rápidos, reduzindo a longevidade das folhas e o tempo do filocrono. Em plantas com maior aporte de N ocorre aceleração na produção de novos tecidos e no uso de assimilados para o desenvolvimento da planta, resultando no aumento do filocrono (Galzerano et al., 2013).

Plantas forrageiras com alta TApF podem provocar incremento na renovação de perfilhos, aumentando a ocorrência de perfilhos jovens e a produção de massa da forragem (Barbero et al., 2015). A maior disponibilidade de N para as plantas reduz a

necessidade de redistribuição do elemento entre as folhas mais velhas e jovens aumentando, assim, a longevidade das folhas mais antigas. Tal fato também contribui para o maior número de folhas vivas, uma vez que o maior tempo de vida das folhas resulta em maior percentagem de folhas verdes.

Uma maior produção de folhas e colmos em plantas forrageiras resulta em maior produção de massa de forragem e, conseqüentemente, maiores quantidades de C alocada para elevar a produtividade e no solo via raízes. Segundo Cerri et al. (2007), as plantas forrageiras quando cultivadas adequadamente (bem manejadas) e com alta produção de biomassa, podem sequestrar considerável quantidade de C. Follet & Schuman (2005) concluíram que o aumento na produtividade de pastagens, e na produção de carne por área, resultam em elevado sequestro de C na biomassa de forragem.

Para Bayer et al. (2006) manejos que proporcionem a adição de resíduos vegetais e a retenção de C no solo, como o uso de BPCV, consiste em importantes tecnologias para drenar o CO₂ atmosférico e a mitigam os gases de efeito estufa. Hungria et al. (2013) estimaram que a substituição do N-fertilizante pelas BPCV provocaria em uma mitigação de 8,64 x 10⁵ t e-CO₂ na cultura da soja. Já para as áreas de pastagem inoculadas com *Azospirillum*, Hungria et al. (2016) contabilizaram o sequestro de 9,27 Mt e-CO₂ nas pastagens brasileiras, destinados à produção de biomassa forrageira. Assim, fica evidente a necessidade de estimular o uso de tecnologias que propõem o sequestro de C e a sustentabilidade dos sistemas pastoris.

5. Conclusões

A inoculação com BPCV é uma alternativa viável e sustentável para o crescimento e desenvolvimento de braquiárias, tendo proporcionado maior fluxo de tecido no capim-paiaguás e capim-ruziziensis. Constatou-se que não há interação entre BPCV e a adubação nitrogenada. Nos capins Xaraés e Paiaguás os efeitos foram aditivos, enquanto em *U. ruziziensis* essas tecnologias foram competitivas.

Agradecimentos

Grupo de pesquisa apoiado pelo INCT-Microrganismos Promotores do Crescimento de Plantas Visando à Sustentabilidade Agrícola e à Responsabilidade ambiental – MPCPAgro - (CNPq 465133/2014-4, Fundação Araucária-STI, CAPES). M. Hungria é também bolsista de pesquisa do CNPq.

Grupo de Estudo em Forragicultura Cecato (Fundação Agrisus PA1732/16, CNPq, CAPES). U. Cecato também é bolsista de pesquisa do CNPq (CNPq-307838/2014-5).

Referências

- Aarab, S., Arakrak, A., Ollero, F.J., Gomes, D.F., Ribeiro, R.A., Hungria, M, 2016. Draft genome sequence of *Pseudomonas fluorescens* strain ET76, isolated from rice rhizosphere from Northwestern Morocco. *Genome Announcements*. 4 (3), :e00356-16. (DOI:10.1128/genomeA.00356-16).
- Barbero, L.M., Basso, K.C., Igarasi, M.S., Paiva, A.J., Basso, F.C., 2015. Respostas morfológicas e estruturais de plantas tropicais submetidas à desfolhação. *B. Industr. Anim.* 72 (4), p.321-330. (DOI:10.17523/bia.v72n4p321).
- Bashan, Y., de-Bashan, L.E., 2010. How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth – a critical assessment. *Adv. Agron.* 108, 77–136.
- Bashan, Y., Bashan, L. E., Prabhu, S. R., Hernandez, J. B., 2014. Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives (1998- 2013). *Plant and Soil*, 378 (1), 33-40.
- Bauer, H., Ache, P., Lautner, S., 2013. The stomatal response to reduced relative humidity requires guard cell-autonomous ABA synthesis. *Curr Biol.* 23 (1), p. 53–57.
- Bayer, C., Martin-Neto, L., Mielniczuk, J., Pavinato, A., Dieckow, J., 2006. Carbon sequestration in two Brazilian Cerrado soils under no-till. *Soil Till. Res.* 86, p.237-245.
- Ben-Haj-Salah, M., Tardieu, F., 1995. Temperature affects expansion rate of maize leaves without change in spatial distribution of cell length. *Plant Physiology*. 109, p. 861-870.
- Brennecke, K., Bertipaglia, L.M.A., Antoniazzi, A., Souza, E.F., 2016. Inoculação da bactéria *Pseudomonas fluorescens* no índice de crescimento da *Brachiaria decumbens* spp. *Rev. Acad. Ciênc. Anim.* 14, 217-224.
- Brown, M. E., 1972. Plant growth substances produced by microrganismos of soil and rizosphere. *Journal Applied Bacteriology*. 35, p.443-451.
- Bulow, J.F.W., Döbereiner, J., 1995. Potential for nitrogen fixation in maize genotypes in Brazil. *Proc. NaU. Acad. Sei.* 72, 2389-93.
- Cassán, F., Maiale, S., Masciarelli, O., 2009. Cadaverine production by *Azospirillum brasilense* and its possible role in plant growth promotion and osmotic stress mitigation. *Eur. J. Soil. Biol.* 45, p. 12–19.
- Chapman, D.F., Lemaire, G., 1993. Morphogenetic and structural determinants of plant regrowth after defoliation. In: Baker, M.J. (Ed.), *Grasslands for our world*. Wellington:SIR Publishing, pp.55-64.
- Cerri, C.C., Bernoux, M., Maia, S.M.F., Cerri, C.E.P., Costa, Jr., Feigl, C., Frazão, B.J., Mello, L.A., de C, D.D., Galdos, M.V., Moreira, C.S., Carvalho, J.L.N., 2010. Greenhouse gas mitigation options in Brazil for land-use change, livestock and

- agriculture. *Scientia Agricola*. 67, p. 102–116. (DOI:[10.1590/S0103-90162010000100015](https://doi.org/10.1590/S0103-90162010000100015)).
- Cohen, A.C., Bottini, R., Pontin, M., 2015. *Azospirillum brasilense* ameliorates the response of *Arabidopsis thaliana* to drought mainly via enhancement of ABA levels. *Physiol Plant*.153, p. 79–90.
- Cohen, A.C., Travaglia, C.N., Bottini, R., Piccoli, P.N., 2009. Participation of abscisic acid and gibberellins produced by endophytic *Azospirillum* in the alleviation of drought effects in maize. *Botany*. 87, p. 455–462.
- Dartora, J., Guimarães, V. F., Marini, D., Sander, G., 2013. Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*. 17, 1023-1029. (DOI:[10.1590/S141543662013001000001](https://doi.org/10.1590/S141543662013001000001)).
- Dias-Filho, M.B., 2014. Diagnóstico das pastagens no Brasil. Documentos 402. Embrapa Amazônia Oriental, Belém, Brasil, pp. 1-36.
- Duca, D., Lorv, J., Patten, C.L., Rose, D., Glick, B.R., 2014. Indole-3-acetic acid in Plant-microbe interactions. *Antonie van Leeuwenhoek*. 106, p. 85-125.
- Fagundes, J.L., Fonseca, D.M., Gomide, J.A., Nascimento Junior, D., Vitor, C.M.T., Morais, R.V., Mistura, C., Reis, G.C., Martuscello, J.A., 2006. Acúmulo de forragem em pastos de *Brachiaria decumbens* adubados com nitrogênio. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 35 (1), p.21-29.
- Figueiredo, M.V.B., Seldin, L., Araujo, F.F., 2010. Plant growth promoting rhizobacteria: fundamentals and applications In: MAHESHWARI, D.K. (Ed.) *Plant growth and health promoting bacteria*, Berlin: Springer-Verlag, pp.45-68.
- Follett, R.F., Schuman, G.E., 2005. Grazing land contributions to carbon sequestration (invited Keynote paper for the 2005 International Grassland Congress, Belfast, Ireland). In: McGilloway, D. A. *Grazingland: a global resource*. Wageningen, The Netherlands Wageningen Academic Publishers, 266–277.
- Fukami, J., Ollero, F.J., Megías, M., Hungria, M., 2017. 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*. 7, p.153-166. (DOI: [10.1186/s13568-017-0453-7](https://doi.org/10.1186/s13568-017-0453-7))
- Galzerano, L., Malheiros, E.B., Raposo, E., Morgado, E.S., Ruggieri, A.C., 2013. Características morfogênicas e estruturais do capim-xaraés submetido a intensidades de pastejo. *Semina: Ciências Agrárias*. 34 (4) , p. 1879-1890. (DOI: [10.5433/1679-0359.2013v34n4p1879](https://doi.org/10.5433/1679-0359.2013v34n4p1879)).
- Gomide, J. A., Gomide, C. A. M., 1999. Fundamentos e estratégias do manejo de pastagens. In: SIMCORTE SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 1., 1999, Viçosa. Anais... Viçosa: UFV, pp. 179-200.

- Guimarães, S. L., Bonfim-Silva, E. M., Kroth, B. E., Moreira, J. C. F., Rezende, D., 2011. Crescimento e desenvolvimento inicial de *Brachiaria decumbens* inoculada com *Azospirillum* spp. Enciclopédia Biosfera. 7 (13), p.286-296.
- Gupta, K., Dey, A., Gupta, B., 2013. Plant polyamines in abiotic stress responses. Acta Physiol Plant. 35 (7), p. 2015–2036.
- Hodgson, J., 1990. Grazing Management: Science into practice. New York: John Wiley & Sons. pp. 203.
- Hungria, M., Campo, R. J., Souza, E. M., Pedrosa, F. O., 2010. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. Plant and Soil, 331, p. 413-425. (DOI:10.1007/s11104-009 0262-0).
- Hungria, M., Nogueira, M.A., Araujo, R.S., 2013. Co-inoculation of soybeans and common beans with rhizobia and azospirilla: strategies to improve sustainability. Biol. Fertil. Soils. 49, 791–801. (DOI:10.1007/s00374-012-0771-5).
- Hungria, M., Nogueira, M.A., Araújo, R.S., 2016. 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. 221, p. 125–131.
- Ilyas, N., Bano, A., 2010. Azospirillum strains isolated from roots and rhizosphere soil of wheat (*Triticum aestivum* L.) grown under different soil moisture conditions. Biol. Fertil Soil. 46, p. 393-406.
- Iniguez, A.L., Dong, Y., Triplett, E.W., 2004. Nitrogen fixation in wheat provided by *Klebsiella pneumoniae*. Molec. Plant Microbiol. Interact. 17, p.1078-1085.
- Madhaiyan, M., Poonguzhali, S., Kwon, S. W., Sa, T., 2010. *Bacillus methylotrophicus* sp. nov., a methanol-utilizing, plantgrowth-promoting bacterium isolated from rice rhizosphere soil. Int J Syst Evol Microbiol. 60, p. 2490–2495.
- Martuscello, J. A., Oliveira, A. B., Cunha, D. N. F. V., Amorim, P. L., Dantas, P. A. L., Lima, D. A., 2011. Produção de biomassa e morfogênese do capim-braquiária cultivado sob doses de nitrogênio ou consorciado com leguminosas. Revista Brasileira de Saúde Produção Animal, Salvador. 12 (4), p. 923- 934.
- Megías, E., Megías, M., Ollero, F.J., Hungria, M., 2016. Draft genome sequence of *Pantoea ananatis* strain AMG521, a rice plant growth-promoting bacterial endophyte isolated from the Guadalquivir marshes in southern Spain. Genome Announcements. 4 (1), e01681-15. (Doi:10.1128/genomeA.01681-15).
- Ormeño-Orrillo, E., Hungria, M., Martínez-romero, E., 2013. Dinitrogen-fixing prokaryotes. In: ROSEMBERG, E.; DE LONG, E.F.; LORY, S.; STACKEBRANDT, E.; THOMPSON, F. (Ed.), The Prokaryotes - prokaryotic physiology and biochemistry. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, pp.427-451. (DOI: 10.1007/978-3-642-30141-4_72).

Pan, B., Bay, Y.M., Leibovitch, S., Smith, D.L., 1999. Plant-growth promoting rhizobacteria and kinetin as ways to promote corn growth and yield in a short growing season area. *Eur J Agron.* 11 (3-4), p. 179-86.

Queiróz, B.P.V., Aguilar-Vildoso, C.I., Melo, I.S., 2006. Visualização in vitro da colonização de raízes por rizobactérias. *Summa Phytopathol.* 32 (1), p.95-7.

Rodríguez-Salazar, J., Suárez, R., Caballero-Mellado, J., Iturriaga, G., 2009. Trehalose accumulation in *Azospirillum brasilense* improves drought tolerance and biomass in maize plants. *Microbiol. Lett.* 296 (1), p.52–59.

Sá, J.C.M., Lal, R., Cerri, C.C., Lorenz, K., Hungria, M., Carvalho, P.C.C., 2017. Low-carbon agriculture in South America to mitigate global climate change and advance food security. *Environment International.* 98, p.102-112. (DOI: 10.1016/j.envint.2016.10.020)

Shoebitz, M., López, M. D., Roldán, A., 2013. Bioencapsulation of microbial inoculantes for better soilplant fertilization. A review. *Agronomy for Sustainable Development.* 33, p. 751-765.

Taiz, L., Zeiger, E., 2013. *Fisiologia vegetal.* 5.ed. Porto Alegre: Artemed, pp. 954.

Zucarelli, C., Cil, I.R., Prete, C.E.C., Prando, A.M., 2011. Eficiência agrônômica da inoculação à base de *Pseudomonas fluorescens* na cultura do milho. *Revista Agrarian.* 4, p. 152-7.

IV. BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO VEGETAL E N-FERTILIZANTE NA PRODUÇÃO E VALOR NUTRITIVO DA *UROCHLOA BRIZANTHA* CV. PAIAGUÁS¹

¹ Artigo escrito nas normas da revista Grass and Forage Science

Resumo: Explorar o potencial das bactérias promotoras de crescimento no desenvolvimento e manutenção das pastagens pode ser uma alternativa para evitar ou minimizar a sua degradação, e ainda restabelecer a produtividade e qualidade forrageira. Neste sentido, objetivou-se avaliar a produção da *Urochloa brizantha* cv. BRS Paiaguás inoculada com bactérias promotoras do crescimento vegetal e adubação nitrogenada. Avaliaram-se a produção de massa de folhas, a produção de massa de forragem, produção e geometria do sistema radicular, valor nutritivo (proteína bruta e digestibilidade da matéria seca) e o teor de clorofila da *U. brizantha* cv. BRS Paiaguás cultivada em solo originário do arenito e em substrato estéril, inoculada com cinco BPCV (*Azospirillum brasilense* Ab-V5 e Ab-V6, *Pseudomonas fluorescens* CCTB 03 e ET76 e *Pantoea ananatis* AMG521), além do controle não inoculado e em combinação com doses de N-fertilizante (zero, 50 e 100 kg ha⁻¹ de N), em um esquema fatorial 6x3 sob condições de casa de vegetação. De um modo geral, as bactérias quando inoculadas com a dose zero de N-fertilizantes foram mais efetivas na produção de massa de forragem por cortes, massa de forragem total, produção de massa de raízes e concentração de proteína bruta. Entre as estirpes utilizadas, destaca-se a inoculação com as *P. fluorescens* e *P. ananatis* AMG521. O uso de bactérias promotoras do crescimento vegetal representa uma boa alternativa para o cultivo de plantas forrageiras com incrementos na produção de massa de forragem, produção de raízes e concentração de proteína bruta, contribuindo também para a redução e otimização de fertilizantes minerais e, assim, podendo tornar o sistema mais sustentável. Todavia, a inoculação de BPCV não alteram o teor de clorofila das plantas.

Palavras-chave: biomassa vegetal, hormônios do crescimento vegetal, promoção de crescimento

Abstract: Exploring the potential of growth promoting bacteria in pastures development and maintenance can be an alternative to avoid or minimize degradation, and also to restore forage quality and productivity. In this sense, the objective was to evaluate the production of *Urochloa brizantha* cv. BRS Paiaguás inoculated with growth promoting bacteria and nitrogen fertilization. In this study, leaf mass production, stem mass production and chlorophyll content of *U. brizantha* cv. BRS Paiaguás cultivated in sandstone and sterile substrate inoculated with five PGPB (*Azospirillum brasilense* Ab-V5 and Ab-V6, *Pseudomonas fluorescens* CCTB 03 and ET76 and *Pantoea ananatis* AMG521) and different doses of N-fertilizer (0, 50 and 100 kg N ha⁻¹) under greenhouse conditions. In general, bacteria when inoculated with the zero dose of N-fertilizers were more effective in forage mass production by cutting, total forage mass, root mass production and crude protein concentration. Among the strains used, it is highlighted the inoculation with *P. fluorescens* and *P. ananatis* AMG521. The use of plant growth promoting bacteria represents a good alternative for the cultivation of forage plants with increases in forage mass production, root production and crude protein concentration, also contributing to the reduction and optimization of mineral fertilizers, making the system more sustainable. However, PGPB inoculation does not alter the chlorophyll content of plants.

Key words: plant biomass, plant growth hormones, growth promotion

Introdução

A agricultura nacional passou por diversas mudanças, como o abandono de algumas práticas convencionais e a adesão a tecnologias conservacionistas. Dentre as novas ferramentas, destaca-se o uso de bactérias promotoras do crescimento vegetal (BPCV), em substituição parcial ou complementar a fertilizantes químicos. A eficiência desses microrganismos em gramíneas foi relatada pela primeira vez na década de 1970 pela pesquisadora Johanna Döbereiner. No entanto, resultados divergentes, a facilidade e robustez de respostas a adubos químicos acarretaram na pouca adesão e exploração dessa tecnologia. Contudo, em função das mudanças que ocorreram no comportamento e no consumo da população em geral, notou-se a necessidade de retomar linhas de pesquisas visando à sustentabilidade agrícola.

Um dos principais benefícios relacionados às BPCV é a produção de fitormônios, com ênfase em auxinas, citocininas, giberelinas e ácido indol-acético. Esses fitormônios são responsáveis por transmitir informações entre células e, conseqüentemente, ordenar o crescimento e desenvolvimento das plantas, por meio da divisão, expansão e diferenciação celular. Em geral, aumentos na produtividade das gramíneas podem ser justificados pela maior disponibilidade desses fitormônios (Bashan et al., 2004).

Em conjunto com os benefícios ambientais e econômicos, a inoculação de BPCV pode se tornar uma ferramenta de manejo eficiente para repor o nitrogênio (N) no sistema solo-planta, além de assegurar maior rendimento, uniformidade de forragem e, conseqüentemente, aumento da produção animal (Moojen, 2002). Como exemplo, em um estudo com capim-marandu (*Urochloa brizantha*) o uso de BPCV resultou em maior produtividade, confirmando os efeitos positivos da inoculação em gramíneas forrageiras (Oliveira et al., 2007).

Em outro estudo, a inoculação com *Azospirillum brasilense* em diferentes espécies de gramíneas (milho, braquiária e cana-de-açúcar) permitiu a redução de fertilizantes nitrogenados sem reduzir a produção de massa de forragem (Voguel et al., 2014). A associação entre 40 kg ha⁻¹ de N e a inoculação com *A. brasilense* estirpes Ab-V5 e Ab-V6 em três regiões do Brasil resultou em maiores rendimentos na biomassa de forragens de *Urochloa* spp. (Hungria et al. 2016). Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi o de avaliar a produção de massa de forragem, massa de raízes, concentração de proteína bruta, digestibilidade da matéria seca e o teor de clorofila em *Urochloa brizantha* cv. BRS Paiaguás inoculada com BPCV e adubada com diferentes níveis de N-fertilizante.

Material e Métodos

Estabelecimento e condução dos ensaios

O experimento foi conduzido no setor de ambientes protegidos, em estufa agrícola, no Centro Técnico de Irrigação da Universidade Estadual de Maringá, em Maringá - PR, no período de outubro de 2015 a outubro de 2016, em substrato estéril ou em solo de textura arenosa. Os tratamentos consistiram de cinco de bactérias promotoras do crescimento vegetal (BPCV): controle não inoculado; *Azospirillum brasilense* estirpe Ab-V5 (=CNPSO 2083), *Azospirillum brasilense* Ab-V6 (=CNPSO

2084); *Pseudomonas fluorescens* estirpe CCTB 03 (=CNPSo 2719); *Pseudomonas fluorescens* estirpe ET76 (=CNPSo 2799); e *Pantoea ananatis* estirpe AMG521 (=CNPSo 2798). Cada tratamento inoculado foi avaliado em função de três níveis de N (zero, 50 e 100 kg ha⁻¹ de N), com ureia como fonte de N. As estirpes de BPCV estão depositadas na “Coleção de Microrganismos Multifuncionais da Embrapa Soja: Bactérias Diazotróficas e Promotoras do Crescimento de Plantas” (World Federation Culture Colletion-WFCC # 1213, World Data Centre for Microorganisms-WDCM # 1054). As bactérias são provenientes de programas de seleção de BPCV da Embrapa Soja (Ab-V5 e Ab-V6, selecionadas no Brasil, inicialmente para as culturas do milho e do trigo, Hungria et al., 2010), da empresa Total Biotecnologia, CCTB 03, da Universidade de Sevilha (ET 76, isolada no Marrocos, Aaarab et al., 2016); AMG 521, isolada na Espanha, (Megías et al., 2016). Os tratamentos foram avaliados em capim-paiaguás (*Urochloa brizantha* cv. BRS Paiaguás). O ensaio foi conduzido em um esquema fatorial 6 x 3, com 6 repetições, totalizando 108 unidades experimentais para cada tipo de substrato.

Os ensaios foram conduzidos em vasos de 15 kg de capacidade, que foram preenchidos com 15 kg de solo Arenito Caiuá, Latossolo Vermelho distrófico, de classe textural franco-areno-argilosa com as seguintes características químicas: pH = 4,7; Ca = 1,0 cmol_c dm⁻³; Mg = 0,5 cmol_c dm⁻³; Al = 0,1 cmol_c dm⁻³; P (Mehlich) = 5,0 mg dm⁻³; K = 0,16 cmol_c dm⁻³; V = 31,56%; M.O.= 2,1%. Em todos os vasos foram aplicados o equivalente a 20 kg ha⁻¹ de N (ureia 45% N), 42,5 kg ha⁻¹ de K₂O (cloreto de potássio 48% K₂O) e 84 kg ha⁻¹ de P₂O₅ (superfosfato simples 18% P₂O₅), incorporados ao solo no momento da semeadura. No ensaio com substrato estéril, utilizou-se vasos de 7 kg de capacidade, que foram preenchidos com 7 kg de uma mistura de 1:1 de areia lavada e carvão moído e aplicado uma solução nutritiva.

Os inóculos das bactérias foram preparados em meio líquido específico para cada bactéria e, no momento da semeadura, ajustados para a concentração final de 10⁸ células mL⁻¹. Foram misturados 15 mL de cada inóculo por kg de sementes, deixando secar à sombra por 30 minutos. Foram semeadas 10 sementes por vaso e, uma semana após a emergência das plântulas, foi realizado o desbaste, deixando-se cinco plantas por vaso.

Imediatamente após o desbaste, iniciou-se a aplicação de N-fertilizante, nos tratamentos correspondentes a 100 kg ha⁻¹ de N e 50 kg ha⁻¹ de N. Para 100 kg ha⁻¹ de N

foram adicionados $0,75 \text{ g vaso}^{-1}$ de N ($1,67 \text{ g vaso}^{-1}$ de ureia) e, para 50 kg ha^{-1} de N, $0,375 \text{ g vaso}^{-1}$ de N ($0,83 \text{ g vaso}^{-1}$ de ureia), parcelados em duas doses e incorporados ao solo contido no vaso. Metade da dose foi aplicada logo após o desbaste e a outra metade após 28 dias.

As plantas foram irrigadas diariamente, através de irrigação automatizada, programada três vezes ao dia em dias com temperaturas amenas e quatro vezes ao dia em dias com altas temperaturas com água destilada esterilizada durante dois minutos, para atingir a capacidade de campo. Foram anotados os dados de temperatura máxima e mínima na estufa durante o período de estudo (Figura 1).

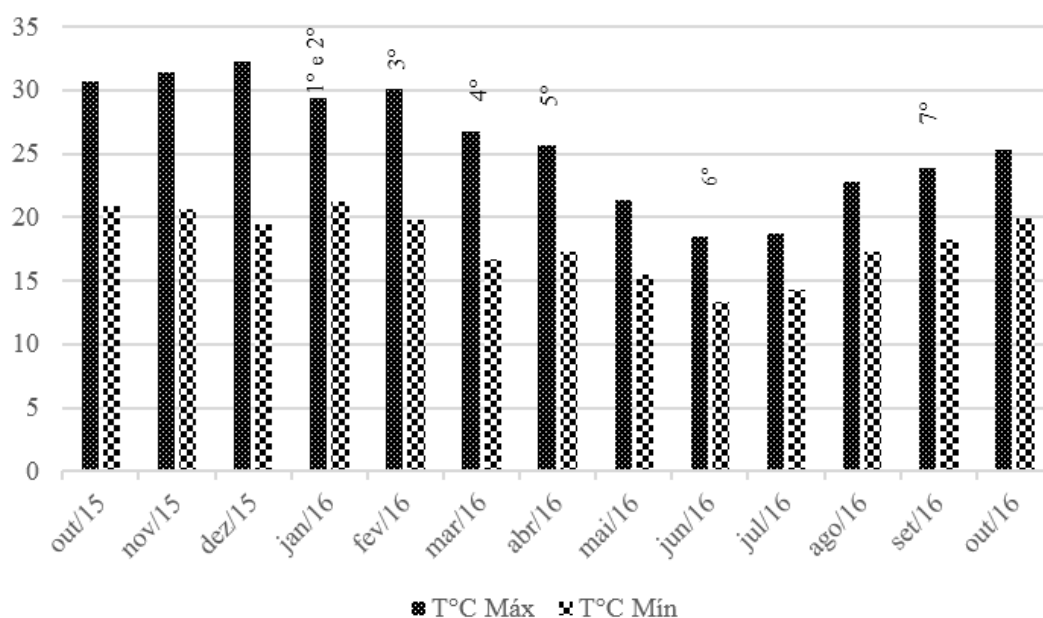


Figura 1. Temperatura máxima (T°C Máx) e mínima (T°C Mín) durante o período experimental

Avaliações realizadas

Durante o experimento foram realizadas medições de altura das plantas três vezes por semana, com auxílio de uma régua graduada, medindo na base da planta até a folha bandeira. Quando as plantas atingiram, em média, 35 cm de altura, foram cortadas, deixando-se 15 cm como resíduo. No corte final (sétimo corte), os perfilhos foram cortados rente ao solo. Após o corte, as amostras foram pesadas e foi realizada a separação dos componentes morfológicos em lâminas foliares e em pseudocolmo. Cada

componente foi pesado e levado para estufa a 65°C por 72 horas e, depois, pesado para a determinação da massa seca.

O primeiro corte das plantas estabelecidas em solo ocorreu dia 04 de janeiro de 2016, o segundo corte 20 de janeiro de 2016, o terceiro 09 de fevereiro de 2016, o quarto 05 de março de 2016, o quinto corte 20 de abril de 2016, o sexto corte dia 03 de junho de 2016 e o corte final dia 30 de setembro de 2016. Já nos vasos cultivados em substrato, o primeiro corte ocorreu no dia 10 de janeiro de 2016, o segundo dia 25 de fevereiro de 2016, o terceiro corte dia 02 de maio de 2016, o quarto corte dia 15 de agosto de 2016 e o corte final dia 05 de outubro de 2016.

Após a secagem, as amostras foram moídas a 2 mm em moinhos tipo faca e levadas ao Complexo de Centrais de Apoio à Pesquisa (COMCAP) da Universidade Estadual de Maringá, na Central de Agropecuária e Agronegócio para a determinação de proteína bruta (PB) e digestibilidade da matéria seca (DVMS) através do equipamento Near infra Red System (NIRS) da marca Foss NIRSystems XDS. Para a mensuração da clorofila foi utilizado o equipamento clorofiLOG - CFL1030 da Falker, realizando-se a medição na última folha expandida de dois perfilhos previamente identificado em cada vaso antes de cada corte.

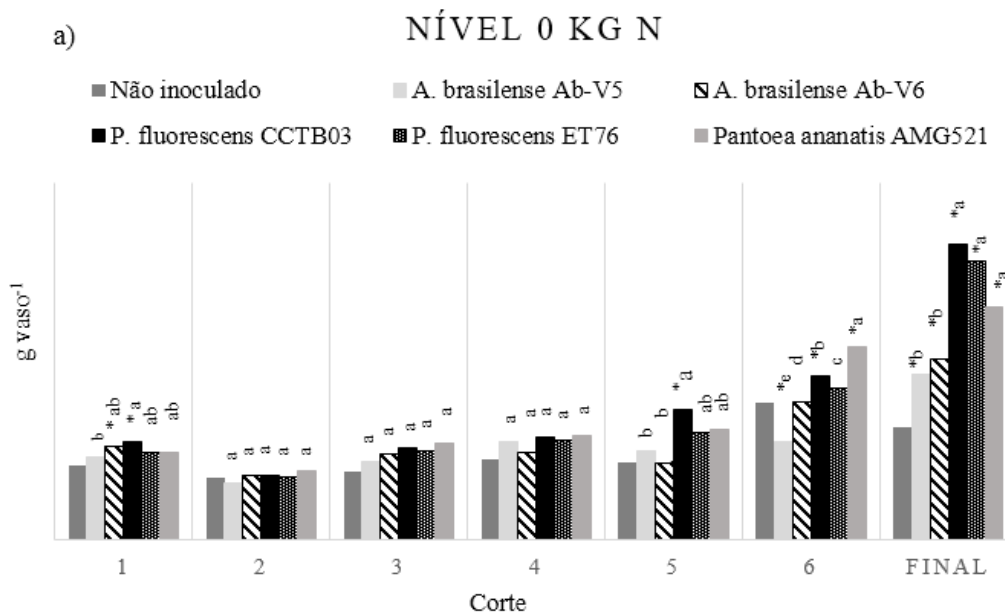
Ao final do experimento, as raízes de cada vaso foram lavadas, pesadas e secas em estufa de ventilação forçada a 65°C por 72 horas, para a determinação da massa de raízes secas. Para a geometria das raízes, foi retirada 1g de raiz das amostras após a secagem para determinar a densidade (mm.dcm^3), área (m^2), diâmetro (mm) e o comprimento (mm), por meio de análise de imagem utilizando o software Delta T Scan.

Análise estatística

Os dados foram analisados, considerando-se o fatorial de 6 tratamentos de inoculação x 3 níveis de N-fertilizante. As médias entre os grupos controle (sem bactérias ou sem adubação nitrogenada) e os grupos tratados foram comparadas utilizando-se o teste de Dunnet e as médias entre os tratamentos foram comparadas entre si pelo teste de t student. Quando foi identificado efeito da interação entre os fatores, as respostas a cada tipo de bactéria foram comparadas dentro de cada dose de adubação nitrogenada. Em todas as análises estatísticas utilizou-se o PROC GLM do pacote estatístico “Statistical Analysis System” – SAS V 9.2 (SAS Institute Inc. Cary, CA), e um nível de significância de 5%.

Resultados

Observou-se interação tripla entre o N-fertilizante, inoculação e corte na produção de massa de forragem (PMF) do capim-paiaguás (Figura 2). No nível zero de N-fertilizante (N0), os cortes 1, 5, 6 e final apresentaram diferenças entre os tratamentos. No primeiro corte e N0, as bactérias *A. brasilense* Ab-V6 e *P. fluorescens* CCTB03 diferiram do tratamento não inoculado, com aumento médio de aproximadamente 37%. Entretanto, entre as bactérias, a *P. fluorescens* CCTB 03 proporcionou maior PMF, que as demais.



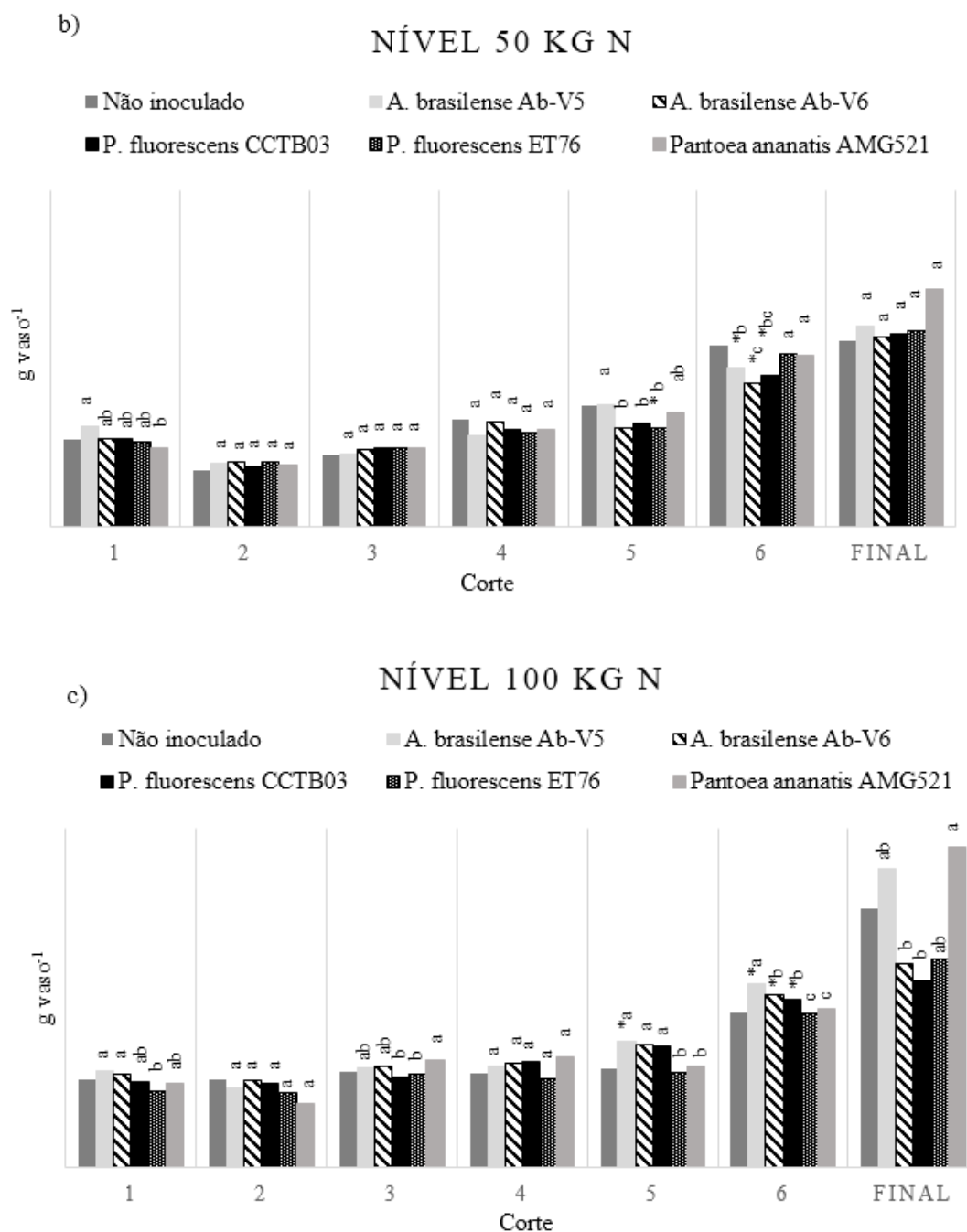


Figura 2. Produção de massa de forragem (PMF) da *Urochloa brizantha* cv. BRS Paiaguás inoculada com bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) sob diferentes níveis de N-fertilizante.

^a Médias de seis repetições e, quando seguidas de letras minúsculas diferentes, em cada coluna, diferem entre si pelo teste t ao nível de 5%.

^b Médias de seis repetições e, quando seguidas de um asterisco (*) diferem do tratamento não inoculado pelo teste de Dunnett ao nível de 5%.

No quinto corte e no nível N0, a bactéria *P. fluorescens* CCTB03 promoveu maior PMF do que o tratamento não inoculado, com acréscimo médio de 69%, essa estirpe também diferiu das demais, exceto para a *P. fluorescens* ET76 e *Pantoea ananatis* AMG521 (Figura 2). No sexto corte (N0), as bactérias *P. fluorescens* CCTB03 e *P. ananatis* AMG521 proporcionaram maior PMF em relação ao não inoculado, com aumento de 19% e 41%. Contudo, o *A. brasilense* Ab-V5 propiciou redução na PMF em relação ao tratamento não inoculado. No corte final todas as bactérias promoveram maior PMF que o tratamento não inoculado, com destaque para a *P. fluorescens* CCTB03 e ET76 e *Pantoea ananatis* AMG521.

Os tratamentos inoculados com bactérias e associados a 50 kg de N-fertilizante (N50), divergiram entre si nos cortes 1, 5 e 6 (Figura 2). No primeiro corte e no nível N50, a estirpe *A. brasilense* Ab-V5 destacou-se na PMF em relação estirpe AMG521. No quinto corte e N50, a *P. fluorescens* ET76 promoveu redução na PMF. Com relação aos tratamentos com as bactérias, a estirpe Ab-V5 destacou-se na PMF nesse corte e nível. No sexto corte, as bactérias *A. brasilense* Ab-V5, *A. brasilense* Ab-V6 e *P. fluorescens* CCTB 03, associadas a 50 kg N-fertilizante, apresentaram redução 14, 26 e 19% na PMF, respectivamente, em relação às planta não inoculadas.

Nas plantas inoculadas com 100 kg N (N100), observaram-se diferenças entre os tratamentos nos cortes 1, 3, 5, 6 e final (Figura 2). No corte 1, as duas estirpes de *A. brasilense* associadas a N100, apresentaram incremento na PMF de 26 e 22% em relação à *P. fluorescens* ET76. No terceiro corte, a associação com N100, beneficiou os tratamentos que receberam inoculação das bactérias *P. ananatis* AMG521, *A. brasilense* Ab-V5 e Ab-V6, com maior PMF que o tratamento com as duas estirpes *P. fluorescens*.

No quinto corte (N100), apenas a inoculação com *A. brasilense* Ab-V5 divergiu estatisticamente do tratamento não inoculado, com aumento de 28% na PMF. Entre as bactérias, a inoculação das estirpes Ab-V5, Ab-V6 e CCTB03 associada a 100 kg N promoveram aumentos na PMF. No sexto corte as estirpes Ab-V5, Ab-V6 e CCTB03 promoveram maiores PMF que as plantas não inoculadas, sendo também mais produtivas que as últimas duas (ET76 e AMG5621). No último corte, as estirpes Ab-V6 e CCTB03 proporcionaram menores PMF.

Houve interação entre a inoculação e N-fertilizante para produção de massa de forragem total, razão folha:colmo e produção de massa de raízes do capim-paiaguás (Tabela 1). Para produção de massa de forragem total (PMFT) e N0, as bactérias *P.*

fluorescens CCTB03, *P. fluorescens* ET76 e *P. ananatis* AMG521 promoveram incremento de 54, 41 e 46%, respectivamente, em relação ao tratamento não inoculado. No N100, o *A. brasilense* Ab-V5 promoveu maior PMFT entre as estirpes. Todavia, a inoculação do *A. brasilense* Ab-V6 nesse mesmo nível de N-fertilizante proporcionou menor PMTF.

Na produção de massa de raízes (PMR), observou-se que as duas estirpes de *P. fluorescens* e a *P. ananatis* AMG521 promoveram incrementos médio 42% no N0 e acima de 100% no N50. No entanto, em ambos os níveis de N-fertilizante as demais bactérias (Ab-V5 e Ab-V6) também proporcionaram aumento na massa de raízes do capim-paiaguás. No maior nível de N-fertilizante (N100), o uso da inoculação (independe da estirpe) duplicou a PMR, em relação ao não inoculado (Tabela 1).

A maior razão folha: colmo ocorreu pela inoculação das estirpes CCTB03 e AMG521 no nível zero de N-fertilizante. Para o N50 a maior razão folha:colmo foi observada nas plantas inoculadas com *P. fluorescens* ET76, enquanto a estirpe *A. brasilense* Ab-V6 no N100 promoveu o incremento na produção de massa de raízes de 21% quando comparado ao não inoculado (Tabela 1).

Tabela 1. Produção de massa de forragem total (PMFT), produção de massa de raízes (PMR) e razão folha:colmo (RF:C) da *Urochloa brizantha* cv. BRS Paiaguás inoculada com bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) sob diferentes níveis de N-fertilizante.

Nitrogênio (kg ha ⁻¹)	BPCV						CV (%)
	Não inoculado	<i>A. brasilense</i> Ab-V5	<i>A. brasilense</i> Ab-V6	<i>P. fluorescens</i> CCTB 03	<i>P. fluorescens</i> ET76	<i>P. ananatis</i> AMG521	
Produção Total (g vaso ⁻¹)							
0	171,28 d	187,11 cd	202,21 c	264,28 a	241,23 b	249,77 ab	7,37
50	241,42 a	241,36 a	228,51 a	230,53 a	248,49 a	241,42 a	8,44
100	259,89 bc	294,76 a	227,62 d	248,50 bc	234,00 c	279,70 ab	14,94
Produção de raiz (g vaso ⁻¹)							
0	93,43 f	104,65 e	116,17 d	142,36 b	128,49 c	182,62 a	8,66
50	76,92 d	123,07 c	138,01 bc	186,72 a	176,80 a	168,18 ab	19,20
100	116,47 c	260,08 ab	281,24 a	234,70 b	236,56 b	262,18 ab	15,25
Razão folha:colmo total							
0	1,25 b	1,28 b	1,31 b	1,47 a	1,32 b	1,52a	6,58
50	1,29 c	1,43 ab	1,31 c	1,34 bc	1,45 a	1,30 c	6,00
100	1,39 b	1,33 b	1,62 a	1,43 b	1,45 b	1,38 b	8,53

^a Médias de seis repetições e, quando seguidas de diferentes letras, em cada linha, diferem entre si pelo teste t ao nível de 5%.

Verificou-se também interação entre os fatores (bactéria, adubação nitrogenada e corte) no teor de clorofila total (TCT) (Tabela 2). Na dose N0, no corte 3, as bactérias *A. brasilense* Ab-V5 e *P. fluorescens* ET76 diferiram do tratamento não inoculado em 54 e 65%, respectivamente, com destaque para a ET76; a superioridade dessa estirpe também foi confirmada no corte final.

No nível N50, verificaram diferenças entre os tratamentos apenas nos cortes 1 e 6, em ambos os cortes a inoculação com *P. fluorescens* ET76 promoveu maior TCT que a *P. fluorescens* CCTB 03. Na dose N100, observaram diferenças entre as bactérias apenas no sexto corte, com destaque para *P. ananatis* AMG521, sendo diferente o TCT em relação a *A. brasilense* Ab-V6.

Tabela 2. Teor de clorofila total (TCT) da *Urochloa brizantha* cv. BRS Paiaguás inoculada com bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) sob diferentes níveis de N-fertilizante.

Nível 0 kg N							
Bactéria/Corte	1	2	3	4	5	6	Final
Não inoculado	25,38	25,78	19,09	27,92	23,82	27,34	22,64
<i>A. brasilense</i> Ab-V5	29,43 a	29,71 a	29,33 *ab	26,83 a	25,18 a	25,86 a	25,3 ab
<i>A. brasilense</i> Ab-V6	25,54 a	23,88 a	23,02 b	25,11 a	24,53 a	27,41 a	22,43 ab
<i>P. fluorescens</i> CCTB 03	28,36 a	28,57 a	26,38 ab	25,68 a	26,17 a	29,87 a	24,19 ab
<i>P. fluorescens</i> ET76	28,43 a	27,78 a	31,53 *a	28,38 a	27,5 a	26,73 a	28,9 a
<i>P. ananatis</i> AMG521	31,58 a	27,41 a	24,71 ab	27,78 a	26,03 a	26,01 a	20,06 b
Standard Error	3,14	2,82	2,41	2,39	3,32	2,57	2,41
Nível 50 kg N							
Bactéria/Corte	1	2	3	4	5	6	Final
Não inoculado	25,59	25,35	25,43	25,77	25,28	25,07	20,87
<i>A. brasilense</i> Ab-V5	26,46 ab	26,37 a	24,43 a	29,62 a	22,25 a	26,11 ab	23,63 a
<i>A. brasilense</i> Ab-V6	24,64 ab	26,83 a	24,8 a	26,46 a	25,91 a	27,92 ab	21,79 a
<i>P. fluorescens</i> CCTB 03	23,27 b	24,33 a	23,84 a	29,06 a	22,37 a	23,47 b	23,34 a
<i>P. fluorescens</i> ET76	29,32 a	27,83 a	27,52 a	28,92 a	28,25 a	29,63 a	24,17 a
<i>P. ananatis</i> AMG521	28,78 a	25,92 a	26,58 a	26,06 a	27,03 a	30,87 a	22,12 a
Standard Error	1,66	2,37	1,79	2,00	2,39	1,82	1,52
Nível 100 kg N							
Bactéria/Corte	1	2	3	4	5	6	Final
Não inoculado	29,58	31,03	27,69	27,37	29,87	29,08	30,25
<i>A. brasilense</i> Ab-V5	30,02 a	30,42 a	31,74 a	27,72 a	30,21 a	27,13 ab	24,66 a
<i>A. brasilense</i> Ab-V6	28,28 a	29,28 a	28,63 a	28,73 a	31,89 a	23,95 b	24,16 a
<i>P. fluorescens</i> CCTB 03	31,90 a	31,34 a	28,75 a	28,46 a	30,34 a	26,95 ab	25,09 a
<i>P. fluorescens</i> ET76	26,85 a	30,43 a	28,81 a	29,18 a	31,6 a	29,02 ab	24,43 a
<i>P. ananatis</i> AMG521	30,74 a	27,35 a	30,98 a	27,04 a	29,56 a	31,98 a	28,02 a
Standard Error	3,04	2,70	2,88	2,44	2,81	2,29	2,35

^a Médias de seis repetições e, quando seguidas de letras minúsculas diferentes, em cada coluna, diferem entre si pelo teste t ao nível de 5%.

^b Médias de seis repetições e, quando seguidas de um asterisco (*) diferem do tratamento não inoculado pelo teste de Dunnet ao nível de 5%.

Verificou-se efeito triplo entre inoculação, N-fertilizante e corte na concentração de proteína bruta do capim-paiaguás (Tabela 3). Observou-se diferença na PB em todos

os cortes no nível zero de N-fertilizante (Tabela 3). No primeiro corte e N0, as estirpes Ab-V5, Ab-V6 e AMG521 diferiram do tratamento não inoculado. Enquanto no segundo corte a *P. ananatis* AMG521 promoveu maior concentração de PB, em relação aos demais tratamentos.

Tabela 3. Concentração de proteína bruta (PB) (g kg^{-1}) da *Urochloa brizantha* cv. BRS Paiaguás inoculada com bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) sob diferentes níveis de N-fertilizante.

Nível 0 kg N							
Bact\Corte	1	2	3	4	5	6	Final
Não inoculado	160,60	156,60	145,30	158,00	112,10	108,20	77,30
<i>A. brasilense</i> Ab-V5	151,80 *c	162,00 b	179,80 a	160,00 b	136,70 b	115,90 c	101,30 c
<i>A. brasilense</i> Ab-V6	160,90 b	158,70 b	144,80 b	122,40 b	151,90 *ab	153,90 *a	111,20 *c
<i>P. fluorescens</i> CCTB03	139,60 *d	176,80 b	144,80 b	175,70 ab	149,00 *ab	135,60 *b	141,20 *ab
<i>P. fluorescens</i> ET76	158,80 b	143,40 b	159,70 ab	185,50 b	145,20 ab	118,40 c	158,40 *a
<i>Pantoea ananatis</i> AMG521	167,00 *a	202,40 *a	168,00 ab	174,80 ab	171,20 *a	111,50 c	131,40 *a
Standard Error	0,12	0,96	1,02	0,77	0,97	0,41	0,71
Nível 50 kg N							
Bact\Corte	1	2	3	4	5	6	Final
Não inoculado	164,70	189,90	1750,00	185,70	117,30	106,60	78,40
<i>A. brasilense</i> Ab-V5	173,50 *b	179,80 a	184,20 a	166,40 a	169,30 *a	136,50 *a	142,20 *ab
<i>A. brasilense</i> Ab-V6	176,50 *ab	175,00 a	182,50 a	167,00 a	135,50 b	143,00 *a	134,70 *ab
<i>P. fluorescens</i> CCTB03	171,00 b	182,40 a	181,50 a	172,80 a	159,80 *ab	135,70 *a	133,30 *ab
<i>P. fluorescens</i> ET76	172,80 *b	171,10 a	159,00 a	164,50 a	153,70 *ab	142,00 *a	124,60 *b
<i>Pantoea ananatis</i> AMG521	179,80 *a	195,00 a	183,10 a	175,90 a	164,00 *a	148,30 *a	145,00 *a
Standard Error	0,19	1,04	0,95	0,61	0,88	0,74	0,62
Nível 100 kg N							
Bact\Corte	1	2	3	4	5	6	Final
Não inoculado	161,00	188,50	173,30 a	179,50	106,50	102,90	104,00
<i>A. brasilense</i> Ab-V5	168,40 b	194,70 ab	182,80 a	175,00 a	146,30 *b	149,10 *a	150,50 *ab
<i>A. brasilense</i> Ab-V6	176,70 ab	178,10 b	181,20 a	175,20 a	144,50 *b	136,90 *ab	141,10 *ab
<i>P. fluorescens</i> CCTB03	175,70 ab	197,20 ab	195,30 a	191,00 a	166,50 *ab	117,50 b	132,60 *b
<i>P. fluorescens</i> ET76	191,30 *a	201,50 a	182,30 a	192,60 a	144,80 *b	123,60 b	145,30 *ab
<i>Pantoea ananatis</i> AMG521	172,50 b	187,50 ab	202,50 a	179,00 a	176,80: *a	126,60 b	154,60 *a
Standard Error	0,64	0,72	0,70	0,83	0,83	0,74	0,66

^a Médias de seis repetições e, quando seguidas de letras minúsculas diferentes, em cada coluna, diferem entre si pelo teste t ao nível de 5%.

^b Médias de seis repetições e, quando seguidas de um asterisco (*) diferem do tratamento não inoculado pelo teste de Dunnet ao nível de 5%.

A *P. ananatis* AMG521 divergiu do não inoculado, com incremento de 4% (primeiro corte), de 29% (segundo corte), de 53% (quinto corte) e de 70% (no corte final) na concentração de PB. No terceiro corte, a maior concentração de PB foi promovida pela inoculação do *A. brasilense* Ab-V5, no quarto corte destacou-se *P. fluorescens* ET76 e no sexto corte *A. brasilense* Ab-V6.

No nível de 50 kg de N-fertilizante, houve divergências entre os tratamentos nos cortes 1, 5, 6 e final. Nesses cortes, todas as bactérias, exceto *P. fluorescens* CCTB03 (primeiro corte) e *A. brasilense* Ab-V6 (quinto corte), diferiram do não inoculado na concentração de PB do capim-paiaguás, com destaque para a inoculação das estirpes ET76 e AMG521 (Tabela 3).

No N100, verificou-se discrepância entre os tratamentos nos dois cortes iniciais e nos três finais. No primeiro corte, *P. fluorescens* ET76 promoveu aumento de 19% na PB. No sexto corte, as duas estirpes de *A. brasilense* proporcionaram aumento médio de 39% na PB do capim-paiaguás. Nos demais cortes (quinto e final), todas as bactérias divergiram do não inoculado (Tabela 3).

Houve interação entre BPCV e corte na digestibilidade da matéria seca (DVMS) do capim-paiaguás, com diferenças entre os tratamentos nos cortes 1, 5, 6 e final (Tabela 4). No primeiro corte, a menor DVMS foi proporcionada pelas estirpes Ab-V6 e AMG521. No quinto corte, a *P. ananatis* AMG521 promoveu maior DVMS do capim-paiaguás, sendo 10% mais digestível que o não inoculado.

No sexto corte, *A. brasilense* Ab-V6 e *P. fluorescens* CCTB03 aumentaram a DVMS em 9 e 8%, em relação ao não inoculado. No corte final, as plantas foram mais digestíveis quando se inoculou as estirpes Ab-V5, CCTB03, ET76 e AMG521.

Tabela 4. Digestibilidade da matéria seca (DVMS) (g kg^{-1}) da *Urochloa brizantha* cv. BRS Paiaguás inoculada com bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV).

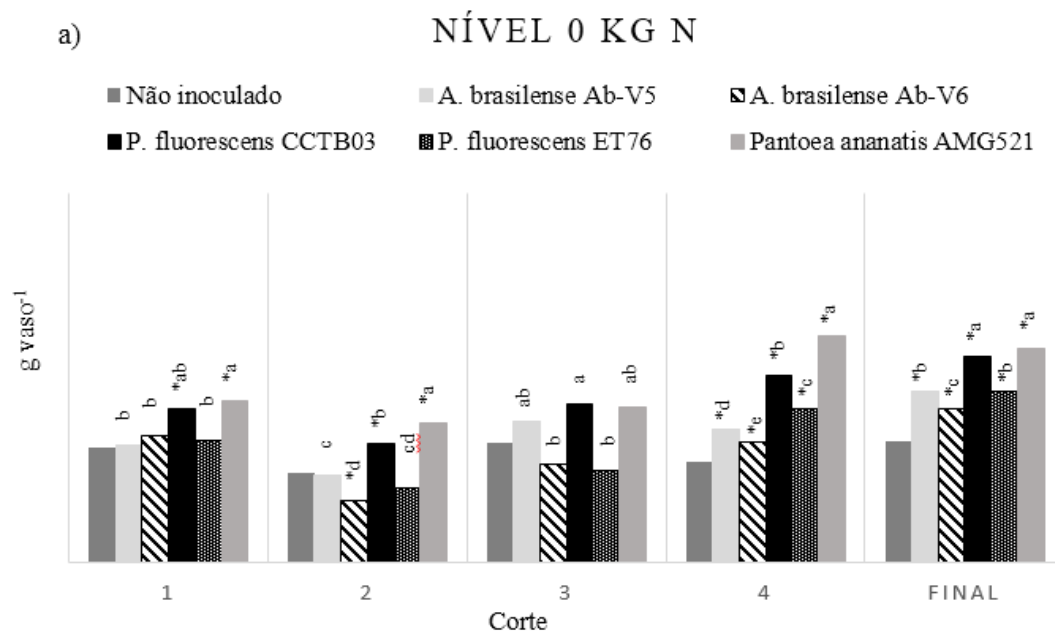
Bact\Corte	1	2	3	4	5	6	Final
Não inoculado	741,40 a	716,60 a	729,20 a	724,99 a	682,66 c	679,90 c	703,73 b
<i>A. brasilense</i> Ab-V5	738,90 ab	731,00 a	716,54 a	725,51 a	731,00 ab	720,52 ab	729,43 a
<i>A. brasilense</i> Ab-V6	728,40 b	727,50 a	728,50 a	725,94 a	726,00 b	739,50 a	713,83 ab
<i>P. fluorescens</i> CCTB03	732,10 ab	717,60 a	727,00 a	729,18 a	742,28 ab	736,84 a	734,68 a
<i>P. fluorescens</i> ET76	730,00 ab	724,90 a	735,94 a	722,38 a	739,60 ab	711,32 b	731,62 a
<i>Pantoea ananatis</i> AMG521	727,10 b	723,60 a	722,72 a	726,82 a	748,10 a	709,32 b	735,00 a
Standard Error	0,46	0,81	0,82	0,68	0,73	0,71	0,82

^a Médias de seis repetições e, quando seguidas de diferentes letras, em cada linha, diferem entre si pelo teste t ao nível

de 5%.

Não houve efeito da inoculação das bactérias promotoras do crescimento vegetal sob diferentes níveis de N-fertilizante na geometria das raízes do capim-paiaguás (dados não mostrados).

No experimento conduzido em substrato estéril, observou-se interação entre N-fertilizante, inoculação e corte na produção de massa de forragem (Figura 3). No N0, verificou-se diferenças entre a inoculação e o não inoculado em todos os cortes, exceto no terceiro corte, nesse corte houve apenas discrepância entre as bactérias utilizadas.



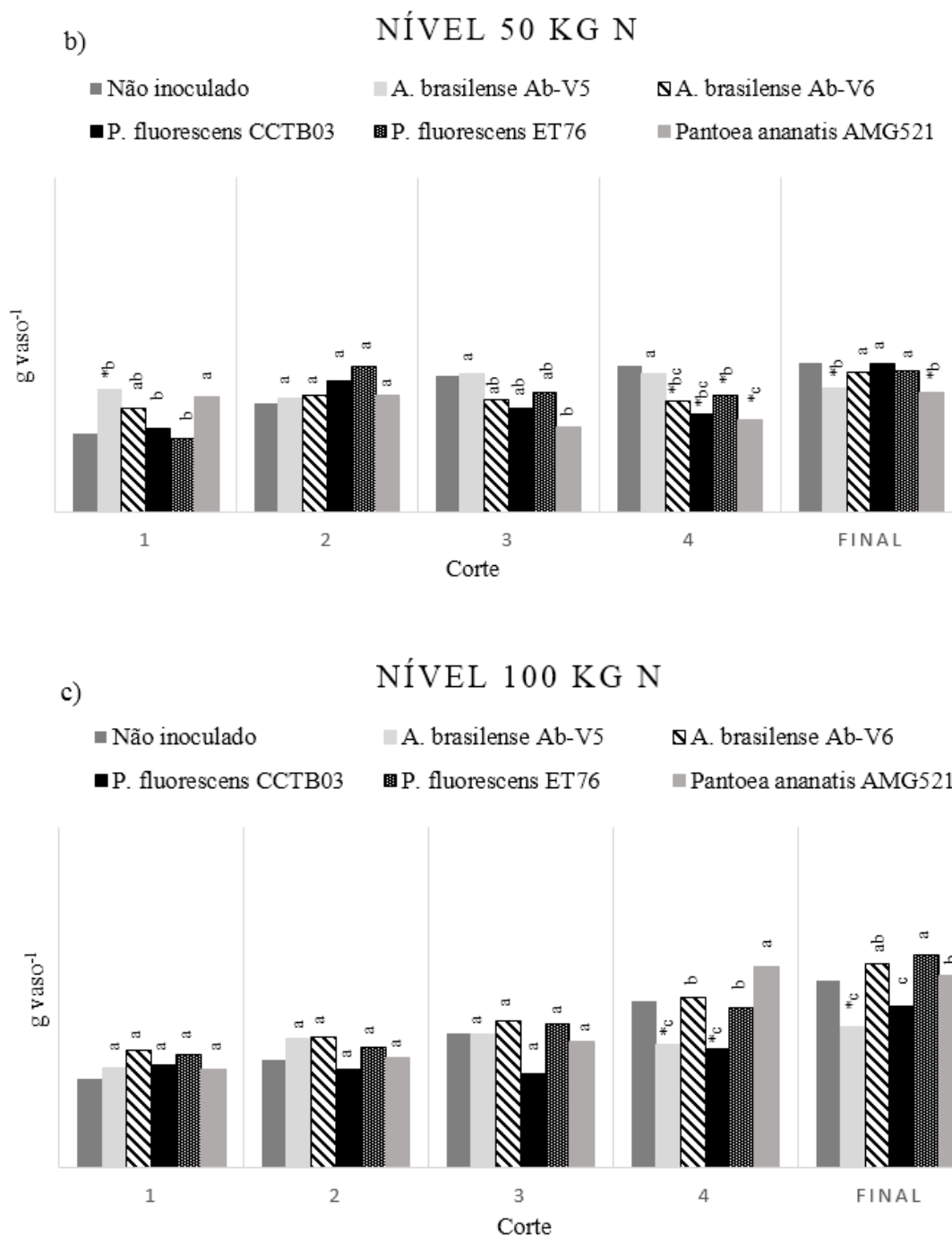


Figura 3. Produção de massa de forragem (PMF) da *Urochloa brizantha* cv. BRS Paiaguás em substrato estéril e inoculada com bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) sob diferentes níveis de N-fertilizante.

^a Médias de seis repetições e, quando seguidas de letras minúsculas diferentes, em cada coluna, diferem entre si pelo teste t ao nível de 5%.

^b Médias de seis repetições e, quando seguidas de um asterisco (*) diferem do tratamento não inoculado pelo teste de Dunnet ao nível de 5%.

Em geral, nesse nível de N-fertilizante ressalta-se o desempenho da estirpe *P. ananatis* AMG521 na PMF, com aumento na produtividade na ordem de 40% (primeiro corte), 56% (segundo corte) e acima de 100% (quarto corte), quando comparado ao não inoculado. Contudo, essa estirpe também se destacou entre as bactérias. Todas as bactérias diferiram do não inoculado no último corte.

No N50, houve discrepância entre os tratamentos em todos os cortes, exceto no segundo corte (Figura 3). Comparando-se os tratamentos inoculado e não inoculado, constatou-se divergências de bactérias entre os cortes, no primeiro corte ocorreu aumento de 33% na PMF quando se inoculou *P. fluorescens* CCTB03, porém no quarto corte ocorreu redução nesse parâmetro quando usou as estirpes Ab-V6, CCTB03, ET76 e AMG521. Em relação ao efeito das estirpes na PMF do capim-paiaguás, no corte inicial a bactéria *P. ananatis* AMG521 elevou a produtividade. No terceiro e quarto corte (N50), o aumento na produção de massa de forragem foi observado no tratamento que recebeu a inoculação com a estirpe *A. brasilense* Ab-V5. No corte final, a inoculação com as estirpes Ab-V5 e AMG521 promoveram redução na PMF, em relação ao tratamento não inoculado. No nível de 100 kg de N-fertilizante, observou-se discrepância entre a inoculação e o não inoculado no quarto corte, com aumento de 21% na PMF do capim-paiaguás quando inoculado com *P. ananatis* AMG521 (Figura 3). Ainda nesse corte, essa estirpe também se destacou na PMF do que as demais.

Verificou-se interação entre BPCV e adubação nitrogenada na produção de massa de forragem total, produção de massa de raízes e razão folha:colmo do capim-paiaguás (Tabela 5). No nível zero de N-fertilizante, a *P. ananatis* AMG521 promoveu incremento de 64% na PMFT do que o não inoculado. Porém, no N50 essa bactéria proporcionou menor PMFT, em relação aos demais tratamentos. O uso da *P. fluorescens* CCTB03 associada a 100 kg ha⁻¹ N divergiu das estirpes Ab-V6 e ET76, com redução nesse parâmetro.

Na produção de massa de raízes e N0, a *P. ananatis* AMG521 incrementou esse parâmetro em 43%, quando comparado ao não inoculado. No N50, destacou-se a inoculação da *P. fluorescens* ET76. Porém, a maior PMR no nível 100 kg de N-fertilizante foi proporcionada pelo uso da Ab-V5, com produção de 100 g de raízes a mais que o tratamento não inoculado. A *P. ananatis* AMG destacou-se novamente entre os tratamentos na RF:C no nível zero de N-fertilizante e N100. Contudo, no N50 a maior RF:C foi promovida pela inoculação do *A. brasilense* Ab-V6 (Tabela 5).

Tabela 5. Produção de massa de forragem total (PMFT), produção de massa de raízes (PMR) e razão folha:colmo (RF:C) da *Urochloa brizantha* cv. BRS Paiaguás em substrato estéril e inoculada com bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) sob diferentes níveis de N-fertilizante.

Nitrogênio (kg ha ⁻¹)	BPCV						CV (%)
	Não inoculado	<i>A. brasilense</i> Ab-V5	<i>A. brasilense</i> Ab-V6	<i>P. fluorescens</i> CCTB 03	<i>P. fluorescens</i> ET76	<i>P. ananatis</i> AMG521	
Produção Total (g vaso ⁻¹)							
0	148,09 e	175,66 c	151,83 de	223,54 b	166,28 cd	242,27 a	7,04
50	185,75 a	188,03 a	175,03 ab	169,87 ab	179,27 ab	159,00 b	12,10
100	202,01 ab	184,73 bc	226,53 a	169,09 c	220,62 a	213,24 ab	12,89
Produção de raiz (g vaso ⁻¹)							
0	130,66 b	132,82 b	187,70 a	132,07 b	138,01 b	186,72 a	12,17
50	172,81 c	176,80 c	168,18 c	260,08 ab	281,24 a	234,70 b	15,29
100	134,35 bc	136,56 a	180,85 ab	81,98 c	91,96 c	118,09 c	35,70
Razão folha:colmo total							
0	1,52 bc	1,45 cd	1,46 bcd	1,60 ab	1,34 d	1,73 a	7,48
50	1,29 ab	1,45 ab	1,48 a	1,40 ab	1,40 ab	1,28 b	11,59
100	1,36 bc	1,43 abc	1,29 c	1,52 ab	1,37 bc	1,57 a	10,14

^a Médias de seis repetições e, quando seguidas de diferentes letras, em cada linha, diferem entre si pelo teste t ao nível de 5%.

No TCT do capim-paiaguás cultivado em substrato estéril, observou-se interação entre N-fertilizante e corte (Tabela 6). Entretanto, não houve diferenças entre as BPCV nesse parâmetro (dados não mostrados). No primeiro corte, a presença de N-fertilizante proporcionou maiores teores de clorofila, já no quarto corte o tratamento com 50 kg N-fertilizante proporcionou aumento nesse parâmetro, mas não diferenciou do zero de N-fertilizante.

Tabla 6. Teor de clorofila total (TCT) da *Urochloa brizantha* cv. BRS Paiaguás cultivada em substrato estéril sob diferentes níveis de N-fertilizante.

N-fertilizante/corte	Clorofila Total				
	Corte 1	Corte 2	Corte 3	Corte 4	Final
0	30,68 b	31,79 a	34,90 a	36,39 ab	32,57 a
50	38,66 a	33,07 a	36,59 a	38,54 a	34,41 a
100	40,56 a	32,74 a	35,35 a	35,03 b	33,92 a
Standard Error	1,27	1,11	0,88	1,12	1,41

^a Médias de seis repetições e, quando seguidas de diferentes letras, em cada linha, diferem entre si pelo teste t ao nível de 5%.

Na concentração de proteína bruta (PB) do capim-paiaguás cultivado em substrato estéril, verificou-se interação entre BPCV e N-fertilizante (Tabela 7). No nível zero de N-fertilizante, todas as bactérias divergiram do não inoculado, com incremento de 21% (*A. brasilense* Ab-V5), 13% (*A. brasilense* Ab-V6), 19% (*P. fluorescens* CCTB03), 17% (*P. fluorescens* ET76) e 22% (*P. ananatis* AMG521) na PB. No N100, a maior concentração PB foi promovida pela estirpe ET76 (Tabela 8).

Tabela 7. Concentração de proteína bruta (PB) da *Urochloa brizantha* cv. BRS Paiaguás cultivada em substrato estéril e inoculada com bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) sob diferentes níveis de N-fertilizante.

Nitrogênio (kg ha ⁻¹)	BPCV						Standard Error
	Não inoculado	<i>A. brasilense</i> Ab-V5	<i>A. brasilense</i> Ab-V6	<i>P. fluorescens</i> CCTB 03	<i>P.</i> <i>fluorescens</i> ET76	<i>P. ananatis</i> AMG521	
	Proteína bruta (g kg ⁻¹)						
0	140,71 b	171,51 a	158,37 a	166,83 a	164,89 a	171,45 a	0,53
50	165,55 a	168,32 a	169,55 a	169,58 a	157,57 a	159,27 a	0,50
100	153,06 b	164,26 ab	156,34 ab	158,49 ab	168,87 a	153,97 b	0,47

^a Médias de seis repetições e, quando seguidas de diferentes letras, em cada linha, diferem entre si pelo teste t ao nível de 5%.

Não se observou efeito da inoculação das bactérias promotoras do crescimento vegetal sob diferentes níveis de N-fertilizante do capim-paiaguás cultivado em substrato estéril na DVMS e geometria das raízes (dados não mostrados).

Discussão

Na produção de massa de forragem do capim-paiaguás estabelecido em solo arenoso e nos níveis de N0 e N50, verificou-se diferenças entre os tratamentos apenas nos cortes inicial e finais. Essa falta de discrepâncias pode ser explicada pela diferença de temperatura e luminosidade no decorrer do período experimental, um vez que os quatro primeiros cortes foram realizados nos meses correspondente do verão, caracterizado pelas condições de temperatura e luminosidade favoráveis ao crescimento das plantas forrageiras.

Os últimos cortes, contudo, foram realizados nas estações de outono e inverno, definidos pelas baixas temperaturas e menores intensidades de luminosidade, período que ocorre a estacionalidade de crescimento das plantas forrageiras. Assim, fica

evidente que a ação das bactérias é mais pronunciada em situações de estabelecimento ou de estresse.

Por outro lado, nos dados desdobrados no nível N100, observou-se diferenças apenas nos três cortes finais, pode-se inferir que nas condições iniciais a associação das bactérias com 100 kg de N-fertilizante não proporcionou efeitos aditivos, sendo essa dose de nitrogênio mais eficiente que a inoculação, ou então reduzindo a atividade das bactérias. Assim, Carmelo et al. (2011) perceberam que altas doses de nitrogênio podem diminuir a colonização da rizosfera por BPCV, sendo o inverso verdadeiro também, ou seja, a deficiência de N também pode reduzir essa colonização (Marschner et al., 2006). Neste sentido, fica claro que as diferenças entre os tratamentos ocorridos, no geral, apenas nos cortes finais, também podem ser justificadas pelo maior tempo e assim ocorreu maior colonização da rizosfera, favorecendo a produção de final.

Na maioria das variáveis e cortes, as BPCV afetaram positivamente a produtividade das plantas forrageiras, com incrementos na produção de massa de folhas e colmos. Naimam et al. (2009) justificaram que os benefícios das BPCV em gramíneas tropicais e pastagens, são mais evidentes que em culturas anuais, pela sua característica perene e a baixa utilização de insumos químicos e fertilizantes. Os resultados proporcionados por esses microrganismos sobre o crescimento e desenvolvimento das gramíneas são inúmeros e para Figueiredo et al. (2010), podem ser observados na germinação de sementes, emergências de plântulas e crescimento das plantas. A atuação dessas bactérias no crescimento vegetal se deve a efeitos diretos e indiretos. Araujo et al. (2005) classificaram os efeitos indiretos ao controle de patógenos, e Vassiley et al. (2006) especificaram os diretos como a produção de fitormônios e enzimas.

No geral, observa-se que as bactérias possuem a capacidade de promover o crescimento e disponibilizar nutrientes para as plantas, fixar biologicamente o nitrogênio, solubilizar fosfato, aumentar a resistência e produzir metabolitos essenciais para o crescimento (Dutta & Gachhui, 2006; Shweta et al., 2013; Aly et al., 2013; Yang et al., 2013). A excreção de hormônios vegetais pelas bactérias também é um modo de promover o crescimento das plantas. Segundo Arshad & Frankenberger (1998), esses compostos naturais (fitormônios) modificam os processos das plantas com quantidades bem abaixo do que aquelas requeridas de nutrientes e vitaminas, sendo denominadas reguladores de crescimento de plantas, como a auxina, giberelenas, citocininas e ácido abscísico.

O principal fitormônio sintetizado, principalmente pelas BPCV, é o ácido indolacético (AIA), que promove o crescimento e aumenta a absorção de nutrientes e água, garantindo o uso eficiente desses recursos (Hungria et al., 2010). Segundo Lugtenberg e Kamilova (2009), estirpes do gênero *Pseudomonas* também liberam fitormônios, especialmente, AIA, giberelinas e citocininas na rizosfera, promovendo efeito estimulador do crescimento da planta.

Notou-se maior PMF, PMFT e PMR do capim-paiaguás quando se inoculou as estirpes de *Pseudomonas fluorescens* e *Pantoea ananatis*, indicando que essas estirpes promovem maiores benefícios em plantas forrageiras, certamente, decorrentes da produção de AIA. 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). Criollo et al. (2012), ao avaliarem o efeito da inoculação de *P. fluorescens* em *Pennisetum clandestinum* durante o inverno, verificaram maior produção de massa seca e fresca da planta em comparação com plantas que receberam apenas adubação nitrogenada e enfatizaram que tais resultados foram proporcionados pela liberação de fitormônios. Na *P. fluorescens* ET76, Aarab et al. (2016) observaram a síntese de ACC-deaminase, substância estimulada pelo AIA. A *P. ananatis* também promoveu incrementos significativos na produtividade, que também está relacionado com a síntese de fitormônios. Megías et al. (2016) confirmaram a habilidade da *P. ananatis* AMG521 em sintetizar 251 mg mL^{-1} de AIA.

Para Arshad e Frankenberger (1998) o AIA é responsável por estimular a divisão celular e o alongamento das plantas. Assim, pode-se inferir que a maior produção de folhas e colmo do capim-paiaguás que receberam a inoculação, foi por causa da maior concentração desses hormônios reguladores de crescimento.

Tais resultados também podem ter sido ocasionados, pela alta capacidade dessas bactérias em solubilizar fosfato. Estrada (2015), verificou a habilidade de bactérias do gênero *Pseudomonas* em solubilizar compostos de fosfato inorgânico, transformando o fosfato insolúvel em formas solúveis no solo. Aarab et al. (2016) verificaram que a estirpe ET76 de *P. fluorescens* apresentam propriedades típicas de BPCV, como a capacidade de solubilizar fosfato, de aproximadamente 600 mg L^{-1} . Megías et al. (2016) também observaram essa habilidade na *P. ananatis* AMG521 em solubilizar fosfato *in vitro*.

Os benefícios da inoculação das BPCV na PMR também se devem a maior produção de fitormônios. Dobbelaere et al. (1999) observaram modificações na morfologia das raízes, como maior desenvolvimento desse órgão e um incremento na formação de pelos radiculares. Essas modificações também são decorrentes das substâncias promotoras de crescimento e o favorecimento da permeabilidade da raiz a certos íons e água (Chalk, 1991).

Em experimentos com pastagem e BPCPs, Cardenas et al. (2012) constataram que a inoculação favoreceu o crescimento e a nutrição vegetal, sendo tais efeitos decorrentes da maior proliferação de vilosidades da raiz. De acordo com Zambrano & Lucia (2008), os inoculantes contendo bactérias dos gêneros *Azotobacter*, *Azospirillum* e *Pseudomonas* têm demonstrado incrementos na produtividade, além de reduzir o emprego de fertilizantes minerais e a contaminação ambiental.

Os resultados positivos da inoculação observados no 0 kg N-fertilizante, possivelmente, podem ser atribuídos pela melhor disponibilidade desse nutriente, em função do aumento da massa de raízes, pela síntese de fitormônios, que aumentam a absorção de N. Para Dobbelaere et al. (2002), as BPCV têm apresentado resultados satisfatórios no ciclo do nitrogênio, devido a fixação biológica e maior aproveitamento do mesmo no solo.

Destacou-se em algumas variáveis e principalmente associado a níveis de nitrogênio as estirpes de *A. brasilense* proporcionaram boa resposta no capim-paiaguás. Hernández et al. (2001) justificam o bom desempenho do *A. brasilense* em razão do incremento na densidade e tamanho dos pelos radiculares, em razão da maior disponibilidade de fitormônios, que resultam na maior absorção de água e nutrientes. Para Itzigsohn et al. (2000), a inoculação de *Azospirillum* spp. em pastagem tem potencialidade, especialmente em regiões com déficit hídrico e baixa fertilidade do solo, pela maior biomassa radicular, que resulta em maior capacidade de exploração do solo (Malik et al., 1997).

Hungria et al. (2016) também verificaram uma resposta positiva entre 40 kg N ha⁻¹ e inoculante contendo as estirpes Ab-V5e Ab-V6 de *A. brasilense* nos capins Marandu e Ruziziensis. Os autores afirmaram, ainda, que a inoculação associada a esse nível de N promoveu resultados semelhantes a 80 kg N ha⁻¹. Neste sentido, Voguel et al. (2014) observaram que em *Poaceae* em geral, o *Azospirillum* associado as pequenas

doses de nitrogênio tem apresentado alta eficiência nos aspectos morfológicos e na produtividade, sendo semelhante a tratamentos com adubação nitrogenada pesada.

Em geral, em níveis mais elevados de N-fertilizante (Ex. 100kg), pelos resultados obtidos e observados em outros trabalhos (Lana et al., 2012; Dartora et al., 2013; Tagliari, 2014) a inoculação com essas estirpes de bactérias não traria benefício a essas plantas forrageiras, pois não houve efetividade das bactérias na produção de massa de folhas e de colmos.

Para teor de clorofila, verificou-se que na maioria dos cortes e níveis de N-fertilizante não ocorreram grandes diferenças em unidade SPAD de clorofila, resultado da adubação de base (20 kg N) que todos os vasos receberam no início do experimento, inferindo ainda que as plantas não apresentaram deficiência nutricional de nitrogênio. O teor de clorofila pode ser utilizado para prever o nível nutricional de nitrogênio nas plantas, devido a correlação existente entre esse pigmento e o teor de N na planta. Segundo Larcher (2000) a capacidade fotossintética é otimizada com a elevada disponibilidade de nitrogênio, uma vez que esse nutriente é o principal constituinte da molécula de clorofila. Na concentração de PB, verificou-se que a inoculação provocou aumento nesse parâmetro, pela maior disponibilidade de N para as plantas.

Em substrato estéril, observou-se que as BPCVs no nível N0 promoveram incrementos na massa de forragem e de raízes, destacando a estirpe AMG521. Nesta situação, fica evidente a efetividade das estirpes em situações de baixa fertilidade. Desse modo, fica claro a eficiência das bactérias em situações de estresse, conferindo as plantas resistências a esses fatores. Recentes estudos constataram que as BPCV secretam ácido abscísico (ABA), que concede as plantas maior resistência ao estresse ambiental (Cohen et al., 2009; Bauer et al., 2013; Cohen et al., 2015).

Com os resultados pode-se inferir que o uso de BPCV podem favorecer o crescimento das gramíneas forrageiras, especialmente de folhas. Com isso, podem auxiliar para a redução da degradação das pastagens, e ainda mitigar a emissão de gases de efeito estufa (Hungria et al. 2016). Kichel & Kichel (2009) também afirmaram os benefícios da adoção dessa prática para prevenir a degradação, enfatizando a minimização dos custos, redução no aparecimento de pragas, aumento na eficiência da mão de obra, melhoria no uso dos recursos de produção, além do melhor uso da terra e redução dos gases de efeito estufa.

Conclusão

O uso de bactérias promotoras do crescimento vegetal representa boa alternativa para o cultivo de plantas forrageiras com incrementos na produção de massa de forragem, produção de raízes e concentração de proteína bruta, contribuindo também para a redução e otimização de fertilizantes minerais e, assim, podendo tornar o sistema mais sustentável. Todavia, a inoculação de BPCV não alteram o teor de clorofila das plantas.

Referências

- ALY A. H., DEBBAB A., PROKSCH P. (2013). Fungal endophytes—secret producers of bioactive plant metabolites. *Pharmazie* 68, 499–505.
- ARAUJO, F.F.; HENNING, A.A.; HUNGRIA, M. Phytohormones and antibiotics produced by *Bacillus subtilis* and their effects on seed pathogenic fungi and on soybean root development. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.21, p.1639-1645, 2005.
- ARSHAD, M., FRANKENBERGER, W.T. Jr. (1998) Plant growth regulating substances in the rhizosphere: microbial production and functions. *Advances in Agronomy* 62, 146–151.
- BASHAN, Y.; HOLGUIN, G.; DE-BASHAN, L.E. Azospirillum-plant relationships: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). *Canadian Journal Microbiology*, Ottawa, v. 50, p. 521-577, 2004.
- CARDENAS A, RODRIGUEZ RL, PIZARRO V, CADAVID LF, AREVALO-FERRO C. Shifts in bacterial communities of two Caribbean reef-building coral species affected by white plague disease. *ISME J.* 2012;6:502–512.
- CARMELO, M., VERA, S. & BONILLA, R. (2011). “Mecanismo de acción de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal”. *Revista CorpoicaCiencias y Tecnología Agropecuaria*, 12(2),159-166.
- CHALK, P.M., 1991. The contribution of associative and symbiotic nitrogen fixation to the nitrogen nutrition of non-legumes. *Plant Soil*, 132: 29–39.
- CRIOLLO, P., OBANDO, M., SÁNCHEZ, L. & BONILLA, R. (2012). “Efecto de bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) asociadas a *Pennisetum clandestinum* en el altiplano cundiboyacense”. *Revista Corpoica – Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 13(2), 189-195.
- DOBBELAERE, S.; CROONENBORGH, A.; THYS, A.; PTACEK, D.; OKON, Y.; VANDERLEYDEN, J. Effect of inoculation with wild type *Azospirillum brasilense* and *A. irakense* strains on development and nitrogen uptake of spring wheat and grain maize. *Biology and Fertility of Soils*, v.36, p.284–297, 2002.

- DOBBELAERE, S.; CROONENBORGH, A.; TRYS, A.; VANDE BROEK, A.; VANDERLEYDEN, J. Phytostimulatory effect of *Azospirillum brasilense* wild type and mutant strains altered in IAA production on wheat. *Plant and Soil*, v.212, p.155-164, 1999.
- DUTTA, D. & GACHHUI, R. (2006). Novel nitrogen-fixing *Acetobacter nitrogenifigens* sp. nov., isolated from Kombucha tea. *Int J Syst Evol Microbiol* 56, 1899–1903.
- FIGUEIREDO, M.V.B.; SELDIN, L.; ARAUJO, F.F. et al. Plant growth promoting rhizobacteria: fundamentals and applications In: MAHESHWARI, D.K. (Ed.) *Plant growth and health promoting bacteria*. 1.ed. Berlin: Springer-Verlag, 2010. v.18, p.45-68.
- HERNANDEZ, J.A.; FERRER, M.A.; JIMENEZ, A.; BARCELO, A.R.; SEVILLA, F. Antioxidant systems and O₂ / H₂O₂ production in the apoplast of pea leaves. Its relation with salt-induced necrotic lesions in minor veins. *Plant Physiology*, Minneapolis, v. 127, p. 827-831, 2001.
- HERNANDEZ, M.; CHAILLOUX, M. 2004. Las micorrizas arbusculares y las bacterias rizosfericas como alternativa a la nutricion mineral del tomate. *Cultivos Tropicales*, 25: 5–16.
- HUNGRIA, M., NOGUEIRA, M.A., ARAÚJO, R.S. 2016. 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*. 221, p. 125–131.
- HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; SOUZA, E. M. S.; 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.
- ITZIGSOHN, R.; BURDMAN, S.; OKON, Y. et al. Plant-growth promotion in natural pastures by inoculation with *Azospirillum brasilense* under suboptimal growth conditions. *Arid Soil Research*, v.13, p.151-158, 2000.
- JONES, D. L.; OBURGER, E. (2011). Solubilization of phosphorus by soil microorganisms. In: *Phosphorus in Action. Soil biology*. Springer Berlin, Heidelberg. (pp. 169-198). http://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-15271-9_7.
- KELEMU, S.; FORY, P.; ZULETA, C. et al. Detecting bacterial endophytes in tropical grasses of the *Brachiaria* genus and determining their role in improving plant growth. *African Journal of Biotechnology*, v.10, p.965-976, 2011.
- KICHEL, A.N., KICHEL, A.G. Requisitos básicos para boa formação e persistência de pastagens. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2001. (Embrapa Gado de Corte. Gado de Corte Divulga 52.).
- SANGOI, L.; SILVA, L.M.M.; MOTA, M.R.; PANISON, F.; et al. Desempenho Agrônômico do Milho em Razão do Tratamento de Sementes com *Azospirillum* sp. e da Aplicação de Doses de Nitrogênio Mineral. *R. Bras. Ci. Solo*, 39:1141-1150, 2015.

- MALIK, K.A.; BILAL, R.; MEHNAZ, S.; RASUL, G.; MIRSA, M.S.; ALI, M.S. Association of nitrogen-fixing, plant-growth-promoting rhizobacteria (PGPR) with kallar grass and rice. *Plant and Soil*, Dordrecht, v.194, p.37-44, 1997.
- MARSCHNER, P.; SOLAIMAN, Z.; RENGEL, Z. Rhizosphere properties of Poaceae genotypes under P-limiting conditions. *Plant and Soil*, v.283, p.11-24, 2006.
- MIYAUCHI, M. Y. H.; LIMA, D. S.; NOGUEIRA, M. A.; LOVATO, G. M.; MURATE, L. S.; CRUZ, M. F.; FERREIRA, J. M.; ZANGARO, W.; ANDRADE, G. Interactions between diazotrophic bacteria and micorrhizal fungus in maize genotypes. *Scientia Agricola*, v.65, n.5, p.525-531, 2008.
- MOOJEN, E. L. Potencial produtivo, alterações da estrutura e qualidade da pastagem de milheto submetida a diferentes níveis de nitrogênio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 31, n. 2, p. 875-882, 2002. Suplemento.
- MOREIRA, F.M.S.; et.al. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. *Comunicata Scientiae*. v.1, n.2; p. 74-99. 2010.
- MULETA, D., F. ASSEFA, E. BÖRJESSON, U. GRANHALL. 2013. Phosphate-solubilising rhizobacteria associated with *Coffea arabica* L. in natural coffee forests of southwestern Ethiopia. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences* 12:73-84.
- NAIMAN, A. D.; LATRÓNICO, A.; SALAMONE, I. E. G. Inoculation of wheat with *Azospirillum brasilense* and *Pseudomonas fluorescens*: Impact on the production and culturable rhizosphere microflora. *European Journal of Soil Biology*, Paris, v. 45, n. 1, p. 44-51, 2009.
- OLIVEIRA, P. P. A.; OLIVEIRA, W. S.; BARIONI, W. J.; Produção de forragem e qualidade de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu com *Azospirillum brasilense* e fertilizada com nitrogênio. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2007, 6p. (Circular Técnico, 54).
- SHWETA S., SHIVANNA M. B., GURUMURTHY B. R., SHAANKER U., SANTHOSH KUMAR T. R., RAVIKANTH G. (2014). Inhibition of fungal endophytes by camptothecine produced by their host plant, *Nothapodytes nimmoniana* (Graham) Mabb. (Icacinaceae). *Curr. Sci.* 107, 994–1000.
- VASSILEV, N.; VASSILEVA, M.; NIKOLAEVA, I. Simultaneous P-solubilizing and biocontrol activity of microorganisms: potentials and future trends. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v.71, p.137-144, 2006.
- VOGEL; G. F.; MARTINKOSKI, L.; MARTINS, P. J.; BICHEL, A. Desempenho agrônomico de *Azospirillum brasilense* na cultura do arroz: uma revisão. **Revista em Agronegócios e Meio Ambiente**, v.6, n.3, p. 567-578, 2014.
- YANG Y., ZHAO H., BARRERO R. A., ZHANG B., SUN G., WILSON I. W., et al. (2014). Genome sequencing and analysis of the paclitaxel-producing endophytic fungus *Penicillium aurantogriseum* NRRL 62431. *BMC Genomics* 15:69 10.1186/1471-2164-15-69.

ZAMBRANO, J. A.; A. D. LUCÍA. 2008. Efecto de la inoculación de *Azospirillum brasilense* y *Glomus* sp. en *Gmelina arborea* durante su germinación y manejo en vivero. *Universitas Scientiarum* 13(2): 162-170.

V. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso da inoculação de bactérias promotoras do crescimento vegetal em gramíneas forrageiras pode auxiliar na sustentabilidade dos sistemas pastoris, pois as respostas positiva de algumas estirpes de bactérias em favorecer a produção de massa de raízes e, indiretamente melhorando a capacidade da plantas forrageiras em explorar os solo, levaram ao aumento da produção de massa de forragem e melhorando o valor nutritivo, associado ao maior benefício pela incremento na produção de massa de folhas. A adoção dessa tecnologia além de aumentar a produtividade, proporciona melhores condições ambientais, por aumentar a eficiência dos fertilizantes, evitando a eutrofização de águas subterrâneas e rios, a emissão de gases do efeito estufa, redução de custos e, por fim, minimizando os riscos de degradação ambiental e das pastagens. Essas bactérias podem ainda ser utilizadas, mais especificamente, nos sistemas de Integração Lavoura Pecuária, pois se associam com culturas agrícolas (milho, sorgo, trigo e soja), otimizando o uso da terra e a produção de alimentos.