

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO DE
PLANTAS EM CAPIM-ZURI E MASSAI

Autor: João Vitor Rosa Vicente
Orientador: Prof. Dr. Ulysses Cecato
Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Sandra Galbeiro

MARINGÁ
Estado do Paraná
Fevereiro - 2021

BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO DE PLANTAS EM CAPIM-ZURI E MASSAI

Autor: João Vitor Rosa Vicente
Orientador: Prof. Dr. Ulysses Cecato
Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Sandra Galbeiro

Dissertação apresentada como parte das exigências para a obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA no Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá – Área de concentração Produção Animal.

MARINGÁ
Estado do Paraná
Fevereiro – 2021

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

V633b

Vicente, João Vitor Rosa

Bactérias promotoras do crescimento de plantas em Capim-zuri e Massai / João Vitor Rosa Vicente. -- Maringá, PR, 2021.
x, 74 f.igs., tabs.

Orientador: Prof. Dr. Ulysses Cecato.

Coorientador: Prof. Dr. Sandra Galbeiro.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Zootecnia, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2021.

1. Biotecnologia. 2. Megathyrus maximus. 3. Rizobactérias. 4. N-fertilizante. I. Cecato, Ulysses, orient. II. Galbeiro, Sandra, coorient. III. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Agrárias. Departamento de Zootecnia. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. IV. Título.

CDD 23.ed. 633.2



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO DE
PLANTAS EM CAPIM ZURI E MASSAI

Autor: João Vitor da Rosa Vicente
Orientador: Prof. Dr. Ulysses Cecato

TITULAÇÃO: Mestre em Zootecnia - Área de Concentração Produção
Animal

APROVADO em 22 de fevereiro de 2021.

Prof.ª Dr.ª Janaina Azevedo
Martuscello

Dr. Marco Antonio Nogueira

Prof. Dr. Ulysses Cecato
Orientador

“Se eu vi mais longe, foi por estar sobre ombros de gigantes.”

Isaac Newton.

“O ignorante afirma, o sábio dúvida, o sensato reflete.”

Aristóteles.

*A toda minha família, em especial ao meu avô, Sebastião Felismino da
Silva, minha esposa Leda Moreira e minha filha Lara Vicente*

Com muito carinho

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por conceder a graça da vida e proporcionar coragem e fé nos momentos mais árduos ao longo do caminho.

À Universidade Estadual de Maringá, em especial ao Departamento de Zootecnia, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, por proporcionar o êxito dos meus estudos e me capacitar tecnicamente, para atender os desafios da área de produção animal.

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudos.

A toda minha família que por todos os momentos me concedeu forças e nunca deixaram de me apoiar nos momentos de fraqueza e dificuldade.

À toda equipe dos grupos de estudos UNEFOR e GEFORCE, pela colaboração e realização das atividades teóricas e práticas ao longo dos anos de trabalho.

Aos meus orientadores e amigos, Ulysses Cecato e Sandra Galbeiro.

À banca avaliadora, agradeço por toda contribuição e carinho.

A todos que participaram e colaboraram de forma direta e indireta.

MUITO OBRIGADO!

BIOGRAFIA

JOÃO VITOR DA ROSA VICENTE, filho de José Marcus da Rosa Vicente e Luciane Antonini da Silva, nasceu em 17 de novembro de 1991, na cidade de Londrina, Paraná, Brasil.

Em dezembro de 2010, concluiu o ensino médio no Colégio Maxi, na cidade de Londrina, Paraná, Brasil. No ano de 2011 realizou o curso preparatório para vestibulares no Sigma, na cidade de Londrina – PR.

Em fevereiro de 2012, matriculou-se no curso de Zootecnia, na Universidade Estadual de Londrina, concluindo em janeiro de 2018.

Em março de 2018, matriculou-se no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, em nível de Mestrado, área de concentração Produção Animal, realizando estudos na área de Produção e Manejo de Plantas Forrageiras, sob orientação da Professor Dr. Ulysses Cecato.

No dia 20 de fevereiro de 2021, submeteu-se a Defesa da Dissertação de Mestrado junto ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS	viii
LISTA DE FIGURAS	x
RESUMO	i
ABSTRACT	ii
I - INTRODUÇÃO	1
1. REVISÃO DE LITERATURA	2
1.1. Gênero <i>Megathyrsus maximus</i>	2
1.2. Uso de BPCP em plantas forrageiras	4
1.2.1. <i>Azospirillum</i> spp.	7
1.2.2. <i>Pseudomonas</i> spp.	9
1.2.3. <i>Pantoea</i> spp.	10
II - HIPÓTESE E OBJETIVOS GERAIS	22
III – CRESCIMENTO, TEOR DE CARBONO E NITROGÊNIO NO SOLO E RAÍZES DE CAPIM-ZURI INOCULADO COM BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO DE PLANTAS, COM E SEM N-FERTILIZANTE	23
Resumo	23
Abstract	24
1 INTRODUÇÃO	24
2 MATERIAL E MÉTODOS	26
3 RESULTADOS	30

4 DISCUSSÃO	37
5 CONCLUSÕES	41
REFERÊNCIAS.....	42
IV - MASSA DE FORRAGEM E RAIZ, TEOR DE CARBONO E NITROGÊNIO NO SOLO E RAÍZES DE CAPIM-MASSAI INOCULADO COM BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO DE PLANTAS, COM OU SEM N-FERTILIZANTE	49
Resumo	49
Abstract.....	50
1 INTRODUÇÃO	50
2 MATERIAL E MÉTODOS	52
3 RESULTADOS	56
4 DISCUSSÃO	61
5 CONCLUSÕES	64
REFERÊNCIAS.....	65
V - CONCLUSÕES GERAIS.....	74

LISTA DE TABELAS

Páginas

TABELA 1 Massa de forragem (MF, g vaso ⁻¹) e massa de forragem total (MFT, g vaso ⁻¹) de capim-Zuri (<i>Megathyrsus maximus</i> (Jacq.) B.K. Simon & Jacobs) inoculado com bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP), com e sem N-fertilizante (NF)	30
TABELA 2 Efeito da interação bactéria x N-fertilizante sobre a taxa média diária de acúmulo de forragem (TAF, g MS vaso ⁻¹ dia ⁻¹) do capim-Zuri (<i>Megathyrsus maximus</i> (Jacq.) B.K. Simon & Jacobs) inoculada com bactéria promotora do crescimento de plantas (BPCP), com e sem N-fertilizante (NF)	32
TABELA 3 Massa de raízes (MR, g vaso ⁻¹) e razão parte aérea/raiz (RPA:R) de capim-Zuri (<i>Megathyrsus maximus</i> (Jacq.) B.K. Simon & Jacobs) inoculado com bactéria promotora do crescimento de plantas (BPCP), com e sem N-fertilizante (NF)	32
TABELA 4 Diâmetro de raízes (DiR, mm) e densidade de raízes (DeR, mm cm ⁻³) de capim-Zuri (<i>Megathyrsus maximus</i> (Jacq.) B.K. Simon & Jacobs) inoculado com bactéria promotora do crescimento de plantas (BPCP) , com e sem N-fertilizante (NF)	34
TABELA 5 Efeito da interação bactéria x N-fertilizante sobre a área radicular (AR, mm ² .dm ³) e comprimento radicular (CR, mm dm ⁻³) de capim-Zuri (<i>Megathyrsus maximus</i> (Jacq.) B.K. Simon & Jacobs) inoculado com bactéria promotora do crescimento de plantas (BPCP), com e sem N-fertilizante (NF)	35
TABELA 6 Teor de nitrogênio na raiz (NR %), teor de nitrogênio no solo (NS %), teor de carbono na raiz (CR %) e teor de carbono no solo (CS %) de capim-Zuri (<i>Megathyrsus</i>	

<i>maximus</i> (Jacq.) B.K. Simon & Jacobs) inoculado com bactéria promotora do crescimento de plantas (BPC P), com e sem N-fertilizante (NF)	36
TABELA 1 Taxa média diária de acúmulo de forragem (TAF, g vaso ⁻¹ dia ⁻¹) e massa de forragem (MF, g vaso ⁻¹) de capim-Massai (<i>Megathyrus maximus</i> (Jacq.) B.K. Simon & Jacobs) inoculado com bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP), com ou sem N-fertilizante (NF).....	56
TABELA 2 Efeito da interação bactéria x N-fertilizante sobre a massa de raízes (MR, g vaso ⁻¹) do capim-Massai (<i>Megathyrus maximus</i> (Jacq.) B.K. Simon & Jacobs)	57
TABELA 3 Massa de forragem total (MFT, g vaso ⁻¹) e razão parte aérea/raiz (RPA:R) de capim-Massai (<i>Megathyrus maximus</i> (Jacq.) B.K. Simon & Jacobs) inoculada com bactéria promotora do crescimento de plantas (BPCP), com ou sem N-fertilizante (NF)	58
TABELA 4 Área radicular (AR, mm ² .dm ³), comprimento radicular (CR, mm.dm ³), diâmetro radicular (DiR, mm) e densidade radicular (DeR, mm.cm ³) de capim-Massai (<i>Megathyrus maximus</i> (Jacq.) B.K. Simon & Jacobs) inoculada com bactéria promotora do crescimento de plantas (BPCP), com e sem N-fertilizante (NF)	59
TABELA 5 Teor de nitrogênio nas raízes (NR %), teor de nitrogênio no solo (NS %), teor de carbono nas raízes (CR %) e teor de carbono no solo (CS %) de capim-Massai (<i>Megathyrus maximus</i> (Jacq.) B.K. Simon & Jacobs) inoculada com bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP), com e sem N-fertilizante (NF).....	60

LISTA DE FIGURAS

	Páginas
FIGURA 1. Condições climáticas (temperaturas máximas e mínimas) registradas na Estação Meteorológica Automática da Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná ao longo do período experimental (maio de 2018 e maio de 2019).....	28
FIGURA 2. Condições climáticas (temperaturas máximas e mínimas) registradas na Estação Meteorológica Automática da Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná ao longo do período experimental (maio de 2018 e maio de 2019).....	54

RESUMO

As bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP) são tecnologia com potencial de contribuir para a modernização dos sistemas de produção animal a pasto, aliando a produtividade à sustentabilidade. Objetivou-se com este estudo avaliar o efeito da inoculação de bactérias promotoras do crescimento de plantas, com e sem N-fertilizante, na produção de massa de forragem, desenvolvimento do sistema radicular e teores de carbono e nitrogênio no solo e raízes dos capins Zuri e Massai [*Megathyrsus maximus* (syn. de *Panicum maximum* Jacq.)]. As bactérias inoculadas foram *Azospirillum brasilense* Ab-V5 e Ab-V6, *Pseudomonas fluorescens* CCTB03 e ET76, e *Pantoea ananatis* AMG 521, mais o tratamento controle (sem bactéria), associada com ou sem N-fertilizante (0 ou 50 kg ha⁻¹ de N). O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, em esquema fatorial, com cinco repetições. Para o capim-Zuri foi observado que a dose de 50 kg ha⁻¹ de N proporcionou incremento de 18% na massa de forragem. A estirpe CCTB03 sem associação de N-fertilizante proporcionou maior taxa de acúmulo (0,29 g vaso⁻¹ dia⁻¹ MS), e na dose de 50 kg ha⁻¹ de N, a estirpe ET76 demonstrou melhor desempenho (0,28 g vaso⁻¹ MS). As bactérias na ausência de N-fertilizante proporcionaram menor área (12%) e comprimento (23%) de raiz, em comparação ao tratamento sem bactéria. Na dose de 50 kg ha⁻¹ de N, as bactérias proporcionaram incrementos de 9 e 6% nos valores de área e comprimento radicular. Para o capim-Massai, observou-se que as estirpes Ab-V5 e CCTB03 proporcionaram, juntamente com o tratamento sem bactéria, os maiores diâmetros de raízes. A dose de 50 kg ha⁻¹ de N proporcionou incremento de 16% na massa de forragem da parte aérea. A aplicação de N-fertilizante não influenciou os parâmetros relacionados à morfologia da raiz e teores de carbono e nitrogênio no solo e na raiz. De forma geral, em ambos os experimentos as bactérias promotoras do crescimento de plantas não foram eficientes em promover incrementos na produção de massa de forragem, contudo, o uso de N-fertilizante demonstrou eficiência em proporcionar aumentos na produção de massa de forragem dos capins Zuri e Massai.

Palavras-chave: biotecnologia, N-fertilizante, *Megathyrsus maximus*, rizobactérias

ABSTRACT

Plant growth-promoting bacteria (PGPB) are a technology with potential to contribute to modernization of animal production systems on pasture, combining productivity with sustainability. The objective of this study was to evaluate the inoculation effect of bacteria that promote plant growth, with and without N-fertilizer, in forage mass production, the root system development and contents of carbon and nitrogen in soil and roots of grasses Zuri and Massai [*Megathyrsus maximus* (syn. De *Panicum maximum* Jacq.)]. The inoculated bacteria were *Azospirillum brasilense* Ab-V5 and Ab-V6, *Pseudomonas fluorescens* CCTB03 and ET76, and *Pantoea ananatis* AMG 521, plus the control treatment (without bacteria), associated with or without N-fertilizer (0 or 50 kg ha⁻¹ of N). The experimental design was in randomized blocks, in a factorial scheme, with five replications. For Zuri grass was observed that the N dose of 50 kg ha⁻¹ provided an increase of 18% in forage mass. Strain CCTB03 without N-fertilizer association provided a higher accumulation rate (0.29 g vase⁻¹ day⁻¹ DM), and at a N dose of 50 kg ha⁻¹, strain ET76 showed better performance (0.28 g vessel⁻¹ DM). Bacteria in the absence of N-fertilizer provided smaller area (12%) and length (23%) of root, compared to treatment without bacteria. At a N dose of 50 kg ha⁻¹, the bacteria provided increments of 9 and 6% in the values of root area and length. For Massai grass was observed that the strains Ab-V5 and CCTB03 provided, together with treatment without bacteria, the largest root diameters. The N dose of 50 kg ha⁻¹ provided an increase of 16% in the forage mass of the aerial part. The application of N-fertilizer did not influence the parameters related to the root morphology and carbon and nitrogen levels in soil and in root. In general, in both experiments the plant growth-promoting bacteria were not efficient in promoting increases in the forage mass production, however, the use of N-fertilizer demonstrated efficiency in providing increases in the forage mass production of Zuri and Massai grasses.

Keywords: biotechnology, N-fertilizer, *Megathyrsus maximus*, rhizobacteria

I - INTRODUÇÃO

A vocação do Brasil para a agropecuária se deve a sua extensão de terras e condições climáticas favoráveis. Por essa razão, a pastagem é considerada como o método mais prático e econômico para produção de ruminantes (Ertl et al., 2016), tanto é que, em função disso, a quase totalidade da produção animal é realizada em regime de pastejo.

O gênero *Megathyrsus maximus* (syn. *Maximus*) é a segunda gramínea mais utilizada nos sistemas de produção a pasto no Brasil, dentre as pastagens cultivadas, por sua alta produção de massa de forragem (Fernandes et al., 2014), ficando atrás apenas das pastagens do gênero *Urochloa* (syn. *Brachiaria*) (Nascimento, 2014). As cultivares deste gênero se caracterizam por produzir grande volume de folhas, elevado valor nutritivo, alta aceitabilidade pelos animais e ampla adaptação às diferentes condições edafoclimáticas, possibilitando a sua utilização em larga escala (Jank et al., 2011).

Apesar de se ter plantas forrageiras com alto potencial de produção e qualidade de forragem, disponível a campo, a falta ou mau manejo faz com que os pastos entre em estágio de degradação, e passe a ser entrave na produção animal a pasto (Dias Filho, 2014), com reflexos significativos sobre o desempenho animal (Casasús et al., 2012).

As causas da degradação das pastagens são diversas, contudo, é apontada como fator principal a falta de reposição de nutrientes no solo, por extração contínua pela planta, animal e lixiviação (Oliveira et al., 2013; Dias Filho, 2015). Dentre os nutrientes, a deficiência de nitrogênio é considerada o fator que mais influencia na queda de produtividade, da qualidade e no início dos processos de degradação (Euclides et al., 2007). Assim, a sua reposição no solo via adubação nitrogenada se torna uma prática

necessária. Porém, o seu uso eleva os custos de produção e impacta negativamente o meio ambiente, pela perda por lixiviação e volatilização que representa aproximadamente 50% do total utilizado no sistema (Reis Junior et al., 2008).

Por isso, é fundamental buscar tecnologias alternativas que tornem os sistemas de produção a pasto sustentáveis, do ponto de vista produtivo, econômico e ambiental. Dentre essas alternativas, desponta o uso de bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP), como aumento da eficiência de uso de nitrogênio. Essas bactérias demonstram a capacidade de realizar a fixação biológica do nitrogênio (FBN), convertendo o N_2 atmosférico em compostos assimiláveis pela planta (Nunes et al., 2003), sintetizam hormônio promotores do crescimento, contribuem para a solubilização de fosfatos, dentre outros (Araújo et al., 2014).

As BPCP podem atender de forma parcial os requerimentos de N pela planta, além de contribuir para a recuperação das áreas de pastagens em estágio de degradação, tornando a atividade mais sustentável (Vogel et al., 2014). Porém, faz-se necessária a realização de mais estudos, de forma a conhecer e entender mais os benefícios e a efetividade da inoculação de BPCP em gramíneas tropicais e, principalmente, identificar as melhores estirpes a serem associadas às gramíneas do gênero *Megathyrus*.

1. REVISÃO DE LITERATURA

1.1. Gênero *Megathyrus maximus*

As gramíneas do gênero *Megathyrus* têm grande importância para produção de ruminantes, principalmente por sua alta capacidade de produção de massa de forragem, elevada capacidade de adaptação, facilidade de estabelecimento e alto valor nutritivo, o que a torna um alimento de excelente qualidade a ser consumido pelos animais (Corrêa e Santos, 2003). As forrageiras desse gênero estão entre as mais usadas na bovinocultura leiteira e de corte, nos sistemas de produções intensivos a pasto (Gomide, 2016).

Entretanto, as gramíneas desse gênero são exigentes em termos de fertilidade do solo, solos profundos e de boa drenagem. Quando os seus requerimentos não são

minimamente atendidos, frequentemente é observado problemas na formação da pastagem, baixa tolerância ao pastejo, perda da capacidade produtiva e, conseqüentemente, a necessidade de recuperação da aérea em curto período de utilização (Herling et al., 2000).

Em termos de produção, as gramíneas desse grupo apresentam produção de massa de forragem de 11 a 29 t ha⁻¹ ano⁻¹ de MS em média, podendo alcançar maiores produções, a depender do tipo de manejo de fertilidade do solo, condições edafoclimáticas, manejo da pastagem e do pastejo, dentre outros (Oliveira et al., 2017).

Em estudos com o capim-Mombaça, pode-se observar acúmulo médio de 4.958 kg de MS ha⁻¹ na primavera e de 3.960 kg ha⁻¹ de MS no inverno, obtendo acréscimo de 25% na produção de massa de forragem para a estação com maior média de temperatura (Muller, 2002). Ola et al. (2018) verificaram produção de 16.948, 14.984 e 13.878 kg de MS ha⁻¹ para os capins Zuri, Tamani e Massai, respectivamente.

Essas gramíneas demonstram alta resposta frente a adubação com N-fertilizante. No capim-Mombaça foi observado produção de massa de forragem de 11 a 61 t de MS ha⁻¹ na estação do verão, a partir do uso de doses de 0 a 500 kg ha⁻¹ de N, respectivamente (Braga, 2001).

Dentre os vários cultivares de *M. maximus* disponíveis no mercado, pode-se destacar o capim-Massai (*M. maximus* x *M. infestum*), com alto potencial de produção de massa e, geralmente indicado para os sistemas de produções intensificados a pasto (Carvalho et al., 2014).

Esse cultivar tem hábito de crescimento cespitoso, com altura média de dossel de 60 cm, sendo considerada uma forrageira de porte baixo, comparado as demais do mesmo grupo, e com produção média de 15,6 t ha⁻¹ ano⁻¹ de MS, alta razão folha:colmo e, em razão de sua precocidade, pode florescer e produzir sementes várias vezes ao ano. Essa forrageira requer solos de média a alta fertilidade e apresenta certa tolerância ao alumínio e resistência a cigarrinhas das pastagens (Embrapa, 2001).

O capim-Zuri, por sua vez, vem como mais uma alternativa viável para a diversificação das pastagens. É uma forrageira com hábito de crescimento cespitoso de porte ereto e alto, suas folhas são longas, largas, arqueadas e glabras, e seu florescimento

é tardio e bem definido. O capim-Zuri apresenta alta produtividade de massa de forragem, em média 21,8 t ha⁻¹ ano⁻¹ de MS, com produção de 15% no período seco, alta razão folha:colmo, elevada capacidade de suporte, resistência a cigarrinha das pastagens e ao fungo *Bipolaris maydis*. São exigentes em solo de média a alta fertilidade e tolerância moderada a solos encharcados (Embrapa, 2013).

1.2. Uso de BPCP em plantas forrageiras

A utilização de biotecnologias como o uso de BPCP aplicadas nas áreas destinadas a produção animal a pasto, surge como alternativa viável para manutenção do manejo do solo, produção de forragem e sustentabilidade ambiental. A utilização desses microrganismos tende a gerar avanços socioeconômicos e ambientais na pecuária brasileira (Duarte, 2018).

Essas bactérias são colonizadoras da região da rizosfera das plantas (perímetro com distância de 1 a 3 milímetros da superfície das raízes) (Moreira e Siqueira, 2006), e são classificadas como de vida livre, ou endofíticas, que habitam os tecidos internos das plantas, promovendo relação benéfica para ambos (Davison, 1988; Kloepper et al., 1989).

A rizosfera desempenha importante função na ciclagem dos nutrientes e auxilia na manutenção dos organismos presentes no meio. É uma área fértil em exsudatos, resíduos celulares e secreções tais como açúcares, aminoácidos, vitaminas, ácidos graxos, água, esteróis, e ácidos orgânicos (Bais et al., 2006; Silveira e Freitas, 2007). Em função desta quantidade de nutrientes a ser utilizado como fonte de carbono e energia, há intensa proliferação de microrganismos, podendo ocupar de 7 a 15% da superfície total das raízes (Barea et al., 2005).

Os microrganismos que colonizam as raízes são chamados de rizobactérias, e são classificadas de acordo com seus efeitos sobre o crescimento das plantas, podendo ser benéfico, neutro ou deletério (Dobbelaere et al., 2003; Gray e Smith, 2005). Assim, aqueles que beneficiam as culturas agrícolas, têm sido isolados, multiplicados, formulados e aplicados nas áreas de produção vegetal com intuito de melhorar a produtividade (Luz, 1996).

As BPCP beneficiam as culturas por meio da combinação de fatores e mecanismos que potencializam a produção (Dobbelaere et al., 2003), como a capacidade de fixação biológica do nitrogênio (Huerdo et al., 2008), produção ou aumento na concentração de fitormônios, melhoria da capacidade de absorção das raízes, por apurar a permeabilidade (Loredo et al., 2004), promover a solubilização de fosfatos (Rodriguez et al., 2004), inibir o crescimento e desenvolvimento de microrganismos patógenos pela síntese de sideróforos, antibióticos e competição por nutrientes, promover maior tolerância ao estresse hídricos, salinidade e toxicidade de metais (Figueiredo et al., 2010).

Esses microrganismos são eficientes em sintetizar fitormônios como auxinas, citocininas e giberelinas (Perrig et al., 2007; Ilyas e Bano, 2010) e reduzir a expressão de ácido abscísico (Cassán et al., 2009).

Um dos fitormônios de maior relevância na regulação dos processos fisiológicos dos vegetais é a auxina, mais especificamente, o ácido 3-indol acético (AIA). Este apresenta uma gama de funções no crescimento e desenvolvimento das plantas, atuando desde a germinação até a senescência. O AIA é responsável pela regulação da dominância apical, abscisão foliar, desenvolvimento de raízes laterais e distinção da formação vascular (Taiz e Zeiger, 2013).

As citocininas e giberelinas, por sua vez atuam nas plantas como reguladores da divisão celular e desenvolvimento de novos tecidos, tanto nas raízes como na parte aérea (Spaepen et al., 2009). Essa associação também promove a redução dos níveis de ácido abscísico (Cassán et al., 2009), um dos hormônios responsáveis em inibir a síntese e favorecer a degradação das clorofilas e proteínas, com prejuízos aos processos fotossintéticos, e ocasionando menores taxas de expansão foliar (Taiz e Zeiger, 2013), e fazendo parte do mecanismo de regulação de defesa quando a planta está sob situação de estresse hídrico (Cohen et al., 2015). Também é notada a presença de prolina e poliaminas, substâncias relacionadas ao crescimento das raízes e regulação osmótica e atenuação do estresse em plantas (Gupta et al., 2013).

Com respeito ao aproveitamento do N atmosférico pelas plantas, estas não possuem essa capacidade, pela tripla ligação formada entre os dois átomos do N₂. Entretanto, os microrganismos diazotróficos são capazes de utilizar o N₂ presente nos espaços porosos

do solo e, a partir desse produzir N amoniacal, assimilável pela planta (Hungria et al., 2007), no processo esse conhecido por FBN.

A FBN é realizada apenas pelos microrganismos que detém o complexo enzimático nitrogenase, que contém os elementos ferro e molibdênio integrantes do sítio ativo. Através deste mecanismo os microrganismos são capazes de reduzir o N₂ atmosférico em amônia (NH₃), uma forma inorgânica combinada, através de uma sucessão de reações redox, possibilitando a assimilação do nitrogênio pelos vegetais que conseguem utilizá-la (Moreira e Siqueira, 2006).

Porém, a ação da enzima nitrogenase é inativada se no solo tiver a presença de amônio (Rudnik et al., 1997), assim como também em ambientes mais ricos em oxigênio, uma vez que o complexo nitrogenase realiza uma sucessão de reações de redox, que em níveis baixos de oxigênio, a FBN tem a sua eficiência aumentada, visto que, o mesmo é forte acceptor de elétrons e, não disponibiliza os elétrons para ligar as moléculas de hidrogênio ao nitrogênio e formar o NH₃ (Taiz e Zeiger, 2013).

Apesar do mecanismo de FBN ser o mesmo entre as estirpes bacterianas, os microrganismos de vida livre não endofíticos excretam apenas uma parte de N para as plantas associadas, uma vez que estes não formam nódulos nas raízes, como observado nas leguminosas. Por isso, a inoculação de BPCP em plantas não leguminosas contribui parcialmente com o aporte de nitrogênio para nutrição das plantas forrageiras, não suprimindo totalmente as suas necessidades (Hungria, 2011).

A FBN pode adicionar ao sistema de pastagem até 40 kg ha⁻¹ ano⁻¹ de N, sendo esta, uma quantidade inferior ao recomendado para plantas forrageiras (Okon e Labandera-Gonzales, 1994). Moreira et al. (2010) relataram que as BPCP contribuem com a deposição de 25 a 50 kg ha⁻¹ ano⁻¹ de N, e corresponde a cerca de 17% da demanda gramíneas forrageiras. Para sistemas intensivos de pastagens com *Megathyrus* spp. Costa et al. (2004) recomendaram o uso de 80 a 120 kg ha⁻¹ de N ano⁻¹ de N.

A partir desses relatos, observa-se que as BPCP sozinhas não suprem os requerimentos de N pelas pastagens, em especial as pastagens de *Megathyrus*, havendo a necessidade de complementação por meio de N-fertilizante. No entanto, Duarte (2018) menciona que o uso de BPCP associada às doses de N-fertilizante pode gerar associação

competitiva ou aditiva, em que a interação entre esses fatores e a espécie vegetal utilizada pode refletir em associação benéfica ou competitiva.

Em estudos com a inoculação de *Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Azospirillum amazonense*, *Burkholderia tropica*, *Herbaspirillum seropedicae* e *H. rubrisubalbicans* na cana-de-açúcar, sem e com 50 kg ha⁻¹ de N, foi observado resultado favorável ao desenvolvimento e produtividade das plantas em ambos os tratamentos (Gírio et al., 2012). Na cultura do milho inoculado com *Azospirillum* e *Herbaspirillum*, associada a doses de N-fertilizante, houve incrementos de 12% nos teores de matéria seca da parte aérea, e acréscimo de 7% na produtividade (Dartora et al., 2013). Já a associação de BPCP a doses de N-fertilizante demonstrou efeito positivo na *U. brizantha* e efeito prejudicial na *U. ruziziensis* (Duarte, 2018).

O que acontece de fato é que há resultados inconsistentes quanto ao efeito dessa interação entre os fatores envolvidos, carecendo, portanto, de maiores estudos que embasem melhor essa discussão.

1.2.1. *Azospirillum* spp.

Bactérias do gênero *Azospirillum* foram isoladas na rizosfera da grama batatais (*Paspalum notatum*), e nomeadas como *Azospirillum* (Dobereiner, 1966). Porém, seu destaque ocorreu na década de 1970, quando descoberta a sua capacidade de fixar o N₂ atmosférico em associação com gramíneas e, justamente por apresentar tal característica, foi nomeada de *Azospirillum* (Tarrand et al., 1978).

O gênero *Azospirillum* possui ampla distribuição geográfica, sendo encontrado em locais de clima tropical e temperado (Patriquin et al., 1983), com faixa de temperatura ideal para o desenvolvimento celular entre 28 e 41°C. Estão presentes a cerca de 30 a 90% das amostras de solo coletadas em qualquer parte do mundo, especialmente as espécies *A. brasilense* e *A. lipoferum*. É por isso, que este gênero é bastante estudado quanto ao seu potencial de uso na agricultura (Kefalogianni e Aggellis, 2002; Bashan et al., 2004).

Tem-se ao menos, conhecimento de 15 espécies do gênero *Azospirillum*, a saber: *A. lipoferum*, *A. brasilense*, *A. amazonense*, *A. halopraeferens*, *A. irakense*, *A.*

largimobile, *A. doebereinerae*, *A. oryzae*, *A. melinis*, *A. canadense*, *A. zae*, *A. rugosum*, *A. palatum*, *A. picis* e *A. thiophilum*. Dentre estas, a *A. brasilense* e *A. lipoferum* são as mais estudadas e com maior número de publicações (Reis e Texeira, 2005). Estas duas espécies são comumente encontradas em regiões tropicais, associadas a gramíneas (Zambrano et al. 2007).

As bactérias deste gênero são associativas e colonizam as plantas sem que haja a formação de estruturas específicas, como os nódulos em plantas leguminosas (Bergamarschi, 2006). A maioria promove alongação das raízes e dos pelos radiculares, entretanto, algumas estirpes podem habitar o interior dos tecidos vegetais, sendo classificadas como endofíticas facultativas (Baldani et al., 1997; Döbereiner et al., 1995).

O suprimento de N por esses microrganismos pode ser proveniente de fontes como o amônio, aminoácidos, nitrato, nitrito e o N₂ (Dobereiner, 1992), entretanto, são microrganismos com funcionalidades que capacitam o desenvolvimento celular, utilizando apenas o N₂ como fonte exclusiva de N (Huergo, 2006).

Em estudo com a inoculação de *A. brasilense* em *Pennisetum americanum* e *M. maximus* foi observado incremento de 40 kg ha⁻¹ ano⁻¹ de N (Labandera, 1994). Em trigo (*Triticum aestivum* hard L. e *Triticum durum* L.), a associação de *A. brasilense* à dose de 60 kg ha⁻¹ de N foi a que promoveu maior acúmulo de N na planta (Sala et al., 2008).

Em alguns casos, é possível observar distintos resultados a partir das interações entre as diferentes estirpes e espécies de plantas, com a maior ou menor capacidade de FBN (Siqueira e Franco, 1988).

Essas bactérias demonstram maior produção de auxinas em relação aos outros hormônios, sendo este, um dos hormônios responsáveis pela modificação das raízes, com aumento das ramificações e pelos radiculares (Dobbelaere et al., 1999; Miyauchi et al., 2008).

Estudos demonstram que a *Azospirillum* na cultura do trigo promoveu o desenvolvimento radicular, aumento da área e comprimento das raízes em todos os tratamentos inoculados, quando comparado ao tratamento sem inoculação (Radwan et al., 2004).

Hungria et al. (2010) observaram incrementos de 18 e 30% de aumento nas culturas de trigo e milho, respectivamente. Na *U. brizantha* e *U. ruziziensis*, a inoculação das estirpes Ab-V5 e Ab-V6, associada à adição de N-fertilizante, promoveu aumentos significativos na produção de massa de forragem, sendo que os maiores incrementos foram observados para os tratamentos com bactérias associadas à dose de 40 kg ha⁻¹ de N (Hungria, 2018).

1.2.2. *Pseudomonas* spp.

As *Pseudomonas* são bactérias Gram-negativas e anaeróbias facultativas, apresentam forma de bacilo e algumas espécies produzem um pigmento verde fluorescente chamado de pioverdina (King et al., 1954). Colonizam uma vasta gama de ambientes, podendo ser encontradas em amostras de solo e água (Zago et al., 2000). A temperatura ideal para o seu desenvolvimento fisiológico se encontra entre 25 e 30°C, contudo, já foi observada a capacidade de se desenvolverem em temperatura próxima a 4°C (Prescott et al., 1999).

Esses microrganismos são considerados como possíveis patógenos de humanos, animais e plantas, dependendo da espécie. Algumas estirpes deste gênero apresentam características de promoção do crescimento de plantas e o biocontrole de fitopatógenos. Essas bactérias produzem diversos metabólitos, como por exemplo, hormônios do crescimento vegetal, sideróforos, antibióticos, promovem solubilização de fosfatos e exopolissacarídeos utilizados para manutenção fisiológico sob condição de estresse hídrico (Zago et al., 2000).

Dentre as estirpes deste gênero, *P. fluorescens* e *P. putida* apresentam maior relevância para a produção agrícola. Estudos têm atestado a sua eficiência no desenvolvimento fisiológico, na produtividade das plantas e no controle biológico (Brimer e Montie, 1998; Sottero, 2003; Coelho et al., 2007).

Em estudo com a inoculação de *P. fluorescens* em *U. decumbens* foi verificado aumento da taxa de alongamento de colmos e número de folhas por perfilhos (Brennecke et al., 2016). Esse fator pode contribuir para aumentar a razão folha:colmo, característica

desejável na alimentação animal, uma vez que, possivelmente disponibilizará um material de maior valor nutritivo.

Na cultura do trigo inoculado com a estirpe ANP15, houve efeitos benéficos na germinação das plântulas e produção de massa seca, quando comparado aos tratamentos sem inoculação (Hunter et al., 2014).

De forma geral, ao analisar os dados da inoculação de *Pseudomonas* em diferentes culturas, é possível observar o efeito benéfico sobre o aumento de matéria seca na parte aérea e nas raízes (Shahid et al., 2017). Porém, as informações disponibilizadas na literatura ainda são insuficientes para afirmar com certeza os benefícios desta inoculação para as gramíneas tropicais.

1.2.3. *Pantoea* spp.

Os microrganismos do gênero *Pantoea* fazem parte da família *Enterobacteriaceae*, e são caracterizados como Gram-negativas, não esporulantes, anaeróbicas facultativas com capacidade de fermentação, apresentam formato alongado e se movimentam através de flagelos peritríquios (Mamede, 2018).

As bactérias destes gêneros podem colonizar uma ampla diversidade de ambientes, sendo encontradas em amostras de solo, água, plantas, insetos e animais (Champs et al., 2000; Dillon et al., 2000).

Tem-se conhecimento pelo menos 21 espécies do gênero *Pantoea*, a saber: *P. rwandensis*, *P. septica*, *P. stewartii* subsp. *indologenes*, *P. stewartii* subsp. *stewartii*, *P. vagans*, *P. wallisii*, *P. conspicua*, *P. cyripedii*, *P. deleyi*, *P. dispersa*, *P. eucalyptii*, *P. eucrina*, *P. gavinae*, *P. rodasii*, *P. agglomerans*, *P. allii*, *P. ananatis*, *P. anthophila*, *P. beijingensis*, *P. brenneri*, *P. calida*. Os microrganismos deste gênero podem ser isolados de diferentes fontes, contudo, a grande maioria das espécies é encontrada em plantas (Walterson e Stavrinides, 2015).

Na cultura da cana-de-açúcar as bactérias *Pantoea* estirpe 9C é comumente encontrada em colonização endofítica. Essa estirpe é eficiente em solubilizar compostos de fósforo considerados de baixa solubilidade, como o fosfato tri-cálcico (Elvia et al.,

2008). Em estudo com a inoculação de bactérias do gênero *Pantoea* na cana-de-açúcar, foi observado aumento na produção (Quecine, 2010) e maior crescimento de plantas (Quecine, 2012).

Em plantas de trigo inoculadas com as bactérias *Pantoea* estirpe WP-5, foi verificado aumento no teor de clorofila, maior índice de área foliar e taxa de crescimento de plantas, capacidade de solubilização de fosfato e possibilidade de redução da adubação mineral, em comparação aos tratamentos sem inoculação (Tahir et al., 2020).

Para esse gênero, não há informações substanciais e conclusivas, e os benefícios promovidos pela inoculação em gramíneas tropicais, especialmente as do gênero *Megathyrsus*.

CITAÇÕES BIBLIOGRÁFICAS

Araújo, É. D. O., Vitorino, A. C., Mercante, F. M., Nunes, D. P., & de PQ Scalon, S. (2014). Qualidade de sementes de milho em resposta à adubação nitrogenada e à inoculação com bactérias diazotróficas. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, 9(2), 159-165.

Bais, H. P., Weir, T. L., Perry, L. G., Gilroy, S., & Vivanco, J. M. (2006). The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annual Review of Plant Biology*, 57, 233-266.

Baldani, J. I., Reis, V. M., Baldani, V. L., & Döbereiner, J. (2002). A brief story of nitrogen fixation in sugarcane—reasons for success in Brazil. *Functional Plant Biology*, 29(4), 417-423.

Baldani, J., Caruso, L., Baldani, V. L., Goi, S. R., & Döbereiner, J. (1997). Recent advances in BNF with non-legume plants. *Soil Biology and Biochemistry*, 29(5-6), 911-922.

Barea, J. M., Pozo, M. J., Azcon, R., & Azcon-Aguilar, C. (2005). Microbial co-operation in the rhizosphere. *Journal of experimental botany*, 56(417), 1761-1778.

- Bashan, Y., & Holguin, G. (1997). Azospirillum–plant relationships: environmental and physiological advances (1990–1996). *Canadian Journal of Microbiology*, 43(2), 103-121.
- Bashan, Y., Holguin, G., & De-Bashan, L. E. (2004). Azospirillum-plant relationships: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). *Canadian journal of microbiology*, 50(8), 521-577.
- Berg, G., Eberl, L., & Hartmann, A. (2005). The rhizosphere as a reservoir for opportunistic human pathogenic bacteria. *Environmental microbiology*, 7(11), 1673-1685.
- Bergamaschi, C. (2006). *Ocorrência de bactérias diazotróficas associadas às raízes e colmos de cultivares de sorgo*. Dissertação de Mestrado. UFGRS: Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- Braga, G. (2001). *Resposta do capim–mombaça (Panicum maximum Jacq.) a doses de nitrogênio e intervalos de corte*. Dissertação de Mestrado. USP: Universidade de São Paulo.
- 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. *Revista Acadêmica Ciência Animal*, 14, 217-224.
- Brimer, C. D., & Montie, T. C. (1998). Cloning and Comparison of fliC Genes and Identification of Glycosylation in the Flagellin of *Pseudomonas aeruginosa* a-Type Strains. *Journal of bacteriology*, 180(12), 3209-3217.
- Carvalho, W. F., de Moura, R. L., dos Santos, M. S., Silva, S. F., & Leal, T. M. (2014). Morfogênese e estrutura de capim-massai em diferentes sistemas de cultivo sob pastejo. *Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável*, 4(1), 28-37.
- Casasús, I., Riedel, J. L., Blanco, M., & Bernués, A. (2012). Extensive livestock production systems and the environment. In *Animal farming and environmental interactions in the Mediterranean region* (pp. 81-88). Wageningen Academic Publishers, Wageningen.

- Cassan, F., Maiale, S., Masciarelli, O., Vidal, A., Luna, V., & Ruiz, O. (2009). Cadaverine production by *Azospirillum brasilense* and its possible role in plant growth promotion and osmotic stress mitigation. *European journal of soil biology*, 45(1), 12-19.
- Coelho, L. F., Freitas, S. D. S., Melo, A. M. T. D., & Ambrosano, G. M. B. (2007). Interação de bactérias fluorescentes do gênero *Pseudomonas* e de *Bacillus* spp. com a rizosfera de diferentes plantas. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 31(6), 1413-1420.
- Cohen, A. C., Bottini, R., Pontin, M., Berli, F. J., Moreno, D., Boccanlandro, H., ... & Piccoli, P. N. (2015). *Azospirillum brasilense* ameliorates the response of *Arabidopsis thaliana* to drought mainly via enhancement of ABA levels. *Physiologia Plantarum*, 153(1), 79-90.
- Corrêa, L. D. A., & Santos, P. Manejo e utilização de plantas forrageiras dos gêneros *Panicum*, *Brachiaria* e *Cynodon*. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudoeste, 2003. 36p. (Embrapa Pecuária Sudoeste. Documentos, 34).
- Costa, N. D. L., Rodrigues, A. N. A., Townsend, C. R., Magalhães, J. A., & Oliveira, J. D. C. (2004). Calagem e adubação para pastagens de *Panicum maximum* cv. Tobiatã em Rondônia. *Embrapa Rondônia-Recomendação Técnica (INFOTECA-E)*.
- 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(10), 1023-1029.
- Davison, J. (1988). Plant beneficial bacteria. *Bio/technology*, 6(3), 282-286.
- De Champs, C., Le Seaux, S., Dubost, J. J., Boisgard, S., Sauvezie, B., & Sirot, J. (2000). Isolation of *Pantoea agglomerans* in two cases of septic monoarthritis after plant thorn and wood sliver injuries. *Journal of clinical microbiology*, 38(1), 460-461.
- Dillon, R. J., Vennard, C. T., & Charnley, A. K. (2000). Exploitation of gut bacteria in the locust. *Nature*, 403(6772), 851-851.
- Dobbelaere, S., Croonenborghs, A., Thys, A., Broek, A. V., & Vanderleyden, J. (1999). Phytostimulatory effect of *Azospirillum brasilense* wild type and mutant strains altered in IAA production on wheat. *Plant and soil*, 212(2), 153-162.

Dobbelaere, S., Vanderleyden, J., & Okon, Y. (2003). Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. *Critical reviews in plant sciences*, 22(2), 107-149.

Döbereiner, J. (1966). *Azotobacter paspali* sp. n., uma bactéria fixadora de nitrogênio na rizosfera de *Paspalum*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 1(1), 357-365.

Dobereiner, J. (1992). History and new perspectives of diazotrophs in association with non-leguminous plants. *Symbiosis*, 13, 1-13.

Döbereiner, J., Baldani, V. L. D., & Baldani, J. I. (1995). *Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas*. Embrapa SPI.

Duarte, C. F. D. (2018). *Bactérias promotoras do crescimento vegetal e nitrogênio no estabelecimento e no desenvolvimento de *Urochloa* spp.* Tese de Doutorado. UEM: Universidade Estadual de Maringá.

Elvia, J. C., Ortega Rodés, P., & Ortega, E. (2008). La inoculación de plantas con *Pantoea* sp., bacteria solubilizadora de fosfatos, incrementa la concentración de P en los tejidos foliares. *Revista Colombiana De Biotecnología*, 10(1), 111-121.

Embrapa gado de corte. Capim-Zuri (*Panicum maximum* cv. BRS Zuri): BRS Zuri *Panicum maximum*. BRS Zuri, produção e resistência para a pecuária. Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte, 2013. (Embrapa Gado de Corte. Comunicado Técnico).

Ertl, P., Knaus, W., & Zollitsch, W. (2016). An approach to including protein quality when assessing the net contribution of livestock to human food supply. *Animal*, 10(11), 1883-1889.

Euclides, V. P. B., Flores, R., Medeiros, R. N., & Oliveira, M. P. D. (2007). Diferimento de pastos de braquiária cultivares Basilisk e Marandu, na região do Cerrado. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 42(2), 273-280.

Fernandes, F. D., Ramos, A. K. B., Jank, L., Carvalho, M. A., Martha Jr, G. B., & Braga, G. J. (2014). Forage yield and nutritive value of *Panicum maximum* genotypes in the Brazilian savannah. *Scientia Agricola*, 71(1), 23-29.

Figueiredo, M. D. V. B., Seldin, L., de Araujo, F. F., & Mariano, R. D. L. R. (2010). Plant growth promoting rhizobacteria: fundamentals and applications. In *Plant growth and health promoting bacteria* (pp. 21-43). Springer, Berlin, Heidelberg.

- Gerke, J. (1992). Phosphate, aluminium and iron in the soil solution of three different soils in relation to varying concentrations of citric acid. *Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde*, 155(4), 339-343.
- Gírio, L. A. D. S., Dias, F. L. F., Reis, V. M., Urquiaga, S., Schultz, N., Bolonhezi, D., & Mutton, M. A. (2015). Bactérias promotoras de crescimento e adubação nitrogenada no crescimento inicial de cana-de-açúcar proveniente de mudas pré-brotadas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 50(1), 33-43.
- Glick, B. R. (2012). Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. *Scientifica*, 2012, 1-15.
- Gomide, C. D. M., Paciullo, D., Leite, J., & Resende, H. (2016). Panicum maximum cvs. Tanzânia e Mombaça para uso em pastejo: produção e custo. *Embrapa Gado de Leite-Circular Técnica (INFOTECA-E)*.
- Gray, E. J., & Smith, D. L. (2005). Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant-bacterium signaling processes. *Soil biology and biochemistry*, 37(3), 395-412.
- Gupta, N., Kumar, S., Mishra, M. N., & Tripathi, A. K. (2013). A constitutively expressed pair of rpoE2-chrR2 in *Azospirillum brasilense* Sp7 is required for survival under antibiotic and oxidative stress. *Microbiology*, 159(Pt_2), 205-218.
- Herling, V. R., Braga, G. J., Luz, P. H. C., & Otani, L. (2000). Tobiata, Tanzânia e Mombaça. In *Simpósio Sobre Manejo da Pastagem*, 17; Piracicaba, 2000. Anais. Piracicaba: FEALQ, 2000. P. 21-64.
- Huergo, L. F. (2006). *Regulação do metabolismo do nitrogênio em Azospirillum brasilense*. Tese de Doutorado. UFPR: Universidade Federal do Paraná.
- 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. (2008). Regulation of nitrogen fixation in *Azospirillum brasilense*. *Cassán, FD; Garcia De Salamone, I. Azospirillum sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina*. Buenos Aires: *Asociación Argentina de Microbiología*, 17-35.

Hungria, M. (2011). Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo. *Embrapa Soja-Documentos (INFOTECA-E)*.

Hungria, M., Campo, R. J., & Mendes, I. C. (2007). A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro. *Embrapa Soja-Documentos (INFOTECA-E)*.

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(1-2), 413-425.

Hungria, M., Nogueira, M. A., & Araujo, R. S. (2018). Eficiência Agronômica de Estirpes de *Azospirillum brasilense* para *Brachiaria* spp. (= *Urochloa*). In *Embrapa Soja-Resumo em anais de congresso (ALICE)*. In: Symposium on Biological Nitrogen Fixation with Non-Legumes, 16., Latinamerican Workshop Of PGPR, 4., RELARE, 19., 2018, Foz do Iguaçu. Anais... [Brasília, DF]: Embrapa, 2018. resumo.

Hunter, P. J., Teakle, G., & Bending, G. D. (2014). Root traits and microbial community interactions in relation to phosphorus availability and acquisition, with particular reference to Brassica. *Frontiers in Plant Science*, 5, 27.

Ilyas, N., & Bano, A. (2010). *Azospirillum* strains isolated from roots and rhizosphere soil of wheat (*Triticum aestivum* L.) grown under different soil moisture conditions. *Biology and Fertility of Soils*, 46(4), 393-406.

Jank, L., Valle, C. D., & Resende, R. M. S. (2011). Breeding tropical forages. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 11(SPE), 27-34.

Kefalogianni, I., & Aggelis, G. (2002). Modeling growth and biochemical activities of *Azospirillum* spp. *Applied microbiology and biotechnology*, 58(3), 352-357.

King, E. O., Ward, M. K., & Raney, D. E. (1954). Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. *The Journal of laboratory and clinical medicine*, 44(2), 301-307.

Kloepper, J. W., Lifshitz, R., & Zablutowicz, R. M. (1989). Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. *Trends in biotechnology*, 7(2), 39-44.

- Loredo-Osti, C., López-Reyes, L., & Espinosa-Victoria, D. (2004). Bacterias promotoras del crecimiento vegetal asociadas con gramíneas: Una revisión. *Terra Latinoamericana*, 22(2), 225-239.
- Luz, W. D. (1996). Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas e de bioproteção. *Revisão Anual de Patologia de Plantas*, 4(2), 1-96.
- Mamede, M. C. (2018). Detecção de *Pantoea ananatis* em sementes de milho e nanopartículas no controle da bactéria in vitro. Dissertação de Mestrado. UFU: Universidade Federal de Uberlândia.
- Mello, A. C. L. D., & Pedreira, C. G. S. (2004). Respostas morfológicas do capim-tanzânia (*Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia-1) irrigado à intensidade de desfolha sob lotação rotacionada. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 33(2), 282-289.
- Menezes, G. R. D. O., Torres, R. D. A., Torres Júnior, R. A. D. A., Silva, L. O. C. D., Gondo, A., & Euclides, R. F. (2013). Estimation of genetic parameters for growth traits in Tabapuã cattle using a multi-trait model. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 42(8), 570-574.
- 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. (2008). Interactions between diazotrophic bacteria and mycorrhizal fungus in maize genotypes. *Scientia Agricola*, 65(5), 525-531.
- Moojen, E. L., & Maraschin, G. E. (2002). Potencial produtivo de uma pastagem nativa do Rio Grande do Sul submetida a níveis de oferta de forragem. *Ciência Rural*, 32(1), 127-132.
- Moreira, F. M. S. E., & Siqueira, J. (2006). Microbiologia e bioquímica do solo, p 488. *UFPA, Lavras, Brazil*.
- Müller, M. D. S., Fancelli, A. L., Dourado-Neto, D., García y García, A., & López Ovejero, R. F. (2002). Produtividade do *Panicum maximum* cv. Mombaça irrigado, sob pastejo rotacionado. *Scientia Agricola*, 59(3), 427-433.

- Nascimento, H. L. B. D. (2014). Cultivares de *Panicum maximum* adubadas e manejadas com frequência de desfolhação correspondente a 95% de interceptação luminosa. Dissertação de Mestrado. UFV: Universidade Federal de Viçosa.
- Nunes, F. S., Raimondi, A. C., & Niedwieski, A. C. (2003). Fixação de nitrogênio: estrutura, função e modelagem bioinorgânica das nitrogenases. *Química Nova*, 26(6), 872-879.
- Okon, Y., & Labandera-Gonzalez, C. A. (1994). Agronomic applications of *Azospirillum*: an evaluation of 20 years worldwide field inoculation. *Soil Biology and Biochemistry*, 26(12), 1591-1601.
- Ola, C. B. A., Mota, L. G., Valiati, V. G., Dantas, I. M. L. M., Santos, V. I. O., Morão, I. M. L., Cabral, C. H. A., & Avelino, C. E. (2018). Produtividade de *Panicum maximum* no período das águas em Rondonópolis-MT. In ZOOTECCNIA BRASIL, 1, 2018, Goiânia. Anais... [Goiânia, GO]: Zootecnia Brasil, 2018. resumo.
- Oliveira, T. C., Pereira, D. N., de Brito, T. E., Agostini, J. A. F., Lima, P. F., Silva, A. V., ... & Bregagnoli, M. (2013). Diagnóstico e recuperação de áreas de pastagens degradadas. *Revista Agrogeoambiental*, 1(1), 49-53.
- Oliveira, J. S., Emerenciano Neto, J. V., Milhomens, L. B. S., Bezerra, J. D. V., Bonfim, B. R. S., Difante, G. S., Barbosa, L. D. (2017). Produção de forragem em pastos de *Panicum maximum* Jacq. em função do tempo de rebrotação. *XII Congresso Nordestino de Produção Animal*. Anais, 2343-2345.
- Patriquin, D. G., Döbereiner, J., & Jain, D. K. (1983). Sites and processes of association between diazotrophs and grasses. *Canadian Journal of Microbiology*, 29(8), 900-915.
- Perrig, D., Boiero, M. L., Masciarelli, O. A., Penna, C., Ruiz, O. A., Cassán, F. D., & Luna, M. V. (2007). Plant-growth-promoting compounds produced by two agronomically important strains of *Azospirillum brasilense*, and implications for inoculant formulation. *Applied microbiology and biotechnology*, 75(5), 1143-1150.
- Prescot, L. M.; Harley, J. P.; Klein, D. A. (1999). Marine and freshwater environments In Prescot, L. M. (ed.). *Microbiology*, (pp. 835-855). New York: McGraw-Hill.

- Quecine, M. C. (2010). *Aspectos biotecnológicos da interação entre bactérias e cana-de-açúcar (Saccharum sp., L.)*. Tese de Doutorado. USP: Universidade de São Paulo.
- Quecine, M. C., Araújo, W. L., Rossetto, P. B., Ferreira, A., Tsui, S., Lacava, P. T., Mondin, M., Azevedo, J. L. D., & Pizzirani-Kleiner, A. A. (2012). Sugarcane growth promotion by the endophytic bacterium *Pantoea agglomerans* 33.1. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(21), 7511-7518.
- Radwan, T. E. S. E. D., Mohamed, Z. K., & Reis, V. M. (2004). Efeito da inoculação de *Azospirillum* e *Herbaspirillum* na produção de compostos indólicos em plântulas de milho e arroz. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 39(10), 987-994.
- Reis Junior, F. B. D., Machado, C. T. D. T., Machado, A. T., & Sodek, L. (2008). Inoculação de *Azospirillum amazonense* em dois genótipos de milho sob diferentes regimes de nitrogênio. *Revista Brasileira de Ciência do solo*, 32(3), 1139-1146.
- Reis, V. M., & TEIXEIRA, K. D. S. (2005). Fixação biológica de nitrogênio-estado da arte. In: Aquino, A. M., Assis, R. L., (Eds.). *Processos biológicos no sistema solo-planta: ferramentas para uma agricultura sustentável*, (pp. 350-368). Brasília: Embrapa Informação Tecnológica.
- Rodriguez, H., Gonzalez, T., Goire, I., & Bashan, Y. (2004). Gluconic acid production and phosphate solubilization by the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* spp. *Naturwissenschaften*, 91(11), 552-555.
- Rudnick, P., Meletzus, D., Green, A., He, L., & Kennedy, C. (1997). Regulation of nitrogen fixation by ammonium in diazotrophic species of proteobacteria. *Soil Biology and Biochemistry*, 29(5-6), 831-841.
- Sala, V. M. R., Cardoso, E. J. B. N., Freitas, J. G. D., & Silveira, A. P. D. D. (2007). Resposta de genótipos de trigo à inoculação de bactérias diazotróficas em condições de campo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 42(6), 833-842.
- Shahid, I., Rizwan, M., Baig, D. N., Saleem, R. S., Malik, K. A., & Mehnaz, S. (2017). Secondary Metabolites production and plant growth promotion by *Pseudomonas chlororaphis* and *P. aurantiaca* strains isolated from cactus, cotton, and para grass. *Journal of Microbiolog and Biotechnology*, 27(3), 480-491.

- Silveira, A. P. D., & dos Santos Freitas, S. (2007). *Microbiota do solo e qualidade ambiental*. Instituto Agronômico.
- Silveira, M. L., Liu, K., Sollenberger, L. E., Follett, R. F., & Vendramini, J. M. (2013). Short-term effects of grazing intensity and nitrogen fertilization on soil organic carbon pools under perennial grass pastures in the southeastern USA. *Soil Biology and Biochemistry*, 58, 42-49.
- Siqueira, J.O. & Franco, A. A. (1988). *Biotechnologia do solo: fundamentos e perspectivas*. Brasília: ABEAS.
- Sottero, A, N. (2003). *Colonização radicular e promoção de crescimento vegetal por rizobactérias*. Dissertação de Mestrado. IA: Instituto Agronômico.
- Souza Moreira, F. M., Da Silva, K., Nóbrega, R. S. A., & De Carvalho, F. (2010). Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. *Comunicata Scientiae*, 1(2), 74-99.
- Spaepen, S., Vanderleyden, J., & Okon, Y. (2009). Plant growth-promoting actions of rhizobacteria. *Advances in botanical research*, 51, 283-320.
- Tahir, M., Naeem, M. A., Shahid, M., Khalid, U., Farooq, A. B. U., Ahmad, N., ... & Waqar, A. (2020). Inoculation of pqqE gene inhabiting *Pantoea* and *Pseudomonas* strains improves the growth and grain yield of wheat with a reduced amount of chemical fertilizer. *Journal of Applied Microbiology*. 129(3), 575-589.
- Taiz, L., & Zeiger, E. (2013). *Fisiologia Vegetal*. Porto Alegre: Artmed.
- Tarrand, J. J., Krieg, N. R., & Döberfeiner, J. (1978). 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. *Canadian journal of microbiology*, 24(8), 967-980.
- Embrapa gado de corte., Valentim, J. F., Carneiro, J. C., Moreira, P., Jank, L., Sales, M. F. L. Capim Massai (*Panicum maximum* Jacq.): nova forrageira para a diversificação das pastagens no Acre. Rio Branco: Embrapa-CPAF Acre, 2001a. 16p. (Circular Técnica, 41).

Vogel, G., Martinkoski, L., & Ruzicki, M. (2014). Efeitos da utilização de *Azospirillum* brasileiro em poáceas forrageiras: Importâncias e resultados. *Agropecuária Científica no Semiárido*, 10(1), 01-06.

Walterson, A. M., & Stavrínides, J. (2015). *Pantoea*: insights into a highly versatile and diverse genus within the Enterobacteriaceae. *FEMS Microbiology Reviews*, 39(6), 968-984.

Zago, V. C. P.; De-Polli, H.; Rumjanek, N. G. (2000). *Pseudomonas spp. fluorescentes-bactérias promotoras de crescimento de plantas e biocontroladoras de fitopatógenos em sistemas de produção agrícola*. Embrapa Agrobiologia.

Zambrano, E. R., Salgado, T. J., & Hernández, A. T. (2007). Estudio de bacterias asociadas a orquídeas (Orchidaceae). *Lankesteriana International Journal on Orchidology*, 7(1-2), 322-325.

II - HIPÓTESE E OBJETIVOS GERAIS

Hipótese

A inoculação de bactérias promotoras do crescimento de plantas, com e sem associação de N-fertilizante promove incrementos na massa da parte aérea de forragem e raiz de *Megathyrsus* spp.

Objetivos gerais

Avaliar o efeito da inoculação de bactérias promotoras do crescimento de plantas na presença e ausência de N-fertilizante na produção de massa da parte aérea, desenvolvimento do sistema radicular e teores de carbono e nitrogênio no solo e raízes dos capins Zuri e Massai (*Megathyrsus maximus*).

CAPÍTULO III

(Normas: Grass and Forage Science)

III – CRESCIMENTO, TEOR DE CARBONO E NITROGÊNIO NO SOLO E RAÍZES DE CAPIM-ZURI INOCULADO COM BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO DE PLANTAS, COM E SEM N-FERTILIZANTE

Resumo

Objetivou-se avaliar o efeito da inoculação de bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP) na massa de parte aérea e de raízes, o teor de carbono e nitrogênio no solo e raízes do capim-Zuri [*Megathyrsus maximus* (Jacq.) (syn. de *Panicum maximum* Jacq.)], com e sem adição de N-fertilizante. As bactérias inoculadas foram *Azospirillum brasilense* Ab-V5 e Ab-V6, *Pseudomonas fluorescens* CCTB03 e ET76, e *Pantoea ananatis* AMG 521, mais o tratamento controle (sem bactéria), com (50 kg ha⁻¹ de N) e sem adubação nitrogenada. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, em esquema fatorial, com cinco repetições. A dose de 50 kg ha⁻¹ de N proporcionou incremento de 18% (21 g vaso⁻¹ MS) na massa de forragem. A estirpe CCTB03 na ausência de N-fertilizante proporcionou maior taxa de acúmulo (0,29 g vaso⁻¹ MS), e na dose de 50 kg ha⁻¹ de N, a estirpe ET76 demonstrou melhor desempenho (0,28 g vaso⁻¹ MS). As bactérias proporcionaram aumento de 38% na taxa de acúmulo, em comparação ao tratamento sem bactéria. As bactérias sem associação com N-fertilizante proporcionaram menor área (12%) e comprimento (23%) de raízes, em comparação ao tratamento sem bactéria. Na dose de 50 kg ha⁻¹ de N, as bactérias proporcionaram incrementos de 9 e 6% nos valores de área e comprimento radicular. O uso de bactérias na pastagem é uma tecnologia com potencial associativo ao uso de N-fertilizantes, podendo reduzir os custos com a manutenção de pastagens.

PALAVRAS-CHAVE: adubação nitrogenada, *Azospirillum brasilense*, *Megathyrsus maximus*, *Pantoea ananatis*, *Pseudomonas fluorescens*.

Abstract

The objective of this study was to evaluate the effect of plant growth-promoting bacteria (PGPB) inoculation on mass of shoots and roots and in the content of carbon and nitrogen in soil and roots of Zuri grass [*Megathyrsus maximus* (Jacq.) (Syn. of *Panicum maximum* Jacq.)], with and without the addition of N-fertilizer. The inoculated bacteria were *Azospirillum brasilense* Ab-V5 and Ab-V6, *Pseudomonas fluorescens* CCTB03 and ET76, and *Pantoea ananatis* AMG 521, plus the control treatment (without bacteria), with (50 kg ha⁻¹ of N) and without nitrogen fertilization. The experimental design was in randomized blocks, in a factorial scheme, with five replications. The N dose of 50 kg ha⁻¹ provided an increase of 18% (21 g vase⁻¹ DM) in forage mass. Strain CCTB03 in the absence of N-fertilizer provided a higher accumulation rate (0.29 g vase⁻¹ DM), and at the N dose of 50 kg ha⁻¹, strain ET76 demonstrated better performance (0.28 g vase⁻¹ DM). The bacteria provided a 38% increase in the accumulation rate, compared to treatment without bacteria. Bacteria without association with N-fertilizer provided smaller area (12%) and length (23%) of roots, compared to treatment without bacteria. At a N dose of 50 kg ha⁻¹, the bacteria provided increments of 9 and 6% in the values of root area and length. The use of bacteria in pasture is a technology with potential association to N-fertilizers, which can reduce the costs with pastures maintenance.

KEYWORDS

Azospirillum brasilense, *Megathyrsus maximus*, nitrogen fertilization, *Pantoea ananatis*, *Pseudomonas fluorescens*.

1 INTRODUÇÃO

Megathyrsus maximus é a segunda espécie de gramínea mais cultivada em área de pastagens no Brasil, além de ser um dos principais cultivos em pastagens de regiões tropicais e subtropicais em todo o mundo. Também é a mais produtiva propagada via sementes (Oliveira et al., 2017).

A sua valorização se dá, justamente em função da sua alta capacidade de produção de massa de forragem, associada ao valor nutritivo (Gomes et al., 2011), facilidade de estabelecimento e aceitabilidade pelos animais (Jank et al., 2011).

O capim-Zuri, por sua vez, vêm como mais uma alternativa viável para a diversificação das pastagens. É uma forrageira com hábito de crescimento cespitoso de porte ereto e alto, suas folhas são longas, largas, arqueadas e glabras, e seu florescimento é tardio e bem definido. O capim-Zuri apresenta alta produtividade de massa de forragem, em média 21,8 t ha⁻¹ ano⁻¹ de MS, com produção de 15% no período seco, alta razão folha:colmo, elevada capacidade de suporte, resistência a cigarrinha das pastagens e ao fungo *Bipolaris maydis*. São exigentes em solo de média a alta fertilidade e tolerância moderada a solos encharcados (Embrapa, 2013).

Apesar do potencial produtivo das gramíneas deste gênero, em especial o Zuri, ser determinado geneticamente (Fagundes et al., 2005), a máxima expressão da produção somente será obtida se atendidas as suas exigências em termo de fertilidade do solo, especialmente a de nitrogênio (N), que é necessário para promover incrementos significativos na produção de massa de forragem.

Embora os vários relatos na literatura apontam para os seus efeitos benéficos no aumento de massa de forragem, ainda assim, o uso de N-fertilizante é uma prática que eleva os custos de produção e, se não bem manejada, pode ocasionar prejuízos ambientais, pelas perdas de até metade do N fornecido no sistema (Van Groenigen et al., 2015), visto que a eficiência de uso do N-fertilizante pela planta dificilmente ultrapassa 50% (Vinhalfreitas e Rodrigues, 2010).

Por isso, é essencial o uso de tecnologias mais eficientes e sustentáveis aos meios de produção, e que reduza ao menos pela metade a necessidade do uso de fontes externas de N-fertilizante. Desta forma, a utilização de bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP) associadas às gramíneas é uma das alternativas capazes de promover o crescimento de plantas por meio da produção de fitormônios como auxina, citocininas e giberelina (Kochar e Srivastava, 2012) e até mesmo a fixação biológica de N₂ (Sarathambal et al., 2015).

Desde 2009, inoculantes contendo bactérias do gênero *Azospirillum* estão autorizados no Brasil para uso em gramíneas como produto comercial (Hungria et al., 2010). Estudos têm comprovado que as BPCP têm contribuído para o desenvolvimento

das plantas (Aguirre et al., 2018; Leite et al., 2018), promovendo alterações na morfologia das gramíneas (folhas, colmo e raízes), importantes componentes para a produção e valor nutritivo das forrageiras (Skonieski et al., 2017) e aumentos na densidade populacional dos perfilhos, nas taxas de alongamento de folhas e diminuição da senescência foliar (Andrade et al., 2019).

Dessa forma, é evidente que o uso de BPCP associadas a gramíneas tropicais promove incrementos de produção de massa, e se essa tecnologia também estiver associada a N-fertilizante, serão potencializados os resultados expressados pela gramínea. Porém, ainda não há na literatura dados substanciais no que se refere a quais gêneros/espécies de gramíneas tropicais de interesse zootécnico são responsivos às BPCP, e quais são as estirpes que melhor se associam a essas gramíneas.

Objetivou-se com este estudo avaliar o efeito da inoculação de bactérias promotora do crescimento de plantas na massa de forragem e de raízes, o teor de carbono e nitrogênio no solo e das raízes do capim-Zuri (*Megathyrsus maximus* (Jacq.)), com e sem N-fertilizante.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local e design experimental

O experimento foi conduzido na Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná, Brasil (23°19'S, 51°12'W; 590 m a.m.s.l.), de janeiro de 2018 a março de 2019.

O experimento foi conduzido em estufa agrícola em unidades experimentais formadas por vasos (30 cm de diâmetro, 30 cm de altura = 21 dm³) com orifícios no fundo para drenagem. O solo usado no experimento é classificado como Latossolo Vermelho eutroférico (Santos et al., 2018), coletado na camada de 0-0.2 m de profundidade, com as seguintes características químicas: potencial de hidrogênio (pH em CaCl₂) - 5,5; fósforo (P-Mehlich) - 8,46 mg dm⁻³; potássio (K⁺) - 0,69 cmol_cdm⁻³; alumínio (Al³⁺) - 0,10 cmol_cdm⁻³; cálcio (Ca²⁺) - 8,60 cmol_cdm⁻³; magnésio (Mg²⁺) - 2,90 cmol_cdm⁻³; capacidade de troca catiônica (CTC pH 7.0) - 18,40; matéria orgânica (MO) - 21,0 g dm⁻³; argila - 830 g kg⁻¹; silte - 30 g kg⁻¹ e areia - 140 g kg⁻¹. A fim de simular as condições usuais nas áreas de pastagens, o pH do solo não foi corrigido.

Os tratamentos foram arrançados em esquema fatorial entre cinco estirpes de bactérias promotoras de crescimento de plantas [*Azospirillum brasilense* Ab-V5 (=CNPSo 2083) e Ab-V6 (=CNPSo 2084), *Pseudomonas fluorescens* CCTB03 (=CNPSo 2719) e ET76 (=CNPSo 2799) e *Pantoea ananatis* AMG 521 (=CNPSo 2798), mais o tratamento controle (sem bactéria), com e sem a adição de N-fertilizante (50 kg ha⁻¹ ano⁻¹ de N, na forma de sulfato de amônio, distribuídos em delineamento em blocos ao acaso com cinco repetições, totalizando 60 vasos. A espécie de forragem usada foi o capim-Zuri (*Megathyrsus maximus* (Jacq.) B.K. Simon & Jacobs).

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 derivadas de programas de seleção de BPCP da Embrapa Soja: *Azospirillum brasilense* Ab-V5 e Ab-V6, selecionada no Brasil, inicialmente para as culturas de milho (*Zea mays*) e trigo (*Triticum aestivum*) (Hungria et al., 2010); *Pseudomonas fluorescens* CCTB03 da empresa Total Biotecnologia (Curitiba, PR, Brazil), e *Pseudomonas fluorescens* ET76 e *Pantoea ananatis* AMG 521, isoladas pela Universidad de Sevilla, Espanha (Megías et al., 2016).

Para o preparo do inoculante, as estirpes foram cultivadas em meio DYGS (Fukami et al. 2018), e com solução salina (NaCl 0,85%) para obtenção de concentração celular de 10⁸ unidades formadoras de colônia (UFC) mL⁻¹ com base na densidade óptica (600 nm) valores correspondentes às curvas de crescimento previamente obtidas para cada cepa.

Para a inoculação, 15 mL de cada inóculo foram usados por kg de sementes antes da semeadura. As sementes foram secas com inóculo aplicado por aproximadamente 30 minutos em local fresco e protegido do sol, e posterior semeadas 20 sementes por vaso.

Antes da semeadura todos os vasos receberam o equivalente a 82,8 kg ha⁻¹ de P₂O₅ (superfosfato simples 18% P₂O₅) em dose única, 216,5 kg ha⁻¹ de K₂O (cloreto de potássio 60% de K₂O) dividido em duas aplicações, sendo a primeira incorporada ao solo no momento da semeadura e a segunda, uma semana após a primeira colheita de uniformização, junto com a adubação basal com N-fertilizante (20 kg ha⁻¹ de N, como sulfato de amônio 20% N). Foi aplicado N-fertilizante nas parcelas, de acordo aos

tratamentos, sem e com N-fertilizante ($50 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ de N). A aplicação de 50 kg ha^{-1} de N foi parcelada em duas aplicações.

Os vasos foram irrigados com água de poço sem tratamento químico três vezes ao dia. Foi usado sistema de irrigação automatizado, com aspersão de 5-min até atingir 80% da capacidade de campo do vaso.

Foi realizado o desbaste de plantas com 3 semanas após a semeadura, deixando cinco plantas por vaso. Com 7 semanas após emergência das plantas foi realizado o corte de uniformização, deixando 40 cm de altura de resíduo. Os tratamentos com N-fertilizante foram aplicados três semanas após o corte de uniformização.

Durante o período experimental, foram monitoradas as condições climáticas internas da estufa agrícola através do Data logger de Temperatura HOBO U12-001, com registro médio de temperaturas máximas (38°C) e mínimas (15°C), conforme mostrado na Figura 1.

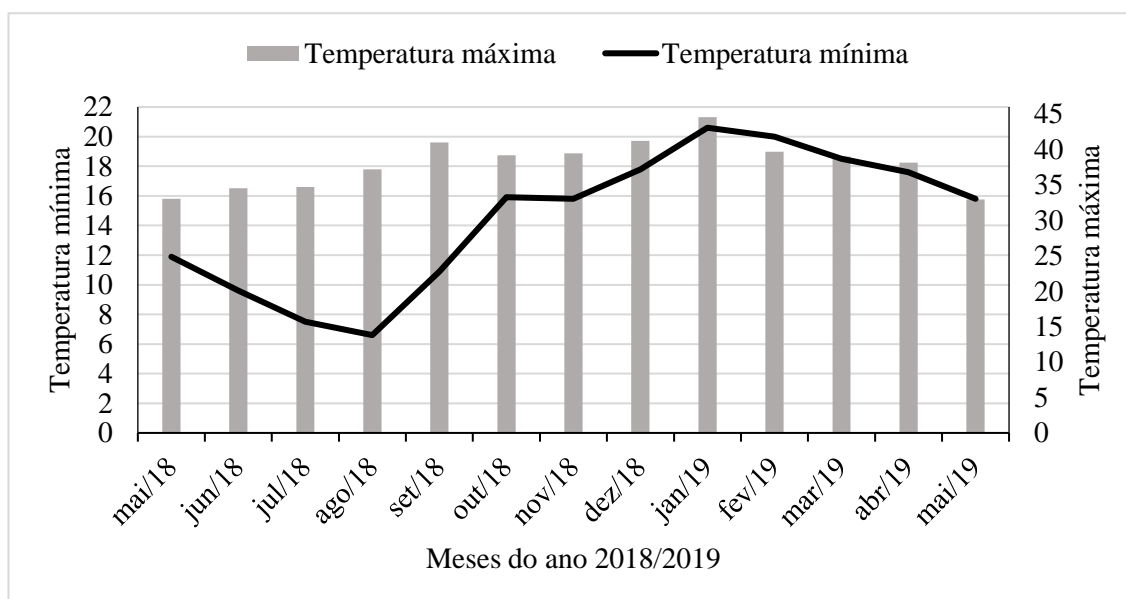


FIGURA 1. Condições climáticas (temperaturas máximas e mínimas) registradas na Estação Meteorológica Automática da Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná ao longo do período experimental (maio de 2018 e maio de 2019).

2.2 Variáveis respostas

As plantas foram colhidas quando a altura da forragem atingiu aproximadamente 80 cm, sendo cortadas a 40 cm de altura. A altura da forragem foi medida três vezes por semana com o auxílio de régua milimetrada de um metro.

Após a colheita, o material foi coletado para a determinação da massa de forragem (MF, g vaso⁻¹ MS). A MF foi calculada por meio do somatório de todas as colheitas parciais do período experimental (Barbosa et al., 2007). Os valores de taxa média diária de acúmulo de forragem (TAF, g vaso⁻¹ dia⁻¹ MS) foram obtidos dividindo-se o valor da MF pelo seu respectivo período de acúmulo.

A massa seca de raiz (MR, g vaso⁻¹ MS) foi determinada ao final do período experimental. As amostras foram lavadas em água corrente para a retirada do solo aderido (Soares Filho et al., 2013).

Todo o material coletado (parte aérea e raízes) foi acondicionado em sacos de papel, pesados e secos em estufa de ventilação forçada a 55°C por 72 h, pesadas novamente para determinação da massa seca. A MF foi moída em moinho estacionário "Thomas-Wiley", modelo 4 (Thomas-Wiley Laboratory Mill, Thomas Scientific, Swedesboro, NJ) adaptado com peneira de 1 mm.

A massa de forragem total (MFT; g vaso⁻¹) foi obtida a partir do somatório da MF e MR. Para calcular a razão parte aérea:raiz (RPA:R), dividiu-se a massa seca total da parte aérea pela massa seca total do sistema radicular.

Para a morfologia das raízes, retirou-se 1 g de raízes das amostras após a lavagem para a determinação do diâmetro radicular (DiR, mm), área radicular (AR, mm² dm⁻³), comprimento radicular (CR, mm dm⁻³) e densidade radicular (DeR, mm cm⁻³), que foi acondicionada em solução alcoólica a 10% e avaliada por meio de digitalização das raízes em Scanner HP 3400, e as leituras das imagens utilizando o software DELTA T SCAN®.

Para a análise de carbono e nitrogênio, amostras de raízes e solo foram coletadas, acondicionadas em bandejas de alumínio, secas em estufa com ventilação forçada a 55°C por 72 h, maceradas com auxílio de almofariz e pistilo de porcelana e passadas em peneira de 80 mesh, pesadas em microbalança com precisão de 0,0001 mg, acondicionadas em cápsulas de estanho e analisadas por meio do equipamento Organic Elemental Analysers

(FLASH 2000 Series, Thermo Scientific, USA), segundo metodologia descrita por Fontana e Bianchi (2017).

2.3 Análise Estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando o PROC MIXED do pacote estatístico do SAS University versão 9.2 (Sas Institute Inc. Cary, NC). Os dados foram testados quanto à normalidade dos resíduos (teste de Shapiro-Wilk, Shapiro e Wilk, 1965) e homogeneidade das variâncias (teste de Bartlett, Bartlett, 1950). As médias dos tratamentos foram comparadas usando a função PDIFF do procedimento LSMeans. Os tratamentos foram considerados diferentes quando $p \leq 0.05$.

3 RESULTADOS

Não houve interação entre bactérias x N-fertilizante para a produção de massa de forragem (MF, g vaso⁻¹), massa de forragem total (MFT, g vaso⁻¹), massa de raízes (MR, g vaso⁻¹), razão parte aérea/raízes (RPA:R), diâmetro de raízes (DiR, mm), densidade de raízes (DeR, mm cm⁻³), teor de nitrogênio nas raízes (NR %), teor de nitrogênio no solo (NS %), o teor de carbono nas raízes (CR %) e teor de carbono no solo (CS %).

Não houve efeito da inoculação de BPCP sobre os resultados de MF ($p = 0,962$) e MFT ($p = 0,738$), ambos apresentando em média 62,4, 125,2 e 237,2 g vaso⁻¹, respectivamente. A inoculação proporcionou valores de MF e MFT abaixo do observado no tratamento sem bactéria, que corresponde a 7% (136,0 g vaso⁻¹) e 4% (250,6 g vaso⁻¹), respectivamente (Tabela 1).

TABELA 1 Massa de forragem (MF, g vaso⁻¹) e massa de forragem total (MFT, g vaso⁻¹) de capim-Zuri (*Megathyrsus maximus* (Jacq.) B.K. Simon & Jacobs) inoculado com bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP), com e sem N-fertilizante (NF)

		MF	MFT
BPCP	Sem bactéria	136,0	250,6
	Ab-V5	135,1	229,5

	Ab-V6	115,7	232,9
	CCTB03	136,6	272,7
	ET76	112,5	210,3
	AMG 521	126,0	240,8
EPM		16,10	30,10
P-value		0,962	0,738
NF	0 kg ha ⁻¹ de N	116,6b	232,5
	50 kg ha ⁻¹ de N	137,4a	246,4
EPM		7,200	9,100
P-value		0,039	0,556

Azospirillum brasilense Ab-V5, *Azospirillum brasilense* Ab-V6, *Pseudomonas fluorescens* CCTB03, *Pseudomonas fluorescens* ET76, *Pantoea ananatis* AMG 521. Médias seguidas de letras iguais, nas colunas, não diferem pelo teste de Tukey ($P < 0.05$). EPM = Erro padrão da média.

Não houve efeito da dose de N-fertilizante MFT ($p = 0,556$), ambos apresentando em média 61,2 e 239,5 g vaso⁻¹, respectivamente. Porém, a dose de 50 kg ha⁻¹ de N proporcionou maior MF ($p = 0,039$), com incremento de 18% na massa de forragem, o que corresponde à produção de 21 g vaso⁻¹ de MS a mais quando comparado ao tratamento sem N-fertilizante.

Houve efeito de interação (TAF, $p = 0,042$) bactérias x N-fertilizante para taxa média diária de acúmulo de forragem. A maior taxa de acúmulo (0,29 g vaso⁻¹ dia⁻¹ MS) observado sem a adição de N-mineral foi registrada para a estirpe CCTB03, e o menor acúmulo (0,14 g vaso⁻¹ dia⁻¹ MS), para o tratamento sem bactéria. Os tratamentos com bactérias proporcionaram aumento no valor de TAF na ordem de 38%, quando comparado ao tratamento sem bactéria (Tabela 2).

TABELA 2 Efeito da interação bactéria x N-fertilizante sobre a taxa média diária de acúmulo de forragem (TAF, g MS vaso⁻¹ dia⁻¹) do capim-Zuri (*Megathyrsus maximus* (Jacq.) B.K. Simon & Jacobs) inoculada com bactéria promotora do crescimento de plantas (BPCP), com e sem N-fertilizante (NF)

BPCP	N-fertilizante, kg ha ⁻¹ de N	
	0	50
Sem bactéria	0,14c	0,26ab
Ab-V5	0,21abc	0,27ab
Ab-V6	0,19bc	0,25ab
CCTB03	0,29 ^a	0,22abc
ET76	0,18bc	0,28a
AMG 521	0,23ab	0,23ab
EPM	0,030	
P-value	0,042	

Azospirillum brasilense Ab-V5, *Azospirillum brasilense* Ab-V6, *Pseudomonas fluorescens* CCTB03, *Pseudomonas fluorescens* ET76, *Pantoea ananatis* AMG 521. Médias seguidas de letras iguais, nas colunas, não são diferentes pelo teste de Tukey ($P < 0.05$). EPM = Erro padrão da média.

Para a dose 50 kg ha⁻¹ de N, foi observado que a maior taxa de acúmulo (0,28 g vaso⁻¹ dia⁻¹) foi registrada para a estirpe ET76, e o menor acúmulo (0,22 g vaso⁻¹ dia⁻¹), para a estirpe CCTB03. Os valores de TAF proporcionados pelos tratamentos inoculados corresponderam a 96% a mais do que observado no tratamento sem bactéria (Tabela 2).

Não houve efeito da inoculação de BPCP sobre os resultados de MR ($p = 0,603$) e RPA:R ($p = 0,475$), ambos apresentando em média 114,4 g vaso⁻¹ e 1,1, respectivamente (Tabela 3).

TABELA 3 Massa de raízes (MR, g vaso⁻¹) e razão parte aérea/raiz (RPA:R) de capim-Zuri (*Megathyrsus maximus* (Jacq.) B.K. Simon & Jacobs) inoculado com bactéria promotora do crescimento de plantas (BPCP), com e sem N-fertilizante (NF)

BPCP		MR	RPA:R
	Sem bactéria	114,5	1,2
	Ab-V5	106,5	1,2

	Ab-V6	117,2	1,1
	CCTB03	136,1	1,0
	ET76	97,7	1,3
	AMG 521	114,7	1,0
EPM		15,80	0,110
P-value		0,603	0,475
NF	0 kg ha ⁻¹ de N	115,9	1,0b
	50 kg ha ⁻¹ de N	113,0	1,2a
EPM		5,850	0,220
P-value		0,818	0,015

Azospirillum brasilense Ab-V5, *Azospirillum brasilense* Ab-V6, *Pseudomonas fluorescens* CCTB03, *Pseudomonas fluorescens* ET76, *Pantoea ananatis* AMG 521. Médias seguidas de letras iguais, nas linhas, não são diferentes pelo teste de Tukey ($P < 0.05$). EPM = Erro padrão da média.

Não houve incremento na MR quando comparado as inoculações com o tratamento sem bactéria, no entanto, para a RPA:R a inoculação possibilitou a produção de massa de forragem semelhante a produção de massa raiz. No tratamento sem bactéria a massa de raízes correspondeu a 87% da massa de parte aérea na média dos tratamentos inoculados (Tabela 3).

Não houve efeito de N-fertilizante para MR ($p = 0,818$). A média da produção de massa de raiz foi de 114,5 g vaso⁻¹. A dose de 50 kg ha⁻¹ de N promoveu maior RPA:R ($p = 0,015$), com a contribuição a cerca de 20% a mais de raízes em relação à parte aérea (Tabela 3).

Não houve efeito da inoculação de BPCP sobre os resultados de Dir ($p = 0,122$) e DeR ($p = 0,727$), ambos apresentando em média 0,3 mm e 1,8 mm cm⁻³, respectivamente. Os resultados de DiR proporcionados pelos tratamentos com e sem bactéria foram semelhantes. No tratamento sem bactéria o diâmetro de raízes correspondeu a 95% do tratamento com bactérias. Houve incremento de 11% na densidade de raízes no tratamento sem bactéria, quando comparado ao inoculado (Tabela 4).

TABELA 4 Diâmetro de raízes (DiR, mm) e densidade de raízes (DeR, mm cm⁻³) de capim-Zuri (*Megathyrsus maximus* (Jacq.) B.K. Simon & Jacobs) inoculado com bactéria promotora do crescimento de plantas (BPCP), com e sem N-fertilizante (NF)

		DiR	DeR
BPCP	Sem bactéria	0,29	2,06
	Ab-V5	0,26	1,58
	Ab-V6	0,30	2,03
	CCTB03	0,29	2,11
	ET76	0,32	1,82
	AMG 521	0,34	1,65
	EPM	0,02	0,30
	<i>P</i> -value	0,122	0,727
NF	0 kg ha ⁻¹ de N	0,29	1,75
	50 kg ha ⁻¹ de N	0,31	2,00
	EPM	0,100	0,160
	<i>P</i> -value	0,387	0,317

Azospirillum brasilense Ab-V5, *Azospirillum brasilense* Ab-V6, *Pseudomonas fluorescens* CCTB03, *Pseudomonas fluorescens* ET76, *Pantoea ananatis* AMG 521. Médias seguidas de letras iguais, nas linhas, não são diferentes pelo teste de Tukey ($P < 0.05$). EPM = Erro padrão da média.

Não houve efeito da dose de N-fertilizante para DiR ($p = 0,387$) e DeR ($p = 0,317$), ambos apresentando em média 0,3 mm e 1,9 mm cm⁻³, respectivamente. O uso de N-fertilizante contribuiu para o aumento de 6 e 14% no diâmetro e densidade de raízes, respectivamente (Tabela 4).

Houve efeito de interação bactérias x N-fertilizante para área radicular (AR, $p = 0,006$) e comprimento radicular (CR, $p = 0,001$). O maior valor de AR (1056 mm² dm⁻³) observado na ausência de N-fertilizante foi registrado para a estirpe Ab-V6, e a menor área (323 mm² dm⁻³), para a estirpe Ab-V5. Os valores de AR proporcionados pelos tratamentos inoculados corresponderam a 88% do observado no tratamento sem bactéria (Tabela 5).

TABELA 5 Efeito da interação bactéria x N-fertilizante sobre a área radicular (AR, $\text{mm}^2 \cdot \text{dm}^3$) e comprimento radicular (CR, mm dm^{-3}) de capim-Zuri (*Megathyrsus maximus* (Jacq.) B.K. Simon & Jacobs) inoculado com bactéria promotora do crescimento de plantas (BPCP), com e sem N-fertilizante (NF)

BPCP	AR		CR	
	0 kg ha ⁻¹ de N	50 kg ha ⁻¹ de N	0 kg ha ⁻¹ de N	50 kg ha ⁻¹ de N
Sem bactéria	703abc	727abcd	2658ab	2603ab
Ab-V5	323d	624bcd	1266b	2405ab
Ab-V6	1056ab	417cd	3523a	1228b
CCTB03	410cd	1167a	1533b	3563a
ET76	418cd	1005ab	1377b	3886a
AMG 521	895abc	764abcd	2474ab	2717ab
EPM	208		597	
P-value	0,006		0,001	

Azospirillum brasilense Ab-V5, *Azospirillum brasilense* Ab-V6, *Pseudomonas fluorescens* CCTB03, *Pseudomonas fluorescens* ET76, *Pantoea ananatis* AMG 521. Médias seguidas de letras iguais, nas colunas, não são diferentes pelo teste de Tukey ($P < 0.05$). EPM = Erro padrão da média.

Para a dose 50 kg ha⁻¹ de N, foi observado que a maior AR (1167 $\text{mm}^2 \text{dm}^{-3}$) foi registrada para a estirpe CCTB03, e a menor AR (417 $\text{mm}^2 \text{dm}^{-3}$), para a estirpe Ab-V6. A inoculação das BPCP contribuiu para o aumento de 9% na área radicular, em comparação ao tratamento sem bactéria (Tabela 5).

Os resultados de CR mostraram que o maior valor (3523 mm dm^{-3}) observado ausência de N-fertilizante foi registrada para a estirpe Ab-V6, e os menores comprimentos (1266, 1533 e 1377 mm dm^{-3}), para as estirpes Ab-V5, CCTB03 e ET76, respectivamente. Os valores de CR proporcionados pelos tratamentos inoculados corresponderam a 77% do observado no tratamento sem bactéria (Tabela 5).

Na dose 50 kg ha⁻¹ de N, houve maiores CR (3563 e 3886 mm dm^{-3}) com a inoculação das estirpes CCTB03 e ET76, respectivamente, e a menor CR (1228 mm dm^{-3}), para a estirpe Ab-V6. A inoculação das BPCP proporcionou incrementos de 6% no comprimento radicular, quando comparado ao tratamento sem bactéria (Tabela 5).

Não houve efeito da inoculação de BPCP sobre o teor de nitrogênio nas raízes (NR,

$p = 0,099$), teor de nitrogênio no solo (NS, $p = 0,589$), teor de carbono na raiz (CR, $p = 0,425$) e teor de carbono no solo (CS, $p = 0,917$), ambos apresentando em média 0,717, 0,185, 41,56 e 2,05%, respectivamente (Tabela 6).

TABELA 6 Teor de nitrogênio na raiz (NR %), teor de nitrogênio no solo (NS %), teor de carbono na raiz (CR %) e teor de carbono no solo (CS %) de capim-Zuri (*Megathyrus maximus* (Jacq.) B.K. Simon & Jacobs) inoculado com bactéria promotora do crescimento de plantas (BPCP), com e sem N-fertilizante (NF)

		NR	NS	CR	CS
BPCP	Sem bactéria	0,644b	0,202	39,6	2,02
	Ab-V5	0,733ab	0,181	40,4	2,05
	Ab-V6	0,717ab	0,191	42,2	2,04
	CCTB03	0,763a	0,188	42,8	2,05
	ET76	0,662b	0,189	39,6	2,07
	AMG 521	0,708ab	0,178	42,8	2,04
	EPM	0,05	0,01	1,6	0,03
	<i>P</i> -value	0,099	0,589	0,425	0,917
NF	0 kg ha ⁻¹ de N	0,704	0,189	41,7	2,04
	50 kg ha ⁻¹ de N	0,705	0,187	40,8	2,04
	EPM	0,020	0,008	0,4500	0,010
	<i>P</i> -value	0,889	0,793	0,460	0,964

Azospirillum brasilense Ab-V5, *Azospirillum brasilense* Ab-V6, *Pseudomonas fluorescens* CCTB03, *Pseudomonas fluorescens* ET76, *Pantoea ananatis* AMG 521. Médias seguidas de letras iguais, nas linhas, não são diferentes pelo teste de Tukey ($P < 0.05$). EPM = Erro padrão da média.

Os tratamentos com bactérias, na média proporcionaram aumentos nos teores de NR, CR e CS na ordem de 11, 5 e 1%, quando comparados ao tratamento sem bactéria. Apenas para o NS, o seu teor correspondeu a 92% do observado no tratamento sem bactéria (Tabela 6).

Não houve efeito da dose de N-fertilizante para NR ($p = 0,889$), NS ($p = 0,793$), CR ($p = 0,460$) e CS ($p = 0,964$), ambos apresentando em média 0,705, 0,188, 41,25 e 2,04%, respectivamente (Tabela 6). Os tratamentos com e sem N-fertilizante tiveram

efeitos semelhantes para essas variáveis.

4 DISCUSSÃO

Frente ao novo desafio da sociedade moderna no que se refere aos modelos empregados para a produção de alimentos, tem sido despendidos esforços no intuito de modernizar os sistemas de produção agropecuária e torná-los mais eficientes do ponto de vista produtivo, ambiental e econômico.

Para isso, na produção animal a pasto, tem-se buscado elevar a capacidade produtiva com a intensificação do sistema, ao passo que reduzindo o uso de insumos agrícolas, como o N-fertilizante, de forma a mitigar danos ambientais e custos econômicos, e adotando os insumos biológicos. O uso desses insumos alternativos, a exemplo dos inoculantes contendo bactérias em associação com a pastagem, é uma tecnologia relativamente barata e mais sustentável, em relação aos insumos químicos.

Porém, a inoculação de bactérias não substitui o uso de N-fertilizante, uma vez que essa é uma forma de complementação dos requerimentos de N pelas plantas, bem como aumentar a eficiência de uso, uma vez que a quantidade de insumo químico aplicado é pequena. Somente a inoculação de gramíneas não é o suficiente para atender os requerimentos de N, devendo, portanto, estar associada a outras fontes de N, de forma a promover maior aproveitamento deste nutriente pelas forrageiras (Roesch et al., 2005).

As bactérias adicionam nas pastagens até 40 kg ha⁻¹ ano⁻¹ de N por meio da fixação biológica de N (Okon e Labandera-Gonzales, 1994), e corresponde a cerca de 17% da demanda das culturas (Moreira et al., 2010), sendo essa quantidade, inferior à recomendada para plantas forrageiras. Gomide et al. (2016) recomendaram para sistemas de médio nível tecnológico de pastagens com *Megathyrus* spp., a dose mínima de 100 a 150 kg ha⁻¹ ano⁻¹ de N distribuídos ao longo do ano.

Embora no presente estudo não tenha sido observada interação entre as bactérias e a presença/ausência de N-fertilizante, para a produção de massa de forragem, massa de raiz, teores de nitrogênio e carbono no solo e na raiz do capim-Zuri, ainda assim, há relatos em outros estudos de que pode haver efeito sinérgico entre esses fatores sobre a produção de massa de gramíneas tropicais (Lana et al., 2012; Hungria et al., 2016; Lopes et al., 2018; Duarte et al., 2020) ou ainda uma associação competitiva que compete e não

traz benefício para cultura, assim como uma associação aditiva, por sua vez traz benefício para as plantas (Duarte, 2018).

A ausência de resultados quanto a produção de massa de forragem total entre as plantas inoculadas e não inoculadas nas condições de fornecimento de N-fertilizante, apontadas neste estudo, também foi reportada em estudos com capim-Mombaça (*M. maximus*) desenvolvidos por Leite et al. (2019). Contudo, Carvalho et al. (2020) ao trabalhar com o capim-Zuri (*M. maximus*), reportaram incrementos médios de 28% no perfilhamento desta gramínea.

É evidente que os efeitos positivos desta associação em gramíneas são dependentes de fatores como o perfil de fertilidade dos solos (Leite et al., 2019), da dose de N-fertilizante, da biota nativa, pH, teores de matéria orgânica, umidade, fatores climáticos, dentre outros (Shameer e Prasad, 2018; Mamédio et al., 2020).

Outro fator que pode interferir nas contribuições das bactérias é a compatibilidade da associação, uma vez que, comumente é observado que nem toda espécie de gramínea responde positivamente à inoculação com determinado isolado bacteriano (Mamédio et al., 2020) Por essa razão, a responsividade das mesmas estirpes bacterianas em diferentes gramíneas tem sido testada, a fim de conhecer a associação que demonstrará resultados que contribuam para a modernização do sistema de produção pecuária.

Neste estudo, o incremento de 38% na produção de massa de forragem dentro de cada ciclo (intervalos entre colheitas), com a inoculação na ausência de N-fertilizante, em comparação ao tratamento sem bactéria, demonstra quão limitada é a produção de gramíneas tropicais sem o suprimento de N, conforme mencionado por Paciullo et al. (2017).

Ao analisar esse resultado com outra perspectiva, verifica-se como um ponto positivo, já que mostra a possibilidade de mitigação da queda da produção de forragem na ausência de adição de N via fertilizantes, e pode parcialmente ser atenuado pela inoculação com as bactérias promotoras de crescimento (Leite et al., 2019). Tal prática ainda se configura numa oportunidade de contribuir para a recuperação do potencial produtivo das pastagens, devido a seu estágio de degradação, dado que os pecuaristas de regiões de clima tropical dificilmente fazem a reposição de nutrientes nas pastagens (Dias-Filho, 2011), tanto por não considerar o pasto como uma lavoura, de forma a tecnificar a produção, como pelos altos custos dos fertilizantes.

Leite et al. (2019) fizeram extrapolação de dados a partir dos resultados de seus estudos, comparando a produção de massa de forragem de pastagens inoculadas, com sistemas sem a aplicação de N-fertilizante, e relataram que seria possível diminuir a área de pastagem necessária para uma unidade animal (UA = 450 kg de peso vivo), para 0,73 ha e, se for considerado um consumo médio de 17 kg dia⁻¹ de MS, haveria aumento na taxa de lotação de 2,2 para 3 UA ha⁻¹, pelo período de ocupação de 90 dias, e corresponderia a uma propriedade de 100 ha, a 70 UA a mais em pastejo. Isso certamente aumentará a taxa de retorno econômico para o pecuarista.

A massa radicular das plantas inoculadas foi semelhante aos tratamentos sem inoculação e com ou sem doses de N-fertilizante, indicando que estes recursos não demonstraram eficiência na promoção do crescimento radicular. A ausência de efeito pode estar relacionada com o teor de matéria orgânica dos solos do experimento, que pode ter disponibilizado quantidade de nitrogênio suficiente para o desenvolvimento das forrageiras (Hanisch et al., 2017).

Os resultados desta pesquisa são diferentes dos observados na literatura, uma vez que se sabe que as bactérias utilizadas neste estudo são eficientes em sintetizar hormônios promotores do crescimento como auxinas, citocininas e giberelinas (Perrig et al., 2007; Ilyas e Bano, 2010), que são responsáveis pelo crescimento e desenvolvimento do sistema radicular (Radwan et al., 2004; Miyauchi, et al., 2008; Shahid et al., 2017).

Quanto à morfologia de raízes, a maior eficiência no desenvolvimento das raízes, apontado neste estudo para o *Azospirillum* na ausência de N-fertilizante, e *Pseudomonas* na dose de 50 kg ha⁻¹ de N, é referente às especialidades destas bactérias em sintetizar hormônios promotores do crescimento. *Azospirillum* demonstra maior capacidade de produção de auxinas (Dobbelaere et al., 1999, a exemplo do ácido 3-indol acético (AIA), em relação aos outros hormônios, sendo este, um dos hormônios responsável por estimular a proliferação e/ou alongamento das células vegetais (Glick, 2014) e promover o crescimento radicular (Souza et al., 2017). Já as *Pseudomonas* sintetizam ácidos orgânicos que possibilitam aumentar a disponibilidade de fósforo (P) para as plantas, por meio de solubilização, ou ainda a partir da liberação de fosfatases que levam à mineralização de fosfatos inorgânicos (Duijff et al., 1997).

O fósforo é um elemento essencial para o desenvolvimento do sistema radicular e o perfilhamento das gramíneas, fatores que são fundamentais para o aumento da produção

de massa de forragem (Santos et al., 2002). O nitrogênio mantém estreita relação com o fósforo, pois a deficiência de fósforo pode limitar a sua absorção, assimilação e translocação na planta (Gniazdowska et al., 1999). Possivelmente, por isso a *Pseudomonas* tenha demonstrado maior efeito no tratamento com N-fertilizante.

O aumento do desenvolvimento radicular é um resultado bastante interessante para as condições das pastagens brasileiras, em que a sua maior parte é constituída por gramíneas tropicais, e que constantemente são afetadas por períodos prolongados de estiagens ao longo do ano, deixando ainda mais evidente a estacionalidade da produção de forragem, com queda expressiva dessa produção. Dessa forma, o incremento no sistema radicular pode significar maior área de absorção de água e nutrientes, refletindo na produção de massa de forragem e possibilitando a gramínea maior tolerância ao estresse por déficit hídrico (Shakir et al., 2012).

Os resultados do teor de nitrogênio no solo e nas raízes do capim-Zuri podem ser atribuídos em parte à fixação biológica do nitrogênio promovida por essas bactérias colonizadoras do sistema radicular, mecanismo que contribui para a nutrição nitrogenada da planta (Marques et al., 2017), principalmente nos tratamentos que não receberam N-fertilizante.

Com o estímulo ao crescimento das raízes através dos hormônios sintetizados, as bactérias inoculadas também auxiliam para que essas se transformem em verdadeiros drenos de CO₂, visto que, o sistema radicular mais desenvolvido tem a capacidade de ocupar mais área de solo, possibilitando maior sequestro de carbono atmosférico (Reis Júnior et al., 2003).

O maior crescimento radicular vai implicar em aumentos de substratos de carbono na rizosfera, e refletirá em maior proliferação das bactérias neste ambiente, pela disponibilidade de fontes de C e energia (Gomes, 2009) e, possivelmente, resultará em aumento da síntese de hormônios promotores de crescimento e nutrientes disponíveis para uso pelas plantas, resultando em maior produção de massa de forragem. Spaepen et al. (2007) relataram que a limitação do carbono tem forte relação com a redução da taxa de crescimento das plantas, principalmente nos períodos de estacionalidade da produção de forragem.

Estudos têm demonstrado que a associação das bactérias e N-fertilizante tende a ser complementar, a depender da quantidade de N aplicado na pastagem. As bactérias

promotoras de crescimento de plantas dependem da disponibilidade adequada de N no sistema para que ocorram suas atividades metabólicas (Barreiros et al., 2020), sendo que tanto a ausência de N (Marschner et al., 2006), quanto o excesso de N (Zhu et al., 2016), podem deixar a bactéria inativa no solo.

Uma vez que estas questões sejam sanadas, e sejam conhecidas as doses adequadas de N-fertilizante para uso em associação com as bactérias, isso contribuirá p1.2.a a tecnificação dos sistemas de criação animal em pastagem, tornando-o mais produtivo e sustentável do ponto de vista ambiental e econômico.

5 CONCLUSÕES

A dose de 50 kg ha⁻¹ de N promoveu maiores incrementos na produção de massa de forragem.

A *Pseudomonas fluorescens* demonstrou melhor interação com o N-fertilizante, proporcionando maiores taxas média diária de acúmulo de forragem.

Na ausência de N-fertilizante, *Azospirillum brasilense* Ab-V6 favoreceu o crescimento e área radicular e, na dose de 50 kg ha⁻¹ de N, *Pseudomonas fluorescens* CCTB03 demonstrou melhor resultado.

As bactérias e as associações de N-fertilizante não contribuíram para o aumento nos teores de carbono e nitrogênio no solo e nas raízes.

O uso de bactérias promotoras de crescimento de plantas na pastagem é uma tecnologia com potencial competitivo frente ao uso de N-fertilizantes, podendo reduzir os custos com a manutenção de pastagens, além de ser sustentável do ponto de vista econômico e ambiental.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao 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 (GEFORCE); Fundação Agrisus PA1732/16, CNPq e CAPES. U. Cecato também é bolsista de pesquisa do CNPq (CNPq-307838/2014-5).

CONFLITO DE INTERESSE

Os autores declaram que não houve conflito de interesse neste estudo

ORCID

João Vitor da Rosa Vicente <https://orcid.org/0000-0001-9669-2299>

REFERÊNCIAS

- Aguirre, P. F., Olivo, C. J., Rodrigues, P. F., Falk, D. R., Adams, C. B., & Schiafino, H. P. (2018). Forage yield of Coastcross-1 pastures inoculated with *Azospirillum brasilense*. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 40, e36392. <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v40i1.36392>
- Andrade, R. A., Porto, M. O., Cavali, J., Ferreira, E., Bergamin, A. C., Souza, F. R. D., & Aguiar, I. S. D. (2019). *Azospirillum brasilense* e fosfato natural reativo no estabelecimento de forrageira tropical. *Revista de Ciências Agrárias*, 42(1), 141-150. <http://dx.doi.org/10.19084/RCA18282>
- Barbosa, R. A., Nascimento Júnior, D. D., Euclides, V. P. B., Silva, S. C. D., Zimmer, A. H., & Torres Júnior, R. A. D. A. (2007). Capim-tanzânia submetido a combinações entre intensidade e frequência de pastejo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 42(3), 329-340. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2007000300005>
- Barreiros, A. R. D., Cecato, U., Duarte, C. F. D., Hungria, M., Biserra, T. T., da Silva, D. R., Mamédio, D., Sanches, R., & Fernandes, H. J. Forage Mass, Tillering, Nutritive Value and Root System of Ruzigrass Inoculated with Plant Growth Promoting Bacteria Associated with Doses of N-Fertilizer. *International Journal for Innovation Education and Research*, 8(10), 41-55. <https://doi.org/10.31686/ijer.vol8.iss10.2634>
- Bartlett, M. S. (1950). Tests of significance in factor analysis. *British Journal of statistical psychology*, 3, 77-85.
- Carvalho, C. L. M., Duarte, A. N. M., Hungria, M., Nogueira, M. A., Moreira, A., & Soares Filho, C. V. Nitrogen in Shoots, Number of Tillers, Biomass Yield and Nutritive Value of Zuri Guinea Grass Inoculated with Plant-Growth Promoting Bacteria. *International Journal for Innovation Education and Research*, 8(5), 437-463. <https://doi.org/10.31686/ijer.vol8.iss5.2360>

- Dias-Filho, M. B. (2011). *Degradação de pastagens: processos, causas e estratégias de recuperação*. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental.
- Dobbelaere, S., Croonenborghs, A., Thys, A., Broek, A. V., & Vanderleyden, J. (1999). Phytostimulatory effect of *Azospirillum brasilense* wild type and mutant strains altered in IAA production on wheat. *Plant and soil*, 212(2), 153-162. <https://doi.org/10.1023/A:1004658000815>
- Duarte, C. F. D. (2018). *Bactérias promotoras do crescimento vegetal e nitrogênio no estabelecimento e no desenvolvimento de Urochloa spp.* Tese de Doutorado. UEM: Universidade Estadual de Maringá.
- Duarte, C. F. D., Cecato, U., Hungria, M., Fernandes, H. J., Biserra, T. T., Mamédio, D., Galbeiro, S., & Nogueira, M. A. (2020). Inoculação de bactérias promotoras do crescimento vegetal em *Urochloa Ruziziensis*. *Research, Society and Development*, 9(8), 630985978. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i8.5978>
- Duijff, B. J., Gianinazzi-Pearson, V., & Lemanceau, P. (1997). Involvement of the outer membrane lipopolysaccharides in the endophytic colonization of tomato roots by biocontrol *Pseudomonas fluorescens* strain WCS417r. *The New Phytologist*, 135(2), 325-334. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.1997.00646.x>
- Embrapa gado de corte. Capim-Zuri (*Panicum maximum* cv. BRS Zuri): BRS Zuri *Panicum maximum*. BRS Zuri, produção e resistência para a pecuária. Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte, 2013. (Embrapa Gado de Corte. Comunicado Técnico).
- Fagundes, J. L., Fonseca, D. M. D., Gomide, J. A., Nascimento Junior, D. D., Vitor, C. M. T., Morais, R. V. D., Mistura, C., Reis, G. C., & Martuscello, J. A. (2005). Acúmulo de forragem em pastos de *Brachiaria decumbens* adubados com nitrogênio. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 40(4), 397-403. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2005000400012>
- Fontana, A., Bianchi, S. R. (2017). Carbono e nitrogênio total – analisador elementar. In P. C. Teixeira, G. K. Donagemma, A. Fontana, W. G. Teixeira (Eds.). *Manual de métodos de análise de solo*, (pp. 393-396). Brasília, DF: Embrapa.
- Fukami, J., Cerezini, P., & Hungria, M. (2018). *Azospirillum*: benefits that go far beyond biological nitrogen fixation. *AMB Express*, 8, 73. <https://doi.org/10.1186/s13568-018-0608-1>

- Glick, B. R. (2014). Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiological research*, 169(1), 30-39. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.09.009>
- Gniazdowska, A., Krawczak, A., Mikulska, M., & Rychter, A.M. (1999). Low phosphorus nutrition alters beansplants' ability to assimilate and translocate nitrate. *Journal of Plant Nutrition*, 22, 551-563. <https://doi.org/10.1080/01904169909365651>
- Gomes, M. L. (2009). *Bactérias diazotróficas endofíticas em cultivares de milho em áreas de Cerrado e Mata no estado de Roraima*. Dissertação de Mestrado. UFRR: Universidade Federal de Roraima.
- Gomes, R. A., Lempp, B., Jank, L., Carpejani, G. C., & Morais, M. D. G. (2011). Características anatômicas e morfofisiológicas de lâminas foliares de genótipos de *Panicum maximum*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 46(2), 205-211. <https://doi.org/10.1590/1089-6891v17i332914>
- Gomide, C. D. M., Paciullo, D., Leite, J., & Resende, H. (2016). *Panicum maximum* cvs. Tanzânia e Mombaça para uso em pastejo: produção e custo. *Embrapa Gado de Leite-Circular Técnica (INFOTECA-E)*.
- Hanisch, A. L., Balbinot Junior, A. A., & Vogt, G. A. (2017). Desempenho produtivo de *Urochloa brizantha* cv. Marandu em função da inoculação com *Azospirillum* e doses de nitrogênio. *Revista Agro@mbiente On-line*, 11(3), 200-208.
- Hungria, M., Campo, R. J., & MENDES, I. C. (2007). *A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro*. Embrapa Soja-Documents (INFOTECA-E).
- 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(1-2), 413-425. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-0262-0>
- Hungria, M., Nogueira, M. A., & Araujo, 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 & Environment*, 221, 125-131.
<https://doi.org/10.1016/j.agee.2016.01.024>
- Ilyas, N., & Bano, A. (2010). Azospirillum strains isolated from roots and rhizosphere soil of wheat (*Triticum aestivum* L.) grown under different soil moisture conditions. *Biology and Fertility of Soils*, 46(4), 393-406. <https://doi.org/10.1007/s00374-009-0438-z>
- Jank, L., Valle, C. D., & Resende, R. M. S. (2011). Breeding tropical forages. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 11(SPE), 27-34.
<https://doi.org/10.1590/S1984-70332011000500005>
- Kochar, M., & Srivastava, S. (2012). Surface colonization by Azospirillum brasilense SM in the indole-3-acetic acid dependent growth improvement of sorghum. *Journal of Basic Microbiology*, 52(2), 123-131. <https://doi.org/10.1002/jobm.201100038>
- Lana, M. D. C., Dartora, J., Marini, D., & Hann, J. E. (2012). Inoculation with Azospirillum, associated with nitrogen fertilization in maize. *Revista Ceres*, 59(3), 399-405. <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-737X2012000300016>
- Leite, R. D. C., dos Santos, J. G., Silva, E. L., Alves, C. R., Hungria, M., Leite, R. D. C., dos Santos, A. C. (2018). Productivity increase, reduction of nitrogen fertiliser use and drought-stress mitigation by inoculation of Marandu grass (*Urochloa brizantha*) with *Azospirillum brasilense*. *Crop and Pasture Science*, 70, 61-67.
<https://doi.org/10.1071/CP18105>
- Leite, R. D. C., Santos, A. C. D., Santos, J. G. D. D., Leite, R. D. C., Oliveira, L. B. T. D., & Hungria, M. (2019). Mitigation of Mombasa grass (*Megathyrsus maximus*) dependence on nitrogen fertilization as a function of inoculation with *Azospirillum brasilense*. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 43, e0180234.
<https://doi.org/10.1590/18069657rbc20180234>
- Lopes, M. J. S., Dias Filho, M. B., dos Reis Castro, T. H., de Filippi, M. C. C., da Silva, & G. B. (2018). Effect of *Pseudomonas fluorescens* and *Burkholderia pyrrocinia* on the Growth Improvement and Physiological Responses in *Brachiaria brizantha*. *American Journal of Plant Sciences*, 9(2), 250-265. doi: 10.4236/ajps.2018.92021
- Malinich, E. A., & Bauer, C. E. (2018). The plant growth promoting bacterium *Azospirillum brasilense* is vertically transmitted in *Phaseolus vulgaris* (common bean). *Symbiosis*, 76(2), 97-108. <https://doi.org/10.1007/s13199-018-0539-2>

- Mamédio, D., Cecato, U., Sanches, R., Silva, S. M. S., Silva, D. R., Rodrigues, V. O., Galbeiro, S., Barreiros, A. R. D., & Vicente, J. V. R. (2020). Do plant-growth promoting bacteria contribute to greater persistence of tropical pastures in water deficit? - A Review. *Research, Society and Development*, 9(8), e523985756. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i8.XX>
- Marques, A. C. R., de Oliveira, L. B., Nicoloso, F. T., Jacques, R. J. S., Giacomini, S. J., & de Quadros, F. L. F. (2017). Biological nitrogen fixation in C4 grasses of different growth strategies of South America natural grasslands. *Applied Soil Ecology*, 113, 54-62. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.01.011>
- Marschner, P., Solaiman, Z., & Rengel, Z. (2006). Rhizosphere properties of Poaceae genotypes under P-limiting conditions. *Plant and Soil*, 283(1-2), 11-24. DOI: 10.1007/s11104-005-8295-5
- 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). DOI: 10.1128/genomeA.01681-15
- 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. (2008). Interactions between diazotrophic bacteria and mycorrhizal fungus in maize genotypes. *Scientia Agricola*, 65(5), 525-531. <https://doi.org/10.1590/S0103-90162008000500012>
- Moreira, F. M. S. E., & Siqueira, J. (2006). *Microbiologia e bioquímica do solo*. Lavra: UFLA.
- Oliveira, J. S., Emerenciano Neto, J. V., Milhomens, L. B. S., Bezerra, J. D. V., Bonfim, B. R. S., Difante, G. S., Barbosa, L. D. (2017). Produção de forragem em pastos de *Panicum maximum* Jacq. em função do tempo de rebrotação. *XII Congresso Nordestino de Produção Animal*. Anais, 2343-2345.
- Okon, Y., & Labandera-Gonzalez, C. A. (1994). Agronomic applications of *Azospirillum*: an evaluation of 20 years worldwide field inoculation. *Soil Biology and Biochemistry*, 26(12), 1591-1601. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(94\)90311-5](https://doi.org/10.1016/0038-0717(94)90311-5)
- Paciullo, D. S. C., Gomide, C. D. M., Castro, C. R. T., Maurício, R. M., Fernandes, P. B., & Morenz, M. J. F. (2017). Morphogenesis, biomass and nutritive value of

- Panicum maximum* under different shade levels and fertilizer nitrogen rates. *Grass and forage Science*, 72(3), 590-600. <https://doi.org/10.1111/gfs.12264>
- Radwan, T. E. S. E. D., Mohamed, Z. K., & Reis, V. M. (2004). Efeito da inoculação de *Azospirillum* e *Herbaspirillum* na produção de compostos indólicos em plântulas de milho e arroz. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 39(10), 987-994. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2004001000006>
- Reis Júnior, F. B., Teixeira, K. D. S., Urquiaga, S., & Reis, V. M. (2003). *Associação de bactérias promotoras de crescimento de plantas do gênero Azospirillum com diferentes espécies de brachiaria*. Embrapa Cerrados-Documents (INFOTECA-E).
- Roesch, L. F. W., Camargo, F. A. D. O., Selbach, P. A., & Sa, E. L. S. D. (2005). Reinoculação de bactérias diazotróficas aumentando o crescimento de plantas de trigo. *Ciência rural, Santa Maria*, 35(5), 1201-1204. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782005000500035>
- Santos, H. G., Jacomine, P. K. T., Dos Anjos, L. H. C., De Oliveira, V. A., Lumbreras, J. F., Coelho, M. R., & Cunha, T. J. F. (2018). *Sistema brasileiro de classificação de solos*. Brasília, DF: Embrapa.
- Santos, H. Q., Fonseca, D. M., Cantarutti, R. B., Nascimento Júnior, D., & Alvarez V, V. H. (2002). Níveis críticos de fósforo no solo e na planta para gramíneas forrageiras tropicais, em diferentes idades. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 26, 173-182. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-06832002000100018>
- Shahid, I., Rizwan, M., Baig, D. N., Saleem, R. S., Malik, K. A., & Mehnaz, S. (2017). Secondary Metabolites production and plant growth promotion by *Pseudomonas chlororaphis* and *P. aurantiaca* strains isolated from cactus, cotton, and para grass. *Journal of Microbiolog and Biotechnology*, 27(3), 480-491. <https://doi.org/10.4014/jmb.1601.01021>
- Shakir, M. A., Asghari, B., & Muhammad, A. (2012). Rhizosphere bacteria containing ACC-deaminase conferred drought tolerance in wheat grown under semi-arid climate. *Soil and Environment*, 31(1), 108-112.
- Shameer, S., & Prasad, T. N. V. K. V. (2018). Plant growth promoting rhizobacteria for sustainable agricultural practices with special reference to biotic and abiotic stresses. *Plant Growth Regulation*, 84(3), 603-615. [https://doi.org/10.1007/s10725-017-0365-](https://doi.org/10.1007/s10725-017-0365-1)

- Shapiro, S. S., & Wilk, M. B. (1965). An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika*, 52, 591-611. Doi: 10.2307/2333709
- Skonieski, F. R., Viégas, J., Martin, T. N., Nörnberg, J. L., Meinerz, G. R., Tonin, T. J., Bernhard, P., & Frata, M. T. (2017). Effect of seed inoculation with *Azospirillum brasilense* and nitrogen fertilization rates on maize plant yield and silage quality. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 46(9), 722-730. <https://doi.org/10.1590/s1806-92902017000900003>
- Soares Filho, C. V., Cecato, U., Ribeiro, O. L., Cruz Roma, C. F. D., Jobim, C. C., Beloni, T., & Venturoli Perri, S. H. (2013). Root system and root and stem base organic reserves of pasture Tanzania grass fertilizer with nitrogen under grazing. *Semina: Ciências Agrárias*, 34(5), 2415-2426. <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2013v34n5p2415>
- Souza Moreira, F. M., Da Silva, K., Nóbrega, R. S. A., & De Carvalho, F. (2010). Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. *Comunicata Scientiae*, 1(2), 74-99. DOI: <https://doi.org/10.14295/cs.v1i2.45>
- Souza, M. S., de Baura, V. A., Santos, S. A., Fernandes-Júnior, P. I., Junior, F. B. R., Marques, M. R., Paggi, G. M., & da Silva Brasil, M. (2017). *Azospirillum* spp. from native forage grasses in Brazilian Pantanal floodplain: biodiversity and plant growth promotion potential. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 33(4), 81. <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2251-4>
- Spaepen, S., Vanderleyden, J., & Remans, R. (2007). Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *FEMS microbiology reviews*, 31(4), 425-448. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2007.00072.x>
- Van Groenigen, J., Huygens, D., Boeckx, P., Kuyper, T. W., Lubbers, I. M., Rütting, T. P., & Groffman, P. M. (2015). The soil N cycle: new insights and key challenges. *Soil*, 1(1), 235-256.
- Vinhal-Freitas, I. C., & Rodrigues, M. B. (2010). Fixação biológica do nitrogênio na cultura do milho. *Agropecuária Técnica*, 31(2), 143-154.
- Zhu, S., Vivanco, J. M., & Manter, D. K. (2016). Nitrogen fertilizer rate affects root exudation, the rhizosphere microbiome and nitrogen-use-efficiency of maize. *Applied Soil Ecology*, 107, 324-333. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2016.07.009>

CAPÍTULO IV

(Normas: Grass and Forage Science)

IV - MASSA DE FORRAGEM E RAÍZ, TEOR DE CARBONO E NITROGÊNIO NO SOLO E RAÍZES DE CAPIM-MASSAI INOCULADO COM BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO DE PLANTAS, COM OU SEM N-FERTILIZANTE

Resumo

Objetivou-se avaliar o efeito da inoculação de bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP) na massa de forragem e raízes, no teor de carbono e nitrogênio no solo e nas raízes do capim-Massai [*Megathyrsus maximus* (Jacq.) B.K. Simon & Jacobs (syn. de *Panicum maximum* Jacq.)], com ou sem N-fertilizante. As bactérias inoculadas foram *Azospirillum brasilense* Ab-V5 e Ab-V6, *Pseudomonas fluorescens* CCTB03 e ET76, e *Pantoea ananatis* AMG 521, mais o tratamento controle (sem bactéria), associada com ou sem N-fertilizante (50 kg ha⁻¹ de N). O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, em esquema fatorial, com cinco repetições. Houve efeito de interação bactérias x N-fertilizante na massa de raiz. As estirpes Ab-V5 e CCTB03 proporcionaram, juntamente com o tratamento sem bactéria, os maiores valores para o diâmetro de raízes. A dose de 50 kg ha⁻¹ de N proporcionou incremento de 16% na massa de forragem da parte aérea, e quando contabilizada a parte aérea mais massa de raízes (massa de forragem total), esse incremento correspondeu a 11%. A aplicação de N-fertilizante não demonstrou resultado sobre os parâmetros relacionados à morfologia das raízes e teores de carbono e nitrogênio no solo e nas raízes. As bactérias promotoras de crescimento de plantas não foram eficientes em aumentar a produção de massa de forragem, contudo, o uso de N-fertilizante aumentou a produção de massa de forragem do capim-Massai.

PALAVRAS-CHAVE

adubação nitrogenada, *Azospirillum brasilense*, *Megathyrus maximus*, *Pantoea ananatis*, *Pseudomonas fluorescens*.

Abstract

The objective of this study was to evaluate the effect of plant growth promoting bacteria (PGPB) inoculation on forage mass and roots, on the carbon and nitrogen content in soil and roots of Massai grass [*Megathyrus maximus* (Jacq.) B.K. Simon & Jacobs (syn. *Panicum maximum* Jacq.)], with or without N-fertilizer. The inoculated bacteria were *Azospirillum brasilense* Ab-V5 and Ab-V6, *Pseudomonas fluorescens* CCTB03 and ET76, and *Pantoea ananatis* AMG 521, plus the control treatment (without bacteria), associated with or without N-fertilizer (50 kg ha⁻¹ of N). The experimental design was in randomized blocks, in a factorial scheme, with five replications. There was an effect of bacteria x N-fertilizer interaction on root mass. Strains Ab-V5 and CCTB03 provided, together with treatment without bacteria, the highest values for root diameter. The N dose of 50 kg ha⁻¹ provided an increase of 16% in forage mass of the aerial part, and when counting the aerial part plus root mass (total forage mass), this increase corresponded to 11%. The application of N-fertilizer did not show results on parameters related to the roots morphology and the levels of carbon and nitrogen in soil and roots. The plant growth-promoting bacteria were not efficient in increasing the forage mass production, however, the use of N-fertilizer increased the forage mass production of Massai grass.

KEYWORDS

Azospirillum brasilense, *Megathyrus maximus*, nitrogen fertilization, *Pantoea ananatis*, *Pseudomonas fluorescens*.

1 INTRODUÇÃO

A pastagem é considerada como o método mais prático e econômico para a produção de ruminantes (Ertl et al., 2016), tanto é que, em função disso, a quase totalidade da produção animal é realizada em regime de pastejo.

Megathyrus é o segundo gênero de gramínea, dentre as pastagens cultivadas, mais utilizado nos sistemas de produção animal a pasto no Brasil (Fernandes et al., 2014), especialmente na bovinocultura leiteira e corte nos sistemas de produções intensivos a pasto (Gomide et al., 2016). Esse uso é por sua elevada produção de massa de forragem (Mishra et al., 2008).

As gramíneas desse gênero são exigentes em fertilidade do solo, e quando os seus requerimentos não são atendidos, frequentemente há problemas na formação da pastagem, baixa tolerância ao pastejo, perda da capacidade produtiva do pasto (Herling et al., 2000), com avanço dos estádios de degradação (Dias Filho, 2014).

Dentre os nutrientes, a deficiência de nitrogênio (N) é considerada o fator que mais influencia na queda da qualidade e produtividade das plantas forrageiras (Euclides et al., 2007), carecendo, portanto, de sua reposição no solo via adubação nitrogenada. Porém, a alta demanda por N, além de elevar os custos de produção (Canto et al., 2016), também impacta negativamente no meio ambiente (Reis Junior et al., 2008).

O grande desafio da produção pecuária moderna está em aliar a alta produtividade com os meios de produção mais sustentáveis, ou seja, diminuir cada vez mais a dependência de insumos químicos (Bounaffaa et al., 2018). Nessa perspectiva, os inoculantes bacterianos têm sido empregados na agropecuária com o objetivo de fornecer N ao sistema e auxiliar no crescimento das plantas forrageiras (Souza e Ferreira, 2017).

Embora os estudos com a inoculação de bactérias promotoras do crescimento de plantas em gramíneas que representam interesses econômicos tanto para a agricultura quanto para a pecuária datem desde a década de 1960, a sua utilização comercial é consideravelmente modesta, mesmo havendo a intensificação de pesquisas, especialmente, as voltadas para a inoculação bacteriana em gramíneas de interesse zootécnico.

Apesar de o Brasil demonstrar grande destaque nesta área de estudo, com contribuição significativa para a literatura internacional, a exploração desta tecnologia para uso em pastagens tropicais é quase inexistente, mesmo havendo resultados promissores na literatura, que apontam para os incrementos em termos de produção de massa de forragem, crescimento e desenvolvimento do sistema radicular, proporcionados pela inoculação.

Por essa razão, é tão importante a continuidade desse tipo de estudo, com a disseminação e popularização dos resultados, de forma a possibilitar a transformação desta tecnologia em produtos comerciais que auxiliem na modernização do sistema de produção a animal a pasto, aliando a produtividade e sustentabilidade.

A partir deste estudo, objetivou-se avaliar o efeito da inoculação de bactérias promotoras do crescimento de plantas na massa de forragem e raízes, no teor de carbono e nitrogênio no solo e nas raízes do capim-Massai (*Megathyrsus maximus* (Jacq.) B.K. Simon & Jacobs), com ou sem N-fertilizante.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local e design experimental

O experimento foi conduzido na Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná, Brasil (23°19'S, 51°12'W; 590 m a.m.s.l.), de janeiro de 2018 a março de 2019.

O experimento foi conduzido em estufa agrícola em unidades experimentais formadas por vasos (30 cm de diâmetro, 30 cm de altura = 21 dm³) com orifícios no fundo para drenagem. O solo usado no experimento é classificado como Latossolo Vermelho eutroférico (Santos et al., 2018), coletado na camada de 0-0.2 m de profundidade, com as seguintes características químicas: potencial de hidrogênio (pH em CaCl₂) - 5,5; fósforo (P-Mehlich) - 8,46 mg dm⁻³; potássio (K⁺) - 0,69 cmol_cdm⁻³; alumínio (Al³⁺) - 0,10 cmol_cdm⁻³; cálcio (Ca²⁺) - 8,60 cmol_cdm⁻³; magnésio (Mg²⁺) - 2,90 cmol_cdm⁻³; capacidade de troca catiônica (CTC pH 7.0) - 18,40; matéria orgânica (MO) - 21,0 g dm⁻³; argila - 830 g kg⁻¹; silte - 30 g kg⁻¹ e areia - 140 g kg⁻¹. A fim de simular as condições usuais nas áreas de pastagens, o pH do solo não foi corrigido.

Os tratamentos foram arrançados em esquema fatorial entre cinco estirpes de bactérias promotoras de crescimento de plantas [*Azospirillum brasilense* Ab-V5 (=CNPSo 2083) e Ab-V6 (=CNPSo 2084), *Pseudomonas fluorescens* CCTB03 (=CNPSo 2719) e ET76 (=CNPSo 2799) e *Pantoea ananatis* AMG 521 (=CNPSo 2798), mais o tratamento controle (sem bactéria), com e sem a adição de N-fertilizante (50 kg ha⁻¹ ano⁻¹ de N, na forma de sulfato de amônio, distribuídos em delineamento em blocos

ao acaso com cinco repetições, totalizando 60 vasos. A espécie de forragem usada foi o capim-Massai (*Megathyrsus maximus* (Jacq.) B.K. Simon & Jacobs).

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 derivadas de programas de seleção de BPCP da Embrapa Soja: *Azospirillum brasilense* Ab-V5 e Ab-V6, selecionada no Brasil, inicialmente para as culturas de milho (*Zea mays*) e trigo (*Triticum aestivum*) (Hungria et al., 2010); *Pseudomonas fluorescens* CCTB03 da empresa Total Biotecnologia (Curitiba, PR, Brazil), e *Pseudomonas fluorescens* ET76 e *Pantoea ananatis* AMG 521, isoladas pela Universidad de Sevilla, Espanha (Megías et al., 2016).

Para o preparo do inoculante, as estirpes foram cultivadas em meio DYGS (Fukami et al. 2018), e com solução salina (NaCl 0,85%) para obtenção de concentração celular de 10^8 unidades formadoras de colônia (UFC) mL^{-1} com base na densidade óptica (600 nm) valores correspondentes às curvas de crescimento previamente obtidas para cada cepa.

Para a inoculação, 15 mL de cada inóculo foram usados por kg de sementes antes da semeadura. As sementes foram secas com inóculo aplicado por aproximadamente 30 minutos em local fresco e protegido do sol, e posterior semeadas 20 sementes por vaso.

Antes da semeadura todos os vasos receberam o equivalente a $82,8 \text{ kg ha}^{-1}$ de P_2O_5 (superfosfato simples 18% P_2O_5) em dose única, $216,5 \text{ kg ha}^{-1}$ de K_2O (cloreto de potássio 60% de K_2O) dividido em duas aplicações, sendo a primeira incorporada ao solo no momento da semeadura e a segunda, uma semana após a primeira colheita de uniformização, junto com a adubação basal com N-fertilizante (20 kg ha^{-1} de N, como sulfato de amônio 20% N). Foi aplicado N-fertilizante nas parcelas, de acordo aos tratamentos, sem e com N-fertilizante ($50 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ de N). A aplicação de 50 kg ha^{-1} de N foi parcelada em duas aplicações.

Os vasos foram irrigados com água de poço sem tratamento químico três vezes ao dia. Foi usado sistema de irrigação automatizado, com aspersão de 5-min até atingir 80% da capacidade de campo do vaso.

Foi realizado o desbaste de plantas com 3 semanas, após a semeadura, deixando cinco plantas por vaso. Com 7 semanas após emergência das plantas foi realizado o corte

de uniformização, deixando 30 cm de altura de resíduo. Os tratamentos com N-fertilizante foram aplicados três semanas, após o corte de uniformização.

Durante o período experimental, foram monitoradas as condições climáticas internas da estufa agrícola através do Data logger de Temperatura HOBO U12-001, com registro médio de temperaturas máximas (38°C) e mínimas (15°C), conforme mostrado na Figura 1.

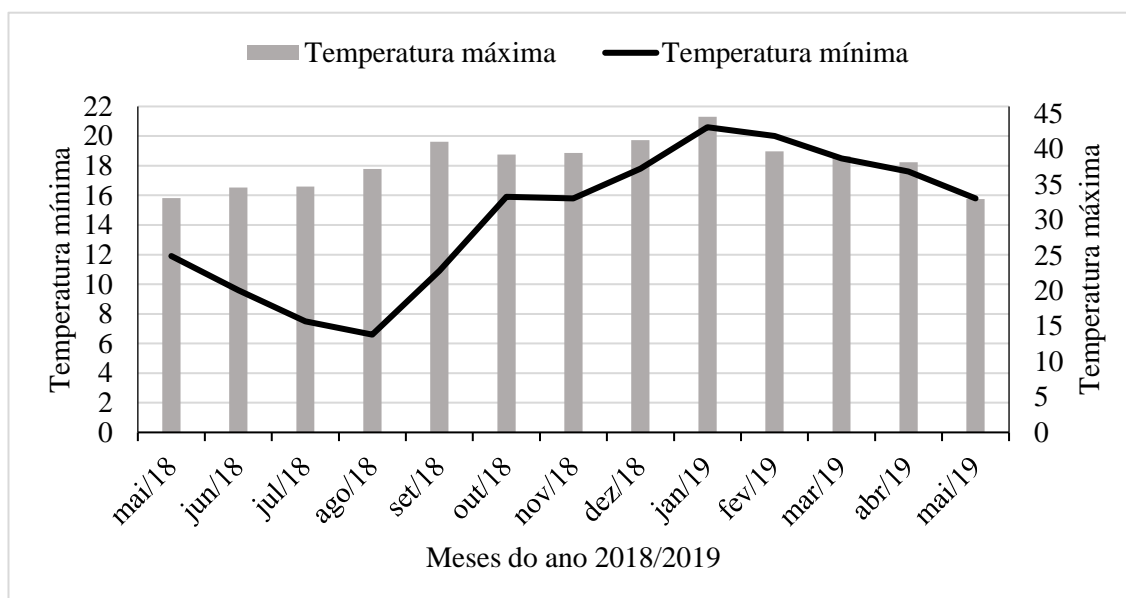


FIGURA 2. Condições climáticas (temperaturas máximas e mínimas) registradas na Estação Meteorológica Automática da Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná ao longo do período experimental (maio de 2018 e maio de 2019).

2.2 Variáveis respostas

As plantas foram colhidas quando a altura da forragem atingiu aproximadamente 55 cm, sendo cortadas a 30 cm de altura. A altura da forragem foi medida três vezes por semana com o auxílio de régua milimetrada de um metro.

Após a colheita, o material foi coletado para a determinação da massa de forragem (MF, g vaso⁻¹ MS). A MF foi calculada por meio do somatório de todas as colheitas parciais do período experimental (Barbosa et al., 2007). Os valores de taxa média diária de acúmulo de forragem (TAF, g vaso⁻¹ dia⁻¹ MS) foram obtidos dividindo o valor da MF pelo seu respectivo período de acúmulo.

A massa seca de raiz (MR, g vaso⁻¹ MS) foi determinada ao final do período experimental. As amostras foram lavadas em água corrente para a retirada do solo aderido (Soares Filho et al., 2013).

Todo o material coletado (parte aérea e raízes) foi acondicionado em sacos de papel, pesados e secos em estufa de ventilação forçada a 55°C por 72 h, pesadas novamente para determinação da massa seca. A MF foi moída em moinho estacionário "Thomas-Wiley", modelo 4 (Thomas-Wiley Laboratory Mill, Thomas Scientific, Swedesboro, NJ) adaptado com peneira de 1 mm.

A massa de forragem total (MFT; g vaso⁻¹) foi obtida a partir do somatório da MF e MR. Para calcular a razão parte aérea:raiz (RPA:R), dividiu-se a massa seca total da parte aérea pela massa seca total do sistema radicular.

Para a morfologia das raízes, retirou-se 1 g de raízes das amostras, após a lavagem para a determinação do diâmetro radicular (DiR, mm), área radicular (AR, mm² dm⁻³), comprimento radicular (CR, mm dm⁻³) e densidade radicular (DeR, mm cm⁻³), que foi acondicionada em solução alcoólica a 10% e avaliada por meio de digitalização das raízes em Scanner HP 3400, e as leituras das imagens utilizando o software DELTA T SCAN[®].

Para a análise de carbono e nitrogênio, amostras de raízes e solo foram coletados, acondicionadas em bandejas de alumínio, secas em estufa com ventilação forçada a 55°C por 72 h, maceradas com auxílio de almofariz e pistilo de porcelana e passadas em peneira de 80 mesh, pesadas em microbalança com precisão de 0,0001 mg, acondicionadas em cápsulas de estanho e analisadas por meio do equipamento Organic Elemental Analysers (FLASH 2000 Series, Thermo Scientific, USA), segundo metodologia descrita por Fontana e Bianchi (2017).

2.3 Análise Estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando o PROC MIXED do pacote estatístico do SAS University versão 9.2 (Sas Institute Inc. Cary, NC). Os dados foram testados quanto à normalidade dos resíduos (teste de Shapiro-Wilk, Shapiro e Wilk, 1965) e homogeneidade das variâncias (teste de Bartlett, Bartlett, 1950). As médias dos tratamentos foram comparadas usando a função PDIFF do procedimento LSMeans. Os tratamentos foram considerados diferentes quando $p \leq 0.05$.

3 RESULTADOS

Não houve interação entre bactérias x N-fertilizante e a taxa média diária de acúmulo de forragem (TAF, g vaso⁻¹ dia⁻¹), a massa de forragem (MF, g vaso⁻¹), a massa de forragem total (MFT, g vaso⁻¹), a razão parte aérea/raiz (RPA:R), a área radicular (AR, mm².dm³), o comprimento radicular (CR, mm.dm³), o diâmetro de raiz (DiR, mm), a densidade de raiz (DeR, mm.cm³), o teor de nitrogênio na raiz (NR %), o teor de nitrogênio no solo (NS %), o teor de carbono na raiz (CR %) e o teor de carbono no solo (CS %).

Não houve efeito da inoculação de BPCP para TAF ($p = .471$) e MF ($p = 0.226$), ambos apresentando em média 60,28 g vaso⁻¹, 0,55 g vaso⁻¹ dia⁻¹ e 110,17 g vaso⁻¹, respectivamente. A inoculação proporcionou aumento no valor de TAF e MF na ordem de 4, 20 e 10%, respectivamente, quando comparado ao tratamento sem bactéria (Tabela 1).

TABELA 1 Taxa média diária de acúmulo de forragem (TAF, g vaso⁻¹ dia⁻¹) e massa de forragem (MF, g vaso⁻¹) de capim-Massai (*Megathyrsus maximus* (Jacq.) B.K. Simon & Jacobs) inoculado com bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP), com ou sem N-fertilizante (NF)

		TAF	MF
BPCP	Sem bactéria	0,46	100,53
	Ab-V5	0,55	115,49
	Ab-V6	0,54	120,84
	CCTB03	0,52	103,98
	ET76	0,59	106,53
	AMG 521	0,54	104,03
	EPM	0,080	7,190
	<i>P</i> -value	0,471	0,226
NF	0 kg ha ⁻¹ de N	0,42b	100,53b
	50 kg ha ⁻¹ de N	0,60a	116,71a
	EPM	0,070	10,100
	<i>P</i> -value	<.000	0,004

Azospirillum brasilense Ab-V5, *Azospirillum brasilense* Ab-V6, *Pseudomonas fluorescens* CCTB03,

Pseudomonas fluorescens ET76, *Pantoea ananatis* AMG 521. Médias seguidas de letras iguais, nas linhas, não são diferentes pelo teste de Tukey ($P < 0.05$). EPM = Erro padrão da média.

Houve efeito da dose de N-fertilizante para TAF ($p < 0.001$) e MF ($p = 0.004$). A dose de 50 kg ha⁻¹ de N proporcionou maior TAF (0,60 g vaso⁻¹ dia⁻¹) e MF (116,71 g vaso⁻¹), e corresponde ao incremento de 16, 43 e 16% na produção de massa de forragem, respectivamente, em comparação ao tratamento sem N-fertilizante (Tabela 1).

Houve efeito de interação (MR, $p = 0.045$) bactérias x N-fertilizante na massa de raízes. Porém, ao verificar os resultados para os tratamentos com inoculação e sem bactéria, dentro do uso ou não de N-fertilizante, observa-se que estes foram semelhantes (Tabela 2).

TABELA 2 Efeito da interação bactéria x N-fertilizante sobre a massa de raízes (MR, g vaso⁻¹) do capim-Massai (*Megathyrus maximus* (Jacq.) B.K. Simon & Jacobs)

BPCP	Doses de N-fertilizantes, kg ha ⁻¹	
	0	50
Sem bactéria	49,90	34,40
Ab-V5	43,30	41,10
Ab-V6	39,80	49,40
CCTB03	33,30	37,50
ET76	33,50	34,80
AMG 521	46,90	23,20
EPM	5,850	
P-value	0,045	

Azospirillum brasilense Ab-V5, *Azospirillum brasilense* Ab-V6, *Pseudomonas fluorescens* CCTB03, *Pseudomonas fluorescens* ET76, *Pantoea ananatis* AMG 521. Médias seguidas de letras iguais, nas colunas, não são diferentes pelo teste de Tukey ($P < 0.05$). EPM = Erro padrão da média.

Não houve efeito da inoculação de BPCP para MFT ($p = 0.126$) e RPA:R ($p = 0.812$), ambos apresentando em média 147,07 g vaso⁻¹ e 3,00, respectivamente (Tabela 3). A inoculação proporcionou incrementos de 8% na massa de forragem total. Porém, o valor de RPA:R correspondeu a 94% do observado no tratamento sem bactéria.

TABELA 3 Massa de forragem total (MFT, g vaso⁻¹) e razão parte aérea/raiz (RPA:R) de capim-Massai (*Megathyrus maximus* (Jacq.) B.K. Simon & Jacobs) inoculada com bactéria promotora do crescimento de plantas (BPCP), com ou sem N-fertilizante (NF)

		MFT	RPA:R
BPCP	Sem bactéria	135,62	3,18
	Ab-V5	150,70	2,81
	Ab-V6	165,44	2,84
	CCTB03	139,39	3,15
	ET76	140,70	3,16
	AMG 521	139,11	3,04
	EPM	9,140	0,330
	<i>P</i> -value	0,126	0,812
NF	0 kg ha ⁻¹ de N	137,92b	2,70b
	50 kg ha ⁻¹ de N	152,41a	3,43a
	EPM	4,900	0,220
	<i>P</i> -value	0,039	0,001

Azospirillum brasilense Ab-V5, *Azospirillum brasilense* Ab-V6, *Pseudomonas fluorescens* CCTB03, *Pseudomonas fluorescens* ET76, *Pantoea ananatis* AMG 521. Médias seguidas de letras iguais, nas linhas, não são diferentes pelo teste de Tukey ($P < 0.05$). EPM = Erro padrão da média.

Houve efeito da adição de N-fertilizante para MFT ($p = 0.039$) e RPA:R ($p = 0.001$). A dose de 50 kg ha⁻¹ de N proporcionou maior MFT (152,41 g vaso⁻¹) e RPA:R (3,43), o que corresponde ao incremento de 11 e 27% para massa de forragem total e razão parte aérea/raiz, respectivamente, em comparação ao tratamento sem N-fertilizante (Tabela 3).

Não houve efeito da inoculação de BPCP para a AR ($p = 0.051$), para o CR ($p = 0.200$) e para a DeR ($p = 0.335$), ambos apresentando em média 422,60 mm².dm³, 7,18 mm.cm³ e 1,35 mm.cm³, e corresponde a 59, 95 e 92% dos valores observados no tratamento sem bactéria, respectivamente, (Tabela 4).

TABELA 4 Área radicular (AR, mm².dm³), comprimento radicular (CR, mm.dm³), diâmetro radicular (DiR, mm) e densidade radicular (DeR, mm.cm³) de capim-Massai (*Megathyrus maximus* (Jacq.) B.K. Simon & Jacobs) inoculada com bactéria promotora do crescimento de plantas (BPCP), com e sem N-fertilizante (NF)

		AR	CR	DiR	DeR
BPCP	Sem bactéria	713,79	7,54	0,31a	1,46
	Ab-V5	613,65	7,51	0,27ab	1,83
	Ab-V6	295,51	6,90	0,22b	1,20
	CCTB03	505,81	7,41	0,25ab	1,30
	ET76	297,27	6,84	0,21b	1,09
	AMG 521	400,75	7,26	0,22b	1,32
	EPM	124,700	0,258	0,020	0,280
<i>P</i> -value	0,051	0,200	0,007	0,335	
NF	0 kg ha ⁻¹ de N	455,90	7,18	0,25	1,28
	50 kg ha ⁻¹ de N	486,40	7,30	0,24	1,45
	EPM	73,500	0,144	0,010	0,162
<i>P</i> -value	0,804	0,552	0,492	0,285	

Azospirillum brasilense Ab-V5, *Azospirillum brasilense* Ab-V6, *Pseudomonas fluorescens* CCTB03, *Pseudomonas fluorescens* ET76, *Pantoea ananatis* AMG 521. Médias seguidas de letras iguais, nas colunas, não são diferentes pelo teste de Tukey ($P < 0.05$). EPM = Erro padrão da média.

Houve efeito da inoculação de BPCP para o DiR ($p = 0.007$). O maior valor de diâmetro radicular foi registrado para o tratamento sem bactéria (0,31 mm), sendo estes semelhantes aos resultados apresentados pelas estirpes Ab-V5 (0,27 mm) e CCTB03 (0,25 mm). Os menores valores de diâmetro foram observados com a inoculação das estirpes Ab-V6 (0,22 mm), ET76 (0,21 mm) e AMG 521 (0,22 mm). O valor médio de diâmetro proporcionados pelas inoculações corresponde a 75% do observado no tratamento sem bactéria (Tabela 4).

Não houve efeito da associação de N-fertilizante para a AR ($p = 0.804$), para o CR ($p = 0.552$), para o DiR ($p = 0.492$) e para a DeR ($p = 0.285$), ambos apresentando em média 471,15 mm².dm³, 7,24 mm.dm³, 0,25 mm e 1,37 mm.cm³, respectivamente (Tabela 4).

Não houve efeito da inoculação de BPCP para o teor de nitrogênio na raiz (NR, $p = 0.225$), para o teor de nitrogênio no solo (NS, $p = 0.819$), para o teor de carbono na raiz (CR, $p = 0.504$) e para o teor de carbono no solo (CS, $p = 0.734$), ambos apresentando em média 0,76, 0,18, 44,67 e 1,93%, respectivamente (Tabela 5).

TABELA 5 Teor de nitrogênio nas raízes (NR %), teor de nitrogênio no solo (NS %), teor de carbono nas raízes (CR %) e teor de carbono no solo (CS %) de capim-Massai (*Megathyrsus maximus* (Jacq.) B.K. Simon & Jacobs) inoculada com bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP), com e sem N-fertilizante (NF)

		NR	NS	CR	CS
BPCP	Sem bactéria	0,72	0,19	43,57	1,93
	Ab-V5	0,78	0,18	44,31	1,96
	Ab-V6	0,75	0,18	44,16	1,93
	CCTB03	0,81	0,18	45,01	1,94
	ET76	0,70	0,20	44,27	1,93
	AMG 521	0,76	0,18	45,61	1,91
	EPM	0,030	0,010	0,750	0,020
<i>P</i> -value	0,225	0,819	0,504	0,734	
NF	0 kg ha ⁻¹ de N	0,75	0,18	44,50	1,93
	50 kg ha ⁻¹ de N	0,76	0,19	44,48	1,93
	EPM	0,020	0,008	0,450	0,010
<i>P</i> -value	0,698	0,502	0,980	0,989	

Azospirillum brasilense Ab-V5, *Azospirillum brasilense* Ab-V6, *Pseudomonas fluorescens* CCTB03, *Pseudomonas fluorescens* ET76, *Pantoea ananatis* AMG 521. Médias seguidas de letras iguais, nas linhas, não são diferentes pelo teste de Tukey ($P < 0.05$). EPM = Erro padrão da média.

As inoculações proporcionaram aumentos nos teores de nitrogênio e carbono nas raízes, na ordem de 5 e 3%, em comparação ao tratamento sem bactéria. Para o nitrogênio no solo, o seu teor correspondeu a 96% do observado no tratamento sem bactéria. O teor de carbono no solo proporcionado pela inoculação foi semelhante ao tratamento sem bactéria (Tabela 5).

Não houve efeito de N-fertilizante para o NR ($p = 0.698$), para o NS ($p = 0.502$),

para o CR ($p = 0.980$) e para o CS ($p = 0.989$), ambos apresentando em média 0,75, 0,19, 44,49 e 1,93%, respectivamente (Tabela 5).

4 DISCUSSÃO

O ecossistema de pastagem se apresenta dinâmico ao longo do ciclo produtivo, com distribuição da produção de biomassa entre a parte aérea e as raízes, que se dá de forma não homogênea, uma vez que sofrem forte influência das condições edafoclimáticas, do manejo da pastagem e da intensidade de pastejo.

A produção de massa de forragem está diretamente relacionada ao que ocorre no sistema radicular, sendo que, qualquer fator limitante ao crescimento e desenvolvimento das raízes afeta negativamente a produção de massa de forragem (Giacomini et al., 2005). Segundo estes autores, as raízes são importantes órgãos de armazenamento de carboidratos e proteínas, sendo essenciais para a recuperação da massa foliar, após a forragem passar por frequentes desfolhação pelo animal ou colheita.

A existência de biomassa suficiente, tanto de parte aérea como de raízes, pode ser garantida com as práticas de manejo do sistema, pelo uso de N-fertilizantes e tecnologias como a inoculação com bactérias promotoras do crescimento de plantas. Existem dados na literatura que comprovam a ocorrência de complementariedade dos efeitos desses dois fatores sobre as forragens (Lopes et al., 2018; Duarte et al., 2020), sendo benéficos para a produção da massa de forragem (Dartora et al., 2013; Carvalho et al., 2020) e, o mais importante, possibilitando a mitigação dos efeitos nocivos do N-fertilizante no ambiente (Barreiros et al., 2020).

Outro benefício observado a partir da associação bactéria/N-fertilizante, é a redução dos custos de produção, pela redução da quantidade de N-fertilizante usado nas culturas agrícolas ou aumento da eficiência de uso para atender os seus requerimentos (Leite et al., 2019; Tahir et al., 2020). Essa redução é possibilitada pela adição de nitrogênio ao sistema de pastagem, pela capacidade de algumas bactérias possuírem o mecanismo de fixação biológica de nitrogênio – FBN (Araújo et al., 2014; Rosolem et al., 2017), convertendo o N_2 atmosférico em compostos assimiláveis pela planta (Nunes et al., 2003), mas também, por outros mecanismos, como alterações na arquitetura no sistema de raízes, tornando-o mais eficiente (Rondina et al. 2020).

Os efeitos observados a partir do uso de bactérias e N-fertilizante no mesmo sistema, demonstra relação direta, tanto que a atividade metabólica da bactéria está diretamente associada à disponibilidade de N no sistema (Barreiros et al., 2020), de modo tanto a limitação quanto o excesso de N podem prejudicar a eficiência dos microrganismos (Marschner et al., 2006; Zhu et al., 2016).

Embora neste estudo não tenha sido observado efeito da inoculação das bactérias promotoras de crescimento de plantas sobre a produção de massa do capim-Massai, ainda assim, na literatura são reportados efeitos benéficos, com incrementos na massa de forragem de gramíneas tropicais como capim-Marandu (*Urochloa brizantha*) (Hungria et al., 2016; Leite et al., 2019), capim Ruziziensis (*U. ruziziensis*) (Hungria et al., 2016), capim Coastcross-1 (*Cynodon dactylon* L. Pers) (Aguirre et al., 2018), Capim-BRS Tamani (*Megathyrsus maximus*) (Andrade et al., 2019), capim-Massai (*M. maximus*) (Luz et al., 2019) e capim-Zuri (*M. maximus*) (Lima et al., 2020).

Os incrementos observados nessas gramíneas devido à inoculação são atribuídos à capacidade de algumas espécies de bactérias, a exemplo das utilizadas neste estudo, de utilizar combinação de fatores e mecanismos que potencializam a produção (Dobbelaere et al., 2003), como a capacidade de sintetizar hormônios promotores do crescimento, como as auxinas, as citocininas e as giberelinas (Perrig et al., 2007; Ilyas e Bano, 2010), promover a melhoria da capacidade absorptiva das raízes, aumentando a sua permeabilidade (Loredo et al., 2004) e, contribuir para a solubilização de fosfatos (Araújo et al., 2014).

A ausência de efeitos da inoculação nos parâmetros analisados neste estudo, possivelmente seja pela existência de uma comunidade bacteriana nativa no solo, com maior potencial de competição por recursos do ambiente, e melhor adaptadas às condições físicas e químicas do solo, quando comparada às inoculadas (Bécquer et al., 2013), ao mesmo tempo que a incompatibilidade entre os fatores em associação também podem interferir no resultado (Mamédio et al., 2020).

Diferente dos resultados observados com as bactérias, o uso de N-fertilizante possibilitou incrementos na massa de forragem do capim-Massai, conforme mostram os dados deste estudo. Na literatura, é reportada a alta exigência das gramíneas do gênero *Megathyrsus*, em termos de fertilidade do solo, especialmente de nitrogênio, pela quantidade necessária de nutrientes para garantir o elevado potencial de produção de

massa de forragem. Barreiros et al. (2020) relatam que a carência de qualquer nutriente pode diminuir a expressão do potencial produtivo da pastagem.

Dentre os nutrientes, o nitrogênio é o mais requerido para a manutenção das pastagens (Werner, 1994), e quando aplicado, as plantas apresentam respostas positivas em termos de acúmulo de produção de massa e valor nutritivo (Cecato et al., 2011; Palmer et al., 2014), devido à intensa renovação de tecidos (Barreiros et al., 2020).

Os efeitos da inoculação da *Azospirillum brasilense* Ab-V5 e *Pseudomonas fluorescens* CCTB03 sobre o diâmetro radicular, observados neste estudo, podem ser atribuídos à sintetização de substâncias que promovem o crescimento e desenvolvimento do sistema radicular (Gupta et al., 2013; Leite et al., 2019; Lima et al., 2020), uma vez que este é o principal nicho de colonização das bactérias (Lima et al., 2015).

A renovação dos tecidos radiculares é essencial para a translocação de nitrogênio do solo para as plantas, garantindo, assim, a manutenção do adequado estado nutricional da planta (Beneditti, 2012). Essa característica tem relação direta com a frequência de colheita da forragem (Costa et al., 2012), sendo que a redução, principalmente do comprimento das raízes, influencia na eficiência de absorção de água e nutrientes do solo pelas plantas forrageiras (Giacomini et al., 2005) e, por consequência, pode refletir negativamente no desenvolvimento e na capacidade de estabelecimento do pasto (Machado et al., 2013).

A disponibilidade de nitrogênio no solo favorece o desenvolvimento das raízes existentes e o surgimento de novas raízes, com aumento da capacidade absorptiva e, por sua vez, leva para maior concentração deste nutriente nas raízes (Bonfim-Silva e Monteiro, 2010), conforme também observado nos estudos com os capins Aruana e Tanzânia (*Megathyrsus maximus*), realizados por Giacomini et al. (2005).

A formação do sistema radicular bem desenvolvido auxilia na perenidade das pastagens tropicais, uma vez que, constantemente estes sistemas passam por condições de estresses, a exemplo do déficit hídrico, invernos rigorosos e diferentes frequências e intensidades de desfolhação (Cunha et al., 2010), que podem comprometer a capacidade de recuperação das pastagens, pois impacta primeiramente a produção de raízes e, em seguida, a parte aérea (Cecato et al., 2001).

Apesar de não se ter observado efeito da inoculação e uso de N-fertilizante sobre os teores de carbono e nitrogênio nas raízes e no solo deste estudo, ainda assim, é

conhecido e reportado na literatura a importância desse nutriente na recuperação da pastagem, principalmente, após a forragem passar por alguma perturbação externa, a exemplo da desfolhação pelo animal.

As raízes se comportam como órgão armazenador de nutrientes (Colozza et al., 2000), sendo que a manutenção da reserva de nitrogênio nas raízes e base do colmo, possibilita a rápida recuperação da planta forrageira após a desfolhação. Cerca de 80% do nitrogênio presente na parte aérea, uma semana após a colheita da forragem, é proveniente desses órgãos, e o restante é oriundo do N-fertilizante aplicado ao solo (Lemaire e Chapman, 1996).

A quantidade de carbono e nitrogênio mantém relação direta e, ambos têm os seus teores influenciados pelo tipo de manejo realizado nas pastagens (Conant et al., 2005), sejam as condições de desfolhações, ou práticas de reposição da fertilidade do solo (Silva et al., 2004). A ausência de práticas adequadas de manejo do sistema de pastagem pode contribuir para a exaustão dos recursos do solo, com comprometimento da capacidade produtiva da pastagem e, com o tempo, desencadear e acelerar os estádios de degradação da pastagem (Cardoso et al., 2010).

De fato, tanto a inoculação de bactérias promotoras do crescimento de plantas quanto o uso de N-fertilizante, são práticas que se complementam dentro dos sistemas de produção e que, quando usadas adequadamente, repõem nutrientes no solo, e por consequência, aumentam a sua disponibilidade para uso pelas plantas, e potencializam a capacidade produtiva das pastagens.

A junção destas tecnologias possibilita a manutenção do vigor produtivo e perenidade das pastagens, com reflexos na recuperação de áreas que apresentam estádios iniciais de degradação, além de auxiliar na mitigação de danos ambientais.

5 CONCLUSÕES

As bactérias promotoras do crescimento de plantas não promoveram incrementos na produção de massa de forragem do capim-Massai.

A dose de 50 kg ha⁻¹ de N aumentou a produção de massa de forragem do capim-Massai.

A *Azospirillum brasilense* Ab-V5 e a *Pseudomonas fluorescens* CCTB03

proporcionaram maiores diâmetros de raiz.

As bactérias e as associações de N-fertilizante não contribuíram para o aumento nos teores de carbono e nitrogênio no solo e nas raízes do capim-Massai.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao 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 (GEFORCE); Fundação Agrisus PA1732/16, CNPq e CAPES. U. Cecato também é bolsista de pesquisa do CNPq (CNPq-307838/2014-5).

CONFLITO DE INTERESSE

Os autores declaram que não há conflito de interesse neste estudo

ORCID

João Vitor da Rosa Vicente <https://orcid.org/0000-0001-9669-2299>

REFERÊNCIAS

- Aguirre, P. F., Olivo, C. J., Rodrigues, P. F., Falk, D. R., Adams, C. B., & Schiafino, H. P. (2018). Forage yield of Coastcross-1 pastures inoculated with *Azospirillum brasilense*. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 40, e36392. <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v40i1.36392>
- Andrade, R. A., Porto, M. O., Cavali, J., Ferreira, E., Bergamin, A. C., Souza, F. R. D., & Aguiar, I. S. D. (2019). *Azospirillum brasilense* e fosfato natural reativo no estabelecimento de forrageira tropical. *Revista de Ciências Agrárias*, 42(1), 141-150. <http://dx.doi.org/10.19084/RCA18282>
- Araújo, É. D. O., Vitorino, A. C., Mercante, F. M., Nunes, D. P., & de PQ Scalon, S. (2014). Qualidade de sementes de milho em resposta à adubação nitrogenada e à inoculação com bactérias diazotróficas. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, 9(2), 159-165. DOI:10.5039/agraria.v9i2a2695

- Barbosa, R. A., Nascimento Júnior, D. D., Euclides, V. P. B., Silva, S. C. D., Zimmer, A. H., & Torres Júnior, R. A. D. A. (2007). Capim-tanzânia submetido a combinações entre intensidade e frequência de pastejo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 42(3), 329-340. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2007000300005>
- Barreiros, A. R. D., Cecato, U., Duarte, C. F. D., Hungria, M., Biserra, T. T., da Silva, D. R., Mamédio, D., Sanches, R., & Fernandes, H. J. Forage Mass, Tillering, Nutritive Value and Root System of Ruzigrass Inoculated with Plant Growth Promoting Bacteria Associated with Doses of N-Fertilizer. *International Journal for Innovation Education and Research*, 8(10), 41-55. <https://doi.org/10.31686/ijer.vol8.iss10.2634>
- Bartlett, M. S. (1950). Tests of significance in factor analysis. *British Journal of statistical psychology*, 3, 77-85.
- Bécquer, C. J., Salas, B., Slaski, J., Archambault, D., & Anya, A. (2013). Influence of rhizospheric bacteria on germination and initial growth of *Sporobolus cryptandrus* (Torr.) A. Gray. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 47(4), 431-436.
- Benedetti, E. (2018). *Leguminosas e Sistema Silvopastoril*. Uberlândia, MG: EDUFU.
- Bonfim-Silva, E. M., & Monteiro, F. A. (2010). Nitrogênio e enxofre na adubação e em folhas diagnósticas e raízes do capim braquiária em degradação. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 39(8), 1641-1649. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982010000800004>
- Cardoso, E. L., Silva, M. L. N., Silva, C. A., Curi, N., & Freitas, D. A. F. D. (2010). Estoques de carbono e nitrogênio em solo sob florestas nativas e pastagens no bioma Pantanal. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 45(9), 1028-1035. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2010000900013>
- Carvalho, C. L. M., Duarte, A. N. M., Hungria, M., Nogueira, M. A., Moreira, A., & Soares Filho, C. V. Nitrogen in Shoots, Number of Tillers, Biomass Yield and Nutritive Value of Zuri Guinea Grass Inoculated with Plant-Growth Promoting Bacteria. *International Journal for Innovation Education and Research*, 8(5), 437-463. <https://doi.org/10.31686/ijer.vol8.iss5.2360>
- Cecato, U. (2001). Teores de carboidratos não-estruturais, nitrogênio total e peso de raízes em coastcross-1 (*Cynodon dactylon* (L.) Pers) pastejado por ovinos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 30(3), 644-650. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982001000300006>

- Cecato, U., Galbeiro, S., Paris, W., Soares Filho, C. V., Teixeira, S. (2011). Uso de nitrogênio em pastagens. In U. Cecato, M. A. A. F. Barbosa, S. Galbeiro, W. Paris, F. C. A. R. Grecco, C. S. Viegas, S. Teixeira (Eds.), *Simpósio de Produção Animal a Pasto*, (pp. 117-162). Maringá: Sthampa.
- Colozza, M. T., de Castro Kiehl, J., Werner, J. C., & Schammas, E. A. (2000). Respostas de *Panicum maximum* cultivar Aruana a doses de nitrogênio. *Boletim de Indústria Animal*, 57(1), 21-32.
- Conant, R. T., Paustian, K., Del Grosso, S. J., & Parton, W. J. (2005). Nitrogen pools and fluxes in grassland soils sequestering carbon. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 71(3), 239-248. <https://doi.org/10.1007/s10705-004-5085-z>
- Costa, M. A. T., Tormena, C. A., Lugão, S. M. B., Fidalski, J., Nascimento, W. G. D., & Medeiros, F. M. D. (2012). Resistência do solo à penetração e produção de raízes e de forragem em diferentes níveis de intensificação do pastejo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 36(3), 993-1004. <https://doi.org/10.1590/S0100-06832012000300029>
- Cunha, F. F. D., Ramos, M. M., Alencar, C. A. B. D., Martins, C. E., Cóser, A. C., & Oliveira, R. A. D. (2010). Sistema radicular de seis gramíneas irrigadas em diferentes adubações nitrogenadas e manejos. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 32(2), 351-357. <http://dx.doi.org/10.4025/actasciagron.v32i2.1020>
- 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(10), 1023-1029. <https://doi.org/10.1590/S1415-43662013001000001>
- Dobbelaere, S., Vanderleyden, J., & Okon, Y. (2003). Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. *Critical reviews in plant sciences*, 22(2), 107-149. <https://doi.org/10.1080/713610853>
- Duarte, C. F. D., Cecato, U., Hungria, M., Fernandes, H. J., Biserra, T. T., Mamédio, D., Galbeiro, S., & Nogueira, M. A. (2020). Inoculação de bactérias promotoras do crescimento vegetal em *Urochloa Ruziziensis*. *Research, Society and Development*, 9(8), 630985978. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i8.5978>

- Fontana, A., Bianchi, S. R. (2017). Carbono e nitrogênio total – analisador elementar. In P. C. Teixeira, G. K. Donagemma, A. Fontana, W. G. Teixeira (Eds.). *Manual de métodos de análise de solo*, (pp. 393-396). Brasília, DF: Embrapa.
- Fukami, J., Cerezini, P., & Hungria, M. (2018). Azospirillum: benefits that go far beyond biological nitrogen fixation. *AMB Express*, 8, 73. <https://doi.org/10.1186/s13568-018-0608-1>
- Giacomini, A. A., Mattos, W. T., Mattos, H. B., Werner, J. C., Cunha, E. A., & Carvalho, D. D. (2005). Crescimento de Raízes dos Capins Aruana e Tanzânia Submetidos a Duas Doses de Nitrogênio1. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 34(4), 1109-1120. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982005000400004>
- Gupta, N., Kumar, S., Mishra, M. N., & Tripathi, A. K. (2013). A constitutively expressed pair of rpoE2–chrR2 in *Azospirillum brasilense* Sp7 is required for survival under antibiotic and oxidative stress. *Microbiology*, 159, 205-218. <https://doi.org/10.1099/mic.0.061937-0>
- 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(1-2), 413-425. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-0262-0>
- Hungria, M., Nogueira, M. A., & Araujo, 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 & Environment*, 221, 125-131. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2016.01.024>
- Ilyas, N., & Bano, A. (2010). *Azospirillum* strains isolated from roots and rhizosphere soil of wheat (*Triticum aestivum* L.) grown under different soil moisture conditions. *Biology and Fertility of Soils*, 46(4), 393-406. <https://doi.org/10.1007/s00374-009-0438-z>
- Leite, R. D. C., dos Santos, J. G., Silva, E. L., Alves, C. R., Hungria, M., Leite, R. D. C., & dos Santos, A. C. (2019). Productivity increase, reduction of nitrogen fertiliser use and drought-stress mitigation by inoculation of Marandu grass (*Urochloa brizantha*) with *Azospirillum brasilense*. *Crop and Pasture Science*, 70, 61-67. <https://doi.org/10.1071/CP18105>

- Leite, R. D. C., Santos, A. C. D., Santos, J. G. D. D., Leite, R. D. C., Oliveira, L. B. T. D., & Hungria, M. (2019). Mitigation of Mombasa grass (*Megathyrsus maximus*) dependence on nitrogen fertilization as a function of inoculation with *Azospirillum brasilense*. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 43, e0180234. <https://doi.org/10.1590/18069657rbcS20180234>
- Lemaire, G., & Chapman, D. (1996). Tissue flows in grazed plant communities. In J. Hodgson, A.W. Illius (Eds.), *The ecology and management of grazing systems*, (pp. 3-36). Guilford: CAB International.
- Lima, G. C., Hungria, M., Nogueira, M. A., Teixeira Filho, M. C. M., Moreira, A., Heinrichs, R., & Viegas, C. (2020). Yield, yield components and nutrients uptake in zuri guinea grass inoculated with plant growth-promoting bacteria. *International Journal for Innovation Education and Research*, 8, 103-124. <https://doi.org/10.31686/ijer.vol8.iss4.2268>
- Lima, J. V. L., Weber, O. B., Correia, D., Soares, M. A., & Senabio, J. A. (2015). Endophytic bacteria in cacti native to a Brazilian semi-arid region. *Plant and Soil*, 389(1-2), 25-33. <https://doi.org/10.1007/s11104-014-2344-x>
- Lopes, M. J. S., Dias Filho, M. B., dos Reis Castro, T. H., de Filippi, M. C. C., da Silva, & G. B. (2018). Effect of *Pseudomonas fluorescens* and *Burkholderia pyrrocinia* on the Growth Improvement and Physiological Responses in *Brachiaria brizantha*. *American Journal of Plant Sciences*, 9(2), 250-265. doi: 10.4236/ajps.2018.92021
- Loredo-Osti, C., López-Reyes, L., & Espinosa-Victoria, D. (2004). Bacterias promotoras del crecimiento vegetal asociadas con gramíneas: Una revisión. *Terra Latinoamericana*, 22(2), 225-239.
- Luz, M. V. C., Pinheiro, D. F., Santos, G. O.; Souza, J. V. M., Santim. G. Q., Trevisan, Y. F. *Massa de forragem e componentes morfológicos do capim Massai inoculado com bactérias promotoras de crescimento no período de estabelecimento*. In: Congresso Brasileiro de Zootecnia, 29, Uberaba. Uberaba, MG: SBZ, 2019.
- Machado, R. G., de Sá, E. L. S., Bruxel, M., Giongo, A., da Silva Santos, N., & Nunes, A. S. (2013). Indoleacetic acid producing rhizobia promote growth of Tanzania grass (*Panicum maximum*) and Pensacola grass (*Paspalum sauriae*). *International Journal of Agriculture and Biology*, 15(5), 827-834.

- Mamédio, D., Cecato, U., Sanches, R., Silva, S. M. S., Silva, D. R., Rodrigues, V. O., Galbeiro, S., Barreiros, A. R. D., & Vicente, J. V. R. (2020). Do plant-growth promoting bacteria contribute to greater persistence of tropical pastures in water deficit? - A Review. *Research, Society and Development*, 9(8), e523985756. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i8.XX>
- Marschner, P., Solaiman, Z., & Rengel, Z. (2006). Rhizosphere properties of Poaceae genotypes under P-limiting conditions. *Plant and Soil*, 283(1-2), 11-24. DOI: 10.1007/s11104-005-8295-5
- Martins, M. R., Vitorino, A. C. T., & Urquiaga, S. S. (2014). *Herbaspirillum seropedicae* inoculation and nitrogen fertilization on nitrogen use efficiency of different corn genotypes. *African Journal of Agricultural Research*, 9(40), 3025-3031. <https://doi.org/10.5897/AJAR2014.8852>
- 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). DOI: 10.1128/genomeA.01681-15
- Palmer, M. A., Filoso, S., & Fanelli, R. M. (2014). From ecosystems to ecosystem services: Stream restoration as ecological engineering. *Ecological Engineering*, 65, 62-70. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2013.07.059>
- Perrig, D., Boiero, M. L., Masciarelli, O. A., Penna, C., Ruiz, O. A., Cassán, F. D., & Luna, M. V. (2007). Plant-growth-promoting compounds produced by two agronomically important strains of *Azospirillum brasilense*, and implications for inoculant formulation. *Applied microbiology and biotechnology*, 75(5), 1143-1150. <https://doi.org/10.1007/s00253-007-0909-9>
- Rondina ABL, Sanzovo AWS, Guimarães GS, Wendling JR, Nogueira MA, Hungria M. Changes in root morphological traits in soybean co-inoculated with *Bradyrhizobium* spp. and *Azospirillum brasilense* or treated with *A. brasilense* exudates. *Biol Fertil Soils*. 2020;56:537-49. <https://doi.org/10.1007/s00374-020-01453-0> [Links]
- Rosolem, C. A., Ritz, K., Cantarella, H., Galdos, M. V., Hawkesford, M. J., Whalley, W. R., & Mooney, S. J. (2017). Enhanced plant rooting and crop system management for

- improved N use efficiency. *Advances in agronomy*, 146, 205-239. <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2017.07.002>
- Santos, H. G., Jacomine, P. K. T., Dos Anjos, L. H. C., De Oliveira, V. A., Lumbreras, J. F., Coelho, M. R., & Cunha, T. J. F. (2018). *Sistema brasileiro de classificação de solos*. Brasília, DF: Embrapa.
- Shapiro, S. S., & Wilk, M. B. (1965). An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika*, 52, 591-611. Doi: 10.2307/2333709
- Silva, J. E., Resck, D. V. S., Corazza, E. J., & Vivaldi, L. (2004). Carbon storage in clayey Oxisol cultivated pastures in the “Cerrado” region, Brazil. *Agriculture, ecosystems & environment*, 103(2), 357-363. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2003.12.007>
- Silveira, C. P., & Monteiro, F. A. (2011). Influência da adubação com nitrogênio e cálcio nas características morfológicas e produtivas das raízes de capim-tanzânia cultivado em solução nutritiva. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 40(1), 47-52.
- Soares Filho, C. V., Cecato, U., Ribeiro, O. L., Cruz Roma, C. F. D., Jobim, C. C., Beloni, T., & Venturoli Perri, S. H. (2013). Root system and root and stem base organic reserves of pasture Tanzania grass fertilizer with nitrogen under grazing. *Semina: Ciências Agrárias*, 34(5), 2415-2426. <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2013v34n5p2415>
- Tahir, M., Naeem, M. A., Shahid, M., Khalid, U., Farooq, A. B. U., Ahmad, N., Arshad, M., & Waqar, A. (2020). Inoculation of pqqE gene inhabiting *Pantoea* and *Pseudomonas* strains improves the growth and grain yield of wheat with a reduced amount of chemical fertilizer. *Journal of Applied Microbiology*, <https://doi.org/10.1111/jam.14630>
- Vogel, G., Martinkoski, L., & Ruzicki, M. (2014). Efeitos da utilização de *Azospirillum* brasileiro em poáceas forrageiras: Importâncias e resultados. *Agropecuária Científica no Semiárido*, 10(1), 01-06. <http://dx.doi.org/10.30969/acsa.v10i1.471>
- Werner, J. C. (1994). Adubação de pastagens de *Brachiaria* spp. In *Simpósio sobre manejo de pastagem*, Piracicaba, São Paulo, Brasil, 11.
- Zhu, S., Vivanco, J. M., & Manter, D. K. (2016). Nitrogen fertilizer rate affects root exudation, the rhizosphere microbiome and nitrogen-use-efficiency of maize. *Applied Soil Ecology*, 107, 324-333. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2016.07.009>

- Ertl, P., Knaus, W., & Zollitsch, W. (2016). An approach to including protein quality when assessing the net contribution of livestock to human food supply. *Animal*, 10(11), 1883-1889. <https://doi.org/10.1017/S1751731116000902>
- Fernandes, F. D., Ramos, A. K. B., Jank, L., Carvalho, M. A., Martha Jr, G. B., & Braga, G. J. (2014). Forage yield and nutritive value of *Panicum maximum* genotypes in the Brazilian savannah. *Scientia Agricola*, 71(1), 23-29. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-90162014000100003>
- Gomide, C. D. M., Paciullo, D., Leite, J., & Resende, H. (2016). *Panicum maximum* cvs. Tanzânia e Mombaça para uso em pastejo: produção e custo. *Embrapa Gado de Leite-Circular Técnica (INFOTECA-E)*.
- Herling, V. R., Braga, G. J., Luz, P. H. C., & Otani, L. (2000). Tobiata, Tanzânia e Mombaça. In Simpósio Sobre Manejo da Pastagem, 17; Piracicaba, 2000. Anais. Piracicaba: FEALQ, 2000. P. 21-64.
- Dias-Filho, M. B. (2014). Diagnosis of pastures in Brazil. *Belém: Embrapa Amazônia Oriental*.
- Euclides, V. P. B., Flores, R., Medeiros, R. N., & Oliveira, M. P. D. (2007). Diferimento de pastos de braquiária cultivares Basilisk e Marandu, na região do Cerrado. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 42(2), 273-280. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2007000200017>
- Reis Junior, F. B. D., Machado, C. T. D. T., Machado, A. T., & Sodek, L. (2008). Inoculação de *Azospirillum amazonense* em dois genótipos de milho sob diferentes regimes de nitrogênio. *Revista Brasileira de Ciência do solo*, 32(3), 1139-1146. <https://doi.org/10.1590/S0100-06832008000300022>
- Bounaffaa, M., Florio, A., Le Roux, X., & Jayet, P. A. (2018). Economic and environmental analysis of maize inoculation by plant growth promoting rhizobacteria in the French Rhône-Alpes region. *Ecological economics*, 146, 334-346. <https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2017.11.009>
- Mishra, S., Sharma, S., & Vasudevan, P. (2008). Comparative effect of biofertilizers on fodder production and quality in guinea grass (*Panicum maximum* Jacq.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88(9), 1667-1673. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3267>

- Souza, J. E. B., & Ferreira, E. P. B. (2017). Improving sustainability of common bean production systems by co-inoculating rhizobia and azospirilla. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 237(2017), 250-257. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2016.12.040>
- Canto, M. W. D., Almeida, G. M. D., Costa, A. C. S. D., Barth Neto, A., Scaliante Júnior, J. R., & Orlandini, C. F. (2016). Seed production of Mombasa'grass subjected to different closing cut dates and nitrogen rates. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 51(6), 766-775. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2016000600009>

V - CONCLUSÕES GERAIS

O uso de bactérias promotoras do crescimento de plantas em *Megathyrus maximus* é uma alternativa para manutenção do crescimento e desenvolvimento da pastagem, mesmo em situações em que não haja a reposição periódica dos nutrientes no solo.

O uso desta tecnologia não só demonstra eficiência em promover incrementos na parte aérea e nas raízes das gramíneas de interesse zootécnico, como também possibilita a modernização do sistema de produção agropecuária, ao aliar o aumento da produtividade com a redução dos custos de produção, além de ser a uma forma mais sustentável de produção.

Ainda existem poucos estudos com inoculação de gramíneas tropicais, com resultados conflitantes. Por esse motivo, é essencial a condução de mais estudos voltados para a inoculação de forrageiras de maior exploração na produção animal, de maneira a aumentar a compreensão dos efeitos desta interação e melhor explorar o potencial desta tecnologia para que a médio e longo prazo esta seja convertida em produto para ampla utilização pelos pecuaristas.