

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE
PLANTAS NO ESTABELECIMENTO E
DESENVOLVIMENTO DE *Megathyrus maximus*

Autor: Renan Sanches
Orientador: Prof. Dr. Ulysses Cecato

MARINGÁ
Estado do Paraná
fevereiro - 2022

BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE
PLANTAS NO ESTABELECIMENTO E
DESENVOLVIMENTO DE *Megathyrus maximus*

Autor: Renan Sanches
Orientador: Prof. Dr. Ulysses Cecato

“Tese apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá - Área de concentração Pastagens e Forragicultura”.

MARINGÁ
Estado do Paraná
fevereiro – 2022

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

S211b

Sanches, Renan

Bactérias promotoras de crescimento de plantas no estabelecimento e desenvolvimento de *Megathyrsus maximus* / Renan Sanches. -- Maringá, PR, 2022. xi, 66 f.: il. color., tabs.

Orientador: Prof. Dr. Ulysses Cecato.

Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2022.

1. *Azospirillum brasilense*. 2. Forragicultura. 3. Pastagens. 4. *Pseudomonas fluorescens*. I. Cecato, Ulysses, orient. II. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. III. Título.

CDD 23.ed. 633.2

Síntique Raquel Eleutério - CRB 9/1641



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO
DE PLANTAS NO ESTABELECIMENTO
E DESENVOLVIMENTO DE *MEGATHYRSUS MAXIMUS*

Autor: Renan Sanches
Orientador: Prof. Dr. Ulysses Cecato

TITULAÇÃO: Doutor em Zootecnia - Área de Concentração Produção
Animal

APROVADO em 25 de fevereiro de 2022.

Prof^a Dr^a Camila Fernandes
Domingues Duarte

Prof. Dr. Ossival Lolato Ribeiro

Prof^a Dr^a Katia Regina Freitas
Schwan Estrada

Prof. Dr. Cecilio Viegas Soares
Filho

Prof. Dr. Ulysses Cecato
Orientador

“Esforça-te, pois, e esforcemo-nos pelo nosso povo e pelas cidades de nosso Deus; e faça o SENHOR, então, o que bem parecer aos seus olhos.”

2 Samuel 10:12

A toda minha família, aos meus amigos e todos que trabalharam nesse projeto. Essa conquista é nossa...

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.

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

Aos meus orientadores e amigos, Prof. Dr. Ulysses Cecato e Prof. Dr. Fábio Leite.

À banca avaliadora, agradeço por toda contribuição e carinho.

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

MUITO OBRIGADO!

BIOGRAFIA

RENAN SANCHES, filho de José Carlos Sanches e Carmen Lúcia Sanches, nasceu em 05 de abril de 1991, na cidade de Maringá, Paraná, Brasil.

Em dezembro de 2008, concluiu o ensino médio no Colégio Gastão Vidigal, na cidade de Maringá, Paraná, Brasil.

Em fevereiro de 2009, matriculou-se no curso de Zootecnia, na Universidade Estadual de Maringá, concluindo em dezembro de 2013.

Em março de 2015, iniciou no curso de Mestrado em Zootecnia, na Universidade Estadual de Maringá, concentrando seus estudos na área de Pastagens e Forragicultura, submetendo-se à defesa de dissertação em 13 de abril de 2017.

Em abril de 2018, iniciou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, em nível de Doutorado, na Universidade Estadual de Maringá, área de concentração Produção Animal, sob orientação da Professor Dr. Ulysses Cecato.

E, no dia 25 de fevereiro de 2022, submeteu-se a banca de defesa da Tese de Doutorado.

ÍNDICE

I – INTRODUÇÃO.....	5
1. REVISÃO DE LITERATURA.....	7
1.1. <i>Megathyrsus maximus</i>	7
1.2. Capim-Massai	8
1.3. Capim-BRS-Tamani	9
1.4. Bactérias promotoras de crescimento em gramíneas e sua relação com o N ...	10
1.5. <i>Azospirillum</i> spp.....	12
1.6. <i>Pseudomonas</i> spp.....	14
II - HIPÓTESE E OBJETIVOS GERAIS.....	22
III - ESTABELECIMENTO DE <i>Megathyrsus maximus</i> INOCULADO COM BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO DE PLANTAS.....	23
III - ESTABLISHMENT OF <i>Megathyrsus maximus</i> INOCULATED WITH PLANT GROWTH PROMOTING BACTERIA	24
1 INTRODUÇÃO	24
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	26
2.1 Local e design experimental	26
2.2. Número de plântulas vivas (NPV), número de plantas daninhas (NPD) e cobertura de solo (CS).....	30
2.3. Altura das plantas.....	31
2.4. Massa de forragem total (MFT) e acúmulo de forragem (AF) e componentes morfológicos.....	31

2.5. Densidade populacional de perfilhos (DPP).....	32
2.6. IL e IAF	32
2.7. Análises estatísticas	33
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
4 CONCLUSÃO	39
IV - DESENVOLVIMENTO DO CAPIM-MASSAI INOCULADO COM BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO DE PLANTAS E DOSES DE N- FERTILIZANTE	43
IV - DEVELOPMENT OF MASSAI GRASS INOCULATED WITH PLANT GROWTH PROMOTING BACTERIA AND N-FERTILIZER DOSES	44
1 INTRODUÇÃO	44
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	46
2.1 Local e design experimental	46
2.2. Altura das plantas	49
2.3. Massa de forragem total (MFT), acúmulo de forragem (AF) e componentes morfológicos.....	50
2.4. Densidade populacional de perfilhos (DPP).....	51
2.5. IL e IAF	51
2.6. Sistema radicular.....	51
2.7. Análises estatísticas	54
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	55
4 CONCLUSÃO	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valores médios das análises químicas dos solos de <i>Megathyrsus maximus</i> cv. Massai e BRS Tamani inoculados com bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP) durante dois anos de experimento, em Maringá, Paraná, Brasil.....	28
Tabela 2. Número de plântulas vivas (NPV), número de plantas daninhas (NPD) e percentual de cobertura de solo (CS) do capim-Massai, considerando o efeito da inoculação das BPCP e tempo após a emergência da plântula, durante dois anos (2019-2020)	34
Tabela 3. Número de plântulas vivas (NPV), número de plantas daninhas (NPD) e percentual de cobertura de solo (CS) do capim-BRS-Tamani, considerando o efeito da inoculação das BPCP, e tempo após a emergência da plântula durante dois anos (2019 e 2020)	35
Tabela 4. Massa de forragem total (MFT), acúmulo de forragem (AF), proporção de lâmina foliar (LF), colmo + bainha (CB) e material morto (MM) do capim-Massai, considerando o efeito da inoculação das BPCP durante dois anos (2019-2020)	36
Tabela 5. Massa de forragem total (MFT), acúmulo de forragem (AF), proporção de lâmina foliar (LF), colmo + bainha (CB) e material morto (MM) no capim-BRS-Tamani, inoculado com BPCP durante dois anos (2019-2020)	37
Tabela 6. Densidade populacional de perfilhos (DPP), interceptação luminosa (IL) e índice de área foliar (IAF) <i>Megathyrsus maximus</i> cv. Massai e cv. BRS Tamani, considerando o efeito da inoculação das BPCP durante dois anos (2019 - 2020).....	38
Tabela 8. Valores médios das análises do solo do capim-Massai inoculado com bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP) associadas a doses de N-fertilizante, durante dois anos (2019-2020)	47
Tabela 9. Efeito dos tratamentos sobre a média da MFT (kg.ha ⁻¹), AF (kg.ha ⁻¹) LF (%), CB (%), MM (%) e LF:CB do capim-Massai inoculado com BPCP associadas a doses de N-Fertilizante durante dois anos (2019-2020).....	55
Tabela 10. Efeito das estações do ano sobre a média da MFT (kg.ha ⁻¹), AF (kg.ha ⁻¹) LF (%), CB (%), MM (%) e LF:CB do capim-Massai inoculado com BPCP associadas a doses de N-Fertilizante durante dois anos (2019-2020).....	57

Tabela 11. Efeito dos tratamentos sobre a Intercepção luminosa (IL), índice de área foliar (IAF) densidade populacional de perfilhos (DPP) do capim-Massai inoculado com BPCP associadas a doses de N-fertilizante, durante dois anos (2019-2020) 59

Tabela 12. Efeito das estações do ano sobre a Intercepção luminosa (IL), índice de área foliar (IAF) densidade populacional de perfilhos (DPP) do capim-Massai inoculado com BPCP associadas a doses de N-fertilizante, durante dois anos (2019-2020) 60

Tabela 13. Efeito dos tratamentos sobre a MR (kg.ha⁻¹), MFT:MR, AR (mm²), CR (mm/mm²), DiR (mm), DeR (mm/dcm³) do capim-Massai inoculado com BPCP associadas a doses de N-fertilizante, durante dois anos (2019-2020)..... 61

Tabela 14. Efeito das estações do ano sobre a MR (kg.ha⁻¹), MFT:MR, AR (mm²), CR (mm/mm²), DiR (mm), DeR (mm/dcm³) do capim-Massai inoculado com BPCP associadas a doses de N-fertilizante, durante dois anos (2019-2020)..... 62

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Visão aérea do campo experimental com avaliações de estabelecimento de *Megathyrus maximus* cv. Massai e BRS Tamani inoculados com bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP) durante dois anos de estudos (2019 e 2020). 26
- Figura 2. Precipitação acumulada (mm.mês⁻¹), temperatura mínima (°C), temperatura média (°C) e temperatura máxima (°C) observada durante o período experimental da área. Fonte: Agritempo, CEPAGRI – Embrapa Informática Agropecuária. 27
- Figura 3. Procedimentos do estabelecimento de *Megathyrus maximus* cv. Massai e BRS Tamani inoculados com bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP) durante dois anos de estudos (2019 e 2020). 28
- Figura 4. Visão geral da área de estudo de estabelecimento de *Megathyrus maximus* cv. Massai e BRS Tamani inoculados com bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP) durante dois anos de estudos (2019 e 2020). 29
- Figura 5. Avaliações populacionais de plantas no estabelecimento de *Megathyrus maximus* cv. Massai e BRS Tamani inoculados com bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP) durante dois anos de estudos (2019 e 2020). 31
- Figura 6. Visão geral do experimento da avaliação de massa de forragem e morfologia do capim-Massai inoculado com bactérias promotoras de crescimento associada a doses de N-fertilizante durante dois anos (2019-2020). 46
- Figura 7. Precipitação acumulada (mm.mês⁻¹), temperatura mínima (°C), temperatura média (°C) e temperatura máxima (°C) observada durante o período experimental da área. Fonte: Agritempo, CEPAGRI – Embrapa Informática Agropecuária. 47
- Figura 8. Procedimentos para preparo da área experimental, correção do solo e área com *Megathyrus maximus* cv. Massai estabelecido na Fazenda Experimental de Iguatemi, Maringá-PR 48
- Figura 9. Determinação da altura dos pastos de capim-Massai. Experimento com BPCP e doses de N-Fertilizante em Maringá, Paraná, Brasil. 50

Figura 10. Coleta de raízes realizada no experimento com capim-Massai inoculado com BPCP e doses de N-Fertilizante durante dois anos (2019-2020).....	52
Figura 11. Raízes de <i>Megathyrsus maximus</i> cv. Massai inoculado com BPCP associada a doses de N-Fertilizante após lavagem em peneira de 0.8mm.	53
Figura 12. Procedimento de análise radicular no aparelho DELTA T SCAN®. Captura das imagens pelo programa; Preparação das amostras; Scanner de raízes.	54
Figura 13. Média de massa de forragem total acumulada durante os cortes nos dois anos de experimento do capim-Massai inoculado com bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP) associadas a doses de N-fertilizante, durante dois anos (2019-2020)...	58

RESUMO

As bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP) são alternativa sustentável para o incremento da produção em pastagens. Esses microrganismos vêm sendo estudados há décadas em diversas culturas e podem proporcionar ganhos também ao sistema pastoril, com baixo custo e de forma sustentável. O objetivo geral com este estudo foi avaliar o efeito da inoculação de BPCP, durante dois anos, no estabelecimento do capim-Massai e do capim-BRS-Tamani e no desenvolvimento do capim-Massai associadas a doses de N-fertilizante. No artigo I, as BPCP *Azospirillum brasilense* Ab-V5, *Azospirillum brasilense* Ab-V6 e *Pseudomonas fluorescens* CCTB03 foram inoculadas nas sementes dos capins. O tratamento controle foi as sementes sem a inoculação. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, com doze repetições. O número de plântulas vivas nos tratamentos inoculados com a bactéria *A. brasilense* Ab-V6 foram maiores em relação a estirpe Ab-V5 e ao controle, com diferenças de até 17%. Por outro lado, o número de plantas daninhas foi menor no tratamento com a estirpe Ab-V5, com até 39% menos incidência de plantas indesejáveis em relação ao controle e as parcelas inoculadas com *P. fluorescens* CCTB03. O acúmulo de forragem registrado nos primeiros 60 dias do experimento, no capim-Massai mostrou os resultados mais promissores com relação as BPCP. A estirpe *A. brasilense* Ab-V5, aumentou a produção de 1,5 toneladas a mais de forragem por hectare. No capim-BRS-Tamani durante o período de estabelecimento, os maiores valores de densidade populacional de perfilhos, interceptação luminosa e índice de área foliar nos tratamentos inoculados com *A. brasilense* Ab-V6 sugerem potencial quanto ao uso desses microrganismos associados a essa forrageira. No artigo II objetivou-se avaliar o efeito das BPCP associadas a doses de

N-fertilizante durante o desenvolvimento do capim-Massai. As bactérias inoculadas foram *A. brasilense* Ab-V5 e Ab-V6 e *P. fluorescens* CCTB03, mais o tratamento controle. Além da dose inicial de 20 kg.ha⁻¹ de N para todos os tratamentos, a inoculação ainda foi associada a doses de 50 e 100 kg⁻¹ por ha. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, com quatro repetições. Os tratamentos com *A. brasilense* Ab-V6 associados a 70 kg.ha⁻¹ de N se equipararam ao controle associado a 120 kg.ha⁻¹ de N para massa de forragem total e para o acúmulo de forragem. Para a lâmina foliar as diferenças foram de até 4% de diferença entre os tratamentos. Aumentos referentes a inoculação com as BPCP também foram verificadas na massa de raízes e na morfologia radicular, fato esse que pode ter sido determinante para a produtividade do capim. O tratamento com *P. fluorescens* CCTB03 + 20 kg.ha⁻¹ de N e *Azospirillum brasilense* Ab-V6 associada a 70 kg.ha⁻¹ de N foram as que mais se destacaram, promovendo ganhos equivalentes ao controle com 120 kg.ha⁻¹ de N, sendo a estirpe mais indicada para o capim-Massai.

Palavras-chave: *Azospirillum*, BPCP, pastagens, produtividade, *Pseudomonas fluorescens*

ABSTRACT

Plant growth-promoting bacteria (PGPB) are a sustainable alternative to increase production in pastures, these microorganisms that have been studied for decades in different cultures can also provide gains to the pastoral system with low cost and in a sustainable way. The general objective of this study was to evaluate the effect of PGPB inoculation, for two years, on the establishment of Massai grass and BRS Tamani grass and on the development of Massai grass associated with N-fertilizer doses. In article I, the PGPB were inoculated on grass seeds with the bacteria *Azospirillum brasilense* Ab-V5, *Azospirillum brasilense* Ab-V6 and *Pseudomonas fluorescens* CCTB03, plus the control treatment (without bacteria). The experimental design was in randomized blocks, with twelve replications. The number of live seedlings in the treatments inoculated with the bacterium *A. brasilense* Ab-V6 were higher in relation to the Ab-V5 strain and the control (without inoculation with BPCP), with differences noted up to 17%. On the other hand, the number of weeds was lower in the treatment with the Ab-V5 strain, with up to 39% less incidence of undesirable plants in relation to the control and plots inoculated with *Pseudomonas fluorescens* CCTB03. The forage accumulation recorded in the first 60 days of the experiment on Massai grass showed the most promising results in relation to PGPB. The *A. brasilense* Ab-V5 strain increased the forage production of 1.5 tons per hectare. Despite the few positive responses regarding other variables in BRS Tamani grass during the establishment period, the highest values of density population of tillers, light interception and leaf area index in treatments inoculated with *Azospirillum brasilense* Ab-V6 suggest potential to use these microorganisms associated with this forage. In article II, the objective was to evaluate the effect of inoculation with PGPB

associated with doses of N-fertilizer during the development of Massai grass. The inoculated bacteria were *Azospirillum brasilense* Ab-V5 and Ab-V6 and *Pseudomonas fluorescens* CCTB03, plus the control treatment (without bacteria). In addition to the initial dose of 20 kg.ha⁻¹ of N for all treatments, inoculation was also associated with doses of 50 and 100 kg⁻¹ per ha. The experimental design was in randomized blocks, with four replications. Treatments with *A. brasilense* Ab-V6 associated with 70 kg.ha⁻¹ of N were similar to the control associated with 120 kg.ha⁻¹ of N for forage mass and forage accumulation. For leaf blade the differences were up to 4% between the treatments that stood out the most and the least. These increases related to BPCP were also verified in the root mass and root morphology, a fact that may have been decisive for grass productivity. The behavior of Massai grass for all grasses followed the natural cycle of development of perennial forages according to the seasons in the region of the experiment. The treatment with *P. fluorescens* CCTB03 associate with 20 kg.ha⁻¹ of N in summary was the one that most stood out, promoting gains equivalent to the control with 100 kg.ha⁻¹ of N, being the most suitable strain for Massai grass.

Keywords: *Azospirillum*, BPCP, pastures, productivity, *Pseudomonas fluorescens*

I – INTRODUÇÃO

A pecuária brasileira tem papel significativo no cenário mundial e as projeções internacionais apontam para um elevado crescimento em relação à carne bovina brasileira. O Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) classifica o Brasil, até 2029, para manter o posto que se encontra hoje, de maior exportador de carne bovina, chegando a 28,7% do volume total mundial nos próximos 7 anos (Malafaia et al. 2021).

Devido a extensão de terras e as condições climáticas favoráveis, o Brasil destaca-se para a produção animal a pasto, e apesar de todas as tecnologias nos últimos anos consolidadas para suprir a demanda da alimentação dos ruminantes, o pasto continua sendo a base do sistema de criação desses animais (Miranda et al., 2021). Cerca de 86% da carne bovina é produzida exclusivamente a pasto (ABIEC, 2020), cuja área total é próximo de 150 milhões de hectares (IBGE, 2021).

Todavia, alguns pontos necessitam ser corrigidos para que o país se torne um produtor de excelência da carne a pasto. A degradação de pastagens, por exemplo, é um problema crônico de muitas áreas brasileiras (Carvalho et al., 2021). Ela se dá através de processo evolutivo de uma área de forrageiras com deficiência de nutrientes mínimos para persistência e que, associado a fatores de manejo inadequado, pode comprometer os resultados esperados (Peron e Evangelista, 2004).

A degradação pode ser ocasionada no estabelecimento do pasto, uma das fases mais desafiadoras no manejo de pastagens, uma vez que depende do preparo correto da área, fertilidade do solo, da utilização de sementes de qualidade, da correta taxa e profundidade de semeadura, além de boas condições climáticas (Dias-Filho, 2012). Como também pode

ser em decorrência da falta de adubação, do superpastejo e/ou do uso de cultivares menos adaptados aos ambientes ou menos especializados quanto a sua função (Hott et al., 2018).

Uma medida para a degradação de áreas de pastagens, pode ser a adubação nitrogenada, que por sua vez, tem grande relevância para a recuperação de pastos deficientes em fertilidade, sendo que a falta desse nutriente está entre os principais fatores que acarreta esse processo (Cruz et al., 2022). O aporte do N na pastagem influencia positivamente no aumento dos tecidos, proporcionando aumentos nas taxas de alongamento de folhas e redução na taxa de senescência de perfilhos, dentre outros benefícios ao capim (Santos et al., 2018).

Todavia, a adubação com N-fertilizante, por se tratar de manejo de alto custo e causar impactos ambientais como a contaminação de água e solo com nitratos, vem sendo alvo de críticas nos últimos anos (Smith et al., 2018). Assim, é de interesse global, encontrar métodos alternativos para a produção e valor nutritivo das pastagens, sempre visando a redução de capital investido e que proporcione maior lucratividade. Nesse sentido, pode-se utilizar as bactérias promotoras de crescimento em plantas (BPCP).

A utilização das BPCP vem apresentando resultados positivos com relação a várias fases do desenvolvimento das forrageiras (Aguirre et al., 2018), épocas do ano com escassez de luminosidade e água (Mamédio et al., 2020), além de incrementar as características produtivas das pastagens (Duarte 2020; Hungria et al. 2021).

Os primeiros estudos em gramíneas com essas bactérias foram com milho e trigo, nos quais se comprovou sua capacidade de estimular o crescimento radicular e aumentar produtividade (Piccinin et al., 2013; Puri et al., 2015). O mecanismo de ação desses microrganismos envolve a fixação biológica de nitrogênio e processos diretos, como: a síntese de fitormônios e vitaminas, disponibilização de nutrientes no ambiente rizosfera, além de prevenir de forma indireta possíveis efeitos prejudiciais de patógenos (Dobbelaere et al., 2003; Hungria et al., 2016).

Avaliar os efeitos das BPCPs em gramíneas é fundamental, não só para entendimento da ação dessa tecnologia nas respostas biológicas das plantas e do solo em que estão presentes, como também na obtenção de guias para tomadas de decisões, tendo em vista tratar-se de uma área carente de estudos mais aprofundados e multidisciplinares.

1. REVISÃO DE LITERATURA

1.1. *Megathyrsus maximus*

A alta capacidade de produção de massa de forragem de excelente valor nutritivo são as principais características das gramíneas do gênero *Megathyrsus maximus*. As gramíneas desse gênero são originárias da África Tropical e estendem-se até as áreas subtropicais da África do Sul. A espécie foi trazida para as Américas entre os séculos XVIII e XIX e rapidamente se espalhou por esse território (Herling et al., 2000).

Porém, o ano chave para o início do desenvolvimento das pesquisas dessas gramíneas no Brasil, foi em 1982, quando a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) Gado de Corte, juntamente com o *Institut de Recherche pour le Developpement* iniciaram coletas de materiais, direto de seu centro de origem, para seleção e melhoramento genético da espécie. Essas pesquisas deram origem as cultivares Tanzânia (1990), Mombaça (1993) e Massai (2001). A partir do lançamento dessas cultivares, o sistema de produção se intensificou mudando o cenário da pecuária no Brasil (Jank et al., 2008).

M. maximus é um dos capins mais comercializados no Brasil e vem ganhando espaço cada vez mais no mercado nacional. Em conjunto com o gênero *Urochloa* (Syn. *Brachiaria*) são as forrageiras mais cultivadas no país. Como um marco no aumento da produção a pasto, o gênero *Megathyrsus* ocupa 10% das áreas de pastagens brasileiras (Leite et al., 2019).

Essas gramíneas são caracterizadas como perenes, possui crescimento em forma de touceira com o sistema radicular fasciculado, alta proporção de lâminas foliares. Têm como característica marcante a inflorescência na forma de panículas (Skerman e Riveros 1992). As cultivares do gênero podem ter porte baixo, médio ou alto, e são escolhidas para o cultivo dependendo do interesse da espécie ou categoria animal e região com melhor adaptabilidade.

Quando estabelecidos em solos que correspondem as suas exigências, podem apresentar bons índices zootécnicos. De forma geral, sua boa produtividade depende de condições favoráveis como solos bem drenados e férteis, e suprimento adequado de nutrientes (Paciullo et al., 2017). Ainda é necessário boa quantidade de chuvas e

temperaturas altas por volta de 30°C para que se atinja pico de crescimento (Zimmer et al., 2012).

No entanto, esses requisitos mínimos as vezes são renegados por quem opta por essa forrageira. Se não atendido o mínimo das exigências dos pastos, quase sempre, o resultado é prejuízo econômico pela má-formação ou baixa persistência da pastagem. O resultado pode ser, no curto prazo, a necessidade de realizar a recuperação ou reforma das áreas com esse capim (Valentim et al., 2001).

Apesar dos poucos trabalhos com BPCP em *Megathyrus maximus*, essas gramíneas reagem bem à inoculação com determinados microrganismos. Dentre os tais, o gênero *Azospirillum* é uma das espécies que tem demonstrado maior potencial de associação essas forrageiras desde o seu estabelecimento até seu desenvolvimento (Ojeda-Quintana et al. 2016; Leite et al., 2019; Sá et al., 2019b).

1.2. Capim-Massai

Dentre os vários cultivares de *M. maximus* disponíveis no mercado, pode-se destacar o capim-Massai. Com alto potencial de produção de massa e, geralmente indicado para os sistemas de produções intensificados a pasto (Carvalho et al., 2014). Essa é uma das cultivares mais importantes e consolidadas para a produção pecuária tanto em regiões tropicais, quanto nas regiões subtropicais em todo o mundo (Herling et al., 2000).

Essa forrageira é um híbrido natural (que pode aparecer sem intervenção humana), entre as espécies *Megathyrus maximum* e *Megathyrus infestum*, encontrado na Tanzânia e África em 1969 e trazido para o Brasil em 1982, através da Embrapa. O capim-Massai tem o hábito de crescimento cespitoso. É considerada uma planta de porte baixo, possui alta razão folha:colmo e, em razão de sua precocidade, pode florescer e produzir sementes várias vezes ao ano (Martuscello et al., 2015).

Em comparação com outros cultivares da mesma espécie, o Massai apresenta diferenças morfológicas particulares. Uma gramínea perene, com folhas finas e decumbentes e raízes profundas. As lâminas possuem densidade média de pelos curtos e duros na face superior, sem cerosidade. As bainhas apresentam densidade alta de pelos curtos e duros. As inflorescências são panículas do tipo C, ou seja, com ramificações primárias curtas e sem ramificações secundárias. Suas espiguetas são pilosas, distribuídas

de maneira uniforme, com aproximadamente metade da superfície externa arroxeadada (Valentim et al., 2001).

O capim-Massai requer solos de média a alta fertilidade e apresenta certa tolerância ao alumínio e resistência a cigarrinhas das pastagens (Embrapa, 2001). Possui maior tolerância à acidez, e reduzida fertilidade dos solos em relação as demais cultivares do mesmo gênero. Entretanto, possui valor nutritivo inferior a esses capins (Brâncio et al., 2003). Floresce durante todo o período chuvoso (outubro a maio), com maior intensidade durante os meses de abril a maio.

Essa cultivar possui grande velocidade de rebrota. Quanto à adaptação e produtividade, estas dependerão, principalmente, das condições climáticas e do solo que é cultivada. O capim-Massai distribuídos no Brasil, são facilmente adaptáveis a solos profundos e bem drenados. Porém, apresentam baixa resistência a solos encharcados e baixa tolerância ao frio (Embrapa, 2001).

Quando manejado adequadamente, segundo Euclides et al. (2008), essa gramínea apresenta bom desempenho animal e cobertura de solo adequada, é bem competitivo com a presença de plantas indesejáveis, tolera bem o decréscimo de fósforo no solo e se destaca por sua elevada capacidade de emitir folhas e perfilhos. A soma dessas características desejáveis torna essa cultivar promissora para o sistema de produção de bovinos de corte.

1.3. Capim-BRS-Tamani

A cultivar BRS Tamani é o primeiro híbrido desenvolvido de *Megathyrsus maximus*. Com início dos trabalhos em 1992, esse capim foi obtido após o cruzamento entre a planta sexual S12 e o acesso apomítico T60 (BRA-007234) (Jank e Santos, 2021). Em 2015, o capim foi lançado ao mercado pela Embrapa em parceria com a Unipasto (Associação para o Fomento à Pesquisa de Melhoramento de Forrageiras).

É uma gramínea de crescimento cespitoso, com altura de resíduo mínima entre 0,20 e 0,25m, com período de descanso entre 28 e 60 dias entre pastejos, dependendo da região de cultivo e das épocas do ano (Embrapa, 2015). É marcado pelas características de porte baixo, alta produção de lâminas foliares de alto valor nutritivo (teores elevados de proteína bruta e digestibilidade), alta produtividade e vigor, e bastante tolerância com a cigarrinhas das pastagens.

As recomendações manejo são bastante similares as da cv. Massai, embora apresente maior resistência às baixas temperaturas do que esta última. O estabelecimento e desenvolvimento desse capim requer solos bem drenados, pois apresenta baixa tolerância ao encharcamento (Costa et al., 2020). A produção de matéria seca foliar quando avaliada em parcelas atingiu a 15 ton.ha⁻¹ por ano (Embrapa, 2015). Devido ao seu alto valor nutritivo, é uma das espécies mais indicadas para a engorda de bovinos.

Através do alongamento de hastes nota-se a emissão das inflorescências apresentadas em forma de panículas, com ramificações primárias curtas e espiguetas glabras com elevada quantidade de manchas roxas. Apresenta seu florescimento precocemente entre abril e maio (Jank e Santos, 2021).

Em estudos de Jank et al. (2001), ao avaliarem o capim-BRS-Tamani em parcelas de duas linhas de cinco touceiras cada, espaçadas 0,50 cm entrelinhas e touceiras, e com cortes a cada 35 dias na época das águas e um corte de seca no final da época seca, a cv. BRS Tamani produziu 14,8 t ha⁻¹ de matéria seca (MS) total e 13,6 t ha⁻¹ de MS de folhas, mostrando o potencial desse capim para a produção animal.

Estudos realizados por (Tesk et al., 2017) comparando o valor nutritivo dos capins Quênia e BRS Tamani sob diferentes intensidades de desfolhação, mostraram que em intensidades de pastejo alta e baixa, o capim-BRS-Tamani manejado em baixa intensidade apresentou maior teor de PB (8,48%) que o capim-Quênia (6,08%), e independente da intensidade de desfolhação possuíram bom valor nutritivo.

1.4. Bactérias promotoras de crescimento em gramíneas e sua relação com o N

As bactérias promotoras de crescimento em plantas (BPCP) são microrganismos colonizadores da região rizosférica das plantas, e são classificadas como de vida livre, ou endofíticas (que habitam os tecidos internos das plantas), promovendo relação benéfica para ambos (Freitas, 2007).

A rizosfera desempenha importante função na ciclagem dos nutrientes e auxilia na manutenção dos organismos presentes no meio. Essa é uma área fértil em exsudatos, resíduos celulares e secreções tais como: açúcares, aminoácidos, vitaminas, ácidos graxos, água, esteróis, e ácidos orgânicos (Coelho et al., 2007). Em função desta quantidade de nutrientes, que pode ser usado como fonte de carbono e energia, há intensa proliferação de microrganismos (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 (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 nos últimos anos (Sivasakthi et al., 2014).

As BPCP beneficiam as culturas por meio da combinação de fatores e mecanismos que potencializam a produção (Dobbelaere et al., 2003). Dentre eles pode-se destacar a capacidade de fixação biológica do nitrogênio (Hungria et al., 2016), a produção ou aumento na concentração de fitormônios, o aumento do volume e melhoria da capacidade de absorção radicular (Hungria et al., 2021), solubilização de fosfatos (Rodriguez et al., 2004), a inibição do crescimento e desenvolvimento de microrganismos patógenos pela síntese de sideróforos, antibióticos e competição por nutrientes (Glick, 2012), a promoção da maior tolerância ao estresse hídrico (Mamédio et al., 2020), e a tolerância a salinidade e toxicidade de metais (Figueiredo et al., 2010).

A síntese de fitormônios é um dos principais responsáveis pelo benefício das BPCP para com as gramíneas (Kavamura et al., 2013a). Dentre esses compostos, a auxina talvez seja a que apresenta a maior gama de funções no crescimento e desenvolvimento das plantas, atuando desde a germinação até a senescência. O ácido 3-indol acético (AIA), por sua vez, dentre outras funções, é responsável principalmente pelo desenvolvimento de raízes laterais e distinção da formação vascular do sistema radicular (Taiz e Zeiger, 2017).

Entre os fitormônios produzidos, também há as citocininas e giberelinas, as quais 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 (Cohen et al., 2015), um dos hormônios responsáveis em inibir a síntese e favorecer a degradação das clorofilas e proteínas, com prejuízos ao processo fotossintético, e ocasionando menores taxas de expansão foliar (Taiz e Zeiger, 2017).

O N é o mais abundante dentre os gases presentes da atmosfera terrestre (78%). Contudo, as plantas não possuem a capacidade do aproveitamento desse composto como está no ar. Isso se dá justamente pela tripla ligação formada entre os dois átomos do N₂ (Carvalho et al., 2010). Entretanto, as BPCP são capazes de utilizar o N₂ presente nos espaços porosos do solo e, a partir desse, produzir N amoniacal, esse sim, assimilável

pelas plantas (Döbereiner, 1997), esse processo é conhecido por fixação biológica de nitrogênio (FBN).

A FBN é realizada pelos microrganismos que detêm o complexo enzimático nitrogenase. Através de uma sucessão de reações, as BPCP são capazes de reduzir o N₂ atmosférico em amônia (NH₃), uma forma inorgânica combinada, a qual as plantas conseguem utilizar o N para se beneficiar (Ahemad e Kibret, 2014).

A ação da enzima nitrogenase, por sua vez é prejudicada se no solo tiver a presença de amônio (Colnaghi et al., 1997). Assim, a associação com doses muito altas de N-fertilizante, pode prejudicar o desempenho das BPCP.

As BPCP também não suprem sozinhas os requerimentos de N pelas pastagens, em especial as pastagens de *Megathyrus*, que é caracterizada por uma forrageira de alta exigência em nutrientes, havendo a necessidade de complementação por meio de N-fertilizante (Leite et al., 2019). Assim, Duarte (2020) menciona que o uso de BPCP associada às doses de N-fertilizante pode gerar associação competitiva ou aditiva, e que a interação entre esses fatores e a espécie vegetal utilizada pode refletir em associação benéfica ou não benéfica.

Em estudos com Capim-BRS-Tamani Andrade et al. (2019), observaram que a inoculação com *Azospirillum brasilense* Ab-V5 e Ab-V6 promoveram melhorias no aproveitamento dos adubos superfosfato triplo e fosfato natural reativo, associados a adubação nitrogenada, e fornecidos ao estabelecimento dos pastos, bem como influenciaram na morfogênese dessas plantas, proporcionando aumentos nas taxas de alongamento de folhas e redução na taxa de senescência de perfilhos.

Apesar do volume aumentado de investigações a respeito da relação das BPCP em gramíneas, ainda é essencial entender melhor como se dá a relação dessa tecnologia no ambiente pastoril e sua associação com doses N comumente utilizadas no campo. Isso cada vez mais, criará bases para recomendações técnicas mais concretas para desmistificação do efeito desses microrganismos sobre a produção de pastagens.

1.5. *Azospirillum* spp.

O gênero *Azospirillum* corresponde a um grupo de bactérias de vida livre que pode ser encontrado em praticamente todos os lugares da terra (Patriquin et al., 1983.). Essas se caracterizam como Gram-negativas aeróbicas e não fermentativas e são pertencentes à

subdivisão proteobacteria. Em sua grande maioria, atuam como promotores do crescimento de plantas (Reis et al., 2010).

Um dos primeiros estudos conclusivos com as BPCP, com relação a capacidade de FBN dessas bactérias quando associadas a gramíneas, foi realizado em 1976 (Döbereiner e Day, 1976; Döbereiner et al., 1976). Esta descoberta foi responsável pela mudança no nome do gênero, até então descrito como *Spirillum*, ao qual foi acrescentado o prefixo “azo”, utilizado por Lavoisier para denominar o elemento nitrogênio (Tarrand et al., 1978).

Ao contrário das bactérias que possuem a interação simbiótica, como os nódulos em plantas leguminosas, as bactérias pertencentes a gêneros como o *Azospirillum* não estabelecem relação simbiótica, sem que haja a formação de estruturas específicas (Bergamarschi, 2006) A maioria promove alongação das raízes e dos pelos radiculares, e algumas estirpes podem habitar o interior dos tecidos vegetais, sendo classificadas como endofíticas facultativas (Baldani et al., 1997; Döbereiner et al., 1997).

Após 22 anos de pesquisa com experimentos de inoculação a campo, Okon e Vanderleyden (1997) concluíram que o gênero *Azospirillum* spp. promove aumento de rendimento em gramíneas nas mais variadas condições de clima e solo. Contudo, esses pesquisadores reforçam que o ganho com *Azospirillum* spp. vai mais além do que simplesmente auxiliar na fixação biológica do nitrogênio, interferindo também no aumento da superfície de absorção das raízes da planta, e na síntese de substâncias promotoras de crescimento.

Nas principais cultivares de gramíneas forrageiras utilizadas nas pastagens, é possível observar resultados positivos com o gênero *Azospirillum*. Leite et al. (2019) observaram que houve aumento no acúmulo de forragem de 11% em relação às plantas de *U. brizantha* cv. Marandu inoculadas com a *A. brasilense* Ab-V6. Em outro estudo, a inoculação das estirpes Ab-V5 e Ab-V6 no capim-Coastcross (*Cynodon dactylon*), em solo com deficiência de fertilidade, proporcionaram melhoria no estabelecimento e na produção de forragem, especialmente quando não associadas às doses N-fertilizantes (Aguirre et al., 2018).

1.6. *Pseudomonas* spp.

Pertencente à Família *Pseudomonadaceae*, o gênero *Pseudomonas* é caracterizado como microrganismos Gram-negativos, não esporulados, com flagelos. São bactérias anaeróbias facultativas, e algumas espécies produzem um pigmento verde fluorescente chamado de pioverdina (King et al., 1954).

É característica desse gênero além da promoção de crescimento de plantas, boas respostas com relação ao controle de fitopatógenos. Essas bactérias produzem diversos metabólitos, como por exemplo, hormônios do crescimento vegetal, sideróforos, antibióticos; promovem solubilização de fosfatos e polissacarídeos utilizados para manutenção fisiológico sob condições de estresse hídrico (Brennecke et al., 2016).

Além do papel importante da capacidade de fixar o nitrogênio atmosférico no solo e produzir o hormônio vegetal ácido-indol-acético, composto fundamental para o crescimento radicular (Goris et al., 1998; Hunter et al., 2014), a *Pseudomonas fluorescens* também tem como característica a eficiência na solubilização dos fosfatos (Coelho et al., 2007), característica muito importante principalmente no estabelecimento de pastagens.

A *Pseudomonas* também são bastantes eficientes na supressão de outros microrganismos, e a faz uma das mais capazes de proteger a planta do ataque de patógenos (Simionato et al., 2021). Porém, essa característica a coloca com uma das mais resistentes bactérias para associação com outros microrganismos, prática comum na agricultura com biotecnologias.

Em estudo com a inoculação de *P. fluorescens* em *U. decumbens* foi por Brennecke et al. (2016) aumento da taxa de alongamento de colmos e número de folhas por perfilhos. Esse fator pode contribuir para aumentar a razão folha:colmo, característica desejável na alimentação animal, uma vez que, possivelmente disponibilizará massa de forragem de maior valor nutritivo.

Com relação a associação a *Pseudomonas* com a adubação nitrogenada, Sá et al. (2019) verificaram aumentos na produtividade de massa seca da parte aérea e massa seca de raízes, massa seca de perfilhos, aumento no índice relativo de clorofila e absorção total de N no capim 'Mavuno'. Porém, esses autores reforçam ainda a ideia de mais estudos com a relação ao modo de aplicação, e a forma com que a associação com o N-fertilizante é administrada, não só para esse gênero específico, como também para as BPCP de um modo geral.

REFERÊNCIAS

- ABIEC (2021). Beef Report: perfil da pecuária no Brasil 2020. São Paulo, 2020. 50 p. Disponível em: <http://abiec.com.br/publicacoes/beef-report-2020/>. Acesso em: 15 de dezembro de 2021.
- 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
- 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.
- Ahemad, M., Kibret, M. (2014). Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective. *Journal of King saud University-science*, 26, 1-20.
- 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.
- Bergamaschi, C. (2006). Ocorrência de bactérias diazotróficas associadas às raízes e colmos de cultivares de sorgo. Dissertação de Mestrado. UFRGS: Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- Brâncio, P. A.; Nascimento JR., D.; Euclides, V. P. B. et al. (2003) Avaliação de três cultivares de *Panicum maximum* Jacq. sob pastejo: composição da dieta, consumo de matéria seca e ganho de peso animal. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.32, n.5, p.1037-1044.
- 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.
- Carvalho, G., Ferreira, E., & Hungria, M. (2010). *A importância do controle de qualidade dos inoculantes*. Embrapa Soja-Documents (INFOTECA-E).

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*.

Carvalho, M., Ramos, A., Braga, G., da Fonseca, C. E. L., & Fernandes, F. (2021). Diversificação de pastagens: alternativa simples e de baixo custo para a intensificação dos sistemas de produção pecuário. Embrapa Cerrados-Comunicado Técnico (INFOTECA-E).

Coelho, L.F.; Freitas, S.S.; De Melo, A.M.T.; Ambrosano, G.M.B. Interação de bactérias fluorescentes do gênero *Pseudomonas* e de *Bacillus* spp. com a rizosfera de diferentes plantas. *R. Bras. Ci. Solo*, 31:1413-1420, 2007.

Cohen, A. C., Bottini, R., Pontin, M., 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.

Colnaghi, R., Green, A., He, L., Rudnick, P., & Kennedy, C. (1997). Strategies for increased ammonium production in free-living or plant associated nitrogen fixing bacteria. *Plant and Soil*, 194(1), 145-154.

Costa, N. de L.; Jank, L.; Magalhães, J. A.; Rodrigues, A. N. A.; Bendahan, A. B.; Gianluppi, V.; Rodrigues, B. H. N.; Santos, F. J. Productive performance, chemical composition and morphogenesis of *Megathyrsus maximus* cv. Tamani under rest periods. *Pubvet*, v.14, n.4, art.554, p.1-8, 2020c. <https://doi.org/10.31533/pubvet.v14n4a554.1-8>

Cruz, NT, Dias, DLS, Fries, DD, Jardim, RR, de Lana Sousa, BM, Pires, AJV, & Ramos, BLP (2022). Alternativas para a recuperação e renovação de pastagens degradadas. *Pesquisa Agropecuária Gaúcha*, 28 (1), 15-35.

Dias-Filho, M. B. (2012). *Desafios da produção animal em pastagens na fronteira agrícola brasileira*. Embrapa Amazônia Oriental-Documentos (INFOTECA-E).

Döbereiner, J.; Day, J.M. (1976) *Associative symbiosis in tropical grasses: characterization of microorganisms and dinitrogen-fixing sites*. In: Newton W.E.; Nyman, C.T. (Ed.) *International symposium on nitrogen fixation*, vol. 2. Proceedings. Pullman, USA: Washington State University Press, 1976. p.518-538.

- Goris, J.; Kerster, K.; De Vos, P. (1998) Polyamine distribution among authentic *Pseudomonas* and *Azotobacteraceae*. *Systematic and Applied Microbiology*. v. 21, p. 285-290.
- 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.
- Duarte, C. F. D., Cecato, U., Hungria, M., Fernandes, H. J., Biserra, T. T., Mamédio, D., ... & Nogueira, M. A. (2020). Inoculação de bactérias promotoras do crescimento vegetal em *Urochloa Ruziziensis*. *Research, Society and Development*, 9(8), e630985978-e630985978.
- Döbereiner, J. (1997). A importância da fixação biológica de nitrogênio para a agricultura sustentável. *Biotecnologia Ciência*, 2-3.
- Dobbelaere, S., Vanderleyden, J., & Okon, Y. (2003). Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. *Plant sciences*. 22(2), 107-149.
- Embrapa. Capim-massai (*Panicum maximum* cv Massai): alternativa para diversificação de pastagens. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2001. 8p. (Comunicado Técnico, 65).
- Embrapa (2015). BRS Tamani – *Panicum maximum*. Campo Grande, MS, 1 folder.
- Euclides, V. P. B., Macedo, M. C. M., Zimmer, A. H., Jank, L., & Oliveira, M. P. D. (2008). Avaliação dos capins mombaça e massai sob pastejo. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 37, 18-26.
- 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.
- Freitas, S. S. (2007). Rizobactérias promotoras do crescimento de plantas. In A. P. D. Silveira, S. S. Freitas (Eds.), *Microbiologia do solo e qualidade ambiental*, (pp. 1-20). Campinas: Instituto Agrônômico.
- Glick, B. R. (2012). Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. *Scientifica*, 1-15.

Herling, V. R.; Braga, G. J.; Luz, P. H. C.; Otani, L. Tobiata, Tanzânia e Mombaça. In: *Simpósio sobre manejo da pastagem*, 17., 2000, Piracicaba. A planta forrageira no sistema de produção: anais. Piracicaba: FEALQ, 2000. p. 21-64.

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>

Hungria, M., Rondina, A. B. L., Nunes, A. L. P., Araujo, R. S., & Nogueira, M. A. (2021). Seed and leaf-spray inoculation of PGPR in *Brachiarias* (*Urochloa* spp.) as an economic and environmental opportunity to improve plant growth, forage yield and nutrient status. *Plant and Soil*, 463(1), 171-186.

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.

Hott, G. M. C., Andrade, R. G., Hott, M. C., & de Magalhães Junior, W. C. P. (2018). Monitoramento da cobertura verde e degradação de pastagens por meio de aplicativo mobile. *Brazilian Journal of Animal and Environmental Research*, 1(2), 352-361.

IBGE. Sidra: Censo agropecuário. Rio de Janeiro, 2021. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?c=861&z=p&o=2&i=P>. Acesso em: 15 de dezembro de 2021.

Kavamura, V. N., Santos, S. N., Silva, J. L., Parma, M. M., Ávila, L. A., Visconti, A., Zucchi, T. D., Taketani, R. G., Andreote, F. D., Melo, I. S. (2013a). Screening of Brazilian cacti rhizobacteria for plant growth promotion under drought. *Microbiological Research*, 168, 183-191.

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.

Jank, L.; Valle, C. B. do; Carvalho, J. de; Calixto, S. Evaluation of guineagrass (*Panicum maximum* Jacq) hybrids in Brazil. In: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 19., Proceedings..., 2001. São Pedro. Piracicaba: FEALQ. 2001. 1 CD-ROM.

Jank, L., Resende, R. M. S., Valle, C. D., Resende, M. D., Chiari, L., Cançado, L. J., & Simioni, C. (2008). Melhoramento genético de *Panicum maximum*. Melhoramento de forrageiras tropicais, 1, 55-87.

Jank, L., & Santos, M. F. (2021). Capim-BRS Tamani (*Panicum maximum* Jacq.).

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 (*Megathyrus maximus*) dependence on nitrogen fertilization as a function of inoculation with *Azospirillum brasilense*. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 43.

Malafaia, G. C., Biscola, P. H. N., & Dias, F. R. T. (2021). Projeções para o Mercado de Carne Bovina do Brasil–2029/2030. *Boletim CiCarne*.

Mamédio, D., Cecato, U., Sanches, R., da Silva, S.MDS, da Silva, DR, Rodrigues, VO, ... & da Rosa Vicente, JV (2020). As bactérias promotoras de crescimento de plantas contribuem para uma maior persistência de pastagens tropicais em déficit hídrico?-Uma revisão. *Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento* , 9 (8), e523985756-e523985756.

Martuscello, J. A., Silva, L. P. D., Cunha, D. D. N. F. V. D., Batista, A. C. D. S., Braz, T. G. D. S., & Ferreira, P. S. (2015). Adubação nitrogenada em capim-massai: morfogênese e produção. *Ciência Animal Brasileira*, 16, 1-13.

Miranda, M. E. R., de Almeida Reinaldi, M. A., & Freitas, C. C. G. (2021). Custos na produção de gado de corte: pastagem versus confinamento. *Research, Society and Development*, 10(14), e209101421923-e209101421923.

Okon, Y., & Vanderleyden, J. (1997). Root-associated *Azospirillum* species can stimulate plants.

Ojeda-Quintana, L. J., Toledo-Vazquez, L., Hernández-Rodríguez, C., Machado-Díaz, Y., & Furrázola-Gómez, E. (2016). Influencia de la aplicación de *Azospirillum lipoferum* en *Megathyrus maximus* vc. Guinea Tobiata en un suelo Pardo Grisáceo. *Pastos y Forrajes*, 39(1), 27-32.

Paciullo DSC, Gomide CAM, Castro CRT, Mauricio RM, Fernandes PB, Morenz MJF. (2017) Morphogenesis, biomass and nutritive value of *Panicum maximum* under different shade levels and fertilizer nitrogen rates. *Grass Forage Sci.* 2017;72:590-600.

- 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.
- Peron, A. J., & Evangelista, A. R. (2004). Degradação de pastagens em regiões de cerrado. *Ciência e Agrotecnologia*, 28, 655-661.]
- Piccinin, G. G., Braccini, A. L., Dan, L. G., Scapim, C. A., Ricci, T. T., & Bazo, G. L. (2013). Efficiency of seed inoculation with *Azospirillum brasilense* on agronomic characteristics and yield of wheat. *Industrial Crops and Products*, 43, 393-397.
- Puri, A., Padda, K. P., & Chanway, C. P. (2015). Can a diazotrophic endophyte originally isolated from lodgepole pine colonize an agricultural crop (corn) and promote its growth?. *Soil Biology and Biochemistry*, 89, 210-216.
- Reis, V. M., Pedraza, R. O., Teixeira, K. D. S. (2010). O gênero *Azospirillum*: diversidade e relação filogenética das espécies. Seropédica, RJ: Embrapa Agrobiologia
- 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.
- Simionato, A. S., Cano, B. G., Navarro, M. O. P., Tavares, E. R., Ribeiro, R. A., Hungria, M., ... & Andrade, G. (2021). Whole-Genome Sequence of Bioactive Compound-Producing *Pseudomonas aeruginosa* Strain LV. *Microbiology Resource Announcements*, 10(1), e01120-20.
- Spaepen, S., Vanderleyden, J., & Okon, Y. (2009). Plant growth-promoting actions of rhizobacteria. *Advances in botanical research*, 51, 283-320.
- Tarrand, J. J., Krieg, N. R., Döbereiner, 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, 967-980.
- Tesk, C. R., Cavalli, J., Pina, D. S., Pereira, D. H., Pedreira, C. G., Jank, L., ... & Pedreira, B. C. (2020). Herbage responses of Tamani and Quênia guineagrasses to grazing intensity. *Agronomy Journal*, 112(3), 2081-2091.

Valentim, J.F.; Carneiro, J.C.; Moreira, P. et al. (2001) Capim massai (*Panicum maximum* Jacq): nova forrageira para a diversificação das pastagens do Acre. Rio Branco: Embrapa Acre,. 16p. (Circular Técnica, 41).

Sá, G., Hungria, M., Carvalho, C. L. M., Moreira, A., Nogueira, M., Heinrichs, R., & Soares Filho, C. V. (2019). Nutrients Uptake in Shoots and Biomass Yields and Roots and Nutritive Value of Zuri Guinea Grass Inoculated with Plant Growth-promoting Bacteria. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 50(22), 2927-2940.

Santos, E. R., Carvalho, B. R., Rodrigues, P. M., Basso, K. C., & de Carvalho, A. N. (2018). Características estruturais do capim-marandu diferido com alturas e doses de nitrogênio variáveis. *Archivos de zootecnia*, 67(259), 420-426.

Smith, AP, Christie, KM, Rawnsley, RP, & Eckard, RJ (2018). Estratégias de fertilizantes para melhorar a eficiência do uso de nitrogênio em pastagens leiteiras pastejadas. *Agricultural Systems* , 165 , 274-282.

Sivasakthi, S., Usharani, G., & Saranraj, P. (2014). Biocontrol potentiality of plant growth promoting bacteria (PGPR)- *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis*: A review. *African journal of agricultural research*, 9(16), 1265-1277.

Skerman, PJ, & Riveros, F. (1992). Gramíneas tropicais (Vol. 2). Roma: Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura.

Valentim, J.F.; Carneiro, J.C.; Moreira, P. et al. Capim massai (*Panicum maximum* Jacq): nova forrageira para a diversificação das pastagens do Acre. Rio Branco: Embrapa Acre, 2001. 16p. (Circular Técnica, 41).

Taiz, L., Zeiger, E., Møller, I. M., & Murphy, A. (2017). *Fisiologia e desenvolvimento vegetal*. Porto Alegre: Artmed Editora.

Tarrand, J.J.; Krieg, N R.; Döbereiner, 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*, v.24, p.967-980.

Zimmer, A. H., Macedo, M. C. M., Kichel, A. N., & de Almeida, R. G. (2012). Degradação, recuperação e renovação de pastagens. Embrapa Gado de Corte- Documentos (INFOTECA-E).

II - HIPÓTESE E OBJETIVOS GERAIS

Hipótese

A inoculação de bactérias promotoras do crescimento de plantas, associadas a doses N-fertilizante promove incrementos na massa da parte aérea de forragem e raiz de *Megathyrus* spp.

Objetivos gerais

Avaliar o efeito da inoculação de bactérias promotoras do crescimento de plantas associadas a doses de N-fertilizante na produção de massa da parte aérea, desenvolvimento do sistema radicular dos capins Massai e BRS Tamani (*Megathyrus maximus*).

CAPÍTULO III

(Normas: Grass and Forage Science)

III - ESTABELECIMENTO DE *Megathyrus maximus* INOCULADO COM BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO DE PLANTAS

Resumo

Objetivou-se avaliar o efeito da inoculação de bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP), durante dois anos, no estabelecimento do capim-Massai e do capim BRS Tamani [*Megathyrus maximus* (Jacq.) (sin. de *Panicum maximum* Jacq) as BPCP *Azospirillum brasilense* Ab-V5, *Azospirillum brasilense* Ab-V6 e *Pseudomonas fluorescens* CCTB03 foram inoculadas nas sementes dos capins. O tratamento controle foi as sementes sem a inoculação. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, com doze repetições. O número de plântulas vivas nos tratamentos inoculados com a bactéria *A. brasilense* Ab-V6 foram maiores em relação a estirpe Ab-V5 e ao controle (sem inoculação com BPCP), com diferenças notadas de até 17%. Por outro lado, o número de plantas daninhas foi menor no tratamento com a estirpe Ab-V5, com até 39% menos incidência de plantas indesejáveis em relação ao controle e as parcelas inoculadas com *Pseudomonas fluorescens* CCTB03. Os valores para acúmulo de forragem registrados nos primeiros 60 dias do experimento no capim-Massai evidenciaram a efetividade das BPCP. A estirpe *A. brasilense* Ab-V5, aumentou a produção de 1,5 toneladas a mais de forragem por hectare. Quanto a demais variáveis no capim-BRS-Tamani no período de estabelecimento, os maiores valores de DPP, IL e IAF nos tratamentos inoculados com *Azospirillum brasilense* Ab-V6 sugerem potencial quanto ao uso desses microrganismos associados a essa forrageira.

PALAVRAS-CHAVE: *Azospirillum brasilense*, BRS Tamani, Massai, *Pseudomonas fluorescens*.

III - ESTABLISHMENT OF *Megathyrsus maximus* INOCULATED WITH PLANT GROWTH PROMOTING BACTERIA

Abstract

The objective with this study was to evaluate the inoculation effect with plant growth-promoting bacteria (PGPB), for two years, on the establishment of Massai grass and BRS Tamani grass [*Megathyrsus maximus* (Jacq.) (syn. of *Panicum maximum* Jacq.)]. The following bacteria were inoculated on grass seeds: *Azospirillum brasilense* Ab-V5, *Azospirillum brasilense* Ab-V6 and *Pseudomonas fluorescens* CCTB03, plus the control treatment (without bacteria). The experimental design was in randomized blocks, with twelve replications. The number of live seedlings in the treatments inoculated with the bacterium *A. brasilense* Ab-V6 were higher in relation to the Ab-V5 strain and the control (without inoculation with PGPB), with differences noted up to 17%. On the other hand, the number of weeds was lower in the treatment with the Ab-V5 strain, with up to 39% less incidence of undesirable plants in relation to the control and plots inoculated with *Pseudomonas fluorescens* CCTB03. The forage accumulation recorded in the first 60 days of the experiment on Massai grass showed the most promising results in relation to PGPB. The *A. brasilense* Ab-V5 strain increased the forage production of 1.5 tons per hectare. Despite the few positive responses regarding other variables in BRS Tamani grass during the establishment period, the highest values of population density of tillers, light intercept and leaf area index in treatments inoculated with *Azospirillum brasilense* Ab-V6 suggest potential to use these microorganisms associated with this forage.

KEYWORDS: *Azospirillum brasilense*, BRS Tamani, Massai, *Pseudomonas fluorescens*.

1 INTRODUÇÃO

O estabelecimento de pastagens é um dos momentos mais complexos para a formação de um pasto, pois depende de diversos fatores como o preparo correto da área, a fertilidade do solo, a utilização de sementes de qualidade, profundidade de semeadura ideal e boas condições climáticas (Dias-Filho, 2012). No Brasil, o processo é realizado quase exclusivamente por semeadura (via sementes), já que o plantio por mudas (via

vegetativa) é mais trabalhoso e custoso, restringindo-se, em geral, a pequenas áreas (Farias et al., 2019).

O estabelecimento forrageiro deve ser assertivo, uma vez que tem participação direta nas respostas produtivas e na perenidade do capim implementado. Uma área inicial de plantas bem formada e a cobertura precoce do solo evita problemas como erosões e expansão de plantas daninhas, que competem diretamente com a forrageira por água, luz e nutrientes (Hall et al., 2020). Isso pode resultar em menos gastos com herbicidas e ou outras práticas corretivas de controle de plantas daninhas (Coimbra et al., 2019).

As plantas forrageiras do gênero *Megathyrsus maximus*, podem ser utilizadas em quase todos os biomas brasileiros (Lucena Costa et al., 2020). As sementes dessa espécie são relativamente menores que outras espécies forrageiras e reservam menos nutrientes para a plântula que outras forrageiras, oferecendo maior risco no estabelecimento. Esse capim pode ser considerado uma das espécies de forragem mais exigentes em nutrientes, tornando ainda mais desafiador seu manejo (Andrade et. al. 2019)

Algumas tecnologias vêm sendo estudadas pelos pesquisadores para auxiliar no estabelecimento das pastagens. Dentre elas, destacam-se as bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP). Esses microrganismos extraídos do solo vivem em contato com as raízes e têm comprovada capacidade de estimular o crescimento inicial das plântulas e a produtividade nos capins comumente utilizados na pecuária ou na agricultura em sistemas de integração (Brennecke et al. 2016; Brito et al., 2019; Gonçalves et. al., 2020).

Basicamente, essas bactérias contribuem para o crescimento e desenvolvimento das plantas, auxiliando diretamente na síntese de fitormônios, incrementando a área radicular das forrageiras e, conseqüentemente, aumentando a absorção de água e minerais (Fukami et al, 2018; Duarte et. al., 2020). Isso pode ser uma alternativa para quem usa as forrageiras para alimentar os animais ou apenas como estratégia de cobertura do solo. Com o auxílio das BPCP no desenvolvimento de raízes que exploram mais solo, ampliam-se a eficiência dos fertilizantes já utilizados e a tolerância à seca, que contribui na superação de períodos de estresse no campo (Barreiros et. al., 2020).

O uso das BPCP já foi comprovado pela ciência, que auxilia na produtividade e resistência de gramíneas (Hungria et al., 2018; Camelo et al., 2021). Experimentos, realizados tanto em casa de vegetação quanto no campo, mostram resultados concretos que promoveram incrementos na produção de folhas na ordem de 11% a 69%, e na de

raízes de 29% a 66% durante todo o ano de produção do capim (Andrade et al. 2019; Duarte et. al., 2020; Vicente et al., 2020).

Objetivou-se com esse estudo avaliar a colaboração das bactérias no processo de formação da pastagem das cultivares Massai e BRS Tamani, quanto a dinâmica populacional de plantas, produção de massa de forragem total, características morfológicas, estruturais e cobertura de solo dessas forrageiras.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local e design experimental

O experimento foi conduzido na Fazenda Experimental de Iguatemi, da Universidade Estadual de Maringá (FEI-UEM), Maringá, Paraná, Brasil (23°25'S, 51°57'E; 550m a.m.s.l.). O período experimental foi dividido em duas etapas, janeiro de 2019 a março de 2019 e de janeiro 2020 a março de 2020. As forrageiras usadas foram o capim-Massai e BRS-Tamani (*Megathyrus maximus* (Jacq.) B.K. Simon & Jacobs).



Figura 1. Visão aérea do campo experimental com avaliações de estabelecimento de *Megathyrus maximus* cv. Massai e BRS Tamani inoculados com bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP) durante dois anos de estudos (2019 e 2020).

Segundo a classificação de Köppen, o clima da região é Subtropical Úmido (Cfa), com 23°C de temperatura média anual e precipitação anual acumulada média de 1560 mm. A temperatura média e a precipitação histórica dos dois anos de experimento encontram-se na Figura 2.

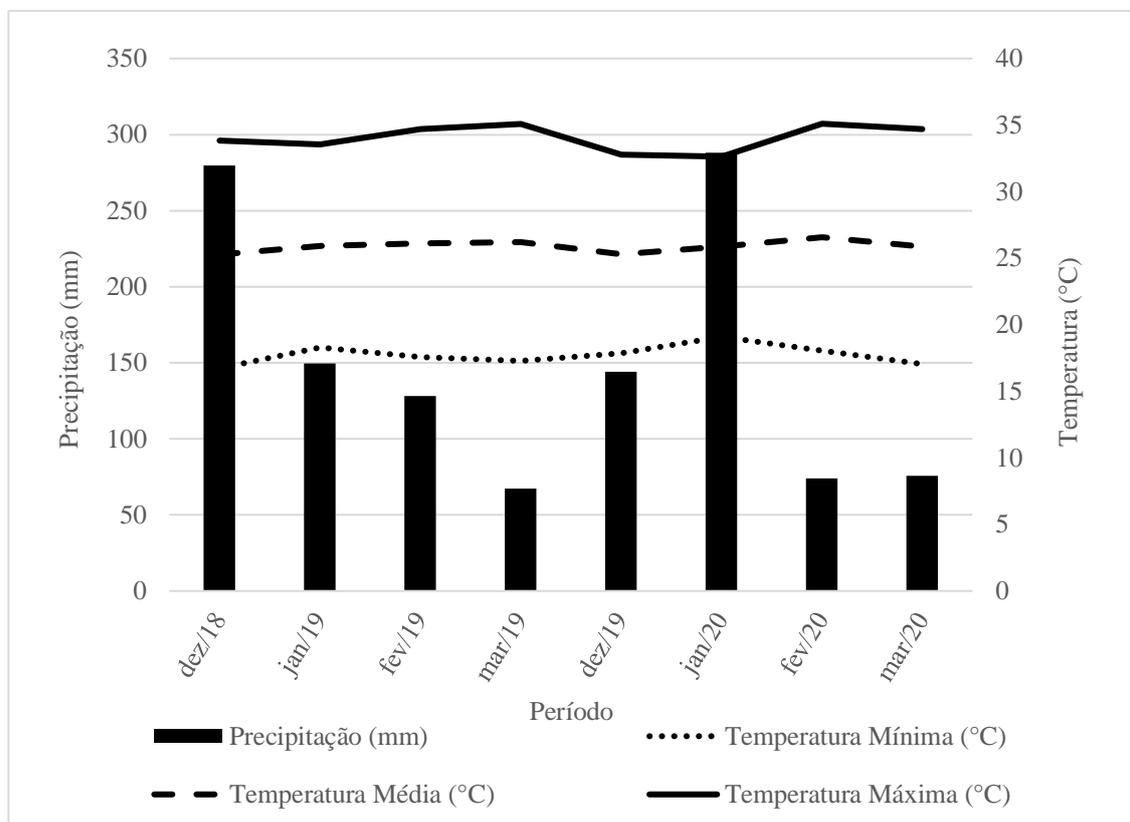


Figura 2. Precipitação acumulada (mm.mês^{-1}), temperatura mínima ($^{\circ}\text{C}$), temperatura média ($^{\circ}\text{C}$) e temperatura máxima ($^{\circ}\text{C}$) observada durante o período experimental da área. Fonte: Agritempo, CEPAGRI – Embrapa Informática Agropecuária.

O solo da área experimental é classificado como Latossolo de textura arenosa (Santos et al., 2018), com aproximadamente 12% de argila, e 87% de areia total. Antes da semeadura foram coletadas amostras de solo da área experimental para análises químicas e físicas (Figura 3), em seguida foi determinada necessidade de práticas corretivas e fertilização. As análises de solo antes do início do experimento (Tabela 1), coletadas na camada de 0 a 20 cm de profundidade, mostraram as seguintes características:

Tabela 1. Valores médios das análises químicas dos solos de *Megathyrsus maximus* cv. Massai e BRS Tamani inoculados com bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP) durante dois anos de experimento, em Maringá, Paraná, Brasil.

pH CaCl ₂	(H ⁺ + Al ³⁺)	(Al ³⁺)	Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	SB	CTC pH 7,0	MO	P meh	Saturação por Bases (V)
5,5	cmol _c .dm ⁻³						%	mg.dm ⁻³	%	
	2,77	0	0,95	0,81	0,13	1,89	4,66	1,51	3,49	40,36

Nota: potencial de hidrogênio (pH em CaCl₂); hidrogênio + alumínio (H⁺ + Al³⁺); cálcio (Ca²⁺); magnésio (Mg²⁺); potássio (K⁺); soma de bases (SB); capacidade de troca catiônica (CTC pH 7.0); matéria orgânica (MO); fósforo Mehlich (P meh).



Figura 3. Procedimentos do estabelecimento de *Megathyrsus maximus* cv. Massai e BRS Tamani inoculados com bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP) durante dois anos de estudos (2019 e 2020).

A calagem foi feita 60 dias antes da semeadura a fim de elevar a saturação por bases para 60%, na dose de aproximadamente 840 kg.ha⁻¹ de calcário (CaO - 31%; MgO - 19,9%; PRNT - 109%). A fertilização fosfatada foi feita, a fim de elevar a saturação por fósforo para 12 mg.dm⁻³, dois dias antes da semeadura com dose de 217 kg.ha⁻¹ de superfosfato simples (18% P₂O₅), com distribuição a lanço e incorporada no solo com grade niveladora.

A fertilização potássica foi realizada com dose de 266 kg.ha⁻¹ de KCl (60% de K₂O), a fim de elevar a saturação de potássio para 0,30 cmol_c.dm⁻³, no mesmo momento que foi aplicado a dose equivalente a 20 kg.ha⁻¹ de N na forma de ureia (46% de N) em

todos os tratamentos, a lançar na superfície, sem incorporação no solo, 45 dias após as plantas estarem estabelecidas e perfilhando.

As sementes das forrageiras foram inoculadas com três estirpes de BPCP (*Azospirillum brasilense* Ab-V5, *Azospirillum brasilense* Ab-V6 e *Pseudomonas fluorescens* CCTB03) mais um tratamento controle (sem inoculação de bactérias), caracterizando quatro tratamentos. Esses foram distribuídos em um delineamento em blocos completamente ao acaso, com 12 repetições, totalizando 48 unidades experimentais para cada um dos capins (Figura 4). As unidades experimentais foram parcelas com dimensões de 3,0m × 4,0m (12,0m²) e distância de 2,0m entre elas.



Figura 4. Visão geral da área de estudo de estabelecimento de *Megathyrsus maximus* cv. Massai e BRS Tamani inoculados com bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP) durante dois anos de estudos (2019 e 2020).

As BPCP utilizadas pertencem a “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). Essas são derivadas de programas de seleção de BPCP da Embrapa Soja: *A. brasilense* Ab-V5 (CNPSO 2083) e Ab-V6 (CNPSO 2084), selecionada no Brasil, inicialmente para as culturas de milho (*Zea mays*) e trigo (*Triticum aestivum*) (Hungria et al., 2010) e *P. fluorescens* CCTB03 (CNPSO 2719) da empresa Total Biotecnologia (Curitiba, PR, Brasil).

As bactérias *A. brasilense* Ab-V5 e *A. brasiliense* Ab-V6 foram crescidas em meio líquido dextrose yeast glutamato (DYGS), a 28°C, em agitador rotativo a 180 rpm (Santos et al. 2020). A bactéria *P. fluorescens* CCTB03 foi crescida em caldo triptonsoja (Tryptic Soy Broth, Acumedia™), a 28°C, em agitador rotativo a 180 rpm, conforme procedimento técnico da Embrapa Soja de Londrina, Paraná, Brasil.

Os inoculantes foram armazenados em tubo Falcon de 50mL. Nesses foram colocados aproximadamente 30 mL das bactérias nos meios líquidos para oxigenação, para não prejudicar os microrganismos. Desde o fim do processo de crescimento até o transporte para o local de utilização os inoculantes foram deixados sob refrigeração de 5°C a 10°C. Os inoculantes foram utilizados dentro de um prazo máximo de 15 dias. No momento da semeadura foram adicionados 15 ml de inóculo por quilograma de semente.

Em cada semeadura, os inóculos de BPCP foram identificados e preparados em concentração final de 10^8 mL^{-1} de células, no laboratório de biotecnologia da Embrapa Soja da cidade de Londrina – PR. Após a inoculação com as BPCP, as sementes foram secas ao ar livre, a sombra, por 30 minutos, antes do plantio.

A taxa de semeadura mínima de $11 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ de sementes para capim-Massai foi calculada levando em consideração: pureza de 97,3%, germinação de 84% e valor cultural de 80%. Para o capim-BRS-Tamani, a taxa de semeadura mínima de $12 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ foi calculada levando em consideração: pureza de 95,1%, germinação de 75%, e valor cultural de 71%.

2.2. Número de plântulas vivas (NPV), número de plantas daninhas (NPD) e cobertura de solo (CS)

Foram realizadas contagens do número de plântulas do capim, número de plantas daninhas e foi mensurado visualmente, a percentagem de solo descoberto de vegetação. Para isso, foi demarcado duas áreas de $0,5 \times 0,5\text{m}$ ($0,25\text{m}^2$) por parcela, as quais foram subdivididas em quadrantes com área de $0,10 \times 0,10\text{m}$ ($0,01\text{m}^2$) para auxiliar nas avaliações (Figura 5).

Os locais da avaliação, dentro das parcelas, foram os mesmos ao longo do experimento. A metodologia foi embasada em Xavier et al. (2001) que avaliaram o estabelecimento em pastos de capim-elefante. Diferentemente destes autores que avaliaram os perfilhos basais aos três meses, e posteriormente aos 15 meses após o

plantio, as avaliações deste estudo foram feitas uma vez por semana até 21 dias após a emergência das plântulas, segundo o indicado por Comastri Filho e Pott (1982) para *M. maximus*.



Figura 5. Avaliações populacionais de plantas no estabelecimento de *Megathyrus maximus* cv. Massai e BRS Tamani inoculados com bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP) durante dois anos de estudos (2019 e 2020).

2.3. Altura das plantas

Após a terceira semana da emergência das plântulas, foi registrada semanalmente a altura das plantas. Foi mensurado 15 pontos aleatórios por parcela com régua graduada, sendo a medida feita na curvatura das folhas superiores em torno da régua.

2.4. Massa de forragem total (MFT) e acúmulo de forragem (AF) e componentes morfológicos

Quando as plantas atingiram 0,55m de altura no capim-Massai e 0,50m no capim-BRS-Tamani foi coletada a massa vegetativa para a determinação da massa de forragem total (MFT). Os cortes foram realizados através da amostragem direta com auxílio de um aparador de cerca viva e uma armação metálica retangular com área de $0,50 \times 0,25\text{m}$ ($0,125\text{m}^2$). Toda a forragem contida no interior do retângulo foi coletada e,

posteriormente seca em estufa de circulação forçada de ar a 60°C até peso constante para a determinação da matéria seca.

O acúmulo de forragem (AF) foi mensurado sempre que os pastos atingiram as alturas de 0,55m e 0,50 m para o capim-Massai e BRS-Tamani, respectivamente, e eram cortados a 0,25m de altura. O AF foi feito com o auxílio de um cortador de grama com recolhedor de forragem e adaptação para corte à altura do resíduo indicado.

A técnica da mensuração do AF consiste em cortar uma faixa central de aproximadamente $2,50 \times 0,45\text{m}$ ($1,13\text{m}^2$) ao centro de cada unidade experimental. A forragem contida no interior do recolhedor de forragem também foi pesada e seca em estufa de circulação forçada de ar a 60°C até peso constante e somada a MFT. Posteriormente toda as parcelas foram rebaixadas a 0,25m.

Para determinação dos componentes morfológicos dos pastos, foram retiradas subamostras de MFT, as quais foram separadas nas frações lâmina foliar (LF), colmos + bainhas (CB) e material morto (MM). Esses componentes foram secos utilizando o método supracitado. Os valores de MFT foram convertidos para $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ de matéria seca (MS), e os CM expressos como proporção (%) da planta inteira.

2.5. Densidade populacional de perfilhos (DPP)

As estimativas de (DPP) foram obtidas por meio de contagem de duas amostras por parcela usando um retângulo metálico de $0,50 \times 0,25\text{m}$ ($0,125\text{m}^2$), segundo método de Sbrissia e Silva (2008). Os pontos foram alocados em locais representativos da condição dos pastos (altura média) no momento da amostragem. As avaliações foram realizadas um dia antes do primeiro corte das forrageiras, contando todos os perfilhos vivos.

2.6. Interceptação luminosa incidente (IL) e índice de área foliar (IAF)

O monitoramento do índice de interceptação luminosa incidente (IL) medida com aparelho Accupar modelo LP-80 (Decagon Devices, São José dos Campos - SP, Brasil) foi feito utilizando aparelho analisador de dossel. O IL foi realizado quando os tratamentos atingiram 0,55m de altura no capim-Massai e 0,50m de altura no capim-BRS-Tamani. Em cada ponto foram realizadas quatro leituras acima do dossel forrageiro e

quatro no solo. O índice de área foliar (IAF) também foi estimado pelo mesmo aparelho nos mesmos intervalos do IL.

2.7. Análises estatísticas

As variáveis de resposta dos dois capins foram estudadas separadamente por se tratar de experimentos distintos, apesar de terem o mesmo delineamento. O número de plântulas, número de plantas daninhas e proporção de solo coberto e suas interações do período de estabelecimento foram analisadas através da montagem de modelos de efeitos mistos usando o procedimento MIXED do SAS versão 9.0 (SAS Institute, 2002).

Os tratamentos com BPCP e as semanas após a germinação foram considerados como efeitos fixos, enquanto os blocos foram considerados como efeitos aleatórios. A estrutura de covariância foi selecionada com base no menor valor do critério de Akaike.

A MTF, MTFAR e a DPP foram analisadas separadamente através do procedimento GLM do também SAS, apenas considerando os efeitos dos tratamentos e dos blocos. A normalidade dos resíduos e a homogeneidade das variâncias foram testadas usando o teste de Shapiro-Wilk, e os dados transformados se as suposições da ANOVA fossem violadas. As médias foram comparadas usando o teste de Kramer-Tukey em $P \leq 0,05$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve interação entre as BPCP \times tempo após emergência da plântula para NPV (m^2), NPD (m^2) e CS (%) no estabelecimento do capim-Massai, ($P = 0,734$; $0,959$ e $0,778$, respectivamente). Porém, houve efeito das BPCP para NPV ($P = 0,003$) e NPD ($P = 0,015$), Tabela 2.

Tabela 2. Número de plântulas vivas (NPV), número de plantas daninhas (NPD) e percentual de cobertura de solo (CS) do capim-Massai, considerando o efeito da inoculação das BPCP e tempo após a emergência da plântula, durante dois anos (2019-2020).

Tratamento	NPV (m ²)	NPD (m ²)	CS (%)
Controle*	144b	88a	55
<i>Azospirillum brasilense</i> Ab-V5	143b	55b	54
<i>A. brasilense</i> Ab-V6	172a	79ab	55
<i>Pseudomonas fluorescens</i> CCTB03	157ab	90a	57
EPM	7	14	11
<i>P-valor</i>	0.003	0.015	0.388
Tempo após emergência	NPV (m ²)	NPD (m ²)	CS (%)
1ªSemana	172a	96a	18c
2ªSemana	156a	115a	69b
3ªSemana	135b	22b	79 ^a
EPM	6	13	11
Fatores	(<i>P</i> -valor)	(<i>P</i> -valor)	(<i>P</i> -valor)
Tratamento	0.003	0.015	0.388
Tempo após emergência	0.001	0.001	0.001
Tratamento*Tempo após emergência	0.734	0.959	0.778

Nota: *Controle= sem a inoculação de bactérias; EPM= erro padrão da média; médias seguidas de letras minúsculas semelhantes na coluna não são diferentes pelo teste de Tukey-Kramer ($P<0.05$).

O número de plântulas vivas nos tratamentos inoculados com a bactéria *A. brasilense* Ab-V6 foram maiores em relação a estirpe Ab-V5 e ao controle com diferenças de até 17% entre esses tratamentos. Por outro lado, o número de plantas daninhas foi menor no tratamento com a estirpe Ab-V5, com até 39% menos incidência de plantas indesejáveis em relação ao controle e as parcelas inoculadas com *P. fluorescens* CCTB03. Não houve influência na cobertura dos solos cultivados.

Tanto para NPV, quanto para NPD as duas primeiras semanas após a emergência foram que apresentaram os maiores valores, porém na percentagem de cobertura solo, os valores são inversamente proporcionais a essas duas variáveis.

Os maiores valores nas duas primeiras semanas podem ser atribuídos aos efeitos do desenvolvimento das plântulas, uma vez que, a medida em há crescimento vegetal, essas competem por luz entre si, cobrindo a superfície do solo, ocorrendo a seleção natural, tanto nas plântulas vivas do capim-Massai, quanto das invasoras, as que são sombreadas ficam prejudicadas e acabam posteriormente por entrar em senescência (Jones e Mott, 1980).

A queda no NPD na terceira semana de avaliação, certamente se deve ao controle

químico feito ao fim da segunda semana de avaliação. Nesse manejo foi utilizado um herbicida seletivo (Atrazina) para a planta invasora específica *Portulaca oleracea*, também conhecido como beldroega comum, prática inclusive muito comum no manejo inicial das pastagens em seu início de estabelecimento.

Os resultados encontrados em relação a NPV e NPD no capim-Massai, possivelmente podem ser atribuídos aos incrementos benéficos que as BPCP apresentam as plantas. Dentre esses, o aumento do estímulo pela produção dos fitormônios auxina, giberelina e citocinina que atuam na divisão celular, e que tem papel importante na germinação de sementes e no desenvolvimento das folhas, colmo e nas extremidades das raízes (Hungria et al., 2021).

Os resultados encontrados para NPV nos pastos inoculados com *A. brasilense* Ab-V6 significam grande vantagem para esse tratamento quanto ao estabelecimento do capim-Massai. Para a formação adequada do pasto é desejável maior número de plântulas vivas, que possibilita a constituição mais eficaz da pastagem (Jank et al., 2017).

A presença de plantas daninhas, por sua vez em pastagens, é extremamente negativa, pois interfere principalmente na produtividade, visto que essas plantas concorrem diretamente por água, luz e nutrientes com a forrageira, e podem apresentar alelopatia com a gramínea cultivada, prejudicando seu estabelecimento e desenvolvimento (Brighenti, 2010). Nesse caso os pastos inoculados com *A. brasilense* Ab-V5 apresenta como alternativa para suprimir essas plantas indesejáveis.

Não houve interação entre efeito das BPCP \times tempo após emergência da plântula para NPV (m^2), NPD (m^2), e CS (%) no estabelecimento do BRS Tamani, ($P = 0,973$; $0,947$ e $0,908$, respectivamente). Foram verificadas diferenças no tempo após a emergência para essas variáveis (Tabela 3).

Tabela 3. Número de plântulas vivas (NPV), número de plantas daninhas (NPD) e percentual de cobertura de solo (CS) do capim-BRS-Tamani, considerando o efeito da inoculação das BPCP, e tempo após a emergência da plântula durante dois anos (2019 e 2020).

Tratamento	NPV (m^2)	NPD (m^2)	CS (%)
Controle*	122	214	66
<i>Azospirillum brasilense</i> Ab-V5	137	196	67
<i>A. brasilense</i> Ab-V6	126	219	66
<i>Pseudomonas fluorescens</i> CCTB03	138	210	62
EPM	37	30	7
Tratamento	0.357	0.468	0.056

Tempo após emergência	NPV (m ²)	NPD (m ²)	CS (%)
1ªSemana	145a	225a	23c
2ªSemana	131ab	251a	79b
3ªSemana	117b	154b	94a
EPM	37	30	7
Fatores	(P-valor)	(P-valor)	(P-valor)
Tratamento	0.357	0.468	0.056
Tempo após emergência	0.017	0.001	0.001
Tratamento*Tempo após emergência	0.973	0.947	0.908

Nota: *Controle= sem a inoculação de bactérias; EPM= erro padrão da média; médias seguidas de letras minúsculas semelhantes na coluna não são diferentes pelo teste de Tukey-Kramer ($P < 0.05$).

O comportamento do perfilamento nas primeiras semanas de avaliação no capim-BRS-Tamani se assemelhou ao do capim-Massai. Porém, como não ocorreram diferenças entre os tratamentos, pode-se sugerir que nem todos os capins respondem igualmente ao estímulo das BPCP.

Esses dados obtidos no capim-BRS-Tamani, por outro lado, precisam ser melhores investigados. A maioria dos relatos encontrados na literatura demonstram as BPCP atuam promovendo crescimento em grãos (Bashan et al. 2014) ou na produtividade dos pastos já estabelecidos (Duarte et al., 2020), pois estudos semelhantes a esses, não são ainda encontrados na nossa literatura.

Houve efeito das BPCP sobre a MFTT ($P = 0.039$) e AF ($P = 0.013$) do capim-Massai (Tabela 4). A estirpe Ab-V5 se destacou positivamente em relação ao tratamento controle, promovendo diferenças de até 16% e 18%, respectivamente.

Tabela 4. Massa de forragem total (MFT), acúmulo de forragem (AF), proporção de lâmina foliar (LF), colmo + bainha (CB) e material morto (MM) do capim-Massai, considerando o efeito da inoculação das BPCP durante dois anos (2019-2020).

Tratamento	MFT (kg.ha ⁻¹)	AF (kg.ha ⁻¹)	LF (%)	CB (%)	MM (%)
Controle*	6200b	7060b	63	27	10
<i>Azospirillum brasilense</i> Ab-V5	7362a	8600a	65	26	9
<i>A. brasilense</i> Ab-V6	6300ab	7495ab	66	25	9
<i>Pseudomonas fluorescens</i> CCTB03	6686ab	8036ab	65	26	9
EPM	562	1061	2	2	1
P-valor	0.039	0.013	0.505	0.525	0.795

Nota: os dados foram calculados com base na massa seca (MS) dos capins; *Controle = sem a inoculação de bactérias; Ab-V5= *Azospirillum brasilense* Ab-V5; Ab-V6= *Azospirillum brasilense* Ab-V6; CTB03= *Pseudomonas fluorescens* CCTB03; EPM= erro padrão da média; médias seguidas de letras minúsculas semelhantes na linha não são diferentes pelo teste de Tukey-Kramer ($P < 0.05$).

O acúmulo de forragem registrado nos primeiros 60 dias do experimento, no capim-Massai, foi o que mostrou os resultados mais promissores com relação à utilização das BPCP. A estirpe *A. brasilense* Ab-V5 aumentou a produção de 1,5 toneladas de massa forragem por hectare (ton/MFT/ha). Na prática, isso representa, algo suficiente para alimentar aproximadamente 15 UA (450 kg) por 5 dias num período de ocupação médio recomendado para os primeiros pastejos em *M. maximus* (Euclides et al., 2014).

Os dados de produtividade do capim-Massai no período de estabelecimento sugerem relacionar esses resultados com primeiras avaliações botânicas obtidas nesses pastos, período de estabelecimento. O menor NPD, e não o alto NPV, por exemplo, pode ter sido fator chave. Os tratamentos com Ab-V6 tiveram os maiores números de NPV, porém, acabaram não se destacando nas avaliações de produtividade posteriores. A estirpe Ab-V5, por sua vez, tiveram os menores NPD em seu dossel e foi o tratamento que possibilitou o melhor equilíbrio no dossel forrageiro, promovendo a maior produção de MFT e AF.

O capim-BRS-Tamani, semelhante ao que já havia acontecido nas primeiras avaliações, não respondeu ao possível estímulo da inoculação BPCP. Assim, não promovendo diferenças entre os tratamentos para as variáveis MFT, MAR, LF, CB e MM ($P = 0.464; 0.517; 0.820; 0.670; 0.560$, respectivamente) avaliadas (Tabela 5).

Tabela 5. Massa de forragem total (MFT), acúmulo de forragem (AF), proporção de lâmina foliar (LF), colmo + bainha (CB) e material morto (MM) no capim-BRS-Tamani, inoculado com BPCP durante dois anos (2019-2020).

Tratamento	MFT (kg.ha ⁻¹)	AF (kg.ha ⁻¹)	LF (%)	CB (%)	MM (%)
Controle*	4596	5415	56	27	17
<i>Azospirillum. brasilense</i> Ab-V5	4263	5032	57	27	16
<i>A. brasilense</i> Ab-V6	4412	5172	57	28	16
<i>Pseudomonas fluorescens</i> CCTB03	4769	5508	57	27	16
EPM	396	1119	2	1	2
<i>P-valor</i>	0.464	0.517	0.820	0.670	0.560

Nota: os dados foram calculados com base na massa seca (MS) dos capins; *Controle = sem a inoculação de bactérias; EPM= erro padrão da média; médias seguidas de letras minúsculas semelhantes na linha não são diferentes pelo teste de Tukey-Kramer ($P < 0.05$).

Como já mencionado, cada forrageira pode responder de forma diferentemente aos estímulos das BPCP, e apesar de não encontrados efeitos dos tratamentos sob as características produtivas e morfológicas do capim-BRS-Tamani, outros estudos confirmaram os benefícios da inoculação de sementes dessas duas linhagens de *A.*

brasiliense em *M. maximus*, genótipos Zuri Guiné (Sá et al. 2019b) e Mombaça (Leite et al. 2019a). Todavia, são recentes esses tipos de estudos na literatura a respeito da relação da *Pseudomonas fluorescens* com esse capim, apesar de já haver relatos de resultados positivos na MFT (Duarte et al. 2021).

Não houve diferenças entre as variáveis densidade populacional de perfilhos (DPP), interceptação luminosa (IL) e índice de área foliar (IAF) ($P = 0.416$; 0.351 ; 0.217 , respectivamente) para o capim-Massai no período de estabelecimento (Tabela 6). Porém, foram observadas diferenças para essas variáveis ($P = 0.001$; 0.003 ; 0.017 , respectivamente) para o capim-BRS-Tamani (Tabela 6).

Tabela 6. Densidade populacional de perfilhos (DPP), interceptação luminosa (IL) e índice de área foliar (IAF) *Megathyrus maximus* cv. Massai e cv. BRS Tamani, considerando o efeito da inoculação das BPCP durante dois anos (2019 - 2020).

<i>Megathyrus maximus</i> cv. Massai			
Tratamentos	DPP (m ²)	IL	IAF
Controle*	1080	89	2,98
<i>Azospirillum brasilense</i> Ab-V5	1080	90	3,01
<i>A. brasilense</i> Ab-V6	1136	94	3,56
<i>Pseudomonas fluorescens</i> CCTB03	1024	89	3,06
EPM	81	1	0,25
<i>P-valor</i>	0.416	0.351	0.217
<i>Megathyrus maximus</i> cv. BRS Tamani			
Tratamentos	DPP (m ²)	IL	IAF
Controle*	1544b	92b	4,02b
<i>Azospirillum brasilense</i> Ab-V5	1480 b	94ab	4,81b
<i>A. brasilense</i> Ab-V6	1792a	96a	5,65a
<i>Pseudomonas fluorescens</i> CCTB03	1392b	91b	3,98b
EPM	202	2	0,43
<i>P-valor</i>	0.001	0.003	0.017

Nota: os dados foram calculados com base na massa seca (MS) dos capins; *Controle = sem a inoculação de bactérias; EPM= erro padrão da média; médias seguidas de letras minúsculas semelhantes na linha não são diferentes pelo teste de Tukey-Kramer ($P < 0.05$).

Os maiores valores de DPP, IL e IAF nos tratamentos inoculados com *A. brasilense* Ab-V6 no capim BRS Tamani no período de estabelecimento sugerem potencial quanto ao uso desses microrganismos associados a essa forrageira. Principalmente, por essas variáveis estarem positivamente relacionadas a produtividade nas fases do desenvolvimento da planta (Cabral et al. 2021).

O DPP, IL e IAF maiores no tratamento com Ab-V6, por exemplo, sugerem que esses pastos terão mais condições, nas estações subsequentes ao estabelecimento, de ser

mais efetivos quanto ao processo fotossintético, pelos maiores valores desses componentes que estão associados a esse processo (Taiz et al. 2017).

4 CONCLUSÃO

Recomenda-se o uso, no capim-Massai, da bactéria *A. brasilense* Ab-V6 para aumento do número de plântulas vivas, o que é fundamental nos primeiros dias após a emergência do pasto. O uso da bactéria *A. brasilense* Ab-V5 também recomendado nesse capim para menor incidência de plantas daninhas, aumento da massa e do acúmulo de forragem no período de estabelecimento, variáveis importantes para persistência da pastagem e para a produção animal.

No capim-BRS-Tamani, recomenda-se o uso da bactéria *Azospirillum brasilense* Ab-V6 para aumento da densidade populacional de perfilhos, do índice de interceptação luminosa e do índice de área foliar. Para as demais variáveis, o uso das BPCP não teve efeitos no período de estabelecimento.

REFERÊNCIAS

- Andrade, R. A., Porto, M. O., Cavali, J., Ferreira, E., Bergamin, A. C., de Souza, F. R., & Aguiar, I. S. (2019). *Azospirillum brasilense* e fosfato natural reativo no estabelecimento de forrageira tropical. *Revista de Ciências Agrárias*, 42, 146-154. <https://doi.org/10.19084/RCA18282>
- 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. (2020). 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, 41-55. <https://doi.org/10.31686/ijer.vol8.iss10.2634>
- Bashan, Y., de-Bashan, L. E., Prabhu, S. R., & Hernandez, J. (2014). Avanços na tecnologia de inoculantes bacterianos promotores de crescimento de plantas: formulações e perspectivas práticas (1988–2013). *Plantar Solo*, 378, 1–33. <https://doi.org/10.1007/s11104-013-1956-x>
- 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. <https://doi.org/10.7213/academica.14.2016.24>
- Brighenti, A. M. (2010). *Manual de identificação e manejo de plantas daninhas em cultivos de cana-de-açúcar*. Juiz de Fora, MG: Embrapa Gado de Leite.

- Brito, T. S., Eberling, T., Netto, L. A., Ritter, G., Pan, R., Eckhardt, D. C. S., & Guimarães, V. F. (2019). *Azospirillum brasilense* and macronutrients in the initial establishment of *Brachiaria*. *Communications in Plant Sciences*, 9, 115-123. [10.26814/cps2019019](https://doi.org/10.26814/cps2019019)
- Cabral, C. E., Motta, A. M., Santos, A. R., Gomes, F. J., Pedreira, B. C., & Cabral, C. H. (2021). Effects of timing of nitrogen fertilizer application on responses by tropical grasses. *Tropical Grasslands-Forrajes Tropicales*, 9, 182-191. [https://doi.org/10.17138/tgft\(9\)182-191](https://doi.org/10.17138/tgft(9)182-191)
- Camelo, A., Barreto, C. P., Vidal, M. S., Rouws, J. R. C., da Silva Lédo, F. J., Schwab, S., & Baldani, J. I. (2021). Field response of two seed propagated elephant grass genotypes to diazotrophic bacterial inoculation and in situ confocal microscopy colonization analyses. *Symbiosis*, 83, 41-53. <https://doi.org/10.1007/s13199-020-00730-8>
- Coimbra, C. H., Deiss, L., de Moraes, A., de Oliveira, E. B., & Monteiro, A. L. (2019). Aries Guineagrass (*Megathyrsus maximus* Jacq cv. Aries) pasture establishment without chemical control in an environmentally protected area. *African Journal of Agricultural Research*, 14, 659-665. <https://doi.org/10.5897/AJAR2018.13804>
- Comastri Filho, J. A., & Pott, A. (1982). Metodologia para avaliação de forrageiras. Corumba, MS: Embrapa Pantanal.
- Dartora, J., Guimarães, V. F., Marini, D., & Sander, G. (2013). Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 17, 1023-1029. <https://doi.org/10.1590/S1415-43662013001000001>
- Duarte, C. F. D., Cecato, U., Hungria, M., Fernandes, H. J., Biserra, T. T., Galbeiro, S., Toniato, A.K.B., & Silva, D. R. (2020). Morphogenetic and structural characteristics of *Urochloa* species under inoculation with plant-growth-promoting bacteria and nitrogen fertilisation. *Crop and Pasture Science*, 71, 82-89. <https://doi.org/10.1071/CP18455>
- EMBRAPA. (2015). BRS Tamani, forrageira híbrida de *Panicum maximum*. Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte. Disponível em <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1011507>.
- Euclides, V. P. B., Montagner, D. B., Barbosa, R. A., & Nantes, N. N. (2014). Manejo do pastejo de cultivares de *Brachiaria brizantha* (Hochst) Stapf e de *Panicum maximum* Jacq. *Revista Ceres*, 61, 808-818. <http://dx.doi.org/10.1590/0034-737X201461000006>
- Farias, P. P., Ferreira, O. G. L., de Oliveira, A. P. T., Kröning, A. B., Costa, P. T., & da Rosa, P. P. (2019). Implantação de pastagens pelo método vegetativo. *Revista Científica Rural*, 21, 421-437. <https://doi.org/10.30945/rcr-v21i2.2779>
- 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>

- Gonçalves, P. P., de Oliveira, L. C. A., de Oliveira, R., de Carvalho, M. A. C., Yamashita, O. M., Domingues, S. C. O., Oliveira, J. C., & do Prado, R. F. (2020). Nitrogen fertilization and *Azospirillum brasilense* inoculation on *Panicum maximum* CV. Mombasa. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 23, 1-9. <http://www.revista.ccba.uady.mx/urn:ISSN:1870-0462-tsaes.v23i2.2940>
- Hall, M. H., Newman, Y.C., & Williamson, J. A. (2020). Estabelecimento e renovação de forragem. *Forrageiras: A ciência da agricultura de pastagem*, 2, 455-471.
- 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, 413-425. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-0262-0>
- Hungria, M., Ribeiro, R. A., Nogueira, M. A. (2018). Draft genome sequences of *Azospirillum brasilense* strains Ab-V5 and Ab-V6, commercially used in inoculants for grasses and legumes in Brazil. *Genome Announcements*, 6, e00393-18. <https://doi.org/10.1128/genomeA.00393-18>
- Hungria, M., Rondina, A. B. L., Nunes, A. L. P., Araujo, R. S., & Nogueira, M. A. (2021). Seed and leaf-spray inoculation of PGPR in brachiarias (*Urochloa* spp.) as an economic and environmental opportunity to improve plant growth, forage yield and nutrient status. *Plant and Soil*, 463, 171-186. <https://doi.org/10.1007/s11104-021-04908-x>
- Jank, L., de Andrade, C. M. S., Barbosa, R. A., Macedo, M. C. M., Valério, J. R., Verzignassi, J. R., Zimmer, A. H., Fernandes, C. D., Santos, M. F. & Simeão, R. M. (2017). *O capim-BRS Quênia (Panicum maximum Jacq.) na diversificação e intensificação das pastagens*. Brasília, DF: Embrapa.
- Jones, R. M., & Mott, J. J. (1980). Population dynamics in grazed pastures. *Tropical Grasslands*, 14, 218-224.
- Lucena Costa, N., Jank, L., Magalhães, J. A., Bendahan, A. B., Rodrigues, B. H. N., & de Seixas Santos, F. J. (2020). Produtividade de forragem e morfogênese de cultivares de *Megathyrus maximus* nos cerrados de Roraima. *Research, Society and Development*, 9(8), e652986054-e652986054. <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i8.6054>
- Videira, S. S., Simões-Araújo, J. L., & Baldani, V. L. D. (2007). *Metodologia para isolamento e posicionamento taxonômico de bactérias diazotróficas oriundas de plantas não-leguminosas*. Seropédica, RJ: Embrapa Agrobiologia.
- CR Sá, G., Hungria, M., Carvalho, C. L. M., Moreira, A., Nogueira, M., Heinrichs, R., & Soares Filho, C. V. (2019b). Nutrients uptake in shoots and biomass yields and roots and nutritive value of Zuri guinea grass inoculated with plant growth-promoting bacteria. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 50, 2927-2940. <https://doi.org/10.1080/00103624.2019.1689256>
- Santos, H. G., Jacomine, P. K. T., Dos Anjos, L. H. C., De Oliveira, V. A., Lumbrreras, J. F., Coelho, M. R., & Cunha, T. J. F. (2018). *Sistema brasileiro de classificação de solos*. Brasília, DF: Embrapa.

Santos, M. S., Rodrigues, T. F., Ferreira, E., Megias, M., Nogueira, M. A., & Hungria, M. (2020). Method for recovering and counting viable cells from maize seeds inoculated with *Azospirillum brasilense*. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 14, 1-9. <https://doi.org/10.22207/JPAM.14.1.21>

Sbrissia, A. F., & Silva, S. C. D. (2008). Compensação tamanho/densidade populacional de perfilhos em pastos de capim-marandu. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 37, 35-47.

Xavier, D. F., Carvalho, M. M., Botrel, M. A., Freitas, V. D. P., & Verneque, R. D. S. (2001). Efeito do manejo pós-plantio no estabelecimento de pastagem de Capim-elefante. *Revista Brasileira de zootecnia*, 30, 1200-1203.

Taiz, L., Zeiger, E., Møller, I. M., & Murphy, A. (2017). *Plant Physiology and Development*. Porto Alegre, RS: Artmed.

CAPÍTULO IV

(Normas: Grass and Forage Science)

IV - DESENVOLVIMENTO DO CAPIM-MASSAI INOCULADO COM BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO DE PLANTAS E DOSES DE N-FERTILIZANTE

Resumo

Objetivou-se avaliar o efeito da inoculação de bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP) associadas a doses de N-fertilizante durante o desenvolvimento do capim-Massai [*Megathyrsus maximus* (Jacq.) (syn. de *Panicum maximum* Jacq.)]. As bactérias inoculadas foram *Azospirillum brasilense* Ab-V5 e Ab-V6 e *Pseudomonas fluorescens* CCTB03. O tratamento controle foram sementes sem inoculação. Além da dose inicial de 20 kg.ha⁻¹ de N para todos os tratamentos, a inoculação ainda foi associada a doses de 50 e 100 kg⁻¹ por ha. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, com quatro repetições. Os tratamentos com *A. brasilense* Ab-V6 e 70 kg.ha⁻¹ de N se equipararam ao controle + 120 kg.ha⁻¹ de N para massa de forragem total e para o acúmulo de forragem. Para a LF as diferenças foram de até 4% de diferenças entre os tratamentos que mais e menos se destacaram. Esses aumentos referentes as BPCP também foram verificadas na massa de raízes e na morfologia radicular, fato esse que pode ter sido determinante para a produtividade do capim. O comportamento do capim-Massai para todas as seguiu o ciclo natural de desenvolvimento das forrageiras perenes de acordo com as estações do ano na região do experimento. O tratamento com *P. fluorescens* CCTB03 + 20 kg.ha⁻¹ de N em resumo foi que mais se destacou, promovendo ganhos equivalentes ao controle com 100 kg.ha⁻¹ de N, sendo a estirpe mais indicada para o capim-Massai.

PALAVRAS-CHAVE: *Azospirillum brasilense*, *Megathyrsus maximus*, *Pseudomonas fluorescens*.

IV - DEVELOPMENT OF MASSAI GRASS INOCULATED WITH PLANT GROWTH PROMOTING BACTERIA AND N-FERTILIZER DOSES

Abstract

The objective of this study was to evaluate the inoculation effect of plant growth-promoting bacteria (BPCP) associated with N-fertilizer doses during the development of Massai grass [*Megathyrsus maximus* (Jacq.) (syn. of *Panicum maximum* Jacq.)]. The inoculated bacteria were *Azospirillum brasilense* Ab-V5 and Ab-V6 and *Pseudomonas fluorescens* CCTB03, plus the control treatment (without bacteria). In addition to the initial dose of 20 kg.ha⁻¹ of N for all treatments, inoculation was also associated with doses of 50 and 100 kg⁻¹ per ha. The experimental design was in randomized blocks, with four replications. The treatments with BPCP were 31% higher than the control for forage mass and 45% higher for forage accumulation. For LF the differences were up to 4% between the treatments that stood out the most and the least. These increases related to BPCP were also verified in the root mass and root morphology, a fact that may have been decisive for grass productivity. The behavior of Massai grass for all grasses followed the natural cycle of development of perennial forages according to the seasons in the region of the experiment. The treatment with *P. fluorescens* CCTB03 + 20 kg.ha⁻¹ of N in summary was the one that most stood out, promoting gains equivalent to the control with 100 kg.ha⁻¹ of N, being the most suitable strain for Massai grass.

KEYWORDS: *Azospirillum brasilense*, *Megathyrsus maximus*, nitrogen fertilization, *Pseudomonas fluorescens*.

1 INTRODUÇÃO

Desde 2009 as primeiras linhagens de *Azospirillum*, um dos gênero de bactérias promotoras de crescimento em plantas (BPCP) são autorizadas para a produção e uso de inoculantes comerciais no Brasil nas culturas de trigo e milho. Sua capacidade de aumento de produtividade com redução na adubação nitrogenada em gramíneas também é estudada (Leite et al., 2011; Duarte et. al, 2020).

Esses esforços começaram na década de 1950 com Döbereiner e Ruschel (1958), que isolaram e descreveram bactérias da rizosfera de cana-de-açúcar e, posteriormente, inoculando essas bactérias, verificaram relação benéfica com espécies tropicais (Day e Döbereiner, 1976; Abrantes e Döbereiner et al. 1976). À medida que as pesquisas evoluíram, novos gêneros associativos com essas espécies de plantas, como a *Pseudomonas*, também se mostraram promissoras (Brennecke et al., 2016; Nascente et al. 2017; Lopes et al., 2018).

Com o exponencial crescimento da população mundial, acompanhado com o desafio de alimentá-la, a produção de animais a pasto é vista como área estratégica para inserção de tecnologias que melhorem sua eficiência e sustentabilidade (Strassburg et al. 2014). As plantas forrageiras sob constante pastejo têm grande dependência da adubação nitrogenada, que em sua grande maioria é realizada pela adição de fertilizantes químicos, gerando aumento dos custos de produção, riscos ambientais além da baixa eficiência de uso pelas plantas (Asman et al., 1998).

As BPCP surgem nesse cenário como alternativa para os pastos, e além de contribuir através de associações enzimáticas, para a disponibilidade no solo de nutrientes essenciais como: nitrogênio (N) e fósforo (P) (Hungria 2016; Nascente et al. 2017), auxiliam desde o estabelecimento (Aguirre et al. 2018), persistência das plantas através de resistência à seca (Casanovas et. al. 2002; Leite et al. 2018) e alterações morfológicas como: folhas, colmo e raízes, fatores fundamentais na produtividade e valor nutritivo dessas plantas (Hungria et al. 2021).

Para gramíneas de *Megathyrus maximus*, ainda são escassos resultados confiáveis de associações com BPCP, apesar de ser possível identificar na literatura respostas positivas de aumento de produtividade e redução da adubação nitrogenada em gramíneas que comumente são utilizadas para a alimentação de animais em pastos tropicais, tais como *Urochloa* (Hungria et al. 2016; Leite et al. 2018); *Cynodon* (Aguirre et al. 2018) dentre outras utilizadas na América do Sul (Marques et al. 2017).

Algumas questões também ainda permanecem em aberto para melhor elucidação e maior frequência de uso dessa biotecnologia, por exemplo, se existem estirpes de BPCP com maior ou menor afinidade para cada cultivar (Hungria et al., 2010; Oliveira et al., 2015; Pereg et al., 2016), ou como as plantas respondem se forem fornecidas maiores ou menores doses de N em conjunto com as BPCP (Skonieski et al., 2017).

Objetivou-se com este estudo avaliar a inoculação das BPCP associadas a doses de N-fertilizante quanto a produtividade de forragem, componentes morfológicos e sistema radicular, a fim de desenvolver estratégias economicamente viáveis para garantir a nutrição adequada das plantas forrageiras com sustentabilidade e responsabilidade socioambiental.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local e design experimental

O experimento foi conduzido na Fazenda Experimental de Iguatemi, da Universidade Estadual de Maringá (FEI-UEM), Maringá, Paraná, Brasil (23°25'S, 51°57'E; 550m a.m.s.l.). O período experimental foi dividido em duas etapas, de janeiro de 2019 a março de 2020 e de janeiro 2020 a março de 2021. A forrageira usada foi o capim-Massai (*Megathyrsus maximus* (Jacq.) B.K. Simon & Jacobs (Figura 6).



Figura 6. Visão geral do experimento da avaliação de massa de forragem e morfologia do capim-Massai inoculado com bactérias promotoras de crescimento associadas a doses de N-fertilizante durante dois anos (2019-2020).

Segundo a classificação de Köppen, o clima da região é Subtropical Úmido (Cfa), com 23°C de temperatura média anual e precipitação anual acumulada média de 1560 mm. A temperatura média e a precipitação dos dois anos de experimento encontram-se na Figura 7.

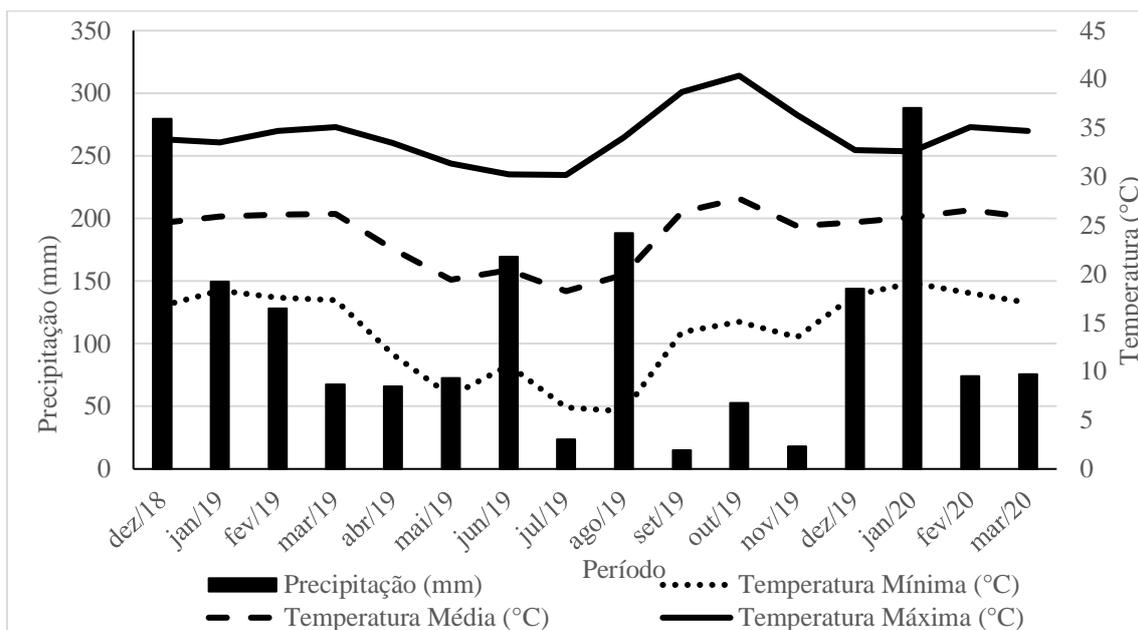


Figura 7. Precipitação acumulada (mm.mês⁻¹), temperatura mínima (°C), temperatura média (°C) e temperatura máxima (°C) observada durante o período experimental da área. Fonte: Agritempo, CEPAGRI – Embrapa Informática Agropecuária.

O solo da área experimental é classificado como Latossolo de textura arenosa (SANTOS et al., 2018), com aproximadamente 12% de argila, e 87% de areia total. Antes da semeadura foram coletadas amostras de solo da área experimental para análises químicas e físicas, em seguida foi determinada necessidade de práticas corretivas e fertilização. As análises de solo antes do início do experimento (Tabela 8), coletadas na camada de 0 a 20 cm de profundidade, mostraram as seguintes características:

Tabela 7. Valores médios das análises do solo do capim-Massai inoculado com bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP) associadas a doses de N-fertilizante, durante dois anos (2019-2020)

Data da análise	pH CaCl ₂	H ⁺ + Al ³⁺	Al ³⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	SB	CTC pH 7,0	MO	P meh	Saturação por Bases (V)
out/18	5,5	cmol _c .dm ⁻³							%	mg.dm ⁻³	%
		2,77	0	0,95	0,81	0,13	1,89	4,66	1,51	3,49	40,36
out/19	5,9	cmol _c .dm ⁻³							%	mg.dm ⁻³	%
		2,62	0	1,02	0,96	0,15	2,13	4,75	1,63	3,3	44,84

Nota: potencial de hidrogênio (pH em CaCl₂); hidrogênio + alumínio (H⁺ + Al³⁺); cálcio (Ca²⁺); magnésio (Mg²⁺); potássio (K⁺); soma de bases (SB); capacidade de troca catiônica (CTC pH 7,0); matéria orgânica (MO); fósforo Mehlich (P meh).

A calagem foi feita 60 dias antes da semeadura a fim de elevar a saturação por bases para 60%, na dose de aproximadamente 840 kg.ha⁻¹ de calcário (CaO - 31%; MgO - 19,9%; PRNT – 109%). A fertilização fosfatada foi feita, a fim de elevar a saturação por fósforo para 12 mg.dm⁻³, dois dias antes da semeadura com dose de 217 kg.ha⁻¹ de superfosfato simples (18% P₂O₅), com distribuição a lanço e incorporada no solo com grade niveladora.

A fertilização potássica foi realizada com dose de 266 kg.ha⁻¹ de KCl (60% de K₂O), a fim de elevar a saturação de potássio para 0,30 cmol.c.dm⁻³, no mesmo momento que foi aplicado a dose equivalente a 20 kg.ha⁻¹ de N na forma de ureia (46% de N) em todos os tratamentos, a lanço na superfície, sem incorporação no solo, 45 dias após as plantas estarem estabelecidas e perfilhando (Figura 8).



Figura 8. Procedimentos para preparo da área experimental, correção do solo e área com *Megathyrus maximus* cv. Massai estabelecido na Fazenda Experimental de Iguatemi, Maringá-PR

As sementes do capim-Massai foram inoculados com três cepas de BPCP (*Azospirillum brasilense* Ab-V5, *A. brasilense* Ab-V6 e *Pseudomonas fluorescens* CCTB03) e o tratamento controle (sem inoculação de bactérias). Após a fase de estabelecimento foram incluídos níveis de adubação com N-fertilizante (50 e 100 kg ha⁻¹ de N). O experimento foi delineado em blocos ao acaso com arranjo fatorial 4x3 com 4 repetições cada, totalizando 48 unidades experimentais. As unidades experimentais foram parcelas com dimensões de 3,0 m × 4,0 m (12,0 m²) e distância de 2,0 m entre elas.

As BPCP utilizadas pertencem a “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). Essas são derivadas de programas de seleção de BPCP da Embrapa Soja: *A. brasilense* Ab-V5 (CNPSO 2083) e Ab-V6 (CNPSO 2084), selecionada no Brasil, inicialmente para as culturas de milho (*Zea mays*) e trigo (*Triticum aestivum*) (Hungria et al., 2010) e *P. fluorescens* CCTB03 (CNPSO 2719) da empresa Total Biotecnologia (Curitiba, PR, Brasil).

As bactérias *A. brasilense* Ab-V5 e *A. brasileinse* Ab-V6 foram crescidas em meio líquido dextrose yeast glutamato (DYGS), a 28°C, em agitador rotativo a 180 rpm (Santos et al. 2020). A bactéria *P. fluorescens* CCTB03 foi crescida em caldo triptona soja (Tryptic Soy Broth, Acumedia™), a 28°C, em agitador rotativo a 180 rpm, conforme procedimento técnico da Embrapa Soja de Londrina, Paraná, Brasil.

Os inoculantes foram armazenados em tubo Falcon de 50mL. Nesses foram colocados aproximadamente 30 mL das bactérias nos meios líquidos para oxigenação, para não prejudicar os microrganismos. Desde o fim do processo de crescimento até o transporte para o local de utilização os inoculantes foram deixados sob refrigeração de 5°C a 10°C. Os inoculantes foram utilizados dentro de um prazo máximo de 15 dias. No momento da semeadura foram adicionados 15 ml de inóculo por quilograma de semente.

Em cada semeadura, os inóculos de BPCP foram identificados e preparados em concentração final de 10^8 mL⁻¹ de células, no laboratório de biotecnologia da Embrapa Soja da cidade de Londrina – PR. Após a inoculação com as BPCP, as sementes foram secas ao ar livre, a sombra, por 30 minutos, antes do plantio.

A taxa de semeadura mínima de 11 kg.ha⁻¹ de sementes para capim-Massai foi calculada levando em consideração: pureza de 97,3%, germinação de 84% e valor cultural de 80%.

2.2. Altura das plantas

Após a terceira semana, depois da emergência das plântulas, foi registrada semanalmente a altura das plantas. Foi mensurado 15 pontos aleatórios por parcela com régua graduada. A altura será medida na curvatura das folhas superiores em torno da régua (Figura 9).



Figura 9. Determinação da altura dos pastos de capim-Massai. Experimento com BPCP e doses de N-Fertilizante em Maringá, Paraná, Brasil.

2.3. Massa de forragem total (MFT), acúmulo de forragem (AF) e componentes morfológicos

No momento que as plantas atingiram 0,55m de altura pela primeira vez em uma estação do ano e em todas as estações do ano (outono, inverno, primavera e verão) foram mensuradas a massa de forragem total (MFT) em todos os tratamentos. Os cortes foram realizados rente ao solo através da amostragem direta, utilizando um quadrado com 0,25 m² (0,5 x 0,5 m), estes foram secos em estufa de circulação forçada para a determinação da matéria seca, a 60°C, até peso constante para a determinação da matéria seca.

Também foi mensurado o acúmulo de forragem (AF). Sempre que os pastos atingiram as alturas de 0,55m de altura esses eram cortados a 0,25m de altura. O AF foi feito com o auxílio de um cortador de grama com recolhedor de forragem e adaptação para corte à altura do resíduo indicado.

A técnica da mensuração do AF consiste em cortar uma faixa central de aproximadamente 2,50 × 0,45m (1,13m²) ao centro de cada unidade experimental. A forragem contida no interior do recolhedor de forragem também foi pesada e secada em

estufa de circulação forçada de ar a 60°C até peso constante e somada a MFT. Posteriormente toda as parcelas foram rebaixadas a 0,25m.

Para determinação dos componentes morfológicos dos pastos, foram retiradas subamostras de MFT, as quais foram separadas nas frações lâmina foliar (LF), colmo + bainha (CB) e material morto (MM). Esses componentes foram secos utilizando o método supracitado. Os valores de MFT foram convertidos para $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ de matéria seca (MS), e os CM expressos como proporção (%) da planta inteira.

2.4. Densidade populacional de perfilhos (DPP)

As estimativas de (DPP) foram obtidas com o uso de armações metálicas de $0,50 \times 0,25\text{m}$ ($0,125\text{m}^2$), segundo método de Sbrissia e Silva (2008). Foram utilizados dois retângulos por unidade experimental, alocados em pontos representativos da condição dos pastos (altura média) no momento da amostragem. As avaliações foram um dia antes das avaliações de MFT, e todos os perfilhos vivos no interior da armação metálica foram contados. Optou-se pelo uso de uma medida retangular visando englobar, dentro do possível, a grande heterogeneidade verificada em pastos.

2.5. IL e IAF

O monitoramento do índice de interceptação luminosa incidente (IL – medida com aparelho Accupar modelo LP-80, da Decagon Devices, São José dos Campos - SP, Brasil) foi feito utilizando um aparelho analisador de dossel. O IL foi realizado toda vez que os tratamentos atingiam 0,55m de altura no capim-Massai. Em cada ponto foram realizadas quatro leituras acima do dossel forrageiro e quatro no solo. O índice de área foliar (IAF) também foi estimado pelo mesmo aparelho nos mesmos intervalos do IL.

2.6. Sistema radicular

Na última semana de cada estação, foram retiradas duas amostras de solo por unidade experimental, com profundidade de 0 a 20 cm com auxílio de uma sonda Figura 10. Estas amostras foram acondicionadas em sacos plásticos identificados. Em seguida encaminhadas para o Laboratório de Nutrição Animal da Universidade Estadual de

Maringá (LANA - UEM), e imediatamente levadas ao freezer com temperatura entre -5 a -10 °C.



Figura 10. Coleta de raízes realizada no experimento com capim-Massai inoculado com BPCP e doses de N-Fertilizante durante dois anos (2019-2020).

Segundo a metodologia utilizada por Böhm (1976), as amostras foram lavadas com água corrente em peneira com malha de 0.8 mm, para separação de solo e raízes (Figura 11) As amostras, a partir daí, foram homogeneizadas e subdivididas em duas partes, uma delas (aproximadamente 20%) acondicionadas em potes com solução de álcool 70% para análises de morfologia radicular e a outra foi seca em estufa com circulação forçada de ar (55°C) por 48h, para determinação da massa de raízes (MR). Após isso, este material foi disposto para a pesagem em balança analítica. A relação entre massa de forragem total e massa de raízes foi obtida pela divisão delas.



Figura 11. Raízes de *Megathyrsus maximus* cv. Massai inoculado com BPCP associada a doses de N-Fertilizante após lavagem em peneira de 0.8mm.

As subamostras correspondentes à determinação da morfologia radicular distribuídas uniformemente, sem sobreposição, em placas de vidro transparente e, então, submetidas à digitalização em Scanner HP 3400. As leituras de área radicular (AR) em mm^2 , diâmetro radicular (DiR) em mm, comprimento radicular (CR) em mm e densidade radicular (DeR) em mm/dcm^3 , foram realizados por meio do aparelho DELTA T SCAN® equipado com o programa de análise de imagem de raízes (Figura 12).



Figura 12. Procedimento de análise radicular no aparelho DELTA T SCAN®. Captura das imagens pelo programa; Preparação das amostras; Scanner de raízes.

2.7. Análises estatísticas

As variáveis de resposta foram estudadas separadamente. Todas elas foram analisadas através da montagem de modelos de efeitos mistos usando o procedimento MIXED do SAS versão 9.0 (SAS Institute, 2002). Os tratamentos e as estações do ano foram considerados como efeitos fixos, enquanto os blocos e os anos de ensaios foram

considerados como efeitos aleatórios. A estrutura de covariância foi selecionada com base no menor valor do critério de Akaike. A normalidade dos resíduos e a homogeneidade das variâncias foram testadas usando o teste de Shapiro-Wilk, e os dados transformados se as suposições da ANOVA fossem violadas. As médias foram comparadas usando o teste de Kramer-Tukey em $P \leq 0,05$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve interação entre os tratamentos e as estações do ano para as variáveis massa de forragem total ($P = 0,315$), acúmulo de forragem ($P = 0,405$), lâmina foliar ($P = 0,272$), colmo mais bainha ($P = 0,128$), material morto ($P = 0,254$), e relação lâmina foliar com colmo mais bainha ($P = 0,456$). Porém, foi encontrado diferenças entre os tratamentos para todas essas variáveis, exceto para a percentagem de material morto (Tabela 9).

Tabela 8. Efeito dos tratamentos sobre a média da MFT ($\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$), AF ($\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$) LF (%), CB (%), MM (%) e LF:CB do capim-Massai inoculado com BPCP associadas a doses de N-Fertilizante durante dois anos (2019-2020).

Associações entre N- fertilizante e BPCP		MFT ($\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$)	AF ($\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$)	LF (%)	CB (%)	MM (%)	LF:CB
20 $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ de N	Controle*	7345b	1623c	44b	31a	25	1,42c
	<i>Azospirillum brasilense</i> Ab-V5	9295ab	2327ab	45ab	30ab	25	1,50bc
	<i>A. brasilense</i> Ab-V6	9594ab	2417b	47a	30ab	23	1,57bc
	<i>Pseudomonas fluorescens</i> CCTB03	9228ab	2736ab	48a	25b	27	1,92a
70 $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ de N	Controle*	9065ab	2554ab	44b	31a	24	1,45bc
	<i>A. brasilense</i> Ab-V5	8983ab	2649ab	47a	30ab	23	1,57bc
	<i>A. brasilense</i> Ab-V6	10651a	2821a	46ab	31a	23	1,48bc
	<i>P. fluorescens</i> CCTB03	9410ab	2358bc	45ab	26b	29	1,73ab
120 $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ de N	Controle*	10075a	2856a	44b	31a	25	1,42c
	<i>A. brasilense</i> Ab-V5	9559ab	2709ab	48a	30ab	22	1,60ab
	<i>A. brasilense</i> Ab-V6	9172ab	2689ab	46ab	31a	23	1,48bc
	<i>P. fluorescens</i> CCTB03	10112a	2974a	45ab	26b	29	1,73ab
EPM		749	102	3	2	2	0,2
<i>P-valor</i>		0,032	0,001	0,001	0,045	0,101	0,001

Nota: MFT – Massa de forragem total; LF - lâmina foliar; AF - acúmulo de forragem; CB – colmo mais bainha; MM – material morto; LF:CB – relação lâmina foliar e colmo mais bainha. EPM: Erro padrão da média; médias seguidas de letras minúsculas semelhantes na coluna não são diferentes pelo teste de Tukey-Kramer ($P < 0.05$).

Os tratamentos com *A. brasilense* Ab-V6 + 70 kg.ha⁻¹ de N, o controle + 120 kg.ha⁻¹ de N e os pastos inoculados com *P. fluorescens* CCTB03 + 120 kg.ha⁻¹ de N foram os que obtiveram as maiores médias de MFT e AF com relação ao controle + 20 kg.ha⁻¹ de N. Os tratamentos que mais se destacaram chegaram a ser 31% superiores para MFT e até 45% para AF em relação ao controle + 20 kg.ha⁻¹.

É importante frisar o resultado das BPCP associadas a 20 kg.ha⁻¹ para MFT, e das estirpes *A. brasilense* Ab-V6 e *P. fluorescens* CCTB03 associadas a 20 kg.ha⁻¹ de N no AF. Esses tratamentos possibilitaram as plantas a produzirem forragem semelhante ao tratamento controle associado a 120 kg.ha⁻¹ de N. Isto mostra certamente a efetividade destas em situações de solos menos férteis, melhorando assim a produção de massa de forragem total como um todo e com menor uso de N-fertilizante.

Para muitos pesquisadores esses efeitos benéficos das BPCP, se devem a síntese de fitormônios como: auxinas, ácido indolacético e giberelinas. As auxinas e giberelinas, por exemplo, atuam no crescimento e alongamento de caules, folhas e raízes, e induzem mudanças na expansão, divisão e alongamento celular das regiões meristemáticas, em que ocorre o crescimento das plantas (Duca et al., 2014; Taiz et al., 2017).

A LF nos tratamentos com *A. brasilense* Ab-V5, tanto associados com 70 kg.ha⁻¹ de N e 120 kg.ha⁻¹ de N, como o tratamento com *A. brasilense* Ab-V6 + 20 kg.ha⁻¹ de N obtiveram as maiores médias para essa variável em relação a todos os controles (20, 70 e 120 kg.ha⁻¹ de N). Os valores apresentaram até 4% de diferenças entre os tratamentos que mais e menos se destacaram.

Estes resultados indicam que além de promover ganhos em relação a massa total de forragem, as BPCP também ajudam a incrementar os índices de massa foliar, componente base para persistência da forrageira ao longo das estações do ano, e ganho de peso de animais criados sob o regime de pastejo. Em estudo semelhante, Guimarães et al. (2016), verificaram incrementos de até 9% no número de folhas e de 12% no número de perfilhos por planta em *U. brizantha* cv. 'Marandu' inoculada com *Azospirillum*.

Com relação a CB, os tratamentos de *P. fluorescens* CCTB03 com todas as doses de N-fertilizante testadas foram as que obtiveram as menores médias para essa variável. Foram notadas diferenças de até 6% entre os tratamentos. O componente CB, apesar não ser interessante para alimentação de ruminantes, tem função importante na composição do dossel, pois, atua na sustentação das plantas forrageiras (Taiz et al., 2017).

Na variável LF:CB o tratamento com *P. fluorescens* CCTB03 + 20 kg.ha⁻¹ de N foi o que obteve maior média em relação ao tratamento controle associado a apenas 20 kg.ha⁻¹ de N. Os valores foram até 26% superiores nos tratamentos que obtiveram as médias mais altas. Esses resultados podem ser atribuídos basicamente a baixa quantidade de CB que os pastos apresentaram. Fator interessante na escolha da estirpe a ser inoculada, pois, além de apresentar quantidades de MFT e AF semelhantes aos tratamentos que mais se destacaram, ainda proporcionaram arquitetura de dossel fundamental para produção animal, com menor uso de N-fertilizante.

Entre as estações do ano, a média dos tratamentos foram superiores no inverno e na primavera para as variáveis MFT, MM e LF:CB, foi observado variações de até 20%, 10% e 25%, respectivamente entre os períodos. Porém, os valores foram inversamente proporcionais para LF e CB, e com as médias até 4 e 8%, respectivamente maiores para essas variáveis no outono e no verão. Para o AF, a estações que mais se destacaram foi a primavera e o verão, com aumentos de até 18% em relação ao outono (Figura 10).

Tabela 9. Efeito das estações do ano sobre a média da MFT (kg.ha⁻¹), AF (kg.ha⁻¹) LF (%), CB (%), MM (%) e LF:CB do capim-Massai inoculado com BPCP associadas a doses de N-Fertilizante durante dois anos (2019-2020).

Estações do ano	MFT	AF	LF	CB	MM	LF:CB
	kg.ha ⁻¹	kg.ha ⁻¹		(%)		
Outono	9435ab	2201b	48a	30a	22b	1,60b
Inverno	9844a	2531ab	44b	22b	34a	2,00a
Primavera	10594a	2806a	44b	24b	32a	1,83a
Verão	8450b	2700a	45ab	30a	25b	1,50b
EPM	381	115	3	2	2	68
<i>P-valor</i>	0,001	0,001	0,025	0,001	0,002	0,001

Nota: MFT – Massa de forragem total; AF – acúmulo de forragem; LF - lâmina foliar; CB – colmo mais bainha; MM – material morto; LF:CB – relação lâmina foliar e colmo mais bainha. EPM: Erro padrão da média; médias seguidas de letras minúsculas semelhantes na coluna não são diferentes pelo teste de Tukey-Kramer ($P < 0.05$).

A primavera e o inverno foram as estações que obtiveram as maiores médias para MFT, MM e LF:CB entre os tratamentos testados. Por outro lado, essas estações obtiveram valores inferiores para a percentagem de LF e CB frente ao outono e o verão.

Estes resultados, basicamente, podem ser atribuídos ao ciclo natural de desenvolvimento do capim, uma vez que o outono foi o primeiro período após aos estabelecimentos dos pastos. O que se pode observar em pastagens recém-formadas, e quando bem formadas, é alto índice de MFT, predominantemente com folhas e baixo MM (Zimmer et al., 1983).

Uma explicação para as taxas de acúmulo aumentarem conforme o passar do tempo experimental para o capim-Massai, foi justamente as condições climáticas favoráveis na primavera e no verão. No planejamento forrageiro o AF tem suma importância, pois esse participará diretamente da disponibilidade de forragem, a qual é de alta qualidade, por se tratar dos extratos superiores do dossel, em que se concentra basicamente as folhas da forrageira.

Apenas os tratamentos controle, *A. brasilense* Ab-V5 e Ab-V6 + 20 kg.ha⁻¹ de N não proporcionaram oito cortes em média para o capim-Massai durante os dois anos de observações. O demonstrativo dos cortes, com suas respectivas produtividades se encontram na Figura 13.

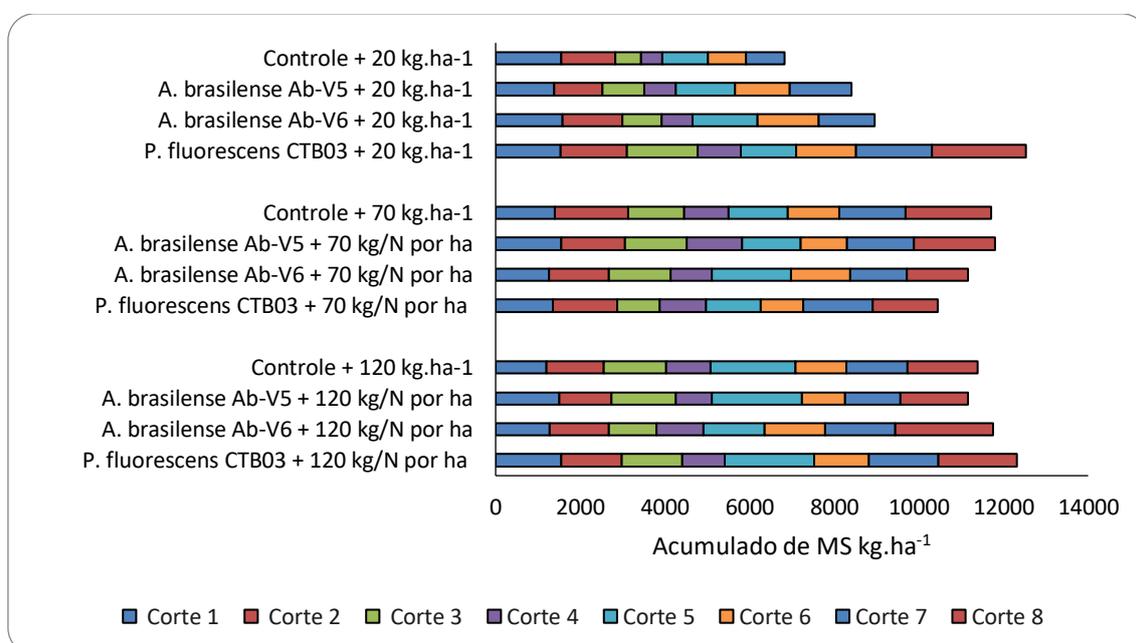


Figura 13. Média de massa de forragem acumulada durante os cortes nos dois anos de experimento do capim-Massai inoculado com bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP) associadas a doses de N-fertilizante, durante dois anos (2019-2020).

Os tratamentos com *P. fluorescens* CCTB03 + 20 e 120 kg.ha⁻¹ de N foram os que mais se destacaram no acumulado médio durante os anos de cultivo. Por outro lado o controle + 20 kg.ha⁻¹ de N foi o tratamento que menos produziu nesses períodos.

O tratamento com *P. fluorescens* CCTB03 + 20 kg.ha⁻¹ de N proporcionou resposta muito satisfatória para produtividade do capim-Massai durante os cortes nos anos de cultivo. Isso tem impacto grande com relação ao uso desses microrganismos, principalmente em solos de baixa fertilidade com o do estudo, uma vez que foi demonstrado que é possível boa produção de forragem com menor uso de N-Fertilizante.

Não houve interação entre os tratamentos e as estações do ano para IL ($P = 0,315$), IAF ($P = 0,272$) e DPP ($P = 0,128$). Também não ocorreu diferença para nenhuma dessas variáveis considerando a comparação entre os tratamentos testados (Tabela 11).

Tabela 10. Efeito dos tratamentos sobre a Intercepção luminosa (IL), índice de área foliar (IAF) densidade populacional de perfilhos (DPP) do capim-Massai inoculado com BPCP associadas a doses de N-fertilizante, durante dois anos (2019-2020)

Associações entre N- fertilizante e BPCP		IL	IAF	DPP (m ²)
20 kg.ha ⁻¹ de N	Controle*	0,91	3,90	1248
	<i>A. brasilense</i> Ab-V5	0,93	4,34	1193
	<i>A. brasilense</i> Ab-V6	0,94	4,54	1263
	<i>P. fluorescens</i> CCTB03	0,92	4,02	1134
70 kg.ha ⁻¹ de N	Controle*	0,93	4,13	1349
	<i>A. brasilense</i> Ab-V5	0,92	3,99	1299
	<i>A. brasilense</i> Ab-V6	0,94	4,89	1191
	<i>P. fluorescens</i> CCTB03	0,93	4,25	1197
120 kg.ha ⁻¹ de N	Controle*	0,94	4,25	1206
	<i>A. brasilense</i> Ab-V5	0,95	4,70	1380
	<i>A. brasilense</i> Ab-V6	0,93	4,38	1261
	<i>P. fluorescens</i> CCTB03	0,94	4,47	1128
EPM		0,01	0,26	127
<i>P-valor</i>		0,421	0,357	0,785

Nota: Intercepção luminosa (IL); índice de área foliar (IAF); densidade populacional de perfilhos (DPP); EPM: Erro padrão da média; médias seguidas de letras minúsculas semelhantes na coluna não são diferentes pelo teste de Tukey-Kramer ($P < 0,05$).

Os resultados encontrados nestes estudos contrariam os encontrados por Guimarães et al. (2019), que ao avaliarem o perfilhamento com doses de N-fertilizante em *U. brizantha* cv. ‘Xaraés’ inoculados com *P. fluorescens* CCTB 03 e *Pantoea ananatis* AMG521 demonstraram que as duas bactérias promoveram aumentos do número de perfilhos basais, chegando a 100% de superioridade em relação aos demais tratamentos.

Ao analisar a médias dos tratamentos entre as estações do ano, pode-se observar que o outono foi o período com maior IL e IAF. As diferenças notadas na IL foram de até 3% e 23%, para IL e IAF, respectivamente, em relação ao inverno, estação com a menor média para essas variáveis.

Segundo Santos e Vieira (2011) o manejo da pastagem também pode ser feito pela intercepção luminosa do dossel, e é justificado por proporcionar ao animal o pastejo da forrageira no ponto de sua maior produtividade de folhas e conseqüentemente melhor valor nutritivo, a faixa ideal na maioria das gramíneas é quando o dossel atinge 95% de

intercepção de luz. Já Hodson (1990) relatou que as variáveis do pasto que mais impactam sobre a produção de matéria seca são a altura e o IAF, também tendo forte relação entre elas.

Para o DPP a primavera e o verão foram as estações que se destacaram. As diferenças foram de até 33% frente ao outono e inverno, estações com as menores médias observadas (Tabela 12).

Tabela 11. Efeito das estações do ano sobre a Intercepção luminosa (IL), índice de área foliar (IAF) densidade populacional de perfilhos (DPP) do capim-Massai inoculado com BPCP associadas a doses de N-fertilizante, durante dois anos (2019-2020).

Estações do ano	IL	IAF	DPP (m ²)
Outono	0,96a	4,85a	890b
Inverno	0,93b	3,75b	985b
Primavera	0,95ab	4,28ab	1251a
Verão	0,95ab	4,35ab	1334a
EPM	0,01	0,12	68
<i>P-valor</i>	0,001	0,001	0,001

Nota: Intercepção luminosa (IL); índice de área foliar (IAF); densidade populacional de perfilhos (DPP); EPM: Erro padrão da média; médias seguidas de letras minúsculas semelhantes na coluna não são diferentes pelo teste de Tukey-Kramer ($P < 0.05$).

Estes resultados refletem bem o comportamento tanto da MFT, quanto dos componentes morfológicos ao longo do desenvolvimento do capim-Massai. O outono, primeira estação após o estabelecimento, por se tratar de um pasto jovem obteve maiores valores de IAF pela grande proporção de folhas no dossel. Isso, conseqüentemente promoveu maiores índices de IL.

O inverno, por ser uma estação com limitada disponibilidade de recursos básicos para o crescimento da forrageira, tanto hídricos como de temperatura (Figura 2), teve sua capacidade de IL e IAF reduzida, pela redução de lâminas foliares e aumento de material senescente. A retomada desses índices avaliados, só se deu na primavera, momento em que o pasto começa a se recuperar por causa da disponibilidade de luz e água, componentes chave para crescimento dos pastos (Gastal e Lemaire, 2015), ficando esses pastos dentro dos valores indicados para o manejo do pasto. Com este estudo, recomenda-se para a região a altura de 0,55m para entrada dos animais em pastejo e retirada com 0,25m para capim-Massai.

Particularmente, a DDP aumentou a quantidade ao passar das épocas do ano. Isso se deve, basicamente, a plasticidade dos pastos frequentemente submetidos a cortes e ao

estímulo das gemas basais do capim (Sbrissia e Silva, 2008). Isso fez com que inevitavelmente aumentasse o número de perfilhos por metro quadrado influenciando diretamente no AF.

Não houve interação entre os tratamentos e as estações do ano para as variáveis massa de raízes ($P = 0,421$), relação massa de forragem total com massa de raízes, área de raízes ($P = 0,645$), comprimento de raízes ($P = 0,255$), diâmetro de raízes ($P=0,854$), e densidade de raízes ($P = 0,743$). Porém, foi encontrado diferenças entre os tratamentos para a massa, área e comprimento radicular (Tabela 13).

Tabela 12. Efeito dos tratamentos sobre a MR (kg.ha⁻¹), MFT:MR, AR (mm²), CR (mm/mm²), DiR (mm), DeR (mm/dcm³) do capim-Massai inoculado com BPCP associadas a doses de N-fertilizante, durante dois anos (2019-2020)

Associações entre N- fertilizante e BPCP		MR (kg.ha ⁻¹)	MFT:MR	AR mm ²	CR mm/mm ²	DiR (mm)	DeR mm/dcm ³
	Controle*	3002c	2,45	859d	7891d	0,18	10,1
20 kg.ha ⁻¹ de N	<i>A. brasilense</i> Ab-V5	3855a	2,41	2003c	10002bc	0,22	12,1
	<i>A. brasilense</i> Ab-V6	3847a	2,49	1855cd	9758c	0,21	11,8
	<i>P. fluorescens</i> CCTB03	3789ab	2,44	1912c	9854c	0,19	11,9
	Controle*	3415bc	2,65	1744cd	8546cd	0,18	10,4
70 kg.ha ⁻¹ de N	<i>A. brasilense</i> Ab-V5	3354bc	2,68	1785cd	8965cd	0,21	11,1
	<i>A. brasilense</i> Ab-V6	3941a	2,70	3982a	17584a	0,24	15,8
	<i>P. fluorescens</i> CCTB03	3597a	2,62	1852c	9755b	0,24	11,8
	Controle*	3641ab	2,77	2155bc	12551b	0,22	13,2
120 kg.ha ⁻¹ de N	<i>A. brasilense</i> Ab-V5	3474bc	2,75	1812cd	9325bc	0,19	11,4
	<i>A. brasilense</i> Ab-V6	3458b	2,65	2998b	14558b	0,22	13,4
	<i>P. fluorescens</i> CCTB03	3974a	2,54	4123a	18450a	0,23	16,3
	EPM	232	0,2	135	830	0,01	0,1
	<i>P-valor</i>	0,012	0,305	0,025	0,048	0,478	0,125

Nota: Massa de raízes (MR), relação massa de forragem total com massa de raízes, área de raízes (MFT:MR), comprimento de raízes (CR), diâmetro de raízes (DiR), densidade de raízes (DeR). EPM: Erro padrão da média; médias seguidas de letras minúsculas semelhantes na coluna não são diferentes pelo teste de Tukey-Kramer ($P<0.05$).

Os maiores valores para MFT foram encontrados para os tratamentos *A. brasilense* Ab-V6 + 20 e 70 kg.ha⁻¹ de N, *A. brasilense* Ab-V5 + 20 kg.ha⁻¹ de N e *P. fluorescens* CCTB03 + 70 e 120 kg.ha⁻¹ de N. Esses valores chegaram a ser até 24% maiores com relação as médias observadas no controle + 20 kg.ha⁻¹ de N.

Os valores encontrados na massa de raízes, certamente contribuiu com a maior produção de MFT, AF, e % de LF desses tratamentos. Nestas condições a planta tem mais habilidade de explorar o solo, em sua fertilidade e água, possibilitando, certamente, esses incrementos (Cecato et al., 2011).

Os resultados obtidos com as BPCP, provavelmente podem ser creditados a maior produção de ácido indolacético nos pastos inoculados com esses microrganismos, o qual tem efeito importante no crescimento radicular, resultando em aumentos na absorção de água e nutrientes, garantindo o uso eficiente desses recursos (Hungria et al., 2010).

Tanto para AR, quanto para CR as bactérias *A. brasilense* Ab-V6 e *P. fluorescens* CCTB03, associadas a 70 e 120 kg.ha⁻¹ de N, respectivamente, foram os tratamentos que obtiveram as maiores médias em relação ao controle. Os valores chegaram a ser até 79 e 57% maiores em cada uma dessas variáveis.

Estes resultados obtidos no estudo, colaboram com muitos contidos na literatura, que citam a inoculação de plantas forrageiras com BPCP como precursora do aumento acentuado na produção de massa de raízes (Carvalho et al., 2020; Hungria et al., 2020). Estes resultados deixam explícitos que estes microrganismos contribuem diretamente na produção de forragem através do estímulo radicular. Uma vez a planta tendo condições de explorar o solo em busca de nutrientes e água, isso impactará, como comprovado neste estudo, na sua produção de parte aérea.

Também, foram encontradas diferenças isoladas entre as estações do ano para as variáveis MR e RFR ($P = 0,001$ e $0,002$) com os valores médios de primavera superiores na ordem de aproximadamente 29% e 21% frente aos valores de inverno e verão, respectivamente, para MR, e inferiores de 24% e 19%, para RFR frente as mesmas estações (Tabela 14).

Tabela 13. Efeito das estações do ano sobre a MR (kg.ha⁻¹), MFT:MR, AR (mm²), CR (mm/mm²), DiR (mm), DeR (mm/dcm³) do capim-Massai inoculado com BPCP associadas a doses de N-fertilizante, durante dois anos (2019-2020).

Estações do ano	MR	MFT:MR	AR	CR	DiR	DeR
	(kg.ha ⁻¹)		mm ² / dcm ³	mm/dcm ³	(mm)	mm/dcm ³
Outono	2452c	3,85a	1289c	6558c	0,11	6,5c
Inverno	2886b	3,41b	1845b	9584b	0,18	9,8b
Primavera	4064a	2,61c	2563a	12315a	0,22	10,5b
Verão	3213ab	2,63c	3230a	14758a	0,29	15,5a
EPM	220	0,3	325	652	0,03	0,5
<i>P-valor</i>	0,020	0,001	0,001	0,024	0,701	0,014

Nota: Massa de raízes (MR), relação massa de forragem total com massa de raízes, área de raízes (MFT:MR), comprimento de raízes (CR), diâmetro de raízes (DiR), densidade de raízes (DeR). EPM: Erro padrão da média; médias seguidas de letras minúsculas semelhantes na coluna não são diferentes pelo teste de Tukey-Kramer ($P < 0,05$).

Estes resultados podem ser relacionados as demais variáveis apresentadas anteriormente, os menores valores de MR no outono, faz jus a uma forrageira jovem e com pouca capacidade de reserva. Com o passar do tempo, o pasto tende a lançar mão desses recursos para suportar para períodos de maior estresse, como o inverno, e retoma suas reservas nos períodos mais propícios, como a primavera e o verão.

A morfologia radicular por sua vez, acompanha esse processo, assim como comentado para a MFT, a MR por si só não reflete a capacidade de extrair recursos das plantas apenas por sua quantidade, mas pelas características das raízes. Quanto mais finas e longas, essas tendem a ser mais eficientes nesse processo. O verão e a primavera indicam o ápice de desenvolvimento do sistema radicular, por exemplo, pois além de quantidade, também apresentam raízes eficientes por suas características morfológicas.

4 CONCLUSÃO

Os resultados do estudo demonstraram que é viável associar as BPCP ao desenvolvimento de *Megathyrus maximus* cv. Massai. Visando a produtividade, as estirpes mais indicadas são a *Pseudomonas fluorescens* CCTB03 associada a aplicação de 20 kg.ha⁻¹ e *Azospirillum brasilense* Ab-V6 associada a 70 kg.ha⁻¹ de N.

As BPCP não interferiram no ciclo natural de desenvolvimento do pasto durante as estações do ano.

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. <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v40i1.36392>
- Abrantes, G. T. V., Döbereiner, J., Day, J., & Cruz, V. (1976). Métodos para o estudo da atividade da nitrogenase em raízes de gramíneas colhidas no campo. *In Anais do Congresso Brasileiro de Ciência do Solo*, Campinas, SP.
- Asman, W. A., Sutton, M. A., & Schjørring, J. K. (1998). Ammonia: emission, atmospheric transport and deposition. *New phytologist*, 139, 27-48. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.1998.00180.x>
- 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. <https://doi.org/10.7213/academica.14.2016.24>

Casanovas, E. M., Barassi, C. A., & Sueldo, R. J. (2002). Azospirillum inoculation mitigates water stress effects in maize seedlings. *Cereal Research Communications*, 30, 343-350. <https://doi.org/10.1007/BF03543428>

Carvalho, CLM, Duarte, ANM, Hungria, M., Nogueira, MA, Moreira, A., & Soares Filho, CV (2020). Nitrogênio na parte aérea, número de perfilhos, rendimento de biomassa e valor nutritivo de capim-da-índia Zuri inoculado com bactérias promotoras de crescimento de plantas.

Day, J. M., & Döbereiner, J. (1976). Physiological aspects of N₂-fixation by a Spirillum from Digitaria roots. *Soil Biology and Biochemistry*, 8, 45-50. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(76\)90020-1](https://doi.org/10.1016/0038-0717(76)90020-1)

Döbereiner, J., & Ruschel, A. P. (1958). Uma nova espécie de Beijerinckia. *Revista de Biologia*, 1, 261-272.

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), e630985978-e630985978. [10.33448/rsd-v9i8.5978](https://doi.org/10.33448/rsd-v9i8.5978)

Duca, D., Lorv, J., Patten, C. L., Rose, D., & Glick, B. R. (2014). Indole-3-acetic acid in plant-microbe interactions. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 106, 85-125. <https://doi.org/10.1007/s10482-013-0095-y>

Gastal, F., & Lemaire, G. (2015). Defoliation, shoot plasticity, sward structure and herbage utilization in pasture: Review of the underlying ecophysiological processes. *Agriculture*, 5, 1146-1171. <https://doi.org/10.3390/agriculture5041146>

Guimarães, S. L., dos Santos, C. S. A., Bonfim-Silva, E. M., & Polizel, A. C. (2016). Nutritional characteristics of marandu grass (*Brachiaria brizantha* cv. marandu) subjected to inoculation with associative diazotrophic bacteria. *African Journal of Microbiology Research*, 10, 873-882. <https://doi.org/10.5897/AJMR2016.7951>

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*, 33, 413-425.

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>

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>

- Lopes, M. J. S., Filho, M. B. D., Castro, T. H. R., 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, 250-265. <https://doi.org/10.4236/ajps.2018.92021>
- Nascente, A. S., de Filippi, M. C. C., Lanna, A. C., de Souza, A. C. A., da Silva Lobo, V. L., & da Silva, G. B. (2017). Biomass, gas exchange, and nutrient contents in upland rice plants affected by application forms of microorganism growth promoters. *Environmental Science and Pollution Research*, 24, 2956-2965. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-8013-2>
- 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>
- Taiz, L., Zeiger, E., Møller, I. M., & Murphy, A. (2017). *Fisiologia e desenvolvimento vegetal*. Porto Alegre: Artmed Editora.
- Strassburg, B. B., Latawiec, A. E., Barioni, L. G., Nobre, C. A., Da Silva, V. P., Valentim, J. F., Vianna, M. & Assad, E. D. (2014). When enough should be enough: Improving the use of current agricultural lands could meet production demands and spare natural habitats in Brazil. *Global Environmental Change*, 28, 84-97. <https://doi.org/10.1016/j.gloenvcha.2014.06.001>
- Sbrissia, A. F., & Silva, S. C. D. (2008). Compensação tamanho/densidade populacional de perfilhos em pastos de capim-marandu. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 37, 35-47.
- 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, 722-730. <https://doi.org/10.1590/S1806-92902017000900003>
- Zimmer, A. H., Pimentel, D. M., Valle, C. D., & Seiffert, N. F. (1983). *Aspectos práticos ligados à formação de pastagens*. Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte.