

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E ENGENHARIA  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FLORESTAIS E DA MADEIRA

CÁSSIO CARLETTE THIENGO

*Urochloa brizantha* cv. Marandu SUBMETIDO AO USO DE  
INSUMOS BIOLÓGICOS PARA RECUPERAÇÃO DE PASTAGEM  
DEGRADADA NO ESPÍRITO SANTO

JERÔNIMO MONTEIRO  
ESPÍRITO SANTO

2019

CÁSSIO CARLETTE THIENGO

*Urochloa brizantha* cv. Marandu SUBMETIDO AO USO DE  
INSUMOS BIOLÓGICOS PARA RECUPERAÇÃO DE PASTAGEM  
DEGRADADA NO ESPÍRITO SANTO

Monografia apresentada ao  
Departamento de Ciências  
Florestais e da Madeira da  
Universidade Federal do Espírito  
Santo, como requisito parcial  
para obtenção do título de  
Engenheiro Florestal.

JERÔNIMO MONTEIRO

ESPÍRITO SANTO

2019

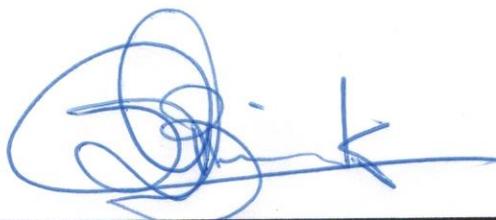
CÁSSIO CARLETTE THIENGO

*Urochloa brizantha* cv. Marandu SUBMETIDO AO USO DE  
INSUMOS BIOLÓGICOS PARA RECUPERAÇÃO DE PASTAGEM  
DEGRADADA NO ESPÍRITO SANTO

Monografia apresentada ao Departamento de Ciências Florestais e da Madeira da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Engenheiro Florestal.

Aprovado em: 26 de novembro de 2019.

COMISSÃO EXAMINADORA



---

Prof. Dr. Diego Lang Burak/Orientador  
DPV/CCAUE/UFES



---

Prof. Dr. Marcos Vinicius Winckler Caldeira/Examinador  
DCFM/CCAUE/UFES



---

Eng.º Agrônomo Danilo Messias de Oliveira/Examinador  
PPGPV/CCAUE/UFES

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.”

*José de Alencar*

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por me dar força e discernimento para concluir mais esta etapa em minha vida.

Aos meus superpais, José Carlos e Maria Lúcia, por todo apoio emocional e financeiro, por todas as orações, por sempre acreditarem em mim, por todos os ensinamentos e discussões, que acabaram me tornando quem sou hoje. Vocês são a razão de tudo.

À minha querida irmã, Lara, meu maior exemplo de luta e dedicação, por todas as dúvidas tiradas, por me apontar caminhos mais seguros a seguir e sempre reforçar que nossos maiores inimigos somos nós mesmos.

À minha amada e confidente namorada, Elisa Liz, por todo companheirismo, lealdade, amor, incentivo nesses últimos quatro anos. Obrigado por sempre me acalmar e apoiar meus objetivos. Você foi essencial para meu desenvolvimento pessoal!

Ao meu cunhado Fernando Coelho, por abrir meus olhos desde cedo, mostrar realmente como o jogo funciona e ser um facilitador no meu desenvolvimento profissional.

À minha irmã de consideração e madrinha, Fernanda, por sempre ser tão prestativa para comigo e proporcionar maior tranquilidade para que eu desenvolvesse este trabalho em tempos de saúde frágil dos familiares.

Ao Professor Diego Lang Burak, pela orientação e apoio na elaboração deste trabalho, além da oportunidade e paciência para minha aprendizagem nesses anos que trabalhamos em conjunto.

Aos mestres e amigos Danilo Messias e Pedro Henrique, por me ensinarem tanto, pelas indicações e por serem sempre prestativos. Sou muito grato a vocês!

A Universidade Federal do Espírito Santo, por ter me dado todo o suporte para minha qualificação profissional, através do corpo docente, direção e administração.

A Universidade Estadual do Norte Fluminense por disponibilizar seu laboratório de microbiologia para serem feitas determinadas análises, em especial, a Letícia.

Aos meus amigos, em especial João Mário, Lucas, Eliel, Vitor e os demais, por sempre serem prestativos e por todo o companheirismo, sem vocês essa caminhada perderia a graça.

Aos companheiros da república Nativos, pela amizade e convivência diária.

A todos os meus professores, por transmitir tanto conhecimento e pelo incentivo, por serem exemplos de amor pela profissão.

A FAPES, por viabilizar o desenvolvimento deste estudo.

## RESUMO

Devido ao baixo investimento na aplicação de insumos nas áreas de pastagem predispõe-se o início da degradação desses agroecossistemas. Nesse contexto, necessita-se de técnicas que consigam contornar esse cenário negativo, como o desenvolvimento de biotecnologias que consigam superar o depauperamento desses solos e reestabelecer boas produtividades. O presente estudo teve como objetivo avaliar o potencial de biotecnologias que integram o uso bactérias promotoras de crescimento vegetal e substâncias húmicas fisiologicamente ativas como estratégia de aumento na produtividade em pastagens. O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados 4x3, sendo quatro tratamentos e três repetições, totalizando 12 unidades amostrais. Os tratamentos consistiram em 40% da adubação recomendada de NPK (T1); aplicação do produto comercial líquido AzoTotal<sup>®</sup> via semente, constituído das estirpes AbV5 e AbV6 de *Azospirillum brasiliense* (T2); inoculação das estirpes *Herbaspirillum seropedicae* - HIV206 e *Herbaspirillum rubrisubalbicans* - HCC101 via foliar conjuntamente com substância húmica (40 mg L<sup>-1</sup> de C) aos 15 e 30 DAE (T3); inoculação do AzoTotal<sup>®</sup> via semente, combinada com estirpes HIV206 e HCC101 via foliar conjuntamente com substância húmica (40 mg L<sup>-1</sup> de C) aos 15 e 30 DAE (T4). Foram avaliados atributos fitotécnicos (altura, diâmetro do colmo, massa seca de parte aérea e massa seca de raiz), fisiológicos (influorescência da clorofila, taxa fotossintética, gs, Ci) e nutricionais, através da determinação do conteúdo de nitrogênio total. Os tratamentos (T3) e (T4) apresentaram serem mais promissoras nos parâmetros avaliados, demonstrando ser uma alternativa viável para recuperação de pastagens degradadas. O produto comercial Azototal<sup>®</sup> apresentou baixa eficiência na inoculação, contribuindo de forma menos expressiva para a promoção do crescimento vegetal. A inoculação de BPCV possibilitam melhores desempenhos do aparelho fotossintético das plantas de braquiária em detrimento a redução da adubação, possibilitando ganhos de crescimento mais rápido da pastagem mesmo com redução de 60% de NPK. As substâncias húmicas fisiologicamente ativas maximizam a atuação das BPCV's.

**Palavras chave:** pastagens degradadas; capim marandu; bactérias promotoras de crescimento vegetal; substâncias húmicas.

## SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS .....	x
LISTA DE FIGURAS .....	xi
LISTA DE APÊNDICES .....	xii
1. INTRODUÇÃO .....	1
Objetivos .....	2
Objetivo geral .....	2
Objetivos específicos .....	2
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	4
2.1. Pastagens degradadas .....	4
2.1.1. Problemática e cenário atual .....	4
2.1.2. Recuperação de pastagens degradadas .....	5
2.2. Adubação em pastagens .....	6
2.3. Fixação Biológica de Nitrogênio .....	7
2.4. Alternativas biotecnológicas .....	8
2.4.1. Bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) .....	8
2.4.1.1. <i>Azospirillum</i> spp. ....	9
2.4.1.2. <i>Herbaspirillum</i> spp .....	10
2.4.2. Substâncias Húmicas .....	11
3. METODOLOGIA .....	12
3.1. Caracterização química e física do solo .....	12
3.2. Condução e caracterização do experimento .....	13
3.3. Extração e aplicação de substâncias húmicas conjuntamente com <i>herbaspirillum</i> spp. ..	15
3.4. Inoculação de bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) e obtenção de mudas .....	16
3.5. Avaliação de atributos fitotécnicos e fisiológicos .....	16
3.5.1. Altura, diâmetro e número de perfilhos .....	16
3.5.2. Análise nutricional .....	17
3.5.3. Trocas gasosas .....	17
3.6. Análises estatísticas .....	17
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	18

5. CONCLUSÃO .....	25
REFERÊNCIAS .....	26
APÊNDICES .....	35

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Caracterização física e química do solo utilizado no experimento anteriormente a calagem.....	14
--	----

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Localização da pastagem degradada situada em Jerônimo Monteiro-ES, matriz mineral do substrato utilizado no experimento .....13
- Figura 2.** Valores médios de altura (cm) e diâmetro do colmo (mm) acompanhados do erro padrão, em função dos diferentes tratamentos em capim marandu.....19
- Figura 3.** Valores médios de produção de massa seca da parte aérea (MSPA) e da raiz (MSR) em função dos diferentes tratamentos utilizados em capim marandu.....21
- Figura 4.** Valores médios dos respectivos parâmetros fisiológicos avaliados: fluorescência da clorofila, taxa fotossintética, condutância estomática (gs) e concentração interna de CO<sub>2</sub>, (Ci) em função dos diferentes tratamentos avaliados em capim marandu.....22
- Figura 5.** Valores médios para conteúdo de N (mg.planta<sup>-1</sup>) da parte aérea e da raiz em função dos diferentes tratamentos utilizados em capim marandu.....23

## LISTA DE APÊNDICES

<b>Apêndice A.</b> Desenvolvimento do capim marandu submetido a 40% da adubação NPK recomendada (T1) ao fim do experimento (45 DAE).....	34
<b>Apêndice B.</b> Desenvolvimento do capim marandu submetido à inoculação do produto comercial Azototal <sup>®</sup> ao fim do experimento (45 DAE).....	34
<b>Apêndice C.</b> Desenvolvimento do capim marandu submetido à inoculação de <i>Herbaspirillum</i> spp.+SH (T3) ao fim do experimento (45 DAE).....	35
<b>Apêndice D.</b> Desenvolvimento do capim marandu submetido à inoculação de Azototal <sup>®</sup> + <i>Herbaspirillum</i> spp. + SH (T4) ao fim do experimento (45 DAE)....	35
<b>Apêndice E.</b> Comparação entre todos os tratamentos (T1, T2, T3 e T4) os quais o capim marandu foi submetido, ao fim do experimento (45 DAE).....	36

## 1. INTRODUÇÃO

As pastagens brasileiras ocupam aproximadamente 180 milhões de hectares (DIAS-FILHO, 2014), sendo a principal fonte de alimento para o gado, contribuindo para que o país seja destaque no segmento da bovinocultura (FERRAZ; FELÍCIO, 2010). Devido ao baixo investimento e rara utilização de insumos nessas áreas tem-se a degradação desses agroecossistemas, tornando a atividade pecuarista insustentável (BRAZ et al., 2004). Nesse contexto, necessita-se de técnicas que consigam contornar esse cenário negativo, como o desenvolvimento de biotecnologias que consigam superar o depauperamento desses solos e reestabelecer boas produtividades.

Estima-se que 50 a 70% das pastagens brasileiras encontram-se em algum nível de degradação (DIAS-FILHO, 2014), realidade que pode ser vista ainda mais de perto, uma vez que o estado do Espírito Santo apresenta cerca de 240 mil ha degradados (BARRETO; SARTORI, 2012), que mesmo tendo grande parte constituída por forrageiras do gênero *Urochloa* (Syn. *Brachiaria*) (SANTANA et al., 2016), as quais possuem características favoráveis para a cultura de pastagem como boa adaptação ao clima tropical, elevada rusticidade e produção de biomassa (COSTA et al., 2005), não impedem que fatores de degradação interfiram de forma negativa no seu estabelecimento e produtividade (LISBÔA et al., 2016). Se por um lado esses dados são preocupantes por atingir grandes extensões territoriais, por outro também apontam o imenso potencial de produtividade pela recuperação dessas áreas. (DIAS-FILHO, 2014)

O capim Marandu (*Urochloa brizantha* cv. *Marandu*) é uma variedade que vem sendo muito utilizada em pastagens, possuindo alta resposta a adubação (JACOVETTI, 2016), que seria uma maneira de superar o esgotamento nutricional acarretado pelas práticas de manejo extensivas e visando a recuperação dessas áreas. O nitrogênio é o nutriente mais limitante para o desenvolvimento vegetal, por maximizar a produção de massa seca, induzir rebrotas mais vigorosas e atuar na produção de novos tecidos, proporcionando um crescimento mais rápido das forrageiras (TEIXEIRA et al., 2011; XIA; WAN, 2008). Porém, adubos nitrogenados sintéticos dispõem-se de altos custos e estão sujeitos a perdas significativas, já que o nitrogênio é altamente volátil e móvel pelos processos carreadores que acontecem

no solo, além da possibilidade de contaminação dos recursos naturais (OLIVEIRA et al., 2005)

As bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCVs) atuam na fixação biológica do nitrogênio (N), suprindo de forma parcial este nutriente para as pastagens, sendo considerada uma alternativa viável do ponto de vista ambiental e econômico. (FUKAMI; CERZINI; HUNGRIA, 2018; SANTOS, 2013). Além disso, diversos estudos relatam outros benefícios atrelados a estes microrganismos, como auxílio na produção de fitohormônios, solubilização de fosfato inorgânico entre outros (CASSÁN; DIAZ-ZORITA, 2016). De forma complementar, têm-se as substâncias húmicas que podem ser usadas como veículo de inoculação, além do seu efeito bioestimulante, possibilitando melhorias no aumento da absorção de nutrientes (DU JARDIN et al., 2015).

Diante do exposto, a utilização de estirpes de BPCVs em forrageiras, associados à aplicação de SH pode ser uma maneira de reduzir os custos de produção, permitindo um maior desenvolvimento das plantas, sendo um grande passo em direção à recuperação da produtividade em pastagens degradadas.

## **Objetivos**

### **Objetivo geral**

Avaliar o potencial de biotecnologias que integram o uso bactérias promotoras de crescimento vegetal e substâncias húmicas fisiologicamente ativas como estratégia de aumento na produtividade de pastagens degradadas.

### **Objetivos específicos**

- a) Avaliar a eficiência do inoculante comercial AzoTotal<sup>®</sup> e estirpes de *Herbaspirillum* spp. juntamente com SH no crescimento de *Urochloa brizantha* cv. Marandu cultivada em solo degradado;
- b) Determinar a estratégia de melhor potencialização dos efeitos da inoculação das bactérias promotoras de crescimento vegetal na melhoria da produtividade de *Urochloa brizantha* cv. Marandu;

- c) Verificar a atuação das bactérias promotoras de crescimento vegetal na disponibilidade de N em poaceas;
- d) Avaliar o efeito da interação entre bactéria-planta no arcabouço fisiológico de *Urochloa brizantha* cv. Marandu.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Pastagens Degradadas

#### 2.1.1. Problemática e cenário atual

A pecuária é um setor de destaque no agronegócio brasileiro e é possuidora de uma das maiores produções e exportações de carne bovina do mundo, tendo como base da sua sustentação as pastagens, que oferecem de forma prática e economicamente viável o alimento para o rebanho (FERRAZ; FELÍCIO, 2010), caracterizando uma vantagem competitiva do Brasil em relação a outros países, que no segmento da bovinocultura utilizam de altos custos em confinamento e mão-de-obra (DIAS-FILHO, 2011), além da flutuação do preço de grãos para alimentação, o que pode alterar seu custo de produção (TORRES JÚNIOR; AGUIAR, 2013).

Desenvolvida em grande extensão territorial e sob boas condições climáticas, o sucesso da atividade pecuarista abrange o mercado de carne e leite, gera empregos diretos e indiretos, além da comercialização de insumos, equipamentos e outros produtos, contribuindo significativamente com o PIB nacional. Entretanto, tradicionalmente em nosso país, as áreas de pastagens sofrem pelo seu uso extensivo ou superpastejo, por conseguirem obter determinada produção, com menos tratos e cuidados da área, mesmo que abaixo do esperado. Deste modo são utilizadas até seu esgotamento de produção e acabam sendo abandonadas pelos produtores (DIAS FILHO, 2014).

Atualmente estima-se que no Brasil cerca de 180 milhões de ha estejam com pastagem (DIAS-FILHO, 2014), sendo sua maioria constituída com poaceae do gênero *Urochloa* (SANTANA et al., 2016). Paralelo a esta expressiva área de cultivo, vieram os problemas com a degradação destas pastagens, principalmente em sistemas de baixo nível tecnológico, devido o manejo inadequado destas pastagens e da rara utilização de insumos (BRAZ et al., 2004). Diante do exposto, a atividade pecuária acaba sendo caracterizada como insustentável e prejudicial aos agroecossistemas.

A degradação das pastagens é um processo de declínio de produtividade que avança com o tempo (DIAS-FILHO, 2017), diminuindo o vigor da forrageira, aumentando a incidência de plantas invasoras, pragas e doenças, comprometendo o desempenho animal e culminando na degradação do solo e recursos naturais

(ZIMMER et al., 2012), em função da escolha incorreta da espécie forrageira, má formação inicial, manejo da pastagem inadequado, excessiva taxa de lotação e a baixa fertilidade dos solos, em associação com o uso limitado de corretivos e fertilizantes (MARTHA JÚNIOR; VILELA, 2002).

As pastagens em degradação são expostas como um problema a nível mundial. Segundo o Programa Ambiental das Nações Unidas (2004), constata-se que cerca de 20% das pastagens mundiais estejam em processo de degradação. A nível nacional, o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2007) estima que 100 milhões de hectares de pastagens estejam degradadas, enquanto dados mais recentes de Dias-Filho (2014) apontam que 50 a 70% das pastagens brasileiras se encontram em algum nível de degradação. No estado do Espírito Santo, a degradação das pastagens representa 61% das áreas degradadas ou em torno de 240 mil hectares (BARRETO; SARTORI, 2012), embora apresente nível intermediário de degradação quando comparado aos demais estados brasileiros (DIAS-FILHO, 2014).

Seguindo o raciocínio de Dias-Filho (2014) em uma análise simples, o grande número de pastagens degradadas é um problema preocupante para o país, embora aponte um gigantesco potencial de produtividade através da recuperação dessas áreas.

### **2.1.2. Recuperação de pastagens degradadas**

Sabe-se que independente da cultura implantada, um solo de pastagem degradada pode significar insucesso na atividade, podendo apresentar até 50% a menos de produção (KICHEL; DA COSTA; DE ALMEIDA, 2012), fato resultante principalmente da retirada de nutrientes que não são repostos no uso extensivo das pastagens (ARTUR; MONTEIRO 2011). Diante do exposto, são indicadas práticas corretas de manejo como a adubação, a fim de se atingir uma prática sustentável e com longevidade, tornando-se indispensável o conhecimento dos atributos químicos do solo, sendo uma maneira de facilitar as decisões sobre práticas contra a degradação (THEODORO et al., 2001), uma vez sabido que uma precisa adubação e/ou correção aumenta a fertilidade do solo (HERINGER et al, 2002).

As gramíneas do gênero *Urochloa* (Syn. *Brachiaria*), pertencente à família Poaceae, é composta por cerca de cem espécies (JACOVETTI, 2016). São as mais

utilizadas nas pastagens extensivas do país (SANTANA et al., 2016; RODRIGUES, 2016) possuindo boa adaptação ao clima tropical, elevada rusticidade e produção de biomassa (COSTA et al., 2005), características que tornam a espécie adequada para cultura de pastagem, porém não impedem que fatores de degradação interfiram de forma negativa no seu estabelecimento e produtividade (LISBÔA et al., 2016).

O capim Marandu (*Urochloa brizantha* cv. Marandu) tem origem da África tropical (NUNES et al., 1985) é uma das cultivares mais utilizadas desde 1984, ano que foi lançado pela EMBRAPA Gado de Corte, ocupando hoje cerca de 60 milhões de hectares de pastagens (PESSOA, 2016). Possui boa adaptação em solos ácidos e tem exigência nutricional de caráter mediano a alta (EUCLIDES et al., 2008), apresentando alto potencial de resposta à adubação, além de resistência a cigarrinha, grande capacidade de cobrir o solo, alto valor nutritivo e produção de sementes (JACOVETTI, 2016).

## **2.2. Adubação em pastagens**

O fornecimento adequado de nutrientes, em especial nitrogênio e fósforo, são comprovadamente um dos fatores de destaque para explicar a manutenção adequada das pastagens, já que os mesmos podem ter disponibilidade comprometida por processos de lixiviação, percolação, volatilização e sorção (HEINRICHES; SOARES FILHO, 2014). Além disso, gramíneas são exigentes também em enxofre, boro, cobre e zinco (VITTI et al., 2001).

O nitrogênio é considerado um nutriente de grande importância na produção de massa seca do capim Marandu, uma vez que é apontado como um fator limitante no crescimento e desenvolvimento da maior parte dos vegetais (XIA; WAN, 2008). Outros autores destacam o sucesso do uso de fertilizantes na produção forrageira graças a influência positiva do N no fluxo de biomassa (MAGALHÃES et al., 2016), no crescimento e perfilhamento (GALZERANO; MORGADO, 2007; DE CARVALHO et al., 2006;), além de estimular a concentração de compostos orgânicos induzindo rapidamente a formação de novos tecidos foliares (ALEXANDRINO et al., 2008), fato de grande valia na reconstituição do capim Marandu em solos degradados. Um estudo realizado por Artur e Monteiro (2014) no qual foi estipulada uma dose nitrogenada de significativa resposta, demonstrou um aumento de aproximadamente 70% na produção de perfilhos em relação à ausência de doses de N.

O fósforo tem grande importância no desenvolvimento rizosférico e perfilhamento das gramíneas, também sendo considerado fator limitante na produção das pastagens, uma vez que naturalmente em solos tropicais dispõe-se de níveis muito baixos do mesmo, problema ainda mais agravado pela grande sorção deste elemento em decorrência da alta presença de óxidos de ferro e alumínio predominantemente nos solos brasileiros, sendo essencial a adubação fosfatada, principalmente quando são aplicados níveis elevados de nitrogênio. (MACEDO, 2004). Estudos corroboram com o elucidado acima, quando na recuperação de pastagens com braquiária, Leire et al., 2010 obteve aumento considerável na produção de massa seca de acordo com doses crescentes de P.

Além da insubstituível importância do N e P, não se deve abreviar a importância dos demais nutrientes, fato que pode ser observado por Monteiro et al., (1995), onde foi relatado que outros macronutrientes (K, Ca, Mg e S) restringiram o desenvolvimento radicular e da parte aérea do capim Marandu. Estudos mais recentes, que destacam equilíbrio na produtividade a partir de doses combinadas de diferentes nutrientes (BENETT et al., 2008) além de melhoria da fertilidade do solo e desenvolvimento da planta. (VIEIRA, 2019).

Embora a adubação tenha grande potencial de recuperação das pastagens, a possibilidade de sustentabilidade econômica de um sistema em que as pastagens estão degradadas é muito pequena e dependente principalmente de atributos econômicos, a exemplo dos insumos, tornando-se um problema para uma parcela do setor pecuário (OLIVEIRA et al., 2005). Logo, há necessidade da tomada de decisão para reversão do problema, utilizando alternativas viáveis do ponto de vista ambiental e econômico, por exemplo, as biotecnologias, capazes de estimular o crescimento vegetal e incorporar nutrientes no sistema solo-planta, especialmente em condições de baixa fertilidade (HUNGRIA; NOGUEIRA, ARAUJO, 2013), tornando a prática sustentável.

### **2.3. Fixação Biológica de Nitrogênio**

A fixação biológica de nitrogênio (FBN) é um processo mediado por microrganismos denominados diazotróficos, abrangendo grande diversidade filogenética com representantes entre as bactérias, arqueobactérias e cianobactérias. Esses procariotos conseguem reduzir o  $N_2$  atmosférico em

subprodutos amoníacos ou formas assimiláveis pela planta, uma vez que naturalmente cerca de 78% do N se encontra indisponível a maioria dos seres vivos, inclusive os vegetais (MOREIRA et al., 2010).

As bactérias que fixam nitrogênio ou diazotróficas podem ser categorizadas em vida livre, estar em simbiose com leguminosas ou ainda em associação com não leguminosas. Contudo a FBN advinda das bactérias associativas não é tão eficiente quanto a feita por rizóbios em leguminosas, que contam com interações mais especializadas, originando estruturas nodulíferas (FERNANDES, 2016; MOREIRA et al., 2010).

Por outro lado, considerando as extensões de áreas cobertas por forrageiras, as bactérias associativas a gramíneas ganham destaque em termos globais (MOREIRA et al., 2010), fornecendo N menos propenso a perdas, mostrando-se como uma alternativa economicamente viável e ambientalmente sustentável (SANTOS, 2013).

Além da FBN, algum desses microrganismos tem a capacidade de promover o crescimento vegetal através de outros mecanismos, e por esta razão, são denominados promotores de crescimento vegetal (SHOCKNESS, 2016).

## **2.4. Alternativas biotecnológicas**

### **2.4.1. Bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV)**

Procariotos associativos que tem relação benéfica com as plantas são denominados bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV), estas podem colonizar a região rizosférica (GUIMARÃES et al., 2017), filosférica ou de forma endofítica nos tecidos vegetais (OLIVEIRA et al., 2014), sendo capazes de estimular o crescimento e desenvolvimento vegetal de diversas culturas, como arroz (ESTRADA et al., 2012), braquiária (HUNGRIA; NOGUEIRA, ARAUJO, 2016; OLIVEIRA et al., 2018), cana-de-açúcar (DOS REIS et al., 2000), capim-elefante (VIDEIRA, et al., 2012), forrageiras nativas (BALDANI, 2005; SOUZA et al., 2017), milho, trigo (HUNGRIA et al., 2010) e sorgo (SANTOS et al., 2017), possibilitando aumento da produtividade com aplicação de menores doses de fertilizantes nitrogenados.

Diversos estudos mostram que estes microrganismos contribuem com quantidades substanciais de N fixado biologicamente (FUKAMI; CERZINI; HUNGRIA, 2018; BREDÁ; ALVEZ; REIS, 2016; ALVES et al., 2015), outrossim, disponibilizam P para as culturas através do processo de solubilização de fosfato inorgânico, devido a liberação de ácidos orgânicos na rizosfera (MOHAMMADI, 2012). Arelado a estes benefícios, as BPCVs estimulam o crescimento de plantas de forma direta e indireta, devido à produção de fitohormônios proporcionando aumento no sistema radicular, potencializando a utilização de água e nutrientes (CASSÁN; DIAZ-ZORITA, 2016; GOSWAMI; THAKKER; DHANDHUKIA, 2016).

Em outros estudos revela-se ainda que estes microrganismos são detentores de mecanismos responsáveis pelo aumento da tolerância das plantas hospedeiras ao estresse biótico e abiótico (GLICK, 2014).

Os efeitos promissores das BPCVs em poaceas vêm sendo documentados há vários anos, dentre as mais estudadas, pode-se destacar as associações do gênero *Azospirillum* e *Herbaspirillum* (NAKAO et al., 2018; DE FREITAS et al., 2017; PEDREIRA et al., 2017; OFFEMANN et al., 2014).

#### **2.4.1.1. *Azospirillum* spp.**

As BPCV's do gênero *Azospirillum* são associativas de vida livre (HUNGRIA, 2011) e preferencialmente microaerofílicas, denominadas por alguns autores como rizobactérias promotoras de crescimento vegetal, sendo consideradas como as que mais promovem estímulos e podendo colonizar centenas de diferentes espécies de plantas (CASSAN; DIAZ-ZORITA, 2016; PEREG; DE-BASHAN; BASHAN, 2016). São mais conhecidas por atuarem colonizando rizosfera/parte externa da raiz, sobrevivendo também no solo através de cistos (MOREIRA et al., 2010). Entretanto, alguns autores documentaram sua atuação internamente em tecidos vegetais, por isso são consideradas endofíticas facultativas (HUNGRIA, 2011; HUERGO et al., 2008).

A partir da década de 70, foi que o gênero *Azospirillum* ganhou notoriedade mundial, quando a pesquisadora Johanna Döbereiner demonstrou seus mecanismos de fixação biológica de nitrogênio quando em associação com gramíneas, que mesmo não sendo tão evoluído como na simbiose planta-rizóbios em leguminosas,

suprem de forma parcial o N para as plantas. (HUNGRIA, 2011), podendo reduzir a aplicação de fertilizantes nitrogenados.

A *Azospirillum brasiliense* é uma espécie bem relatada, considerada muito competitiva no período de colonização e atualmente já tem sua inoculação recomendada para gramíneas em condições de campo comprovada por alguns pesquisadores (HUNGRIA et al, 2016; FERREIRA et al, 2013). A partir de testes e seleções das estirpes que geram maior produtividade e promoção de crescimento, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) atualmente autoriza a comercialização de algumas estirpes de *A. brasiliense*, dentre elas a ABV-5 e ABV-6, tendo como aplicação mais usual a inoculação via semente (FERNANDES, 2016).

Hungria et al. (2010) avaliando diferentes combinações de estirpes de *Azospirillum* em milho e trigo, observou que a combinação das linhagens *A. brasiliense* Ab-V5 e Ab-V6 aumentaram cerca de 30% produção de milho e de trigo, quando aplicado baixas doses de N na semeadura (24 kg e 20 kg ha<sup>-1</sup> de N) respectivamente.

#### **2.4.1.2. *Herbaspirillum* spp.**

O gênero *Herbaspirillum* assim como o *Azospirillum* também engloba bactérias diazotróficas (ARAÚJO et al., 2016), microaerófilas, possuem mecanismos para produção de hormônios vegetais e sideróforos, induz melhor solubilização e absorção de nutrientes (SCHEIDT et al., 2019). Dentre suas espécies, destaca-se a *Herbaspirillum seropedica*, a qual foi primeiramente relatada por Baldani et al., (1986), sendo encontrada colonizando raízes, caule e parte aérea de arroz e milho em estudo posterior (OLIVARES et al., 1996).

As bactérias do gênero *Herbaspirillum* são consideradas endofíticas obrigatórias, logo apresentam baixa sobrevivência no solo (CHUBATSU, 2012). Além disso, esses microrganismos possuem a capacidade de colonizar sítios específicos no interior das plantas, maximizando seu potencial na FBN, uma vez que retiram nutrientes diretamente do interior dos tecidos vegetais. (BALDANI et al., 1997) (KENNEDY et al., 2004).

Estudos relatam interações positivas entre estas bactérias em algumas poaceas, entretanto ainda são escassos os estudos com gramíneas do gênero *Urochloa* sp., além do fato de que os resultados encontrados são variados em

condição de campo, levando a crer que fatores edafoclimáticos e organismos nativos presentes possam ser os causadores destes acontecimentos, logo necessitando de estudos mais específicos. Tais barreiras impedem a validação e comercialização desta biotecnologia até os dias atuais. (DE OLIVEIRA et al., 2016; SABINO et al., 2012).

#### **2.4.2. Substâncias Húmicas**

Nos últimos anos houve um aumento na procura por bioestimulantes vegetais de origem orgânica ou natural, sendo uma forma de potencializar a qualidade e a produtividade das culturas de maneira sustentável e conservadora, porém as substâncias húmicas obtidas de fontes não renováveis ainda são as mais utilizadas. Deste modo, a extração desses compostos a partir da vermicompostagem é uma alternativa ambientalmente mais correta (AGUIAR, 2015).

As substâncias húmicas são fornecidas a partir de transformações de origem química e biológica de material vegetal ou animal, ou do metabolismo microbiano (CARON et al. 2015). Segundo Canellas et al. 2015, é possível reduzir as aplicações de fertilizantes com o uso dessas substâncias, que melhoram a eficiência nutricional dos vegetais, além de aumentar a tolerância ao estresse hídrico, e se comportam de forma semelhante a reguladores de crescimento sintéticos, promovendo o crescimento de plantas. Além de todos esses efeitos benéficos, podem atuar como veículo de inoculação de microrganismos benéficos, como as bactérias promotoras de crescimento vegetal.

O efeito bioestimulante das substâncias húmicas como promotores de crescimento vegetal é bem documentado (OLAETXEA et al., 2018; CONSELVAN et al., 2017; CANELLAS et al., 2015), sendo reconhecido pelos efeitos fisiológicos e bioquímicos nas plantas, maximizando a absorção de nutriente e induzindo a emergência radicular e da raiz lateral (DU JARDIN, 2015), aumentando os pontos de infecção de rizobactérias (CANELLAS et al., 2015). Além do mais, os ácidos húmicos são capazes de ativar as bombas de  $H^+$ -ATPase da membrana plasmática, resultando na maior extrusão de  $H^+$  para apoplasto, possibilitando o afrouxamento da parede celular e conseqüentemente, o estímulo no crescimento radicular (FAÇANHA et al., 2002).

### 3. METODOLOGIA

#### 3.1. Caracterização física e química do solo

O solo utilizado foi representativo de uma situação de pastagem degradada da região de Jerônimo Monteiro-ES (Figura 1), sendo retirado do terço médio do relevo, na camada subsuperficial do solo correspondente à faixa de 10 a 30 cm, posteriormente foi peneirado em peneira com malha de 2.0 mm para obtenção da terra fina seca ao ar (TFSA).

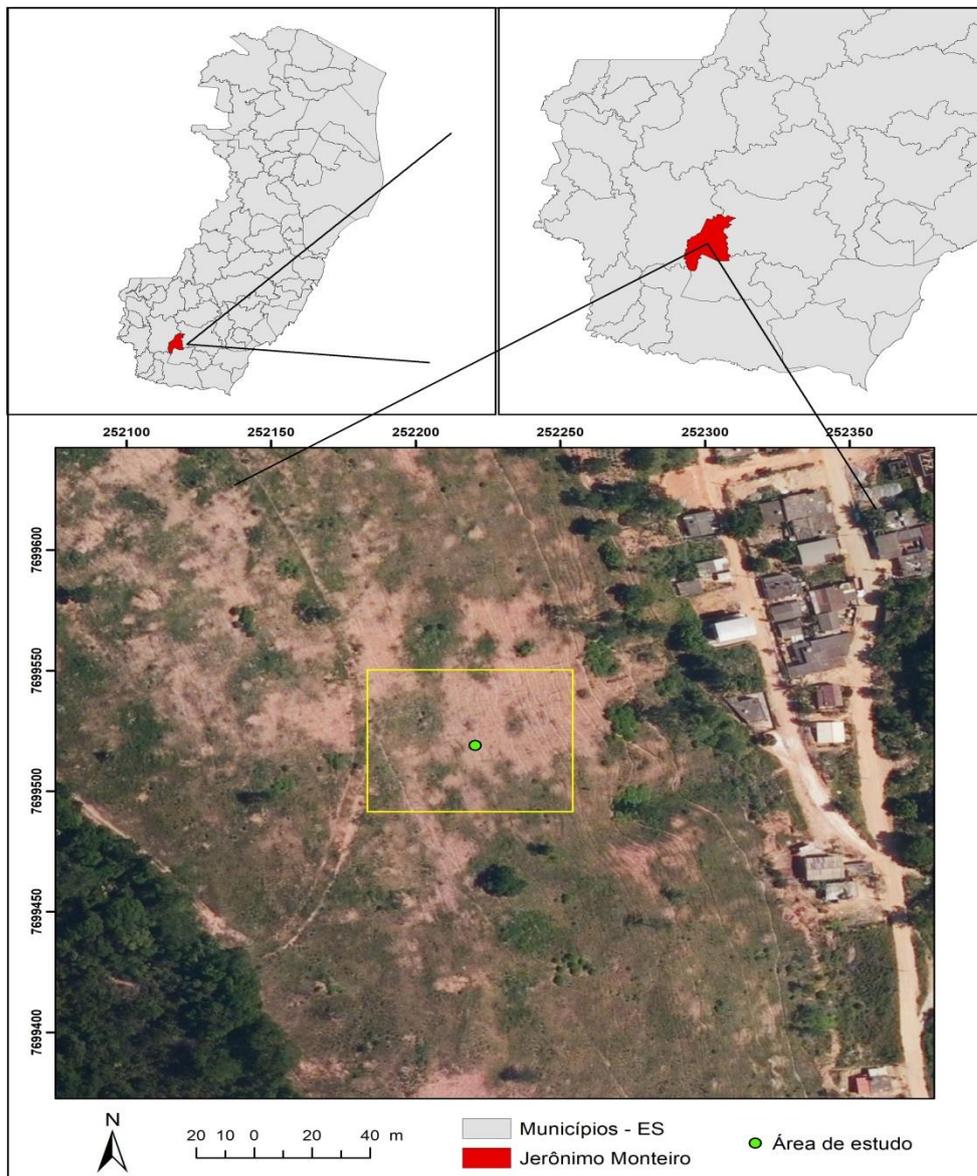


Figura 1. Localização da pastagem degradada situada em Jerônimo Monteiro-ES, matriz mineral do substrato utilizado no experimento.

Fonte: O autor.

Para caracterização física e química do solo (Tabela 1), foram realizadas as seguintes análises: pH em água e em KCl 1 mol L<sup>-1</sup>, em suspensão solo: líquido 1:2:5; Al, Ca, Mg e Na trocáveis, extraídos com KCl 1 mol L<sup>-1</sup>, na proporção 1:10, sendo Al determinado por titulação com NaOH 0,025 mol L<sup>-1</sup>, Ca e Mg por espectrometria de absorção atômica (EAA) e Na por fotometria de chama; K e P disponíveis por extração com Mehlich (HCl 0,05 mol L<sup>-1</sup> + H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,0125 mol L<sup>-1</sup>), na proporção 1:10, dosados por fotometria de chama e colometria, respectivamente; H+Al utilizando Ca(OAc)<sub>2</sub> 0,5 mol L<sup>-1</sup>, ajustado pH 7,0 na proporção 1:15, titulado com NaOH 0,0606 mol L<sup>-1</sup>, conforme EMBRAPA (2017).

A calagem no solo foi realizada pelo método da saturação por bases, para elevar o valor V a 50%, utilizando-se o produto comercial GEOX HD, com PRNT= 134% e, incubado por 21 dias em sacos plásticos (Tabela 2).

Tabela 1 - Caracterização física e química do solo utilizado no experimento anteriormente a calagem.

Prof.	pH (H <sub>2</sub> O)	pH (KCl)	P	K	Ca	Mg	Al	H	H+Al	SB	T	t
(cm)	-----		--(mg dm <sup>-3</sup> --)	-----				(cmolc dm <sup>-3</sup> )		-----		
10-30	4,10	3,88	1,46	26,57	0,23	0,08	0,80	4,7	5,50	0,38	5,88	1,18
V	m	MO	P-rem	S	B	Fe	Cu	Mn	Zn	Areia total	Silte	Argila
-----(%)----	(dag kg <sup>-1</sup> )		(mg L <sup>-1</sup> )	----- (mg dm <sup>-3</sup> )-----						------(%)-----		
6,46	67,8	0,74	26,28	24,8	0,55	48,73	0,15	1,74	0,66	54,36	2,96	42,68

pH em água: potenciometria em solução solo-água 1:2,5; fósforo disponível: extraído por Mehlich-1 + espectroscopia); alumínio extraível: determinado por titulação com NaOH 0,025 mol L<sup>-1</sup>, usando-se azul de bromotimol como indicador; cálcio e magnésio: extraídos com solução de KCl 1 mol L<sup>-1</sup> e determinados por espectrofotometria de absorção atômica; potássio e sódio trocáveis: extraídos pelo extrator Mehlich-1 e determinados por fotometria de chama; SB = Ca + Mg + K + Na; CTC = SB + (H + Al); V% = SN x 100/CTC; MO: teor de C do solo x 1,724. Ds: método da proveta; Dp: método do balão volumétrico: teores de areia, silte e argila: análise granulométrica

A fim de se obter um substrato estéril, livre de microrganismos nativos e objetivando melhor expressão do efeito das BPCV's no experimento, realizou-se o processo de autoclavagem do solo por meio da Autoclave modelo AHMC da SERCON, submetendo às amostras a pressão de 1.1 atm em 121°C por 20 minutos.

### 3.2. Condução e caracterização do experimento

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, localizada na área experimental do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias de Alegre, pertencente

à Universidade Federal do Espírito Santo (latitude 20° 45' Sul, longitude 41° 29' Oeste, com elevação de 112 metros), entre os meses de setembro a novembro de 2019. De acordo com o Instituto Capixaba de Pesquisa Assistência Técnica e Extensão Rural (INCAPER) a precipitação pluviométrica é de 1.200mm/ano e o clima da região é quente úmido, com temperatura média diária de 24,7°C durante a condução do experimento. (INMET, 2019).

O genótipo de braquiária utilizado foi *Urochloa brizantha* cv. Marandu selecionado previamente, com base na eficiência de produção de biomassa e contribuição do sistema de fixação biológica de nitrogênio (Gomes, 2017).

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados com 4x3, sendo quatro tratamentos e três repetições, totalizando 12 unidades amostrais, que tiveram suas posições rotacionadas semanalmente com intuito de diminuir erros amostrais. Os tratamentos consistiram no emprego de diferentes biotecnologias, envolvendo bactérias promotoras de crescimento vegetal, substâncias húmicas fisiologicamente ativas ou adubação.

Para maiores detalhes tem-se: 40% da adubação recomendada de NPK (T1); Aplicação do produto comercial líquido AzoTotal<sup>®</sup> via semente, constituído das estirpes AbV5 e AbV6 de *Azospirillum brasiliense* (T2); Inoculação das estirpes *Herbaspirillum seropedicae* - HIV206 e *Herbaspirillum rubrisubalbicans* - HCC101 via foliar conjuntamente com substância húmica (40 mg L<sup>-1</sup> de C) aos 15 e 30 DAE (T3); Inoculação do produto comercial (AzoTotal<sup>®</sup>), combinada com estirpes HIV206 e HCC101 via foliar conjuntamente com substância húmica (40 mg L<sup>-1</sup> de C) aos 15 e 30 DAE (T4).

Todas as unidades experimentais instaladas receberam 40% de NPK (equivalente a 80 kg ha<sup>-1</sup> de N; 240 kg ha<sup>-1</sup> de P e 120 kg ha<sup>-1</sup>) de K e demais nutrientes em sua íntegra conforme recomendações de Novais et al. (1991). Deste modo, T1 apresentou-se como tratamento testemunha. Foram utilizados os seguintes reagentes em alto grau de pureza (pa): CH<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O; NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; KCl; (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>.4H<sub>2</sub>O; H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>; CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O; MnSO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O; Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>Fe(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O; ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O em solução nutritiva, a qual também foi autoclavada pelo mesmo procedimento do solo.

Em T2, ambas estirpes de *Azospirillum brasiliense* foram derivadas de um programa de seleção, sendo empregadas comercialmente em inoculante no Brasil (Hungria et al., 2010).

A umidade do solo foi mantida através de pesagens diárias dos vasos, definindo-se a partir da mesma as quantidades de água em base peso, a serem repostas. Esse controle da umidade foi realizado baseando-se na manutenção de água em 60% do volume total de poros (VTP).

### **3.3. Extração e aplicação de substância húmica conjuntamente com *Herbaspirillum* spp.**

As substâncias húmicas (SH) foram isoladas de vermicomposto, sendo utilizados 200 g de vermicomposto e 1,8 L de água deionizada (relação vermicomposto: solvente de 1:9). O material foi agitado por um período de 6 horas, e após 12 horas de repouso o extrato solúvel foi retirado por decantação e armazenado. Posteriormente foi determinado o teor de carbono (C) da substância húmica, de modo que as concentrações de substâncias húmicas se basearam no teor de carbono.

As estirpes de HIV206 e HCC101 foram obtidas na coleção da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Para atingir a densidade ótica da suspensão de células bacterianas ( $10^8$ ) por mL, conforme descrito por Döbereiner et al., (1995), foi necessário o crescimento das bactérias em meio líquido DYGS por 24 h a 30° C sob agitação a 150 rpm. De acordo com a metodologia de Canellas et al., (2012), o inoculante a base de *Herbaspirillum* spp. foi preparado diluindo 200 mL de bactérias em 800 mL de substâncias húmicas a pH 7,0 (ajustado com hidróxido de sódio). Para pulverização foliar aos 15 e 30 dias após emergência (DAE) das plantas foi aplicada uma concentração final de 40 mg L<sup>-1</sup> de C das SH (Pinheiro et al., 2018), juntamente com 10<sup>8</sup> células mL<sup>-1</sup> da estirpe HIV206 e HCC101.

A primeira aplicação da combinação SH + *Herbaspirillum* spp. foi realizada aos 15 DAE, onde a temperatura máxima e mínima diária encontravam-se a 35,7° C e 19,1° C, respectivamente. Sendo a aplicação realizada entre as 18 e 19 h, pulverizando 5,2 mL vaso<sup>-1</sup> com auxílio de um pulverizador manual de pressão com bico regulável, correspondendo a 2,6 mL planta<sup>-1</sup> (2 plantas/vaso). Transcorrido 30 DAE, foi realizada a segunda aplicação da combinação SH + *Herbaspirillum* spp. acompanhando o mesmo horário da 1ª aplicação. No decorrer do dia a temperatura máxima e mínima diária encontravam-se a 26° C e 20,4° C, respectivamente.

Utilizando o mesmo equipamento de aplicação, foi aplicado 8,5 mL vaso<sup>-1</sup>, correspondendo a 4,25 mL planta<sup>-1</sup>.

### **3.4. Inoculação de bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) e obtenção das mudas**

Inicialmente as sementes foram desinfestadas superficialmente com álcool etílico a 70% v/v por 1 min e hipoclorito de sódio a 2% por 20 min, em seguida foram lavadas 10 vezes com água esterilizada, para retirada de resíduos dos tratamentos anteriores (Hungria et al., 2010). Para inoculação do produto comercial AzoTotal© a base de estirpes de *Azospirillum brasiliense* – AbV 5 e AbV 6, foram utilizados 15 mL kg<sup>-1</sup> de semente, objetivando a população mínima de  $2 \times 10^8$  células por mL de inoculante, conforme preconiza as normas brasileira. A inoculação das sementes foi realizada misturando o inoculante com as sementes e deixando-as secar na sombra por 15 minutos. Posteriormente foi realizado plantio em bandeja, sendo semeado 4 sementes por célula. Após 10 DAE (considerando germinação >70% das células da bandeja) foram transplantadas 2 mudas para cada vaso definitivo, que apresentavam melhor homogeneidade, vigor e tamanho.

### **3.5. Avaliação dos atributos fitotécnicos e fisiológicos**

Aos 45 DAE foram analisadas medidas de trocas gasosas e fluorescência, produção de massas fresca e seca da parte aérea e raiz, altura total das plantas, diâmetro do colmo e número de perfilhos. A parte aérea e a raiz foram coletadas, armazenadas em sacos de papel e colocadas em estufa a 65 °C durante 72 horas (até atingir peso constante) para determinação da massa seca. Após a secagem em estufa, as amostras foram submetidas à trituração em moinho de facas para posterior determinação de nitrogênio (N).

#### **3.5.1 – Altura e diâmetro das plantas**

A determinação da altura total das plantas realizada mediante régua graduada, já a determinação do diâmetro do colmo foi determinada com auxílio de paquímetro digital.

### **3.5.2. Análise nutricional**

A análise química do N foi realizada digestão sulfúrica seguida de destilação Kjeldahl, de acordo com Embrapa (2000).

### **3.5.3. Trocas gasosas**

A medição das trocas gasosas foi realizada quando possível em folhas totalmente expandidas, entre 7:00 e 09:00 horas da manhã, por meio do analisador a gás infravermelho portátil (IRGA), modelo LI 6400 XT Portable Photosynthesis System (LI-COR, Lincoln, NE, USA), utilizando uma fonte luminosa fixa em 1000  $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  de intensidade de fluxo de fótons fotossintéticos.

A determinação da fluorescência da clorofila a foram quantificadas com utilização de fluorômetro portátil de luz modulada (PSI FluorPen, modelo FP 100, Drasov, República Checa), a partir do qual se obteve o rendimento quântico máximo do PSII (FV/FM), após adaptação das folhas ao escuro por 15 minutos.

### **3.6. Análises estatísticas**

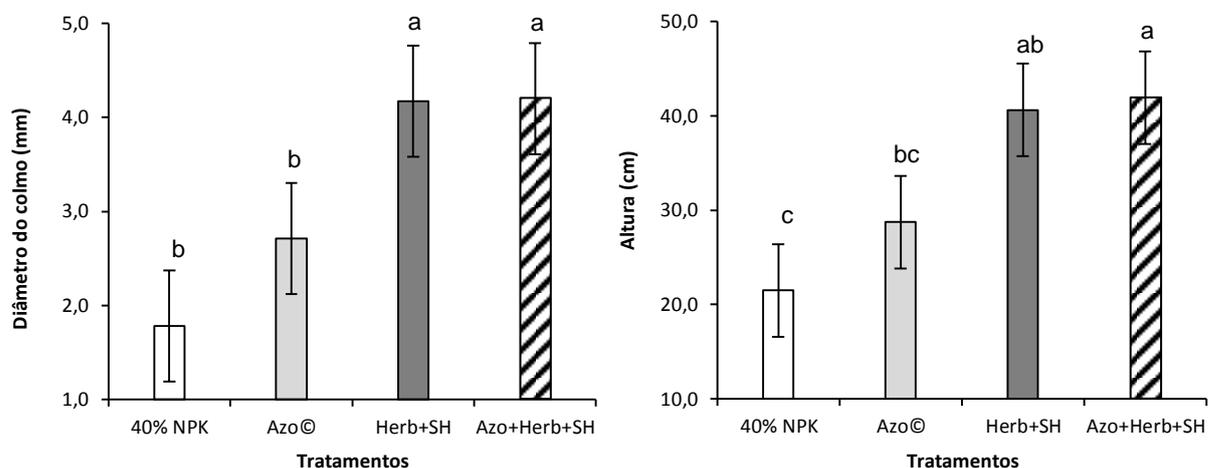
Os dados foram analisados quanto a sua normalidade e homogeneidade de variância, em seguida foram feitas análises de variância e o teste Tukey a 5% de probabilidade para separação das médias pelo programa R (ExpDes.pt) (R Development Core Team, 2016).

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir dos resultados de altura e diâmetro do colmo (Figura 2), é possível observar que a inoculação do capim marandu com BPCV (T2, T3, T4) independente do gênero aplicado, resultou em maiores valores médios quando comparados ao tratamento controle (T1).

Em relação a T1, temos para altura T2 (+33,7%), T3 (+88,9%), T4 (+95%) e para diâmetro do colmo T2 (+43,4%), T3 (+138%), T4(+136%). Esses parâmetros são indispensáveis quando se pensa em quantificar a produtividade, principalmente a mensuração do colmo, onde ocorre maior armazenamento de fotossimilados, que por ser localizado na zona de crescimento da planta, abriga processos de divisão e expansão celular (LATTANZI et al., 2004) logo quanto maior o diâmetro do colmo, maiores podem ser as taxas desses processos celulares, que por sua vez envolvem o N, e caso a planta for mais eficiente na utilização deste elemento, o que pode inclusive ter relação com a atuação das bactérias, maior pode ser o acúmulo de forragem.

Os aumentos na altura das plantas e diâmetro basal do colmo na braquiária inoculada forma atribuídos principalmente devido à produção de fitohormônios e ação benéfica da substâncias húmica atuando no afrouxamento da parede celular e expansão celular (Pedreira et al. 2017; Canellas et al. 2015). A auxina é um dos principais fitormônios liberados por bactérias promotoras de crescimento vegetal para as plantas hospedeiras, possibilitando ganhos no crescimento radicular e na parte aérea, refletindo na altura da planta promove o crescimento das raízes e da parte aérea e tem a capacidade de regular a altura da planta (Fukami et al. 2017).



\*Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Figura 2. Valores médios de altura (cm) e diâmetro do colmo (mm) acompanhados do erro padrão, em função dos diferentes tratamentos utilizados em capim marandu.

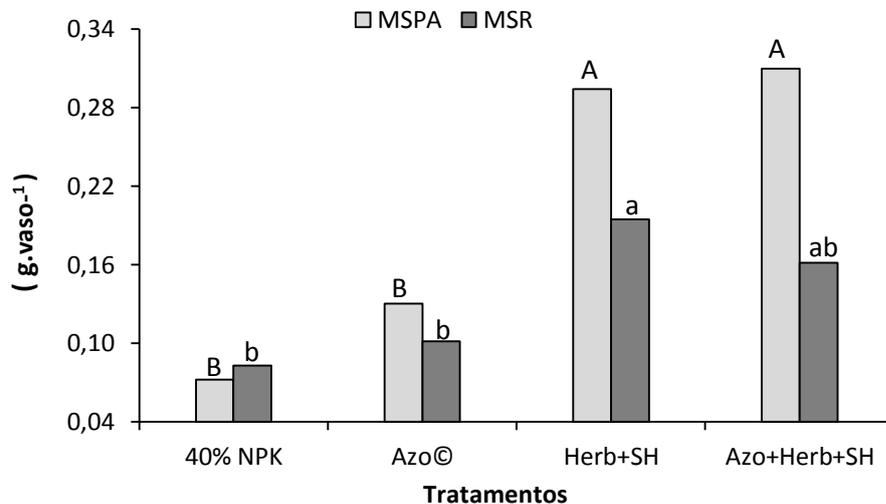
Uma vez que todos os tratamentos dispunham de adubação nitrogenada, é evidente a atuação benéfica destes microrganismos na FBN, disponibilizando mais N para as plantas, induzindo rapidamente a formação de novos tecidos foliares (ALEXANDRINO et al., 2008). Além disso, vários estudos relatam outros benefícios, como o auxílio na produção fitohormônios como auxinas, giberelinas e citocininas (FUKAMI; CERZINI; HUNGRIA, 2018; CASSÁN; DIAZ-ZORITA, 2016; SANTOS, 2013) que provocam alongamento do caule, proporcionando maior incremento na altura, como foi observado, ressaltando a promoção de crescimento por essas bactérias.

Os tratamentos T4 e T3 diferiram estatisticamente em relação ao tratamento controle (T1) ( $p < 0,05$ ), enquanto o tratamento AzoTotal<sup>®</sup> (T2) foi o que apresentou menor performance entre as inoculações. Estudos comprovam a eficácia de *Azospirillum* spp. aumentando a produtividade em poaceas (HUNGRIA et al, 2016; FERREIRA et al, 2013), contudo demonstra-se menos eficiente que *Herbaspirillum* spp.+SH, sendo reportado por alguns autores maior promoção de crescimento em condições de estresse (BULEGON et al., 2017; OFFEMANN et al., 2015), enquanto que para *Herbaspirillum* spp. são escassos os estudos em gramíneas do gênero *Urochloa* e/ou sua coinoculação, destacando os resultados deste experimento.

Ainda no tocante, a superioridade de T3 e T4, vale ressaltar que ambos tratamentos tiveram as SH como veículo de inoculação de *Herbaspirillum* spp., portanto seu efeito bioestimulante pode ter beneficiado o desenvolvimento das plantas através da melhoria da absorção de nutrientes, bem como Santos (2009) descreve para o capim Mombaça, quando em presença de aplicação de SH.

De forma fortemente correlacionada a altura ( $r = 0,95^{MSPA}$ ;  $r = 0,86^{MSR}$ ) e diâmetro do colmo das plantas ( $r = 0,99^{MSPA}$ ;  $r = 0,95^{MSR}$ ), a produção de massa seca da parte aérea também diferiu estatisticamente ( $p < 0,05$ ), apontando T3 e T4 como os melhores tratamentos. De forma semelhante, acontece para MSR, embora a discrepância das médias entre os tratamentos não seja tão acentuada como na MSPA, indicando maior desenvolvimento da parte aérea nos tratamentos

inoculados, fato de grande valia quando objetiva-se recuperar a produtividade de pastagens, que também foi constatado por Alves (2013).



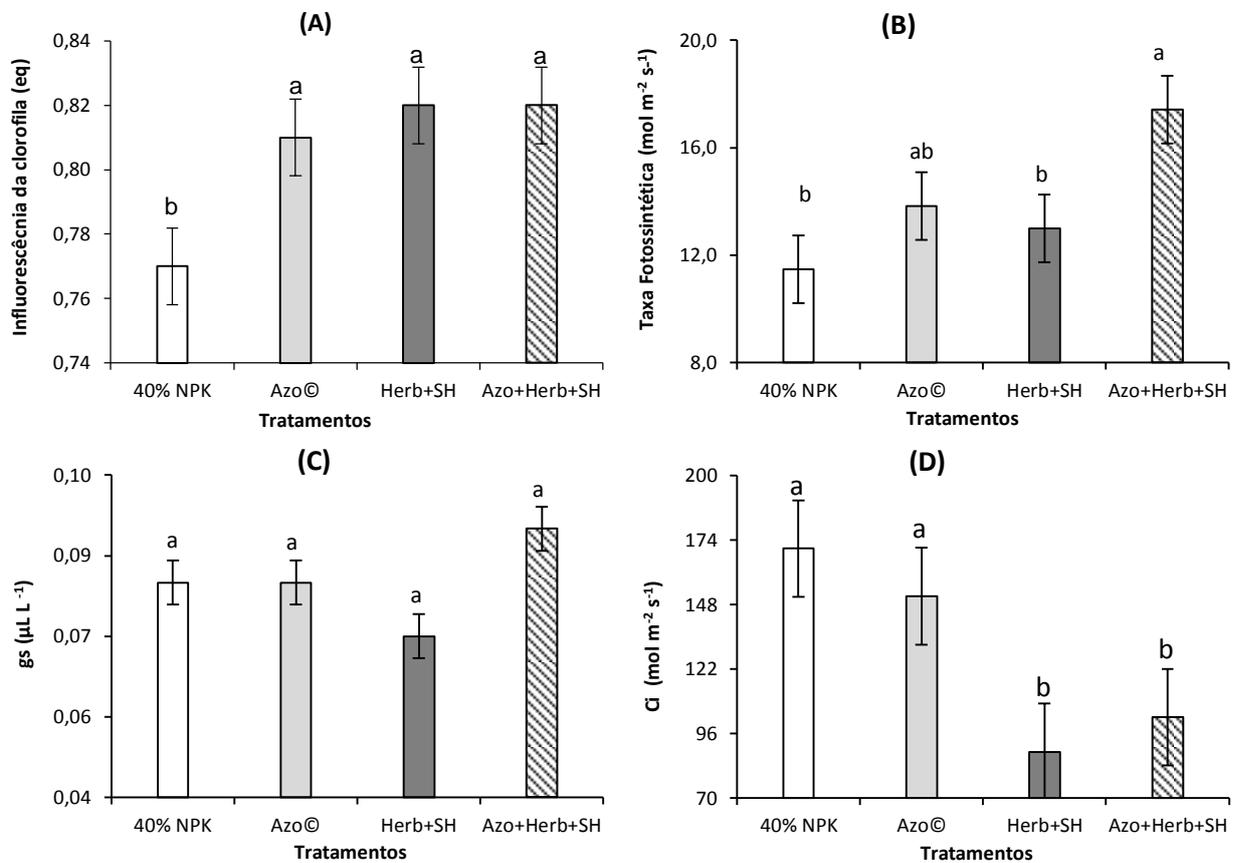
\*Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, em que letras maiúsculas correspondem a MSPA (coluna cinza claro) e minúsculas MSR (coluna cinza escuro).

Figura 3. Valores médios de produção de massa seca da parte aérea (MSPA) e da raiz (MSR) em função dos diferentes tratamentos utilizados em capim marandu.

Observa-se que de forma isolada (T3) ou coinoculada (T4) as médias mais altas para MSPA e MSR (Figura 3) podem ser atribuídas à inoculação das estirpes de *Herbaspirillum* spp. quando é notável em T2, que somente a inoculação do produto Azototal<sup>©</sup> não apresenta resultados significativos no presente estudo frente ao T1 ( $p > 0.05$ ), corroborando com resultados obtidos por Guimarães et al. (2011) e Dortora et al. (2013), que não constataram diferença significativa entre tratamentos inoculados com *Azospirillum* sp. e apenas adubados, para MSR e MSPA em poaceas, respectivamente.

A utilização de microorganismos promotores de crescimento vegetal demonstrou ser uma estratégia viável quando associado a adição de 40% de adução complementar, observa-se que os tratamentos T3 e T4 apresentaram respectivamente 308,19% e 329,50% a mais de produção de MSPA em relação a testemunha. No entanto, no presente estudo tais valores foram observados considerando que o substrato utilizado estava autoclavado o que eliminou a biota nativa do solo que possivelmente poderia comprometer o pleno desenvolvimento das bactérias inoculadas. Observa-se que o T2 embora estatisticamente não apresente diferença estatística em relação a testemunha, apresentou incremento na

produção de MSPA de 80,55%, evidenciando os benefícios da inoculação das estirpes de *A. brasilienses*,



\*Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Figura 4. Valores médios dos respectivos parâmetros fisiológicos avaliados: infiluorescência da clorofila, taxa fotossintética, condutância estomática (gs) e concentração interna de CO<sub>2</sub> (Ci) em função dos diferentes tratamentos avaliados em capim marandu.

Sabe-se que aproximadamente 90% da produção de massa seca das plantas provém da fotossíntese, visto que esta pode ser influenciada pela inoculação de BPCV's (Dobbelaere et al. 2001; Bashan et al., 2004), resultando em maiores taxas fotossintéticas, bem como pode ser observado na Figura 4, logo em maiores produções de massa seca (Figura 3).

Segundo Monteiro et al. (2008), o grau de endofitismo é de suma importância para uma interação planta-bactéria mais consolidada, já que um endófito obrigatório executa melhores padrões de colonização no interior do vegetal, expressando sua máxima FBN em locais protegidos de oxigênio. Enquanto que endófitos facultativos geralmente colonizam partes externas do vegetal, podendo ainda estar

expostos a condições ambientais desfavoráveis ao seu estabelecimento (Bashan; De-Bashan, 2010), o que explica a melhor eficiência da inoculação em T3, e pode ter contribuído para o efeito positivo da coinoculação em T4 em relação aos demais tratamentos.

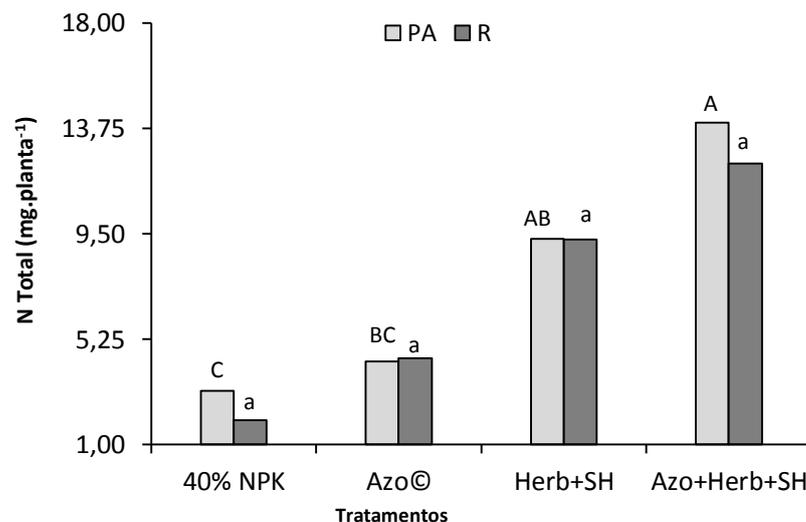
Os parâmetros fisiológicos são apresentados na Figura 4, visando melhor entendimento da resposta metabólica das plantas em função dos tratamentos utilizados. Para inflorescência da clorofila (A), novamente T4, T3 e T2 apresentam valores médios superiores a T1 ( $p < 0,05$ ). De acordo com Osmond (1994), eficiência quântica máxima do fotossistema II ( $F_v / F_m$ ) pode variar de 0,75 a 0,85 em plantas não submetidas a estresses, observa-se que nos tratamentos avaliados os valores variaram 0,77 a 0,82, caracterizando não haver estresse químico que comprometa o crescimento das plantas de braquiária, embora, os tratamentos com inoculação apresentem maiores valores de eq em relação ao controle (0,77), haja vista que a redução dessa razão é um indicador de efeito inibitório, quando as plantas estão submetidas ao estresse (ARAUS; HOGAN, 1994)

A taxa fotossintética (B), embora para este não apresente diferença estatística entre T1 e T3, observa-se ligeiro aumento neste parâmetro fotossintético. Inversamente, tem-se no gráfico D, os tratamentos inoculados com as menores taxas de  $C_i$ , decorrente do maior uso de  $CO_2$  no processo de fotossíntese, que apresentam comportamento inverso da  $g_s$ , pois uma redução na quantidade de  $C_i$  estimula a abertura estomática. Portanto, sugere-se que a inoculação de bactérias promotoras de crescimento vegetal isolada ou conjuntamente possibilitam maiores taxas fotossintéticas em especial o T4 (+51,65%) em relação ao controle, aumentando o consumo de  $C_i$  e, conseqüentemente a diminuição de sua concentração, levando a maiores estímulos da abertura estomática, elevando a  $g_s$  (SOUZA; KUWAHARA, 2009).

Os resultados das trocas gasosas indicam que a inoculação de BPCV possibilitam melhores desempenhos do aparelho fotossintético das plantas de braquiária em detrimento a redução da adubação, possibilitando ganhos de crescimento mais rápido da pastagem mesmo com redução de 60% de NPK.

Correia et al. (2009), demonstram que maiores valores de inflorescência de clorofila indicam maior eficiência na captação de energia luminosa pela planta, que após hiperexcitar os elétrons no complexo antena e transferirem ao fotossistema II, aumentam as reações fotoquímicas, o que tem relação direta com maiores taxas de

fotossíntese. A capacidade fotossintética da planta e o suprimento de N estão intimamente relacionados, já que este encontra-se em fração considerável nas folhas, presente nas proteínas, enzimas e pigmentos fotossintéticos que são essenciais para a produção de compostos de carbono que por sua vez compõem a parte aérea (Carelli et al., 1996). Cassán et al. (2009) também sugerem que a produção e excreção de diversas poliaminas pelas BPCV's podem amplificar a ação dos fitohormônios estimulando a fotossíntese.



\*Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, em que letras maiúsculas correspondem a conteúdo de N na PA (coluna cinza claro) e minúsculas Conteúdo de N da raiz (coluna cinza escuro).

Figura 5. Valores médios para conteúdo de N (mg.planta<sup>-1</sup>) da parte aérea e da raiz em função dos diferentes tratamentos utilizados em capim marandu.

Em relação ao conteúdo de N na parte aérea do capim marandu (Figura 5), os tratamentos T3 e T4 se diferenciaram estatisticamente de T1, o qual não diferiu de T2. Os maiores acúmulos nos tratamentos que tiveram inoculação de *Herbaspirillum* spp. + SH podem ter relação com a maior população bacteriana, devido às duas aplicações que foram feitas aos 15 e 30 DAE. Em estudo semelhante realizado em milho, Inagaki (2014) avaliando a inoculação conjunta de *A. brasiliense* e *H. seropedicae* também obteve resultados significativos de maiores valores de N foliar em comparação ao tratamento sem inoculação. Ademais, Dobereiner (1995) ainda afirma que a contribuição da FBN realizada pelo gênero *Herbaspirillum* é a mais eficiente dentre as bactérias endofíticas.

Outro fato é que o maior acúmulo de N em T3 e T4, pode também estar relacionando a presença das SH, por meio da ativação das H<sup>+</sup>-ATPases (bomba de prótons) da membrana plasmática, que geram gradiente eletroquímicos que possibilitam a translocação de íons fundamentais para absorção de nutrientes e aumento da plasticidade da parede celular, resultando em mais rápido alongamento e divisão das células vegetais. (Rodda et al., 2006; Canellas; Santos, 2005).

Mesmo apresentando médias estatisticamente iguais, observa-se em T4 maiores valores que em T3, resultado que pode ser inferido a presença de *Azospirillum* spp. na coinoculação, que por excretar ácido indolacético (AIA) (Bashan et al., 2004) melhorando a absorção de nutrientes e possivelmente aumentar a eficiência do uso do N (Hungria et al., 2010). Por fim, observa-se que a aplicação de substância húmica conjuntamente com bactérias promotoras de crescimento vegetal apresentaram de modo geral, maior eficiência no aumento do conteúdo de N, possibilitando ganhos de massa seca, devido a não somente a FBN, mas também a produção de fitormônios, possibilitando efeitos na morfologia das raízes favorecendo a maior exploração do solo e absorção de nutrientes.

## CONCLUSÃO

O capim marandu submetido aos tratamentos *Herbaspirillum* spp. + SH (T3) e Azototal© + *Herbaspirillum* spp. + SH (T4) apresentaram serem mais promissoras nos parâmetros avaliados.

A inoculação de BPCV possibilitam melhores desempenhos do aparelho fotossintético das plantas de braquiária em detrimento a redução da adubação, possibilitando ganhos de crescimento mais rápido da pastagem mesmo com redução de 60% do NPK.

O produto comercial Azototal© apresentou baixa eficiência na inoculação, contribuindo de forma menos expressiva para a promoção do crescimento vegetal.

As substâncias húmicas fisiologicamente ativas maximizam a atuação das BPCV's.

## REFERÊNCIAS

- AGUIAR, N. de O. Perfil metabólico de cana-de-açúcar tratada com bioinoculante à base de substâncias húmicas e bactérias diazotróficas endofíticas. **Embrapa Solos-Tese/dissertação (ALICE)**, 2015.
- ALEXANDRINO, E. et al. Evolução da biomassa e do perfil da reserva orgânica durante a rebrotação da "Brachiaria brizantha" cv. Marandu submetida a doses de nitrogênio. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 9, n. 2, 2008.
- ALVES, G. C. et al. Differential plant growth promotion and nitrogen fixation in two genotypes of maize by several Herbaspirillum inoculants. **Plant and soil**, v. 387, n. 1-2, p. 307-321, 2015.
- ARAÚJO, E. O.; VITORINO, A. C. T.; MERCANTE, F. M. Doses de nitrogênio e inoculação de Herbaspirillum seropedicae na cultura do milho em condições de solo fértil. **Acta Agronômica**, v. 65, n. 1, p. 16-23, 2016.
- ARAUS, J. L.; HOGAN, K. P. Leaf structure and patterns of photoinhibition in two neotropical palms in clearings and forest understory during the dry season. **American Journal of Botany**, Iowa, v.81, n.6, p.726-738, 1994.
- ARTUR, A. G.; MONTEIRO, F. A. **Adubações com nitrogênio e enxofre: frações no solo, características estruturais, nutricionais, produtivas e uso da água pelo capim-marandu**. 2011. Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011. Disponível em: < <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11140/tde-08022011-092953/> >
- ARTUR, A. G.; MONTEIRO, F. A. Marandu palisadegrass growth and nutrient accumulation as affect by nitrogen and sulfur fertilizations. **Australian Journal of Crop Science**, v. 8, n. 3, p. 422, 2014.
- BALDANI, J. et al. Recent advances in BNF with non-legume plants. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 29, n. 5-6, p. 911-922, 1997.
- BALDANI, J. I. et al. Characterization of Herbaspirillum seropedicae gen. nov., sp. nov., a root-associated nitrogen-fixing bacterium. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 36, n. 1, p. 86-93, 1986.
- BALDANI, J. I.; BALDANI, V. L. D. History on the biological nitrogen fixation research in graminaceous plants: special emphasis on the Brazilian experience. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 77, n. 3, p. 549-579, 2005.
- BARRETO, P.; SARTORI, M. **Levantamento das áreas agrícolas degradadas no Estado do Espírito Santo**. Vitória: CEDAGRO, 2012.
- BASHAN, Y. et al. Azospirillum-plant relationships: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). **Canadian journal of microbiology**, v. 50, n. 8, p. 521-577, 2004.

BASHAN, Y.; DE-BASHAN, L. E. How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth—a critical assessment. In: **Advances in agronomy**. Academic Press, 2010. p. 77-136.

BENETT, C. G. S. et al. Resposta da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu a diferentes tipos de adubação. **Revista de Ciências Agro-Ambientais**, v. 6, n. 1, p. 13-20, 2008.

BRAZ, S. P. et al. Degradação de pastagens, matéria orgânica do solo e a recuperação do potencial produtivo em sistemas de baixo" input" tecnológico na região dos cerrados. **Embrapa Agrobiologia-Circular Técnica (INFOTECA-E)**, 2004.

BREDA, F. A. da F.; ALVES, G. C.; REIS, V. M. Produtividade de milho na presença de doses de N e de inoculação de *Herbaspirillum seropedicae*. **Embrapa Agrobiologia-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2016.

BULEGON, L. G. et al. Phytotoxicity of mesotriona in corn with *Azospirillum brasilense* associated nitrogen fertilization. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 12, n. 3, p. 325–331, 2017.

BULEGON, L. G. et al., *Azospirillum brasilense* affects the antioxidant activity and leaf pigment content of *Urochloa ruziziensis* under water stress. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 46, n. 3, p. 343-349, 2016.

CANELLAS, L. P. et al. A combination of humic substances and *Herbaspirillum seropedicae* inoculation enhances the growth of maize (*Zea mays* L.). **Plant And Soil**, [s.l.], v. 366, n. 1-2, p.119-132, 2012.

CANELLAS, L. P. et al. Humic and fulvic acids as biostimulants in horticulture. **Scientia Horticulturae**, v. 196, p. 15-27, 2015.

CANELLAS, L. P.; SANTOS G. A. **Humosfera: tratado preliminar sobre a química das substâncias húmicas**. UENF, 2005.

CARELLI, M. L. C.; UNGARO, M. R. G.; FAHL, J. I.; NOVO, M. do C. S. S. Níveis de nitrogênio, metabolismo, crescimento e produção de girassol. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Brasília, v.8, n 2, p.123–130, 1996.

CARMO, C. A. F. de S. et al. Métodos de análise de tecidos vegetais utilizados na Embrapa Solos. **Embrapa Solos-Circular Técnica (INFOTECA-E)**, 2000.

CARON, V. C. et al. Condicionadores do solo: ácidos húmicos e fúlvicos. Piracicaba: ESALQ, 2015. 46 p. (Série Produtor Rural, n. 58).

CASSÁN, F.; DIAZ-ZORITA, M. *Azospirillum* sp. in current agriculture: From the laboratory to the field. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 103, p. 117-130, 2016.

CASSÁN, F.; MAIALE, S.; et al. Cadaverine production by *Azospirillum brasilense* and its possible role in plant growth promotion and osmotic stress mitigation. **European Journal of Soil Biology**, v. 45, n.1, p. 12–19, jan. 2009.

CHUBATSU, L. S. et al. Nitrogen fixation control in *Herbaspirillum seropedicae*. **Plant and soil**, v. 356, n. 1-2, p. 197-207, 2012.

CONSELVAN, G. B. et al. Biostimulant activity of humic substances extracted from leonardites. **Plant and soil**, v. 420, n. 1-2, p. 119-134, 2017.

CORREIA, K. G. et al. Crescimento, produção e características de fluorescência da clorofila a em amendoim sob condições de salinidade. **Revista Ciência Agronômica**, v. 40, n. 4, p. 514-521, 2009.

COSTA, K. A. P. et al. Efeito da estacionalidade na produção de matéria seca e composição bromatológica da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. **Ciência Animal Brasileira**, v. 6, n. 3, p. 187-193, 2005.

DARTORA, J. et al. Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental-Agriambi**, v. 17, n. 10, 2013.

DE CARVALHO, G. G. P. et al. Características morfogênicas, padrões de desfolhação e qualidade de gramíneas tropicais. **REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria**, v. 7, n. 2, p. 1-32, 2006.

DE FREITAS, A. D. S. et al. Nitrogen fixation of Poaceae and Leguminosae in a green manure experiment in the Brazilian semiarid region. **Australian Journal of Crop Science**, v. 11, n. 11, p. 1474, 2017.

DE OLIVEIRA, A. L. M. et al. Aplicações da biodiversidade bacteriana do solo para a sustentabilidade da agricultura. **BBR-Biochemistry and Biotechnology Reports**, v. 3, n. 1, p. 56-77, 2014.

DE OLIVEIRA, E. A.; VITORINO, A. C. T.; MERCANTE, F. M. Doses de nitrogênio e inoculação de *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho em condições de solo fértil. **Acta Agronômica**, v. 65, n. 1, p. 16-23, 2016.

DIAS FILHO, M. B. Degradação de pastagens: o que é e como evitar. **Embrapa Amazônia Oriental-Fôlder/Folheto/Cartilha (INFOTECA-E)**, 2017.

DIAS-FILHO, M. B. Diagnóstico das pastagens no Brasil. **Embrapa Amazônia Oriental-Documentos (INFOTECA-E)**, 2014.

DIAS-FILHO, M. B. Os desafios da produção animal em pastagens na fronteira agrícola brasileira. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, p. 243-252, Suplemento, 2011.

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

DOS REIS JUNIOR, F. B. et al. Ocorrência de bactérias diazotróficas em diferentes genótipos de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 5, p. 985-994, 2000.

DOS SANTOS, C. L. R. et al. Contribution of a mixed inoculant containing strains of *Burkholderia* spp. and *Herbaspirillum* ssp. to the growth of three sorghum genotypes under increased nitrogen fertilization levels. **Applied soil ecology**, v. 113, p. 96-106, 2017.

DU JARDIN, P. Plant biostimulants: definition, concept, main categories and regulation. **Scientia Horticulturae**, v. 196, p. 3-14, 2015.

EMBRAPA. **Manual de métodos de análise de solo**. Rio de Janeiro: CNPS, 2017. 573 p.

ESTRADA, G. A. et al. Selection of phosphate-solubilizing diazotrophic *Herbaspirillum* and *Burkholderia* strains and their effect on rice crop yield and nutrient uptake. **Plant and soil**, v. 369, n. 1-2, p. 115-129, 2013.

EUCLIDES, V.P.B. et al. Gramíneas cultivadas. In: ALBUQUERQUE, A.C.S.; SILVA, A.G. da. **Desenvolvimento da agricultura tropical: quatro décadas de inovações tecnológicas, institucionais e políticas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2008. v.1. p.1071-1110.

FAÇANHA, A. R. et al. Bioatividade de ácidos húmicos: efeitos sobre o desenvolvimento radicular e sobre a bomba de prótons da membrana plasmática. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 9, p. 1301-1310, 2002.

FERNANDES, J. S. **Azospirillum brasilense e adubação nitrogenada na Brachiaria decumbens**. 2016. 49f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2016.

FERNANDES, J. S. **Azospirillum brasilense e adubação nitrogenada na Brachiaria decumbens**. 2016. 49 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, Produção Vegetal, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2016.

FERRAZ, J. B. S.; DE FELÍCIO, P. E. Production systems—An example from Brazil. **Meat science**, v. 84, n. 2, p. 238-243, 2010.

FERREIRA, A. S. et al. Implications of *Azospirillum brasilense* inoculation and nutrient addition on maize in soils of the Brazilian Cerrado under greenhouse and field conditions. **Applied soil ecology**, v. 72, p. 103-108, 2013.

FUKAMI, J.; CEREZINI, P.; HUNGRIA, M. *Azospirillum*: benefits that go far beyond biological nitrogen fixation. **AMB Express**, v. 8, n. 1, p. 73, 2018.

FUKAMI J, OLLERO FJ, MEGÍAS M, HUNGRIA M (2017) Phytohormones and induction of Plant-stress tolerance and defense genes by seed and foliar inoculation with *Azospirillum brasilense* cells and metabolites promote maize growth. **AMB Express** 7, 153.

GALZERANO, L.; MORGADO, E. Respostas de plantas forrageiras a doses de nitrogênio. **RETVET. Revista Electrónica de Veterinaria**, v. 8, n. 8, p. 1-5, 2007.

GLICK, B. R. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. **Microbiological research**, v. 169, n. 1, p. 30-39, 2014.

GOMES, L. B. E. **Inoculação da estirpe sp 245 de *Azospirillum brasilense* em diferentes genótipos de *Urochloa***. 2017. 50f. Dissertação (Mestrado em Ciências do Solo) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2017.

GOSWAMI, D.; THAKKER, J. N.; DHANDHUKIA, P. C. Portraying mechanics of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A review. **Cogent Food & Agriculture**, v. 2, n. 1, p. 1127500, 2016.

GUIMARÃES, S. L. et al. Produção de capim-marandu inoculado com *Azospirillum* spp. **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer**, Goiânia, v. 7, n. 13, p. 819-825, 2011.

GUIMARÃES, V. F. et al. Bactérias Promotoras de Crescimento Vegetal: da FBN à regulação hormonal, possibilitando novas aplicações. **Ciências Agrárias: Ética Do Cuidado, Legislação e Tecnologia Na Agropecuária**. Centro de Ciências Agrárias/Unioeste, Marechal Candido Rondon, p. 193-212, 2017.

HEINRICHS. R., SOARES FILHO. C. V. **Adubação e manejo de pastagens**. Editora Boreal. 1 ed., Birigui-SP, 2014. 180p.

HERINGER, I. et al. Características de um latossolo vermelho sob pastagem natural sujeita à ação prolongada do fogo e de práticas alternativas de manejo. **Ciência rural**. Santa Maria. Vol. 32, n. 2 (mar./abr. 2002), p. 309-314, 2002.

HUERGO, L. F. et al. Regulation of nitrogen fixation in *Azospirillum brasilense*. **CASSÁN, FD; GARCIA DE SALAMONE, I. *Azospirillum* sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina**. Buenos Aires: **Asociación Argentina de Microbiología**, p. 17-35, 2008.

HUNGRIA, M. et al. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant and Soil**, Netherlands, v. 331, n. 1/2, p. 413-425, 2010.

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

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Co-inoculation of soybeans and common beans with rhizobia and azospirilla: strategies to improve sustainability. **Biology and Fertility of Soils**, v. 49, n. 7, p. 791-801, 2013.

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

IBGE. **Censo agropecuário 1920/2006**. Até 1996, dados extraídos de: Estatística do Século XX. Rio de Janeiro: IBGE, 2007. Disponível em: <<http://seriesestatisticas.ibge.gov.br/>>. Acesso em: 12 set. 2019.

INAGAKI A. M. **Bactérias promotoras de crescimento de plantas na cultura do milho submetido a diferentes níveis de pH do solo**. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon. 79p, 2014.

JACOVETTI, R. **Desempenho agrônomo e nutricional do capim "Mulato II" sob doses e fontes de nitrogênio**. 2016. 96 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2016.

KENNEDY, I. R.; CHOUDHURY, A. T. M. A.; KECSKÉS, M. L. Non-symbiotic bacterial diazotrophs in crop-farming systems: can their potential for plant growth promotion be better exploited?. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 36, n. 8, p. 1229-1244, 2004.

KICHEL, A. N.; DA COSTA, J. A. A.; DE ALMEIDA, R. G. Vantagens da recuperação e renovação de pastagens degradadas com a utilização de sistemas integrados de produção agropecuária. **Embrapa Gado de Corte-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2012.

LATTANZI, F. A.; SCHNYDER, H.; THORNTON, B. Defoliation effects on carbon and nitrogen substrate import and tissue-bound efflux in leaf growth zones of grasses. **Plant, Cell & Environment**, v. 27, n. 3, p. 347-356, 2004.

LISBÔA, F. M. et al. Indicadores de qualidade de Latossolo relacionados à degradação de pastagens. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 9, p. 1184-1193, 2016.

MACEDO, M. C. M. Adubação fosfatada em pastagens cultivadas com ênfase na região do Cerrado. **Fósforo na agricultura brasileira**. Piracicaba: Potafos, p. 359-396, 2004.

MAGALHÃES, J. A. et al. **Características morfogênicas e estruturais do capim-marandu sob irrigação e adubação**. *Holos*, v. 8, p. 113-124, 2016.

MARQUES-JÚNIOR, R. B. et al. Promoção de enraizamento de microtoletes de cana-de-açúcar pelo uso conjunto de substâncias húmicas e bactérias diazotróficas endofíticas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, n. 3, p. 1121-1128, 2008.

MARTHA JÚNIOR, G. B.; VILELA, L. Pastagens no cerrado: baixa produtividade pelo uso limitado de fertilizantes. **Embrapa Cerrados-Documentos (INFOTECA-E)**, 2002.

MOHAMMADI, K. Phosphorus solubilizing bacteria: occurrence, mechanisms and their role in crop production. **Resour Environ**, v. 2, n. 1, p. 80-85, 2012.

MONTEIRO, F. A. et al. Cultivo de *Brachiaria brizantha* Stapf. cv. Marandu em solução nutritiva com omissões de macronutrientes. **Scientia Agricola**, v. 52, n. 1, p. 135-141, 1995.

MONTEIRO, R. A. et al. Early colonization pattern of maize (*Zea mays* L. Poales, Poaceae) roots by *Herbaspirillum seropedicae* (Burkholderiales, Oxalobacteraceae). **Genetics and Molecular Biology**, v. 31, n. 4, p. 932-937, 2008.

MOREIRA, F. M. S. et al. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata Scientiae**, v. 1, n. 2, p. 74, 2010.

NAKAO, A. H. et al. Intercropping *Urochloa brizantha* and sorghum inoculated with *Azospirillum brasilense* for silage. **Revista Ciência Agronômica**, v. 49, n. 3, p. 501-511, 2018.

NOVAIS, R. F.; NEVES, J. C. L.; BARROS, N. F. Ensaio em ambiente controlado. In: OLIVEIRA, A. J.; GARRIDO, W. E.; ARAÚJO, J. D.; LOURENÇO, S., eds. **Métodos de pesquisa em fertilidade do solo**. Brasília, Embrapa-SEA, p.189-254, 1991.

NUNES, S. G. et al. **Brachiaria brizantha cv. Marandu**. Campo Grande: EMBRAPA / CNPGC, 31 p. (Documento, 21), 1985.

OFFEMANN, L. C. et al. Interação entre bactérias *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* com adubação nitrogenada, visando o fornecimento de nitrogênio para o milho. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 14, p. 276-280.

OLAETXEA, M. et al. Hypothetical framework integrating the main mechanisms involved in the promoting action of rhizospheric humic substances on plant root-and shoot-growth. **Applied soil ecology**, v. 123, p. 521-537, 2018.

OLIVARES, F. L. et al. Occurrence of the endophytic diazotrophs *Herbaspirillum* spp. in roots, stems, and leaves, predominantly of Gramineae. **Biology and Fertility of Soils**, v. 21, n. 3, p. 197-200, 1996.

OLIVEIRA, J. T. C. et al. Bacteria diazotrófica aislada de *Brachiaria* spp.: diversidad genética, fenotípica y funcional. **Ciencia e investigación agraria**, v. 45, n. 3, p. 277-289, 2018.

OLIVEIRA, P. P. A. et al. Fertilização com N e S na recuperação de pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu em Neossolo Quartzarênico. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 4, p. 1121-1129, 2005.

OSMOND, C.B. What is photoinhibition? Some insights from comparisons of shade and sun plants. In: BAKER, N.R.; BOWYER, J.R. (Ed.). *Photoinhibition of photosynthesis, from molecular mechanisms to the field*. Lancaster: **Scientific Publishers**, 1994. p.1-24.

PEDREIRA, B. C. et al. Tiller density and tillering on *Brachiaria brizantha* cv. Marandu pastures inoculated with *Azospirillum brasilense*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 69, n. 4, p. 1039-1046, 2017.

PEREG, L.; DE-BASHAN, L. E.; BASHAN, Y. Assessment of affinity and specificity of *Azospirillum* for plants. **Plant and soil**, v. 399, n. 1-2, p. 389-414, 2016.

PESSOA, D. D. **Desenvolvimento do capim-marandu com altura fixa ou variável durante as estações do ano**. 2016. 63 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2016.

PINHEIRO, P. L. et al. Promoting the growth of *Brachiaria decumbens* by humic acids (HAs). **Australian Journal Of Crop Science**, [s.l.], v. 12, n. 07, p.1114-1121, 2018.

RODDA, M. R. C. et al. Estímulo no crescimento e na hidrólise de ATP em raízes de alface tratadas com humatos de vermicomposto. I - Efeito da concentração. *R. Bras. Ci. Solo*, 30:649-656, 2006.

RODRIGUES, L. F. **Capim Marandu submetido a doses de nitrogênio sob estratégias de manejo do pastejo**. 2016. 38f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal Tropical) – Universidade Federal do Tocantins, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal Tropical, Araguaína, 2016.

SABINO, D. C. C. et al. Bactérias diazotróficas como promotoras do desenvolvimento inicial de plântulas de arroz. **Enciclopédia Biosfera**, v. 8, n. 15, p. 2337-2345, 2012.

SANTANA, S. S. et al. Canopy characteristics and tillering dynamics of Marandu palisade grass pastures in the rainy–dry transition season. **Grass and Forage Science**, v. 72, n. 2, p. 261-270, 2016.

SANTOS, C. S. A. **CAPIM MARANDU SUBMETIDO À INOCULAÇÃO COM BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS ASSOCIATIVAS EM LATOSSOLO VERMELHO DE CERRADO**. 2013. 69 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Agrícola e Ambiental, Universidade Federal de Mato Grosso-UFMT, Rondonópolis, 2013. Disponível em: <<https://www.ufmt.br/pgeagri/arquivos/4b082556453af5e5a52f18cbad2f96fa.pdf>>. Acesso em: 01 out. 2019.

SANTOS, C. S. A.; Capim marandu submetido à inoculação com bactérias diazotróficas associativas em latossolo vermelho de cerrado. Tese (Mestrado). Universidade Federal de Mato Grosso, Rondonópolis, 2013.

SCHEIDT, W. et al. Optimization of culture medium and growth conditions of the plant growth-promoting bacterium *Herbaspirillum seropedicae* BR11417 for its use as an agricultural inoculant using response surface methodology (RSM). **Plant and Soil**, p. 1-13, 2019.

SHOCKNESS, L. dos S. F. **Contribuição das bactérias diazotróficas no crescimento de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu**. 2016. 35 f Dissertação (Mestrado em Agronomia - Ciência do Solo). Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica, RJ, 2016. Disponível em: <<https://tede.ufrj.br/jspui/handle/jspui/2090>>. Acesso em: 01 out. 2019.

SOUZA, G. M.; KUWAHARA, F. A.. Fósforo como possível mitigador dos efeitos da deficiência hídrica sobre o crescimento e as trocas gasosas de *Brachiaria brizantha* cv. MG-5 Vitória. *Acta Scientiarum. Agronomy*, [s.l.], v. 31, n. 2, p.261-267, 19 maio 2009. Universidade Estadual de Maringá.

SOUZA, M. S. T. et al. Azospirillum spp. from native forage grasses in Brazilian Pantanal floodplain: biodiversity and plant growth promotion potential. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 33, n. 4, p. 81, 2017.

TEIXEIRA, F. A. et al. Diferimento de pastos de Brachiaria decumbens adubados com nitrogênio no início e no final do período das águas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, n. 7, p. 1480-1488, 2011.

THEODORO, V. C. A. et al. **Caracterização da Qualidade de Grãos de Cafés (Coffea arabica L.) Colhidos no Pano e no Chão, Provenientes de Sistemas de Manejo Orgânico, em Conversão e Convencional**. Universidade Federal de Lavras. 2002. Disponível em: <<http://www.planetaorganico.com.br/trabalhos&pesquisas>>. Acessado em: set. de 2019.

TORRES JUNIOR, A. de M.; AGUIAR, G. A. M. Pecuária de corte no Brasil: potencial e resultados econômicos. **Encontro de Adubação de Pastagens da Scot Consultoria-Tec-Fértil**, v. 1, n. 2013, p. 9-14, 2013.

UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME. **Land degradation in drylands (LADA)**: GEF grant request. Nairobi, Kenya, 2004.

VIDEIRA, S. S. et al. Genetic diversity and plant growth promoting traits of diazotrophic bacteria isolated from two Pennisetum purpureum Schum. genotypes grown in the field. **Plant and soil**, v. 356, n. 1-2, p. 51-66, 2012.

VIEIRA, M. A. **FÓSFORO E POTÁSSIO ASSOCIADO A ENXOFRE, BORO E ZINCO NA ADUBAÇÃO DE MANUTENÇÃO DE CAPIM MARANDU**. 2019. 53 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, Universidade Estadual Paulista, Dracena, 2019. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/181446>>. Acesso em: 25 ago. 2019.

VITTI, G. C. et al. **Nutrição e adubação de pastagens no estado de São Paulo**. ESALQ-LSN/FEALQ/GAPE/IAP, 2001.

XIA, J.; WAN, S. Global response patterns of terrestrial plant species to nitrogen addition. **New Phytologist**, v. 179, n. 2, p. 428-439, 2008.

ZIMMER, A. H. et al. Degradação, recuperação e renovação de pastagens. **Embrapa Gado de Corte-Documentos (INFOTECA-E)**, 2012.

## APÊNDICES

Apêndice A – Desenvolvimento do capim marandu submetido a 40% da adubação NPK recomendada (T1) ao fim do experimento (45 DAE).



Apêndice B – Desenvolvimento do capim marandu submetido a inoculação do produto comercial Azototal<sup>®</sup> ao fim do experimento (45 DAE).



Apêndice C – Desenvolvimento do capim marandu submetido a inoculação de *Herbaspirillum* spp.+SH (T3) ao fim do experimento (45 DAE).



Apêndice D - Desenvolvimento do capim marandu submetido a inoculação de Azototal<sup>®</sup> + *Herbaspirillum* spp. + SH (T4) ao fim do experimento (45 DAE).



Apêndice E – Comparação entre todos os tratamentos (T1,T2,T3 e T4) os quais o capim marandu foi submetido, ao fim do experimento (45 DAE).

