

Inoculação de bactérias promotoras do crescimento vegetal em *Urochloa Ruziziensis*

Inoculation of plant growth-promoting bacteria in *Urochloa Ruziziensis*

Inoculación de bacterias promotoras del crecimiento vegetal en *Urochloa Ruziziensis*

Recebido: 24/06/2020 | Revisado: 01/07/2020 | Aceito: 08/07/2020 | Publicado: 21/07/2020

Camila Fernandes Domingues Duarte

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9776-1353>

Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Estadual de Maringá, Brasil

E-mail: camilafernandesd@hotmail.com

Ulysses Cecato

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9583-3587>

Universidade Estadual de Maringá, Brasil

E-mail: ulyssescecato@gmail.com

Mariangela Hungria

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5132-8685>

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Brasil

E-mail: mariangela.hungria@embrapa.br

Henrique Jorge Fernandes

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7617-9711>

Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Brasil

E-mail: henrique.uems@hotmail.com

Thiago Trento Biserra

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6130-9787>

Fortuna Nutrição Animal, Brasil

E-mail: thiago.trento@nafortuna.com.br

Divaney Mamédio

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3514-5982>

Universidade Estadual de Maringá, Brasil

E-mail: divaney.zootecnia@gmail.com

Sandra Galbeiro

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0524-615X>

Universidade Estadual de Londrina, Brasil

E-mail: sgalbeiro@uel.br

Marco Antônio Nogueira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7747-9839>

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Brasil

E-mail: marco.nogueira@embrapa.br

Resumo

Utilizar as potencialidades das bactérias promotoras de crescimento no crescimento e perenidade dos pastos pode ser uma nova estratégia de manejo das pastagem minimizando as chances de degradação, e ainda melhorar a produtividade e qualidade forrageira. Assim, objetivou-se avaliar a produção da *Urochloa ruziziensis* inoculada com bactérias promotoras do crescimento vegetal e adubação nitrogenada. Foi avaliado a produção de massa de folhas, a produção de massa de forragem total, produção de raízes e o teor de clorofila da *U. ruziziensis* cultivada em solo originário do arenito e em substrato estéril, inoculada com cinco BPCV (*Azospirillum brasilense* Ab-V5 e Ab-V6, *Pseudomonas fluorescens* CCTB 03 e ET76 e *Pantoea ananatis* AMG521), além do controle não inoculado e em combinação com doses de N-fertilizante (zero, 50 e 100 kg ha⁻¹ de N), em um esquema fatorial 6x3 sob condições de casa de vegetação. Em geral, as bactérias quando inoculadas sem adição de N-fertilizantes (dose zero) apresentaram-se mais eficientes na produção de massa de forragem de folhas nos diferentes cortes, massa de forragem total, produção de massa de raízes e concentração de proteína bruta. Destaca-se que a inoculação com as *P. fluorescens* e *P. ananatis* AMG521 apresentaram-se mais efetivas que as demais estirpes utilizadas nas variáveis estudadas. A inclusão das bactérias promotoras do crescimento vegetal como manejo de pastagem é uma excelente ferramenta para o cultivo do capim ruziziensis com aumento na produção de massa de forragem e massa de raízes, além de reduzir o consumo de adubos nitrogenados.

Palavras-chave: Bactérias endofíticas; Bactérias diazotróficas; Gramíneas; Rizobactérias.

Abstract

Using the potential of growth-promoting bacteria in the growth and perenniality of pastures can be a new strategy for managing pastures, minimizing the chances of degradation, and improving productivity and forage quality. Thus, the objective was to evaluate the production of *Urochloa ruziziensis* inoculated with bacteria that promote plant growth and nitrogen fertilization. Leaf mass production, total forage mass production, root production and chlorophyll content of *U. ruziziensis* cultivated in soil originating from sandstone and in a sterile substrate were evaluated, inoculated with five BPCV (*Azospirillum brasilense* Ab-V5

and Ab-V6, *Pseudomonas fluorescens* CCTB 03 and ET76 and *Pantoea ananatis* AMG521), in addition to uninoculated control and in combination with N-fertilizer doses (zero, 50 and 100 kg ha⁻¹ of N), in a 6x3 factorial scheme under greenhouse conditions. In general, bacteria when inoculated without the addition of N-fertilizers (zero dose) were more efficient in the production of leaf forage mass in the different cuts, total forage mass, root mass production and crude protein concentration. It is noteworthy that inoculation with *P. fluorescens* and *P. ananatis* AMG521 proved to be more effective than the other strains used in the studied variables. The inclusion of bacteria that promote plant growth as pasture management is an excellent tool for growing ruziziensis grass with an increase in the production of forage mass and root mass, in addition to reducing the consumption of nitrogen fertilizers.

Keywords: Endophytic bacteria; Diazotrophic bacteria; Grasses; Rhizobacteria.

Resumen

El uso del potencial de las bacterias promotoras del crecimiento en el crecimiento y la perennalidad de los pastos puede ser una nueva estrategia para el manejo de los pastizales, minimizando las posibilidades de degradación y también mejorando la productividad y la calidad del forraje. Por lo tanto, el objetivo fue evaluar la producción de *Urochloa ruziziensis* inoculada con bacterias que promueven el crecimiento de las plantas y la fertilización nitrogenada. Se evaluaron la producción en masa de la hoja, la producción total en masa del forraje, la producción de raíces y el contenido de clorofila de *U. ruziziensis* cultivado en suelo originario de arenisca y en un sustrato estéril, inoculado con cinco BPCV (*Azospirillum brasilense* Ab-V5 y Ab-V6, *Pseudomonas fluorescens* CCTB 03 y ET76 y *Pantoea ananatis* AMG521), además del control no inoculado y en combinación con dosis de N-fertilizante (cero, 50 y 100 kg ha⁻¹ de N), en un esquema factorial 6x3 bajo condiciones de invernadero. En general, las bacterias cuando se inocularon sin la adición de N-fertilizantes (dosis cero) fueron más eficientes en la producción de masa de forraje foliar en los diferentes cortes, la masa total de forraje, la producción de masa de raíz y la concentración de proteína cruda. Es de destacar que la inoculación con *P. fluorescens* y *P. ananatis* AMG521 demostró ser más efectiva que las otras cepas utilizadas en las variables estudiadas. La inclusión de bacterias que promueven el crecimiento de las plantas como manejo de pasturas es una herramienta excelente para cultivar pasto ruziziensis con un aumento en la producción de masa de forraje y masa de raíz, además de reducir el consumo de fertilizantes nitrogenados.

Palabras clave: Bacterias endofíticas; Bacterias diazotróficas; Gramíneas; Rizobacterias.

1. Introdução

No Brasil, o sistema pecuário baseia-se principalmente em pastagem, compreendendo a forma mais econômica e prática de alimentação de bovinos. No entanto, a baixa produtividade dessas pastagens está relacionada com sua implantação em solos de baixa fertilidade e manejo inadequado, sendo esses fatores as principais causas de degradação. Assim, a degradação de pastagem é considerada um dos principais problemas da pecuária brasileira. Macedo (2005) verificou que nos anos 90 e 2000 cerca de 80% das áreas de pastagens em todo território brasileiro apresentam algum indício de degradação.

Batista et al. (2002) afirmaram que o baixo fornecimento de nutrientes para as plantas, especialmente o nitrogênio (N) é um dos mais importantes fatores que contribuem para a degradação de uma pastagem, resultando no crescimento e produção de massa de forragem comprometidos. Segundo Silva et al. (2013) o nitrogênio é fundamental para aumento da produção de massa de forragem e perfilhamento de gramíneas tropicais, resultando na recuperação de pastagens degradadas. Além disso, os autores enfatizam que o fornecimento de N-fertilizante via adubação interfere de forma positiva no comportamento ingestivo dos animais em condições de pastejo, resultando em aumento do desempenho animal na área de pastejo.

Embora a maioria das plantas forrageiras sejam responsivas ao nitrogênio aplicado, é uma prática com custo elevado e seus efeitos são de curta duração em solos tropicais (Canto, et al., 2013). Além disso, os fertilizantes nitrogenados podem ser prejudiciais ao ambiente, uma vez que, aproximadamente de 50% do nitrogênio é volatilizado ou lixiviado (Reis Junior, et al., 2008; Pedreira, et al. 2017), e há riscos de contaminação do solo e da água pela adição de nitrato, por serem fabricados a partir de combustíveis fósseis (Morais, et al., 2012).

Para reduzir os custos da fertilização nitrogenada, a adoção de estratégias para melhorar a quantidade de massa de forragem sem provocar danos ao meio ambiente tem sido fundamental no novo modelo de exploração pecuário. Nesse sentido, a inoculação de bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCVs) é uma estratégia para o fornecimento de N para as plantas e a produção forrageira, devido à fixação biológica de nitrogênio (FBN), a produção de fitohormônios de crescimento, a indução de tolerância a estresses, que podem, inclusive, agir em combinação (Hungria, et al. 2016; Leite, et al., 2018). A contribuição estimada em termos de N fixado pelas bactérias diazotróficas está entre 10 a 42% em gramíneas como soja, milho e feijão (Alves, et al., 2009). Para Okon & Labandera-Gonzales (1994), a FBN realizada pelas BPCVs pode contribuir com aproximadamente 40 kg N ha⁻¹

ano⁻¹ em espécies de *Pennisetum* e *Panicum*.

As associações entre bactérias e o sistema radicular de gramíneas, está sendo apontada como uma técnica ambientalmente correta e economicamente viável para a substituição total ou parcial das adubações nitrogenadas. Leite et al. (2018) verificou maior produção de massa de forragem, redução do uso de nitrogênio e mitigação do estresse hídrico pela inoculação do capim-marandu (*Urochloa brizantha*) com *Azospirillum brasilense*, e constatou ainda que a inoculação com esta bactéria garantiu maior altura de planta, perfilho e massa radicular, principalmente em condições de seca. Em relação à produção em massa de forragem, os autores observaram que a inoculação com *A. brasilense* aumentou o rendimento anual de forragem em 14%. Lopes et al. (2018) relataram que a inoculação com *Pseudomonas fluorescens* em capim-piatã, aumentou a produção de massa seca acima de 100%, além da área foliar e teor de clorofila (índice de SPAD).

Entre as espécies forrageiras cultivadas na América do Sul, a do gênero *Urochloa* é a mais utilizada, e no Brasil há aproximadamente 95 milhões de hectares cultivados com espécies desse gênero. A *U. ruziziensis* é amplamente difundida no Brasil, com alto rendimento de forragem e boa adaptação aos solos e condições tropicais (Nepomuceno, et al., 2012). As características e importância dessa espécie para a cadeia produtiva de bovinos justifica a necessidade de avaliar seu desenvolvimento em associação com as BPCVs e adubação nitrogenada.

2. Metodologia

O estudo foi realizado em estufa agrícola, no Centro Técnico de Irrigação da Universidade Estadual de Maringá, em Maringá - PR, durante um ano (outubro de 2015 a outubro de 2016). Os tratamentos foram composto por cinco bactérias promotoras do crescimento vegetal (BPCV): controle não inoculado; *Azospirillum brasilense* estirpe Ab-V5 (=CNPSo 2083), *Azospirillum brasilense* Ab-V6 (=CNPSo 2084); *Pseudomonas fluorescens* estirpe CCTB 03 (=CNPSo 2719); *Pseudomonas fluorescens* estirpe ET76 (=CNPSo 2799); e *Pantoea ananatis* estirpe AMG521 (=CNPSo 2798). Cada estirpe ainda foi avaliada em função de três níveis de N (zero, 50 e 100 kg ha⁻¹ de N).

As bactérias estão depositadas na Coleção de Microrganismos Multifuncionais da Embrapa Soja: Bactérias Diazotróficas e Promotoras do Crescimento de Plantas (World Federation Culture Collection-WFCC # 1213, World Data Centre for Microorganisms-WDCM # 1054). As bactérias são provenientes de programas de seleção de BPCV da Embrapa Soja

(Ab-V5 e Ab-V6, selecionadas no Brasil, inicialmente para as culturas do milho e do trigo, (Hungria et al., 2010), da empresa Total Biotecnologia, CCTB 03, da Universidade de Sevilla (ET 76, isolada no Marrocos, Aarab, et al., 2016); AMG 521, isolada na Espanha, (Megías, et al., 2016).

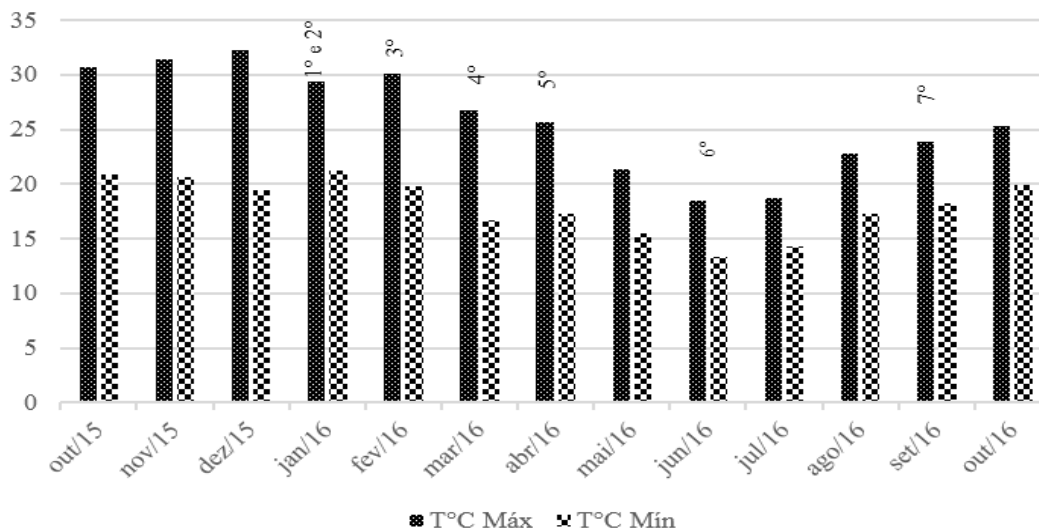
Os tratamentos foram avaliados em *Urochloa ruziziensis*. O ensaio foi conduzido em um esquema fatorial 6 x 3, com 6 repetições, totalizando 108 unidades experimentais para cada tipo de substrato. Os ensaios foram conduzidos em vasos de 15 kg de capacidade, que foram preenchidos com 15 kg de solo Arenito Caiuá, Latossolo Vermelho distrófico, de classe textural franco-areno-argilosa com as seguintes características químicas: pH = 4,7; Ca = 1,0 cmol_c dm⁻³; Mg = 0,5 cmol_c dm⁻³; Al = 0,1 cmol_c dm⁻³; P (Mehlich) = 5,0 mg dm⁻³; K = 0,16 cmol_c dm⁻³; V = 31,56%; M.O.= 2,1%. Em todos os vasos foram aplicados o equivalente a 20 kg ha⁻¹ de N (ureia 45% N), 42,5 kg ha⁻¹ de K₂O (cloreto de potássio 48% K₂O) e 84 kg ha⁻¹ de P₂O₅ (superfosfato simples 18% P₂O₅), incorporados ao solo no momento da semeadura. No ensaio com substrato estéril, utilizou-se vasos de 7 kg de capacidade, que foram preenchidos com 7 kg de uma mistura de 1:1 de areia lavada e carvão moído e aplicado uma solução nutritiva.

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

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

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

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



Fonte: Autores.

Durante o período experimental foram realizadas mensuração da altura das plantas três vezes por semana, com auxílio de uma régua graduada, medindo na base da planta até a folha bandeira. Quando as plantas atingiram, em média, 35 cm de altura, foram cortadas, deixando-se 15 cm como resíduo. No corte final (sétimo corte), os perfilhos foram cortados rente ao solo. Após o corte, as amostras foram pesadas e foi realizada a separação dos componentes morfológicos em lâminas foliares e em pseudocolmo. Cada componente foi pesado e levado para estufa a 65°C por 72 horas e, depois, pesado para a determinação da massa seca.

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

Para a medição da clorofila foi utilizado o equipamento clorofiLOG - CFL1030 da Falker, realizando-se a medição na última folha expandida de dois perfilhos previamente identificado em cada vaso antes de cada corte. Ao final do experimento, as raízes de cada vaso foram lavadas, pesadas e secas em estufa de ventilação forçada a 65°C por 72 horas, para a determinação da massa de raízes secas.

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

3. Resultados e Discussão

Houve efeito ($P < 0,05$), com interação tripla entre N-fertilizante, inoculação com as BPCVs e corte na produção de massa de folha (PMF) do capim ruziziensis semeado em solo (Tabela 1). Houve diferença entre a inoculação das estirpes e os tratamentos nos cortes 5, 6 e finais para os níveis zero de N-fertilizante (N0) e 50 kg ha⁻¹ de N-fertilizante (N50) e, no nível 100 kg ha⁻¹ de N-fertilizante (N100), apenas no corte final.

Tabela 1. Produção de massa de folha (PMF) de *Urochloa ruziziensis* cultivada em solo em relação à inoculação com bactérias promotoras de crescimento de vegetal e níveis de N-fertilizante (0, 50 e 100 kg ha⁻¹).

Bactéria/Corte	1	2	3	4	5	6	Final
Nível 0 kg N ha ⁻¹							
Não inoculado	8.5	9.2	12.2	11.0	13.8	16.8	29.3
<i>A. brasilense</i> Ab-V5	8.3 ^a	10.2a	11.1a	13.0a	13.5c	20.3*d	26.4*b
<i>A. brasilense</i> Ab-V6	8.4 ^a	12.0a	12.0a	12.2 ^a	12.0c	21.2*d	26.3*b
<i>P. fluorescens</i> CCTB 03	8.4 ^a	12.6a	12.1a	14.2 ^a	16.2*b	31.3*b	39.3*a
<i>P. fluorescens</i> ET76	9.2 ^a	10.0a	12.5a	11.2 ^a	17.4*b	25.8*c	26.0*b
<i>P. ananatis</i> AMG521	8.2 ^a	10.9a	11.3a	14.1 ^a	21.2*a	34.1*a	41.0*a
Standard Error	0.58	1.49	1.15	1.20	0.64	0.71	0.66
Nível 50 kg N ha ⁻¹							
Não inoculado	8.7	16.6	12.5	15.1	22.4	34.1	30.8
<i>A. brasilense</i> Ab-V5	9.3 ^a	15.8a	11.6a	17.7 ^a	21.2b	38.0*c	28.7*c
<i>A. brasilense</i> Ab-V6	8.6 ^a	14.5a	10.4a	14.7 ^a	12.6*c	38.8*c	24.7*d
<i>P. fluorescens</i> CCTB 03	8.4 ^a	14.9a	12.7a	16.9 ^a	28.3a	41.7*b	31.1b
<i>P. fluorescens</i> ET76	8.9 ^a	15.0a	11.3a	19.0a	23.4ab	38.4*c	28.7*c
<i>P. ananatis</i> AMG521	8.4 ^a	14.0a	10.0a	18.8 ^a	20.5b	43.6*a	34.8*a
Standard Error	0.41	1.17	1.01	1.93	2.05	0.61	0.50
Nível 100 kg N ha ⁻¹							
Não inoculado	8.8	13.7	12.6	19.2	16.7	36.9	37.4
<i>A. brasilense</i> Ab-V5	8.7 ^a	15.1a	12.7ab	19.0a	16.9a	39.2a	33.7*b
<i>A. brasilense</i> Ab-V6	8.2 ^a	14.6a	11.6b	22.1 ^a	15.1a	38.8a	35.0b
<i>P. fluorescens</i> CCTB 03	8.3 ^a	15.7a	12.3ab	19.5 ^a	14.5a	36.3ab	40.4*a
<i>P. fluorescens</i> ET76	9.5	16.5a	15.5a	21.2 ^a	18.6a	31.8b	38.5a
<i>P. ananatis</i> AMG521	9.6 ^a	15.0a	12.5ab	19.4 ^a	13.9a	35.5ab	34.1*b
Standard Error	0.62	0.87	1.15	1.76	1.75	1.75	0.70

^aMédias de seis repetições e, quando seguidas de letras minúsculas diferentes na coluna, diferem entre si pelo teste t ao nível de 5%.

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

Fonte: Autores

No nível N0, as estirpes AMG521 (cortes 5, 6 e final) e CCTB03 (corte final) demonstraram maior PMF em relação às demais estirpes. No quinto corte, as estirpes *P. fluorescens* e AMG521 promoveram incremento médio de 35% em relação ao não inoculado e, no sexto corte, proporcionaram aumento médio de 58%. No corte final, todas as estirpes divergiram do tratamento não inoculado, porém, apenas a CCTB03 e AMG521 incrementaram a PMF em 37%, em média.

No nível N50 as estirpes *P. fluorescens* (corte 5) e AMG521 (cortes 6 e final) se destacaram na PMF com relação às demais. Em comparação ao tratamento não inoculado, foi verificado que a estirpe Ab-V6, no corte 5, mostrou uma redução de 13% da PMF. No sexto corte, analisando a média da produção de todas as estirpes, houve um incremento de 18%, contudo, ao observar o corte final, constatou-se comportamento das estirpes semelhante ao que ocorreu no quinto corte, com redução média da PMF em 11%, com exceção da CCTB03 que não diferiu do não inoculado e da estirpe AMG521, que promoveu incremento de 13%.

Os tratamentos fertilizados com o nível N100 associado às estirpes divergiram entre si nos cortes 3, 6 e final (Tabela 1). Nos cortes 3 e 6 as estirpes Ab-V6 e ET76 apresentaram menores PMF do que as demais. No corte final as estirpes *P. fluorescens* se destacaram com PMF média de 39 g, portanto, maior que as demais. A estirpe CCTB 03 promoveu acréscimo de 6% em relação ao tratamento não inoculado, enquanto que as estirpes Ab-V5 e AMG521, demonstraram uma redução de 9% na PMF em relação ao tratamento não inoculado.

No teor de clorofila total (índice de SPAD) do capim *ruziziensis* implantado em solo, verificou-se interação entre os fatores (bactéria, adubação nitrogenada e corte), (Table 2). Observou-se efeito ($P < 0,05$) entre as estirpes inoculadas, nos cortes 5 e 6 (N0) e 2, 4 e 6 (N100).

Tabela 2. Teor de clorofila total (índice de SPAD) de *Urochloa ruziziensis* cultivada em solo em relação à inoculação com bactérias promotoras de crescimento vegetal e níveis de N-fertilizante (0, 50 e 100 kg ha⁻¹).

Nível 0 kg N ha ⁻¹							
Bactéria/Corte	1	2	3	4	5	6	Final
Não inoculado	24.8	23.8	23.8	27.6 ^a	15.2	26.3	28.6
<i>A. brasilense</i> Ab-V5	22.0a	33.6a	19.2a	32.6 ^a	17.8a	24.8ab	23.8a
<i>A. brasilense</i> Ab-V6	26.1a	24.8a	18.3a	32.1 ^a	13.9b	21.5b	27.0a
<i>P. fluorescens</i> CCTB 03	21.1a	28.5a	19.5a	34.7 ^a	17.6ab	25.8a	27.5a
<i>P. fluorescens</i> ET76	21.6a	26.7a	17.8a	29.3 ^a	16.8ab	24.8ab	27.0a
<i>P. ananatis</i> AMG521	28.1a	27.2a	22.7a	31.5a	17.3ab	26.3a	30.3a
Standard Error	3.92	3.61	2.60	3.06	1,30	1.37	2.43
Nível 50 kg N ha ⁻¹							
Não inoculado	29.9	20.6	24.6	34.1	18.6	25.8	29.0
<i>A. brasilense</i> Ab-V5	22.5a	21.7a	20.1a	26.1a	18.7a	23.9a	25.7a
<i>A. brasilense</i> Ab-V6	28.3a	24.7a	22.4a	27.6a	17.7a	25.1a	30.0a
<i>P. fluorescens</i> CCTB 03	24.9a	26.7a	22.7a	30.7a	16.7a	24.5a	26.0a
<i>P. fluorescens</i> ET76	23.9a	24.9a	233a	31.9a	16.9a	25.7a	24.4a
<i>P. ananatis</i> AMG521	23.4a	25.3a	215a	27.9a	18.4a	26.5a	26.6a
Standard Error	3.49	3.03	3,41	2.37	1.67	1.29	3.15
Nível 100 kg N ha ⁻¹							
Não inoculado	22.8	33.5	24.7	34.1	25.2	25.2	27.2
<i>A. brasilense</i> Ab-V5	25.7a	26.3ab	22.7a	29.9ab	21.6a	27.7ab	26.6a
<i>A. brasilense</i> Ab-V6	26.1a	24.0*b	26.5a	25.2*b	24.9a	24.9b	28.0a
<i>P. fluorescens</i> CCTB 03	26.4a	32.2a	23.9a	32.5a	23.6a	32.5a	26.0a
<i>P. fluorescens</i> ET76	24.0a	28.9b	23.7a	31.2ab	22.3a	29.0ab	32.8a
<i>P. ananatis</i> AMG521	26.8a	26.4b	27.9a	27.2ab	26.0a	29.0ab	24.9a
Standard Error	2.09	2.39	2.07	2.31	2.12	2.20	3.22

^aMédias de seis repetições e, quando seguidas de letras minúsculas diferentes na coluna, diferem entre si pelo teste t ao nível de 5%.

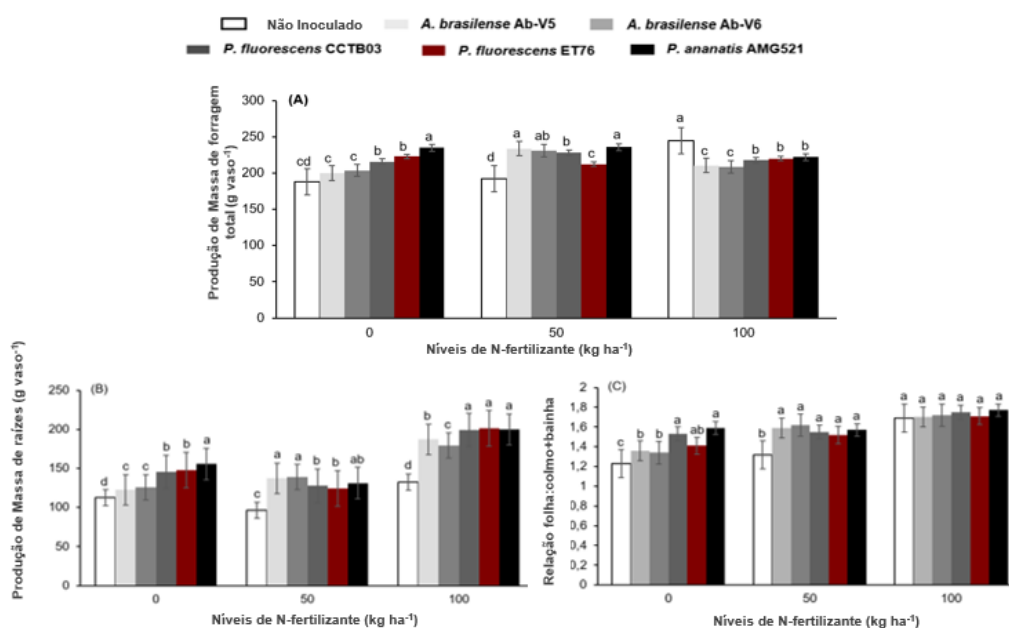
^bMédias de seis repetições e, quando seguidas de asterisco (*) diferem do tratamento não inoculado pelo teste de Dunnet ao nível de 5%.

Fonte: Autores.

O tratamento inoculado com a estirpe Ab-V6 (cortes 2 e 4, nível N100) proporcionou redução de 28 e 26%, respectivamente, nos teores de clorofila (índice de SPAD) nas folhas do capim ruziziensis, em comparação ao tratamento não inoculado. Para os níveis de N-fertilizante N0 e N50, não foi notado diferenças entre as estirpes inoculadas, exceto para a Ab-V6 no nível N0 (cortes 5 e 6) que conferiu menores teores de clorofila. No nível N100 as estirpes apresentaram-se iguais quanto ao índice de SPAD, exceto a Ab-V6 (cortes 2, 4 e 6), e ET76 e AMG521, ambas no corte 1, com menores índice.

Houve efeito ($P < 0,05$) de interação entre os fatores testados, para as variáveis produção de massa total (PMT), produção de massa de raízes (PMR) e razão folha:colmo+bainha (RF:C) do capim ruziziensis cultivado em solo (Figure 2). Com relação à PMF, verificou-se que no nível N0 a AMG521 promoveu um incremento de 25% quando comparado ao não inoculado. No nível N50 a inoculação das estirpes proporcionou aumento na ordem de 19% em comparação ao não inoculado, com destaque para as estirpes *A. brasilense* e *P. ananatis*. Contudo, no nível N100 a PMT do tratamento não inoculado foi maior do que os demais (Figura 2A).

Figura 2. (A) Produção de massa de forragem total, (B) produção de massa de raízes e (C) relação folha: colmo + bainha de *Urochloa ruziziensis* cultivada em solo em relação à inoculação com bactérias promotoras de crescimento vegetal e níveis de N-fertilizante (0, 50 e 100 kg ha⁻¹).



Fonte: Autores.

Observou-se que a estirpe AMG521 demonstrou PMR de 42% a mais que o tratamento não inoculado, o que correspondeu a 145,04 g, quando somados os valores referentes aos três níveis de N-fertilizante (Figura 2B). Nos níveis N50 e N100, a produção de massa de raízes do tratamento não inoculado foi menor em comparação a PMR observada nos tratamentos com inoculação. Para a RF:C, todas as estirpes em associação com os níveis de N-fertilizante se destacaram em relação ao tratamento não inoculado, exceto no nível N100 que o tratamento controle foi estatisticamente igual aos tratamentos inoculados (Figura 2C).

Na produção de PMF do capim ruziziensis implantado em substrato estéril, foi verificada interação tripla entre N-fertilizante, inoculação e corte (Tabela 3). No nível N0, constatou diferenças entre a inoculação e o não inoculado no corte 3, 4 e final, sendo que nestes dois primeiros cortes, houve um incremento médio na PMF de 47 e 51%, respectivamente, com destaque para as estirpes AMG521 (corte 3) e CCTB 03 e AMG521 (corte 4). No segundo corte as estirpes CCTB03 e AMG521 proporcionaram maior PMF que as demais. No corte final, todas as estirpes divergiram do tratamento não inoculado, com aumento médio na PMF de 27%, com destaque para a CCTB03 e AMG521. Exceto a estirpe Ab-V5 que não diferiu ($P < 0,05$) do não inoculado.

Tabela 3. Produção de massa de folha (PMF) de *Urochloa ruziziensis* cultivada em substrato estéril em relação à inoculação com bactérias promotoras de crescimento vegetal e níveis de N-fertilizante (0, 50 e 100 kg ha⁻¹).

Nível 0 kg N ha ⁻¹					
Bactéria/Corte	1	2	3	4	Final
Não inoculado	14.7	13.4	12.3	12.2	20.3
<i>A. brasilense</i> Ab-V5	10.5a	10.8b	15.6*c	17.1*b	22.7b
<i>A. brasilense</i> Ab-V6	15.5a	13.8ab	17.8*b	17.1*b	24.1*b
<i>P. fluorescens</i> CCTB 03	15.3a	18.1a	19.2*b	21.3*a	27.1*a
<i>P. fluorescens</i> ET76	13.9a	11.1b	15.7*c	16.1*b	23.4*b
<i>P. ananatis</i> AMG521	12.1a	17.7a	22.5*a	20.4*a	28.9*a
Standard Error	1.72	1.84	0.58	0.44	0.82
Nível 50 kg N ha ⁻¹					
Não inoculado	15.2	18.5	23.8	23.8	23.7
<i>A. brasilense</i> Ab-V5	15.1a	17.0a	21.0a	28.5a	32.2*b
<i>A. brasilense</i> Ab-V6	12.4a	17.6a	21.0a	15.9b	38.4*a
<i>P. fluorescens</i> CCTB 03	14.8a	15.1a	19.8 ^a	21.5b	12.0*d
<i>P. fluorescens</i> ET76	12.8a	19.1a	18.7 ^a	32.8a	29.3b
<i>P. ananatis</i> AMG521	15.9a	19.2a	16.7 ^a	19.2b	27.3c
Standard Error	1.88	2.32	2.10	2.50	1.53
Nível 100 kg N ha ⁻¹					
Não inoculado	13.3	23.7	16.6	21.0	34.8
<i>A. brasilense</i> Ab-V5	13.9ab	17.2a	18.1b	17.0b	22.4*b
<i>A. brasilense</i> Ab-V6	15.9a	17.6a	24.3*a	20.1b	24.6*b
<i>P. fluorescens</i> CCTB 03	14.6ab	16.6a	28.0*a	31.2*a	29.4ab
<i>P. fluorescens</i> ET76	15.4a	16.4a	19.6b	20.8b	34.6a
<i>P. ananatis</i> AMG521	10.1b	19.0a	16.4b	26.7a	28.0*b
Standard Error	1.74	2.53	1.47	1.68	2.25

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

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

Fonte: Autores.

No nível N50 as estirpes Ab-V5 e ET76 (corte 4), se destacaram das demais estirpes com maior PMF, e a Ab-V5 e Ab-V6 (corte final) proporcionaram incremento médio de 49%, em comparação ao não inoculado. Contudo, a inoculação da CCTB03, nesse mesmo nível de N-fertilizante, apresentou 51% de redução na PMF.

No nível N100 (corte 1), a estirpe AMG521 demonstrou menor PMF com relação as demais. No terceiro corte, as estirpes Ab-V6 e CCTB03 demonstraram aumento na PMF de 46 e 69% em relação ao não inoculado, além de se destacaram das demais estirpes. No quarto corte a estirpe CCTB03 divergiu do tratamento não inoculado, com aumento de 48% na PMF. No corte final as estirpes *P. fluorescens* se destacaram das demais, com PMF média de 32 g. As outras estirpes demonstraram redução média de 28% na PMF, em comparação ao não inoculado.

No índice de SPAD, verificou-se interação entre os fatores (Tabela 4). No nível N0 (corte 1), a estirpe Ab-V6 divergiu do não inoculado, com aumento médio de 46% do índice de SPAD. No segundo corte apenas a estirpe CCTB03 demonstrou menor índice de SPAD. A inoculação da estirpe ET76 (corte 4) conferiu redução de 35% no índice de SPAD, em relação ao tratamento não inoculado. No corte final todas as estirpes demonstraram redução de 27% do índice de SPAD, quando comparado ao não inoculado, exceto a AMG521.

Tabela 4. Teor de clorofila total (índice de SPAD) da *Urochloa ruziziensis* cultivada em substrato estéril em relação à inoculação com bactérias promotoras de crescimento vegetal e níveis de N-fertilizante (0, 50 e 100 kg ha⁻¹).

Nível 0 kg N ha ⁻¹					
Bactéria\Corte	1	2	3	4	Final
Não inoculado	29.3	30.1	29.2	40.3	41.5
<i>A. brasilense</i> Ab-V5	27.9b	35.1a	35.1a	39.3 ^a	27.4* ^b
<i>A. brasilense</i> Ab-V6	41.5* ^a	36.7a	34.7a	33.4ab	28.9* ^b
<i>P. fluorescens</i> CCTB 03	28.8b	26.6b	33.5a	33.4ab	33.1* ^{ab}
<i>P. fluorescens</i> ET76	30.4b	31.2ab	35.1a	26.3* ^b	32.6* ^{ab}
<i>P. ananatis</i> AMG521	31.7ab	33.2ab	36.9a	41.0a	37.5a
Standard Error	3.55	2.79	2.56	2.80	2.15
Nível 50 kg N ha ⁻¹					
Não inoculado	40.9	32.4	39.4	35.6	34.8
<i>A. brasilense</i> Ab-V5	37.7b	38.6a	38.3a	43.1 ^a	40.0a
<i>A. brasilense</i> Ab-V6	40.6ab	37.4a	39.8a	41.4ab	38.2a
<i>P. fluorescens</i> CCTB 03	42.4ab	37.0a	37.5a	36.6ab	35.1 ^a
<i>P. fluorescens</i> ET76	44.2a	38.3a	34.1a	35.9ab	36.7 ^a
<i>P. ananatis</i> AMG521	43.1ab	36.2a	34.4a	28.8b	42.3 ^a
Standard Error	2.11	2.91	2.03	3.06	3.04
Nível 100 kg N ha ⁻¹					
Não inoculado	44.3	36.2	35.4	40.0	38.5
<i>A. brasilense</i> Ab-V5	43.3a	33.9a	38.3a	33.4 ^a	33.2 ^a
<i>A. brasilense</i> Ab-V6	40.8ab	31.0a	33.8a	37.0a	35.3 ^a
<i>P. fluorescens</i> CCTB 03	37.9ab	30.4a	32.3a	35.6 ^a	35.6 ^a
<i>P. fluorescens</i> ET76	45.7a	38.3a	37.3a	33.1 ^a	33.2 ^a
<i>P. ananatis</i> AMG521	33.5* ^b	33.0a	34.7a	33.8 ^a	31.6 ^a
Standard Error	2.72	2.76	2.14	3.07	3.05

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

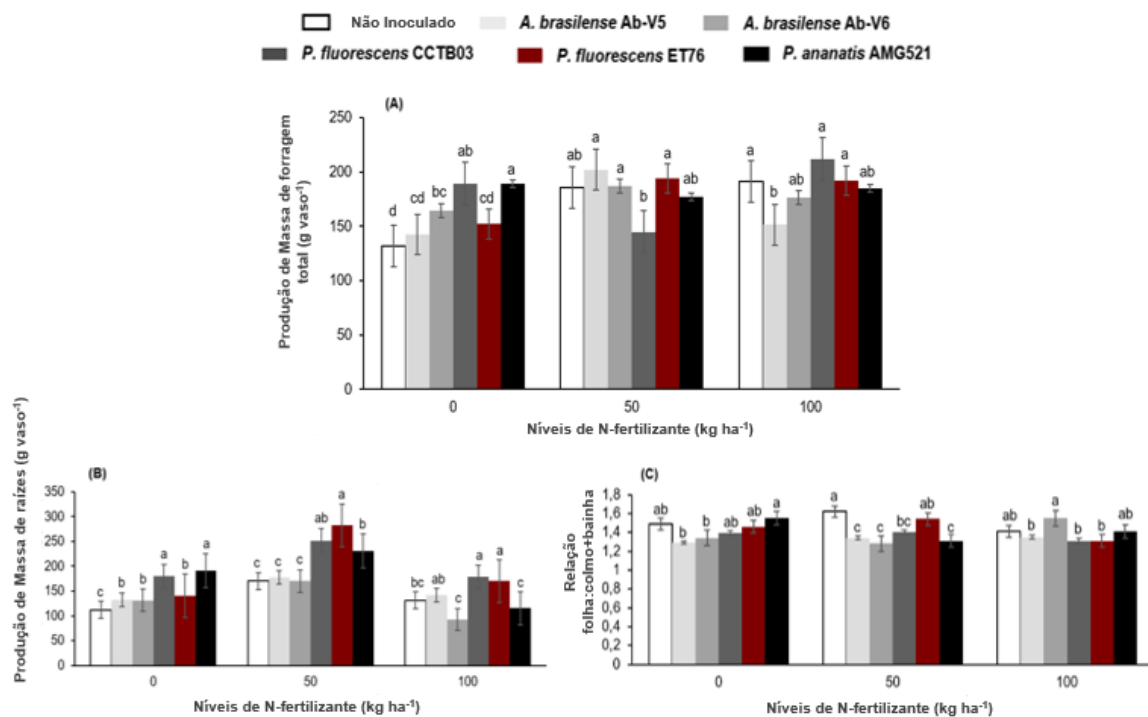
^b Médias de seis repetições e, quando seguidas de um asterisco (*) diferem do tratamento não inoculado pelo teste de Dunnett ao nível de 5%.

Fonte: Autores.

No nível N50, verificou-se diferenças entre as estirpes apenas nos cortes 1 e 4 (Tabela 4). No primeiro corte a estirpe ET76 (corte 1) proporcionou maior índice de SPAD que a Ab-V5 e, no quarto corte, a Ab-V5 promoveu maior índice de SPAD que a AMG521. No nível N100, observou-se diferença entre as estirpes somente no primeiro corte, com redução de 32% do índice de SPAD proporcionado pela AMG521, em comparação ao tratamento não inoculado.

Para as variáveis produção de massa total (PMT), produção de massa de raiz (PMR) e razão folha:colmo+bainha (RF:C) do capim ruziziensis cultivado em substrato estéril, observou-se interação dupla entre as aplicações de N-fertilizante e a inoculação (Figura 3).

Figura 3. (A) Produção de massa de forragem total, (B) produção de massa de raízes e (C) relação folha: colmo + bainha de *Urochloa ruziziensis* cultivada em substrato estéril em relação à inoculação com bactérias promotoras de crescimento vegetal e níveis de N-fertilizante (0, 50 e 100 kg ha⁻¹).



Fonte: Autores.

As estirpes CCTB03 e AMG521 (nível N0) proporcionaram incrementos de 43 e 44%, respectivamente, em comparação ao não inoculado (Figura 3A). No nível N50, as estirpes *A. brasilense* e ET76 se destacaram das demais. No nível N100 a estirpe Ab-V5 demonstrou menor PMT. Para a PMR (nível N0), a inoculação das estirpes CCTB03 e AMG521

promoveram incrementaram de 60 e 70%, respectivamente, assim como as estirpes ET76 (nível N50) e as *P. fluorescens* (nível N100) proporcionaram aumentos médios na PMR de 66%, 36 e 29%, respectivamente, ambos os resultados em comparação ao tratamento não inoculado (Figura 3B).

A maior RF:C (nível N0) ocorreu nas plantas inoculadas com a AMG521 (Figura 3C). No nível N50, o tratamento não inoculado se destacou com maior RF:C em relação aos inoculados, exceto para a estirpe ET76 que demonstrou resultado semelhante ao não inoculado. No nível N100 as estirpes *A. brasilense* Ab-V6 proporcionou a maior PMR, entretanto, estas se mostraram estatisticamente iguais ao tratamento não inoculado e a estirpe AMG521.

Na fase inicial de estabelecimento do capim ruziziensis, a baixa expressividade da ação das estirpes sobre a produtividade pode estar relacionada ao fato de que, alguns fitohormônios são metabolizados em baixa concentração na fase inicial de emergência da plântula, aumentando a sua produção com o desenvolvimento da planta, assim como relatado por Cassán et al. (2009). Neste sentido, fica claro que as diferenças entre os tratamentos, no geral, apenas nos cortes finais também podem ser justificadas pelo maior tempo de colonização da rizosfera, favorecendo a produção de forragem.

Cassán et al. (2008) expuseram que na fase em que as estirpes se estão totalmente desenvolvidas, fase essa, também denominada de crescimento estacionário, ocorre maior acúmulo de fitohormônios, alterando a sua capacidade de colonização da rizosfera promovendo o crescimento e desenvolvimento das plantas. Os autores também enfatizaram que este é um comportamento típico de vários microrganismos produtores de fitohormônios. Essas bactérias, provavelmente não encontram um ambiente favorável ao seu desenvolvimento na fase inicial de estabelecimento do capim, em função do sistema radicular apresentar poucas raízes, o que diminui a quantidade de exsudados (a exemplo de carbono e nitrogênio). Isso proporciona reprodução mais lenta das bactérias, o que reflete na atividade microbiana e possivelmente na quantidade de fitohormônios produzidos. Contudo, no momento que ocorre interação entre as bactérias e as raízes das plantas, há o estímulo para o aumento da produção de exsudados nas raízes (Bartchen, et al., 2010), com benefícios para ambos.

A inoculação com as bactérias promotoras de crescimento vegetal inoculadas no capim ruziziensis, independentemente do tipo de substrato utilizado, promoveu incrementos na PMF na ordem de 11 a 69% (Tabelas 1 e 3). Isso denota de grande importância, uma vez que, pastagens degradadas mostram uma capacidade produtiva drasticamente reduzida (Dias-Filho,

2014), sugerimos que a prática de inoculação pode representar um componente importante nos esforços para reverter à degradação das pastagens brasileiras. Em trabalho realizado por Megías et al. (2016), os autores também encontraram incrementos na PMF variando de 10 a 60%. Leite et al. (2018) relataram que a inoculação de bactérias proporcionou incremento na produção de massa de forragem da *Urochloa brizantha* cv. Marandu. Este aumento na massa da forragem provavelmente se deve a produção de fitohormônios, como as citocininas, giberelinas e auxinas, comumente produzidos pelas rizobactérias dos gêneros *Pantoea*, *Azospirillum* e *Pseudomonas* Fukami, et al., 2017; Gouda, et al., 2018), desempenhando importantes funções como substâncias responsáveis pelo crescimento e desenvolvimento de plantas (Fukami, et al., 2018).

A inoculação de bactérias na ausência de aplicação de N-fertilizante (N0), de forma geral, proporcionou PMF semelhante ou superior ao tratamento não inoculado, com destaque para as estirpes CCTB03 e AMG521, reforçando o mencionado por Cassán & Diaz-Zorita (2016). O produtor deve manejar a pastagem a fim de proporcionar maior oferta de lâminas foliares em detrimento ao colmo e material senescente. Os animais selecionam preferencialmente folhas, provavelmente em virtude de serem mais acessíveis e de menor resistência à preensão e de melhor valor nutritivo.

A prática de inoculação com essas bactérias tem o potencial de aumentar a produção de forragem, além de reduzir os danos ambientais causados pelo uso de fertilizantes. Avaliando a inoculação de pastagens de *Urochloas ssp.* com bactérias promotoras de crescimento de plantas, Hungria et al. (2016) concluíram que é possível a recuperação de pastagens degradadas sem comprometer o meio ambiente e reduzir a emissão de gases de efeito estufa. Megías et al. (2017) e Leite et al. (2018) verificaram que a inoculação com *Pseudomonas spp.* e *Pantoea spp.* em capim-piatã e arroz, respectivamente, promoveram rápido estabelecimento do dossel e maior rendimento forrageiro.

O incremento na massa de colmo proporcionado pela inoculação das estirpes, em detrimento da produção de massa foliar, se constitui numa desvantagem para a escolha do tipo e espécie de forragem a ser utilizada no sistema de produção, uma vez que o acúmulo de colmo no pasto pode interferir em seu valor nutritivo, com reflexo sobre a digestibilidade e impacto direto na aceitabilidade pelo animal (Reis, et al., 2012). Isso provavelmente afetará negativamente o desempenho animal a pasto e desenvolvimento da cadeia produtiva. Apesar de algumas estirpes estarem contribuindo para o aumento na produção de colmo, foi constatado também que estas bactérias, de forma geral, conferiram ao capim ruziziensis maior massa de forragem, além de que a proporção de massa de lâmina foliar em relação à massa de

colmo (RF:C) se manteve igual ou superior ao tratamento não inoculado (Figuras 2C e 3C). Estes resultados estão em concordância com os verificados na PMR (Figuras 2B e 3B), em que foi constatado que as bactérias com a produção de fitohormônios estimularam maior produção de raízes nas plantas, convertendo-se em maior produção de biomassa e promover tolerância a estresses ambientais como a seca, uma vez que um sistema radicular mais desenvolvido propicia a planta maior extração de água e nutrientes do solo, conforme relatado por Arora et al. (2013).

Neste estudo, em ambos os substratos utilizados, observou-se que dentre as bactérias utilizadas, a espécie *P. fluorescens* se destacou com maior produção de raízes. Auxinas, o principal fitohormônio liberados por *P. fluorescens* para as plantas hospedeiras, promove o crescimento de raízes e conseqüente a produção de massa (Dobbelaere, et al. 2002; Taiz & Zeiger 2009; Fukami, et al. 2017). Segundo Leite et al. (2018), a auxina IAA (ácido indol-3-acético) promove o crescimento radicular e estimula a diferenciação nos tecidos meristemáticos que dependem da concentração hormonal. Entre os benefícios da *P. fluorescens*, aparentemente, a produção do AIA é quantitativamente a mais importante para o crescimento de gramíneas (Gupta, et al., 2013; Megías, et al. 2017; Leite, et al., 2018). Este efeito indireto poderia tornar as plantas inoculadas mais tolerantes para tensões adicionais, tais como pastejo, aumentando o desempenho das pastagens e produtividade (Pimentel, et al., 2016).

A associação de bactérias promotoras de crescimento com doses de N-fertilizante proporcionou diferentes respostas na produção de massa de forragem, verificando-se, por exemplo, que as estirpes *A. brasilense* promoveram redução na PMF, enquanto as *Pseudomonas* contribuíram para que a PMF fosse igual ou menor ao tratamento não inoculado (nível N50, Tabela 1). No cultivo em substrato estéril, observou-se que as estirpes de *A. brasilense* demonstraram comportamento totalmente contrário ao verificado no solo, com incremento na PMF, enquanto para a estirpe CCTB03 não proporcionou resultados (Tabela 3).

Outro fator a ser destacado é que as inoculações podem promover redução do teor relativo de clorofila, assim como o relatado no estudo de Leite et al. (2018). Isso pode correlacionar-se à capacidade de assimilação de nitrogênio pela planta (Guimarães, 2011), com reflexos diretos sobre o rendimento da cultura (Rochette, et al., 2009). Portanto, a possibilidade desta redução no teor de nitrogênio da gramínea, o uso de bactérias associadas à dose de N-fertilizante pode minimizar esse efeito.

Cassán e Diaz-Zorita (2016) ressaltaram a necessidade de complementação entre as práticas de uso de inoculações e aplicações de N-fertilizante a fim de explorar o potencial máximo de gramíneas e assim obter alta produção de biomassa. Porém, na literatura é evidente que a utilização de uma dose maior de N-fertilizante, a exemplo do nível N100, as respostas das forrageiras inoculadas com bactérias se assemelham as do tratamento não inoculado, nos levando a pensar que a depender da quantidade de N-fertilizante disponível para as plantas no ambiente da rizosfera, as bactérias diminuem consideravelmente a sua atividade. Essa observação condiz com o relatado por Hungria (2011) para plantas inoculadas com *Azospirillum* sp.

Um dos objetivos de se aplicar N-fertilizante na pastagem é acelerar os processos de crescimento e desenvolvimento da planta e estimular a maior produção de massa de lâmina foliar, componente este de maior interesse na alimentação animal a pasto, ao invés de investir em alongamento de colmo. Entretanto, o uso indiscriminado de N-fertilizante pode causar impactos negativos severos ao meio ambiente (Vallejo, et al., 2006), ao mesmo passo que a falta de fertilização das pastagens, pode comprometer a capacidade produtiva deste sistema de alimentação animal, levando-o a uma possível degradação pela constante extração de nutrientes, sem a reposição destes. Nesse sentido, a inoculação de pastagens pode levar ao aumento da produção de massa de forragem e diminuição da dependência de adubação de N-fertilizante, assim como observado nos estudos de Aguirre et al. (2018) e Leite et al. (2018). Além disso, o aumento na produção de massa de forragem, folhas e raízes em plantas inoculadas seria uma característica desejável em sistemas de manejo intensivo, como sistemas de pastejo rotacionado, reduzindo os intervalos de pastejo.

4. Considerações Finais

A utilização das bactérias promotoras do crescimento vegetal apresentou-se como uma excelente ferramenta de manejo de pastagem para o desenvolvimento e crescimento do capim *ruziziensis* como aumento na produção de massa de forragem e de raízes. A inoculação das bactérias também proporciona uma menor dependência de insumos de origem fosseis, como os adubos nitrogenados, contribuindo para o desenvolvimento de uma pecuária sustentável. Como experimento foi realizado em casa de vegetação, recomenda-se a realização de novos estudos a campo para avaliar os efeitos das bactérias dentro da interface clima-solo-planta-animal.

Referências

- Aarab, S., Arakrak, A., Ollero, F.J., Gomes, D.F., Ribeiro, R.A., & Hungria, M. (2016) Draft genome sequence of *Pseudomonas fluorescens* strain ET76, isolated from rice rhizosphere from Northwestern Morocco. *Genome Announcements* 4, e00356-16.
- Aguirre, P. F., Olivo, C. J., Rodrigues, P. F., Falk, D. R., Adams, C. B., & Schiafino, H. P. (2018). Forage yield of Coastcross-1 pastures inoculated with *Azospirillum brasilense*. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*,40, e36392.
- Alves, J. J. A., Araújo, M. A., & Nascimento, S. S. (2009). Degradação da caatinga: uma investigação ecogeográfica. *Revista Caatinga*, 22(3), 126-135.
- Arora, N. K., Tewari, S., & Singh, R. (2013). Multifaceted plant-associated microbes and their mechanisms diminish the concept of direct and indirect PGPRs. In *Plant microbe symbiosis: Fundamentals and advances* (pp. 411-449). Springer, New Delhi.
- Bardgett, R. D., and Wardle, D. A. (2010). Above-Belowground Linkages: Biotic Interactions, Ecosystem Processes, and Global Change. Oxford: Oxford University Press.
- Bartchen, A., Fiori, C. C. L., Watanabe, S. H., & Guarido, R. C. (2010). Efeito da inoculação de *Azospirillum brasilense* na produtividade do milho (*Zea mays*). *Revista Campo Digit@l*, 5(1), 56-59.
- Batista, K. (2009). Resposta do capim-marandu a combinações de doses de nitrogênio e enxofre. *Trabalho de conclusão de curso (Mestrado) na Escola Superior de Agricultura —Luiz de Queiroz*. São Paulo: Piracicaba.
- Canto, M. W., Hoeschl, A. R., & Bona Filho, A. (2013). Características do pasto e eficiência agronômica de nitrogênio em capim-tanzânia sob pastejo contínuo, adubado com doses de nitrogênio. *Ciência Rural*, 43(4), 682-688.
- Cassán, F., & Diaz-Zorita, M. (2016). *Azospirillum* sp. in current agriculture: From the laboratory to the field. *Soil Biology & Biochemistry*, 103, 117-130.

Cassán, F., Maiale, S., & Masciarelli, O. (2009) Cadaverine production by *Azospirillum brasilense* and its possible role in plant growth promotion and osmotic stress mitigation. *European Journal of Soil Biology*, 45, 12–19.

Cassán, F., Perrig, D., Sgroy, V., Masciarelli, O., Penna, C., & Luna, V. (2008). *Azospirillum brasilense* Az39 and *Bradyrhizobium japonicum* E109, inoculated singly or in combination, promote seed germination and early seedling growth in corn (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.). *European Journal of Soil Biology*, 45(1), 28-35.

Dias-Filho, M. B. (2014). Diagnóstico das pastagens no Brasil. Embrapa Amazônia Oriental.

Dobbelaere, S., Croonenborghs, A., Thys, A., Ptacek, D., Okon, Y., & Vanderleyden, J. (2002) Effect of inoculation with wild type *Azospirillum brasilense* and *A. irakense* strains and development and nitrogen up take of spring wheat and grain maize. *Biology and Fertility of Soils*, 36, 284–297.

Fukami, J., Abrantes, J. L. F., del Cerro, P., & Nogueira, M. A. (2018). Revealing strategies of quorum sensing in *Azospirillum brasilense* strains Ab-V5 and Ab-V6. *Archives of Microbiology*, 200, 47–56.

Fukami, J., Ollero, F. J., Megías, M., & Hungria, M. (2017). Phytohormones and induction of plant-stress tolerance and defense genes by seed and foliar inoculation with *Azospirillum brasilense* cells and metabolites promote maize growth. *AMB Express*, 7, 153–166.

Gouda, S., Kerry, R. G., Das, G., Paramithiotis, S., Shin, H. S., & Patra, J. K. (2018). Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture. *Microbiological Research*, 206, 131–140.

Guimarães, G. G. F. (2011). Substâncias húmicas como aditivos para o controle da volatilização de amônia proveniente da ureia. *Trabalho de Conclusão de Curso (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa*. Viçosa.

Gupta, K., Dey, A., & Gupta, B. (2013) Plant polyamines in abiotic stress responses. *Acta Physiologiae Plantarum* 35, 2015–2036.

Gupta, G., Parihar, S. S., Ahirwar, N. K., Snehi, S. K., & Singh, V. (2015). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): current and future prospects for development of sustainable agriculture. *J Microb Biochem Technol*, 7(2), 096-102.

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

Hungria, M., Nogueira, M. A., & Araújo, R. S. (2016). Inoculation of *Brachiaria* spp. with the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense*: An environment-friendly component in the reclamation of degraded pastures in the tropics. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 221, 125–131.

Hungria, M., Campo, R. J., Souza, E. M. S., & Pedrosa, F. O. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. *Plant and Soil*, 331(1), 413-425.

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(1), 61-67.

Macedo, M. C. M. (2005) Pastagens no ecossistema Cerrado: evolução das pesquisas para o desenvolvimento sustentável. In: Reunião anual da sociedade brasileira de zootecnia. Goiânia: SBZ/UFG.

Megías, E., Megías, M., Ollero, F. J., & Hungria, M. (2016). Draft genome sequence of *Pantoea ananatis* strain AMG521, a rice plant growth-promoting bacterial endophyte isolated from the Guadalquivir marshes in southern Spain. *Genome Announcements*, 4, e01681-15.

Morais, J. P., Cancellier, L. L., Afférri, F. S., Carvalho, E. V., Camilo, A., & Uate, J. V. (2012). Crescimento Inicial e correlação com produtividade em diferentes genótipos de milho e doses de nitrogênio. In: Congresso Nacional De Milho E Sorgo, Águas de Lindóia-SP. Anais, 29(1).

Nepomuceno, M. P., Varela, R. M., Alves, P. L. C. A., & Martins, J. V. F. (2012). Períodos de dessecação de *Urochloa ruziziensis* e seu reflexo na produtividade da soja RR. *Planta Daninha*, 30(3), 557-65.

Okon, Y., & Labandera-Gonzalez, C. A. (1994). Agronomic applications of *Azospirillum*: an evaluation of 20 years worldwide field inoculation. *Soil Biol. Biochem*, 12(26), 1591-1601.

Pedreira, B. C. E., Barbosa, P. L., Pereira, L. E. T., Mombach, M. A., Domiciano, L. F., Pereira, D. H., & Ferreira, A. Tiller density and tillering on *Brachiaria brizantha* cv. Marandu pastures inoculated with *Azospirillum brasilense*. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 69(4).

Pimentel, R. M., Bayão, G. F. V., Lelis, D. L., Cardoso, A. J. S., Saldarriaga, F. V., Melo, C. C. V., Souza, F. B. M., Pimente, A. C. S., Fonseca, D. M., & Santos, M. E. R. (2016). Ecofisiologia de plantas forrageiras. *PUBVET*, 10(9), 666-679.

Reis Junior, F. B., Machado, C. T. T., Machado, A. T., & Sodek, L. Inoculação de *Azospirillum amazonense* em dois genótipos de milho sob diferentes regimes de nitrogênio. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 32(3), 1139- 1146.

Reis, R. A., Ruggieri, A. C., Oliveira, A. A., Azenha, M. V., & Casagrande, D. R. (2012). Suplementação como estratégia de produção de carne de qualidade em pastagens tropicais. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, 14, 642-655.

Rochette, P., Angers, D. A., Chantigny, M. H., & Macdonald, J. D. Ammonia volatilization following surface application of urea to tilled and no-till soils: a laboratory comparison. *Soil and Tillage Research*, 103(2), 310-315, 2009.

Silva, R. G., Fernandez, F. H., & Lopes, M. N. (2013). Manejo de pasturas bajo riego y fertilización en sistemas de producción intensivos en condiciones *tropicales*. *Cuadernos Científicos Girarz*, 13, 143-154.

Taiz, L., & Zeiger, E. (2013). 'Fisiologia vegetal.' (Artemed: Porto Alegre, RS, Brazil). treated pig slurries and composts. *Soil Biology and Biochemistry*, 38(9), 2782-2793.

Vallejo, A., Skiba, U. M., García-Torres, L., Arce, A., López-Fernández, & S., Sánchezmartín, L. (2006). Nitrogen oxides emission from soils bearing a potato crop as influenced by fertilization with *Azospirillum* sp. *Soil Biology and Biochemistry*, 16 (9), 2782-2793.

Van Groenigen, J. W., Huygens, D., Boeckx P., Kuyper T. W., Lubbers I. M., Rütting T., & Groffman, P. M. (2015). The soil N cycle: new insights and key challenges. *Soil*, 1(1), 235-245.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Camila Fernandes Domingues Duarte – 16,5%

Ulysses Cecato – 10,1%

Mariangela Hungria – 10,1%

Henrique Jorge Fernandes – 10,1%

Thiago Trento Biserra – 16,5%

Divaney Mamédio – 16,5%

Sandra Galbeiro – 10,1%

Marco Antônio Nogueira – 10,1%