

EFEITOS DA INOCULAÇÃO DE *Azospirillum brasilense* EM ÁREA DE PASTAGEM

EFFECTS OF INOCULATION *Azospirillum brasilense* IN PASTURES AREA

Tiago GAZOLA¹; Márcio Christian Cerpa DOMINGUES²; Márcio Furriela DIAS³; Mário Luiz CIPOLA FILHO⁴; Diego BELAPART⁵; Edicarlos Batista de CASTRO⁶.

¹ Mestrando em Agronomia, Dep. de Proteção Vegetal da Faculdade de Ciências Agrônomicas – FCA/UNESP – Campus de Botucatu - tiago-gazola@hotmail.com

² Professor da disciplina de Fisiologia Vegetal da Universidade de Marília – UNIMAR.

³ Engenheiro Agrônomo Autônomo formado na Universidade de Marília – UNIMAR.

⁴ Engenheiro Agrônomo Autônomo formado na Universidade de Marília – UNIMAR.

⁵ Mestrando em Agronomia, Dep. de Produção e Melhoramento Vegetal da Faculdade de Ciências Agrônomicas - FCA/UNESP - Campus de Botucatu.

⁶ Doutorando em Agronomia, Dep. de Proteção Vegetal da Faculdade de Ciências Agrônomicas FCA/UNESP- Campus de Botucatu.

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi avaliar os efeitos da inoculação da bactéria diazotrófica *Azospirillum brasilense* em uma área de pastagem em estado de semi-degradação estabelecida com *Brachiaria decumbens*. O experimento foi realizado em condições de campo e instalado em delineamento de blocos ao acaso com 8 tratamentos e 4 repetições. Os tratamentos realizados foram as dosagens de 1 mL⁻¹; 2 mL⁻¹; 4 mL⁻¹; 8 mL⁻¹; 16 mL⁻¹; 32 mL⁻¹ e 64 mL⁻¹ do inoculante comercial Masterfix Gramíneas (Stoller do Brasil). As inoculações foram realizadas por meio de três pulverizações foliares, em intervalos mensais. Foi avaliado o comprimento médio de perfilhos, número de folhas em perfilhos, número de perfilhos em touceiras, teores de massa fresca e seca e teor de nitrogênio foliar. Diante dos resultados obtidos, sugere-se que a inoculação de *Azospirillum brasilense* em *Brachiaria decumbens*, de acordo com os métodos utilizados e descritos neste experimento, passa a ser uma opção economicamente viável e sustentável, pois proporcionou aumentos significativos nos parâmetros avaliados. Os tratamentos que receberam as maiores dosagens, 32 mL⁻¹ e 64 mL⁻¹, proporcionaram maior desenvolvimento da forrageira, pois foram significativamente superiores aos demais tratamentos, sendo recomendado seu uso em substituição total e/ou parcial aos fertilizantes químicos nitrogenados.

Palavras-chave: Bactérias diazotróficas. *Brachiaria decumbens*. Fixação biológica de nitrogênio. Forrageira.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effects of inoculation diazotrophic bacteria *Azospirillum brasilense* in a pasture area in established state of semi-degradation with *B. decumbens*. The experiment was conducted under field conditions and installed on design of blocks with 8 treatments and 4 repetitions. The treatments were carried dosages of 1 mL⁻¹; 2 mL⁻¹; 4 mL⁻¹; 8 mL⁻¹; 16 mL⁻¹; 32 mL⁻¹ and 64 mL⁻¹ commercial inoculant Masterfix Grasses

(Stoller of Brazil). Inoculations were performed using three foliar sprays at monthly intervals. We evaluated the average length of tillers, number of leaves on tillers, tillers number in clumps, fresh matter content and dry and leaf nitrogen content. On the results, it is suggested that inoculation of *Azospirillum brasilense* in *Brachiaria decumbens*, according to the methods used and described in this experiment, becomes an economically viable and sustainable option because it provided a significant increase in the evaluated parameters. Treatments receiving the highest doses, 32 mL^{-1} and 64 mL^{-1} , provided further development of forage, because they were significantly higher than other treatments, and recommend its use in total replacement and / or partial to nitrogenous fertilizers.

Keywords: Biological nitrogen fixation. *Brachiaria decumbens*. Diazotrophic bacterium. Fodder.

INTRODUÇÃO

O Brasil apresenta aproximadamente 200 milhões de hectares de pastagens cultivadas principalmente com gramíneas do gênero *Brachiaria* (BODDEY e DÖBEREINER, 2006), em função da sua maior tolerância às condições de solos ácidos e de baixa fertilidade e também pelo seu alto valor forrageiro, sendo que, as espécies de maior importância são *B.decumbens*, *B.brizantha*, *B.ruziziensis* e *B.humidicola* (SOBRINHO *et al.* 2005). Segundo Pereira; Doberreiner; Neyra (1981), algumas espécies de *Brachiaria* são capazes de receber nutrientes necessários ao seu desenvolvimento pela fixação biológica de nitrogênio (FBN). Este processo é realizado por uma pequena parcela de organismos procariontes que possuem uma enzima denominada nitrogenase, capaz de reduzir o N-atmosférico para a forma inorgânica combinada (NH_3). Contudo, essas bactérias, conhecidas como diazotróficas, também são capazes de produzir hormônios vegetais, dentre eles podemos citar o ácido-indol-acético (IAA), uma auxina importante que estimula o crescimento radicular da planta (VANDE BROEK e VANDERLEYDEN, 1995).

A fixação biológica de nitrogênio em pastagens tem grande potencial para se tornar uma técnica aplicável, principalmente em condições de déficit hídrico e/ou baixa fertilidade (ITZIGSOHN *et al.*, 2000). Nestas situações rizobactérias que produzem hormônios podem mudar a morfologia radicular e aumentar sua biomassa, isso amplia a capacidade de exploração do solo (MALIK *et al.*, 1997). Araújo (2008) em estudo com a inoculação de *Bacillus subtilis* demonstrou que o teor de nitrogênio foliar no milho aumentou significativamente, mesmo considerando que a bactéria utilizada não é diazotrófica, porém, já foi caracterizada como produtora de hormônios por Araújo; Henning; Hungria (2005).

O nitrogênio por sua vez é um dos principais componentes das moléculas biológicas, faz parte

da estrutura da planta e isso o torna essencial à sobrevivência e ao crescimento dos organismos, além de ser o nutriente mais caro e mais limitante na produção vegetal (HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2007). De acordo com Oliveira *et al.* (1997), a limitação de nitrogênio é um dos fatores primordiais na degradação de pastagens. Este nutriente também pode ser removido do sistema solo-planta mediante a exportação por produto animal (principalmente carne), lixiviação, desnitrificação e volatilização (FERREIRA *et al.*, 2000).

Assim, para suprir a falta desse nutriente é necessário realizar adubações, entretanto o valor do insumo se torna um problema, e somado a isso, pode causar impacto ambiental devido principalmente à sua volatilização e sua lixiviação que pode contaminar o lençol freático (ITZIGSOHN *et al.*, 2000). O uso de bactérias diazotróficas, principalmente do gênero *Azospirillum*, tem grande potencial para ser utilizado, quando comparada a aplicação de fertilizantes nitrogenados, pois é economicamente viável e apresenta pouco risco de contaminação ao meio ambiente (OKON e VANDERLEYDEN, 1997).

Com a possibilidade de uso dessas bactérias diazotróficas, objetivou-se avaliar o efeito de pulverizações com um inoculante comercial a base de bactérias diazotróficas, da espécie *Azospirillum brasilense*, em área de pastagem em estado de semi-degradação composta por *Brachiaria decumbens* na região centro-oeste paulista, no município de Marília-SP.

MATERIAL E MÉTODO

O experimento foi conduzido em condições de campo, na Fazenda Experimental Marcelo Mesquita Serva, pertencente à Universidade de Marília-UNIMAR, localizada no município de Marília-SP (22°

25° 95' S e 49° 49' 81" W), no período compreendido entre fevereiro à junho de 2013. O solo da área experimental era do tipo Podzólico vermelho-amarelo abrupto de textura arenosa/média com suas respectivas características químicas: pH (CaCl₂) = 5,0; M.O. = 8 g dm⁻³; P = 10 mg dm⁻³, Al³⁺ = 0 mmolc dm⁻³, H+Al = 18 mmolc dm⁻³, K⁺ = 1,2 mmolc dm⁻³, Ca²⁺ = 25 mmolc dm⁻³, Mg²⁺ = 9 mmolc dm⁻³, SB = 35 mmolc dm⁻³; CTC (T) = 52 mmolc dm⁻³; S = 6 mg dm⁻³ e V% = 66; B = 0,16 mg dm⁻³; Cu = 1,4 mg dm⁻³; Fe = 86 mg dm⁻³; Mn = 7,5 mg dm⁻³; Zn = 1,4 mg dm⁻³. As condições climáticas médias do período em que o experimento esteve à campo, foram 87,42 mm de chuva, umidade relativa do ar em 70,8% e temperatura de 25,3°C.

O local de implantação apresentava pastagem estabelecida em estado de semi-degradação, com a forrageira *Brachiaria decumbens* e foi previamente preparado com uma roçagem mecânica para posterior implantação do experimento. Após a roçagem, os tratamentos foram dispostos em delineamento de blocos ao acaso, composto por 8 tratamentos e 4 repetições, sendo que cada parcela apresentava uma área útil de 18m².

Os tratamentos foram representados por inoculações, em forma de aplicações foliares, com o produto comercial Masterfix Gramíneas (Stoller do Brasil), composto por 2x10⁸ unidades formadoras de colônia mL⁻¹ de *Azospirillum brasilense*. As pulverizações foram realizadas com aplicador costal JACTO[®] modelo PJH20 nos dias 20/02/2013, 21/03/2013 e 21/04/2013, sendo a primeira realizada seis dias após a roçagem com as dosagens estabelecidas em 1 mL⁻¹; 2 mL⁻¹; 4 mL⁻¹; 8 mL⁻¹; 16 mL⁻¹; 32 mL⁻¹ e 64 mL⁻¹ do produto comercial.

Para estipular o volume de calda utilizado no tanque do pulverizador, o mesmo foi abastecido em sua totalidade com água e procedeu-se pulverizações nas quatro parcelas da testemunha. O gasto de calda foi 5 litros, estabelecendo este o volume para as aplicações em cada tratamento.

As aplicações foram realizadas sempre ao

final da tarde, por apresentar temperaturas amenas e umidade relativa do ar mais elevada, no intuito de evitar a morte das bactérias. Buscou-se ainda, realizar as pulverizações com menor velocidade do vento para evitar deriva, e sempre com o mesmo aplicador para garantir maior uniformidade nas aplicações.

Os parâmetros avaliados foram: comprimento médio (cm) de perfilhos (CP), número de folhas no perfilho (NFP), número de perfilhos em touceiras (NPT), massa fresca (MF), massa seca (MS) e teor foliar de nitrogênio (TFN).

As avaliações de CP e NFP ocorreram aos 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias após a primeira aplicação (DAPA), em dez perfilhos previamente selecionados e demarcados em cada unidade experimental. Para CP foi medido o comprimento destes perfilhos e para NFP seus respectivos números de folhas. Com os dados em mãos, realizou-se a média aritmética para posterior cálculo estatístico.

Para NPT, as avaliações ocorreram aos 21, 42, 63 e 84 DAPA. Em cada parcela foram selecionadas e demarcadas duas touceiras para as contagens do número de perfilhos. Para o cálculo estatístico utilizou-se a média da quantidade destes perfilhos nas touceiras utilizadas de cada parcela.

A quantificação da MF e MS ocorreram nos mesmos períodos descritos em NPT. Para as coletas de biomassa, uma armação metálica medindo 1 m² foi lançada aleatoriamente em cada parcela. Com auxílio de uma tesoura, a biomassa de cada m² foi cortada e disposta em sacos de papel e pesada para obter os teores de MF. Posteriormente o material coletado foi encaminhado para estufa de circulação forçada de ar a 65°C durante 72 horas para obtenção da MS.

Na última coleta de biomassa, após as pesagens foram separadas 20 gramas de MS de cada parcela coletada para análise laboratorial de TFN. Este material foi encaminhado ao Laboratório de Análises Agronômicas da Fundação Shunji Nishimura de Tecnologia, localizado no município de Pompéia, SP.

Os dados foram submetidos à análise estatística

pelo teste de *t* a 5% de probabilidade com auxílio do *software* DEX/UFLA Sisvar versão 5.3 (Build 77).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os tratamentos que receberam apenas uma aplicação não foram significativos para o comprimento médio dos perfilhos (CP), isso ocorreu provavelmente, pelo solo apresentar baixa população de bactérias diazotróficas que estavam ainda em processo de colonização. Para confirmar esta hipótese, uma segunda aplicação foi realizada e verificou-se que aos 45 e 60 DAPA, os resultados apresentados foram superiores (Tabela 1). Estes resultados também foram demonstrados por Guimarães *et al.* (2011), que ao testarem bactérias diazotróficas em pastagens, constataram aumentos significativos na altura dos perfilhos quando comparados à testemunha sem aplicação.

Tabela 1 – Comprimento médio de perfilhos de *Brachiaria decumbens* aos 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias após a primeira aplicação foliar de *Azospirillum brasilense*.

Tratamentos	Comprimento médio de perfilhos (cm)					
	15 DAPA	30 DAPA	45 DAPA	60 DAPA	75 DAPA	90 DAPA
Testemunha	18,02 a	27,68 a	44,05 b	52,15 b	53,10 c	54,55 d
1 mL ⁻¹	18,65 a	27,07 a	44,63 ab	57,81 b	60,45 c	64,72 dc
2 mL ⁻¹	18,53 a	28,25 a	46,46 ab	56,83 b	58,47 c	62,77 d
4 mL ⁻¹	18,50 a	23,40 a	48,46 ab	66,11 ab	67,02 bc	69,17 dc
8 mL ⁻¹	18,84 a	25,22 a	51,46 ab	66,78 ab	67,30 bc	68,75 dc
16 mL ⁻¹	17,91 a	23,25 a	46,10 ab	57,42 b	68,60 bc	79,42 bc
32 mL ⁻¹	20,45 a	23,21 a	52,17 ab	68,32 ab	81,60 ab	94,48 ba
64 mL ⁻¹	19,43 a	30,31 a	61,15 a	83,32 a	95,35 a	108,78 a
F	0,25 ^{ns}	0,64 ^{ns}	1,11 ^{ns}	1,60 ^{ns}	6,55*	11,87*
C.V. (%)	17,33	25,70	20,75	24,38	15,41	13,92

^{ns} Não-significativo a 5% de probabilidade pelo teste de *t*; * significativo a 5% de probabilidade pelo teste de F. Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si.

Na avaliação após a terceira aplicação (75 e 90 DAPA) a dose de 64 mL⁻¹ proporcionou resultados de CP superiores aos demais tratamentos, mesmo que as plantas apresentavam estágio final vegetativo e início do estágio reprodutivo neste período. Isso se deve ao aumento populacional das bactérias diazotróficas

presentes no solo, que passam a fixar maior taxa de nitrogênio atmosférico. Segundo Silva; Santos; Dubeux (2004), a altura do pasto está diretamente ligada a maior produção de massa seca, além disso, nos pastos rasteiros como os de capim braquiária, as alturas mais elevadas facilitam o pastejo e, conseqüentemente o desempenho animal. Entretanto, deve-se ressaltar que essa altura do pasto deve estar associada à idade da planta e a qualidade da forragem disponível para os animais (BONFIM-SILVA *et al.*, 2010).

Ao analisar o número de folhas em perfilhos (NFP) observou-se diferenças nos tratamentos (Tabela 2). Segundo Carvalho *et al.* (2000), situações de desfolha podem ocorrer durante o desenvolvimento da forragem, para compensar estas perdas as gramíneas desenvolveram ao longo de sua evolução o perfilhamento, que serve como mecanismo de produção e sobrevivência nestas circunstâncias. Conforme foi comprovado nos dados obtidos neste experimento.

Tabela 2 – Número de folhas em perfilhos de *Brachiaria decumbens*, aos 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias após a primeira aplicação foliar de *Azospirillum brasilense*.

Tratamentos	Número de folhas em perfilhos					
	15 DAPA	30 DAPA	45 DAPA	60 DAPA	75 DAPA	90 DAPA
Testemunha	4,72 abc	5,35 a	5,15 c	6,02 a	4,70 cd	5,00 bc
1 mL ⁻¹	4,67 abc	5,42 a	5,30 c	5,10 a	4,27 d	4,67 a
2 mL ⁻¹	4,92 ab	5,40 a	5,37 bc	5,02 a	4,65 cd	5,67 abc
4 mL ⁻¹	4,55 bc	5,62 a	5,25 c	4,67 a	4,90 cd	5,75 abc
8 mL ⁻¹	4,57 bc	5,42 a	5,52 bc	5,30 a	5,05 bc	5,67 abc
16 mL ⁻¹	4,32 c	5,40 a	5,25 c	4,92 a	4,97 c	5,75 abc
32 mL ⁻¹	4,70 abc	5,75 a	6,02 ab	5,60 a	5,65 a	6,12 ab
64 mL ⁻¹	5,22 a	5,65 a	6,55 a	6,22 a	6,12 a	6,52 a
F	1,95 ^{ns}	0,77 ^{ns}	4,78*	0,85 ^{ns}	7,63*	1,62 ^{ns}
C.V. (%)	8,16	5,90	8,02	22,03	8,45	16,21

^{ns} Não-significativo a 5% de probabilidade pelo teste de *t*; * significativo a 5% de probabilidade pelo teste de F. Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si.

É possível verificar que a dose de 64 mL⁻¹ em todas as avaliações apresentou resultados superiores (Tabela 2). Existem limitações quanto ao número de folhas em cada perfilho da planta. Segundo Martuscello; Oliveira; Cunha (2011), as características morfológicas e estruturais da *Brachiaria decumbens*,

descreveram valores abaixo de 6 folhas por perfilho, demonstrando que a dose de 64 mL⁻¹ do presente trabalho foi superior a estes resultados encontrados. Entretanto, Guimarães *et al.* (2011), ao inocular *Azospirillum spp.* em *Brachiaria decumbens* em experimento casa de vegetação, observaram que os tratamentos com esta bactéria proporcionaram aumento de 10% no número de folhas em relação à testemunha.

Ao analisar o número de perfilhos em touceiras de *Brachiaria decumbens* (NPT), observou-se um incremento significativo a partir da segunda aplicação do inoculante (Tabela 3).

Tabela 3 – Número de perfilhos em touceiras de *Brachiaria decumbens*, aos 21, 42, 63 e 84 dias após a primeira aplicação foliar de *Azospirillum brasilense*.

Tratamentos	Número de perfilhos em touceiras			
	21 DAPA	42 DAPA	63 DAPA	84 DAPA
Testemunha	13,87 a	25,12 ab	34,62 bc	23,12 c
1 mL ⁻¹	16,87 a	35,62 ab	58,37 a	29,25 cb
2 mL ⁻¹	14,25 a	25,87 ab	33,87 bc	33,87 cb
4 mL ⁻¹	17,50 a	34,50 ab	40,62 abc	46,50 cb
8 mL ⁻¹	13,00 a	21,12 b	30,12 c	42,75 cb
16 mL ⁻¹	17,25 a	37,37 ab	55,75 ab	54,25 b
32 mL ⁻¹	17,62 a	35,75 ab	63,25 a	103,25 a
64 mL ⁻¹	18,25 a	42,87 a	45,37 abc	119,75 a
F	0,53 ^{ns}	1,43 ^{ns}	2,49 ^{ns}	14,024*
C.V. (%)	34,60	38,29	35,04	33,55

^{ns} Não-significativo a 5% de probabilidade pelo teste de t; * significativo a 5% de probabilidade pelo teste de F. Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si.

Aos 21 DAPA as doses não influenciaram no aumento do NPT. Enquanto que para os demais períodos de avaliação, com aumento do número de aplicações e emprego de maiores dosagens, os tratamentos que receberam 32 mL⁻¹ e 64 mL⁻¹ do produto foram superiores aos demais tratamentos, exceto aos 63 DAPA na dose de 64 mL⁻¹. Estes resultados estão de acordo com Guimarães *et al.* (2011), que verificaram aumento de aproximadamente 8% no número de folhas e de 7% no número de perfilhos dos tratamentos inoculados em relação à ausência da bactéria em pastagens de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. Segundo Ferreira *et*

al. (1995), a disponibilidade de forragem presente na pastagem e a produção de massa seca estão diretamente relacionadas com a densidade populacional de perfilhos por unidade de área e de sua altura.

Os resultados de massa fresca (MF) foram significativos para todos os períodos de avaliação. É possível verificar que na primeira avaliação (21 DAPA) os resultados já apresentaram diferenças entre si.

Tabela 4 – Massa fresca de *Brachiaria decumbens*, aos 21, 42, 63 e 84 dias após a primeira aplicação foliar de *Azospirillum brasilense*.

Tratamentos	massa fresca (g m ⁻²)			
	21 DAPA	42 DAPA	63 DAPA	84 DAPA
Testemunha	94,00 cd	203,75 b	121,25 b	160,00 c
1 mL ⁻¹	72,75 d	180,00 b	187,50 b	155,00 c
2 mL ⁻¹	93,75 cd	217,50 b	242,50 b	207,50 c
4 mL ⁻¹	159,25 abc	278,75 ab	191,25 b	165,00 c
8 mL ⁻¹	138,75 abcd	223,75 b	195,00 b	208,75 c
16 mL ⁻¹	114,75 bcd	246,25 b	265,00 b	212,50 c
32 mL ⁻¹	161,00 ab	350,00 ab	580,00 a	453,75 b
64 mL ⁻¹	182,75 a	437,50 a	575,00 a	573,75 a
F	3,02 ^{ns}	2,12*	11,751*	18,37*
C.V. (%)	35,43	44,47	35,56	27,49

^{ns} Não-significativo a 5% de probabilidade pelo teste de t; * significativo a 5% de probabilidade pelo teste de F. Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si.

É possível observar que mesmo com apenas uma única aplicação (21 DAPA) de *Azospirillum brasilense*, a MF foi superior à testemunha sem aplicação para os tratamentos com a dose de 8, 32 e 64 mL⁻¹ (Tabela 4). A partir dos 63 DAPA as dosagens de 32 e 64 mL⁻¹ se destacaram com um aumento de cinco vezes mais para a MF em relação à testemunha. De acordo com Oliveira; Oliveira; Barioni (2007), o uso de bactérias diazotróficas em pastagens tem sido apontada como uma alternativa sustentável para o aumento da produção de forragem, devido ao baixo custo destes produtos quando comparados a fertilizantes nitrogenados. Estes autores mostraram que sem aplicação de nitrogênio na *Brachiaria brizantha* cv. Marandu e com inoculação de bactérias diazotróficas a forrageira produziu mais biomassa que a testemunha (sem aplicação de N e sem inoculação).

É possível observar que em todos os períodos avaliados foram significativos, assim como para a MF das plantas de *B. decumbens*, quando foi avaliado a massa seca (MS), os resultados foram semelhantes (Tabela 5).

Tabela 5 – Massa seca de *Brachiaria decumbens* aos 21, 42, 63 e 84 dias após a primeira aplicação foliar de *Azospirillum brasilense*.

Tratamentos	massa seca (gramas)			
	21 DAPA	42 DAPA	63 DAPA	84 DAPA
Testemunha	45,14 bcd	70,90 bc	56,25 b	58,75 c
1 mL ⁻¹	39,34 cd	65,68 c	103,75 b	57,50 c
2 mL ⁻¹	38,29 d	76,80 bc	103,75 b	71,25 c
4 mL ⁻¹	43,75 bcd	89,44 abc	88,75 b	48,75 c
8 mL ⁻¹	54,01 abc	78,85 bc	100,00 b	77,50 c
16 mL ⁻¹	47,52 bcd	79,79 abc	111,25 b	75,00 c
32 mL ⁻¹	55,26 ab	98,83 ab	188,75 a	138,75 b
64 mL ⁻¹	63,52 a	111,91 a	196,25 a	177,50 a
F	2,85 ^{ns}	1,85 ^{ns}	5,90*	16,50*
C.V. (%)	21,18	26,69	33,76	25,40

^{ns} Não-significativo a 5% de probabilidade pelo teste de t; * significativo a 5% de probabilidade pelo teste de F. Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si.

Em todos os períodos avaliados o tratamento com 64 mL⁻¹ apresentaram os maiores resultados de MS, além da dose de 32 mL⁻¹ para o período de 63 DAPA. Estes tratamentos proporcionaram um aumento de aproximadamente 4 vezes da MS comparados a testemunha (Tabela 5). De acordo com o desenvolvimento da planta, à partir dos 63 DAPA observou-se que a MF e MS diminuiu. Isso se deve ao fato das plantas de capim braquiária atingir o estágio reprodutivo, e pode estar relacionado com a desfolha por parte da planta.

Na tabela 6 verifica-se o teor foliar de nitrogênio (TFN), os resultados demonstram que as aplicações de doses crescentes apresentaram aumento no teor de nitrogênio.

Tabela 6 – Teor foliar de nitrogênio em *Brachiaria decumbens* 90 dias após a primeira aplicação foliar de *Azospirillum brasilense*.

Tratamentos	Teor foliar de nitrogênio
	90 DAPA
Testemunha	8,31 d
1 mL ⁻¹	7,97 d
2 mL ⁻¹	8,78 cd
4 mL ⁻¹	8,92 bcd
8 mL ⁻¹	10,31 abc
16 mL ⁻¹	10,00 abc
32 mL ⁻¹	10,51 ab
64 mL ⁻¹	10,98 a
F	4,06*
C.V. (%)	11,69

^{ns} Não-significativo a 5% de probabilidade pelo teste de t; * significativo a 5% de probabilidade pelo teste de F. Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si.

Segundo Guimarães *et al.* (2011), a FBN poderia minimizar o problema da perda por processo natural. De acordo com Itzigsohn *et al.* (2000), o uso destes microorganismos associados à pastagens e ao manejo adequado do solo, é vantajoso economicamente e não apresentam do ponto de vista ecológico e ambiental impactos negativos. De acordo com Bashan e Holguin (1997), além do aporte de nitrogênio, estes microorganismos excretam fitormônios essenciais na promoção do crescimento de plantas em geral. Com os dados analisados, pode-se notar que o TFN aos 90 DAPA aumentou significativamente, quando comparados à testemunha, este resultado está de acordo com Silva *et al.* (2010), que em estudo sobre fixação biológica de nitrogênio em pastagens com diferentes intensidades de corte, observaram que a contribuição da FBN pelas bactérias diazotróficas nas pastagens variou de 10 a 42%.

O TFN encontrado neste trabalho, apresentou

características similares ao experimento realizado por Guimarães *et al.* (2011), sobre os efeitos da inoculação dos níveis de nitrogênio nas folhas, relataram aumentos próximos a 10% em plantas de *Brachiaria decumbens* quando comparados à forrageira sem a presença do inoculante. Em função disso, a busca por microrganismos fixadores de N² atmosférico, ganha a cada vez mais importância na agricultura brasileira, pois com a não utilização de nitrogênio oriundo de fertilizante químico na cultura da soja, por exemplo, o país deixa de gastar mais de 2 bilhões de reais ao ano (HUNGRIA, 2010).

CONCLUSÃO

O uso de *Azospirillum brasilense* via aplicação foliar se mostrou promissor por proporcionar aumentos significativos no comprimento médio de perfilhos, no número de perfilhos em touceiras, em número de folhas e massa fresca e seca da pastagem. Além disso, ganhos crescentes no teor de nitrogênio foliar da forrageira em estudo foram observados, sugerindo sua recomendação em substituição total e/ou parcial à fertilizantes nitrogenados. No entanto, é necessária cautela nestas recomendações, haja vista que, a fixação biológica de nitrogênio em gramíneas sofre forte influência das condições edafoclimáticas e isso demanda estudos regionais para compreender as características de cada local.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, F.F.; HENNING, A.A.; HUNGRIA, M. Phytohormones and antibiotics produced by *Bacillus subtilis* and their effects on seed pathogenic fungi and on soybean root development. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 21, p.1639-1645, 2005.

ARAÚJO, F.F. Inoculação de sementes com *Bacillus subtilis*, formulado com farinha de ostras e desenvolvimento de milho, soja e algodão. *Ciência e Agrotecnologia*, v.32, p.456-462, 2008.

BASHAN, Y; HOLGUIN, G. *Azospirillum* – plant relationships: environmental and physiological advances (1990-1996). *Canadian J. Microbiol.*, 43:103-121, 1997.

BONFIM-SILVA, E. M. *et al.* Produção de capim-marandu em sistemas de recuperação no Cerrado. *Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer-Goiânia*, v.6, n11; p.1-9, 2010.

CARVALHO, C.A.B. *et al.* Demografia do perfilhamento e taxas de acúmulo de matéria seca em capim 'tifton 85' sob pastejo. *Scientia Agricola*, Piracicaba, v. 57, n. 4, p. 591-600, out./dez. 2000

DOBBELAERE, S.V.; ANDERLEYDEN, J.; OKON, Y. Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. *Critical Reviews in Plant Sciences*, v.22, p.107-149, 2003.

FERREIRA, E.; *et al.* Recuperação do nitrogênio da urina bovina pela pastagem de *Brachiaria humidicola* (Rendle) Schweickt cultivada no sul da Bahia. In: *Anais de XVI Reunión Latinoamericana de Produccion Animal y Congreso Uruguayo de Produccion Animal*, Montevideo, 2000.

FERREIRA, E.; *et al.* Destino do 15N- urina bovina aplicado na superfície de um solo Podzólico descoberto, ou sob cultura de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. In: *Anais XXXII Reunião Anual da SBZ*, Brasília, p.109-110, 1995.

GUIMARÃES, S.L.; *et al.* Produção de Capim-Marandu inoculado com *Azospirillum spp.* *Enciclopédia Biosfera*, v.7, n. 13, pp.816-826, 2011.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; MENDES, I.C. A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro. Londrina: Embrapa Soja, 2007. 80p.

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*. v.331, n.1, pp.413-425, 2010.

ITZIGSOHN, R. *et al.* Plant-growth promotion in natural pastures by inoculation with *Azospirillum brasilense* under suboptimal growth conditions. *Arid Soil Research and Rehabilitation*, v.13, p.151-158, 2000.

- MALIK, K.A. *et al.* Association of nitrogen-fixing plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) with kallar grass and rice. *Plant Soil*, v.194, p.37-44, 1997. *Critical Review in Plant Science*, Kidlington, v.14: p.445-466, 1995.
- MARTUSCELLO, J.A.; OLIVEIRA, A.B.; CUNHA, D.N.F.V. Produção de biomassa e morfogênese do capim-braquiária cultivado sob doses de nitrogênio ou consorciado com leguminosas. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, Salvador, v.12, n.4, p.923-934, 2011.
- OKON, Y.; VANDERLEYDEN, J. Root-associated *Azospirillum* species can stimulate plants. *American Society for Microbiology News*, Washington, v.63, p.364-370, 1997.
- OLIVEIRA, O.C. *et al.* A baixa disponibilidade de nutrientes do solo como uma causa potencial da degradação de pastagens no cerrado brasileiro. In: *Anais III Simpósio Nacional de Recuperação de Áreas Degradadas*, Ouro Preto, Sociedade Brasileira de Áreas Degradadas/ Universidade federal de viçosa, p.110-117,1997.
- OLIVEIRA, P.P.A.; OLIVEIRA, W. S.; BARIONI, W. J. Produção de forragem e qualidade de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu com *Azospirillum brasilense* e fertilizada com nitrogênio. *Embrapa pecuária sudeste*, São Carlos, SP, 2007.
- PEREIRA, P.A.A.; DOBEREINER, J.; NEYRA, C.A. Nitrogen assimilation and dissimilation in Five genotypes of *Brachiaria spp.* *Canadian Journal of Botany*, Ottawa, v.59, p. 1475-1479, 1981.
- SILVA, M.C.; SANTOS, M.V.F.; DUBEUX, J.R. Avaliação de métodos para recuperação de pastagens de *Braquiaria* no agreste de Pernambuco. Aspectos quantitativos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v.33, n.6, p.1999-2006, 2004.
- SILVA, L.L.G.G. *et al.* Fixação biológica de nitrogênio em pastagens com diferentes intensidades de corte. *Arch. Zootec.* v.59, p. 21-30. 2010.
- SOBRINHO, F.S.; *et al.* 2005. Produtividade e qualidade da forragem de *Brachiaria* na região norte fluminense. Em: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 42., 2005. *Anais...* SBZ. Goiânia.
- VANDE BROEK, A.; VANDERLEYDEN, J. Review: genetics of the *Azospirillum* plant root association.