UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO UFMT INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E TECNOLÓGICAS Programa de Pós-graduação em Engenharia Agrícola

CAPIM MARANDU SUBMETIDO À INOCULAÇÃO COM BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS ASSOCIATIVAS EM LATOSSOLO VERMELHO DE CERRADO

CAROLINA SILVA ALVES DOS SANTOS

RONDONÓPOLIS-MT 2013

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO-UFMT INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E TECNOLÓGICAS Programa de Pós-graduação em Engenharia Agrícola

CAPIM MARANDU SUBMETIDO À INOCULAÇÃO COM BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS ASSOCIATIVAS EM LATOSSOLO VERMELHO DE CERRADO

CAROLINA SILVA ALVES DOS SANTOS

Engenheira Agrícola e Ambiental

Orientador (a): Prof^o Dr. SALOMÃO LIMA GUIMARÃES

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso, para obtenção do título de Mestre em Engenharia Agrícola. Na linha de pesquisa: Sistemas Agrícolas.

RONDONÓPOLIS-MT 2013

Dados Internacionais de Catalogação na Fonte.

S237c Santos, Carolina Silva Alves dos.

CAPIM MARANDU SUBMETIDO À INOCULAÇÃO COM BACTÉRIAS
DIAZOTRÓFICAS ASSOCIATIVAS EM LATOSSOLO VERMELHO DE
CERRADO / Carolina Silva Alves dos Santos. -- 2013

69 f. : il. color. ; 30 cm.

Orientador: Salomão Lima Guimarães. Co-orientadora: Edna Maria Bonfim-Silva. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Mato Grosso, Instituto de Ciências Agrárias e Tecnológicas, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, Rondonópolis, 2013. Inclui bibliografia.

1. Brachiaria brizantha. 2. Fixação biológica de nitrogênio. 3. Bactérias promotoras do crescimento. I. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Permitida a reprodução parcial ou total, desde que citada a fonte.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E TECNOLÓGICAS

Programa de Pós-graduação em Engenharia Agrícola

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: CAPIM MARANDU SUBMETIDO À INOCULAÇÃO COM BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS ASSOCIATIVAS EM LATOSSOLO VERMELHO DE CERRADO

Autora: Carolina Silva Alves dos Santos. Orientador: Dr. Salomão Lima Guimarães

Aprovada em 09 de dezembro de 2013.

Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Salomão Lima Guimarães UFMT (orientador)

Prof[®]. Dr[®]. Edna Maria Bonfim da Silva UFMT (membro interno)

MT (membro externo)

Campos UFMT (membro interno)

DEDICO

AOS MEUS PAIS,

Helena Cajá da Silva e Izidorio Alves dos Santos, que sempre acreditaram na minha capacidade e me apoiaram em todos os momentos. Obrigada pela educação e ensinamento que me deram desde criança e continuam me dando até hoje. Vocês me ensinaram a buscar o meu melhor, mesmo em meio a dificuldades. Muito Obrigada!

AO MEU TIO E AVÓ

José Ramino e Nédina, obrigada pelos conselhos, apoio e confiança em todos esses anos que estive longe de casa, no intuito de realizar mais esse sonho de dar continuidade aos meus estudos. Obrigada!

OFEREÇO

Ao Alex, que esteve presente na maior parte da realização desse trabalho e que sempre se dispôs a me ajudar e incentivar em todos os momentos tenham eles sido tristes ou alegres.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por sempre estar à frente da minha vida;

Ao Prof. Dr. Salomão Lima Guimarães, pela orientação, paciência e ensinamentos transmitidos;

À Prof^a. Dra. Edna Maria Bonfim-Silva, pela co-orientação;

À UFMT- Universidade Federal de Mato Grosso, pela oportunidade de realizar o mestrado e à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo;

Aos professores do curso do Mestrado, pela disposição em orientar e repassar o conhecimento;

Agradeço aos colegas de turma e amigos Antonio Tássio Santana Ormond, Kássio dos Santos Carvalho, Jeremias Caetano, Natacha Brun, Gislane Renata Frigo, Carlos Eduardo Cabral, Cristina Rezende, Patrícia Candida Menezes e em especial Bruna Elusa Kroth e Maria Débora Loiola Bezerra, pelas palavras e ações de incentivo e amizade durante todo o mestrado;

Aos funcionários Aguinaldo, Elias e Valeriano pelo auxílio no laboratório;

CAPIM MARANDU SUBMETIDO À INOCULAÇÃO COM BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS ASSOCIATIVAS EM LATOSSOLO VERMELHO DE CERRADO

RESUMO - Devido à busca por formas mais viáveis e econômicas de fornecimento de nitrogênio para as gramíneas forrageiras, a inoculação com bactérias diazotróficas endofíticas associativas é uma alternativa potencial, pois contribui de forma positiva para a nutrição das plantas, reduzindo o uso de fertilizantes nitrogenados e beneficiando assim a adoção desta tecnologia no meio agrícola. Objetivou-se com este trabalho avaliar a nutrição, desenvolvimento e produção do capim marandu submetido à inoculação com bactérias diazotróficas associativas em Latossolo Vermelho de Cerrado. O experimento foi conduzido em casa de vegetação na Universidade Federal de Mato Grosso, campus universitário de Rondonópolis, no período de dezembro de 2012 a março de 2013, com delineamento inteiramente casualizado, constituído por seis tratamentos (três estirpes pertencentes à coleção de culturas, sendo similares à Azospirillum amazonense, Herbaspirillum spp. e Burkholderia spp., e um inoculante comercial (formado pela composição das estirpes ABV-5 e ABV-6 de Azospirillum brasilense), adubação completa (N, P, K, nas doses de 100, 200 e 150 mg dm⁻³ respectivamente), controle(sem nitrogênio e sem inoculação) e cinco repetições. Cada parcela foi constituída por um vaso de 8 dm³, totalizando 30 parcelas. A semeadura foi realizada com quinze sementes por vaso, deixando-se posteriormente cinco plantas por vaso. A inoculação foi feita por meio da inserção de uma alíquota de 3 mL de caldo bacteriano contendo 108 células mL⁻¹ no solo próximo à área radicular de cada planta. Foram realizados três cortes na parte aérea das plantas, em intervalos de 30 dias. Após cada corte, foi feita a reinoculação das bactérias, assim como a adubações nitrogenada e potássica. As variáveis analisadas foram altura das plantas, número de folhas e perfilhos, massa seca de folhas e perfilhos,

teor de clorofila Falker, pH do solo, relação folha/colmo, relação parte aérea/raiz e concentração de nitrogênio na parte aérea e raízes e concentração de proteína bruta. Os resultados foram submetidos à análise de variância e para a separação das médias, foi utilizado o teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Houve efeito significativo isolado e interação significativa entre inoculação e cortes para a maioria das variáveis, sendo as bactérias que mais se destacaram foram as bactérias similares às estirpes de *Burkholderia* spp, *Azospirillum amazonense* e *Herbaspirillum* spp. com médias superiores de massa seca de parte aérea (26,6; 22,05 e 22,75) quando comparadas ao tratamento controle. Portanto, a inoculação em *Brachiaria brizantha* cv. Marandu com bactérias diazotróficas associativas pode contribuir de forma positiva na sua nutrição, desenvolvimento e produção, sugerindo que o uso de inoculantes pode ser promissor na redução da aplicação de fertilizantes nitrogenados empregados em pastagens de gramíneas forrageiras.

Palavras-chave: *Brachiaria brizantha*, Fixação biológica de nitrogênio, Bactérias promotoras do crescimento.

MARANDU GRASS SUBMITTED TO THE INOCULATION WITH DIAZOTROPHIC ASSOCIATIVE BACTERIA IN CERRADO OXISOL

ABSTRACT - Due to the guest for ways more viable and economical of supply nitrogen for the forage grasses, inoculation with associative endophytic diazotrophic bacteria is a potential alternative, because it contributes positively to the nutrition of plants, reducing the use of nitrogen fertilizers and will benefiting thus the adoption of this technology in the agricultural environment. The objective of this study was to evaluate nutrition, development and production of grass marandu submitted to the inoculation with diazotrophic bacteria in Oxisol of Cerrado. The experiment was conducted in a greenhouse at the Federal University of Mato Grosso, Campus of Rondonópolis, from December 2012 to March 2013, with a completely randomized design, composed by six treatments (three strains belonging to the collection of crops, similar to the Azospirillum amazonense, Herbaspirillum spp., and Burkholderia spp., respectively, and one commercial inoculant (formed by the composition of the strains ABV-5 and ABV-6 Azospirillum brasilense) completes fertilization (N, P, K, at doses of 100, 200 and 150 mg dm⁻³ respectively), control (no nitrogen and without inoculation) and five replications. Each parcel was composed per a vase of 8 dm³, totaling 30 parcels. The sowing was carried with fifteen seeds per pot, leaving themselves posteriorly five plants per pot. The inoculation was made by mean of the insertion of an aliquot of 3 mL of bacterial broth containing 108 cells ml⁻¹ in the soil near the root area of each plant. Were performed three cuts in shoot of the plants at intervals of 30 days. After each cut, was taken the re-inoculation of the bacteria, so as to the nitrogen and potassium fertilization. The variables analyzed were plant height, number of leaves and tillers, dry mass of leaves and tillers, chlorophyll content Falker, pH of the soil, relation leaf/stem, relation shoot/root and concentration of nitrogen in the shoots and roots and concentration of crude protein. The results were

submitted to analysis of variance and for separation of averages was used Tukey test at 5% probability of error. Significant effects were isolated and significant interaction between inoculation and cuts for most variables, with the bacteria that stood out were similar to strains of Burkholderia spp, Amazon Azospirillum and Herbaspirillum spp bacteria. with higher average dry mass of shoots (26.6, 22.05 and 22.75) compared to the control treatment. Therefore the inoculation of *Brachiaria brizantha* cv. Marandu with diazotrophic bacteria can contribute positively in their nutrition, production and development suggesting that the use of inoculants may be promising in reducing of the application of nitrogen fertilizers employed on forage grasses.

Keywords: *Brachiaria brizantha*, nitrogen biological fixation, bacteria growth promoters.

SUMÁRIO

	Pagina
1. INTRODUÇÃO	10
2 . REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1. Brachiaria brizantha cv. marandu	12
2.2. Adubação nitrogenada em <i>Brachiaria</i>	14
2.3. Fixação biológica de nitrogênio	16
2.4. Bactérias diazotróficas associativas	17
2.5. Inoculantes agrícolas	21
3. MATERIAL E MÉTODOS	24
3. 1. Localização do experimento	24
3. 2. Descrição do solo utilizado	24
3. 3. Material biológico utilizado	26
3. 4. Variáveis agronômicas análisadas	27
3. 5. Análise estatistica	27
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
4.1. Carcterísticas produtivas e estruturais do capim marandu	28
4.1.1. Altura de plantas	28
4.1.2. Número de folhas	30
4.1.3. Número de perfilhos	32
4.1.4. Massa seca de folhas	34
4.1.5. Massa seca de colmos	37
4.1.6. Massa seca da parte aérea	39
4.1.7. Massa seca de raiz	41
4.1.8. Relação folha/colmo+bainhas	43
4.1.9. Relação massa seca da parte aérea e raiz	44
4.2. pH do solo	45
4.3. Características nutricionais do capim marandu	46
4.3.1. Leitura SPAD	46
4.3.2. Concentração de N na parte aérea do capim marandu	48
4.3.3. Concentração de N na raiz do capim marandu	50
4.3.4. Teor de proteína bruta na parte aérea do capim marandu	51
5. CONCLUSÕES	
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55

1. INTRODUÇÃO

No Brasil existem aproximadamente 200 milhões de hectares cultivados com pastagens principalmente gramíneas do gênero *Brachiaria* (BODDEY et al., 2006; DIAS-FILHO, 2011). Sendo que o estado de Mato Grosso possui uma área de aproximadamente 27 milhões de hectares de pastagens (IMEA, 2013).

O estabelecimento de pastagem do gênero *Brachiaria* ocorre devido a sua maior tolerância às condições de solos ácidos e de baixa fertilidade, aliada ao seu valor forrageiro, sendo as espécies de maior importância a *B. decumbens, B. brizantha, B. ruziziensis* e *B. humidicola* (SOBRINHO et al., 2005). No entanto, aproximadamente 70 milhões dessas pastagens estão em processo de degradação ou já degradadas (DIAS-FILHO, 2011).

Dentre os fatores que levam à degradação das pastagens, a limitação de N é considerada um dos mais importantes (OLIVEIRA et al., 1997). Em estudo desenvolvido com pastagem formada por braquiaria, em solos de Cerrado, mostrou-se que apenas com a adição de nitrogênio pode-se elevar consideravelmente a produção da mesma, confirmando que a perda de produtividade é ocasionada principalmente por aspectos nutricionais (BODDEY et al., 2000).

Os fertilizantes nitrogenados oneram muito os custos de produção, e com a demanda por alimentos crescendo ano a ano, tem-se enfatizado a necessidade de maior exploração do potencial da fixação biológica de nitrogênio atmosférico (FBN) em gramíneas tropicais, como uma alternativa sustentável (SOUTO, 1982; BASHAN et al., 2004).

Com o intuito de minimizar os problemas da aplicação em demasia de nitrogênio, nos últimos anos várias tecnologias vêm sendo pesquisadas e dentre elas está á utilização de bactérias diazotróficas. Essas bactérias possuem um complexo de enzima conhecida como nitrogenase, com capacidade de reduzir o nitrogênio molecular (N₂ atmosférico) em amônia (NH₃). Esta molécula em pH celular rapidamente se converte em amônio (NH₄), podendo ser assimilado pela planta fazendo parte de moléculas

orgânicas como clorofilas, aminoácidos (EPSTEIN; BLOOM, 2006; REIS et al., 2006; TAIZ; ZEIGER, 2010).

Estima-se que a FBN em gramíneas como *B. decumbens* e *B. humidicola*, indicam valores de N de 30 a 45 Kg ha⁻¹ ano⁻¹. Isto exemplifica a contribuição da associação gramínea-diazotróficos na incorporação de N no solo reforçando a importância da FBN (BODDEY et al., 1986).

A interação entre bactérias diazotróficas com diversas culturas como, gramíneas forrageiras, milho, trigo e arroz, tem sido tema de pesquisas no mundo inteiro, devido ao potencial biotecnológico evidenciado no aumento da produtividade dessas culturas, contribuindo com a redução dos custos de produção, auxiliando assim na manutenção e conservação dos recursos ambientais (MOREIRA et al., 2010).

Reis Junior (2002) salienta a necessidade da retomada de pesquisas com FBN em gramíneas forrageiras, principalmente na área de diversidade de bactérias diazotróficas associadas a essas plantas, pois novas bactérias podem ser encontradas e seu potencial de FBN explorado.

A hipótese do presente estudo foi que a inoculação com bactérias diazotróficas associativas isoladas do solo da mesma região podem contribuir para a promoção de crescimento e com a nutrição do capim marandu, reduzindo o uso de fertilizantes nitrogenados, beneficiando assim a adoção desta tecnologia no meio agrícola. Sendo assim objetivou-se pelo presente estudo avaliar o desenvolvimento, produção e nutrição do capim marandu submetido à inoculação com bactérias diazotróficas associativas em LATOSSOLO Vermelho de Cerrado.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Brachiaria brizantha cv. marandu

As pastagens correspondem a um dos maiores ecossistemas do Brasil, são complexas e formadas por componentes bióticos e abióticos arranjados de forma hierárquica e interativa, que determina a amplitude das respostas de plantas e animais (DA SILVA et al., 2008).

Um dos componentes do ecossistema das pastagens é a planta forrageira, definida como toda planta que é consumida por herbívoros (PEREIRA et al., 2001). Dentre as plantas forrageiras mais utilizadas temos as do gênero *Brachiaria* que pertence á família das poáceas e reúne cerca de 100 espécies (VALLE et al., 2009). São gramíneas de grande importância econômica, distribuídas pelas regiões tropicais e subtropicais e que ocupam a maior parte da área de pastagens cultivadas (VALLE et al., 2009).

As gramíneas são classificadas em duas categorias quanto a sua adaptação ambiental e eficiência fotossintética, espécies temperadas (plantas C3) e tropicais como o capim marandu (plantas C4). Normalmente, as espécies forrageiras temperadas apresentam melhor qualidade, definida em termos de digestibilidade, consumo e teor de proteína (MOREIRA, 2006). As gramíneas tropicais (C4) apresentam maior eficiência fotossintética, sendo, portanto, mais produtivas em termos de matéria seca (VALLE, 2001).

A *B. brizantha* (Hochst ex A. Rich) Stapf. cv. Marandu é uma gramínea forrageira com características específicas como, plantas robustas, hábito de crescimento cespitoso, altura podendo chegar de 1,5 a 2,5 m, colmos iniciais de crescimento prostrado, mas com emissão de perfilhos predominantemente eretos. Seus rizomas são muito curtos e encurvados. Os colmos floríferos são eretos, com perfilhamento nos nós superiores, levando à proliferação de inflorescências que atingem até 40 cm de comprimento, geralmente com 4 a 6 rácemos. Suas lâminas foliares são largas e longas, glabras na face superior, com pubescência na face inferior, e bordos não cortantes. As bainhas são pilosas, enquanto os entrenós apresentam pêlos na porção apical (NUNES et al., 1985). E originária de

uma região vulcânica da África, com precipitação pluviométrica anual ao redor de 700 mm e cerca de oito meses de seca no inverno (MEIRELLES; MOCHIUTTI, 1999).

Do total da área ocupada por pastagens no Brasil, estima-se que 60 milhões de hectares sejam formados pela *B. brizantha* cv. Marandu, que representa 65% da área plantada na região Norte e 50% na região Centro-Oeste (BARBOSA, 2006).

A espécie *B. brizantha* cv. Marandu é a que tem adquirido maior expressividade nas áreas de pastagens, sendo assim bastante estudada (SILVA, 2004). Essa forrageira, conhecida como braquiarão ou brizantão, é uma espécie muito produtiva e robusta que produz bem em solos de média a alta fertilidade (LAZZARINI NETO, 2000). Apresenta uma ampla adaptação climática com boa tolerância ao sombreamento e ao fogo, não tolerando solos encharcados, com boa produção de massa verde e sementes viáveis de alto valor forrageiro (SOARES FILHO, 1994).

A *B. brizantha* é uma gramínea forrageira recomendada como alternativa para os cerrados de média a boa fertilidade em face de alta produção de forragem, persistência, boa capacidade de rebrota, tolerância ao frio, seca, ao fogo e resistência ao ataque das cigarrinhas das pastagens, respondendo bem à adubação fosfatada e apresentando boa tolerância a altos teores de alumínio e manganês no solo, mas não responde significativamente à calagem (ALCÂNTARA; BUFARAH, 1999).

Em climas com estação chuvosa no verão, como a região Centro-Oeste, pode ser semeada desde meados de outubro até o final de fevereiro, sendo ideal de novembro a dezembro. Para um bom estabelecimento, em boas condições de plantio (clima, época, preparo de solo), recomenda-se uma taxa de semeadura de no mínimo 4 kg ha-1 de sementes puras viáveis, a profundidade entre 2 e 5 cm e incorporação com grade niveladora ou plantadeira (EMBRAPA, 2007).

Embora as espécies de *Brachiaria* sejam tolerantes às condições edafoclimáticas do Cerrado, o manejo inadequado e a ausência na reposição dos nutrientes no solo têm contribuído para aumentar a

degradação nas áreas cultivadas. Dessa forma uma pastagem bem manejada proporciona maior cobertura vegetal do solo favorecendo a conservação da água no solo e seu aproveitamento pelas plantas (BONFIM-SILVA et al., 2011a).

2.2. Adubação nitrogenada em pastagem

O nitrogênio é um dos elementos necessários em maior quantidade para o desempenho adequado das plantas, e faz parte de nucleosídeos de fosfato e aminoácidos, que compõe a estrutura dos ácidos nucléicos e das proteínas, respectivamente. É considerado um dos nutrientes mais importantes (DOBBELAERE; OKON, 2007).

O uso de fertilizante nitrogenado é uma prática comum e responsável por elevar os custos da produção agrícola, além de poder gerar danos ao ambiente, uma vez que parte do total aplicado é geralmente perdido. A eficiência de utilização dos fertilizantes nitrogenados é em média 50%, devido à ação da lixiviação, volatilização de amônia, desnitrificação, erosão e imobilização microbiana (REIS JUNIOR et al., 2011).

A compreensão da ação do nitrogênio no solo e nas plantas pode auxiliar no manejo das pastagens, aumentando a eficiência desse insumo, bem como as perdas e interações microbiológicas desse nutriente, fazendo com que a sua concentração no solo não seja adequada para fins de predição da disponibilidade do mesmo para as forrageiras. Nesse aspecto a diagnose foliar é uma ferramenta auxiliar para a determinação do estado nutricional das plantas através do nível crítico interno, porque torna possível relacionar uma concentração adequada para o máximo desempenho da planta (ABREU; MONTEIRO, 1999).

Monteiro et al. (1995) demonstraram em experimentação com solução nutritiva, que para o capim marandu, que os nutrientes que mais limitam a implantação é o nitrogênio e o fósforo. Assim como Ferrari Neto (1991) que verificou que as principais limitações nutricionais de um Latossolo Vermelho-Escuro para desenvolvimento de gramínea forrageira, em ordem

decrescente, foram: nitrogênio, fósforo, potássio e enxofre, principalmente quando as plantas já estavam estabelecidas.

O nitrogênio é o principal nutriente responsável pela manutenção da produtividade, e sua deficiência é apontada como a principal causa de redução na produtividade e degradação das áreas cultivadas com gramíneas forrageiras (VASCONCELOS, 2006). Porém parte do N introduzido no sistema de produção agrícola é perdida, reduzindo a sua eficácia e diminuindo os lucros oriundos dos empreendimentos na pecuária, fundamentados na alimentação do gado com plantas forrageiras (PRIMAVESI et al., 2004).

Dentre os macronutrientes, o nitrogênio é um dos que mais contribui para a produtividade dos pastos, por estar intimamente relacionado com o desenvolvimento vegetal das plantas. A aplicação de fertilizantes nitrogenados é considerada o fator chave para o desenvolvimento das práticas modernas de manejo de pastagens e para a obtenção de produtividade elevada (JARVIS et al., 1995).

O fornecimento de nutrientes, em quantidades e proporções adequadas, particularmente o N, assume grande importância no processo produtivo de pastagens (FAGUNDES et al., 2006).

De acordo com Santos (1997) podem ocorrer aumentos de produção de matéria seca e da concentração de nitrogênio no tecido foliar de *Brachiaria decumbens*, com o suprimento de nitrogênio em doses elevadas.

Porém, o custo econômico e ambiental que o uso da adubação nitrogenada proporciona tem estimulado a busca por alternativas que possam diminuir o uso de fertilizantes sem que haja redução do rendimento da produção. Uma das possibilidades para viabilizar maior rendimento e diminuir custos sem prejudicar o ambiente é a utilização do potencial genético das plantas, aliado aos recursos biológicos do solo, como as bactérias diazotróficas, que podem fixar N₂ para a planta e produzir hormônios que estimulam o crescimento vegetal, principalmente de raízes, por aumentar a absorção de nutrientes e água (DOBBELAERE et al., 2002; BASHAN et al., 2004).

2.3. Fixação biológica de nitrogênio

O processo realizado pelos micro-organismos capazes de reduzir o N atmosférico à formas inorgânicas assimiláveis, e garantir a resiliência deste processo, é conhecido como fixação biológica do nitrogênio (FBN). Esse processo possui grande importância no aspecto econômico e ecológico, em sistemas agrícolas e florestais (REIS; TEIXEIRA, 2005).

A FBN atmosférico é realizada por micro-organismos procarióticos conhecidos como diazotróficos. Os diazotróficos podem ser de vida livre, estar associados a espécies vegetais ou, ainda, estabelecer simbiose com leguminosas (MOREIRA et al., 2010).

Os diazotróficos compreendem ampla gama de micro-organismos procariotos, incluindo as arquebactérias, cianobactérias, bactérias Grampositivas e Gram negativas que apresentam grande diversidade morfológica, fisiológica, genética e filogenética. Essa diversidade garante não só a resiliência dos processos que mediam em um determinado ecossistema, como também a ocorrência deste, nos mais diferentes habitats terrestres (MOREIRA et al., 2010).

A FBN é um dos mais importantes processos conhecidos na natureza e, nas associações com gramíneas, é realizado por alguns gêneros de micro-organismos tais como: *Azospirillum, Herbaspirillum, Gluconacetobacter, Burkholderia* (BALDANI et al., 1999). As bactérias citadas têm demonstrado seu potencial agrícola seja via FBN, seja através da produção de hormônios vegetais, promovendo incremento no crescimento de plantas de diferentes espécies com ênfase no uso das gramíneas forrageiras (SILVA; REIS, 2009).

A contribuição da FBN associativa à nutrição vegetal não é tão significativa como as simbioses, entretanto se for considerada a grande extensão de terras recobertas por gramíneas e cereais, esta se torna importante, em termos globais (MOREIRA et al., 2010).

O N fornecido pelo processo de fixação biológica é menos propenso a lixiviação e volatilização já que ele é utilizado *in situ*, sendo assim, o

processo biológico é uma alternativa barata, limpa e sustentável para o fornecimento de N na agricultura comercial (HUERGO, 2006).

Estimativas da FBN em gramíneas como *B. decumbens* e *B. humidicola*, as quais são muito utilizadas para a revegetação de áreas degradadas, indicam valores de 30 a 45 Kg ha⁻¹ ano⁻¹ de N (BODDEY; VICTORIA, 1986).

A utilização de micro-organismos fixadores na agricultura pode possibilitar a economia em milhões de dólares de petróleo e gás natural (fontes de energia não renováveis). Calcula-se que, para a produção de uma tonelada de amônio, sejam necessários seis barris de petróleo (VARGAS; HUNGRIA, 1997).

Existe uma grande necessidade em se pesquisar a contribuição da FBN e diversidade de micro-organismos diazotróficos que se associam com forrageiras, a fim de se estabelecer o verdadeiro potencial destas bactérias para promover o crescimento das plantas (REIS JUNIOR, 2002).

2.4. Bactérias diazotróficas associativas

Os diazotróficos associativos podem ser divididos em dois grupos, sendo eles os endofíticos facultativos (colonizam tanto rizosfera como interior de raízes) e os endofíticos obrigatórios, os quais colonizam o interior de raízes (BALDANI et al., 1997).

As primeiras espécies de bactérias diazotróficas associativas foram isoladas de raízes e partes aéreas de espécies de importância agrícola como as gramíneas e palmeiras (MAGALHÃES; DÖBEREINER, 1984).

Entre as bactérias diazotróficas, as mais estudadas estão as pertencentes aos gêneros *Azospirillum*, *Herbaspirillum* e *Burkhoderia*, os quais já foram isolados em plantas de milho (PERIN et al., 2006; DOBEREINER et al.1976), cana-de-açúcar (REIS JUNIOR et al., 2004; DOBEREINER et al.1976). Também estão entre as mais estudadas as bactérias do gênero *Gluconacetobacter* (YAMADA et al., 1997; DOBEREINER et al.1976) e *Azoarcus* (REINHOLD-HUREK et al., 1993; DOBEREINER et al.1976), que colonizam partes internas das raízes e

partes aéreas de gramíneas (BALDANI et al., 1997; DOBEREINER et al.1976).

Dentre os fatores ambientais, o estresse hídrico tem grande influência sobre a população de micro-organismos diazotróficos do solo e sobre o processo de FBN (REIS JUNIOR et al., 2004).

Os organismos pertencentes ao gênero *Azospirillum* são classificados como rizosféricos, colonizando principalmente a zona de elongação e pelos radiculares, sendo que algumas estirpes de *Azospirillum* podem ser encontradas no interior dos vegetais, por isso são denominados endofíticos facultativos (DOBBELAERE et al., 2002).

De acordo com Reis et al. (2010) já foram descritas 15 espécies de Azospirillum, sendo elas, A. lipoferum, A. brasilense, A. amazonense, A. halopraeferens, A. irakense, A. largimobile, A. doebereinereae, A. oryzae, A. melinis, A. canadense, A. zeae, A. rugosum, A. palatum, A. picis, A. thiophilum.

Dentre as espécies descritas as mais estudadas são *A. lipoferum e A. brasilense*, normalmente encontradas em áreas tropicais associadas com forrageiras e cereais como milho, arroz, trigo, sorgo além de outras gramíneas como a cana-de-açúcar e de diversas plantas de outras famílias (HARTMAN; BALDANI, 2006; ZAMBRANO et al., 2007).

A espécie *A. amazonense* foi isolada a partir de amostras de forrageiras plantadas na região amazônica, sendo também encontrada em associação com a rizosfera de arroz, milho e sorgo, além de outras gramíneas utilizadas como pastagens em áreas localizadas na região do Cerrado e Mata Atlântica (MAGALHÃES et al., 1983; REIS JUNIOR et al., 2006).

No solo, as bactérias do gênero *Azospirillum* podem ser encontradas no mucigel presente na rizosfera de plantas, caracterizando uma colonização externa das raízes. Na colonização interna, suas células podem penetrar nos espaços intercelulares de raízes e lá se alojarem (BASHAN; LEVANONY, 1990; BALDANI et al., 1996).

De acordo com Dobbelaere et al. (2002), *Azospirillum* ssp pode ser caracterizada como uma bactéria Gram-negativa, em forma de bastonete, com movimento ativo, com diâmetro de 0,8 a 2 µm e 2 a 4 µm de comprimento, com grânulos intracelulares de poli- hidroxiburitrato.

Os efeitos benéficos do *Azospirillum* para as plantas podem ser caracterizados quanto ao aumento da densidade e comprimento dos pêlos absorventes das raízes; incrementos na velocidade de aparecimento de raízes laterais e do volume de superfície radicular; alteração da respiração das raízes e das atividades de enzimas da via glicolítica e do ciclo dos ácidos tricarboxílicos; produção de nitritos; aumento na absorção de nutrientes e sinais moleculares que interferem no metabolismo das plantas. Além dos efeitos hormonais, *Azospirillum* ainda contribue para a planta associada com nitrogênio fixado (RIGGS et al., 2001).

Segundo Hungria (2011), inoculantes compostos por estirpes de *Azospirillum* spp. são comercializados para inoculação em trigo e milho, com aumentos de 31 e 26 % na produtividade de grãos, respectivamente.

A partir das últimas décadas outras bactérias passaram a ser estudadas quanto à associação com gramíneas, com destaque para Herbaspirillum seropedicae, H. rubrisubalbicans, Gluconacetobacter diazotrophicus e Burkholderia tropica, as quais possuem um modo de colonização diferente de Azospirillum, pois são consideradas endofíticas obrigatórias (BALDANI; BALDANI, 2005).

A primeira espécie endófita a ser identificada foi o *Herbaspirillum* seropedicae (BALDANI et al., 1986). Posteriormente, outros membros do gênero foram incluídos como o *Herbaspirillum rubrisubalbicans* (BALDANI et al., 1996 b), *Herbaspirillum frisingense* (KIRCHHOF et al., 2001) e posteriormente houve a descrição de uma espécie isolada de nódulos de feijão coabitando com o Rizóbio, o *Herbaspirillum lusitanum* (VALVERDE et al., 2003).

Os representantes do gênero *Herbaspirillum* são considerados bactérias endofíticas obrigatórias e apresentam baixa sobrevivência no solo (BALDANI et al., 1996). *Herbaspirillum* spp. são capazes de colonizar nichos

específicos no interior dos tecidos vegetais, podendo transferir de forma mais eficientemente para planta os compostos nitrogenados produzidos e ainda não sofrerem limitações de substâncias ricas em carbono (OLIVARES et al.,1997).

O gênero *Burkholderia* pertence à classe β-proteobactéria. São bactérias gram-negativas em forma de bastonetes móveis, com três ou mais flagelos. Atualmente, o gênero *Burkholderia* tem 62 espécies descritas com grande diversidade funcional (MOREIRA et al., 2010).

A espécie *B. cepacia*, foi descrita por Burkholder (1950) como espécie fitopatogênica, responsável pelo apodrecimento dos bulbos de cebolas. Nas últimas décadas estudos envolvendo técnicas moleculares reclassificou as espécies pertencentes ao gênero *Burkholderia*, o que anteriormente foi classificado como uma única espécie na realidade eram várias espécies filogeneticamente associadas com grande semelhança fenotípica (VANDAMME et al., 1997).

Em 1997, foi comprovado que estes organismos partilhavam características fenotípicas semelhantes, mas genotípicas diferentes, podendo pertencer a pelo menos cinco espécies diferentes. Atualmente o "complexo *Burkholderia cepacia"* está descrito em nove diferentes grupos (COENYE, 2005).

A FBN é um processo comum entre bactérias do gênero *Burkholderia*. Essa capacidade foi observada inicialmente para *B. vietnamiensis* (TRÂN VAN et al., 1996), mais tarde estendida à outras espécies, como *B. kururiensis* (ESTRADA-DE LOS SANTOS et al., 2001), *B. unamae* (CABALLERO-MELLADO et al., 2004), *B. tropica* (REIS et al., 2004; WEBER et al., 2000).

A produção de fito-hormônios por estirpes de *Burkholderia* também podem atuar no crescimento vegetal. Em estudos com estirpes de *B. vietnamiensis* observou-se a promoção de crescimento de plantas de arroz e esse acréscimo além da FBN também foi atribuído à produção de fito-hormônios (TRÂN VAN et al., 2000).

Segundo Baldani et al. (1995) quando as bactérias foram inoculadas numa mistura com *H. seropedicae* em plantas de arroz as mesmas foram responsáveis por 19 a 35% do N acumulado na planta via FBN.

Alguns estudos de inoculação de arroz em casa de vegetação mostraram aumentos de 17-19% do N derivado de FBN para a inoculação de plantas com estirpes de *H.seropedicae* e 11 a 20% para *Burkholderia* ssp. (BALDANI, 1996). Em condições de campo, dependendo da variedade de arroz, o incremento na produção pode chegar a 50% quando a inoculação é efetuada com estirpes selecionadas (GUIMARÃES et al., 2003).

Oliveira et al. (2007), em estudos realizados com capim marandu inoculados com estirpes de *A. Amazonense* observaram que o tratamento sem aplicação de nitrogênio e com inoculação produziu 25,1 kg ha⁻¹ de forragem sendo essa produção maior quando comparado à testemunha sem aplicação de N e sem inoculação.

Sendo assim de acordo com Figueiredo et al. (2008), o uso de bactérias associativas como forma viável no fornecimento de N para a produção de gramíneas pode chegar ao nível utilizado atualmente com rizóbio na produção de leguminosas, devido ao avanço de novas ferramentas de biologia molecular e genética de micro-organismos.

2.5. Inoculantes agrícolas

Segundo Vessey (2003), inoculante refere-se à utilização de microorganismos vivos capazes de promover o crescimento vegetal de forma direta ou indireta, através de diferentes mecanismos, sendo denominado mundialmente de biofertilizantes.

A produção de inoculantes em laboratório para uso em maior escala foi realizada em 1896, iniciando-se a comercialização em 1898 (SILVA, 2009), sendo o mercado de inoculantes brasileiro um dos maiores do mundo (CHUEIRE et al., 2003).

A legislação brasileira por meio do Ministério da agricultura pecuária e abastecimento estabelece que os inoculantes comerciais devam apresentar,

no mínimo, 10⁹ células por grama ou mililitro do produto, ao final do seu prazo de validade, e esta concentração equivale à quantidade de inoculante que deve ser misturado a 50 kg de semente para proporcionar, no mínimo, 600.000 células bacterianas viáveis por semente, no caso da soja (MAPA, 2004).

Os inoculantes devem ser elaborados com suporte estéril e estarem livres de micro-organismos não especificados até o fator de diluição 1x10⁻⁵, podendo este suporte ser sólido ou fluido e ter um prazo de validade mínimo de seis meses a contar da data de fabricação devendo conter pelo menos duas estirpes, podendo estar em diferentes combinações. (MAPA, 2004).

A utilização dos micro-organismos na forma de inoculantes biológicos pode ajudar o mercado agrícola, por se tratar de uma tecnologia eficiente para substituir métodos tradicionais de adubação com fertilizantes à base de ureia e, atualmente é utilizado principalmente em culturas de leguminosas, com muito sucesso na cultura de soja (SILVEIRA, 2008).

Nesse contexto para tornar-se viável o uso dos micro-organismos para a inoculação se faz necessário utilizar um material de suporte como, por exemplo, a turfa que é um substrato sólido e pode ser usada pura, na forma de pó ou granulada, em misturas com argilas (vermiculita) ou carvão. Sua aplicação é realizada juntamente com o inoculante diretamente sobre a semente (REIS, 2004).

Também é muito utilizado o inoculante líquido composto por um substrato estéril que simplifica o processo de produção, uma vez que pode ser produzido e esterilizado na própria indústria, e por sua natureza fluida a adesão dos micro-organismos e a aplicação em sementes ou no campo torna-se facilitada. No entanto, a sobrevivência de bactérias nesse tipo de inoculante e nas sementes inoculadas é dificultada porque as bactérias não estão tão protegidas do estresse ambiental quanto os micro-organismos presentes em um inoculante contendo turfa (SINGLETON et al., 2002; TITTABUTR et al., 2007).

No Brasil, a legislação atual não contempla as normas para a regulamentação de inoculantes para culturas específicas de gramíneas.

Desta forma, os valores de referência para riqueza dos inoculantes para gramíneas usados pela indústria baseiam-se na proposta feita pela Reunião da Rede de Laboratórios para a Recomendação, Padronização e Difusão de Tecnologia de Inoculantes Microbianos de Interesse Agrícola (RELARE) de 1,0x10⁸ células por mililitro ou grama de produto (RELARE, 2010).

No que se refere ao controle de qualidade das sementes inoculadas com o produto inoculante, a legislação não contempla a análise da sobrevivência das bactérias na semente em um período posterior ao momento da inoculação. Os testes existentes apenas analisam a concentração de células logo após a inoculação, o que não se reflete fielmente no campo no momento da semeadura, pois o agricultor geralmente a realiza em algumas horas ou até dias após adicionar o inoculante (DEAKER et al., 2004).

Contudo a inoculação de bactérias diazotróficas em gramíneas temse mostrado eficiente por proporcionar ganhos, principalmente no acúmulo de matéria seca, produção de grãos com maior aproveitamento de água, maior efetividade fotossintética e aumento do sistema radicular (PEDRINHO, 2009).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Localização do experimento

O experimento foi conduzido em casa de vegetação na Universidade Federal de Mato Grosso, Campus Universitário de Rondonópolis, no período de dezembro de 2012 a março de 2013. Utilizou-se a *Brachiaria Brizanta* cv. Marandu (Figura 1).



FIGURA 1. Vista geral do experimento submetido à inoculação com bactérias diazotróficas em casa de vegetação.

3.2. Descrição do solo utilizado e adubação

O solo utilizado foi o Latossolo Vermelho de textura argilosa e coletado na camada de 0-20 cm, em área de vegetação de Cerrado e realizado caracterização química e granulométrica (Tabela 1), de acordo com a metodologia descrita pela Embrapa (1997).

Tabela 1. Análise química e granulométrica de solo (camada de 0-20 cm) de Cerrado nativo do Campus Universitário de Rondonópolis, Rondonópolis-MT, 2012

рН	Р	K	Ca	Mg Al	V	Areia	Silte	Argila	M.O
<u>CaC</u> Ł	n	ng dm³	С	mol₀ dm ⁻³	%		g Kg	1	g dm ⁻³
4,6	1,4	66	1,1	0,4 0,5	28,9	325	150	525	18,8

A saturação por bases do solo foi elevada para 50%, com a incorporação de calcário dolomítico (PRNT = 80,3%), que reagiu por um período de 30 dias. Durante a reação do calcário no solo, a umidade do solo foi mantida pelo método gravimétrico a 60% da máxima retenção de água no solo, que foi determinada em laboratório em vasos do mesmo volume dos utilizados no experimento, em três repetições (BONFIM-SILVA et al., 2011b).

Após o período de incubação do solo com calcário para correção da acidez do solo foi realizada a adubação de implantação, sendo feita com a aplicação de fósforo, potássio, enxofre e micronutrientes. As doses de fósforo, potássio e enxofre utilizadas foram de 200, 150 e 40 mg dm⁻³, respectivamente, cujas fontes foram o superfosfato triplo, cloreto de potássio e sulfato de cálcio (CABRAL, 2011).

A adubação com os micronutrientes foi efetuada com ácido bórico, cloreto de cobre, cloreto de zinco e molibdato de sódio, nas doses de 1,5 mg dm⁻³; 2,5 mg dm⁻³; 2,0 mg dm⁻³ e 0,25 mg dm⁻³, respectivamente (BONFIM-SILVA; MONTEIRO, 2007).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com seis tratamentos (três estirpes pertencentes à coleção de culturas, sendo similares à *Azospirillum amazonense*, *Herbaspirillum* spp. e *Burkholderia* spp., respectivamente e um inoculante comercial (formado pela composição das estirpes ABV-5 e ABV-6 de *Azospirillum brasilense*), adubação completa e um Controle(sem N e sem inoculação) e cinco repetições. Cada parcela foi constituída por um vaso de 8 dm³, totalizando 30 parcelas experimentais. A semeadura foi realizada no dia 15/12/2012, com quinze sementes por

parcela, semeadas diretamente nos vasos, e sete dias após o plantio foi realizado o desbaste deixando cinco plantas por vaso.

3.3. Material biológico utilizado

A estirpe similar a *Azospirillum amazonense* foi multiplicada em meio líquido LGI e as estirpes similares a *Burkholderia* ssp. e *Herbaspirillum* ssp. foram multiplicadas em meio líquido DYGS sob agitação de 100 rpm a 30 °C durante 24 horas. Posteriormente ao crescimento uma alíquota de 3 mL de caldo bacteriano contendo 10⁸ células mL⁻¹ foi aplicada no solo próximo a área radicular de cada planta (Figura 2).



Figura 2. Aplicação de inoculante no solo, próximo ao sitema radicular da gramínea.

Foram realizados três cortes da parte aérea das plantas, com intervalo de 30 dias. O primeiro corte foi realizado 30 dias após a emergência das plântulas, a 5 cm do colo da planta para o primeiro e segundo cortes, e rente ao colo da planta no terceiro corte, conforme descrito por Bonfim-Silva e Monteiro (2007). Após cada corte foi reaplicada a adubação nitrogenada (100 mg dm⁻³) para a adubação completa e adubação potássica (200 mg dm⁻³) para todos os tratamentos, na forma de ureia e cloreto de potássio, respectivamente. Também foram reinoculados 3 mL de

caldo bacteriano contendo 10⁸ células mL⁻¹ correspondentes aos tratamentos de inoculação.

3.4. Variáveis agronômicas analisadas

As variáveis analisadas foram altura de plantas, número de folhas e perfilhos, massa seca de folhas e perfilhos, teor de clorofila Falker, pH do solo, relação folha/colmo, relação parte aérea/raiz, concentração de N na parte aérea e raízes e proteína bruta (PB) da parte aérea do capim marandu.

A altura das plantas foi medida com régua graduada, do solo até a curvatura do dossel da planta. A determinação do teor de clorofila foi realizada de forma indireta pela leitura SPAD, com o emprego de um Clorofilômetro clorofiLOG[®].

O pH do solo foi medido em solução de CaCl₂ conforme método descrito pela Embrapa (1997). A massa seca da parte aérea foi obtida em estufa de circulação de ar a 65°C até atingir massa seca constante (MALAVOLTA, 1997).

No terceiro corte, as raízes foram peneiradas em malha de 4 mm e lavadas. Todo o material coletado foi seco em estufa de circulação de ar, a 65°C por 72 horas e foi pesado posteriormente.

Após a secagem e pesagem as amostras foram moídas em moinho tipo Willey, com peneiras de diâmetro de 1 mm. As lâminas foliares, colmo+bainha e raízes foram submetidas à análise de nitrogênio e (PB) segundo o método de Kjeldahl, descrito por (MALAVOLTA et al.,1997).

3.5. Análise estatística

Os resultados foram analisados estatisticamente, por meio da análise de variância com o teste de F. As variáveis significativas foram comparadas entre médias, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade, utilizando-se o software SISVAR (FERREIRA, 2008). Para as variáveis de massa seca de raiz e concentração de N na raiz, os dados foram transformados para obtenção da normalidade e homogeneidade da variância.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Características estruturais e produtivas do capim marandu

4.1.1. Altura de plantas

A inoculação com bactérias diazotróficas associativas no capim marandu resultou em diferença estatística com interação significativa entre tratamentos e os cortes feitos em intervalos de trinta, sessenta e noventa dias (Tabela 2).

Tabela 2. Altura do capim marandu submetido à inoculação com bactérias diazotróficas associativas e cultivadas em Latossolo Vermelho do Cerrado

	Cortes		
Tratamentos	1°	2°	3°
		Altura	
Inoculante comercial	71,40 aA	54,00 aB	24,60 bC
ESB	71,20 aA	57,60 aB	25,60 bC
ESH	75,20 aA	55,40 aB	25,00 bC
ESAA	69,40 aA	52,20 aB	24,20 bC
Adubação completa	65,40 aA	56,20 aB	38,80 aC
Controle	70,20 aA	54,40 aB	24,40 bC
CV(%)		10,57	

Estirpe similar à *Burkholderia* ssp. (ESB), estirpe similar à *Herbaspirillum* ssp. (ESH), estirpe similar à *Azospirillum Amazonense* ssp. (ESAA). Médias seguidas de mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05)

A altura do capim marandu para o primeiro corte não resultou em significância estatística, porém foi superior para o tratamento com a estirpe similar à *Herbaspirillum* (13,1%), em comparação a adubação completa e maior (6,64%) em relação ao tratamento controle (Tabela 2).

As plantas inoculadas com inoculante comercial e estirpe similar à. *Burkholderia* ssp. apresentaram resultados entre (8,4 e 8,2%) em relação a adubação completa, sendo que aumentos em menores percentuais (1,68 e 1,66%) referentes a essas estirpes foram observados para altura do capim também quando comparados ao tratamento controle. Esses resultados indicam que no primeiro corte o N disponibilizado pelas bactérias para o capim marandu possivelmente foi suficiente para manter a demanda energética que a planta necessitou para seu desenvolvimento inicial (Tabela 2).

Para o segundo corte também não houve diferença estatística significativa, porém para a estirpe similar à. *Burkholderia* ssp. foi observado maior altura em comparação à adubação que não recebeu N e nem Inoculação (5,5%). As plantas inoculadas com a estirpe similar à *Herbaspirillum* também apresentaram ganho de (1,8%) em comparação ao tratamento controle (Tabela 2).

No presente estudo o tratamento com adubação completa, foi o que proporcionou maior altura de plantas em relação aos demais tratamentos no terceiro corte (Tabela 2). Entretanto, quando comparado os tratamentos de inoculação com o controle, observou-se aumento na altura de plantas de 4,92% no tratamento com inoculante composto pela estirpe similar à *Burkholderia* ssp., 2,45% no tratamento que utilizou o inoculante com *Herbaspirillum* e 0,82% de aumento com o inoculante comercial. Levando em consideração que a máxima altura de plantas do capim marandu encontrada corresponde ao tratamento com adubação nitrogenada (100%), observou-se que os demais tratamentos apresentaram altura entre 62 e 65% da máxima produção observada para o terceiro corte.

Esse resultado é decorrente das funções desempenhadas pelo nitrogênio, como componente estrutural de macromoléculas e enzimas, envolvidas no processo de desenvolvimento vegetativo das plantas (MALAVOLTA, 2006). Resultados semelhantes foram encontrados por Guimarães et al. (2011a), que trabalhando com *B. brizantha* cv. Marandu inoculadas com *Azospirillum* spp. observaram para a variável altura de plantas, maiores valores para as plantas inoculadas com a estirpe AZ02, quando comparado com as plantas que não receberam nitrogênio nem a inoculação, assim como observados valores mais próximos daqueles obtidos com a adubação completa.

Houve interação significativa também entre cortes, sendo que no primeiro corte foram observadas médias de altura das gramíneas forrageiras superiores as médias do segundo corte que por sua vez foram superiores as do terceiro corte. As maiores médias de altura observadas no primeiro (75,20), segundo (57,60) e terceiro cortes (38,80) demonstraram características de decréscimo ao longo do tempo, ou seja, ao longo do intervalo dos três cortes, evidenciando assim a influência do fator tempo no desenvolvimento estrutural das gramíneas (Tabela 2).

4.1.2. Número de folhas

A inoculação com bactérias diazotróficas associativas no capim marandu influêncio significativamente na produção de número de folhas ao longo dos cortes feitos em intervalos de trinta, sessenta e noventa dias (Tabela 3).

Tabela 3. Número de folhas do capim marandu nos três cortes, submetido à inoculação com bactérias diazotróficas associativas e cultivadas em Latossolo Vermelho do Cerrado

	Cortes			
Tratamentos	1º	2°	3°	
	Número de Folhas			
Inoculante comercial	167,20 abA	134,80 bAB	124,40 bB	
ESB	183,80 abA	156,20 bA	172,40 bA	
ESH	161,60 bA	133,80 bA	133,00 bA	
ESAA	166,00 abA	148,40 bAB	122,20 bB	
Adubação completa	214,20 aC	306,60 aB	413,40 aA	
Controle	173,80 abA	141,80 bA	154,40 bA	
CV(%)		15,48		

Estirpe similar à *Burkholderia* ssp. (ESB), estirpe similar à *Herbaspirillum* ssp. (ESH), estirpe similar à *Azospirillum Amazonense* ssp. (ESAA). Médias seguidas de mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05)

No primeiro corte, no tratamento inoculado onde foram utilizadas bactérias com a estirpe similar à *Burkholderia*, observou-se um aumento de 6% no número de folhas do capim marandu, quando comparados ao tratamento controle. Porém a adubação completa foi o tratamento que apresentou maior número de folhas por vaso (214,20), caracterizando assim

a máxima produção de número de folhas (Tabela 3). Contudo, quando comparada à adubação completa aos demais tratamentos, observou-se número de folhas de 86% para o tratamento com *Burkholderia* e 75% para *Herbaspirillum*, em relação à máxima produção observada. (Tabela 3).

Resultados semelhantes foram encontrados por Guimarães et al. (2011b), que trabalhando com *B. decumbens* cv. decumbens observaram para a variável número de folhas que a estirpe AZ18 proporcionou um aumento de 10% em relação as plantas que não receberam nitrogênio nem a inoculação. Esta estirpe aproximou-se 83% nesta variável em comparação ao tratamento que recebeu a adubação completa.

Alexandrino (2010) observou aumento do número de folhas de *B. brizantha* cv. Marandu, tendo recebido adubação completa durante o estabelecimento das plantas, atribuindo também que a densidade populacional e o peso de perfilhos são os dois componentes que definem os principais índices nos aumentos da produção de matéria seca da planta.

No segundo corte do capim marandu, o número de folhas foi maior para adubação completa, observando-se máxima produção, porém ao compará-la aos demais tratamentos, observou-se altura de plantas entre 51 e 43% da máxima produção (Tabela 3). As demais variáveis não apresentaram diferença estatística entre si, porém quando comparadas o tratamento controle com a *Burkholderia* e a estirpe similar a *A. amazonense* apresentaram um acréscimo de 10,15 e 4,65% no número de folhas (Tabela 3).

Para o terceiro corte, no tratamento com *Burkholderia* verificou-se um aumento de 11,4% no número de folhas quando confrontado com a adubação sem nitrogênio e sem inoculação. Porém a adubação completa proporcionou maior número de folhas (100%). Desse modo, o inoculante a base de *Burkholderia* produziu o equivalente a 41% da máxima produção de folhas (Tabela 3).

Resultados semelhantes foram encontrados por Oliveira et al. (2007) que trabalhando com *B. brizantha* cv. Marandu mostraram que essa gramínea sem aplicação de nitrogênio e com inoculação de bactérias

diazotróficas produziu mais forragem do que a testemunha (sem aplicação de N e sem inoculação), sendo apontada pelos autores como alternativa sustentável para aumento na produção de forragem.

No primeiro corte os tratamentos inoculados foram estatisticamente iguais ao segundo e terceiro cortes, tendência que não foi observada para a adubação completa que proporcionou aumento de número de folhas a cada corte, sendo assim o número de folhas influenciado significativamente pela ação da adubação completa ao longo do tempo (Tabela 3).

4.1.3. Número de perfilhos

A inoculação com bactérias diazotróficas associativas no capim marandu influenciou significativamente na produção de número de perfilhos ao longo dos cortes feitos em intervalos de trinta, sessenta e noventa dias (Tabela 4).

Tabela 4. Número de perfilhos, do capim marandu nos três cortes, submetido à inoculação com bactérias diazotróficas associativas e cultivadas em Latossolo Vermelho do Cerrado

	Cortes		
Tratamentos	1°	2°	3°
		Nº Perfilhos	
Inoculante comercial	32,80 aB	45,00 bA	43,40 cAB
ESB	34,00 aC	46,40 bB	57,60 bA
ESH	30,60 aB	41,00 bAB	45,60 bcA
ESAA	34,20 aB	39,60 bAB	45,40 bcA
Adubação completa	39,20 aC	72,00 aB	119,20 aA
Controle	34,60 aB	40,40 bB	52,40 bcA
CV(%)		14,91	

Estirpe similar à *Burkholderia* ssp. (ESB), estirpe similar à *Herbaspirillum* ssp. (ESH), estirpe similar à *Azospirillum Amazonense* ssp. (ESAA). Médias seguidas de mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05)

O número de perfilhos do capim marandu para o primeiro corte foi maior no tratamento com adubação completa, equivalente a 39,20 perfilhos por unidade experimental. Contudo não houve diferença estatística do controle, das estirpes ESAA, ESB e o inoculante comercial para o primeiro corte (Tabela 4).

Contudo quando comparados os demais tratamentos com a adubação completa, observou-se que os mesmos obtiveram número de perfilhos entre 78 e 87% da máxima produção de perfilhos.

Bonfim-Silva e Monteiro (2006), trabalhando com recuperação de pastagens de capim braquiaria, sob doses de nitrogênio e enxofre, verificaram que o nitrogênio é o nutriente mais importante no número de perfilhos em forrageiras.

Guimarães et al. (2011a), trabalhando com *B. brizantha* cv. Marandu observaram que os isolados AZ04, AZ13 e AZ17 apresentaram aumento em até 79% no número de perfilhos quando comparados as plantas sem nitrogênio e sem inoculação. No segundo corte também foi observado maior número de perfilhos para o tratamento que recebeu adubação completa, com isso os demais tratamentos mantiveram número de perfilhos num intervalo entre 55 e 64%, em comparação a adubação completa (Tabela 4). Porém não foi observada diferença estatística significativa entre os demais tratamentos exceto para o que recebeu adubação completa.

De acordo com Alexandrino et al. (2005) em estudos realizados com capim marandu submetido a doses de N, observaram grande diferença de perfilhamento ao longo do tempo de rebrota em relação ao suprimento de nitrogênio, indicando que as plantas não adubadas com N quase não perfilharam ao longo do tempo.

O número de perfilhos do capim marandu no terceiro corte foi maior no tratamento que recebeu adubação completa. O tratamento com estirpes similares *a Burkholderia* ssp. produziu o equivalente a 48% da máxima produção observada e quando comparado ao controle o mesmo apresentou acréscimo de 9,9%, sendo esse acréscimo ainda maior (35%) em relação ao inoculante comercial, apesar de os mesmos não diferirem estatisticamente entre si (Tabela 4).

O número maior de perfilhos que a gramínea forrageira foi submetida a adubação completa pode estar relacionado ao nitrogênio fornecido, uma vez que o N exerce papel importante no desenvolvimento dos perfilhos e, consequentemente, na produção de massa seca, pois faz parte das

proteínas e ácidos nucléicos, os quais participam ativamente da síntese de compostos orgânicos, que formam a estrutura do vegetal (MALAVOLTA, 2006).

Houve interação entre cortes e bactérias sendo observada diferença estatística nos respectivos tratamentos com uma tendência ao aumento no perfilhamento ao longo dos cortes (Tabela 4). Essa tendência ao longo dos cortes se confirma na ocorrência do maior número de perfilhos ter sido observada no segundo e terceiro cortes em relação ao primeiro, justificandose pela maior demanda de energia para a planta ocorrer no período inicial de crescimento para o seu estabelecimento e a formação do sistema radicular e da parte aérea. A partir do segundo corte com a parte aérea e sistema radicular já estabelecido a capacidade da planta absorver mais nutrientes é considerada maior.

4.1.4 Massa seca de folhas

A inoculação com bactérias diazotróficas associativas no capim marandu resultou em diferença estatística para massa seca de folhas com interação significativa entre tratamentos e os cortes feitos em intervalos de trinta, sessenta e noventa dias (Tabela 5).

Tabela 5. Massa seca de folhas, de capim marandu nos três cortes, submetida à inoculação com bactérias diazotróficas associativas e cultivadas em Latossolo Vermelho do Cerrado

	Cortes			
Tratamentos	1°	2°	3°	
	Massa seca de Folhas (g vaso ⁻¹)			
Inoculante comercial	10,80 bB	23,10 bA	5,05 cC	
ESB	13,70 bB	25,60 abA	5,14 bC	
ESH	11,00 bB	22,86 bA	4,40 cC	
ESAA	11,90 bB	21,70 bA	4,04 cC	
Adubação completa	37,30 aA	29,70 aB	30,90 aB	
Controle	12,10 bB	22,71 bA	4,86 bC	
CV(%)		13,54		

Estirpe similar à *Burkholderia* ssp. (ESB), estirpe similar à *Herbaspirillum* ssp. (ESH), estirpe similar à *Azospirillum Amazonense* ssp. (ESAA). Médias seguidas de mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05)

A massa seca de folhas no primeiro corte apresentou maior produção para o tratamento que recebeu adubação completa. No tratamento com *Burkholderia* houve produção de 37% quando comparados à máxima produção. Contudo mesmo não havendo diferença estatística entre os tratamentos inoculados o que apresentou menor produção foi o inoculante comercial, onde se observou massa seca de folhas equivalente a 29% da máxima produção (Tabela 5).

Resultados semelhantes foram encontrados por Guimarães et al. (2011a), que observaram em estudos feitos com *Brachiaria brizantha* cv. Marandu em função da inoculação com estirpes de *Azospirillum* spp., que para o parâmetro massa seca de folhas, observaram maior massa seca de folhas no tratamento que recebeu adubação completa.

No segundo corte a maior massa seca de folhas, foi observada na presença de adubação completa (29,7 g vaso-1), apesar da mesma não diferir estatisticamente do tratamento com estirpe similar à *Burkholderia* ssp., inoculante comercial e *Herbaspirillum* ssp., que produziram o equivalente a 86,2; 77,7 e 76,9 % respectivamente. Porém nos tratamentos com adubação sem nitrogênio e sem inoculação e estirpes de *A. amazonense*, foram observados os menores valores (76,5 e 73%) para massa seca de folhas apesar de os mesmos não diferirem estatisticamente dos demais tratamentos inoculados (Tabela 5).

No terceiro corte observou-se maior massa seca de folhas no tratamento completo, porém nesse caso houve muita discrepância na produção dos demais tratamentos quando comparados à produção da adubação completa, que produziu cerca de 90% mais que os tratamentos inoculados e o controle. No entanto, os demais tratamentos não diferiram estatisticamente entre si, destacando-se os inoculantes com estirpe similar à *Burkholderia* e inoculante comercial, que aumentaram a produção de massa seca de folhas em (6 e 4%) respectivamente, quando comparados com as plantas que receberam o tratamento controle (Tabela 5).

Houve diferença significativa para massa seca de folhas do capim marandu entre cortes, sendo observado um acréscimo do segundo corte em

comparação ao primeiro, seguida de um decréscimo no terceiro corte, entre os tratamentos inoculados (Tabela 5).

4.1.5. Massa seca de colmos

A inoculação com bactérias diazotróficas associativas no capim marandu influenciou significativamente na produção de massa seca de colmos ao longo dos cortes feitos em intervalos de trinta, sessenta e noventa dias (Tabela 6).

Tabela 6. Massa seca de colmos, do capim marandu, submetida à inoculação com bactérias diazotróficas associativas e cultivadas em Latossolo Vermelho do Cerrado

	Cortes		
Tratamentos	1°	2°	3°
	Massa se	eca de Colmos (g	vaso ⁻¹)
Inoculante comercial	4,89 bB	14,19 bA	0,64 bC
ESB	6,39 bB	15,80 abA	0,65 bC
ESH	4,92 bB	14,05 bA	0,63 bC
ESAA	5,10 bB	13,46 bA	0,60 bC
Adubação completa	17,13 aA	18,78 aA	9,14 aB
Controle	5,70 bB	15,04 bA	0,86 bC
CV(%)		23,24	_

Estirpe similar à *Burkholderia* ssp. (ESB), estirpe similar à *Herbaspirillum* ssp. (ESH), estirpe similar à *Azospirillum Amazonense* ssp. (ESAA). Médias seguidas de mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0.05).

No tratamento completo, para o primeiro corte, foi observada maior produção de massa seca de colmos, sendo a mesma equivalente a (100%) da produção. Porém o tratamento com estirpe similar à *Burkholderia* ssp. apresentou acréscimo na produção (12%) em comparação com ao tratamento controle, apesar de os mesmos não diferirem estatisticamente (Tabela 6). Estes resultados estão de acordo com Guimarães et al. (2011b) que trabalhando com *B. decumbens* cv. Decumbens em função da inoculação com estirpes de *Azospirillum* spp. observaram que houve um incremento de 11 % da massa seca de colmos, quando comparados a adubação sem nitrogênio e sem inoculação.

No segundo corte não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos, contudo a estirpe de *Burkholderia* ssp. produziu (84,13%) da máxima produção de massa seca de folhas obtida pela adubação completa.

Zanetti (2010) em estudos realizados com capim elefante sob os tratamentos com e sem inoculação e com uma mistura de bactérias diazotróficas, observou rendimento de biomassa de colmo para o genótipo CNPGL F06-3 que promoveu um incremento de produtividade massa seca de colmos de 2,6 Mg ha⁻¹.

Os tratamentos com estirpes similares à *Burkholderia* ssp. e *Herbaspirillum* ssp. foram os que mais se destacaram quando comparados à ao tratamento controle, pois produziram acréscimo de (14 e 3%) na massa seca de colmos. Contudo no tratamento com adubação completa foi observada maior produção de massa seca de colmos para o terceiro corte do capim marandu (Tabela 6).

De acordo com Alexandrino et al. (2005) o baixo acumulo de massa seca de colmos das plantas forrageiras, na ausência de adubação nitrogenada, deve-se ao menor alongamento do colmo e ao baixo perfilhamento, onde a produção de massa seca de colmos e bainhas é componente relevante para a produção de forragem, pois os colmos e bainhas são órgãos armazenadores de substâncias orgânicas nas gramíneas, o que pode interferir na capacidade de rebrota dos capins.

Para massa seca de colmos foram observados resultados significativos entre cortes, observando-se aumento nas médias de massa seca de colmos no segundo corte em relação ao primeiro e decréscimo em comparação ao terceiro corte (Tabela 6).

4.1.6. Massa seca de parte aérea

A inoculação com bactérias diazotróficas associativas no capim marandu influenciou significativamente na produção de massa seca de parte aérea ao longo dos cortes feitos em intervalos de trinta, sessenta e noventa dias (Tabela 7).

Tabela 7. Massa seca de parte aérea, de capim marandu, submetida à inoculação com bactérias diazotróficas associativas cultivado em Latossolo Vermelho do Cerrado

	Cortes		
Tratamentos	1°	2°	3°
	Massa seca de parte aérea (g vaso ⁻¹)		
Inoculante comercial	15,74 bB	37,26 bA	15,46 bC
ESB	20,12 bB	41,41 abA	17,27 bC
ESH	15,93 bB	36,92 bA	15,41 bC
ESAA	16,96 bB	35,14 bA	14,07 bC
Adubação completa	54,45 aA	48,48 aB	64,26 aC
Controle	17,87 bB	37,76 bA	15,52 bC
CV(%)		15,49	

Estirpe similar à *Burkholderia* ssp. (ESB), estirpe similar à *Herbaspirillum* ssp. (ESH), estirpe similar à *Azospirillum Amazonense* ssp. (ESAA). Médias seguidas de mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05)

Na massa seca de parte aérea do primeiro corte observou-se maior produção no tratamento com adubação completa, que equivale a (100%) da produção. O tratamento com *Burkholderia* ssp. apresentou aumento de 12% em relação ao controle mesmo não diferindo estatisticamente dos demais tratamentos inoculados (Tabela 7). Esses resultados indicam que com a presença de inoculação ocorre maior desenvolvimento produtivo da massa seca de parte aérea do capim marandu, quando comparados ao tratamento controle.

De acordo com Zanetti (2010) em estudos realizados com capim elefante com e sem inoculação e com uma mistura de bactérias diazotróficas, houve produtividades de matéria seca de 41, 32, 27 e 27 Mg ha⁻¹, respectivamente, quando inoculados, e 37, 33, 29 e 29 Mg ha⁻¹, respectivamente, quando não inoculados. Silva et al. (2005) observaram maior crescimento da *B. brizantha* cv. Marandu no primeiro corte, em relação à rebrota, em função de doses de N.

No segundo corte houve maior produção de massa seca de parte aérea para o tratamento com adubação completa mesmo não diferindo estatisticamente dos tratamentos com estirpe similar à *Burkholderia* ssp. e tratamento controle, assim como para o inoculante comercial. No tratamento com estirpes de *Burkholderia* houve acréscimo de produção de 9,6% da

massa seca de parte aérea quando comparado à produção das plantas tratadas com a adubação sem nitrogênio e sem inoculação. Porém a *Burkholderia* ssp. proporcionou produção equivalente a 85% da massa seca de parte aérea em comparação a adubação completa (Tabela 7).

Benett et al. (2008) em estudos realizados com doses de nitrogênio e épocas de corte, observaram produtividade de massa seca da *B. brizantha* cv. Marandu (2.097 kg ha⁻¹), para o primeiro corte e (8.456 kg ha⁻¹) para o terceiro corte.

Para o terceiro corte o tratamento de maior produção de massa seca de parte aérea também foi observado para a adubação completa. Os demais tratamentos não diferiram estatisticamente entre si, porém estirpe similar à *Burkholderia* ssp. proporcionou aumento de produção de massa seca de parte aérea equivalente a 11% em relação a produção das plantas submetidas ao tratamento controle (Tabela 7).

Abreu e Monteiro (1999) observaram que as produções de matéria seca da parte aérea do capim marandu, avaliadas aos 14, 28 e 42 dias do crescimento inicial variaram significativamente com as doses de nitrogênio e as máximas produções foram obtidas nas doses de 140, 152 e 190 mg kg⁻¹, constatando que o requerimento de nitrogênio é maior após o desenvolvimento inicial da gramínea incrementando a produção de matéria seca.

Foram observados resultados significativos, havendo interação entre cortes e bactérias para massa seca de parte aérea do capim marandu, com um acréscimo na massa seca de parte aérea do primeiro para o segundo corte seguida de decréscimo no terceiro corte, sendo que a ESB apresentou médias maiores de massa seca de parte aérea ao longo dos três cortes quando comparadas aos demais tratamentos inoculados (20,12; 41,41; 17,27) respectivamente (Tabela 7).

O efeito da exposição das gramíneas a intervalo entre cortes pôde ser comprovado pelos relatos de Lavezzo et al. (1980), que encontraram um aumento no teor de massa seca de parte aérea em *B. decumbens* de 18,5% para 33,4% quando o período se estendeu de 28 a 168 dias,

respectivamente. Vieira e Gomide (1970) também obtiveram teores médios de massa seca de parte aérea de 18,4%, 22,0% e 27,5% quando o intervalo entre cortes em capim-elefante evoluiu entre 28, 56 e 84 dias, respectivamente.

Segundo Costa (1995), a melhor idade de corte do capim marandu, visando conciliar melhor a produção e melhores teores de PB situa-se entre 56 e 70 dias de crescimento vegetativo. No presente estudo os maiores valores de massa seca de parte aérea foram observados a partir dos 60 dias de cultivo do capim marandu.

4.1.7. Relação folha/colmo+bainhas

A inoculação com bactérias diazotróficas associativas no capim marandu obteve resultado significativo na relação folha/colmo+bainhas ao longo dos cortes feitos em intervalos de trinta, sessenta e noventa dias (Tabela 8).

Tabela 8. Relação folha/colmo+bainhas, de capim marandu, submetido à inoculação com bactérias diazotróficas associativas cultivado em Latossolo Vermelho de Cerrado

Relação folha colmo+bainhas (g vaso ⁻¹)			
Tratamentos	1°	2°	3°
Inoculante comercial	2,21 aA	1,65 aB	0,49 aC
ESB	2,17 aA	1,64 aB	0,42 aC
ESH	2,32 aA	1,63 aB	0,41 aC
ESAA	2,47 aA	1,62 aB	0,41 aC
Adubação completa	2,20 aA	1,59 aB	0,93 aC
Controle	2,15 aA	1,53 aB	0,47 aC
CV (%)		19,10	

Estirpe similar à *Burkholderia* ssp. (ESB), estirpe similar à *Herbaspirillum* ssp. (ESH), estirpe similar à *Azospirillum Amazonense* (ESAA). Médias iguais seguidas da mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

No primeiro corte não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos, porém as estirpes similares a *Azospirillum amazonense*, *Herbaspirillum, Burkholderia* e inoculante comercial foram superiores nessa relação (12,95; 7,32; 2,71 e 1 %) respectivamente quando comparados ao controle. Essas estirpes também foram superiores quando comparadas à

adubação completa (10,93; 5,17 e 0,45 %) respectivamente, exceto para estirpe de *Burkholderia*.

Para o segundo corte em todos os tratamentos inoculados foram observadas maiores valores de altura do capim marandu (5,5 até 7,27 %) quando comparados as plantas submetidas ao tratamento controle e valores de (1 até 3,63%) quando comparados a adubação completa.

Uma alta relação folha/colmo+bainhas representa forragem de elevado teor de proteína, digestibilidade e consumo, capaz de atender às exigências nutricionais dos ruminantes, garantindo maior ganho de peso ou produção de leite pelos animais (WILSON, 1982). No presente estudo o tratamento que recebeu adubação completa apresentou maior relação folha colmo (0,93), caracterizando assim a máxima relação (100%). Porém quanto aos tratamentos inoculados os mesmos não diferirem estatisticamente entre si, sendo o que mais se destacou comparado a adubação sem nitrogênio e sem inoculação foi o inoculante comercial com aumento de relação folha colmo superior a 4% (Tabela 8).

A alta relação folha/colmo+bainhas confere à gramínea melhor adaptação ao pastejo ou tolerância ao corte, por apresentar um momento fenológico em que os meristemas apicais se apresentam mais próximos ao solo e, portanto, menos vulneráveis à destruição pelo corte animal ou máquina (PINTO et al., 1994).

Houve efeito isolado na relação folha/colmo+bainhas sendo influenciada significativamente pela inoculação com bactérias associativas ao longo dos cortes do capim marandu, sendo observados resultados positivos maiores dessa relação no primeiro em relação ao segundo e terceiro cortes. As maiores médias dessa relação foram ao longo dos cortes foi (2,47; 1,65 e 0,93) para a ESAA, inoculante comercial e adubação completa (Tabela 8).

No terceiro corte as médias ficaram abaixo do nível crítico tolerável para o bom desenvolvimento do capim marandu. O limite crítico dessa relação é 1,0 e esse nível crítico leva em consideração a quantidade e a qualidade da forragem produzida (PINTO et al., 1994). Essa relação para o

terceiro corte pode ter sido influenciada negativamente pelo fato de que nesse ultimo corte as gramíneas forrageiras foram cortadas rente ao solo, proporcionando maior massa seca de colmos nesse corte em relação aos cortes anteriores, favorecendo assim essa baixa relação de folha/colmo+bainhas.

4.1.8. Massa seca de raiz

Os efeitos da inoculação de bactérias diazotróficas endofíticas em capim marandu foram estatisticamente significativos para a variável massa seca de raiz (Tabela 9).

Tabela 9. Massa seca de raiz, de capim-marandu, submetida à inoculação com bactérias diazotróficas associativas cultivado em Latossolo Vermelho do Cerrado

Massa seca de raiz (g vaso -1)		
Tratamentos	3° corte	
Inoculante comercial	33,30 b	
ESB	58,94 b	
ESH	41,48 b	
ESAA	39,89 b	
Adubação completa	124,50 a	
Controle	39,22 b	
CV (%)	30,3	

Estirpe similar à *Burkholderia* ssp. (ESB), estirpe similar à *Herbaspirillum* ssp. (ESH), estirpe similar à *Azospirillum Amazonense* ssp. (ESAA). Médias iguais seguidas da mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

A maior massa seca de raiz foi observada nas plantas em que receberam adubação completa. Contudo, entre as plantas que receberam os demais tratamentos, os que produziram aumento de massa seca de raiz em relação ao tratamento controle foram as inoculadas com estirpes de *Burkholderia* ssp., *Herbaspirillum* ssp. e *Azospirillum amazonense*, com (50; 6 e 2%) respectivamente (Tabela 9).

Esses resultados diferem dos encontrados por Guimarães et al. (2011b) que trabalhando com *brachiaria decumbens* inoculada com *azospirillum* spp. não observaram diferença estatística entre os tratamentos de inoculação e o adubado para a variável massa seca de raiz.

Bactérias promotoras de crescimento vegetal são benéficas às plantas e possuem a capacidade de colonizar as raízes e outros tecidos internos do vegetal, sem causar sintomas de doenças (REIS, 2007).

Além da fixação biológica de nitrogênio, as bactérias diazotróficas podem promover o crescimento do vegetal através da produção de substâncias promotoras de crescimento (auxinas), que aumentam o tamanho e a superfície radicular podendo contribuir para melhor absorção de nutrientes e água do solo (MOREIRA et al., 2010).

Entretanto, Santos Junior (2001) verificou que a máxima produção de massa seca de raízes no capim marandu ocorreu na dose de nitrogênio de 303 mg L⁻¹. Santos e Monteiro (1999) também relataram que, para maximizar a produção de massa seca de raízes da *Brachiaria decumbens*, a dose de N teria de estar elevada.

4.1.9. Relação massa seca de parte aérea e raiz

Para a relação massa seca de parte aérea e raiz foi observado resultado estatístico significativo (Tabela 10).

Tabela 10. Relação massa seca de parte aérea e raiz de capim marandu submetido à inoculação com bactérias diazotróficas associativas cultivado em Latossolo Vermelho de Cerrado

Relação massa seca de parte aérea/raiz (g vaso -1)		
Tratamentos		
Inoculante comercial	0,50 ab	
ESB	0,30 b	
ESH	0,38 ab	
ESAA	0,36 b	
Adubação completa	0,54 a	
Controle	0,40 ab	
CV (%)	25,44	

Estirpe similar à *Burkholderia* ssp. (ESB), estirpe similar à *Herbaspirillum* ssp. (ESH), estirpe similar à *Azospirillum Amazonense* (ESAA). Médias iguais seguidas da mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

A adubação completa apresentou maior relação massa seca de parte aérea e raiz, mesmo não tendo diferido estatisticamente do inoculante comercial, tratamento controle, *Herbaspirillum* ssp. e *A. amazonense*. No

entanto no tratamento com inoculante comercial foi observado aumento (25%) na relação massa seca de parte aérea e raiz quando comparado com as plantas que receberam o tratamento controle, mesmo não diferindo estatisticamente dos demais tratamentos inoculados (Tabela 10).

Esses resultados inferem que quanto maior for à relação massa seca de parte aérea e raiz, maior será também a quantidade de massa seca de parte aérea do capim marandu, o que para o presente estudo é mais interessante, pois o principal objetivo é aumentar produção de forragem com a menor demanda energética possível por parte da planta.

A associação de plantas com *Azospirillum* é mais relacionados à promoção do desenvolvimento vegetal, principalmente do sistema radicular, do que à FBN, embora haja inúmeros relatos que apontam para a viabilidade desse processo (OLIVEIRA et al., 2007).

4.2. pH do solo

No presente estudo não foi observado resultado estatístico significativo da inoculação com bactérias diazotróficas associativas quanto ao pH do solo em nenhum dos três cortes do capim marandu (Tabela 11).

Esses resultados demonstram que os tratamentos não influenciaram no pH do solo mediante ao desenvolvimento do capim marandu, diferindo dos resultados encontrados por Guimarães et al.(2011c), que em estudos sobre a influência do nitrogênio mineral e do pH da rizosfera sobre a população de bactérias diazotróficas em plantas de arroz observaram diferença estatística no pH da rizosfera, o que pode ter influenciado a população de micro-organismos diazotróficos presentes na rizosfera dessas plantas.

Contudo para as gramíneas forrageiras, de modo geral o pH do solo ideal fica numa faixa de 5,0 a 6,5; correspondendo à saturação por base de 40 a 70% (RAIJ, 1983). Porém, para solos do Cerrado há necessidade de manter o pH do solo acima de 5,5, devido à saturação do solo por alumínio ocorrer preferencialmente em saturação menor que 40% (RAIJ et al., 1996).

Tabela 11. pH do solo cultivado com capim marandu submetido à inoculação com bactérias diazotróficas associativas cultivado em Latossolo Vermelho de Cerrado

	pH do solo		
Tratamentos	1°corte	2°corte	3° corte
Inoculante comercial	4,89 a	4,88 a	4,78 a
ESB	4,87 a	4,87 a	4,66 a
ESH	4,87 a	4,80 a	4,78 a
ESAA	4,86 a	4,74 a	4,68 a
Adubação completa	4,88 a	4,86 a	4,80 a
Controle	4,92 a	4,88 a	4,73 a
CV (%)		2,39	_

Estirpe similar à *Burkholderia* ssp. (ESB), estirpe similar à *Herbaspirillum* ssp. (ESH), estirpe similar à *Azospirillum Amazonense* (ESAA). Médias iguais seguidas da mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

4.3. Características nutricionais do capim marandu

4.3.1. Leitura SPAD

A inoculação com bactérias diazotróficas associativas no capim marandu influêncio de forma significativa a leitura SPAD ao longo dos cortes feitos em intervalos de trinta, sessenta e noventa dias (Tabela 12).

Tabela 12. Leitura SPAD, de capim marandu no segundo e terceiro cortes, submetido à inoculação com bactérias diazotróficas associativas cultivado em Latossolo Vermelho de Cerrado

		Cortes	
Tratamentos	1°	2°	3°
		Leitura SPAD	
Inoculante comercial	39,64 aA	20,40 bB	22,22 bB
ESB	39,80 aA	22,06 bB	23,30 bB
ESH	40,16 aA	21,14 bB	24,48 bB
ESAA	42,54 aA	21,84 bB	23,30 bB
Adubação completa	44,08 aA	30,64 aC	35,40 aB
Controle	39,90 aA	22,34 bB	22,40 bB
CV(%)	_	8,74	

Estirpe similar à *Burkholderia* ssp. (ESB), estirpe similar à *Herbaspirillum* ssp. (ESH), estirpe similar à *Azospirillum Amazonense* (ESAA). Médias iguais seguidas da mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

No primeiro corte não houve diferença estatística significativa, contudo a estirpe similar à *Azospirillun amazonense* obteve leitura

equivalente à (96,50%), quando comparada à máxima leitura SPAD, obtida pela adubação completa. Porém, quando comparada às estirpes *Azospirillun amazonense* e *Herbaspirillum* com o tratamento controle as mesmas obtiveram aumentos (6,2 e 0,64%) respectivamente.

A leitura SPAD mede o teor indireto de clorofila nas folhas e está diretamente relacionada à capacidade da planta em fazer fotossíntese. Segundo Torres Netto et al. (2005), a determinação indireta do teor de clorofila em folhas pode ser usada como ferramenta para diagnosticar a integridade do aparelho fotossintético.

Alguns autores sugerem que o teor de clorofila pode ser utilizado como indicador do nível de N na planta, além de boa correlação com o rendimento de algumas culturas (GIL et al., 2002; ROCHA et al., 2005).

No tratamento com adubação completa foi observada maior leitura SPAD (30,5). Nos demais tratamentos não foram observados acréscimos quando comparados a adubação completa, mesmo não diferindo estatisticamente entre si (Tabela 12). Guimarães et al. (2011b) trabalhando com *Brachiaria decumbens* cv. Decumbens em função da inoculação com estirpes de *Azospirillum* spp. observaram um aumento em torno de 10% nas folhas das plantas que foram inoculadas com a estirpe AZ18, quando comparado à adubação sem nitrogênio e sem inoculação, e 82% de aproximação com o tratamento que recebeu a adubação completa para leitura SPAD.

Segundo Jordão et al. (2010) em estudos realizados com inoculação em milho e capim houve efeito positivo na inoculação das sementes de milho com *Azospirillum brasiliense*. A média da leitura do índice SPAD nos tratamentos com a presença da bactéria foi maior que a média dos tratamentos onde não houve inoculação, comprovando a eficiência desse micro-organismo em fixar nitrogênio.

No terceiro corte foi observada maior leitura SPAD para o tratamento com adubação completa. Porém os tratamentos com estirpes similar à *Herbaspirillum* ssp., *Burkholderia* ssp. e *A. amazonense* não diferiram estatisticamente entre si e foram os que mais se destacaram quando

comparados ao tratamento controle, pois os mesmos apresentaram aumento na leitura SPAD de (9, 4 e 4 %) respectivamente (Tabela 12).

Resultados semelhantes foram encontrados por Guimarães et al. (2011a) que em estudos realizados com *B. brizantha*cv. Marandu inoculada com *Azospirillum* spp. observaram maior valor SPAD no tratamento contendo a adubação nitrogenada (máxima leitura obtida).

Houve interação significativa entre cortes e bactérias para leitura SPAD do capim marandu, sendo as maiores leituras observadas no primeiro corte em relação ao segundo e terceiro que mantiveram médias semelhantes (Tabela 12).

A relação entre a concentração de nitrogênio e a leitura do índice SPAD é atribuída devido a mais de 50% do nitrogênio total das folhas serem integrantes de compostos do cloroplasto e da clorofila das folhas (CHAPMAN; BARRETO, 1997). Sendo que folhas bem nutridas com nitrogênio tem maior capacidade de assimilar CO₂ e sintetizar carboidratos durante a fotossíntese resultando em maior acúmulo de biomassa (FERREIRA et al.,1997).

4.3.2. Concentração de nitrogênio na parte aérea do capim marandu

Na inoculação com bactérias diazotróficas associativas no capim marandu observou-se resultado significativo na concentração de N na parte aérea do capim marandu ao longo dos cortes feitos em intervalos de trinta, sessenta e noventa dias (Tabela 13).

Tabela 13. Concentração de N na massa seca de parte aérea (MSPA), de capim marandu, submetido à inoculação com bactérias diazotróficas associativas cultivado em Latossolo Vermelho de Cerrado

	Corte		
Tratamentos	1°	2°	3°
	N	litrogênio g kg ⁻¹	
Inoculante comercial	19,0 bA	3,3 bB	5,8 bB
ESB	25,7 aA	9,8 aB	8,6 bB
ESH	22,6 abA	7,2 abB	8,1 bB
ESAA	24,0 abA	8,9 abB	8,6 bB
Adubação completa	24,6 abA	9,8 aC	17,9 aB
Controle	21,5 abA	8,0 abB	8,1 bB
CV(%)		23,80	

Estirpe similar à *Burkholderia* ssp. (ESB), estirpe similar à *Herbaspirillum* ssp. (ESH), estirpe similar à *Azospirillum Amazonense* (ESAA). Médias iguais seguidas da mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

A maior concentração de N na massa seca de parte aérea do capim marandu para o primeiro corte foi observada na estirpe similar à *Burkholderia* ssp., contudo não houve diferença estatística significativa entre os demais tratamentos, exceto para a seleção de estipes que compõe o inoculante comercial (Tabela 13). Essa diferença pode ter ocorrido pela maior disponibilidade de nitrogênio no primeiro crescimento, devido à mineralização da matéria orgânica após o revolvimento e correção do solo.

Batista e Monteiro (2007) trabalhando com doses de nitrogênio de 1,0 a 33,0 mmol L⁻¹ observaram a influencia da concentração desse mineral nas lâminas de folhas recém-expandidas do capim marandu (*B. brizanthacv*. Marandu), com oscilação de 16,0 a 31,0 g kg⁻¹ na amostragem do primeiro corte e de 9,5 a 17,0 g kg⁻¹ no segundo corte das plantas.

Assim como Townsend et al. (2003) que Avaliando o efeito da calagem e fertilização na produção de forragem de *B. brizantha*cv. Marandu degradada em Porto Velho-RO verificaram que o N provocou incrementos médios de 262 kg ha⁻¹ na produtividade da forragem, quando se aumentou o N de 50 para 100 kg ha⁻¹.

No segundo corte dentre os tratamentos inoculados a maior concentração de N na massa seca de parte aérea do capim marandu foi observada em plantas inoculadas com a estirpe similar à *Burkholderia* ssp.

(18,36 %), em comparação ao tratamento controle, mesmo não havendo diferença significativa entre os demais tratamentos exceto para o inoculante comercial.

De acordo com Silva et al. (2005) a concentração de nitrogênio na parte aérea do capim marandu nos dois períodos de crescimento avaliados aumentaram linearmente em função das doses utilizadas.

No terceiro corte dentre os tratamentos inoculados os que mais se destacam em relação ao tratamento controle foram os pertencentes às estirpes similares à *Burkholderia* ssp. e *Azospirillum Amazonense* (5,81 %). Porém quando comparadas essas mesmas estirpes entre cortes elas foram superiores no primeiro e segundo cortes (Tabela 13).

Segundo Oliveira et al. (2005) em estudo com nitrogênio na recuperação de pastagem do capim marandu em Neossolo quartzarênico, verificaram aumento na concentração de N na parte aérea à medida que ocorreu elevação no fornecimento do elemento. Resultado semelhante foi obtido por Campos (2004), que, ao estudar a fertilização com sulfato de amônio em um solo sob pastagens, observou que a concentração de N na parte aérea do capim braquiária aumentou linearmente com as doses de N.

Houve interação significativa entre cortes e bactérias para concentração de N na parte aérea do capim marandu e foram observadas maiores concentrações no primeiro corte com posterior decréscimo da concentração de N nos demais cortes (Tabela 13).

4.3.3. Concentração de nitrogênio na raiz do capim marandu

A concentração de N na raiz do capim marandu não obteve resultado significativo, contudo para a estirpe similar a *Burkholderia* ssp. e *Azospirillum Amazonense* ssp. foram observados acréscimos (52,63 e 14,28 %) quando comparados ao tratamento controle (Tabela 14).

Tabela 14. Concentração de nitrogênio na raiz, de capim marandu, submetida à inoculação com bactérias diazotróficas associativas cultivado em Latossolo Vermelho do Cerrado

Concentração de N na raiz g kg ⁻¹		
Tratamentos	3° corte	
Inoculante comercial	3,9 a	
ESB	7,5 a	
ESH	2,8 a	
ESAA	4,2 a	
Adubação completa	5,8 a	
Controle	3,6 a	
CV (%)	9,78	

Estirpe similar à *Burkholderia* ssp. (ESB), estirpe similar à *Herbaspirillum* ssp. (ESH), estirpe similar à *Azospirillum Amazonense* ssp. (ESAA). Médias iguais seguidas da mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05)

Batista e Monteiro (2006) demonstraram, por meio de regressão polinomial, que a concentração de nitrogênio no tecido radicular do capim marandu variou de 2,4 a 29,5 g kg⁻¹, no intervalo de doses de nitrogênio de 14 a 462 mg/L na solução nutritiva.

A capacidade de o capim armazenar nitrogênio nas raízes é resultado de equilíbrio entre a concentração de nitrogênio na parte aérea e a concentração nas raízes (OVERMAN; SCHOLTZ, 2003).

Nesse contexto o acumulo de N na planta e pelas gramíneas apresentarem sistema radicular fasciculado, a mesma tem vantagem sobre o sistema pivotante das leguminosas para extrair água e nutrientes do solo. Por isso, mesmo que apenas parte do nitrogênio possa ser fornecida pela associação com bactérias fixadoras, a economia em adubos nitrogenados pode ser considerada igual aquela verificada com as leguminosas que podem ser auto-suficientes em nitrogênio (DÖBEREINER, 1992).

4.3.4. Teor de proteína bruta na parte aérea do capim marandu

A inoculação com bactérias diazotróficas associativas no capim marandu influêncio de forma significativa no teor de proteína bruta ao longo dos cortes feitos em intervalos de trinta, sessenta e noventa dias no capim marandu (Tabela 15).

Tabela 15. Teor de proteína bruta na massa seca de parte aérea (MSPA), de capim marandu, submetido à inoculação com bactérias diazotróficas associativas cultivado em Latossolo Vermelho de Cerrado

		Corte g kg ⁻¹	
Bactérias	1°Corte	2°Corte	3°Corte
	Р	roteína Bruta %	
Inoculante comercial	11,9 bA	2,1 bB	3,6 bB
ESB	16,1 aA	6,1 aB	5,4 bB
ESH	14,1 abA	4,5 abB	5,0 bB
ESAA	15,0 abA	5,6 abB	5,4 bB
Adubação completa	15,4 abA	6,1 aC	11,2 aB
Controle	13,4 abA	5,4 abB	5,0 bB
CV(%)		23,80	

Estirpe similar à *Burkholderia* ssp. (ESB), estirpe similar à *Herbaspirillum* ssp. (ESH), estirpe similar à *Azospirillum Amazonense* (ESAA). Médias iguais seguidas da mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

A estirpe similar à *Burkholderia* ssp. foi superior (16,1) ao tratamento correspondente ao inoculante comercial(11,9) porém houve diferença estatística dos demais tratamentos no primeiro corte, correspondendo a 30 dias de crescimento do capim marandu submetido a inoculação(Tabela 14).

No segundo corte a estirpe similar à *Burkholderia* ssp. também foi superior (6,1) ao tratamento correspondente ao inoculante comercial (2,1). Com relação aos demais tratamentos não houve diferença estatística significativa entre eles (Tabela 15).

Para o terceiro corte o tratamento correspondente á adubação completa foi superior aos demais tratamentos (11,2). Com relação aos tratamentos inoculados e tratamento controle não houve diferença estatística significativa na concentração de proteína bruta do capim marandu (Tabela 15).

No primeiro corte foram observadas maiores concentrações de proteína bruta no capim marandu em relação ao segundo e terceiro cortes que não diferiram estatisticamente um do outro. Sendo assim o primeiro corte realizado aos 30 dias de crescimento do capim marandu monstrou-se superior em comparação aos demais cortes, tendenciando um decréscimo da concentração de proteína bruta aos 60 e 90 dias de cultivo do capim marandu.

Figueiredo et al. (2004) avaliando o capim elefante em três estágios vegetativos encontraram teores de PB de 12,97 % (fase inicial); 5,75 % (fase intermediária) e 2,97% (maduro). Segundo Coward-Lord (1972), nas gramíneas forrageiras tropicais, com o avanço da maturidade, ocorre uma lignificação precoce de seus tecidos e, conseqüentemente ocorrrem alterações no citoplasma celular da planta com o declínio dos teores de PB e de outros nutrientes, devido ao aumento gradativo dos constituintes da parede celular.

Decréscimos acentuados no teor de PB à medida que se aumenta o intervalo entre cortes foram relatados para várias gramíneas de clima tropical (Andrade;Gomide, 1971; Costa et al., 1992; Davis et al., 1987; Euclides et al., 1990; Ruggieri et al., 1995).

Conforme Minson (1990), para ruminantes, consideram-se deficientes as pastagens com teores abaixo 7% de PB na matéria seca. Valores abaixo desse teor foram observados no presente estudo no segundo e terceiro cortes que foram realizados aos 60 e 90 dias de cultivo do capim marandu.

5. **CONCLUSÕES**

As estirpes de bactérias diazotróficas associativas isoladas da mesma região de implantação do estudo, em geral contribuem de forma positiva para a nutrição, desenvolvimento e produção do capim marandu.

As características de nutrição e desenvolvimento do capim marandu decaem à medida que são realizados os cortes ao longo dos sessenta e noventa dias de cultivo.

A produção do capim marandu cresce a partir do segundo corte com sessenta dias de cultivo da gramínea forrageira, decaindo sua produção no terceiro corte aos noventa dias de cultivo.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, J. B. R.; MONTEIRO, A. Produção e nutrição do capim marandu em função de adubação nitrogenada e estádios de crescimento. INSTITUTO DE ZOOTECNIA. **Boletim Indústria animal**, Nova Odessa, v.56, n.2, p.137-146, 1999.

ALCÂNTARA, P.B.; BUFARAH, G. Plantas forrageiras: gramíneas e leguminosas. São Paulo: Nobel, p162, 1999.

ALEXANDRINO, E.; NASCIMENTO JUNIOR, D. N.; REGAZZI, A. J.; MOSQUIM, R.; ROCHA, F. C.; SOUZA, D. P. Características morfogênicas e estruturais da B. brizanthacv. Marandu submetida a diferentes doses de nitrogênio e frequências de cortes. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 27, n. 01, p. 17-24, 2005.

ALVIM, M.J., BOTREL, M.A., VERNEQUE, R.S. *et al.*, Aplicação de nitrogênio em acessos de *Brachiaria*. 1. Efeito sobre a produção de matéria seca. **Pasturas Tropicalis, Cali**, v. 12, n.2, p.2-6, 1990.

ALEXANDRINO, E.; NASCIMENTO JUNIOR, D. do; REGAZZI, A. J.; MOSQUIM, P. R.; ROCHA, F. C.; SOUZA, D. de P. Características morfogênicas e estruturais da *B. brizantha*cv. Marandu submetida a diferentes doses de nitrogênio e frequências de cortes. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 27, n. 1, p. 7-14, 2005.

ALEXANDRINO, E.; VAZ, R. G. M. V.; SANTOS, A. C. DOS. Características da *B. brizanthac*v. Marandu durante o seu estabelecimento submetida a diferentes doses de Nitrogênio. **Biosciência.** J. Uberlândia, v. 26, n. 6, p. 886-893, Nov./Dec., 2010.

ANDRADE, I.F.; GOMIDE, J.A. Curva de crescimento e valor nutritivo de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) "A-146 Taiwan". **Revista Ceres**, v.18, n.100, p.431-447, 1971.

BALDANI, J.I.; BALDANI, V.L.D.; SELDIN, L.; DÖBEREINER, J. Characterization of Herbaspirillum seropedicae gen. nov., sp. nov., a root associated nitrogen-fixing bacterium. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v.36, p.86-93, 1986.

BALDANI, V. L. D. Efeito da inoculação de Herbaspirillum spp. no processo de colonização e infecção de plantas de arroz e ocorrência e caracterização parcial de uma nova bactéria diazotrófica. Tese (Doutorado) — Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 238p, 1996 a.

BALDANI, J.I., POT, B., KIRCHHOF, G., FALSEN, E., BALDANI, V. L. D. OLIVARES, F. L., HOSTE, B. KERSTERS, K., HARTMANN, A.G.,

- DOBEREINER, J. Emended description of *Herbaspirillum*; inclusion of *Pseudomonas rubrisubalbicans*, a mild plant pathogen, as *Herbaspirillum rubrisubalbicans* comb nov; and classification of a group of clinical isolates (EF group 1) as *Herbaspirillum* species 3. **International Journal of Systematic Bacteriology** *46* 802-810, 1996 b.
- BALDANI, J.I.; CARUSO, L.; BALDANI, V.L.D.; GOI, S.R.; DÖBEREINER, J. Recent advances in BFN with non-legume plants. **Soil Biology and Biochemistry**, v.29, p.911-922, 1997.
- BALDANI, J I; et al., Fixação biológica de nitrogênio em gramíneas: avanços e aplicações. In: SIQUEIRA, J.O.; et al., Inter-relação fertilidade, biologia do solo e nutrição de plantas. Viçosa: SBCS; Lavras: UFLA/DCS. p.621-650, 1999.
- BALDANI, J. I.; BALDANI, V. L. D. History on the biological nitrogen fixation research ingraminaceous plants: special emphasis on the brazilian experience. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.77, p.549-579, 2005.
- BASHAN, Y., LEVANONY, H. Current status of *Azospirillum* inoculation technology: *Azospirillum* as a challenge for agriculture. **Canadian Journal of Microbiology.** V. 36: 591-608, 1990.
- BASHAN, Y.; HOLGUIN, G.; DE-BASHAN, L.E. *Azospirillum*-plant relationships: physiological, molecular, agricultural and environmental advances. **Canadian Journal of Microbiology**, v.50 p.521-577, 2004.
- BARBOSA, R. A. (Ed). **Morte de pastos de braquiária**. Campo Grande: EMBRAPA Gado de Corte, 206 p. (EMBRAPA Gado de Corte, Workshop), 2006.
- BATISTA, K.; MONTEIRO, F.A. Sistema radicular do capim-Marandu, considerando as combinações de doses de nitrogênio e de enxofre. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.30, n.5, p.821-828, 2006.
- BATISTA, K.; MONTEIRO, F.A. Nitrogen and sulphur in Marandu grass: relationship between supply and concentration in leaf tissues. **Scientia Agrícola**, v.64, n.1, p.44-51, 2007.
- BENETT, C.G.S.; BUZETTI, S.; SILVA, K. S.; BERGAMSCHINE, A. F.; FABRICIOS, J. A. Produtividade e composição bromatológica do capim marandu a fontes e doses de nitrogênio. **Ciência agrotecnica**, Lavras, v. 32, n. 5, p. 1629-1636, set./out., 2008.
- BODDEY, R.M.; BALDANI; V.L.D.; BALDANI, J.I.; DÖBEREINER, J. Effect of inoculation of Azospirillum spp. on nitrogen accumulation by field-grown wheat. **Plant and Soil**, v.95,p.109-121, 1986.

- BODDEY, R.M., VICTORIA, R.L. Estimation of biological nitrogen fixation associated with Brachiaria and Paspalum grasses using 15Nlabelled organic matter and fertilizer. **Plant and Soil** 90: p 265-292, 1986.
- BODDEY, R.M., PEOPLES, M.B., PALMER, B. and Dart, P.J. Use of the 15N natural abundancetechnique to quality biological nitrogen fixation by woody perennials. **Nutrition Cycles Agroecosys**.,57: p 235-270, 2000.
- BODDEY, R.M., JANTALIA, C.P., MACEDO, M.O., OLIVEIRA, O.C., RESENDE, A. S., ALVES, B.J.R. and Urquiaga, S. Potential of carbon Atlantic forest region Brazil. In: Lal, R.; Cerri, C.C.; Bernoux, M.; Etchevers, J.; Cerri, E. (Eds.). Carbon seques-tration in soil of Latin American. **The Haworth press Bubghamton**. New York. pp. 305- 347, 2006.
- BONFIM-SILVA, E. M.; MONTEIRO, F. A. Nitrogênio e enxofre em características produtivas do capim-braquiária proveniente de área de pastagem em degradação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 04, p. 1289-1297, 2006.
- BONFIM-SILVA, E. M.; MONTEIRO, F. A.; SILVA, T.J.A. Nitrogênio e enxofre na produção e no uso de água pelo capim-braquiária em degradação. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 31, p 909-317, 2007.
- BONFIM-SILVA, E. M., SILVA, T. J. A., LUZ, V. S., GUIMARÃES, S. L., POLIZEL, A. C. Capim marandu no primeiro ano de recuperação em sistemas de manejo no Cerrado. **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer** Goiânia, v., n.12; p.1-9, 2011a.
- BONFIM-SILVA, E. M.; SILVA, T. J. A., CABRAL, C. E. A.; KROTH, B. E.; REZENDE, D. Desenvolvimento Inicial de gramíneas submetidas ao estresse hídrico. **Revista Caatinga**, Mossóro, v.24, n.2,p.180-186, 2011b.
- CABALLERO-MELLADO, J. et al. *Burkholderia unamae* sp. nov., an N2-fixing rhizospheric and endophytic species. **International Journal of Systematic Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 54, p. 1165-1172, 2004.
- CABRAL, C. E. A.; Capins marandu, decumbens e convert submetidos à adubação nitrogenada. Dissertação apresentada à Faculdade de Agronomia, Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Mato Grosso, para obtenção do título de Mestre em Agricultura Tropical. Cuiabá-MT, p.30, 2011.
- CAMPOS, A.X. Fertilização com sulfato de amônio na cultura do milho em um solo do cerrado de Brasília sob pastagem de Brachiaria decumbens. Piracicaba, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 199 p. (Tese de Doutorado), 2004.

- COENYE, T. et al. Use of PCR analyses to define the distribution of Ralstonia species recovered from patients with cystic fibrosis. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 43, p. 3463-3466, 2005.
- COWARD-LORD, J. Composición química y digestibilidad "in vitro" de diez forrajeras tropicales. Mayagüez. Tesis (Maestria) Universidad de Puerto Rico. 1972, 47p.
- COSTA, C.; FAVORETTO, V.; MALHEIROS, E.B. Variação na estrutura da vegetação de duas cultivares de *Panicum maximum* Jacq. (Colonião e Tobiatã) submetidas a diferentes tipos de manejo. Composição em proteína bruta e digestibilidade "in vitro" da matéria seca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.27, n.12, p.1659-1670, 1992.
- COSTA, N.L. Curva de crescimento e composição química de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu em Rondônia. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 32., Brasília, 1995. **Anais**. Brasília: SBZ, 1995. p.38-40.
- CHAPMAN, S. C.; BARRETO, H. J. Using a chlorophyll meter to estimate specific leaf nitrogen of tropical maize during vegetative growth. **Agronomy Journal**, Madison, v. 89, n.1, p. 557-562, 1997.
- CHUEIRE, L. M. O. et al., Classificação taxonômica das estirpes de rizóbio recomendadas para as culturas da soja e do feijoeiro baseada no sequenciamento do gene 16s rRNA. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.27, n. 5, p. 833-840, 2003.
- DA SILVA, S.C. et al. **Pastagens: conceitos básicos, produção e manejo**. Viçosa, MG: Suprema, 115 p., 2008.
- DAVIS, C.E.; JOLLEY, V.D.; MOOSO, G.D. et al. Quality of stockpiled bigalta limpograss forage at varying fertility levels. **Agronomy Journal**, v.79, n.2, p.229-235, 1987.
- DEAKER, R., ROUGHLEY, R.J., KENNEDY, I.R. Legume seed inoculation technologyda review. **Soil Biology and Biochemistry.** v.36, p.1275–1288, 2004.
- DIAS-FILHO, M. B. **Degradação de pastagens**: processos, causas e estratégias de recuperação. 4. ed.revisão atual e ampliada. Belém: Ed. do Autor, p 216, 2011.
- DOBEREINER, J.; DAY, J. M. Associative symbiosis in tropical grasses: Characterizatin of microorganisms and dinitrogen fixing sites. In: Newton W. E, Nymam, C.J.N (ed). Proceedings of the Istitute International Symposium on Nitrogen Fixation. Washington: Pulman, Washington State University of Press. p. 518-538, 1976.

DÖBEREINER, J. Fixação de nitrogênio em associação com gramíneas. In: CARDOSO, E.J.B.N., TSAI, S.M., NEVES, M.C.P. Microbiologia do solo. Campinas: SBCS, p.173-180, 1992.

DOBBELAERE, S.; CROONENBORGHS, A.; TRYS, A.; PTACEK, D.; OKON, Y.; VANDERLEYDEN, J. Effect of inoculation with wild type *Azospirillum brasilense* and *A. irakense* strains on development and nitrogen uptake of spring wheat and grain maize. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v.36, p. 284-297, 2002.

DOBBELAERE, S.; OKON, Y. The plant growth-promoting effect and plant responses. In "Associative and Endophytic Nitrogen-Fixing Bacteria and Cyanobacterial Associations" (Elmerich, C.; Newton, W.E. eds.), p. 145-170. Springer, Dordrecht, The Netherlands, 2007.

EMBRAPA EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUARIA. Manual de métodos de análises de solo. Centro Nacional de Levantamento e Conservação do Solo. Rio de Janeiro: **Embrapa Solos**. p 212, 1997.

EMBRAPA. Embrapa Gado de Corte. **Marandu: cultivar de Brachiaria brizantha.** Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2007. 2p. Disponível em:**URL:** ahttp://www.cnpgc.embrapa.br/index.php? pagina=produtoseservicos/capimmarandu.html. Acesso em: 17 ago., 2013.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A.J. **Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas**. 2. ed. Tradução de Maria Edna Tenório Nunes. Londrina: Ed Planta, p 403. Título original: Mineral nutrition of plants, 2006.

ESTRADA-DE LOS SANTOS, P.; BUSTILLOS-CRISTALES, R.; CABALLEROMELLADO, J. *Burkholderia*, a genus rich in plant-associated nitrogen fixers with wide environmental and geographic distribution. **Applied and Environmental Microbiology**, Baltimore, v. 67, p. 2790-2798, 2001.

EUCLIDES, V.P.B.; VALLE, C.B.; SILVA, J.M. et al. Avaliação de forrageiras tropicais manejadas para produção de feno-em-pé. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.25, n.1, p.63-68, 1990.

RUGGIERI, A.C.; FAVORETTO, V.; MALHEIROS, E.B. Efeito de níveis de nitrogênio e regimes de corte na distribuição, na composição bromatológica e na digestibilidade "in vitro" da matéria seca da *Brachiaria brizantha* (Hochst) Stapf. cv. Marandu. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.24, n.1, p.21-30, 1995.

FAGUNDES, J.L.; FONSECA, D.M.; MORAIS, R.V.; MISTURA, C.; VITOR, C.M.T.; GOMIDE, J.A.; NASCIMENTO JUNIOR, D.; SANTOS, M.E.R. & LAMBERTUCCI, D.M. Avaliação das características estruturais do capimbraquiária em pastagens adubadas com nitrogênio nas quatro estações do ano. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 35:30-37, 2006.

- FERRARI NETO, J. Limitações nutricionais para o colonião (*Panicum maximum* Jacq) em Latossolo da região noroeste do Estado do Paraná. Lavras: Escola Superior de Agricultura de Lavras. 126 f. Dissertação de Mestrado, 1991.
- FERREIRA, A. C. B. **Efeitos da adubação com N, Mo, Zn sobre a produção, qualidade dos grãos e concentração de nutrientes no milho.** 1997. Tese (Mestrado) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1997.
- FERREIRA, D.F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium** (Lavras), v.3, p.317-345, 2008.
- FIGUEIREDO, M.P. de; SOUSA, S.A.; MOREIRA, G.R.; SOUSA, L.F.; FERREIRA, J.Q. Determinação do teor de matéria seca do capim elefante (*Pennisetum purpureum*, Schum), em três estádios de maturidade fisiológica, pelo forno de microondas. *Magistra*, Cruz das Almas, v.16, n.2, p.113,-119, 2004.
- GIL, P. T.; FONTES, P. C. R.; CECON, P. R.; FERREIRA, F. A. Índice SPAD para o diagnóstico do estado de nitrogênio e para o prognóstico da produtividade da batata. **Horticultura Brasileira**, v. 20, n. 4, p. 611-615, 2002.
- GUIMARÃES, S. L.; BALDANI, J. I.; BALDANI, V. L. D. Efeito da inoculação de bactérias diazotróficas em arroz de sequeiro. **Revista Agronomia**, v.37, p.25-30, 2003.
- GUIMARÃES, S.L.; BONFIM-SILVA, E.M.; POLIZEL, A.C.; CAMPOS,T. S. Produção de capim marandu inoculado com *azospirillum* spp. **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, Centro Científico Conhecer** Goiânia, vol.7, N.13, 2011a.
- GUIMARÃES, S.L.; BONFIM-SILVA, E.M.;KROTH, B. E.; MOREIRA, J. C. F.; REZENDE, D. Crescimento e desenvolvimento inicial de *brachiaria decumbens* inoculada com *azospirillum* spp. **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, Centro Científico Conhecer** Goiânia, vol.7, N.13, 2011b.
- GUIMARÃES, S. L.; BALDANI, V. L. D; JACOB-NETO, J. Influência do nitrogênio mineral e do pH da rizosfera sobre a população de bactérias diazotróficas em plantas de arroz. **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, Centro Científico Conhecer** Goiânia, vol.7, N.12;p 4, 2011c.
- HARTMAN, A.; BALDANI, J. I. The genus *Azospirillum*. In: DWORKIN, M.; FLAKNOW, S.; ROSEMBERG, E.; SCHLEIFER, K-H.; STACKERBRANDT, E.; (Ed.). **The Prokaryotes**. 3. ed. New York: Springer, v. 5.; p. 115-140, 2006.

- HUNGRIA, M. Inoculação com Azospirillum brasilense: inovação em rendimento a baixo custo. **Embrapa Soja** Documentos 325, 2011.
- HUERGO, L.F. **Regulação do metabolismo do nitrogênio em Azospirillum brasilense**. Tese (Doutorado Pós-Graduação em Ciências Bioquímica) Ciências Bioquímica, Universidade federal do Paraná, Curitiba, p 170, 2006.
- IMEA. Instituto mato-grossense de economia agropecuária. Pastagens devem ser usadas para agricultura em MT. Disponível em: http://www.imea.com.br/noticias.php?id=537. Acesso em 02/09/2013.
- JARVIS, S.C.; SCHOLEFIELD, D.; PAIN, B. Nitrogen cycling in grazing systems. In: BACON, P. E. (ed.). **Nitrogen fertilization in the environment.** New York: Marcel Dekker, p.381-419, 1995.
- JORDÃO, L. T.; LIMA, F.F.; LIMA, R. S.; MORETTI, A. E.; PEREIRA,H.V.; MUNIZ, A. S.; OLIVEIRA, M.C.N. Teor relativo de clorofila em folhas de milho inoculado com *azospirillum braziliense* sob diferentes doses de nitrogênio e manejo com braquiária. **XXIX Reunião Brasileira de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas.** Guarapari ES, Brasil, 13 a 17 de setembro, 2010.
- KIRCHHOF, G.; ECKERT, B.; STOFFELS, M.; BALDANI, J.I.; REIS, V.M.; HARTMANN, A. Herbaspirillumfrisingense sp. nov., a new nitrogen-fixing bacterial species that occurs in C4-fibre plants. International **Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.51, p.157-168, 2001.
- LAVEZZO, W.; SILVEIRA, A.C.; GONÇALEZ, D.A. et al. Efeito da idade da planta ao primeiro corte sobre a produção, composição bromatológica e alguns aspectos morfológicos de *Brachiaria decumbens*, Stapf. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.9, n.4, p.656-672, 1980.
- LAZZARINI NETO, S. **Manejo das pastagens**. 2 ed. Viçosa: Aprenda Fácil, p 124, 2000.
- MAGALHÃES, F. M. M.; BALDANI, J. I.; SOUTO, S. M.; KUYKENDALL, J. R.; DÖBEREINER, J. A new acid tolerant *Azospirillum* species. **Anais da Academia Brasileira de Ciência**, v. 55, n. 4, p. 417-430, 1983.
- MAGALHÃES, F.M.M., DÖBEREINER, J. Ocorrência de *azospirillum amazonense* em alguns ecossistemas da Amazônia. **Revista de microbiologia** 15: 246-252, 1984.
- MALAVOLTA, E., VITTI, G. C. OLIVEIRA, S. A. Avaliação do Estado Nutricional das Plantas: Princípios e Aplicações. Piracicaba. **Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato.** 319p., 1997.

- MALAVOLTA, E. Manual de nutrição mineral de plantas. São Paulo: **Ceres**, 638 p., 2006.
- MAPA, **Portaria nº36 de 3 de agosto de 2004- Anexo I.** Diário oficial da União da republica federativa do Brasil, Brasilia, nº 153 de 10 de agosto, 2004.
- MEIRELLES, P. R. L.; MOCHIUTTI, S. Formação de pastagens com capim Marandu (B. brizanthacv. Marandu) nos Cerrados do Amapá. Amapá: **Embrapa Amapá**: 1999.
- MINSON, D.J. Forage in ruminant nutrition. San Diego: **Academic Press**, 1990. 483p.
- MONTEIRO, F. A.; RAMOS, A. K. B.; DE CARVALHO, D. D.; et al., Cultivo de *B. brizantha*Stapf. cv. Marandu em solução nutritiva com omissões de macronutrientes. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 52, n. 1, p. 135-141, 1995.
- MOREIRA, A.L. **Melhoramento de pastagens através da técnica da sobressemeadura de forrageiras de inverno.** Disponível em: http://www.aptaregional.sp.gov.br>. 2006.
- MOREIRA, F. M. S; SILVA, K.; NOBREGA, R. S. A.; CARVALHO, F. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata Scientiae** 1(2): p 74-99, 2010.
- NUNES, S.G.; BOOCK, A.; PENTEADO, M.I.O.; GOMES, D.T. *B. brizantha*cv. Marandu. 2.ed. Campo Grande: **EMBRAPA**, CNPGC, p 31, (EMBRAPA/CNPGC. Documentos, 21), 1985.
- OLIVARES, F.L., JAMES, E.K., BALDANI, J.I., DÖBEREINER, J. Infection of mottled stripe diseasesuscetible and resistant varieties of sugar cane by endophytic diazotroph *Herbaspirillum*. **New Phytologist** 135:p 723-737, 1997.
- OLIVEIRA, O.C.; OLIVEIRA, I.P.; FERREIRA, E.; ALVES,B.J.R.; CADISCH, G.; MIRANDA, C.H.B.; VILELA, L.;BODDEY, R.M. & URQUIAGA, S. A baixa disponibilidade de nutrientes do solo como uma causa potencial da degradação de pastagens no cerrado brasileiro. In: Simpósio nacional de recuperação de áreasdegradadas, 3., Ouro Preto, 1997. **Anais.** Ouro Preto, p.110-117, 1997.
- OLIVEIRA, P.P.A.; TRIVELIN, P.C.O.; OLIVEIRA, W.S.; CORSI, M. Fertilização com nitrogênio e enxofre na recuperação de pastagem de *B. brizantha*cv. Marandu em Neossolo quartzarênico. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 4, p.1121-1129, 2005.

- OLIVEIRA, P. P. A.; OLIVEIRA, W. S.; BARIONI, W. J.; Produção de forragem e qualidade de *B. brizantha*cv. Marandu com *Azospirillum brasilense* e fertilizada com nitrogênio. **Embrapa pecuária sudeste**, São Carlos, SP, 2007.
- OVERMAN, A.R.; SCHOLTZ, R.V. Model analysis of forage response to split applications of nitrogen. II. Coupling of roots and tops. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v.34, p.1539-1548, 2003.
- PEDRINHO, E. A. N. Isolamento e caracterização de bactérias promotoras de crescimento em milho (*Zea mays L.*). p.74. Tese (Doutorado em Microbiologia) Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2009. Disponível em http://fcav.unesp.br/download/pgtrabs/micro/d/1937.pdf, 2009.
- PEREIRA, A.V. et al. Melhoramento de forrageiras tropicais. In: Nass, LL, Valois ACC, De Melo, IS e Valadares-Inglis MC (Eds.) **Recursos genéticos e melhoramento** plantas. Rondonópolis, Fundação MT. p. 549-602, 2001.
- PERIN, L.; CABALLERO-MELLADO, J. Burkholderia silvatlantica sp nov., a novel diazotrophic bacterium associated with sugarane and maize. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 56, p. 1931-1937, 2006.
- PINTO, J.C., GOMIDE, J.A., MAESTRI, M. Produção de matéria seca e relação folha/caule de gramíneas forrageiras tropicais cultivadas em vaso, com duas doses de nitrogênio. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.23, n.3, p.313- 326, 1994.
- PRIMAVESI, A. C.; PRIMAVESI, O.; CORRÊA, L. de A.; CANTARELLA, H.; SILVA, A. G. da; FREITAS, A. R. de; VIVALDI, L. J. Adubação nitrogenada em capim- Coastcross: efeitos na extração de nutrientes e recuperação aparente do nitrogênio.**Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 33, n. 1, p. 68-78, 2004.
- RAIJ, B. V. Acidez do solo e calagem. In: CURSO DE ATUALIZAÇÃO EM FERTILIDADE DO SOLO. **IAPAR, ANDA** PPI/PI, Londrina, 65-85, 1983.
- RAIJ, B. V; SILVA, N. M.; BATAGLIA, O. C.; QUAGGIO, J. A.; HIROCE, R.; CANTARELLA, H.; BELLINAZZI JR., R.; DECHEN, A. R.; TRANI, P. E. Recomendação de adubação e calagem para o Estado de São Paulo. Campinas: Instituto Agronômico de Campinas, p 105, 1996.
- RELARE: Reunião da rede de laboratórios para recomendação, padronização e difusão de tecnologias de inoculantes microbiológicos de interesse agrícola, 2010. Bonito. **Anais Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste**, p.65-71, 2010.

- REIS JUNIOR, F.B. Ecologia e diversidade de bactérias do gênero *Azospirillum* em associação com pastagens de *Brachiaria* spp. Seropédica, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Agronomia, p 97. (Tese de Doutorado), 2002.
- REIS JUNIOR, F. B. et al., Identificação de isolados de *Azospirillum amazonense* associados a *Brachiaria* spp., em diferentes épocas e condições de cultivo e produção de fitormônio pela bactéria. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 28, n. 1, p.103-113, 2004.
- REIS JUNIOR, F. B.; REIS, V. M.; TEIXEIRA, K. R. S. Restriction of 16S-23S intergenic rDNA for diversity evaluation of *Azospirillum amazonense* isolated from different *Brachiaria* spp. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, p. 431-438, 2006.
- REIS JUNIOR, F. B.: MENDES, I. C.; REIS, V. M; CUNHA, M. H. Fixação biológica de nitrogênio: uma revolução na agricultura. In: Biotecnologia: estado de arte e aplicações na agropecuária. Planaltina, DF: **Embrapa Cerrados**, p 729, 247- 281, 2011. **URL:** http://www.bdpa.cnptia.embrapa.br/busca. Acesso em: 26/08/2013.
- REIS, V. M. et al. *Burkholderia tropica* sp. nov., a novel nitrogen fixing, plant-associated bacterium. **International Journal of Systematic Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 54, p. 2155-2162, 2004.
- REIS, V. M.; TEIXEIRA, K.R.S. Fixação biológica de nitrogênio-estado de arte. In: AQUINO, A. M.; ASSIS, R. L. Processos biológicos no sistema soloplanta: ferramentas para uma agricultura sustentável. Brasilia **EMBRAPA.** Informação tecnológica, 2005.
- REIS, V. M.; OLIVEIRA, A.L de M. de; BALDANI, V.L.D.; OLIVARES, F.L.; BALDANI, J.I. Fixação biológica de nitrogênio simbiótica e associativa. In: FERNANDES, M.S. (Ed.). Nutrição mineral de plantas. Viçosa: **Sociedade Brasileira de Ciência do solo**, p. 153- 174, 2006.
- REIS, V. M.; PEDRAZA, R. O.; TEIXEIRA, K. R. S. Diversidade e relação filogenética de espécies do gênero *Azospirillum*. **Embrapa Agrobiologia** Documentos 273, p. 14. Seropédica, RJ., 2010.
- REINHOLD-HUREK, B.; HUREK, T.; GILLIS, M.; HOSTE, B.; VANCANNEY, M.; KERSTERS, K.; LEY, J. de. *Azoarcus* gen. nov., nitrogen-fixing proteobacteria associated with roots of kallar grass (*Leptochloa fusca* (L.) Kunth) and description of two species, *Azoarcus indigens* sp. nov. and *Azoarcus communis* sp. nov. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v.43, p.574-584, 1993.

- RIGGS, P.J.; CHELIUS, M.K.; INIGUEZ, A.L.; KAEPPLER, S.M., TRIPLETT, E.W. Enhanced maize productivity by inoculation with diazotrophic bacteria. **Australian Journal of Plant Physiology** 28: p 829-836, 2001.
- ROCHA, R. N. C.; GALVÃO, J. C. C.; TEIXEIRA, P. C.; MIRANDA, G. V.; AGNES, E. L.; PEREIRA, P. R. G.; LEITE, U. T. Relação do óndice SPAD, determinado pelo clorofilômetro, com teor de nitrogênio na folha e rendimento em grãos em três genótipos de milho. Revista Brasileira de Milho e Sorgo, v. 4, n. 2, p. 161-171, 2005.
- SANTOS, A.R. **Diagnose nutricional e respostas do capim-braquiária submetido a doses de nitrogênio e enxofre.** Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiróz, 115 f. Tese de Doutorado. 1997.
- SANTOS, A.R. & MONTEIRO, F.A. Produção e perfilhamento de Brachiaria decumbens Stapf. em função de doses de enxofre. **Science agricultural**., 56:689-692, 1999.
- SANTOS JUNIOR, J.D.G. **Dinâmica de crescimento e nutrição do capim–Marandu submetido a doses de nitrogênio.** Piracicaba, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 79p. (Tese de Mestrado), 2001.
- SILVA, M.C.; SANTOS, M.V.F.; DUBEUX JR., J.C.B. et al., Avaliação de métodos para recuperação de pastagens de braquiária no agreste de Pernambuco. Aspectos quantitativos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.33, n.6, p.1999-2006, 2004.
- SILVA, T.O.; SANTOS, A. R.; SANTOS, J.H.; SILVA, J.O. Produção do capim marandu submetido a doses de nitrogênio em um Latossolo amarelo. **Agropecuária Técnica**, v.26, n.1, p.29–35, 2005.
- SILVA, M. F.; REIS, V. M. Produção, caracterização e aplicação de anticorpo policional contra *Azospirillum amazonense* estirpe AM 15. **Revista de Ciencias Agronômicas**, v. 68, n. 1, p. 1-11, 2009.
- SILVA, M. F. **Uso de inoculante polimérico contendo bactérias diazotróficas na cultura de cana-de-açucar**. 2009. Tese (Doutorado em Ciências) Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009.
- SILVEIRA, É. L. Inoculações de bactérias promotoras de crescimento no cultivo de arroz em solução nutritiva. 2008. Tese. (Doutorado em Microbiologia Agropecuária) Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2008.
- SINGLETON, P., KEYSER, H., SANDE, E. Development and evaluation of liquid inoculants. In: Herridge, D. (Ed.), Inoculants and Nitrogen Fixation of Legumes in Vietnam. **ACIAR Proceedings.** 109e, p. 52–66,

- SOARES FILHO, C.V. Recomendações de espécies e variedades de Brachiaria para diferentes condições. In: **SIMPÓ- SIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM**, 11, Piracicaba. **Anais**. Piracicaba: FEALQ, p.25-48, 1994.
- SOBRINHO, F.S, Carneiro, H., MAGALHÃES, J.R., MIRANDA, J.E.C., PEREIRA, A.V., LÉDO, F.J.S., REIS, M.C., BRUM, S.S., OLIVEIRA, J.S. e BOTREL, M.A. Produtividade e qualidade da forragem de Brachiaria na região norte fluminense. Em: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 42, Goiânia. **Anais.SBZ**.Goiânia, 2005.
- SOUTO, S.M. Variação estacional da fixação de N² e denitrificação em gramíneas forrageiras tropicais. Tese (Doutorado). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Serop, 1982.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Pant Physiology**, 5.ed. Sunderland: Sinauer Associates Inc. Publishers, p 782, 2010.
- TRÂN VAN, V. et al. Isolation and nitrogenase activity of *Burkholderia vietnamiensis*, a nitrogen-fixing bacterium associated with rice (*Oryza sativa* L.) on a sulphate acid soil of Vietnam. **Agronomie**, Paris, v. 16, p. 479-491, 1996.
- TRÂN VAN, V.; BERGE, O.; NGO KE, S.; BALANDREAU, J.; HEULIN, T. Repeated beneficial effects of rice inoculation with a strain of *Burkholderia vietnamiensis* on early and late yield components in low fertility sulphate acid soils of Vietnam. **Plant Soil** 218: p 273–284, 2000.
- TITTABUTR, P., PAYAKAPONG, W., TEAUMROONG, N., SINGLETON, P.W., BOONKERD, N. Growth, survival and field performance of bradyrhizobial liquid inoculant formulations with polymeric additives. **Science Asia.** v.33, p.69–77, 2007.
- TORRES NETTO, A.; CAMPOSTRINI, E.; OLIVEIRA, J. G.; SMITH, R. E. B. Photosynthetic pigments, nitrogen, chlorophyll a fluorescence and SPAD-502 readings in coffee leaves. **Scientia Horticulturae**, v.104, p.199- 209, 2005.
- TOWNSEND, C.R.; COSTA, N.L.; MENDES, A.M.; MAGALHÃES, J.A. Fertilização do solo sob pastagens degradadas de *B. brizantha*cv. Marandu na Amazônia Ocidental Produção de forragem. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 24., 2003, Ribeirão Preto. **Resumos.** Ribeirão Preto: SBCS/UNESP. CD-ROM, 2003.
- VALLE, C.B. Genetic resources for tropical areas: achievements and perpectives. **In: International Grassland Congress,** 19. Proceedings. FEALQ. São Pedro. CD-ROM. Theme- 12. Forage Breeding and Genetics. Plenary paper.,2001.

- VALLE, C.B.; Jank, L.; Resende, R.M.S. Forage breeding in Brazil. **Revista Ceres** 56:460-472 (in Portuguese), 2009.
- VANDAMME, P. et al. Occurrence of multiple genomovars of *Burkholderia cepacia* in cystic fibrosis patients and proposal of *Burkholderia multivorans* sp. nov. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Washington, v. 47, p. 1188-1200, 1997.
- VALVERDE, A.; VELAZQUEZ, E.; GUTIERREZ,C.; CERVANTES, E.; VENTOSA, A.; IGUAL, J.-M. Herbaspirillum lusitanum sp. nov., a novel nitrogen-fixing bacterium associated with root nodules of Phaseolus vulgaris. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.53, p.1979-1983, 2003.
- VARGAS, M.A.T.; HUNGRIA, M. Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja. In: VARGAS M.A.T.; HUNGRIA, M. (Ed.). Biologia dos solos do cerrados. Planaltina: **EMBRAPA CPAC**, p 524, 1997.
- VASCONCELOS, C. N. **Pastagens: implantação e Manejo**. Salvador: EDBA, p 177, 2006.
- VESSEY, J. K. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. **Plant and Soil**, v. 255, p. 571-586, 2003.
- VIEIRA, L.M.; GOMIDE, J.A. Composição química e produção forrageira de três variedades de capim-elefante. **Ceres**, v.10, n.4, p.71-91, 1970.
- YAMADA, Y.; HOSHINO, K.; ISHIKAWA, T. Taxonomic studies of acetic acid bacteria and allied organisms. 11. The phylogeny of acetic acid bacteria based on the partial sequences of 16s ribossomal RNA: the elevation of the subgenus *Gluconoacetobacter* to generic level. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, v.61, p.1244- 1251, 1997.
- WEBER, O. B.; BALDANI, J. I.; DOBEREINER, J. Diazotrophic bacteria in banana plants. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, p. 2277-2285, 2000.
- WILSON, J. R. Environmental and nutritional factores affecting herbage quality. In: Hacker, J. B. (ed.) Nutritional limits to production from pastures. **Farnham Royal**: CAB, p.111-131, 1982.
- ZAMBRANO, E. R.; JIMÉNEZ SALGADO, T.; TAPIA HERNÁNDEZ, A. Estudo de bacterias asociadas a orquídeas (Orchidaceae). **Lankesteriana**, n. 71-2, p. 322-325, 2007.
- ZANETTI, J. B. Identificação de Genótipos de Capim-Elefante (*Pennisetum purpureum* Schumach.) de Alta Produção de Biomassa

com Qualidade para Fins Energéticos. Dissertação. Seropédica, RJ. Julho de 2010.