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

CAPIM XARAÉS INOCULADO COM BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS ASSOCIATIVAS

CHRISTIANE KAMILA BOSA

RONDONÓPOLIS–MT
2014

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

CAPIM XARAÉS INOCULADO COM BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS ASSOCIATIVAS

CHRISTIANE KAMILA BOSA
Engenheira Agrícola e Ambiental

Orientador: Prof. Dr. SALOMÃO LIMA GUIMARÃES

Dissertação apresentada a Universidade Federal de Mato Grosso, Campus Universitário de Rondonópolis, para obtenção do título de Mestre em Engenharia Agrícola, área de concentração: Engenharia de Sistemas Agrícolas.

RONDONÓPOLIS–MT
2014

Dados Internacionais de Catalogação na Fonte.

B741c Bosa, Christiane Kamila.
CAPIM XARAÉS INOCULADO COM BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS ASSOCIATIVAS / Christiane Kamila Bosa. -- 2014
117 f. : il. color. ; 30 cm.

Orientador: Salomão Lima Guimarães.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Mato Grosso, Instituto de Ciências Agrárias e Tecnológicas, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, Rondonópolis, 2014.
Inclui bibliografia.

1. Brachiaria Brizanta cv. Xaraés. 2. fixação biológica de nitrogênio. 3. Cerrado. 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 XARAÉS INOCULADO COM BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS ASSOCIATIVAS**

Autora: Christiane Kamila Bosa.
Orientador: Prof. Dr. Salomão Lima Guimarães

Aprovada em 05 de dezembro de 2014.

Comissão Examinadora:

_____
Prof. Dr. Salomão Lima Guimarães
UFMT (orientador)

_____
Prof. Dr. Erineudo de Lima Canuto
IFMT (membro externo)

_____
Profª Drª Analy Castilho Polizel
UFMT (membro interno)

“Agradeço todas as dificuldades que enfrentei: não fosse por elas, eu não teria saído do lugar. As facilidades nos impedem de caminhar...”

Chico Xavier

Aos meus queridos pais e o meu namorado que sempre acreditaram na minha capacidade e me apoiaram em todos os momentos.
Obrigada por tudo!

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pelas oportunidades proporcionadas, por permitir momentos tão bons e, principalmente, momentos ruins que favoreceram meu crescimento profissional, por estar sempre ao meu lado e por possibilitar essa maravilhosa conquista em minha vida;

À Universidade Federal de Mato Grosso e ao Curso de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, pela oportunidade;

Ao Professor Dr. Salomão Lima Guimarães, pela amizade, pela sua paciência, orientação, confiança, ensinamentos, dedicação, e incansável apoio à realização deste trabalho;

Às professoras Drª. Analy Castilho Polizel e Edna Maria Bonfim-Silva, pela amizade durante todo esse tempo e pelas sugestões e valiosas contribuições;

Ao membro da banca, Prof. Dr. Erineudo de Lima Canuto, obrigada pela disponibilidade e interesse por conhecer meu estudo;

Aos Professores do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola da UFMT, pela contribuição ao meu aprendizado;

Aos técnicos do laboratório de Solos Elias e do Laboratório de Biologia Valeriano pelo auxílio nos trabalhos laboratoriais e pela amizade;

A meus pais, por terem feito tudo por mim. Exemplos de força, garra e luta a quem devo toda a minha formação acadêmica; minha eterna gratidão;

À minha família, em especial minha irmã e cunhado, por todo incentivo, compreensão, paciência, por entender minha ausência e sempre apoiar meus objetivos;

Ao pequenino Otto Fernandes Bosa por tornar minha vida muito mais divertida;

Á meu noivo Emerso Aparecido Gonçalves por abraçar comigo o projeto deste mestrado. Obrigado pelo carinho, paciência e palavras de incentivo quando eu mais precisava. Obrigada pela compreensão de minha ausência;

Em especial as amigas Julyane Vieira Fontenelli e Samara Lorâine Soares da Silva que estiveram ao meu lado nessa jornada de dois anos e em momento algum me

decepcionaram como amigas. Meu muito obrigado por fazerem parte da minha história e ao amigo João Ângelo Silva Nunes, que ajudou na condução do experimento demonstrando sua amizade ao longo do mestrado;

A todos os colegas do Mestrado, pela convivência e troca de experiências e angústias durante esse tempo;

A CAPES pelo apoio financeiro que permitiu dedicar-me integralmente à pesquisa que agora concluo;

A todos que me apoiaram e acreditaram nesta conquista, obrigado por tudo!

CAPIM XARAÉS INOCULADO COM BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS ASSOCIATIVAS

RESUMO

O objetivo do trabalho foi avaliar a inoculação de bactérias diazotróficas associadas com *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés, em primeiro cultivo em Latossolo Vermelho do Cerrado. O experimento foi realizado em casa de vegetação, no Campus Universitário de Rondonópolis-MT. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, constituído por fatorial 7x3, correspondente a sete tratamentos: três estirpes de bactérias diazotróficas associativas (MTAz8, MTH2 e Y2), uma combinação das estirpes MTAz8 e MTH2, adubação nitrogenada (com nitrogênio fósforo e potássio), testemunha (isenta de inoculação e de nitrogênio, porém, com fósforo e potássio) aqui denominada por testemunha (sem N) e testemunha absoluta (sem inoculação e adubação), e três cortes (30, 60 e 90 dias), em cinco repetições. A inoculação foi feita por meio da inserção de uma alíquota de 5 mL de caldo bacteriano contendo 10^8 células mL^{-1} no solo próximo à área radicular de cada planta. Após cada corte, foi feita a reinoculação das bactérias, assim como as adubações nitrogenada e potássica. Houve efeito significativo para interação entre inoculação e cortes para a maioria das variáveis, sendo as bactérias que mais se destacaram as estirpes Y2 e MTH2, com acréscimos na massa seca total da parte aérea de (8,66 e 7,27%) quando comparadas a testemunha (sem N), mesmo não diferindo entre si. O maior acúmulo de nitrogênio foi observado na adubação nitrogenada crescendo ao longo dos cortes, enquanto que os tratamentos inoculados e testemunha (sem N) não diferiram entre si, e decresceram ao longo dos cortes. Portanto, conclui-se que as características nutricionais, porcentagem de proteína bruta e concentração e acúmulo de nitrogênio no capim Xaraés decaíram à medida que foram realizados cortes ao longo dos sessenta e noventa dias de cultivo. A produção de massa seca do capim Xaraés inoculado apresentou acréscimo médio de 11,32% quando comparado os tratamentos inoculados a testemunha na ausência de nitrogênio e inoculação. As estirpes de bactérias estudadas apresentaram baixa competição com

os micro-organismos presentes no solo e dentre as bactérias estudadas as estirpes Y2 e MTH2 apresentaram potencial de FBN em associação com o capim xaraés em primeiro cultivo em Latossolo Vermelho do Cerrado.

Palavras-chave: *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés, fixação biológica de nitrogênio, Cerrado.

XARAÉS GRASS INOCULATED WITH DIAZOTROPHIC ASSOCIATIVE BACTERIA

ABSTRACT

The objective was to evaluate the inoculation of associative diazotrophs bacteria with Brachiaria brizantha cv. Xaraés in the first cultivation in the Cerrado Oxisol. The experiment was conducted in a greenhouse at the University Campus Rondonópolis-MT. The experimental design was completely randomized factorial consisting of 7x3, corresponding to seven treatments: three strains of associative diazotrophs bacteria (MTAz8, MTH2 and Y2), a combination of strains MTAz8 and MTH2, nitrogen fertilization (with nitrogen, phosphorus and potassium), witness (free of inoculation and nitrogen, but with phosphorus and potassium) here called control (no N) and absolute control (without inoculation and fertilization), and three cuts(30, 60 and 90 days) in five replications. The inoculation was performed by inserting an aliquot of 5 ml of the bacterial broth containing 10^8 ml^{-1} cells in the soil near the root zone of each plant. After each cut, was made the re-inoculation of bacteria, as well as nitrogen and potassium fertilization. There was a significant interaction effect between inoculation and cuts for most variables, the bacteria that stood out were the strains Y2 and MTH2, with increases in total dry mass of the aerial part of (8,66 and 7,27%) when compared to control without inoculation and nitrogen, even not among them. The higher nitrogen accumulation was observed in N fertilization growing over the cuts, while the inoculated treatments and control (no N) did not differ, and decreased over the cuts. Therefore, it is concluded that the nutritional characteristics, crude protein and nitrogen concentration and accumulation in Xaraés grass declined with cuts were carried to the sixty and ninety days of cultivation. The dry matter production of Xaraés grass inoculated showed an average increase of 11,32% compared treatments inoculated control without nitrogen and inoculation. The bacterial strains studied showed low competition with the micro-organisms in the soil and among the bacteria studied the Y2 and MTH2 strains showed potential for FBN in association with the xaraés grass at first crop in the Cerrado Oxisol.

Keywords: *Brachiaria brizantha* cv.Xaraés, biological nitrogen fixation, Cerrado.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Vista geral do experimento em casa de vegetação (A), vista dos tratamentos da esquerda para a direita: testemunha absoluta, testemunha (sem N), Y2, MTAz8, MTH2, MTAz8 + MTH2 e adubação nitrogenada, respectivamente (B). 34
Figura 2. Transplantio das mudas de capim Xaraés, onde as mesmas foram retiradas da bandeja de areia lavada (A) e transplantadas nos vasos (B e C).....36
Figura 3. Aplicação do caldo bacteriano próximo à área radicular de cada planta.....37
Figura 4. Corte das plantas de *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés sob inoculação com bactérias diazotróficas associativas (A) e detalhe do corte (B). 38
Figura 5. Altura do capim Xaraés (A) e índice de clorofila (B) do capim Xaraés sob inoculação com bactérias diazotróficas associativas.....38
Figura 6. Película característica produzida por bactérias diazotróficas associativas.....40
Figura 7. Comparação do perfilhamento aos 11 dias após o segundo corte dos tratamentos:testemunha absoluta (A), adubação nitrogenada (B) e a estirpe Y2 (C). ...51
Figura 8. Comparação dos tratamentos no terceiro corte (90 dias após transplantio) entre a adubação nitrogenada e os tratamentos: Y2 (A), MTAZ8 (B), MTH2 (C), MTAz8 + MTH2 (D), testemunha (sem N) (E) e testemunha absoluta (F).....54
Figura 9. Comparação entre as unidades experimentais testemunha absoluta e testemunha (sem N), respectivamente da esquerda para a direita, no primeiro corte aos 30 dias após transplantio (A). Representação da linha de corte aos 30 dias (B). Comparação após o corte entre a testemunha absoluta a esquerda e a estirpe MTAz8 a direita(C).....56
Figura 10. Massa seca do sistema radicular de plantas de capim Xaraés inoculado com bactérias diazotróficas associativas, correspondente aos tratamentos: adubação nitrogenada (A), Y2 (B), MTAz8 (C), MTH2 (D), MTAz8 + MTH2 (E), testemunha (sem N) (F) e testemunha absoluta (G).....65
Figura 11. Vista dos tratamentos de plantas de capim Xaraés no terceiro corte (aos 90 dias após transplantio), da esquerda para a direita: adubação nitrogenada, Y2, MTAz8, MTH2, MTAz8 + MTH2, testemunha (sem N) e testemunha absoluta. 70
Figura 12. Representação do efeito diluição no tratamento adubação nitrogenada no primeiro (A), segundo (B) e terceiro (C) cortes, em comparação a testemunha absoluta no primeiro (D), segundo (E) e terceiro (F) cortes. 73
Figura 13. Comparação entre os tratamentos testemunha (sem N) e testemunha absoluta, respectivamente da esquerda para a direita, no primeiro (A), segundo (B) e terceiro (C) cortes, realizados em intervalos de 30 dias.....82
Figura 14. Vista comparativa dos tratamentos da esquerda para a direita: adubação nitrogenada, Y2, MTAz8, MTH2, MTAz8 + MTH2,testemunha (sem N)e testemunha absoluta no primeiro (A), segundo (B) e terceiro (C) cortes. 84

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Análises químicas e físicas na camada de 0–0,20 m, do Latossolo Vermelho. 35
Tabela 2. Altura (cm) do capim Xaraés submetido à inoculação com bactérias diazotróficas associativas no primeiro, segundo e terceiro cortes, cultivado em Latossolo vermelho do Cerrado.....41
Tabela 3. Número de folhas (vaso^{-1}) do capim Xaraés submetido à inoculação com bactérias diazotróficas associativas no primeiro, segundo e terceiro cortes, cultivado em Latossolo vermelho do Cerrado. 43
Tabela 4. Número de perfilhos (vaso^{-1}) do capim Xaraés submetido à inoculação com bactérias diazotróficas associativas no primeiro, segundo e terceiro cortes, cultivado em Latossolo vermelho do Cerrado. 46
Tabela 5. Diâmetro do colmo (mm) do capim Xaraés submetido à inoculação com bactérias diazotróficas associativas no primeiro, segundo e terceiro cortes, cultivadas em Latossolo vermelho do Cerrado. 49
Tabela 6. Massa seca de folhas (g vaso^{-1}) do capim Xaraés submetido à inoculação com bactérias diazotróficas associativas no primeiro, segundo e terceiro cortes, cultivado em Latossolo vermelho do Cerrado. 52
Tabela 7. Massa seca do colmo (g vaso^{-1}) do capim Xaraés submetido à inoculação com bactérias diazotróficas associativas no primeiro, segundo e terceiro cortes, cultivado em Latossolo vermelho do Cerrado. 55
Tabela 8. Massa seca da parte aérea (g vaso^{-1}) do capim Xaraés submetido à inoculação com bactérias diazotróficas associativas no primeiro, segundo e terceiro cortes, cultivado em Latossolo vermelho do Cerrado.....58
Tabela 9. Massa seca total da parte aérea (g), de capim Xaraés, submetida à inoculação com bactérias diazotróficas associativas cultivado em Latossolo Vermelho do Cerrado. 60
Tabela 10. Relação folha/colmo + bainha do capim Xaraés submetido à inoculação com bactérias diazotróficas associativas no primeiro, segundo e terceiro cortes, cultivado em Latossolo vermelho do Cerrado. 62
Tabela 11. Massa seca da raiz (g), de capim Xaraés, submetida à inoculação com bactérias diazotróficas associativas cultivado em Latossolo Vermelho do Cerrado.....64
Tabela 12. Relação parte aérea/raiz, de capim Xaraés, submetida à inoculação com bactérias diazotróficas associativas cultivado em Latossolo Vermelho do Cerrado.....67
Tabela 13. Índice de clorofila Falker do capim Xaraés submetido à inoculação com bactérias diazotróficas associativas no primeiro, segundo e terceiro cortes, cultivadas em Latossolo vermelho do Cerrado. 69

Tabela 14. Concentração de nitrogênio (g kg^{-1}) na parte aérea de capim Xaraés submetido à inoculação com bactérias diazotróficas associativas no primeiro, segundo e terceiro cortes, cultivado em Latossolo vermelho do Cerrado. 72
Tabela 15. Concentração de nitrogênio (g kg^{-1}), na raiz de capim Xaraés, submetida à inoculação com bactérias diazotróficas associativas cultivado em Latossolo Vermelho do Cerrado. 76
Tabela 16. Proteína bruta (%) na parte aérea de capim Xaraés submetido à inoculação com bactérias diazotróficas associativas no primeiro, segundo e terceiro cortes, cultivado em Latossolo vermelho do Cerrado. 77
Tabela 17. Proteína bruta (%) na raiz de capim Xaraés, submetida à inoculação com bactérias diazotróficas associativas cultivado em Latossolo Vermelho do Cerrado. 80
Tabela 18. Acúmulo de nitrogênio (mg $vaso^{-1}$) na parte aérea de capim Xaraés submetido à inoculação com bactérias diazotróficas associativas no primeiro, segundo e terceiro cortes, cultivado em Latossolo vermelho do Cerrado. 81
Tabela 19. Acúmulo de nitrogênio (mg $vaso^{-1}$) na raiz de capim Xaraés, submetida à inoculação com bactérias diazotróficas associativas cultivado em Latossolo Vermelho do Cerrado. 85
Tabela 20. Número de bactérias diazotróficas no solo (número de células g^{-1} de solo) avaliadas em meio de cultura LGI e NFb. 86
Tabela 21. Número mais provável de bactérias diazotróficas associativas (número de células g^{-1} $vaso^{-1}$) em meio de cultura LGI, em solo cultivado capim Xaraés submetido à inoculação com bactérias diazotróficas associativas no primeiro, segundo e terceiro cortes, cultivadas em Latossolo vermelho do Cerrado. 86
Tabela 22. Número mais provável de bactérias diazotróficas associativas (número de células g^{-1} $vaso^{-1}$) em meio de cultura NFb, em solo cultivado capim Xaraés submetido à inoculação com bactérias diazotróficas associativas no primeiro, segundo e terceiro cortes, cultivado em Latossolo vermelho do Cerrado. 88

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO **13**
2 REVISÃO DE LITERATURA **15**
2.1 Pastagens no Brasil **15**
2.2 *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés **16**
2.3 Dinâmica do nitrogênio no solo **19**
2.4 Nitrogênio em plantas forrageiras **21**
2.5. Fixação Biológica de Nitrogênio **24**
2.6 Bactérias diazotróficas associativas **26**
2.7 Inoculação em gramíneas **30**
3 MATERIAL E MÉTODOS **34**
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO **41**
4.1 Características estruturais do capim Xaraés **41**
4.2 Características produtivas do capim Xaraés **52**
4.3 Características nutricionais do capim Xaraés **68**
4.4 Características microbiológicas do capim Xaraés **85**
5 CONCLUSÕES **91**
REFERÊNCIAS **92**
ANEXOS **114**

1 INTRODUÇÃO

A pecuária brasileira apresenta uma área de aproximadamente 200 milhões de hectares de pastagens cultivadas, estas principalmente com gramíneas do gênero *Brachiaria*, devido a sua elevada adaptabilidade e tolerância às condições de solos ácidos e de baixa fertilidade, aliada ao seu valor forrageiro (BODDEY et al., 2006).

O gênero *Brachiaria* representa um marco na pecuária nacional com a ocupação de grandes áreas do Cerrado na região central do Brasil. A utilização de espécies e/ou cultivares foi proporcionada pelo conjunto de características desejáveis dessas forrageiras. Por isso, a supremacia deste gênero pode se estender por muito tempo, tendo-se em vista a extensão das áreas cultivadas e o fato de os programas de seleção e melhoramento de forrageiras da Empresa Brasileira de Pesquisa e Agropecuária (EMBRAPA) contemplar esse gênero (FAGUNDES et al., 2006).

As pastagens apresentam respostas positivas às adubações, sendo que 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 essas gramíneas forrageiras (VASCONCELOS, 2006).

A principal importância do nitrogênio na produtividade da planta forrageira é conhecida, principalmente por ser responsável pelo aumento imediato e visível da produção (MONTEIRO, 1995). Trata-se de elemento que é exigido pelas plantas em maior quantidade, geralmente representa de 20 a 40 g kg^{-1} da massa seca dos tecidos vegetais e é componente integral de muitos tecidos (TAIZ; ZEIGER, 2004).

Uma das formas de tentar minimizar os impactos oriundos das aplicações, muitas vezes desordenadas dos adubos nitrogenados, seria a disponibilização do nitrogênio atmosférico por meio da fixação biológica de nitrogênio (FBN) por bactérias diazotróficas, as quais desempenham papel importante na agricultura, pois reduzem o custo de produção das culturas (STACEY et al., 1992; GUIMARÃES et al., 2013). Além do nitrogênio fixado, fornecem também fitormônios, principalmente auxinas, que estimulam o crescimento das plantas (RODRIGUES, 2004).

Essas bactérias podem viver livre no solo, associadas a espécies vegetais, tanto na rizosfera quanto endofiticamente, bem como formar simbioses, como ocorre em muitas leguminosas. As bactérias diazotróficas associativas são encontradas em diferentes espécies vegetais, incluindo diferentes representantes da família Poacea (BHATTACHARJEE et al., 2008; MOREIRA et al., 2010).

As associações entre bactérias diazotróficas e as raízes de gramíneas, podem ser apontadas como uma alternativa sustentável e economicamente viável para a substituição total ou parcial das adubações nitrogenadas. As interações formadas com diversas culturas têm sido tema de pesquisas no mundo todo, devido ao seu potencial biotecnológico, evidenciado no aumento da produtividade das culturas, possibilidade de redução dos custos de produção ao diminuir o volume de adubos nitrogenados que são aplicados e, consequentemente, melhor conservação dos recursos ambientais (MOREIRA et al., 2010).

Muitos avanços foram realizados na pesquisa sobre bactérias diazotróficas associadas, todavia, ainda há muito a ser feito, desde estudos sobre os micro-organismos e os processos envolvidos na associação com as plantas hospedeiras até a aplicação dessa biotecnologia pelos agricultores (SILVEIRA; FREITAS, 2007).

Sendo assim, objetivou-se avaliar a inoculação de bactérias diazotróficas associativas com *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés, em primeiro cultivo em Latossolo Vermelho do Cerrado.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Pastagens no Brasil

O Brasil apresenta uma área de aproximadamente 200 milhões de hectares de terras ocupadas por pastagens, estas principalmente com gramíneas do gênero *Brachiaria*, devido a sua elevada adaptabilidade e tolerância às condições de solos ácidos e de baixa fertilidade, aliada ao seu valor forrageiro (BODDEY et al., 2006). Sendo que o estado de Mato Grosso possui uma área de aproximadamente 27 milhões de hectares ocupados com pastagens (IMEA, 2014).

Segundo Ministério da Agricultura (2014) o Brasil apresenta aproximadamente 30 milhões de hectares de pastagens em algum estágio de degradação ocasionado pelo seu manejo. Dentre as consequências acarretadas pela degradação da pastagem, Barcellos (1996) relata a queda na produção de forragens, a diminuição na cobertura de solo, o surgimento de plantas espontâneas competitivas, além da erosão ocasionada pelas chuvas.

As pastagens, devido seu baixo custo de produção em relação aos concentrados, representam a forma mais prática e econômica de alimentação de bovinos, constituindo a base de sustentação da pecuária brasileira (MARTINS et al., 2010).

Dentre as alternativas para recuperação da fertilidade das pastagens, o uso de adubação nitrogenada se desponta como uma das práticas de maior importância e dificuldade de manejo, uma vez que a deficiência deste elemento tem sido uma das principais causas na degradação de pastagens cultivadas (SOARES FILHO et al., 1992).

No estabelecimento de pastagens, atualmente destacam-se os capins do gênero *Brachiaria* que apresentam vantagens em relação a outros gêneros, sendo as espécies de maior importância a *B. decumbens, B. brizantha, B. ruziziensis e B. humidicola* (SOBRINHO et al., 2005).

As pastagens formadas por plantas do gênero *Brachiaria* caracterizam-se pelo expressivo potencial de produção de matéria seca e extração de nutrientes do solo. O metabolismo C4 confere a essas plantas alta eficiência no uso da radiação solar e elementos essenciais do solo e água (TAIZ; ZEIGER, 2004).

A expansão de áreas de pastagens cultivadas com espécies do gênero *Brachiaria* no Brasil tem sido verificada em proporções, provavelmente, jamais igualada por outras forrageiras, em qualquer outro país de clima tropical (COSTA et al., 2007).

2.2 *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés

Desde o início da década de 1980 já se conhecia a *B. brizantha* e, em 1983, a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa – liberou a primeira cultivar, a Marandu, que em guarani significa novidade. Por ser um capim que se alastra rápido e vigorosamente, adaptado a solos de média fertilidade, resistente à cigarrinha das pastagens e com bons índices de produtividade animal, expandiu-se especialmente em áreas com incidência de cigarrinhas onde predominava a *B. decumbens*, como na Amazônia legal (sul do Pará, Tocantins, Acre, Rondônia, norte do Mato Grosso), e estima-se que hoje cerca de 50% das pastagens cultivadas brasileiras, ou aproximadamente 50 milhões de hectares, estejam plantadas com essa cultivar, estabelecendo-se um monocultivo (VALLE et al., 2004).

O lançamento de novas cultivares de gramíneas forrageiras resulta da demanda crescente pela busca por plantas mais competitivas, menos exigentes em fertilidade do solo, com menor sazonalidade de produção e maior resistência a pragas e doenças, entre outros fatores (SANTOS et al. 2006a).

Após o lançamento da cultivar Marandu o Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte da Embrapa lançou outra cultivar de *Brachiaria brizantha* denominado Xaraés. Segundo Valle et al. (2003), a cultivar Xaraés [*Urochloa brizantha* cv. Xaraés (Syn. *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés)] foi liberada com o objetivo de promover a diversificação de espécies forrageiras nas pastagens do gênero *Brachiaria,* oferecendo

opção alternativa de qualidade à *Brachiaria brizantha* cv. Marandu (CARLOTO et al., 2011).

O nome Xaraés, de origem guarani, foi a denominação difundida pelos colonizadores espanhóis do século XVI, para designar o conjunto formado pelos ecossistemas e os povos que habitaram o Mato Grosso uno, portanto, é uma homenagem à região onde esse capim foi inicialmente avaliado no Brasil (VALLE et al., 2004).

A cultivar Xaraés, foi originalmente coletada em Burundi, na África e foi introduzida no Brasil na década de 1980 por intermédio de um convênio de cooperação firmado entre a Embrapa e o Centro Internacional de Agricultura Tropical – Ciat. Foi avaliada por 15 anos, conforme as etapas do Programa de Melhoramento Genético de *Brachiaria* coordenado pela Embrapa Gado de Corte, sendo lançada no mercado brasileiro em 2003 (BRASIL, 2014).

Essa forrageira é uma planta cespitosa, com folhas lanceoladas e longas, de coloração verde-escura, contendo poucos pêlos. A lâmina foliar pode alcançar 64 cm de comprimento e 3 cm de largura, com pilosidade na face adaxial e bordos ásperos (cortantes). Apresenta do porte ereto (crescimento em touceiras), podendo atingir 1,5 m de altura. Possui colmos finos, com cerca de 6 mm de diâmetro e pouco ramificados. Em contato com o solo, os nós podem enraizar, dando origem a novas plantas. As inflorescências são grandes, com 40 cm a 50 cm de comprimento, com espiguetas unisseriadas, em número médio de 44, arroxeadas no ápice, com pêlos longos, claros, translúcidos na parte apical (VALLE et al., 2004).

O capim Xaraés é uma forrageira de estabelecimento rápido e boa rebrotação, apresentando florescimento tardio concentrado em maio/junho, e a produção de sementes é grande chegando a 120 kg $ha^{-1}ano^{-1}$. É indicada para solos com média fertilidade, bem drenados e de textura média. Possui média resistência a cigarrinha das pastagens, rápido crescimento e elevada produção forrageira (VALLE et al., 2003; PEDREIRA et al., 2007).

Estudos realizados em casa de vegetação indicam que o capim Xaraés não apresenta os mesmos níveis de resistência às cigarrinhas das pastagens (gêneros Deois e Notozulia) que o capim-marandu, porém as populações de cigarrinhas e os

danos observados nessa cultivar tem sido consistentemente baixos nos experimentos de campo e em observações feitas em fazendas particulares de diversas regiões do Brasil (VALLE et al., 2004). Tal fato limita sua utilização extensiva em áreas com histórico de problemas com cigarrinhas.

A cultivar Xaraés foi inicialmente indicada para regiões de clima tropical de Cerrados e de clima tropical úmido, podendo ser cultivada nas regiões Centro-Oeste e Sudeste, além do oeste da Bahia e na Mata Atlântica desse estado, mas com restrições na Amazônia legal (norte de Mato Grosso, Tocantins, Rondônia, Acre e sul do Pará) por conta da suscetibilidade à cigarrinha das pastagens (VALLE et al., 2004).

Segundo Euclides et al. (2005), a principal vantagem do capim Xaraés em relação ao capim Marandu é a maior taxa de rebrota e, consequentemente, maior acúmulo de forragem, atingindo em média, 24,5 e 20,2 t ha^{-1} ano^{-1} de matéria seca, para as cvs. Xaraés e Marandu, respectivamente. Esse acúmulo de massa garantiu uma taxa de lotação 25% superiores no período das águas; e isso resultou em 4 arroba de peso vivo $ha^{-1}ano^{-1}$ a mais do que a cv. Marandu. Portanto, a cv. Xaraés vem ganhando popularidade devido a sua produção mais intensiva que outras cultivares do gênero (EUCLIDES, 2002).

O alto vigor e crescimento inicial rápido e vigoroso dessa cultivar favorecem a competição com as plantas daninhas durante a fase de estabelecimento, possibilitando realizar o primeiro pastejo entre 70 e 90 dias após a semeadura, estimulando o perfilhamento da gramínea e contribuindo para aumentar a densidade de plantas na área (ANDRADE, 2008).

Estudos realizados em condições de casa de vegetação sugerem que o capim-xaraés apresenta grau moderado de tolerância ao alagamento do solo, comparativamente à cultivar Marandu, que é muito sensível (DIAS-FILHO, 2002; MARTINEZ et al., 2007). A cultivar também pode ser utilizada na renovação de pastagens degradadas de capim-marandu, em solos de baixa permeabilidade, sujeitos ao encharcamento temporário, devendo-se evitar o plantio apenas nas áreas consideradas de risco forte a extremamente forte de morte do capim-marandu (AMARAL, 2008).

Seus principais atributos positivos são a alta produtividade, especialmente de folhas, a rápida rebrota e o florescimento tardio, prolongando o período de pastejo até o período seco. Além disso, apresenta bom valor nutritivo e alta capacidade de suporte, que resulta em cerca de 20% maior produtividade animal por hectare do que a cultivar Marandu (VALLE et al., 2004).

O ‘Xaraés’ é uma cultivar de mediana exigência em fertilidade do solo, situando-se em uma posição intermediária entre a ‘Marandu’ e cultivares de *Panicum maximum*. Apesar da boa adaptação a solos ácidos, produz melhor em solos de textura média, férteis e corrigidos (MACEDO et al., 2004).

Como a produtividade das gramíneas forrageiras está diretamente relacionada à sua capacidade de emitir folhas de meristemas remanescentes após a desfolhação (NABINGER, 1997), estudos básicos envolvendo morfologia, fisiologia e ecofisiologia da cultivar Xaraés certamente contribuirão para o estabelecimento de melhor estratégia de manejo, otimizando a produção e utilização dessa forrageira (MARTUSCELLO et al., 2005).

2.3 Dinâmica do nitrogênio no solo

A maior parte do nitrogênio existente na biosfera não se encontra diretamente acessível às plantas. O nitrogênio molecular (N_2), mesmo sendo o gás mais abundante da atmosfera (78%), não pode ser utilizado pelas plantas para a construção de suas biomoléculas por ser uma molécula estável e pouco reativa. As principais fontes de nitrogênio no solo para as plantas são: os materiais de origem vegetal e animal (matéria orgânica), fertilizantes industriais, sais de amônio e nitrato trazidos da atmosfera pelas chuvas e a fixação biológica de nitrogênio (TAIZ; ZEIGER, 2004). As plantas superiores são capazes de absorver o N em diferentes formas, tais como aminoácidos, ureia, NH^{4+} e nas condições aeróbias naturais como NH_3 (MALAVOLTA et al., 1997).

Dentre estes processos, o uso de fertilizantes industriais é sem dúvida a prática mais empregada para a reposição do nitrogênio aos solos. De acordo com a IFA

(International Fertilizer Industry Association) o consumo global de fertilizantes nitrogenados industriais entre 1960 e 2010 aumentou de 13 para 102 Mt de N, como uma estimativa de chegar a 112 Mt de N em 2015 (HEFFER, 2011).

Embora seja de grande importância o uso de nitrogênio na produção das pastagens, as fertilizações nitrogenadas tendem a elevar os custos de implantação e manutenção das mesmas. Parte do nitrogênio introduzido no sistema de produção agrícola é frequentemente 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), além dos diversos problemas ambientais que estão relacionados com sua utilização, a exemplo da contaminação das águas e do solo com nitratos (EIRAS; COELHO, 2011).

Em virtude da grande importância do nitrogênio para a reconstituição da fertilidade do solo e, consequentemente, para a recuperação das pastagens degradadas, torna-se fundamental o conhecimento da eficiência nutricional da recuperação e do aproveitamento do nitrogênio pelas gramíneas forrageiras, para que estas sejam mantidas em condições de sustentabilidade e produtividade rentável (SILVA, 2007).

A dinâmica do nitrogênio no solo é muito complexa e diferenciada em relação aos outros nutrientes. Aguiar e Silva (2005) salientam que esse nutriente possui grande mobilidade no solo, sofre inúmeras transformações mediadas por micro-organismos, possui alta movimentação em profundidade, transforma-se em formas gasosas e se perde por volatilização e tem baixo efeito residual. Com isso, parte do nitrogênio aplicado à pastagem é frequentemente perdida no sistema, o que reduz a eficiência de uso, principalmente porque os fertilizantes nitrogenados são normalmente aplicados em cobertura, sem incorporação ao solo.

No solo, o nitrogênio encontra-se, na sua grande parte, em combinações orgânicas e na forma mineral (inorgânica), em menores quantidades, em que pode ser citado nitrato e amônio (MALAVOLTA, 1980) que estão prontamente disponíveis às plantas (SÁ, 1999). A matéria orgânica é o principal reservatório de nitrogênio no solo, porém não está prontamente disponível às plantas (URQUIAGA; ZAPATA, 2000), mesmo que represente a maior porção de nitrogênio no solo. A manutenção de matéria

orgânica no solo contribui para uma constante permanência do nitrogênio no solo, o qual está imobilizado temporariamente pelos micro-organismos decompositores no material vegetal morto e se tornará disponível às plantas posteriormente (KORNDÖRFER et al., 1997).

De acordo com Primavesi et al. (2004) existem várias fontes de nitrogênio que podem ser usadas em pastagens, contudo, uma das mais comuns é a ureia (44 a 46% nitrogênio). A ureia apresenta como vantagem menos custo por quilograma de nitrogênio, mas comumente, mostra maior perda de nitrogênio por volatilização, apresenta alta concentração de nitrogênio, é de fácil manipulação e causa menor acidificação no solo, o que a torna potencialmente superior a outras fontes, do ponto de vista econômico.

O manejo adequado da adubação das pastagens de gramíneas tropicais, como as do gênero *Brachiaria*, é requisito fundamental para manter sua sustentabilidade, de forma que estas possam manter altas produtividades e constituir alimento de qualidade para o rebanho bovino (PRIMAVESI et al., 2006).

2.4 Nitrogênio em plantas forrageiras

A importância do nitrogênio é conhecida pelas funções exercidas no metabolismo das mesmas, participando como constituinte de proteínas, citocromos, clorofilas, dentre outros, além de ser considerado um dos fatores mais relevantes para o aumento da produção, por influenciar a taxa de emergência e expansão da área foliar, como é citado por Taiz e Zeiger (2009).

É um dos principais nutrientes para a intensificação da produtividade das gramíneas forrageiras, pois é o constituinte essencial das proteínas e interfere diretamente no processo fotossintético, por meio de sua participação na molécula de clorofila, e sua deficiência é apontada como a principal causa de redução na produtividade e degradação das áreas cultivadas com essas gramíneas forrageiras (MEIRELLES, 1993; VASCONCELOS, 2006). Gomide (1989) observou que as relações

inadequadas dos nutrientes, ou desequilíbrio dos minerais no solo podem interferir de maneira prejudicial na nutrição mineral das plantas, e consequentemente, limitar a produção de forragem.

Werner (1986) enfatizou a importância do nitrogênio no porte da planta forrageira influenciando o tamanho de folhas e colmo e o aparecimento e desenvolvimento dos perfilhos. Esse autor salienta que, quando há baixa disponibilidade de nitrogênio no solo, o crescimento é lento e as plantas apresentam-se de porte baixo, com poucos perfilhos, e os teores de proteína tornam-se insuficientes para atender às necessidades do animal, corroborando com Monteiro et al. (1995) que observaram que o tratamento de omissão de nitrogênio foi o que mais limitou o desenvolvimento das plantas quanto ao número de perfilhos e altura de plantas e, consequentemente, quanto à produção de massa seca da parte aérea e das raízes. Dessa forma, a produtividade de gramíneas forrageiras depende da contínua emissão de folhas e perfilhos, processo importante para a restauração da área foliar após pastejo ou corte e que garante a perenidade à forrageira (GOMIDE; GOMIDE, 2000).

Normalmente, as gramíneas tropicais respondem intensamente a doses crescentes de nitrogênio (LAZZARINI NETO, 2000). O potencial de resposta das gramíneas forrageiras à adubação nitrogenada é um aspecto importante na escolha de cultivares para sistemas intensivos. Deve-se dirigir o manejo para o aproveitamento racional da forragem produzida, adequando a frequência, a intensidade e a época de pastejo aos ganhos por animal e por área, evitando perdas no valor nutritivo da forragem. Todavia, é fundamental o balanço entre os nutrientes no solo, o qual pode interferir nos benefícios da adubação.

Este macronutriente é exigido em maior quantidade pelas plantas, representando cerca de 10 a 40 g kg^{-1} na massa seca total, sendo responsável pelas características morfológicas de tamanho de folhas e colmos, desenvolvimento de perfilhos, entre outros (TAIZ; ZEIGER, 2009).

Segundo Marenco e Lopes (2009) o nitrogênio é absorvido pelas raízes das plantas, preferencialmente nas formas de nitrato e amônio. O nitrato pode originar-se da mineralização da matéria orgânica que contendo os aminoácidos nitrogenados sofre diversas transformações bioquímicas, mas também pode ser de adubos contendo tal

sal. O amônio pode originar-se do adubo mineral, da passagem da amina para a nitrificação, ou através de simbiose em vegetais da família das leguminosas com bactérias fixadoras (SILVA et al., 2009).

Na planta, o nitrogênio é facilmente redistribuído via floema e, consequentemente, as plantas deficientes em nitrogênio apresentam os sintomas principalmente nas folhas mais velhas. A proteólise e a redistribuição dos aminoácidos resultam no colapso dos cloroplastos e assim ocorre decréscimo no conteúdo de clorofila nas folhas mais velhas. A longevidade das folhas é modificada pela falta de nitrogênio, já que esse elemento, sendo móvel, desloca-se para partes novas da planta, provocando senescência precoce das partes mais velhas (MARSCHNER, 1995; TAIZ; ZEIGER, 2004).

O aumento do teor de nitrogênio no solo por meio de fertilização é uma das formas de incrementar a produtividade nas pastagens, principalmente quando a forrageira responde à aplicação desse nutriente. Vários trabalhos relatam a importância da adubação nitrogenada como Lavres Jr. et al. (2004), estudando atributos produtivos e fisiológicos do *Panicum maximum* cv. Aruana submetido a doses de nitrogênio em solução nutritiva, concluíram que a produção de massa seca da parte aérea e das raízes, a área foliar, o número de folhas verdes expandidas e o número de perfilhos foram influenciados pelas doses de nitrogênio.

Do mesmo modo, Colozza et al. (2000), Lavres Junior e Monteiro (2003), Fagundes et al. (2006) e Silveira e Monteiro (2007), observaram que o aumento na disponibilidade de nitrogênio para os capins proporciona, também, aumento do número de perfilhos nas plantas. Martuscello et al. (2005) e Paciullo et al. (2011) concluíram que a adubação nitrogenada resultou em incremento na taxa de aparecimento de folhas, número de perfilhos e de folhas vivas e no comprimento final da lâmina foliar para espécies de *Brachiaria.* Bastos (2012) trabalhando com formas e doses de nitrogênio nos aspectos morfogênico, produtivos e nutricionais do capim-xaraés observou que a produção de massa da parte aérea foi significativamente alterada pelas doses de nitrogênio.

O potencial produtivo das forrageiras na pastagem pode ser melhorado com a aplicação de fertilizantes, notadamente os nitrogenados (CARVALHO; SARAIVA, 1987).

Porém, sua utilização tem sido limitada pelo custo, em virtude da extensão das áreas envolvidas e da necessidade de aplicações frequentes (DÖBEREINER, 1997). Portanto, atualmente buscam-se tecnologias alternativas que visem o suprimento de nitrogênio que as plantas forrageiras necessitam de forma sustentável, sendo muito estudado o provesso de fixação biológica de nitrogênio.

2.5. Fixação Biológica de Nitrogênio

A produção de alimentos para atender à crescente população sempre foi um desafio para as sociedades. Esse desafio é complexo, pois não basta atender a demanda quantitativa, mas também, qualitativa dos alimentos. A busca por sistemas alternativos de produção agrícola que atenuem ou mesmo suprima os efeitos danosos dos agroquímicos usados, indiscriminadamente, nos sistemas convencionais tem crescido (OLIVEIRA et al., 2003).

Nesse contexto, a exploração do potencial da fixação biológica de nitrogênio atmosférico (FBN) em gramíneas tropicais, tem surgido como uma saída sustentável para este impasse (SOUTO, 1982; OLIVEIRA et al., 2003).

Embora o N_2 seja bastante abundante na atmosfera terrestre, apenas uma pequena parte das espécies de procariotos possui a enzima nitrogenase, indispensável para reduzir o N_2 para a forma inorgânica combinada NH_3 (amônia) que pode, então, tornar-se disponível para plantas e outros organismos denominados fixadores de nitrogênio ou diazotróficos e o mecanismo responsável pela incorporação de nitrogênio à biomassa é conhecido como fixação biológica de nitrogênio (FBN) (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

A FBN, além de garantir um ecossistema em equilíbrio, possibilita a redução na aplicação de doses excessivas de compostos nitrogenados, como por exemplo, o nitrato, que contamina as águas e os vegetais consumidos pelo homem, contribuindo para o desenvolvimento de uma agricultura menos agressiva ao ambiente (PEOPLES; CRASWELL, 1992). Juntamente com a decomposição da matéria orgânica, e atrás

apenas da fotossíntese, a FBN é considerada um dos mais importantes processos biológicos do planeta (REINHOLD-HUREK; HUREK, 2011).

O nitrogênio é um nutriente fundamental para a produção das culturas, porém é considerado o mais problemático no solo, uma vez que a maior parte está ligada à matéria orgânica e apenas uma pequena fração encontra-se disponível para as plantas. Para disponibilizá-lo, a transformação do N_2 em formas disponíveis para as plantas requer a quebra da tripla ligação entre os átomos de nitrogênio pela fixação espontânea, industrial ou biológica. A fixação biológica, realizada por bactérias diazotróficas, representa o processo de grande importância, pois é responsável pela incorporação de quantidades consideráveis do nitrogênio atmosférico, tanto em ecossistemas naturais quanto em ecossistemas agrícolas (FIGUEIREDO et al., 2008).

Os micro-organismos diazotróficos endofíticos podem desempenhar importante papel na sustentabilidade dos ecossistemas, uma vez que incorporam nitrogênio por meio da fixação biológica em quantidades que podem variar de 25 a 50 kg ha^{-1} ano-1 de N e produzem e liberam substâncias reguladoras do crescimento vegetal, como auxinas, giberelinas e citocininas, as quais contribuem para melhorar a nutrição mineral e utilização de água pelas plantas (BAZZICALUPO; OKON, 2000).

As contribuições na fixação biológica de nitrogênio foram verificadas inicialmente em leguminosas, mas plantas da família Poaceae (antiga Graminae) utilizadas em diversos experimentos têm apresentado potencial significativo, respondendo com aumento na produção quando inoculadas com bactérias diazotróficas (BALDANI et al., 2002; PENG et al., 2002; ELBELTAGY et al., 2001).

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. Tem-se verificado que áreas de pastagem com gramíneas e cana-de-açúcar têm mantido níveis razoáveis de produtividade sem aplicação de fertilizantes nitrogenados, o que indica que este fenômeno poderia estar relacionado com a contribuição da FBN, por micro-organismos endofíticos (MOREIRA et al., 2010).

Experimentos conduzidos pelo método de incorporação do ^{15}N confirmaram que várias gramíneas tropicais se beneficiam de nitrogênio fixado biologicamente (DE-

POLLI, 1975; RUSCHEL, 1975; DE-POLLI et al., 1977). Nesse contexto, a utilização de organismos capazes de fixar o nitrogênio com diversas culturas tem sido tema de pesquisas no mundo todo, devido ao potencial biotecnológico evidenciado no aumento da produtividade das culturas, apresentando-se como alternativa natural para fornecer o nitrogênio requerido pelos vegetais (MOREIRA et al., 2010).

Há necessidade de maior aprofundamento em estudos que determinem a real contribuição da FBN com o intuito de promover maior produtividade, assim como, contribuir para a preservação do meio ambiente. Apesar da constância com que as bactérias endofíticas são isoladas, ainda são pouco conhecidas suas potencialidades fisiológicas, que implicam diretamente nas possíveis trocas entre esses micro-organismos e plantas (MARTINS et al., 2008).

2.6 Bactérias diazotróficas associativas

O uso da FBN realizada por bactérias diazotróficas é destacado por Reis (2007) como uma das alternativas em busca do melhor aproveitamento do nitrogênio, devido à possibilidade de redução da aplicação de adubação nitrogenada. Segundo Dobbelaere et al. (2003) o uso destas bactérias vem demonstrando resultados satisfatórios na melhora no mecanismo da nutrição nitrogenada, tanto por meio da fixação biológica, como pela produção e liberação de reguladores do crescimento vegetal, como auxinas, giberelinas e citocininas, as quais contribuem para melhorar a nutrição mineral e utilização de água pelas plantas.

As bactérias diazotróficas podem ser de vida livre, estar associadas a espécies vegetais ou, ainda, estabelecer simbiose com leguminosas. Os estudos com bactérias diazotróficas são de grande importância, devido à contribuição destas para o fornecimento de nitrogênio a diversos ecossistemas naturais ou manejados (MOREIRA et al., 2010). Dentre as mais estudadas, destacam-se aquelas pertencentes aos gêneros *Azospirillum, Herbaspirillum, Acetobacter, Burkholderia* e *Azoarcus.*

Um grupo potencialmente importante de diazotróficos é composto de micro-organismos capazes de formar associações, por meio de colonização radicular e dos tecidos internos das plantas, estabelecendo associações endofíticas. Pesquisas pioneiras no assunto vêm sendo feitas no Brasil há mais de três décadas pelo grupo de pesquisadores iniciado por Dobereiner, com o desafio de tornar viável e desenvolver meios práticos para substituir, total ou parcialmente, a adubação mineral com nitrogênio por FBN em gramíneas. A capacidade de fixação de N_2 da associação de várias espécies de diazotróficos com gramíneas forrageiras, cereais e cana-de-açúcar já foram demonstradas (URQUIAGA et al., 1992; BODDEY et al., 2003).

Há muitos anos tem-se verificado que áreas de pastos com gramíneas e cana-de-açúcar têm mantido níveis razoáveis de produtividade sem a aplicação de fertilizantes nitrogenados, o que indica que este fenômeno poderia estar relacionado com a contribuição da FBN por micro-organismos associativos. Existem inúmeros trabalhos evidenciando os benefícios da inoculação destas bactérias no crescimento e nutrição de várias plantas, particularmente gramíneas (BODDEY; DÖBEREINER, 1988; MAGALHÃES; DÖBEREINER, 1984; DÖBEREINER, 1992; BALDANI et al., 1997; SALA et al., 2005).

De acordo com Baldani et al. (1997), os diazotróficos associativos estão divididos em dois grupos: endofíticos facultativos (podem colonizar tanto a rizosfera como o interior das raízes) e os endofíticos obrigatórios (colonizam o interior das raízes). As bactérias endofíticas são assim denominadas por colonizarem o interior dos tecidos vegetais e não causarem danos aparentes (DOBBELAERE; VANDERLEYDEN; OKON, 2003).

Bactérias diazotróficas endofíticas são aquelas que fixam N_2 atmosférico e colonizam o interior de tecidos vegetais sem causar sintomas de doenças (DÖBEREINER, 1992). Observou-se que tais diazotróficos ocupam preferencialmente, sítios onde a concentração de O_2 é limitada. Esta descoberta revolucionou e ampliou as pesquisas sobre todos os aspectos da FBN nas associações entre diazotróficos e não leguminosas, denominadas comumente de simbiose associativa ou fixação de N_2 associativa (BALDANI et al., 1997).

Organismos pertencentes ao gênero *Azospirillum* são classificados como organismos rizosféricos, colonizando principalmente a zona de elongação e os pêlos radiculares, algumas estirpes de *Azospirillum* podem ser encontradas no interior dos vegetais, por isso denominado endofíticos facultativos (DOBEREINER et al., 1995, STEENHOUD; VANDERLEYDEN, 2000). Apesar das diferentes formas de interação, esses diazotróficos, quando estão em associação com gramíneas, garantem aumento de 5 a 30% na produção (BALDANI et al., 1983; OKON, LABANDERA-GONZALEZ, 1994).

De acordo com Dobereiner et al. (1995), *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.

O gênero *Azospirillum* possui atualmente 17 espécies: *A. brasilense, A. lipoferum, A. amazonense, A. irakense, A. halopraeferens, A. largimobile, A. doebereinerae, A. oryzae, A. melinis, A. canadense, A. zeae, A. rugosum, A. picis e A. thiophilum, A. formosense, A. humicireducens e A. fermentarium (*FALEIRO, 2014).

A distribuição ecológica de *Azospirillum* ssp. é extremamente ampla, podendo ser considerada uma bactéria universal encontrada colonizando plantas crescidas em diferentes *habitats* (DOBEREINER; DAY, 1976; DOBEREINER, PEDROSA, 1987).

Por exemplo, *A. irakense* ocorre em arroz (KHAMMAS et al., 1989); *A. halopraeferans* ocorre apenas em “Kallar Grass”, uma gramínea nativa do Paquistão (REINHOLD et al., 1987); *A. lipoferum*e *A. brasilense* são normalmente encontradas em áreas tropicais, associadas com forrageiras, cereais como milho, arroz, trigo, sorgo além de outras poaceaes como cana-de-açucar e de diversas plantas de outras famílias (HARTMAN; BALDANI, 2006; ZAMBRANO et al., 2007). *A. amazonense* foi isolada a partir de amostras de forrageiras plantadas na região amazônica, mas também é 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 JUNIOIR 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, as células de *Azospirillum* podem penetrar nos espaços intercelulares de raízes e lá se alojarem (BASHAN, LEVANONY, 1990; BALDANI et al., 1996).

Outra bactéria endofítica de grande importância pertence ao gênero *Herbaspirillum*, fazendo parte do grupo das endofíticas obrigatórias. *Herbaspirillum* ssp. são bactérias gram-negativas, em formato de bastonetes curvos, fixadoras de nitrogênio em condições microaerófilas (OLIVARES et al., 1997).

O gênero *Herbaspirillum* tem sua ocorrência um pouco mais restrita do que as demais espécies de diazotróficos atualmente conhecidas (MOREIRA et al., 2010). Os representantes do gênero *Herbaspirillum* são considerados bactérias endofíticas obrigatórias e apresentam baixa sobrevivência no solo (BALDANI et al., 1996). A associação dessas bactérias fixadoras de nitrogênio são mais frequentes com gramíneas (MAGALHÃES; DÖBEREINER, 1984; BASHAN; HOLGUIN, 1997; BALDANI et al., 1999).

Herbaspirillum spp. são capazes de colonizar nichos específicos no interior dos tecidos vegetais, podendo transferir mais eficientemente para planta os compostos nitrogenados produzidos e ainda não sofrerem limitações de substâncias ricas em carbono (OLIVARES et al., 1997). Por isto, encontram-se livres da competição com outros micro-organismos edáficos.

Esses micro-organismos possuem a habilidade de colonizar estas plantas, sendo isoladas do interior de raízes, hastes e folhas (OLIVARES et al., 1996). A colonização de Poaceae por *Herbaspirillum* sp. ocorre através da adesão da bactéria à superfície da planta, seguida de proliferação preferencialmente nas raízes secundárias e ferimentos. Uma vez no interior da planta, os micro-organismos podem espalhar-se e alcançar os tecidos aéreos, provavelmente via vasos do xilema (HUREK et al., 1994; JAMES; OLIVARES, 1998; RONCATTO-MACCARI et al., 2003).

Bactérias diazotróficas associativas e endofíticas podem desenvolver mudanças no crescimento das raízes, tais como modificações no crescimento, morfologia e densidade de pelos radiculares (SANTOS, 2009).

Goi et al.(1998), em estudo envolvendo os processos de infecção e colonização de bactérias diazotróficas endofíticas e seu efeito na distribuição e densidade de pêlos

radiculares em raízes de plântulas de cana-de-açúcar mostraram variações nesses parâmetros nas diferentes zonas da raiz.

2.7 Inoculação em Poaceae (gramíneas)

No intuito de contribuir para o favorecimento de processos que beneficiam o crescimento vegetal direta ou indiretamente, a produção de inoculante é proposta de forma à obtenção de sucessos ainda mais promissores. Segundo Reis (2007), inoculante é um produto que se refere à utilização de micro-organismos vivos, capazes de promover o crescimento vegetal de forma direta ou indireta, através de diferentes mecanismos sendo denominados mundialmente de biofertilizantes, sendo no Brasil o produto mais famoso o inoculante para a cultura da soja.

Segundo Reis (2007), resultados com experimentos de inoculação, por exemplo, com *Azospirillum*, têm apresentado uma grande variabilidade nos resultados em culturas como trigo, arroz, milho e sorgo, onde em média de incremento no rendimento das culturas estava em torno de 20-30%.

De acordo com Bashan e Levanony (1990) aumentos moderados, em torno de 20%, atribuídos à inoculação com diazotróficos endofíticos, seriam considerados comercialmente significativos na agricultura moderna, desde que consistentes. Uma das variáveis que contribuem para complexidade das respostas de produção à inoculação é o genótipo da planta, que frequentemente mostra respostas diferenciais, além do efeito da estirpe inoculada. O efeito do genótipo da planta sobre a fixação associativa tem sido amplamente demonstrado em cereais (HOLL, 1983). Em muitos casos, a ausência deresposta à inoculação tem sido atribuída ao uso de linhagens inadequadas (DOBEREINER; DUQUE, 1980), pois parece haver certa compatibilidade entre as bactérias e a planta hospedeira.

Baldani e Dobereiner (1980) testaram diferentes estirpes em trigo com origens diversas concluíram que estirpes isoladas da própria espécie vegetal (homólogas) tendem a ser mais eficientes do que as isoladas de plantas de outras espécies. O

trabalho de Baldani et al. (1983), também apresenta resposta positiva de plantas de trigo com bactérias isoladas da própria cultura e ausência de resposta, quando utilizou-se estirpes isoladas de milho.

Estudar as bactérias naturalmente presentes no solo e inocular em condições de campo promove um passo para o entendimento das diversas interações que possam ocorrer e para o desenvolvimento da tecnologia de inoculantes, como ocorre no caso da soja e do arroz (NGUYEN et al., 2003).

Avanços em pesquisas com bactérias diazotróficas para inoculação em não leguminosas, ainda estão sendo feitas com resultados cada vez mais promissores, mais com um caminho longo a ser percorrido para que se afirme positivamente um inoculante específico para estas culturas, assim como já existente para a cultura da soja, que favoreçam e promovam o crescimento vegetal. Através de diversos mecanismos que auxiliem na maior absorção de água e nutrientes, fixe nitrogênio do ar, e outros efeitos benéficos para as plantas. Mas um fator que impede o sucesso maior esta relacionado ao estabelecimento de um programa de seleção de estirpes que deve ser testado em vários locais e variedades, visando estabelecer as condições ideais de uso da tecnologia (REIS, 2007).

Pesquisa sobre FBN tem sido dirigida à seleção de bactérias que maximizem a fixação de nitrogênio em uma dada variedade de planta e às formas de garantir que estas bactérias se associem à planta cultivada em um dado lugar. A maneira mais prática é selecionar a bactéria mais eficiente nesta variedade específica, multiplicá-la em algum meio de cultura e colocar este meio em contato com as sementes da variedade a ser plantada. A produção e distribuição deste inóculo aos plantadores e a verificação periódica da eficiência da fixação são as etapas finais do processo de manejo da FBN (NASCIMENTO, 2013).

Devido ao potencial de contribuição dos diazotróficos associativos no crescimento vegetal e ao sucesso da inoculação de diazotróficos simbióticos em leguminosas, têm se buscado aplicar essa tecnologia de inoculantes e inoculação para não leguminosas. No Brasil, está sendo testado uma mistura de cinco espécies de diazotróficos (*Gluconoacetobacter diazotrophicus, Herbaspirillum seropedicae, H.*

rubrisubalbicas, Azospirillum amazonense e Burkholderia tropica), um inoculante misto para cana de açúcar e outras gramíneas (REIS; REIS, 2009).

Vários estudos visando selecionar estirpes com elevado potencial em fixar nitrogênio demonstram um importante aspecto, sobre a necessidade desse processo ser constante, exigindo-se isolar um grande número de bactérias para, através de processos de seleção específico, obter algumas estirpes com maior potencial de fixação de nitrogênio, gerando, posteriormente, ganhos de produtividade na cultura estudada (MARTINS et al., 2003; YATES et al., 2004; UCHÔAS, FARIA,2006; SILVA et al., 2007).

O interesse na fixação biológica em gramíneas é devido à maior facilidade de aproveitamento de água das mesmas em relação às leguminosas, pela maior efetividade fotossintética. As gramíneas apresentam um sistema radicular fasciculado, tendo vantagens sobre o sistema pivotante das leguminosas para extrair água e nutrientes do solo; e por serem as gramíneas largamente utilizadas como alimento pelo homem. Por isso, mesmo que apenas uma parte do nitrogênio pudesse ser fornecida pela associação com bactérias fixadoras, a economia em adubos nitrogenados seria igual ou superior àquela verificada com as leguminosas que podem ser auto-suficientes em nitrogênio (CAMPOS et al., 2000).

Na última década ficou demonstrado que parte do nitrogênio utilizado por cereais e forrageiras advém da associação destas plantas com bactérias diazotróficas como *Herbaspirillum* spp., *Burkholderia* spp. e *Azospirillum* spp. (DÖBEREINER, 1997).

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 $1{,}0 \times 10^8$ células por mililitro ou grama de produto (RELARE, 2010).

Para as empresas produtoras de inoculante, a abertura de um mercado de inoculantes para fixação biológica de nitrogênio em não leguminosas permitiria uma imensa ampliação de escala de produção. Os benefícios econômicos, sociais e ambientais da abertura deste mercado são evidentes, como menor uso de fertilizante

nitrogenado mineral; maior lucratividade das culturas; menor poluição ambiental; economia da energia empregada na fabricação de N mineral e geração de empregos nas indústrias (SILVA, 2006).

A utilização de inoculantes é uma forma ambientalmente correta de fornecimento de nitrogênio para não leguminosas e outras culturas que se associam com micro-organismos diazotróficos. É também a forma mais econômica de suprimento deste nutriente, a qual pode ser desenvolvida tanto por pequenos agricultores que cultivam para sua subsistência, como por grandes produtores.

A FBN em gramíneas pode ser uma alternativa viável para aumentar a inclusão de nitrogênio no sistema com custos baixos. No entanto, muitos estudos ainda serão necessários para se selecionar as bactérias de maior capacidade de fixação de nitrogênio em associação com capins de interesse comercial nos diferentes ambientes, uma vez que há poucos estudos dedicados às gramíneas forrageiras, especialmente quando se busca resultados práticos de resposta à inoculação.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, da Universidade Federal de Mato Grosso, Campus Universitário de Rondonópolis, no período de junho a setembro de 2014. A gramínea forrageira utilizada foi a *Brachiaria* brizantha cv. Xaraés (Figura 1).

Figura 1. Vista geral do experimento em casa de vegetação (A), vista dos tratamentos da esquerda para a direita: testemunha absoluta, testemunha (sem N), Y2, MTAz8, MTH2, MTAz8 + MTH2 e adubação nitrogenada, respectivamente (B).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, constituído por fatorial 7x3, correspondente a sete tratamentos: três estirpes de bactérias diazotróficas associativas (MTAz8, MTH2 e Y2), uma combinação das estirpes MTAz8 e MTH2, adubação nitrogenada (com nitrogênio fósforo e potássio), testemunha (isenta de inoculação e de nitrogênio, porém, com fósforo e potássio) aqui denominada por testemunha (sem N) e testemunha absoluta (sem inoculação e adubação), e três cortes (30, 60 e 90 dias), em cinco repetições, perfazendo um total de 35 unidades experimentais.

O solo utilizado foi um Latossolo Vermelho distrófico, coletado na camada de 0-0,20 m, em área de primeiro cultivo. O solo foi passado em peneira de 2 mm de abertura, homogeneizado e realizado caracterização química e granulométrica (Tabela 1), de acordo com a metodologia proposta pela Embrapa (1997). O solo para a composição dos vasos foi peneirado em malha de 4 mm de abertura e acondicionados nas unidades experimentais, representadas por vasos plásticos de 7,5 dm^3.

Tabela 1. Análises químicas e físicas na camada de 0–0,20 m, do Latossolo Vermelho.

pH	P	K	Ca	Mg	H	Al	SB	CTC	V	M.O.	Areia	Silte	Argila
($CaCl_2$)	(mg dm^{-3})		($Cmol_c dm^{-3}$)						(%)	(g dm^{-3})	(g kg^{-1})		
4,1	2,4	28	0,3	0,2	4,2	1,1	0,6	5,9	9,8	22,7	549	84	367

De acordo com os resultados da análise de solo, verificou-se a necessidade de calagem, utilizando-se o método de saturação por bases para elevação a 45% (SOUSA; LOBATO, 2002), com a incorporação de calcário dolomítico (PRNT = 80,3%), permanecendo incubado por um período de 30 dias. A umidade dos vasos foi mantida em 60% da capacidade máxima de retenção de água, por método gravimétrico, de acordo com Bonfim-Silva et al. (2011).

Após o período de incubação do solo com calcário para correção da acidez foi realizada a adubação de implantação com fósforo e potássio nas recomendações de 200 e 150 mg dm^{-3}, cujas fontes foram respectivamente, superfosfato simples e cloreto de potássio. A adubação de implantação foi realizada em todas as parcelas experimentais, exceto na testemunha absoluta (ausência de adubação e inoculação). A recomendação do nitrogênio foi de 200 mg dm^{-3}, o qual foi parcelada em duas aplicações, a primeira 8 dias após o transplantio e a segunda após 7 dias a primeira, sendo utilizada a ureia como fonte. A aplicação de nitrogênio foi realizada apenas no tratamento adubação nitrogenada.

A adubação com os micronutrientes foi realizada utilizando-se uma solução contendo ácido bórico, cloreto de cobre, sulfato de zinco e molibdato de sódio, nas doses de 1,5; 2,5; 2,0 e 0,25 mg dm^{-3}, respectivamente. A adubação com os

micronutrientes foi realizada em todas as parcelas experimentais, exceto a testemunha absoluta (ausência de adubação e inoculação).

As sementes foram semeadas em bandejas plásticas contendo areia lavada, depois de realizada a quebra da dormência das mesmas pela imersão em água a temperatura ambiente por 24 horas. Após a adubação de implantação foram transplantadas dez plantas por unidade experimental, selecionando-se as mais homogêneas (Figura 2). Sete dias após o transplantio, realizou-se o desbaste permanecendo cinco plantas por unidade experimental.

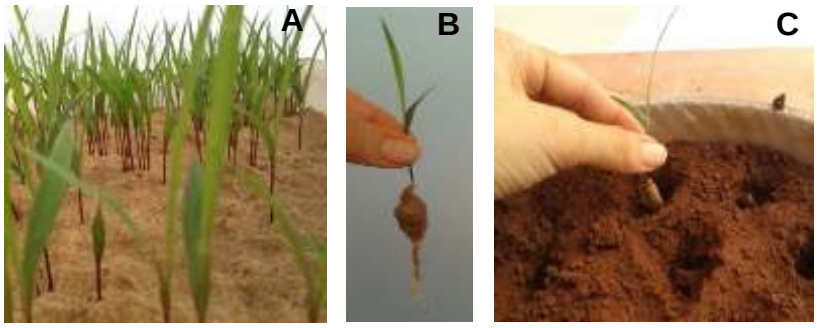

Figura 2. Transplantio das mudas de capim Xaraés, onde as mesmas foram retiradas da bandeja de areia lavada (A) e transplantadas nos vasos (B e C).

Posteriormente ao desbaste, onde permaneceram cinco plantas por vaso realizou-se a inoculação nos tratamentos correspondentes quando as mesmas estavam com 10 cm de altura.

Para produzir o inoculante, a estirpe Y2 foi multiplicada em meio líquido LGI e as estirpes MTAz8 e MTH2 foram multiplicadas em meio líquido DYGS sob agitação de 100 rpm a 30ºC durante 24 horas. Posteriormente ao crescimento uma alíquota de 5 mL de caldo bacteriano contendo 10^8 células mL^{-1} foi aplicada no solo próximo a área radicular de cada planta conforme o tratamento de cada unidade experimental (Figura 3).

Figura 3. Aplicação do caldo bacteriano próximo à área radicular de cada planta.

Foram realizados três cortes da parte aérea das plantas, com intervalo de 30 dias. Após cada corte foi reaplicada a adubação nitrogenada (100 mg dm^{-3} de N) apenas para o tratamento adubação nitrogenada e adubação potássica (200 mg dm^{-3} de K_2O) para todos os tratamentos exceto a testemunha absoluta, na forma de ureia e cloreto de potássio, respectivamente. Também foram reinoculados 5 mL de caldo bacteriano contendo 10^8 células mL^{-1}somente nos correspondentes tratamentos inoculados.

A coleta dos dados foi realizada em três avaliações, cada uma acompanhada de um corte. Aos 30 dias após o transplantio foi realizado o primeiro corte das plantas a 5 cm da superfície do solo (Figura 4), coletando apenas a parte aérea e deixando 5 cm residuais para possibilitar a rebrota, conforme descrito por Bonfim-Silva e Monteiro (2007),o mesmo ocorreu no segundo corte 60 dias após o transplantio. No terceiro corte (90 dias após transplantio), as plantas foram cortadas rente ao solo.

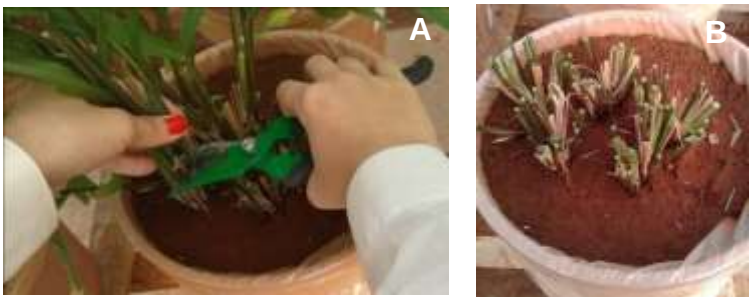

Figura 4. Corte das plantas de *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés sob inoculação com bactérias diazotróficas associativas (A) e detalhe do corte (B).

Por ocasião dos cortes, foram realizadas as contagens de número de folhas e perfilhos, diâmetro do colmo com auxílio de um paquímetro digital, altura das plantas (mensurada estendendo-se os perfilhos da gramínea no sentido vertical e anotando-se a maior distância do nível do solo até o ápice dos perfilhos), com o uso de uma trena graduada.

O índice de clorofila Falker (ICF), foi medido utilizando-se o ClorofiLOG CFL 1030 (Figura 5), sendo efetuadas 10 leituras por unidade experimental, nas folhas diagnósticas recém expandidas, +1 e +2 (BONFIM-SILVA; MONTEIRO, 2010), de modo a evitar as nervuras das folhas e de forma que as mesmas estivessem sob condições adequadas de intensidade luminosa.

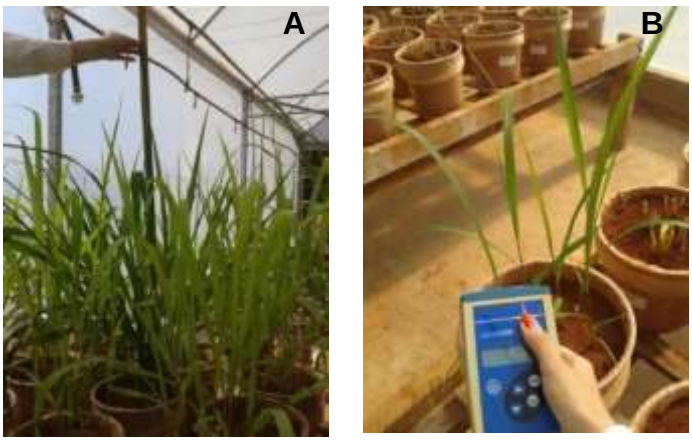

Figura 5. Altura do capim Xaraés (A) e índice de clorofila (B) do capim Xaraés sob inoculação com bactérias diazotróficas associativas.

Após cada corte, a parte aérea das plantas foi levada ao laboratório, onde seguiu-se a separação da folha do perfilho por meio do corte na altura da lígula foliar. Os mesmos foram acondicionados em sacos de papel, identificados e levados à estufa para secagem à 65ºC, por 72 horas ou até massa constante. Posteriormente esse material foi pesado em balança semianalítica para obtenção da massa seca de folhas e colmos.

A massa seca da parte aérea foi obtida por meio do somatório da massa seca das folhas e de colmos a cada um dos cortes, a massa seca total da parte aérea correspondeu à somatória da massa seca da aparte aérea de cada corte e a relação folha/colmo por meio da razão entre a produção das folhas e a produção de colmos+bainha de cada unidade experimental.

No terceiro corte, além da massa seca da parte aérea, realizou-se, também, a coleta de raízes das plantas. Essas foram separadas da parte aérea e lavadas com água corrente sob peneira de 2 mm, para retirada do solo. Todo o material coletado foi seco em estufa de circulação de ar, a 65ºC por 72 horas e foi pesado posteriormente. Obteve-se a massa seca das raízes e a relação massa seca da parte aérea/massa seca das raízes por meio da razão entre a produção massa seca da parte aérea e a produção de massa seca das raízes.

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 proteína bruta segundo o método de Kjeldahl, descrito por Malavolta et al. (1997).

Para determinação do número de bactérias diazotróficas associativas presentes no solo foi retirada uma amostra homogênea do solo antes do preenchimento das unidades experimentais, e após cada corte foi retirada uma amostra de 12 g de solo próximo as raízes.

Na avaliação microbiológica de ocorrência de bactérias no solo, amostras de 10 g de solo foram transferidas para frascos contendo 90 mL de solução salina permanecendo sob agitação constante para fragmentação dos agregados. Em seguida, 1 mL desta solução foi utilizada para a realização das diluições seriadas de 10^2 a 10^5

em tubos de ensaio contendo 9 mL de solução salina e, de cada diluição, 0,1 mL foi inoculado em 5 mL dos meios semi-sólido, LGI e NFb em três repetições.

Os frascos inoculados foram incubados por cinco dias, a 30 °C, sendo considerados positivos para a contagem aqueles que apresentaram a formação da película característica produzida por esses micro-organismos. A contagem da população de bactérias diazotróficas foi realizada através da técnica do Número Mais Provável (NMP), baseado na presença da película formada no meio semi-sólido (Figura 6), utilizando a tabela de McCrady para três repetições por diluição (DÖBEREINER et al., 1995), e os valores obtidos sofreram transformação logarítmica.

Figura 6. Película característica em meio NFb produzida por bactérias diazotróficas associativas.

Os resultados foram submetidos à análise de variância pelo teste F e para separação das médias aplicou-se o teste de Tukey, a 5 % de probabilidade, pelo programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2008). As variáveis microbiológicas foram transformadas por $(X+1)^{0,5}$.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Características estruturais do capim Xaraés

A altura de plantas apresentou interação significativa entre os tratamentos e os intervalos de cortes, indicando que a inoculação com bactérias diazotróficas associativas influenciou significativamente o desempenho do crescimento do capim Xaraés (Tabela 2).

Tabela 2. Altura (cm) do capim Xaraés submetido à inoculação com bactérias diazotróficas associativas no primeiro, segundo e terceiro cortes, cultivado em Latossolo vermelho do Cerrado.

Tratamentos	Cortes		
	1º	2º	3º
Adubação Nitrogenada	123,00 aA	98,30 aB	112,60 aAB
Y2	92,30 bA	81,20 aA	57,70 bB
MTAz8	114,90 aA	79,80 aB	69,30 bB
MTH 2	111,50 abA	79,70 aB	61,70 bC
MTAz8 + MTH2	112,00 abA	80,20 aB	64,30 bB
Testemunha (sem N)	109,70 abA	81,30 aB	62,30 bC
Testemunha Absoluta	24,20 cB	56,70 bA	70,50 bA
CV (%)		13,87	

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, não diferem entre si, pelo teste de Tukey (P<0,05).

Analisando os tratamentos dentro dos cortes, observou-se que houve diferença significativa em todos os cortes. Para o primeiro corte (Tabela 2), verificou-se que a adubação nitrogenada e a estirpe MTAz8 apresentaram maiores valores mesmo não diferindo das estirpe MTH2, MTAz8 + MTH2 e testemunha (sem N). A estirpe MTAz8, MTH2 e MTAZ8 + MTH2 produziram o equivalente a 93,41; 90,65 e 91,06% da altura observada na adubação nitrogenada e quando comparadas as estirpes MTAz8, MTH2 e MTAz8 + MTH2, à testemunha (sem N) foram observados acréscimos de 4,53; 1,61 e

2,05%, respectivamente, sendo esse acréscimo ainda maior quando as mesmas estirpes foram comparadas a testemunha absoluta que apresentou menor altura de plantas com aumentos respectivos de 78,94; 78,30 e 78,39%.

No segundo corte (Tabela 2), todos os tratamentos exceto a testemunha absoluta, apresentaram maior altura de plantas não diferindo entre si. As plantas inoculadas apresentaram acréscimos entre (28,86 e 30,17 %) em relação à testemunha absoluta.

Esses resultados indicam que no primeiro e segundo cortes o nitrogênio disponibilizado pelas bactérias para o capim Xaraés possivelmente foi suficiente para manter a demanda energética da planta para seu desenvolvimento.

Em trabalho realizado por Kuss (2006) com fixação de nitrogênio por bactérias diazotróficas em cultivares de arroz irrigado, verificou-se que não houve diferença significativa entre os tratamentos quanto à altura da planta, tanto para os tratamentos nitrogenados como para os tratamentos inoculados e a testemunha na ausência de nitrogênio e inoculação.

No terceiro corte (Tabela 2) apenas a adubação nitrogenada apresentou maior altura, e os demais tratamentos não diferiram estatisticamente entre si. Mesmo não diferindo entre si, as estirpes MTAz8 e MTAz8 + MTH2 obtiveram acréscimos de 10,10 e 3,11%, respectivamente, quando comparados com a testemunha (sem N).

Segundo Alvim et al. (2000), a adubação nitrogenada acelera o ritmo de crescimento das plantas, interferindo na qualidade da forragem produzida. Essa alteração da velocidade de crescimento das plantas também foi observada por Sarmento et al. (2005) quando da aplicação de N em *Panicum maximum* Jacq. cv. IPR-86 Milênio, sob pastejo. Assim, segundo Nicácio (2012), de forma geral, gramíneas que não recebem adubação nitrogenada tornam-se ineficientes no crescimento e diminuem drasticamente o fluxo de tecidos.

Quando se analisou os cortes dentro dos tratamentos (Tabela 2) observou-se que a adubação nitrogenada apresentou maior altura de plantas no primeiro corte, mesmo não diferindo estatisticamente do terceiro corte. A estirpe Y2 apresentou maior altura no primeiro e segundo cortes. As estirpes MTAz8, MTH2, MTAz8 + MTH2 e a

testemunha (sem N) apresentaram maiores alturas apenas no primeiro corte, enquanto que a testemunha absoluta obteve maior altura no segundo e terceiro corte.

As maiores médias de altura de plantas (Tabela 2) foram observadas no primeiro (98,23), segundo (79,6) e terceiro cortes (71,20), havendo decréscimo na altura das plantas ao longo dos cortes, evidenciando assim a influência do fator tempo no desenvolvimento estrutural das gramíneas forrageiras.

O monitoramento da altura de planta possui alta ligação com a produtividade de massa seca, minimizando a necessidade de amostragens destrutivas e também auxilia como um referencial para se avaliar a maturidade da planta (MUIA et al., 1999; MELLO; PEDREIRA, 2004), por isso é importante fazer sua verificação.

Segundo Reis Junior et al. (2008) o uso de bactérias promotoras de crescimento além beneficiar no mecanismo de fixação biológica de nitrogênio, auxiliam na produção de hormônios que estimulam o crescimento vegetal.

Para o número de folhas houve diferença estatística com interação significativa entre tratamentos e os cortes realizados em intervalos de trinta dias (Tabela 3).

Tabela 3. Número de folhas (vaso^{-1}) do capim Xaraés submetido à inoculação com bactérias diazotróficas associativas no primeiro, segundo e terceiro cortes, cultivado em Latossolo vermelho do Cerrado.

Tratamentos	Cortes		
	1º	2º	3º
Adubação Nitrogenada	80,80 aB	130,40 aA	129,40 aA
Y2	63,40 bA	31,00 bB	66,40 bA
MTAz8	59,60 bA	29,40 bB	60,20 bcA
MTH 2	62,20 bA	30,00 bB	58,80 bcA
MTAz8 + MTH2	57,00 bA	28,40 bB	49,60 cA
Testemunha (sem N)	60,80 bA	29,40 bB	55,80 bcA
Testemunha Absoluta	19,60 cB	20,60 bB	31,20 dA
CV (%)		11,21	

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, não diferem entre si, pelo teste de Tukey (P<0,05).

No primeiro corte (Tabela 3) a adubação nitrogenada apresentou maior número de folhas, a testemunha absoluta obteve menor valor e os demais tratamentos

apresentaram valores intermediários não diferindo estatisticamente entre si, porém ao comparar a adubação nitrogenada com as estirpes Y2 e MTH2, observou-se o equivalente de 78,47 e 76,98% no número de folhas, da máxima produção observada na adubação nitrogenada. No segundo corte (Tabela 3), a adubação nitrogenada também apresentou maior número de folhas e os demais tratamentos apresentaram menores valores, não diferindo estatisticamente entre si. Mesmo não havendo diferença significativa entre os tratamentos inoculados e a testemunha (sem N) quando comparadas as estirpes Y2 e MTH2 com a testemunha (sem N) houve acréscimos de 5,16 e 2,00%, respectivamente.

Guimarães et al. (2011a), aos 40 dias verificaram aumento de aproximadamente 8% no número de folhas nos tratamentos inoculados em relação à ausência da bactéria em pastagens de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. Oliveira et al. (2007) apresenta resultados semelhantes com a mesma forrageira, mostrando que o tratamento ausência de nitrogênio com presença da bactéria demonstra desempenho superior quando comparado a testemunha com ausência de nitrogênio e de inoculação. Segundo Guimarães et al. (2011b) o uso de *Azospirillum* demonstra um aumento de 10% sobre os valores de número de folhas em desenvolvimento inicial de pastagem de *Brachiaria decumbens* quando em comparação à ausência do inoculante.

No terceiro corte (Tabela 3), a adubação nitrogenada apresentou maior valor, seguida da estirpe Y2 que não diferiu estatisticamente das estirpes MTAz8, MTH2 e testemunha (sem N), a estirpe MTAz8 + MTH2 só apresentou maior número de folhas em relação a testemunha absoluta que obteve menor valor entre todos os tratamentos. A estirpe Y2 produziu o equivalente a 51,33% da máxima produção observada na adubação nitrogenada e quando comparada a testemunha (sem N) e testemunha absoluta a mesma apresentou acréscimos de 15,96 e 53,01%, respectivamente.

Os dados do presente estudo corroboram com os encontrados por Chaves e Souza (2013), que comparando o tratamento inoculado com *Azospirillum* spp à testemunha absoluta na *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, observaram que o tratamento inoculado com *Azospirillum* spp. proporcionou aumento de 21% no número de folhas.

Mesmo havendo influência da bactéria sobre as características da planta, Guimarães et al. (2011a e 2011b) verificam que as plantas inoculadas não apresentaram desempenho superior para as variáveis número de folhas quando comparados aos tratamentos onde somente receberam fertilizante nitrogenado na dose 200 mg N dm^{-3}, corroborando com o resultado encontrado no presente estudo.

A adubação nitrogenada apresentou maior número de folhas no segundo e terceiro corte. Os tratamentos inoculados e a testemunha (sem N) apresentaram maiores valores no primeiro e terceiro corte. A testemunha absoluta obteve maior número de folhas no terceiro corte (Tabela 3).

As forrageiras normalmente apresentam diferentes respostas para a aplicação de N (PRIMAVESI, et al., 2004), principalmente no que tange às taxas de aparecimento e alongamento foliar, bem como o perfilhamento (SILVA, et al., 2009). Cabral et al. (2012), encontraram respostas satisfatórias quanto às adubações nitrogenadas no aparecimento de folhas no capim Xaraés.

A morfogênese em uma gramínea durante seu crescimento vegetativo é caracterizada por 3 fatores: a taxa de aparecimento, a taxa de alongamento e a longevidade das folhas (CHAPMAN; LAMAIRE, 1993). Segundo esses autores a taxa de aparecimento e a longevidade das folhas ditam o número de folhas vivas por perfilho. Essas características são determinadas geneticamente, entre e dentro de espécies, mas podem, no entanto ser influenciadas por variáveis como temperatura, fotoperíodo, suprimento de nutrientes e disponibilidade de umidade no solo (FISCHER; da SILVA, 2001).

O aumento no número de folhas verificado com o incremento da adubação é importante para a recuperação da gramínea, tendo em vista que as folhas são órgãos fotossintetizantes onde é capturada e utilizada a energia luminosa para as reações químicas vitais à planta (TAIZ; ZEIGER, 2004).

Esses resultados indicam a importância da adubação nitrogenada para a recuperação da gramínea, uma vez que o número de folhas está relacionado à produção de perfilhos, que, por sua vez, é um dos grandes responsáveis pela persistência da pastagem (BONFIM-SILVA; MONTEIRO, 2006).

Em relação ao número de perfilhos, observou-se que a análise de variância demonstrou interação significativa entre tratamentos e intervalos de cortes (Tabela 4).

Tabela 4. Número de perfilhos (vaso^{-1}) do capim Xaraés submetido à inoculação com bactérias diazotróficas associativas no primeiro, segundo e terceiro cortes, cultivado em Latossolo vermelho do Cerrado.

Tratamentos	Cortes		
	1º	2º	3º
Adubação Nitrogenada	17,60 aC	50,80 aA	47,20 aB
Y2	15,80 aB	12,00 bC	26,80 bA
MTAz8	15,40 aB	11,60 bC	21,40 cA
MTH 2	15,40 aB	12,00 bB	22,60 bcA
MTAz8 + MTH2	15,40 aA	10,60 bB	18,60 cA
Testemunha (sem N)	15,40 aB	11,60 bC	21,00 cA
Testemunha Absoluta	5,00 bB	5,00 cB	11,80 dA
CV (%)		12,96	

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, não diferem entre si, pelo teste de Tukey (P<0,05).

Em relação ao primeiro corte (Tabela 4), observou-se que a adubação nitrogenada, os tratamentos inoculados com as estirpes Y2, MTAz8, MTH2 e MTAz8 + MTH2 e a testemunha (sem N) não diferiram estatisticamente entre si, sendo a testemunha absoluta o tratamento que apresentou menor número de perfilhos. Quando comparado os tratamentos inoculados com a testemunha absoluta observou-se aumentos de 67,53 a 68,35%.

Oliveira et al. (2007) estudando *Brachiaria brizantha* cv. Marandu verificaram que o tratamento com somente inoculação apresentou desempenho superior quando comparado à ausência de inoculante e de N, proporcionando aumento prolongado no pastoreio e elevando o perfilhamento nos estágios iniciais da forrageira, sem necessidade de recorrer a altas taxas de fertilizantes.

Trabalhando com acúmulo de nitrogênio e de massa seca em plantas de trigo inoculadas com *Azospirillum brasilense*, Didonet et al. (1996) encontraram que o tratamento sem aplicação de nitrogênio e com inoculação não diferiu significativamente

da testemunha (sem aplicação de nitrogênio e sem inoculação), o que concorda com os resultados encontrados no presente estudo.

No segundo corte (Tabela 4), a adubação nitrogenada apresentou maior número de perfilhos e a testemunha absoluta apresentou menor perfilhamento, os demais tratamentos apresentaram valores intermediários, não diferindo entre si. As estirpes Y2 e MTH2 apresentaram ambas (12 perfilhos vaso^{-1}) e quando comparadas a testemunha (sem N) e testemunha absoluta apresentaram aumentos de 3,33 e 58,33%, respectivamente.

O perfilhamento é influenciado por fatores de ambiente, destacando-se a temperatura e o suprimento de água e de nutrientes, principalmente de nitrogênio, que assume papel importante no crescimento e na produção das plantas forrageiras, pois seu suprimento eleva o número de perfilhos por planta (GARCEZ NETO et al., 2002). Quando o nitrogênio é deficiente, o perfilhamento é inibido; quando se aumenta o suprimento de nitrogênio, há acréscimo no número de perfilhos por planta (PEDREIRA, et al., 2001). Como pode ser observado no presente estudo, onde o tratamento adubação nitrogenada com adequado suprimento em nitrogênio apresentou discrepância nos resultados para o segundo corte quanto aos demais tratamentos.

No terceiro corte (Tabela 4), a adubação nitrogenada apresentou maior número de perfilhos, seguida pela estirpe Y2 que não diferiu estatisticamente da estirpe MTH2, sequencialmente as estirpes MTAz8, MTAz8 + MTH2 e testemunha (sem N) apresentaram menor perfilhamento que as anteriores, e a testemunha absoluta obteve menor número de perfilhos. Os tratamentos com as estirpes Y2 e MTH2 produziram respectivamente o equivalente a 56,78 e 47,88% da máxima produção observada na adubação nitrogenada e quando comparadas as testemunha (sem N) apresentaram acréscimo respectivos de 21,64 e 7,08% e quanto à testemunha absoluta apresentaram acréscimos de 55,97 e 47,79%, respectivamente.

A adubação nitrogenada tem grande importância e influência nas características estruturais das pastagens, pois o nitrogênio tem um efeito positivo sobre o perfilhamento. Apesar do N não apresentar um grande efeito sobre o número de folhas em um perfilho ou na sua taxa de elongação, ele apresenta grande influência sobre o

número de perfilhos desenvolvidos (NABINGER, 1997; GOMIDE et al., 1998), provavelmente, por um efeito na brotação de gemas axilares (CRUZ; BOVAL, 1999).

No tratamento adubação nitrogenada houve maior perfilhamento do capim Xaraés no segundo corte, as estirpes de bactérias diazotróficas associativas Y2, MTAz8, MTH2 e as testemunhas (sem N) e absoluta apresentaram maior número de perfilhos no terceiro corte. A combinação das estirpes MTAz8 + MTH2 apresentou maior valor no primeiro e terceiro corte. Portanto, pode-se observar tendência ao aumento no perfilhamento ao longo dos cortes, pois se observou maior número de perfilhos no segundo e terceiro cortes (Tabela 4).

Segundo Santos (2013), a tendência de aumento na produção de perfilhos ao longo dos cortes justifica-se 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.

Sabe-se que algumas gramíneas têm adaptações morfológicas e fisiológicas que permitem suportar repetidas desfolhações, daí a rebrota é dependente da ativação das gemas basais e da habilidade da planta para mobilizar carboidratos para os demais órgãos (CALDWEL et al, 1991).

O perfilho é considerado a unidade básica de desenvolvimento das plantas forrageiras e constituem as estruturas sobre as quais as sementes irão se desenvolver (NABINGER; MEDEIROS, 1995). A capacidade de perfilhamento é uma característica altamente desejável em plantas forrageiras. O potencial de perfilhamento influencia a produção, a qualidade e a persistência das espécies perenes (HILLESHEIM; CORSI,1990). Dessa forma, maior número de perfilhos significa maior número de folhas e, consequentemente, maior número de sítios para desenvolvimento de perfilhos axilares (JACQUES, 1997).

Martuscello et al. (2005) e Paciullo et al. (2011) concluíram que a adubação nitrogenada resultou em incremento na taxa de aparecimento de folhas e número de perfilhos para espécies de *Brachiaria*. Boggiano et al. (2001) constataram que a adubação com nitrogênio aumentou o comprimento de folhas, o índice de área foliar e o

perfilhamento, bem como a produtividade de matéria seca. A adubação nitrogenada exerce efeito positivo nas taxas de alongamento e aparecimento foliar, no número de perfilhos, de folhas vivas e no comprimento final da lâmina em plantas de capim Xaraés (MENGEL; KIRKBY 2001, MARTUSCELLO et al., 2005).

Alexandrino et al. (2005), estudando o crescimento e características químicas e morfogênicas do capim-marandu submetido a cortes e a doses de nitrogênio, verificaram grande diferença de perfilhamento ao longo do tempo de rebrotação em relação ao suprimento de nitrogênio, observando que as plantas não adubadas com nitrogênio quase não perfilharam ao longo do tempo.

Para a variável diâmetro do colmo, encontrou-se interação significativa entre tratamentos e intervalos de cortes do capim Xaraés, mostrando que ocorreram diferenças significativas entre os tratamentos nos cortes avaliados (Tabela 5).

Tabela 5. Diâmetro do colmo (mm) do capim Xaraés submetido à inoculação com bactérias diazotróficas associativas no primeiro, segundo e terceiro cortes, cultivadas em Latossolo vermelho do Cerrado.

Tratamentos	Cortes		
	1º	2º	3º
Adubação Nitrogenada	5,17 aA	4,36 aB	3,92 aC
Y2	4,77 abA	3,60 bB	2,40 bcC
MTAz8	4,95 abA	3,45 bB	2,24 cC
MTH 2	4,77 abA	3,54 bB	2,58 bcC
MTAz8 + MTH2	4,76 abA	3,43 bB	2,44 bcC
Testemunha (sem N)	4,60 bA	3,55 bB	2,52 bcC
Testemunha Absoluta	1,24 cC	2,19 cB	2,94 bA
CV (%)		8,29	

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, não diferem entre si, pelo teste de Tukey (P<0,05).

Analisando os tratamentos dentro dos cortes, observou-se que houve diferença significativa em todos os cortes. Para o primeiro corte (Tabela 5), verificou-se que a adubação nitrogenada apresentou maior diâmetro do colmo, mesmo não diferindo das estirpes Y2, MTAz8, MTH2 e MTAz8 + MTH2, que apresentaram diâmetro do colmo equivalente a 92,26; 95,74; 92,26 e 92,07% respectivamente. Quando comparado os

tratamento inoculados com a testemunha (sem N) observou-se aumentos de 7,07 a 3,36% e quando comparados a testemunha absoluta houve aumentos na ordem de 74,95 a 73,95%.

No segundo corte (Tabela 5), apenas a adubação nitrogenada apresentou maior diâmetro de colmo, os tratamentos inoculados e a testemunha (sem N) apresentaram valores intermediários e a testemunha absoluta obteve menor valor. Os tratamentos com as estirpes Y2, MTAz8, MTH2 e MTAz8 + MTH2 apresentaram acréscimos equivalentes a 82,57; 79,13; 81,19 e 78,67% no diâmetro do colmo, respectivamente, quando comparadas a máxima produção observada na adubação nitrogenada e acréscimos de 39,17 a 36,15% quando comparados os tratamentos inoculados com a testemunha absoluta.

No terceiro corte (Tabela 5), a adubação nitrogenada apresentou maior diâmetro do colmo, seguida pela testemunha absoluta que não diferiu estatisticamente das estirpes Y2, MTH2 e MTAz8 + MTH2 e da testemunha (sem N), a estirpe MTAz8 apresentou menor diâmetro de colmo. A estirpe MTH2 produziu o equivalente a 65,82% da adubação nitrogenada e acréscimo de 2,33% quando comparada a testemunha (sem N).

Após o segundo corte, as plantas do tratamento adubação nitrogenada cresceram rapidamente enquanto os demais tratamentos demoraram a crescer (Figura 7). Segundo Carvalho et al. (2000), o perfilhamento é uma forma de crescimento que as gramíneas desenvolveram em seu processo evolutivo como mecanismo de produção e sobrevivência em situações de desfolha. As plantas inoculadas e as testemunhas aparentemente perfilharam para sobreviver, uma vez que se observou crescimento reduzido em relação aos cortes anteriores, enquanto que o tratamento adubação nitrogenada, provavelmente por estar suprido em nitrogênio não apresentou estresse e cresceu conforme o observado após o primeiro corte. Portanto o diâmetro do colmo foi maior na adubação nitrogenada onde as plantas estavam maiores e, portanto o colmo estava mais grosso para suportar o peso das folhas e os demais tratamentos apresentaram valores inferiores uma vez que cresceram menos.

Figura 7. Comparação do perfilhamento aos 11 dias após o segundo corte dos tratamentos:testemunha absoluta (A), adubação nitrogenada (B) e a estirpe Y2 (C).

Quando se analisou os cortes dentro dos tratamentos observou-se semelhança em todos os tratamentos, onde houve maior diâmetro do colmo sequencialmente no primeiro, segundo e terceiro corte, exceto na testemunha absoluta, onde o maior diâmetro foi observado no terceiro corte (Tabela 5).

Segundo Hodgson (1990), o mesmo que acontece com folhas pode acometer os perfilhos, sendo a senescência de perfilhos como um todo mais comum quando o tecido meristemático é cortado ou pastejado, portanto no terceiro corte houve maior incidência de perfilhamento acarretando em menor diâmetro do colmo em relação aos cortes anteriores.

Esse resultado está relacionado com o perfilhamento uma vez que existe relação inversa entre a densidade e o tamanho individual dos perfilhos (SBRISSIA; DA SILVA, 2008).

Segundo Niklas (1994), o alongamento e espessamento do pseudo-colmo é justificado pela altura do dossel, pois aumentos em altura do dossel quase sempre conduzem a um aumento no diâmetro das estruturas de suporte (pseudocolmos), que

se alteram em proporção direta à força requerida para suportar as folhas inseridas no perfilho.

4.2 Características produtivas do capim Xaraés

A massa seca de folhas apresentou interação significativa entre os tratamentos e os intervalos de cortes, indicando que a inoculação com bactérias diazotróficas associativas influenciou significativamente o desempenho produtivo do capim Xaraés (Tabela 6).

Tabela 6. Massa seca de folhas (g vaso^{-1}) do capim Xaraés submetido à inoculação com bactérias diazotróficas associativas no primeiro, segundo e terceiro cortes, cultivado em Latossolo vermelho do Cerrado.

Tratamentos	Cortes		
	1º	2º	3º
Adubação Nitrogenada	15,68 aC	31,05 aB	49,63 aA
Y2	10,91 bA	7,59 bB	3,97 bC
MTAz8	9,97 bA	7,09 bB	3,85 bC
MTH 2	10,30 bA	7,31 bB	4,14 bC
MTAz8 + MTH2	9,55 bA	7,36 bB	3,39 bC
Testemunha (sem N)	9,34 bA	7,07 bB	4,03 bC
Testemunha Absoluta	0,19 cB	1,35 cB	5,16 bA
CV (%)		9,93	

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, não diferem entre si, pelo teste de Tukey (P<0,05).

Em relação à massa seca de folhas do capim Xaraés para o primeiro corte (Tabela 6) observou-se que a adubação nitrogenada apresentou maior produção de massa seca de folhas, seguida pelos tratamentos inoculados e testemunha (sem N) que não diferiram estatisticamente entre si, e a testemunha absoluta obteve menor produção de massa seca de folhas. As estirpes Y2, MTAz8, MTH2 e MTAz8 + MTH2 produziram respectivamente, o equivalente a 69,58; 63,58; 65,69 e 60,91% da máxima

produção observada na adubação nitrogenada e quando comparadas a testemunha (sem N) as mesmas estirpes apresentaram acréscimos respectivos de 14,39; 6,32; 9,32 e 2,20%, sendo esse acréscimo ainda maior quando as mesmas estirpes foram comparadas a testemunha absoluta, com acréscimos de 98,26; 98,09; 98,15 e 98,01%, respectivamente.

Esses resultados corroboram com os encontrado por Santos (2013), onde a massa seca de folhas no primeiro corte apresentou maior produção para o tratamento que recebeu adubação completa. A mesma autora encontrou que 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 (formado pela composição das estirpes ABV-5 e ABV-6 de *Azospirillum brasilense*), onde se observou massa seca de folhas equivalente a 29% da máxima produção.

Resultados semelhantes foram encontrados por Guimarães et al. (2011b), que trabalhando com crescimento e desenvolvimento inicial de *Brachiaria decumbens* inoculada com *Azospirillum* spp., observaram no parâmetro massa seca das folhas que a adubação com 200 mg N dm^{-3} apresentou maior produção de massa seca de folhas e o tratamento de inoculação que mais se aproximaram daquele que recebeu adubação nitrogenada, foi a estirpe AZ13.

No segundo corte (Tabela 6), a maior massa seca de folhas, foi observada na adubação nitrogenada (31,05 g $vaso^{-1}$), seguida pelos tratamentos inoculados e testemunha (sem N), a testemunha absoluta apresentou menor valor. A estirpe Y2, MTH2 e MTAz8 + MTH2 quando comparadas com a testemunha (sem N) apresentaram acréscimos respectivos de 6,85; 3,69 e 3,03%, e quando as estirpes Y2, MTAz8, MTH2 e MTAz8 + MTH2 foram comparadas com a testemunha absoluta houve acréscimos respectivos de 82,21; 80,96; 81,53 e 81,66%.

No terceiro corte (Tabela 6), observou-se maior massa seca de folhas no tratamento adubação nitrogenada, porém nesse caso houve muita discrepância na produção dos demais tratamentos que não diferiram estatisticamente entre si, e quando comparada a adubação nitrogenada aos demais tratamentos, houve aumento médio na produção da massa seca de folhas de 91,76%.

Após o segundo corte, observou-se que os tratamentos inoculados e as testemunhas apresentaram produção inferior à adubação nitrogenada (Figura 8). Essa menor produção nesses tratamentos pode estar relacionada ao menor acúmulo de nitrogênio nessa fase, ou seja, a planta extraiu menos nitrogênio nesse corte quando comparado aos cortes anteriores, e como o nitrogênio é um dos nutrientes mais importantes na produção das gramíneas forrageiras, por compor compostos orgânicos essenciais, como aminoácidos e proteínas, ácidos nucléicos, hormônios e clorofila (FRANÇA, et al. 2007; LAVRES JUNIOR; MONTEIRO, 2003), as plantas desses tratamentos não acompanharam a produção do tratamento adubação nitrogenada.

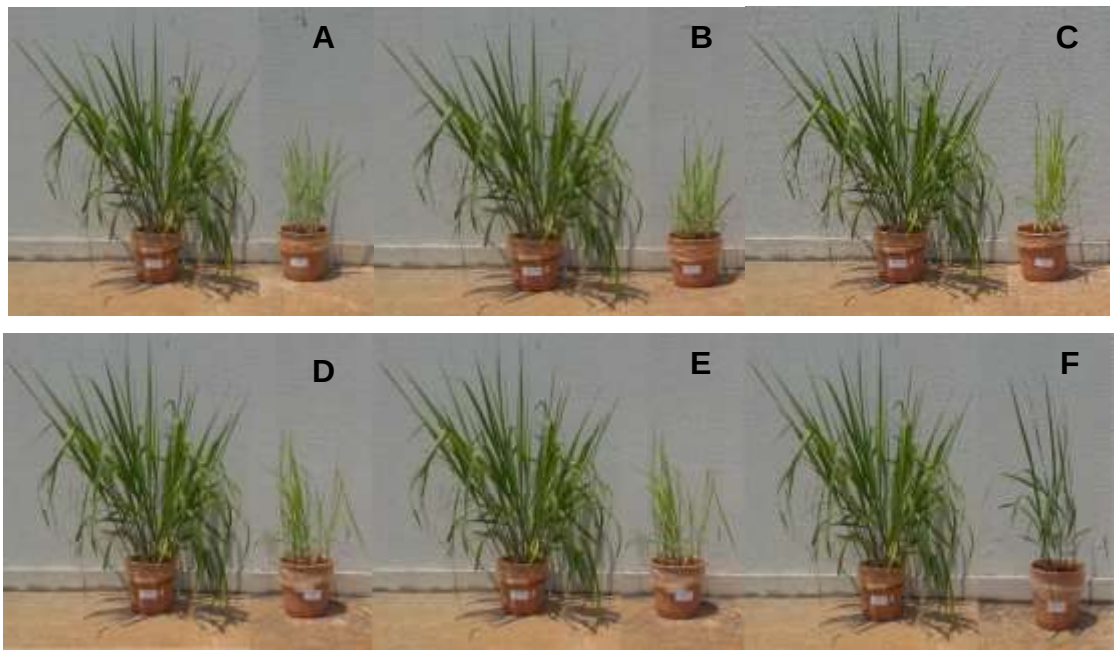

Figura 8. Comparação dos tratamentos no terceiro corte (90 dias após transplantio) entre a adubação nitrogenada e os tratamentos: Y2 (A), MTAZ8 (B), MTH2 (C), MTAz8 + MTH2 (D), testemunha (sem N) (E) e testemunha absoluta (F).

Quando se analisou os cortes dentro dos tratamentos foi possível observar que a adubação nitrogenada e a testemunha absoluta apresentaram maior produção na terceira avaliação e os tratamentos inoculados e testemunha (sem N) apresentaram decréscimos de produção a cada corte realizado (Tabela 6).

Os animais consomem as folhas em preferência a colmo e material vivo em detrimento ao material senescente. Assim, os capins que são adubados com nitrogênio são mais selecionados pelos animais, por apresentarem maior digestibilidade em função da maior proporção de folhas. E essas são mais digestíveis que o colmo e material senescente (EUCLIDES et al., 1992).

Na variável massa seca do colmo verificou-se interação significativa entre tratamentos e intervalos de cortes do capim Xaraés inoculado com bactérias diazotróficas associativas (Tabela 7).

Tabela 7. Massa seca do colmo (g vaso^{-1}) do capim Xaraés submetido à inoculação com bactérias diazotróficas associativas no primeiro, segundo e terceiro cortes, cultivado em Latossolo vermelho do Cerrado.

Tratamentos	Cortes		
	1º	2º	3º
Adubação Nitrogenada	6,68 aC	13,43 aB	48,56 aA
Y2	4,61 bA	2,88 bB	4,80 bA
MTAz8	4,93 bA	2,90 bB	4,72 bA
MTH 2	4,60 bA	2,89 bB	4,99 bA
MTAz8 + MTH2	4,15 bA	3,12 bA	4,29 bcA
Testemunha (sem N)	4,06 bA	2,64 bB	4,61 bA
Testemunha Absoluta	0,00 cB	0,30 cB	2,65 cA
CV (%)		13,72	

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, não diferem entre si, pelo teste de Tukey (P<0,05).

Analisando os tratamentos dentro dos cortes, observou-se que houve diferença significativa em todos os cortes com semelhança nos resultados. Nos três cortes, verificou-se que a adubação nitrogenada apresentou maior produção de colmo e a testemunha absoluta obteve menor produção, exceto no terceiro corte, onde a combinação das estirpes MTAz8 + MTH2, não diferiu estatisticamente da testemunha absoluta. Quanto aos demais tratamentos apresentaram produção intermediária entre esses valores, não diferindo estatisticamente entre si (Tabela 7).

No primeiro corte (Tabela 7), as estirpes Y2, MTAz8, MTH2 e MTAz8 + MTH2 mesmo não diferindo apresentaram acréscimos em relação a testemunha (sem N) de

11,93; 17,65; 11,74 e 2,17%, respectivamente. As mesmas estirpes apresentaram acréscimos de 100% quando comparadas com as testemunha absoluta, porque o valor de massa seca de colmo foi igual a zero. A testemunha absoluta não apresentou massa seca de colmo no primeiro corte, pois as plantas cresceram pouco e como no primeiro e segundo cortes as plantas foram cortadas a 5 cm da superfície do solo para possibilitar a rebrota, no primeiro corte aos 30 dias foram cortadas apenas parte das folhas pois o colmo não apresentava mais de 5 cm (Figura 9).

Figura 9. Comparação entre as unidades experimentais testemunha absoluta e testemunha (sem N), respectivamente da esquerda para a direita, no primeiro corte aos 30 dias após transplantio (A). Representação da linha de corte aos 30 dias (B). Comparação após o corte entre a testemunha absoluta a esquerda e a estirpe MTAz8 a direita(C).

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 (Tabela 7), a combinação das estirpes MTAz8 + MTH2 apresentou acréscimos de 15,38 e 90,38%, quando comparada respectivamente com a testemunha (sem N) e testemunha absoluta.

No terceiro corte (Tabela 7), as estirpes Y2, e MTH2 obtiveram acréscimos de 3,96 e 7,62% respectivamente quando comparados a testemunha (sem N) e acréscimos de 44,79 e 46,89% quando comparados a testemunha absoluta.

Vários autores relatam que a produção de massa seca dos colmos de gramíneas forrageiras respondem positivamente à adubação nitrogenada (COLOZZA et al., 2000; SANTOS et al., 2002; MARTUSCELLO et al., 2005; BATISTA; MONTEIRO, 2006; MARTUSCELLO et al., 2009), o que justifica as menores relações folhas/colmos+bainhas obtidas nas doses mais elevadas de nitrogênio.

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.

Quando se analisou os cortes dentro dos tratamentos observou-se que a adubação nitrogenada e a testemunha absoluta apresentaram maior produção no terceiro corte. As estirpes Y2, MTAz8, MTH2 e a testemunha (sem N) apresentaram maiores valores no primeiro e terceiro corte. A estirpe MTAz8 + MTH2 não apresentou diferença estatística (Tabela 7).

A produção de massa seca dos colmos seguiu o mesmo comportamento da produção de massa seca das folhas nos três cortes, indicando que o fornecimento de nitrogênio estimula não só o aparecimento e desenvolvimento das folhas, como também o desenvolvimento dos colmos do capim Xaraés.

Para a massa seca da parte aérea, a inoculação com bactérias diazotróficas associativas no capim Xaraés resultou em diferença estatística com interação

significativa entre tratamentos e os cortes realizados em intervalos de trinta dias (Tabela 8).

Tabela 8. Massa seca da parte aérea (g vaso^{-1}) do capim Xaraés submetido à inoculação com bactérias diazotróficas associativas no primeiro, segundo e terceiro cortes, cultivado em Latossolo vermelho do Cerrado.

Tratamentos	Cortes		
	1º	2º	3º
Adubação Nitrogenada	22,36 aC	44,48 aB	98,19 aA
Y2	15,52 bA	10,47 bB	8,77 bB
MTAz8	14,90 bA	9,99 bB	8,58 bB
MTH 2	14,90 bA	10,20 bB	9,14 bB
MTAz8 + MTH2	13,70 bA	10,48 bB	7,67 bC
Testemunha (sem N)	13,40 bA	9,71 bB	8,64 bB
Testemunha Absoluta	0,19 cB	1,64 cB	7,80 bA
CV (%)		8,91	

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, não diferem entre si, pelo teste de Tukey (P<0,05).

Quando se analisou os tratamentos dentro dos cortes, observou-se que houve semelhança nos resultados do primeiro e segundo cortes, onde o tratamento que mais se destacou foi o que recebeu adubação nitrogenada, e a testemunha absoluta apresentou menor produção de massa seca da parte aérea (Tabela 8).

No primeiro corte (Tabela 8), as estirpes Y2, MTAz8, MTH2, MTAz8 + MTH2 produziram o equivalente a 69,41; 66,64; 66,64 e 61,27% da máxima produção observada na adubação nitrogenada, respectivamente, e mesmo não diferindo da testemunha (sem N), quando comparadas, as mesmas apresentaram acréscimo respectivos de 13,66; 10,07; 10,07 e 2,19% e acréscimos ainda maiores de 98,78; 98,72; 98,72 e 98,61%, respectivamente quando comparadas a testemunha absoluta que apresentou menor produção.

Os dados encontrados no presente estudo estão de acordo com Santos (2013) que ao trabalhar com capim marandu submetido à inoculação com bactérias diazotróficas associativas observou que na primeira avaliação aos 30 DAE a adubação

nitrogenada apresentou maior produção de massa seca e os tratamentos inoculados não diferiram da adubação controle (sem nitrogênio e sem inoculação).

No segundo corte (Tabela 8), as estirpes Y2, MTAz8, MTH2, MTAz8 + MTH2 mesmo não diferindo da testemunha (sem N), quando comparadas, apresentaram acréscimo respectivos de 7,26; 2,80; 4,80 e 7,35% e acréscimos ainda maiores de 84,73; 83,58; 83,92 e 84,35%, respectivamente quando comparadas a testemunha absoluta que apresentou menor produção.

No terceiro corte (Tabela 8), nota-se que a adubação nitrogenada continuou apresentando maior produção enquanto que os demais tratamentos não diferiram estatisticamente entre si, porém nesse caso houve muita discrepância na produção dos demais tratamentos quando comparados à adubação nitrogenada, que produziu entre 91,06 a 90,69% mais que os tratamentos inoculados e as testemunhas (sem N) e absoluta.

Martuscello et al. (2009), constataram efeito positivo do nitrogênio na produtividade de matéria seca total de plantas de *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés. Estes inferiram que plantas desta cultivar, a parte aérea funciona como principal dreno de nitrogênio.

Outros trabalhos relatam que, de modo geral, a adubação nitrogenada incrementou positivamente a produtividade de matéria seca de espécies do gênero *Brachiaria* (BONFIM-SILVA; MONTEIRO, 2006; PRIMAVESSI et al., 2006; RODRIGUES et al., 2006; YDOYAGA et al., 2006; BENETT et al., 2008). Martuscello et al. (2005) preconizam que o aumento do teor de nitrogênio no solo por meio da fertilização é uma das formas de incrementar a produtividade das pastagens.

Quando se analisou os cortes dentro dos tratamentos observou-se que a adubação nitrogenada e a testemunha absoluta apresentaram maior produção no terceiro corte. As estirpes Y2, MTAz8, MTH2, MTAz8 + MTH2 e a testemunha (sem N) apresentaram maiores valores no primeiro corte (Tabela 8).

Foram observados resultados contrários aos encontrados por Santos (2013) onde houve um acréscimo na massa seca de parte aérea do primeiro para o segundo corte seguida de decréscimo no terceiro corte.

De acordo com Gomide e Gomide (2000), a produtividade de gramíneas forrageiras depende da contínua emissão de folhas e perfilhos, processo importante para a restauração da área foliar após corte ou pastejo e que garante perenidade à forrageira. Segundo Rodrigues et al. (2008), o capim-xaraés é uma planta altamente responsiva à adubação nitrogenada.

Diversos trabalhos desenvolvidos com o gênero *Brachiaria* mostraram elevada responsividade dessas forrageiras à adubação nitrogenada, no que se refere à produção de massa seca (ALEXANDRINO et al., 2003; BATISTA; MONTEIRO, 2006; CARVALHO et al., 2006; RODRIGUES et al., 2006; RODRIGUES et al., 2008).

Quando se trata de micro-organismos diazotróficos associativos, nem sempre são observadas diferenças entre tratamentos inoculados quando comparados com as aplicações de fertilizantes nitrogenados. Entretanto, alguns trabalhos têm apresentado resultados bastante promissores (FERREIRA et al., 2010; GUIMARÃES et al., 2010).

Para os resultados da produção de massa seca total da parte aérea do capim Xaraés, onde se somou os valores de massa seca parte aérea dos três cortes, houve significância entre tratamentos. O capim Xaraés mostrou-se mais eficiente na produção de massa seca da parte aérea total em função da adubação nitrogenada (Tabela 9).

Tabela 9. Massa seca total da parte aérea (g), de capim Xaraés, submetida à inoculação com bactérias diazotróficas associativas cultivado em Latossolo Vermelho do Cerrado.

Tratamentos	Massa seca total da parte aérea
Adubação Nitrogenada	165,03 a
Y2	34,76 b
MTAz8	33,46 b
MTH 2	34,24 b
MTAz8 + MTH2	31,85 b
Testemunha (sem N)	31,75 b
Testemunha Absoluta	9,64 c
CV (%)	5,37

Médias seguidas pela mesma letra, na vertical, não diferem significativamente, pelo teste de Tukey (P<0,05).

A maior massa total da parte aérea foi observada nas plantas em que receberam a adubação nitrogenada. As estirpes inoculadas Y2, MTAz8, MTH2, MTAz8 + MTH2 mesmo não diferindo entre si e entre a testemunha (sem N), quando comparadas, as mesmas apresentaram acréscimo respectivos de 8,66; 5,11; 7,27 e 0,31% e acréscimos ainda maiores de 72,27; 71,19; 71,85 e 69,73%, respectivamente quando comparadas a testemunha absoluta que apresentou menor produção (Tabela 9).

A testemunha (sem N) não diferiu das estirpes inoculadas (Tabela 9), provavelmente por nesse tratamento existir bactérias diazotróficas associativas nativas do solo, ou seja, essas bactérias podem ter contribuído com o suprimento de nitrogênio para as plantas via FBN, além dos efeitos benéficos do nitrogênio presente na matéria orgânica, que proporcionam às plantas aumentos na produção (MALAVOLTA, 1972), podendo justificar a semelhança nos resultados com os tratamentos inoculados.

Segundo Alvim et al. (1990), comparando a produção forrageira de algumas espécies de *Brachiaria*, mostraram que, sem adubação nitrogenada, *B. brizantha* apresentou os menores valores de produtividade anual em peso de matéria seca, enquanto *B. decumbens* mostrou a maior produtividade entre as espécies testadas. Porém, a *B. brizantha* foi à espécie que mais respondeu a aplicações de nitrogênio. Martuscello et al. (2009), constataram efeito positivo do nitrogênio na produtividade de matéria seca total de plantas de *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés.

Rodrigues et al. (2008) observaram que a adubação nitrogenada exerceu efeito positivo na produção de massa seca total do capim-xaraés.

Para a relação folha/colmo + bainha, a interação entre tratamentos e intervalos de cortes foi significativa, tendo apresentado variação dos tratamentos dentro dos três cortes do capim Xaraés (Tabela 10).

Tabela 10. Relação folha/colmo + bainha do capim Xaraés submetido à inoculação com bactérias diazotróficas associativas no primeiro, segundo e terceiro cortes, cultivado em Latossolo vermelho do Cerrado.

Tratamentos	Cortes		
	1º	2º	3º
Adubação Nitrogenada	2,35 aA	2,33 bA	1,03 bB
Y2	2,37 aA	2,66 bA	0,83 bB
MTAz8	2,02 aB	2,46 bA	0,81 bC
MTH 2	2,25 aA	2,55 bA	0,84 bB
MTAz8 + MTH2	2,32 aA	2,38 bA	0,79 bB
Testemunha (sem N)	2,33 aA	2,69 bA	0,87 bB
Testemunha Absoluta	0,00 bC	4,61 aA	1,97 aB
CV (%)		13,41	

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, não diferem entre si, pelo teste de Tukey (P<0,05).

No primeiro corte os tratamentos não diferiram entre si, exceto a testemunha absoluta que apresentou menor relação folha/colmo + bainha (Tabela 10). Como já mencionado anteriormente, a testemunha absoluta não apresentou produção de massa seca de colmo na testemunha absoluta no primeiro corte, consequentemente a relação folha/colmo + bainha foi zero, uma vez que a relação é dada pela razão da massa seca das folhas pela massa seca do colmo.

Os dados encontrados no presente estudo estão de acordo com Santos (2013) que ao trabalhar com capim marandu submetido à inoculação com bactérias diazotróficas associativas observou que não houve diferença significativa entre a adubação nitrogenada, os tratamentos inoculados e o controle (na ausência de nitrogênio e inoculação).

No segundo e terceiro cortes (Tabela 10), a testemunha absoluta apresentou maior relação folha/colmo + bainha em relação demais tratamentos que não diferiram estatisticamente entre si. Esse resultado foi observado uma vez que as plantas da testemunha absoluta não perfilharam como os demais tratamentos, e como a relação é dada pela razão da massa seca das folhas pela massa seca do colmo, quanto menor a massa seca de colmo maior será a relação folha/colmo + bainha, justificando, portanto a maior relação folha/colmo + bainha ter ocorrido na testemunha absoluta.

Andrade (1997) explica que o incremento na adubação, principalmente com nitrogênio, aumenta mais a produção de pseudocolmos do que a de folhas das gramíneas forrageiras, diminuindo a relação.

Segundo Rodrigues et al. (2008), a relação folha/colmo + bainha é afetada pela adubação nitrogenada, que promove um maior crescimento das plantas, intensificando o processo de alongamento dos colmos. Ainda segundo os autores de qualquer maneira os efeitos negativos observados na relação folha/colmo + bainha em função do aumento das doses de nitrogênio podem ser compensados parcialmente ou totalmente pelo benefício do aumento em produção de fitomassa.

Quando se avaliou os cortes dentro dos tratamentos houve resposta semelhante entre a adubação nitrogenada, as estirpes Y2, MTH2, MTAZ8 + MTH2 e testemunha (sem N), onde as maiores relações folha/colmo + bainha foram encontradas no primeiro e segundo cortes. A estirpe MTAz8 e testemunha absoluta apresentaram maior valor apenas na segunda avaliação (Tabela 10).

Essa relação expressa às variações entre as proporções de lâmina foliar e de colmo da planta, constituindo uma variável de grande importância, pois apresentam uma relação direta com a produtividade e a qualidade da forragem, além de subsidiarem a adoção de práticas de manejo mais adequadas (COSTA et al., 2003).

O limite crítico dessa relação é considerado igual a 1,00 e esse nível crítico considera a quantidade e a qualidade da forragem produzida (PINTO et al., 1994; ANDRADE, 1997).

Do mesmo modo, a alta relação folha/colmo 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).

Segundo Passos (1994), a qualidade da forragem diminui com a maturação das folhas, pelo aumento do teor de lignina e diminuição da relação folha/colmo e do teor de proteína bruta. Assim considera o autor que a qualidade da forrageira esta, em parte, na dependência da qualidade de folhas que ela possui em relação aos colmos. Perfilhos mais velhos e desenvolvidos possuem menor percentagem de folhas, ou seja,

a relação folha/colmo diminui à medida que a rebrotação envelhece (BAUER et al., 2011).

Os efeitos da inoculação de bactérias diazotróficas endofíticas em capim Xaraés foram estatisticamente significativos para a variável massa seca de raiz. Pode-se observar que a adubação nitrogenada apresentou maior produção, seguida das estirpes inoculadas e da testemunha (sem N) e a testemunha absoluta apresentou menor produção de raiz (Tabela 11).

Tabela 11. Massa seca da raiz (g), de capim Xaraés, submetida à inoculação com bactérias diazotróficas associativas cultivado em Latossolo Vermelho do Cerrado.

Tratamentos	3º Corte
Adubação Nitrogenada	58,41 a
Y2	15,27 b
MTAz8	13,73 b
MTH 2	14,46 b
MTAz8 + MTH2	12,91 b
Testemunha (sem N)	13,87 b
Testemunha Absoluta	5,44 c
CV (%)	12,53

Médias seguidas pela mesma letra, na vertical, não diferem significativamente, pelo teste de Tukey (P<0,05).

A maior massa seca de raiz foi observada nas plantas em que receberam adubação completa (Tabela 11). Contudo, entre as plantas que foram inoculadas com as estirpes Y2 e MTH2 produziram aumentos de massa seca de raiz em relação à testemunha (sem N) de 9,17 e 4,08% respectivamente e apresentaram acréscimos ainda maiores quando as respectivas estirpes foram comparadas a testemunha absoluta, apresentando aumentos de 64,37 e 62,38% (Figura 10).

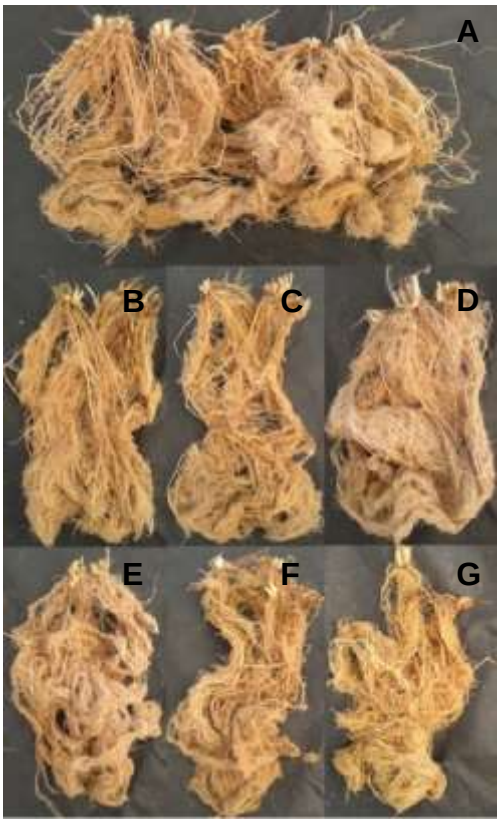

Figura 10. Massa seca do sistema radicular de plantas de capim Xaraés inoculado com bactérias diazotróficas associativas, correspondente aos tratamentos: adubação nitrogenada (A), Y2 (B), MTAz8 (C), MTH2 (D), MTAz8 + MTH2 (E), testemunha (sem N) (F) e testemunha absoluta (G).

Esses dados corroboram com os encontrados por Santos (2013) que também observou maior massa seca de raiz nas plantas que receberam adubação completa (nitrogenada) e não observou diferença significativa nos tratamentos inoculados com bactérias diazotróficas associativas e o tratamento controle (ausência de nitrogênio e inoculação).

Provavelmente a testemunha (sem N) apresentou maior massa seca de raiz em relação à testemunha absoluta, pois a mesma recebeu adução com fósforo, potássio e micronutrientes, e como segundo Lynch (2007), o crescimento das raízes são regulados pela disponibilidade de fósforo. Como provavelmente a testemunha (sem N) estava suprida adequadamente em fósforo houve um maior crescimento do sistema radicular

nesse tratamento, enquanto que a testemunha absoluta, provavelmente pelo estresse causado pelo baixo teor de fósforo no solo produziu menos massa seca de raízes.

Outro fato que pode ter ocorrido para o aumento da produção de raiz na testemunha (sem N) é devido à presença de bactérias diazotróficas nesse tratamento observadas pela amostragem do solo realizada ao longo dos cortes, onde foi possível determinar o número de bactérias diazotróficas associativas presentes no solo.

Okon e Vanderleyden (1997) baseando-se em dados acumulados durante 22 anos de pesquisa com experimentos de inoculação a campo, concluem que o gênero *Azospirillum* spp. promove ganhos em rendimento em importantes culturas nas mais variadas condições de clima e solo; contudo, salientam que o ganho com *Azospirillum* spp. vai mais além do que simples auxiliar na fixação biológica do nitrogênio, auxiliando também no aumento da superfície de absorção das raízes da planta e, conseqüentemente, no aumento do volume de substrato do solo explorado. Tal constatação é justificada pelo fato de a inoculação modificar a morfologia do sistema radicular, aumentando não apenas o número de radicelas mas, também, o diâmetro das raízes laterais e adventícias. Pelo menos parte, ou talvez muitos desses efeitos de *Azospirillum* spp. nas plantas, possam ser atribuídos à produção, pela bactéria, de substâncias promotoras de crescimento, entre elas auxinas, giberilinas e citocininas, e não somente a fixação biológica de nitrogênio.

De acordo com Sarmento et al. (2005) e Sarmento et al. (2008), a menor massa de raiz em ausência de adubação nitrogenada está relacionada à baixa quantidade de massa seca de lâminas foliares no pós-pastejo e ao baixo índice de área foliar residual das plantas não adubadas. Cecato et al. (2001), estudando massa de raízes em pastos de Coastcross-1, verificaram que a produção de massa seca radicular aumentou à medida que se elevaram os níveis do resíduo da parte aérea. A resposta na produção de massa seca de raiz do capim-massai, ratifica a relevância de uma planta estar bem suprida de nitrogênio para que possa apresentar um sistema radicular bem desenvolvido e consolidado, pois de acordo com Whitehead (1990) a deficiência de nitrogênio prejudica o crescimento do sistema radicular.

Segundo Martuscello et al. (2009), é comum encontrar na literatura informações de que, em ausência de nitrogênio, o sistema radicular tende a se estender como forma

de buscar o nutriente a maiores profundidades para explorar maior volume de solo. Porém no estudo da adubação nitrogenada em plantas de *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés e *Panicum maximumx Panicum infestum* cv. Massai esses autores encontraram que para ambas forrageiras isso parece não ter ocorrido, uma vez que, segundo a afirmativa anterior, esperava-se que, em menores doses de nitrogênio, houvesse maior acúmulo de massa seca do sistema radicular, mesmo havendo limitação para o desenvolvimento das raízes em plantas cultivadas em vasos.

Houve efeito estatístico significativo para a relação parte aérea/raiz quando o capim Xaraés foi submetido aos tratamentos. Observou-se maior relação parte aérea/raiz na adubação nitrogenada, seguida da testemunha absoluta e posteriormente menor relação parte aérea/raiz nos demais tratamentos (Tabela 12).

Tabela 12. Relação parte aérea/raiz, de capim Xaraés, submetida à inoculação com bactérias diazotróficas associativas cultivado em Latossolo Vermelho do Cerrado.

Tratamentos	Relação parte aérea/raiz
Adubação Nitrogenada	1,69 a
Y2	0,57 c
MTAz8	0,63 c
MTH 2	0,63 c
MTAz8 + MTH2	0,60 c
Testemunha (sem N)	0,62 c
Testemunha Absoluta	1,47 b
CV (%)	11,82

Médias seguidas pela mesma letra, na vertical, não diferem significativamente, pelo teste de Tukey (P<0,05).

Esse resultado de baixa relação massa seca de parte aérea e raiz nos tratamentos inoculados ocorreu pela diminuição da massa seca da parte aérea ao longo dos cortes, apresentando no terceiro corte menor produção de massa seca de parte aérea, e como a relação é dada pela razão da massa seca da parte aérea pela massa seca da raiz, quanto maior for à massa seca da raiz menor será a relação, portanto como a massa seca da parte aérea foi inferior a massa seca da raiz a relação massa seca de parte aérea e raiz para os tratamentos inoculados segundo a análise estatística foram os menores (Tabela 12).

Já na testemunha absoluta (Tabela 12) ocorreu o contrário, houve um baixo valor de massa seca de raiz e, portanto a testemunha absoluta apresentou valor intermediário na relação massa seca de parte aérea e raiz, apresentando maior valor que os tratamentos inoculados.

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, 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.

As estratégias de sobrevivência das plantas em déficit de nitrogênio variam de acordo com a espécie e com o metabolismo da planta. De acordo com Santos et al. (2006b), em plantas de capim-tanzânia o nitrogênio não é translocado para ao sistema radicular prioritariamente, mas para a deposição de massa seca da parte aérea e para o perfilhamento lateral. Essa parece ser também a estratégia utilizada pelas forrageiras no experimento de Martuscello et al. (2009), onde a parte aérea funcionou com dreno mais evidente do que a raiz, tanto para capim-massai quanto para capim-xaraés. Isso pode ser evidenciado quando se analisa a relação parte aérea/raiz, pois à medida que se incrementou a adubação nitrogenada essa apresentou resposta linear e positiva.

4.3 Características nutricionais do capim Xaraés

A inoculação com bactérias diazotróficas associativas no capim Xaraés resultou em diferença estatística da interação significativa entre tratamentos e os cortes realizados em intervalos de trinta dias, para a variável índice de clorofila Falker (Tabela 13).

Tabela 13. Índice de clorofila Falker do capim Xaraés submetido à inoculação com bactérias diazotróficas associativas no primeiro, segundo e terceiro cortes, cultivadas em Latossolo vermelho do Cerrado.

Tratamentos	Cortes		
	1º	2º	3º
Adubação Nitrogenada	54,48 aA	38,42 aB	32,90 bC
Y2	43,58 bA	18,32 cB	18,40 cB
MTAz8	44,80 bA	18,22 cB	17,74 cB
MTH 2	43,84 bA	18,16 cB	19,30 cB
MTAz8 + MTH2	43,98 bA	19,10 cB	19,44 cB
Testemunha (sem N)	43,54 bA	17,78 cB	19,96 cB
Testemunha Absoluta	15,82 cC	29,74 bB	38,64 aA
CV (%)		9,13	

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, não diferem entre si, pelo teste de Tukey (P<0,05).

O índice de clorofila Falker no primeiro corte (Tabela 13), apresentou maior leitura para o tratamento com adubação nitrogenada, os tratamentos inoculados e a testemunha (sem N) apresentaram valores intermediários e a testemunha absoluta obteve menor valor. Os tratamentos inoculados com as estirpes Y2, MTAz8, MTH2, MTAz8 + MTH2 produziram respectivamente o equivalente a 79,99; 82,23; 80,47 e 80,73% do maior índice de clorofila observado na adubação nitrogenada. Apesar de não haver diferença entre as estirpes MTAz8, MTH2 e MTAz8 + MTH2 e a testemunha (sem N), houve acréscimos de 2,81; 0,68 e 1,0% e quando comparadas a testemunha absoluta, as mesmas estirpes apresentaram acréscimos respectivos de 64,69; 63,91 e 63,96%.

Guimarães et al. (2011a), trabalhando com produção de capim-marandu inoculado com *Azospirillum* spp., também observou maior valor SPAD no tratamento contendo a adubação nitrogenada (máxima leitura obtida) e demonstraram que as estirpes AZ02, AZ04, AZ06, AZ13 e AZ18 apresentaram valores superiores à testemunha absoluta (ausência de nitrogênio e inoculação), de até 7%.

No segundo corte (Tabela 13), pode-se observar que a adubação nitrogenada apresentou maior índice de clorofila, seguido pela testemunha absoluta e os tratamentos inoculados e a testemunha (sem N) apresentaram menor valores não diferindo estatisticamente entre si. Mesmo não diferindo entre si, quando comparou-se

as estirpes Y2, MTAz8, MTH2, MTAz8 + MTH2 com a testemunha (sem N) observou acréscimos de 2,95; 2,41; 2,09 e 6,91%, respectivamente.

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).

No terceiro corte (Tabela 13), a testemunha absoluta apresentou maior índice de clorofila, seguida pela adubação nitrogenada e os menores valores foram encontrados nos tratamentos inoculados e testemunha (sem N). Porém, observou-se que a leitura do clorofilômetro nem sempre estava relacionado ao estado nutricional da planta, principalmente pelo efeito de diluição de nitrogênio na planta com o crescimento da parte aérea.Assim, plantas com alta produção de matéria verde apresentaram menor valor de índice de clorofila do que plantas com menor produção desta, o que não descreve o estado nutricional da cultura em si, corroborando com (POCOJESKI, 2007; PIT et al., 2007; POCOJESKI et al., 2008) que também encontraram o mesmo resultado (Figura 11).

Figura 11. Vista dos tratamentos de plantas de capim Xaraés no terceiro corte (aos 90 dias após transplantio), da esquerda para a direita: adubação nitrogenada, Y2, MTAz8, MTH2, MTAz8 + MTH2, testemunha (sem N) e testemunha absoluta.

Quando se avaliou os cortes dentro dos tratamentos observou-se que a adubação nitrogenada, todas as estirpes inoculadas e a testemunha (sem N) apresentaram maior índice de clorofila no primeiro corte e apenas a testemunha absoluta não corroborou com esse resultado apresentando maior índice de clorofila no terceiro corte (Tabela 13).

Estudos realizados com gramíneas indicam que o valor SPAD correlaciona-se positivamente com a nutrição nitrogenada das plantas (COLOZZA et al., 2000; MANARIN; MONTEIRO, 2002; LAVRES JUNIOR; MONTEIRO, 2006), uma vez que o incremento da disponibilidade de nitrogênio usualmente resulta em aumento na concentração de clorofila e consequentemente na intensidade de cor verde emitida pelas folhas, uma vez que os cloroplastos foliares normalmente contém cerca de 70% do nitrogênio das plantas (WOOD et al., 1992).

Como a dinâmica de micro-organismos do solo e daqueles encontrados no interior das plantas está condicionada à própria vegetação, é possível que diferentes genótipos de *Brachiaria* possam exercer um efeito seletivo sobre as populações destes, o que poderia resultar em diferentes respostas quanto à contribuição da FBN obtida por cada um destes genótipos (REIS JUNIOR et al., 2006).

Para a variável concentração de nitrogênio da parte aérea do capim Xaraés, houve significância com efeito de interação entre tratamentos e intervalos de cortes (Tabela 14).

Tabela 14. Concentração de nitrogênio (g kg^{-1}) na parte aérea de capim Xaraés submetido à inoculação com bactérias diazotróficas associativas no primeiro, segundo e terceiro cortes, cultivado em Latossolo vermelho do Cerrado.

Tratamentos	Cortes		
	1º	2º	3º
Adubação Nitrogenada	32,71 aA	18,12 bB	10,01 bC
Y2	15,37 bA	6,69 cB	6,69 bcB
MTAz 8	14,75 bA	6,13 cB	6,41 cB
MTH 2	12,58 bA	6,62 cB	5,86 cB
MTAz8 + MTH2	14,23 bA	6,95 cB	6,97 bcB
Testemunha (sem N)	14,25 bA	6,41 cB	6,99 bcB
Testemunha Absoluta	33,45 aA	29,53 aB	24,57 aC
CV (%)		12,96	

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, não diferem entre si, pelo teste de Tukey (P<0,05).

Quando se avaliou os tratamentos dentro dos cortes, observou-se que em todos os cortes houve diferença significativa (Tabela 14). No primeiro corte a adubação nitrogenada e a testemunha absoluta apresentaram maior valores enquanto os demais tratamentos não diferiram estatisticamente entre si. Apesar de não diferirem entre si, a estirpe Y2 apresentou acréscimo de concentração de nitrogênio de 7,29% quando comparada a testemunha (sem N).

Durante o estabelecimento, nos primeiros 30 a 40 dias, a demanda de nitrogênio no estabelecimento pode ser atendida pela mineralização da matéria orgânica, que é estimulada pelo preparo do solo e pela calagem (CANTARUTTI et al., 1999), o que poderia justificar a maior concentração de nitrogênio na primeira avaliação.

No segundo corte (Tabela 14), a testemunha absoluta apresentou maior concentração de nitrogênio na parte aérea, a adubação nitrogenada apresentou valor intermediário e os tratamentos com as estirpes de bactérias diazotróficas associativas e a testemunha (sem N) apresentaram menores valores e não diferiram estatisticamente entre si. Mesmo não diferindo entre si, as estirpes Y2, MTH2 e MTAz8 + MTH2 obtiveram acréscimos de 4,19; 3,17 e 7,77%, respectivamente, quando comparados com a testemunha (sem N).

No terceiro corte das plantas de capim Xaraés (Tabela 14), o tratamento testemunha absoluta obteve maior concentração de nitrogênio na parte aérea, em

seguida quem apresentou maior valor foi a adubação nitrogenada, não diferindo estatisticamente das estirpes Y2, MTAz8 + MTH2 e da testemunha (sem N), em seguida com menores valores de concentração de nitrogênio encontram-se as estirpes MTAz8 e MTH2. Os tratamentos com as estirpes Y2 e MTAz8 + MTH2 apresentaram o equivalente a 66,83 e 69,63%, respectivamente, da concentração de nitrogênio observada na adubação nitrogenada.

A concentração de nitrogênio nas três avaliações para a adubação nitrogenada não seguiu o esperado (Figura 12), visto que provavelmente tenha ocorrido o efeito de diluição da concentração de nitrogênio nas plantas que produziram maior quantidade de matéria verde (adubação nitrogenada) e efeito contrário nas plantas que produziram menor quantidade de matéria verde (testemunha absoluta).

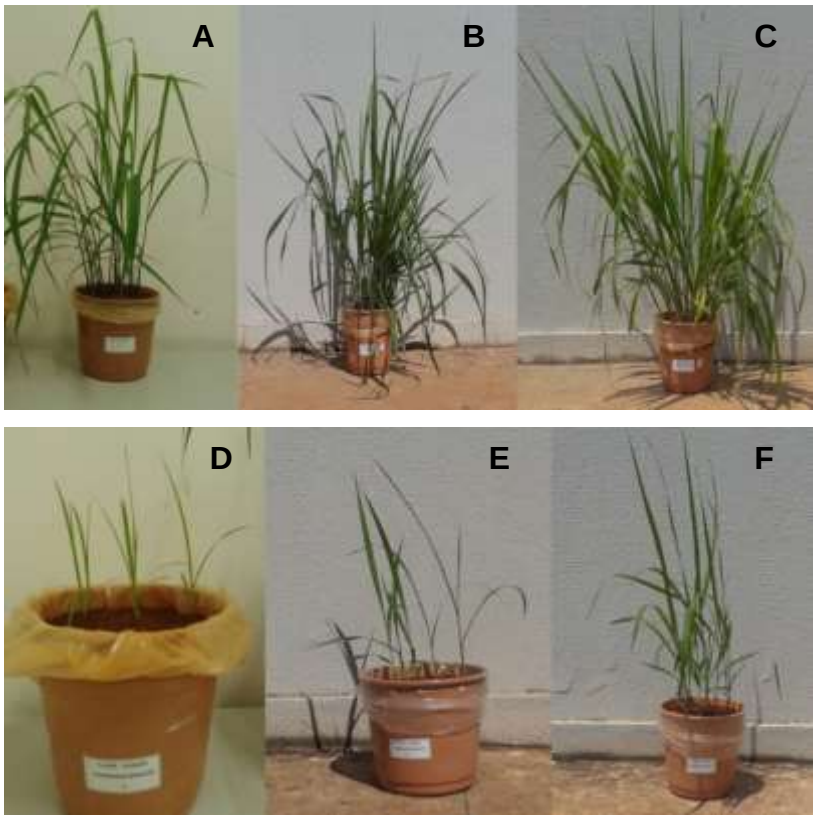

Figura 12. Representação do efeito diluição no tratamento adubação nitrogenada no primeiro (A), segundo (B) e terceiro (C) cortes, em comparação a testemunha absoluta no primeiro (D), segundo (E) e terceiro (F) cortes.

Quando se avaliou os cortes dentro dos tratamentos houve resposta semelhante entre todos os tratamentos, onde no primeiro corte foi observada maior concentração de nitrogênio. A adubação nitrogenada e testemunha absoluta apresentaram no segundo corte valor intermediário e menor valor no terceiro corte, enquanto os tratamentos inoculados e testemunha (sem N) obtiveram menores valores de concentração de nitrogênio no segundo e terceiro corte, não diferindo estatisticamente entre si (Tabela 14).

Em se tratando de tecidos vegetais, é pertinente considerar que os teores de nitrogênio total tendem a diminuir progressivamente na medida em que a planta atinge estádios de desenvolvimento mais avançados (MENGEL; KIRKBY, 2001).

No primeiro corte o maior valor observado para concentração de nitrogênio em todos os tratamentos pode estar associado à matéria orgânica no solo, pois com a decomposição da matéria orgânica há uma maior quantidade de nitrogênio disponível no solo para ser absorvido pelas plantas (Aquino, 2005).

No segundo e terceiro cortes os tratamentos inoculados apresentaram decréscimo de aproximadamente 45,96% em relação ao encontrado no primeiro corte (Tabela 15), possivelmente pela planta ter absorvido grande parte do nitrogênio presente no solo no primeiro corte, absorvendo menores quantidades de nitrogênio proveniente da matéria orgânica nos cortes seguintes.

Além disso, a concentração de nitrogênio nesses tratamentos podem ter sido oriundos da FBN das estirpes de bactérias diazotróficas associativas inoculadas nesses tratamentos, conforme pode ser observado o número de bactérias presentes no solo. A testemunha (sem N) não diferiu das estirpes inoculadas, provavelmente por também haver absorção do nitrogênio proveniente da decomposição da matéria orgânica e pela presença de bactérias diazotróficas associativas nativas do solo, principalmente no terceiro corte onde o número de bactérias foi maior, portanto, essas bactérias podem ter contribuído com o suprimento de nitrogênio para as plantas através da FBN.

Santos (2013) observou interação significativa entre cortes e bactérias para concentração de nitrogênio na parte aérea do capim marandu e também foram observadas maiores concentrações no primeiro corte com posterior decréscimo da concentração de nitrogênio nos demais cortes.

O nitrogênio é considerado como o principal nutriente para as plantas, sendo exigido em quantidades substanciais. Os teores de nitrogênio total tendem a ser mais elevados na parte aérea do que nas raízes (MILLS; JONES, 1979). É o grande responsável pela melhoria nas características nutricionais das gramíneas forrageiras (MATTOS; MONTEIRO, 2003).

Para Bonfim-Silva e Monteiro (2006) a disponibilidade do nitrogênio exerce grande influência na nutrição das plantas, o que reflete na produção e qualidade da forragem. A demanda do nitrogênio pela planta não é naturalmente suprida pelo solo, devido a sua elevada exigência e também pela retirada de nitrogênio do sistema por intermédio dos produtos colhidos. Segundo Werner et al. (1996), a faixa adequada de N para as forrageiras é de 13 a 20 g kg^{-1}.

Existe um consenso geral de que o genótipo da planta é um fator chave para obtenção dos benefícios propiciados por bactérias diazotróficas endofíticas (REIS et al., 2000). Miranda et al. (1990), utilizando 24 genótipos de *Panicum maximum*, demonstraram que as plantas diferiam quanto à capacidade de obter nitrogênio pela fixação biológica, provavelmente, devido a diferenças dos genótipos na capacidade de associação com bactérias diazotróficas. Bhattarai e Hess (1998) também observaram que diferentes genótipos de trigo diferiram quanto ao aumento de produtividade propiciado por isolados de bactérias do gênero *Azospirillum* e que os maiores benefícios foram obtidos com genótipo e bactéria oriundos da mesma localidade.

Houve efeito significativo para a concentração de nitrogênio na raiz quando o capim Xaraés foi submetido aos tratamentos. Observou-se maior concentração de nitrogênio na testemunha absoluta, seguida da adubação nitrogenada e posteriormente menores valores nos tratamentos inoculados com as bactérias diazotróficas associativas e testemunha (sem N) (Tabela 15).

Tabela 15. Concentração de nitrogênio (g kg^{-1}), na raiz de capim Xaraés, submetida à inoculação com bactérias diazotróficas associativas cultivado em Latossolo Vermelho do Cerrado.

Tratamentos	Massa seca total da parte aérea
Adubação Nitrogenada	7,22 b
Y2	4,45 c
MTAz8	5,01 c
MTH 2	5,28 c
MTAz8 + MTH2	5,01 c
Testemunha (sem N)	4,73 c
Testemunha Absoluta	12,54 a
CV (%)	11,68

Médias seguidas pela mesma letra, na vertical, não diferem significativamente, pelo teste de Tukey (P<0,05).

Nos tratamentos inoculados (Tabela 15), mesmo não havendo diferença significativa foi possível observar que as estirpes MTAz8, MTH2 e MTAz8 + MTH2 obtiveram acréscimos de 5,59; 10,42 e 5,59%, respectivamente quando comparadas a testemunha (sem N). Possivelmente também ocorreu o efeito de diluição da concentração de nitrogênio nas plantas que produziram maior matéria seca de sistema radicular

A capacidade do 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).

Pedreira et al. (2004) ao constataram que as raízes são as primeiras partes da planta a sofrerem os efeitos de um manejo inadequado, pois entre os vários fatores que afetam o crescimento radicular, a fertilidade do solo e o manejo inadequado estão entre os principais.

As gramíneas apresentam sistema radicular fasciculado, tendo vantagens sobre o sistema pivotante das leguminosas para extrair água e nutrientes do solo. As gramíneas são largamente cultivadas em todo o mundo, 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 àquela verificada com as leguminosas que podem ser auto-suficientes em nitrogênio (DÖBEREINER, 1992).

Para a porcentagem de proteína bruta na parte aérea, a análise de variância revelou significância entre os tratamentos e os intervalos de cortes com efeito de interação entre ambos (Tabela 16).

Tabela 16. Proteína bruta (%) na parte aérea de capim Xaraés submetido à inoculação com bactérias diazotróficas associativas no primeiro, segundo e terceiro cortes, cultivado em Latossolo vermelho do Cerrado.

Tratamentos	Cortes		
	1º	2º	3º
Adubação Nitrogenada	20,44 aA	11,32 bB	6,25 bC
Y2	9,61 bA	4,18 cB	4,18 bcB
MTAz8	9,22 bA	3,83 cB	4,01 cB
MTH 2	7,86 bA	4,14 cB	3,66 cB
MTAz8 + MTH2	8,89 bA	4,34 cB	4,36 bcB
Testemunha (sem N)	8,91 bA	4,01 cB	4,37 bcB
Testemunha Absoluta	20,91 aA	18,46 aB	15,36 aC
CV (%)		12,96	

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, não diferem entre si, pelo teste de Tukey (P<0,05).

Em relação à porcentagem de proteína bruta da parte aérea do capim Xaraés no primeiro corte (Tabela 16), observou-se que a adubação nitrogenada e a testemunha absoluta apresentaram maiores valores, enquanto os demais tratamentos obtiveram menores valores e não diferiram estatisticamente entre si. Mesmo não diferindo entre si, as estirpes Y2 e MTAz8 obtiveram acréscimos de 7,28 e 3,36%, respectivamente, quando comparados com a testemunha (sem N).

Um dos métodos para estimar o valor nutritivo da forragem é, tradicionalmente, através das concentrações de proteína bruta (PATERSON et al., 1994).

A elevação nos teores de proteína bruta observada nos experimentos com gramíneas proporcionadas pela adubação nitrogenada ocorre devido ao nitrogênio participa ativamente na síntese de compostos orgânicos que formam a estrutura do vegetal (PRADO, 2008) e pela maior concentração de proteína ocorrer nas folhas, sendo de alto valor biológico e de composição aminoacídica de elevada qualidade (DIAS, 2014).

Neste sentido Corrêa et al. (2007), estudando pastos de capim-coastcross com a adubação de nitrogênio até a dose de 200 kg ha^{-1} observaram que, além da elevação da produção de massa seca, houve também acréscimo nos teores de proteína bruta e aumento na digestibilidade da matéria seca com o aumento de doses de nitrogênio durante dois anos agrícolas, proporcionando melhor qualidade de forragem.

No segundo corte (Tabela 16), a testemunha absoluta apresentou maior teor de proteína bruta seguida pela adubação nitrogenada, os tratamentos inoculados com as estirpes de bactérias diazotróficas associativas e testemunha (sem N) não diferiram estatisticamente entre si. Mesmo não diferindo entre si, as estirpes Y2, MTH2 e MTAz8 + MTH2 apresentaram acréscimos de 4,07; 3,14 e 7,60%, respectivamente, quando comparados com a testemunha (sem N).

No terceiro corte (Tabela 16), a testemunha absoluta apresentou maior valor, a adubação nitrogenada apresentou valor intermediário, não diferindo das estirpes Y2, MTAz8 + MTH2 e testemunha (sem N), e as estirpes MTAz8 e MTH2 apresentaram menor valores. Mesmo não diferindo entre si, as estirpes Y2 e MTAz8 + MTH2 produziram respectivamente o equivalente a 66,88 e 69,76% da porcentagem de proteína bruta encontrada na adubação nitrogenada.

Assim como mencionado anteriormente no índice de clorofila Falker e concentração de nitrogênio na parte aérea, os maiores valores encontrados na testemunha absoluta podem ter ocorrido devido o menor porte das plantas da testemunha absoluta, aumentando a concentração de nitrogênio na parte aérea, caracterizando o chamado efeito diluição nas plantas mais desenvolvidas, no caso, a adubação nitrogenada.

Santos (2013) trabalhando com inoculação no capim marandu observou no terceiro corte que o tratamento correspondente á adubação completa foi superior aos demais tratamentos (11,2). Com relação aos tratamentos inoculados e tratamento controle (ausência de nitrogênio e inoculação) não houve diferença estatística significativa na concentração de proteína bruta.

Maraschin (1999) mencionou que a rápida resposta da planta ao nitrogênio aplicado pode ter pouco efeito no conteúdo de proteína bruta da forragem, por provocar, dentre outros efeitos, aceleração no amadurecimento da planta.

Quando se analisou os cortes dentro dos tratamentos foi possível observar que houve resposta semelhante entre a adubação nitrogenada e a testemunha absoluta, onde o maior valor foi observado no primeiro corte e sequencialmente reduziu no segundo e terceiro cortes. As estirpes inoculadas e a testemunha (sem N) apresentaram maior porcentagem de proteína bruta no primeiro corte e menor valores no segundo e terceiro corte, que não diferiram estatisticamente entre si.

Como se pode observar, a testemunha (sem N) apresentou valores semelhantes aos encontrado nas estirpes inoculadas (Tabela 15), essa semelhança entre tratamentos pode ser devida a presença de bactérias diazotróficas nativas no solo que podem ter atuado sobre as plantas no segundo e terceiro cortes onde apresentaram maior número de bactérias no solo.

Outra suposição seria o suprimento de nitrogênio pela matéria orgânica no solo, pois segundo (VILELA et al., 1998) em áreas de primeiro cultivo, normalmente, a mineralização da matéria orgânica supre a demanda de nitrogênio na fase de estabelecimento. Porém Guilherme et al. (1995) enfatiza que a utilização de adubação em pastagens, particularmente a nitrogenada, é prática fundamental quando se pretende aumentar a produção de matéria seca, pois o nitrogênio presente no solo, proveniente da mineralização da matéria orgânica não é suficiente para as gramíneas de alta produção expressarem o seu potencial.

Conforme Minson (1990), para ruminantes, consideram-se deficientes as pastagens com teores abaixo 7% de proteína bruta 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 Xaraés.

As maiores mudanças que ocorrem na composição química das plantas forrageiras são aquelas que acompanham sua maturação. Á medida que a planta envelhece, a proporção dos componentes potencialmente digeríveis tende a diminuir, enquanto aumenta a de fibras (LEITE, et al. 2000). O declínio do valor nutritivo está relacionado com o avanço no estádio fisiológico (CANO et al., 2004) e com a maturidade das plantas (SOARES FILHO et al., 2002). Esta afirmação confirma os dados encontrados neste trabalho, já que se verificou redução nos teores de proteína bruta ao longo dos cortes.

O efeito dos tratamentos no capim Xaraés foram estatisticamente significativos para a variável porcentagem de proteína bruta na raiz. Pode-se observar que a testemunha absoluta apresentou maior produção, seguida da adubação nitrogenada e as estirpes inoculadas e a testemunha (sem N) apresentaram menor porcentagem de proteína bruta não diferindo estatisticamente entre si (Tabela 17).

Tabela 17. Proteína bruta (%) na raiz de capim Xaraés, submetida à inoculação com bactérias diazotróficas associativas cultivado em Latossolo Vermelho do Cerrado.

Tratamentos	% Proteína Bruta
Adubação Nitrogenada	4,51 b
Y2	2,78 c
MTAz8	3,13 c
MTH 2	3,30 c
MTAz8 + MTH2	3,13 c
Testemunha (sem N)	2,96 c
Testemunha Absoluta	7,84 a
CV (%)	11,68

Médias seguidas pela mesma letra, na vertical, não diferem significativamente, pelo teste de Tukey (P<0,05).

Mesmo não diferindo entre as estirpes MTAz8, MTH2 e a combinação das estirpes MTAz8 + MTH2 apresentaram acréscimos de 5,43; 10,30 e 5,43%, respectivamente, quando comparados com a testemunha (sem N), Tabela 17.

Para o acúmulo de nitrogênio na parte aérea houve diferença estatística com interação significativa entre tratamentos e os cortes realizados em intervalos de trinta dias (Tabela 18).

Tabela 18. Acúmulo de nitrogênio (mg vaso^{-1}) na parte aérea de capim Xaraés submetido à inoculação com bactérias diazotróficas associativas no primeiro, segundo e terceiro cortes, cultivado em Latossolo vermelho do Cerrado.

Tratamentos	Cortes		
	1º	2º	3º
Adubação Nitrogenada	730,57 aC	805,26 aB	980,95 aA
Y2	238,80 bA	70,18 bB	58,76 cB
MTAz8	220,41 bcA	61,81 bB	54,89 cB
MTH 2	186,62 cA	67,75 bB	53,88 cB
MTAz8 + MTH2	196,06 bcA	72,79 bB	53,52 cB
Testemunha (sem N)	191,45 bcA	62,36 bB	60,37 cB
Testemunha Absoluta	6,36 dC	48,54 bB	189,57 bA
CV (%)		12,16	

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, não diferem entre si, pelo teste de Tukey (P<0,05).

Quando se avaliou os tratamentos dentro dos cortes, observou-se que em todos os cortes houve diferença significativa (Tabela 18). No primeiro corte a adubação nitrogenada apresentou maior acúmulo de nitrogênio, seguido pela estirpe Y2 que não diferiu estatisticamente das estirpes MTAz8, MTAz8 + MTH2 e testemunha (sem N). A testemunha absoluta obteve menor acúmulo de nitrogênio, provavelmente pelo menor desenvolvimento da planta no primeiro corte.

No segundo corte (Tabela 18), a adubação nitrogenada apresentou maior acúmulo de nitrogênio na parte aérea (805,26 mg vaso^{-1}), valor esse discrepante dos demais tratamentos que não diferiram estatisticamente entre si e apresentaram acúmulo de nitrogênio de no máximo (72,79 mg vaso^{-1}). Mesmo não diferindo entre si, as estirpes Y2, MTH2 e MTAz8 + MTH2 obtiveram acréscimos de 11,14; 7,96 e 14,33%, respectivamente, quando comparados com a testemunha (sem N).

No terceiro corte das plantas de capim Xaraés (Tabela 18), o tratamento adubação nitrogenada obteve maior acúmulo de nitrogênio na parte aérea, em seguida quem apresentou maior valor foi à testemunha absoluta, enquanto que as estirpes inoculadas e a testemunha (sem N) apresentaram menores valores não diferindo estatisticamente entre si.

Essa grande extração de nitrogênio oriundo da adubação nitrogenada pode ser explicada pelo aumento de produção de massa seca, em que a planta exigiu uma

quantidade maior de nutrientes para obter sua produção, ou seja, o aumento na disponibilidade do nitrogênio no solo estimula o crescimento da forrageira (CECATO et al., 1996) e consequentemente, aumenta os valores do nitrogênio acumulado na biomassa (SILVA et al., 2009).

A testemunha absoluta apresentou maior acúmulo de nitrogênio na parte aérea no terceiro corte e menor acúmulo no segundo e primeiro cortes respectivamente, devido ao seu baixo crescimento (Figura 13). A baixa disponibilidade de nutrientes é situação comum que restringe o crescimento e desenvolvimento das plantas (SILVA; DELATORRE, 2009). No presente estudo como não houve adubação com nenhum nutriente no tratamento testemunha absoluta a planta desenvolveu-se lentamente, não conseguindo explorar todo o solo da unidade experimental no início (aos 30 dias após transplantio), pois provavelmente o sistema radicular limitou essa exploração no primeiro corte, uma vez que a deficiência de fósforo no solo compromete principalmente o estabelecimento das pastagens em virtude do seu papel no desenvolvimento do sistema radicular e no perfilhamento das plantas, modificando a captação e alocação de recursos e o crescimento da planta (CORRÊA; SANTOS, 2003; SILVA; DELATORRE, 2009). No segundo e terceiro cortes provavelmente a área de solo explorada foi maior o que acarretou em maior crescimento das plantas e aumento na extração do nitrogênio no solo.

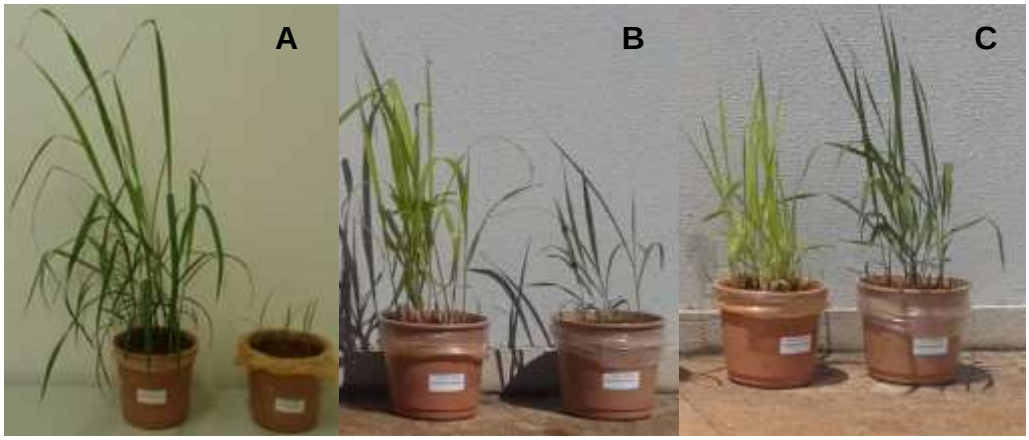

Figura 13. Comparação entre os tratamentos testemunha (sem N) e testemunha absoluta, respectivamente da esquerda para a direita, no primeiro (A), segundo (B) e terceiro (C) cortes, realizados em intervalos de 30 dias.

Quando se analisou a testemunha (sem N), observou-se o contrário da testemunha absoluta, pois o acúmulo de nitrogênio decresceu ao longo dos cortes (Tabela 1). Esse fato pode ser explicado pela adubação com fósforo, potássio e micronutrientes, onde provavelmente a disponibilidade de fósforo influenciou o crescimento do sistema radicular conseguindo explorar melhor a unidade experimental.

Apesar da testemunha (sem N) não ter sido inoculada, quando se determinou o número de bactérias diazotróficas associativas no solo, observou-se a presença crescente dessas bactérias ao longo dos cortes (bactérias nativas do solo), que também pode ter contribuído para o aporte de nitrogênio para a planta através da FBN. Por outro lado, o nitrogênio pode ter sido proveniente da matéria orgânica que foi diminuindo e consequentemente a extração de nitrogênio decresceu em relação aos cortes. Vilela et al. (2003) e Reis et al. (2001) relatam que a decomposição da matéria orgânica auxilia, de maneira limitada, no atendimento das exigências de nitrogênio das plantas forrageiras. Boddey et al. (1996) estimaram que pastagens cultivadas de gramíneas solteiras nos cerrados teriam um déficit de nitrogênio, considerando apenas a matéria orgânica do solo.

Quando se avaliou os cortes dentro dos tratamentos (Tabela 18) houve respostas semelhantes entre os tratamentos inoculados e a testemunha (sem N) que apresentaram maior acúmulo no primeiro corte, decrescendo entre o segundo e terceiro cortes, e a adubação nitrogenada e testemunha absoluta apresentaram comportamento inverso, onde o acúmulo de nitrogênio aumentou com o passar dos cortes (Figura 14).

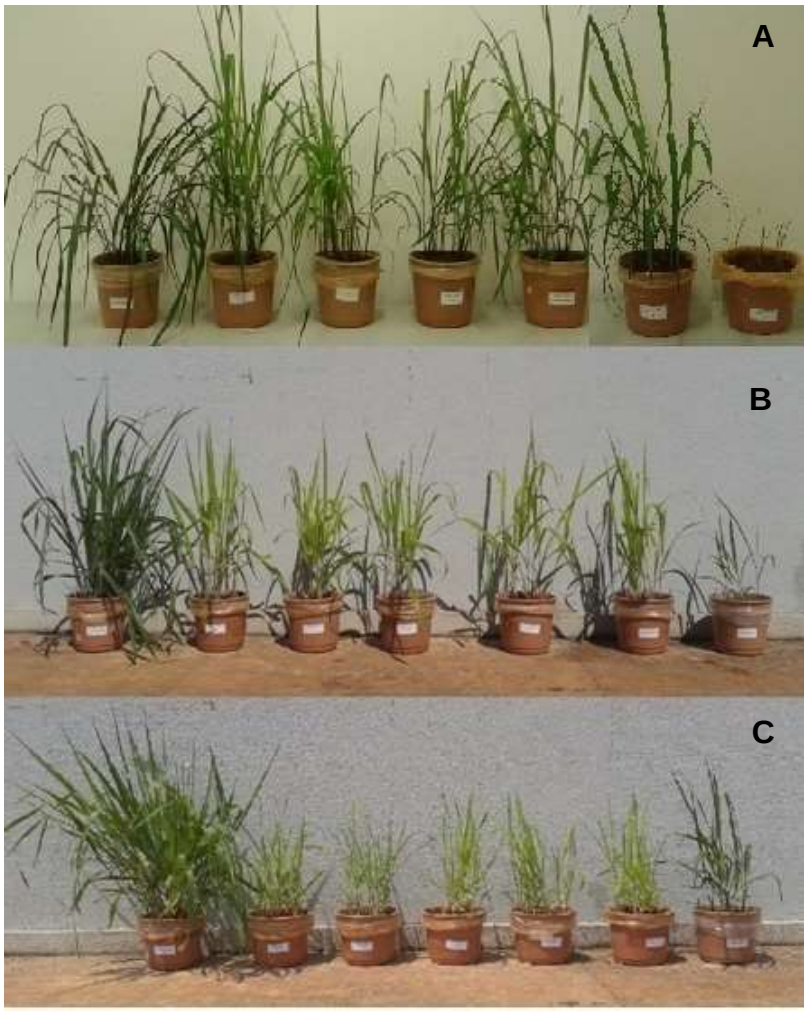

Figura 14. Vista comparativa dos tratamentos da esquerda para a direita: adubação nitrogenada, Y2, MTAz8, MTH2, MTAz8 + MTH2, testemunha (sem N)e testemunha absoluta no primeiro (A), segundo (B) e terceiro (C) cortes.

Houve efeito significativo para o acúmulo de nitrogênio no sistema radicular quando o capim Xaraés foi submetido aos tratamentos. Observou-se maior acúmulo de nitrogênio na adubação nitrogenada, e os demais tratamentos não diferiram estatisticamente entre si (Tabela 19).

Tabela 19. Acúmulo de nitrogênio (mg vaso^{-1}) na raiz de capim Xaraés, submetida à inoculação com bactérias diazotróficas associativas cultivado em Latossolo Vermelho do Cerrado.

Tratamentos	Massa seca total da parte aérea
Adubação Nitrogenada	420,83 a
Y2	67,99 b
MTAz8	68,72 b
MTH 2	76,76 b
MTAz8 + MTH2	63,77 b
Testemunha (sem N)	66,01 b
Testemunha Absoluta	68, 14 b
CV (%)	17,97

Médias seguidas pela mesma letra, na vertical, não diferem significativamente, pelo teste de Tukey (P<0,05).

Mesmo não diferindo entre si, as estirpes MTAz8 e MTH2 apresentaram acréscimos de 3,94 e 14,00% quando comparadas a testemunha (sem N), respectivamente (Tabela 19).

As alterações na arquitetura das raízes modificam a capacidade de exploração do solo e, portanto, o potencial para extração dos nutrientes (SILVA; DELATORRE, 2009). O estado nutricional das plantas tem efeito nas propriedades de crescimento de suas raízes (ESHEL; WAISEL, 1996).

4.4 Características microbiológicas do capim Xaraés

Antes do preenchimento das unidades experimentais, foi retirada uma amostra representativa do solo para determinar o número de bactérias presentes no solo antes do preparo do solo e implantação dos tratamentos. Entre as populações de bactérias diazotróficas presentes no solo de origem verificou-se que a maior população foi detectada em meio NFb (Tabela 20).

Tabela 20. Número de bactérias diazotróficas no solo (número de células g^{-1} de solo) avaliadas em meio de cultura LGI e NFb.

Meio seletivo	UFC g^{-1}solo
LGI	0
NFb	2,30

Segundo Baldani et al. (1999), o meio NFb também permite o crescimento de outras bactérias endofíticas além das bactérias diazotróficas associativas, o que pode justificar o valor observado no presente estudo. Magalhães e Döbereiner (1984) também mostraram que, mesmo sendo as espécies de *Azospirillum,* favorecidas nos meios NFb, outros micro-organismos diazotróficos podem crescer nestes meios.

Para Roesch et al. (2007) e Dobbelaere et al. (2003), o solo e resíduos vegetais depositados no solo são potenciais fontes de bactérias diazotróficas endofíticas ou rizosféricas, que utilizam os exsudados radiculares, liberam substâncias promotoras de crescimento e/ou participam da FBN.

A determinação do número de bactérias diazotróficas associativas no solo onde foi cultivado capim Xaraés inoculados com estirpes de bactérias diazotróficas associativas, em relação ao meio de cultura LGI, apresentou significância com efeito de interação entre tratamentos e intervalos de cortes (Tabela 21).

Tabela 21. Número mais provável de bactérias diazotróficas associativas (número de células g^{-1} $solo^{-1}$) em meio de cultura LGI, em solo cultivado capim Xaraés submetido à inoculação com bactérias diazotróficas associativas no primeiro, segundo e terceiro cortes, cultivadas em Latossolo vermelho do Cerrado.

Tratamentos	Cortes		
	1º	2º	3º
Adubação Nitrogenada	0,87 bA	5,24 aB	3,78 aB
Y2	4,23 aA	4,48 aA	4,42 aA
Testemunha (sem N)	0,0 bB	0,98 bB	5,18 aA
Testemunha Absoluta	0,0 bB	0,98 bB	4,85 aA
CV (%)		15,25	

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, não diferem entre si, pelo teste de Tukey (P<0,05).

No primeiro corte a estirpe inoculada Y2 apresentou maior número de bactérias diazotróficas no solo, enquanto que a adubação nitrogenada, testemunha (sem N) e testemunha absoluta apresentaram menores valores. No segundo corte, a estirpe Y2 e adubação nitrogenada apresentaram maiores valores não diferindo estatisticamente entre si, enquanto as testemunhas (sem N) e absoluta apresentaram menores valores. No terceiro corte não houve diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 21).

Quando se avaliou os cortes dentro dos tratamentos (Tabela 21), observou-se que a estirpe Y2 não obteve diferença significativa, possivelmente pela reinoculação das estirpes a cada corte. A adubação nitrogenada apresentou decréscimo na população de diazotróficos ao longo dos cortes, enquanto ocorreu o inverso nas testemunhas (sem N) e absoluta, onde a maior população foi observada no terceiro corte.

Esses dados estão de acordo com Kirchhof (1997), que observou redução do número de bactérias diazotróficas com aumento da dose de N mineral aplicado, devido à inibição da enzima nitrogenase pelo nitrogênio mineral disponível.

No entanto, segundo Kuss (2006) é possível observar aumentos populacionais ocorreram na ausência ou baixa dose de nitrogênio, corroborando com Kennedy et al. (2004) e Muthukumarasamy et al. (2002), os quais verificaram queda nestas populações quando aumentadas as doses de adubo nitrogenado.

Brasil et al. (2005), observaram que maiores populações de *A. amazonense* estavam presentes em *Brachiaria*.

Melloni et al. (2004) trabalhando com densidade e diversidade fenotípica de bactérias diazotróficas endofíticas em solos de mineração de bauxita, em reabilitação, observaram que os maiores valores de densidade total de bactérias diazotróficas endofíticas foram obtidos nas amostras de solo das áreas revegetadas com gramíneas, as quais são consideradas plantas hospedeiras comuns destas bactérias (MAGALHÃES;DÖBEREINER, 1984; BALDANI et al., 1999), portanto para Melloni et al. (2004), isso ocorreu provavelmente pela fácil disseminação dessas bactérias por meio das sementes das espécies plantadas na área e pela maior afinidade destas bactérias pela rizosfera de gramíneas.

Magalhães e Döbereiner (1984) relataram baixa densidade de bactérias diazotróficas associativas, sendo muitas vezes nula em solos desprovidos de gramíneas e com baixa fertilidade.

Mesmo ausente ou ocorrendo em baixa densidade no ambiente original, as bactérias diazotróficas associativas podem ter sobrevivido nos solos graças à capacidade de formar estruturas de resistência, como cistos, quando em condições estressantes (BASHAN; HOLGUIN, 1997), e à possibilidade de fixar N_2 na ausência de fonte exógena de carbono (OKON; ITZIGSOHN, 1992). Estudos têm mostrado ainda que estas espécies são capazes de acumular poli-b-hidroxibutirato, um material de reserva que lhes permite resistir a condições de estresses ambientais (DÖBEREINER, 1991; BALDANI, 1996).

A determinação do número de bactérias diazotróficas associativas no solo onde foi cultivado capim Xaraés inoculados com estirpes de bactérias diazotróficas associativas, em relação ao meio de cultura LGI, apresentou significância com efeito isolado apenas para os tratamentos (Tabela 22).

Tabela 22. Número mais provável de bactérias diazotróficas associativas (número de células g^{-1} $solo^{-1}$) em meio de cultura NFb, em solo cultivado capim Xaraés submetido à inoculação com bactérias diazotróficas associativas no primeiro, segundo e terceiro cortes, cultivado em Latossolo vermelho do Cerrado.

Tratamentos	Cortes			Média
	1º	2º	3º	
Adubação Nitrogenada	3,49	2,53	2,81	2,94 ab
MTAz8	4,23	2,81	3,13	3,39 ab
MTH 2	3,08	1,73	5,46	3,42 ab
MTAz8 + MTH2	4,23	4,08	3,21	3,84 a
Testemunha (sem N)	0,00	0,00	3,53	1,18 b
Testemunha Absoluta	0,98	1,73	2,60	1,77 ab
Média	2,67^{ns}	2,15 ^{ns}	3,46 ^{ns}	2,76
CV (%)		28,85		

Médias seguidas pela mesma letra, na vertical, não diferem significativamente, pelo teste de Tukey (P<0,05).

Observa-se que a estirpe MTAz8 + MTH2 apresentou maior número de bactérias diazotróficas associativas no solo, não diferindo da adubação nitrogenada e das

estirpes MTAz8, MTH2 e testemunha absoluta. A testemunha (sem N) apresentou menor valor (Tabela 22).

Em solos com pequena ou ausente comunidade nativa de diazotróficos, as respostas à inoculação são mais consistentes e a recomendação de inoculação pode fazer parte do manejo da cultura (OKON, 1985).

Sundaram e klucas (1998) relataram a ocorrência de *Azospirillum* spp. em sementes de gramíneas e Nehl et al. (1996) considera, após citar vários trabalhos, que a qualidade dos exsudatos radiculares é a responsável pela preferência das bactérias pela cultivar e/ou espécie vegetal a ser colonizada.

Sabe-se que a quantidade e qualidade dos exsudatos e compostos relacionados, liberados no solo pelas raízes das plantas, pode variar em função de vários fatores além da espécie da planta, como região da raiz, tipo de solo, condição nutricional, idade e estresses, dentre outros (YANG; CROWLEY, 2000).

Como a diversidade de bactérias associativas fixadoras de N pode, geralmente, estar condicionada à vegetação, é possível que diferentes genótipos de *Brachiaria* spp. possam exercer efeito seletivo sobre as populações desses micro-organismos, o que poderia resultar em diferentes respostas quanto à contribuição da FBN obtida pelas plantas (REIS JUNIOR, et al., 2006).

Os resultados do trabalho de Reis Junior et al. (2006), mostram a presença de estirpes de bactérias diazotróficas geneticamente diferentes, associadas a diferentes espécies de Brachiaria, podem ser indicados como um dos possíveis fatores de influência nas taxas de FBN associadas a essas plantas, assim como na sua adaptabilidade a solos de baixa fertilidade.

Ruess e McNaughton (1987) encontraram em um estudo com pastagens do Serengueti que a biomassa microbiana do solo aumentou com o aumento da intensidade de pastejo, até decrescer com intensidades de pastejo mais altas. Esse decréscimo pode estar relacionado com a redução de alocação de carbono para as raízes nessas condições.

Tem se verificado variações nos resultados, atribuídas a fatores ecológicos e ambientais, como condições químicas e físicas do solo, genótipo das bactérias e plantas hospedeiras, habilidade de estabelecimento e competição com a microflora

nativa. Uma melhor compreensão da interação micro-organismo/planta poderia melhorar a eficácia de inoculantes que utilizam esses micro-organismos e permitir sua aplicação em larga escala no campo (DOBBELAERE et al., 2003).

5. CONCLUSÕES

As características nutricionais no capim Xaraés decaíram à medida que foram realizados cortes ao longo dos sessenta e noventa dias de cultivo.

Dentre as bactérias estudadas as estirpes Y2 e MTH2 apresentaram potencial de FBN em associação com o capim xaraés em primeiro cultivo em Latossolo Vermelho do Cerrado.

REFERÊNCIAS

AGUIAR, A. P. A.; SILVA, A. M. Calagem e adubação da pastagem. In: SIMPÓSIO DE FORRAGICULTURA E PASTAGENS, 5., 2005, Lavras. **Anais...**Temas em evidência. Lavras: UFLA, 2005. 177-246 p.

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

ALEXANDRINO, E.; NASCIMENTO JÚNIOR, D.; REGAZZI, A. J.; MOSQUIM, P. R.; ROCHA, F. C.; SOUSA, D. P. Produção de massa seca e vigor de rebrotação de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu submetida a diferentes doses de nitrogênio e frequência de cortes. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 40, n. 2, p. 141-147, 2003.

ALVIM, M. J.; XAVIER, D. F.; VERNEQUE, R. da S.; BOTREL, M. de A. Resposta do Tifton 68 a doses de nitrogênio e a intervalos de cortes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 9, p.1875-1882, 2000.

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

AMARAL, E. F. do; VALENTIM, J. F.; LANI, J. L.; BARDALES, N. G.; ARAÚJO, E. A. de; ANDRADE, C. M. S. de. Zoning of risk of death of *Brachiaria brizantha* in the state of Acre, Brazil. In: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, XXI.; INTERNATIONAL RANGELAND CONGRESS, VII., 2008, Hohhot. **Proceedings…** Multifunctional grasslands in a changing world: Guangzhou People's Publishing House, v. 1, 2008. p. 725.

ANDRADE, A. C. **Produtividade e valor nutritivo do capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum. cv. Napier) sob diferentes doses de nitrogênio e potássio**. 1997. 52 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1997.

ANDRADE, C. M. D. de.; ASSIS, G. M. L. de. **Capim-xaraés: cultivar de gramínea forrageira recomendada para pastagens no Acre.** Rio Branco, AC: Embrapa Acre, 2008. p. 1-34. (Embrapa Acres. Documentos, 112).

AQUINO, A. M. Integrando **Compostagem e Vermicompostagem na Reciclagem de Resíduos Orgânicos Domésticos**. EMBRAPA. Circular Técnica. n. 12. 2005.

BALDANI, J. I.; CARUSO, L.; BALDANI, V. L. D.; GOI, S. R.; DÖBEREINER, J. Recent advances in BNF with non-legume plants. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 29, n. 5/6, p. 911-922, 1997.

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 rubrisuba*lbicans comb nov; and classification of a group of clinical isolates (EF group 1) as *Herbaspirillum* species 3. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Washington, v. 46, p. 802-810, 1996.

BALDANI, J. I.; REIS, V. R. S.; TEIXEIRA, K. R. S.; BALDANI, V. L. D. Potencial biotecnológico de bactérias diazotróficas associativas e endofíticas. In: SERAFINI, L. A.; BARROS, N. M.; AZEVEDO, J. L. (Org.) **Biotecnologia: avanços na agricultura e na agroindústria.** EDUCS, Caxias do Sul, 2002, 433p.

BALDANI, J. I.; AZEVEDO, M. S.; REIS, V. M.; TEIXEIRA, K. R. S.; OLIVARES, F. L.; GOI, S. R.; BALDANI, V. L. D.; DÖBEREINER, J. Fixação biológica de nitrogênio em gramíneas: avanços e aplicações. In: SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S.; LOPES, A. S.; GUILHERME, L. R. G.; FAQUIN, V.; FURTINI NETO, A. E.; CARVALHO, J. G. (Org.). **Inter-relação fertilidade, biologia do solo e nutrição de plantas.** Viçosa, SBCS/UFLA/DCS, 1999. p. 621-666.

BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I.; DOBEREINER, J. Effects of *Azospirillum* inoculation on root infection and nitrogen incorporation in wheat. **Canadian Journal of Microbiology**. Ottawa, v. 29, p. 284-299, 1983.

BALDANI, V. L. D.; DOBEREINER, J. Host-plant especificity in infection of cereal with *Azospirillum* ssp. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford,v. 12, n. 4, p. 433-440, 1980.

BALDANI, V. L. D.; **Efeito da inoculação de *Herbaspirillum* spp. no processo de colonização e infecção de arroz e ocorrência e caracterização parcial de uma nova bactéria diazotrófica.** 1996. 234 f. Tese (Doutorado em Agronomia, área de concentração em Ciência do Solo), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 1996.

BARCELLOS, A. O. Sistemas extensivos e semi-intensivos de produção: pecuária bovina de corte nos cerrados. In: SIMPÓSIO SOBRE O CERRADO, 8. Brasília, DF, 1996. **Anais...** Planaltina: EMBRAPA/ CPAC, pg. 130-136, 1996.

BASHAN, Y.; HOLGUIN, G. *Azospirillum*-plant relationships: enviromental and physiological advances (1990-1996). **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 43, n. 2, p. 103-121, 1997.

BASHAN, Y.; LEVANONY, H. Current status of *Azospirillum* inoculation technology: *Azospirillum* as a challenge for agriculture. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 36, n. 9, p. 591-608, 1990.

BASTOS, C. E. A. **Formas e doses de nitrogênio nos aspectos morfogênico, produtivos e nutricionais do capim-xaraés.** 2012. 95 f. Dissertação (Mestrado em ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2012.

BATISTA, K. MONTEIRO, F. A. Respostas morfológicas e produtivas do capim-marandu adubado com doses combinadas de nitrogênio e enxofre. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n. 4, p. 1281-1288, 2006.

BAUER, M. O.; PACHECO, L. P. A.; CHICHORRO, J. F.; VASCONCELOS, L. V.; PEREIRA, D. F. C. Produção e características estruturais de cinco forrageiras do gênero B*rachiaria* sob intensidades de cortes intermitentes**. Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 12, n. 1, 2011.

BAZZICALUPO, M.; OKON, Y. Associative and endophytic symbiosis. In: PEDROSA, F.; HUNGRIA, M.; YATES, M. G.; NEWTON, W. E., (Org.). **Nitrogen fixation**: from molecules to crop productivity. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2000. p.409-410.

BENETT, C. G. S.; BUZETTI, S; SILVA, K. S.; BERGAMASCHINE, A. F.; FABRICIO, J. A. Produtividade e composição bromatológica do capim-marandú a fontes e doses de nitrogênio. **Ciência e agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 5, p. 1629-1636, 2008.

BHATTACHARJEE, R.B; SINGH, A.; MUKHOPADHYAY, S.N. Use of nitrogen-fixing bacteria as biofertiliser for non-legumes: prospects and challenges. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 80, n. 2, p.199-209, 2008.

BHATTARAI, T.; HESS, D. Growth and yield responses of a Nepalese spring wheat cultivar to the inoculation with Nepalese *Azospirillum* spp at various levels of N fertilization. **Biology and Fertility of Soils**, Mechelen, v.26, p.72-77, 1998.

BODDEY, R. M.; JANTALIA, C. P.; MACEDO, M. O.; OLIVEIRA, O. C.; RESENDE, A. S.; ALVES, B. J. R.; URQUIAGA, S. Potential of carbon Atlantic forest region Brazil. In: LAL, R.; CERRI, C.C.; BERNOUX, M.; ETCHEVERS, J.; CERRI, E. (Org.). **Carbon sequestration in soil of Latin American**. The Haworth Press. Binghamton: New York, 2006, p. 305-347.

BODDEY, R. M.; URQUIAGA, S.; ALVES, B. J. R.; REIS, V. M. Endophytic nitrogen fixation in sugarcane: present knowledge and future applications. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 252, p. 139-149, 2003.

BODDEY, R. M.; RAO, I. M.; THOMAS, R. J. Nutrient cycling and environmental impact of *Brachiaria* pasture. In: MILES, J. W.; MAASS, B. L.; VALLE, C. B. do [Ed.]. ***Brachiaria***: biology, agronomy and improvement. Cali: CIAT; Brasília, DF: EMBRAPA-CNPGC, 1996. p. 72-86.

BODDEY, R. M.; DÖBEREINER, J. Nitrogen fixation associated with grasses and cereals: Recent results and perspectives for future research. **Plant and Soil,** Dordrecht, v.108, n. 1, p.53-65, 1988.

BOGGIANO, P.; ZANONIANI, R. A.; SALDANHA, S. Implantación de *Bromus auleticus* Trin. en cobertura. In: **Resultados da pesquisa em recursos genéticos sobre o gênero *bromus.*** Montevidéu, 2001. p. 63.

BONFIM-SILVA, E. M.; MONTEIRO, F. A. Nitrogênio e enxofre na adubação e em folhas diagnósticas e raízes do capim-braquiária em degradação. **Revista Brasileira de Zootecnia,** Viçosa, v. 39, n. 8, p. 1641-1649, 2010.

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. DA; CABRAL, C. E. A.; KROTH, B. E.; REZENDE, D. Desenvolvimento inicial de gramíneas submetidas ao estresse hídrico. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 24, n.2, p.180-186, 2011.

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**, Viçosa, v. 35, n. 4, p. 1289-1297, 2006.

BRASIL, M. S.; BALDANI, J. I.; BALDANI, V. L. D. Ocorrência e diversidade de bactérias diazotróficas associativas a gramíneas forrageiras do pantanal sul matogrossense. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 29, n. 2, p. 179-190, 2005.

BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Disponível em: < http://www.agricultura.gov.br>. Acesso em: 01 de ago. 2014.

CABRAL, C. E. A.; BONFIM-SILVA, E. M.; BONELLI, E. A.; SILVA, T. J. A.; CABRAL, C. H. A.; SCARAMUZZA, W. L. M. P. Compactação do solo e macronutrientes primários na *Brachiaria brizantha* cv. Piatã e *Panicum maximum* cv. Mombaça. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 16, n. 4, p. 362-367, 2012.

CALDWELL, M.; RICHARD, J. H.; JOHNSON, D. A.; NOWAK, R. S.; DZUREC, R. S. Coping with herbivore: photosynthetic capacity and resource allocation in two semiarid Agrophyron bunchgrasses. ***Oecologia***, Berlim, v. 50, n. 1, p. 14-24, 1991.

CAMPOS, B. H. C de; THEISEN, S.; GNATTA, V. Avaliação do inoculante ¨Graminate¨ na cultura do milho. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n.4, p.713-715, 2000.

CANO, C. C. P.; CANTO, M. W.; SANTOS, G. T.; GALBEIRO, S. MARTINS, E. N.; MIRA, R. T. Valor nutritivo do capim-Tanzânia (*Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia-

1) pastejado em diferentes alturas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.33, n.6, supl.2, p. 1959-1968, 2004.

CANTARUTTI, R. B. Sugestões de adubação para as diferentes culturas em Minas Gerais - Pastagens. In: RIBEIRO, A. C.; GUIMARÃES, P. T. G.; ALVAREZ V. H. (Org.). **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais** (5ª aproximação). Viçosa, 1999, p. 332-341.

CARLOTO, M. C.; EUCLIDES, V. P. B.; MONTAGNER, D. B.L LEMPP, B. DIFANTE, G. S.; DE PAULA, C. C. L. Desempenho animal e características de pasto de capim-xaraés sob diferentes intensidades de pastejo, durante o período das águas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília v. 46, n. 1, p. 97-104, 2011.

CARVALHO, C .A. B. de; SILA, S. C. da; SBRISSIA, A. F.; PINTO, L. F. de M.; CARNEVALLI, R. A.; FAGUNDES, J. L.; PEDREIRA, C. G. S. Demografia do perfilhamento e taxas de acúmulo de matéria seca em capim 'tifton 85' sob pastejo. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 57, n. 4, p. 591-600, 2000.

CARVALHO, F. G. BURITY, H. A.; SILVA, V. N.; SILVA, L. E. S. F.; SILVA, A. J. N. Produção de matéria seca e concentração de macronutrientes em "*Brachiaria decumbens"* sob diferentes sistemas de manejo na zona da mata de Pernambuco. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 36, n. 2, p. 101-106, 2006.

CARVALHO, M. M.; SARAIVA, O. F. Resposta do capim-gordura (*Melinis minutiflora*, Beauv.) a aplicações de nitrogênio, em regime de cortes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 16, n. 5, p. 442-454, 1987.

CECATO, U. CANO, C. C. P.; BORTOLO, M.; HERLING, V. R.; CANTO, M. W.; CASTRO, C. R. C. Teores de carboidratos não-estruturais, nitrogênio total e peso de raízes em Coastacross-1 (Cynodon dactylon L.) Pers) pastejado por ovinos. **RevistaBrasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 30, n. 03, p. 644-650, 2001.

CECATO, U.; GOMAS, L. H.; ASSIS, M. A.; SANTOS, G. T.; BETT, V. Avaliação de cultivares do gênero *Cynodon*. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 3, 1996, Fortaleza. **Anais...**Fortaleza: SBZ, v. 2, p. 114-115, 1996.

CHAPMAN, D. F.; LEMAIRE, G. Morphogenetic and structural determinants of plant regrowth after defoliation. In: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 17, 1993, Austrália. ***Proceedings*...** s. ed., 1993, p.95-104.

CHAVES, J. S.; SOUZA, S. B. Parâmetros morfofisiológicos em *Brachiaria brizantha* cv. Marandu inoculado com *Azospirillum brasilense*. In: II FÓRUM DE INTEGRAÇÃO. **Anais...** Ensino, Pesquisa, Extensão e Inovação Tecnológica do IFRR. Boa Vista, 2013.

COLOZZA, M. T.; KIEHL, J. C.; WERNER, J. C.; SCHAMMASS, E. A. Respostas de *Panicum maximum* cultivar Aruana a doses de nitrogênio. **Boletim de Indústria Animal,** Nova Odessa, v. 57, p. 21-32, 2000.

CORRÊA, L. A.; CANTARELLAI, H.; PRIMAVESI, A. C.; PRIMAVESI, O.; FREITAS, A. R.; SILVAI, A. G.. Efeito de fontes e doses de nitrogênio na produção e qualidade da forragem de capim-coastcross. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 36, n. 4, p. 763-772, 2007.

CORRÊA, L. A.; SANTOS, P. M. **Criação de bovinos de corte na Região Sudeste**. Embrapa Pecuária Sudeste, 2003. (Sistema de Produção 2)

COSTA, K. A. P.; OLIVEIRA, I. P.; FAQUIN, V.; NEVES, B. P.; RODRIGUES, C.; SAMPAIO, F. M. T. Intervalo de corte na produção de massa seca e composição químico-bromatológica da *Brachiaria brizantha* cv. MG-5. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 31, n. 4, p. 1197-1202, 2007.

COSTA, N. de L.; MAGALHÃES, J. A.; TOWNSEND, C. R. Desempenho agronômico de genótipos de *Brachiaria humidicola* em diferentes idades de corte. In: ZOOTEC, 2003, Uberaba. **Anais...** Uberaba: ABZ/FAZU/ABCZ. 2003, p. 324-327.

CRUZ, P.; BOVAL, M. Effect of nitrogen on some morphogenetical traits of temperate and tropical perennial forage grasses. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL GRASSLAND ECOPHYSIOLOGY AND GRAZING ECOLOGY, 1998, Curitiba. **Anais…**Curitiba: IAPAR, 1999. p. 134-150

DE-POLLI, H. **Ocorrência de fixação de $^{15}N_2$ nas gramíneas tropicais *Digitaria decumbens* e *Paspalum notatum*.** 1975. 95f. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, Piracicaba, Brasil, 1975.

DE-POLLI, H., MATSUI, E., DÖBEREINER, J., SALATI, E. Confirmation of nitrogen fixation in two tropical grasses by $^{15}N_2$ incorporation. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 9, n. 2, p. 119-123, 1977.

DIAS, H. L. C. Valor nutritivo das pastagens tropicais. Viçosa. Disponível em:<www.agroquima.com.br/conteúdo/downloads/download.htm>. Acesso em: 08 de abr. 2014.

DIAS-FILHO, M. B. Tolerance to flooding in five *Brachiaria brizantha* accessions. **Pesquisa Agropecuária Brasileira,** Brasília**,** v. 37, n. 4, p. 439-447, 2002.

DIDONET, A. D.; RODRIGUES, O.; KENNER, M. H. Acúmulo de nitrogênio e de massa seca em plantas de trigo inoculadas com *Azospirillum brasilense*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira,** Brasília, v. 31, n. 9, p. 645-651, 1996.

DOBBELAERE, S.; VANDERLEYDEN, J.; OKON, Y. Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Amsterdam, v. 22, n. 2, p. 107 – 149, 2003.

DÖBEREINER, J. Biological nitrogen fixation in the tropics: Social end economic contributions. **Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 29, p. 771-774, 1997.

DÖBEREINER, J. Recent changes in concepts of plant bacteria interactions: Endophytic N_2 fixing bacteria. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 44, n. 5, p. 310-313, 1992.

DÖBEREINER, J. The genera *Azospirillum* and *Herbaspirillum*. In: BALLOWS, A.; TRÜPER, H.G.; DWORKIN, M.; HARDER, W.; SHLEIFER, K., (Org.). **The Prokaryotes**, 2.ed. New York, Springer-Verlag, 1991. p.2236-2253.

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

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. (Org.). **Proceedings of the Istitute International Symposium on Nitrogen Fixation.**Washington: Pulman, Washington State University of Press. p. 518-538, 1976.

DOBEREINER, J.; DUQUE, F. F. Contribuição da pesquisa em FBN para o desenvolvimento do Brasil. **Revista de Economia Rural**, Brasília, v. 18, n. 3, p, 447-460, 1980.

DOBEREINER, J.; PEDROSA, F. O. **Nitrogen-fixing bacteria in nonleguminous crop plants.** Madison: Springer-Verlag, 1987. 155 p.

EIRAS, P. P.; COELHO, F. C. Utilização de leguminosas na adubação verde para a cultura de milho**. InterSciencePlace**, Rio de Janeiro, v.17, n.4, p.96–124, 2011.

ELBELTAGY, A.; NISHIOKA, K.; SATO, T.; SUZUKI, H.; YE, B.; HAMADA, T.; ISAWA, T.; MITSUI, H.; MINAMISAWA, K. Endophytic colonization and in plant nitrogen fixation by a *Herbaspirillum* sp. Isolated from wild rice species. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 67, n. 11, p. 5285 – 5293, 2001.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. **Manual de métodos de análise de solos**. 2.ed. Rio de Janeiro: 1997. 212 p.

ESHEL, A.; WAISEL, Y. Multiform and multifunction of various constituents of one root system. In: WAISEL, Y.; ESHEL, A.; KAFKAFI., U. **Plant roots**: The hidden half. 2. ed. New York, Marcel Dekker,1996. p.175-192.

EUCLIDES, V. P. B. Novidades em Forrageiras para a Pecuária em Regiões Tropicais. In: SEMINÁRIO DE PASTURAS Y SUPLEMENTACIÓN, ESTRATEGICA EM GANADO BOVINO, 4., 2002, Asunción. **Anais...** Asunción, IICA – Universidad Nacional de Asunción – Facultad de Ciencias Veterinarias, 2002, p. 1-12.

EUCLIDES, V. P. B.; MACEDO, M. C. M.; OLIVEIRA, M. P. Avaliação de diferentes métodos de amostragem para estimar o valor nutritivo de forragens sob pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia,** Viçosa, v.21, n. 4, p. 691-702, 1992.

EUCLIDES, V. P. B.; MACEDO, M. C. M.; VALLE, C. B. do; FLORES, R.; OLIVEIRA, M. P. Animal performance and productivity of new ecotypes of *Brachiaria brizantha* in Brazil. In: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 20., 2005, Dublin. **Proceedings...** Dublin: Wageningen Academic Publishers, 2005, p. 106.

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. Avaliações das características estruturais do capim-braquiária em pastagens adubadas com nitrogênio nas quatro estações do ano. **Revista Brasileira de Zootecnia,** Viçosa, v. 35, p. 30-37, 2006.

FALEIRO, A. C. **Análise da interação de Azospirillum brasilense FP2 com raízes de milho (Zea mays) por qPCR, microscopia eletrônica e proteômica**. 2014, 107 p. Tese (Doutorado em Recursos Genéticos Vegetais) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.

FERREIRA, D. F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium**. Lavras, v. 6, n. 6, p. 36-41, 2008.

FERREIRA, J. S.; BALDANI, J. I.; BALDANI, V. L. D. Seleção de inoculantes à base de turfa contendo bactérias diazotróficas em duas variedades de arroz. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 32, n. 1, p. 179-185, 2010.

FIGUEIREDO, M. V. B.; BURITY, H. A.; STAMFORD, N. P.; SANTOS, C. E. R. S. Microrganismos e Agrobiodiversidade: o novo desafio para a agricultura In: SANTOS, C. E. R. S. FREITAS, A. D. S.; VIEIRA, I. M. M. B.; COLAÇO, W..**Fixação simbiótica do N_2 em leguminosas tropicais.** Guaíba: Agrolivros, 2008, 560 p.

FISCHER, A.; da SILVA, S. C. O ecossistema de pastagens e a produção animal. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38. Piracicaba, **Anais...**Piracicaba:ESALQ. 2001. p.733-754.

FRANÇA, A. F. S.; BORJAS, A. L. R.; OLIVEIRA, E. R.; SOARES, T. V.; MIYAGI, E. S.; SOUSA, V. R. Parâmetros nutricionais do capim-tanzânia sob doses crescentes de nitrogênio em diferentes idades de corte. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 8, n. 4, p. 695- 703, 2007.

GARGEZ NETO, A. F.; NASCIMENTO JUNIOR, D. REGAZZI, A. J.; FONSECA, D. M.; MOSQUIM, P. R.; GOBBIVI, K. F. Morphogenetic and structural responses of *Panicum maximum* cv. Mombaça on different levels of nitrogen fertilization and cutting regimes. **Revista Brasileira de Zootecnia,** Viçosa, v. 31, n. 5, p. 1890-1900, 2002.

GOI, S. R.; SILVA, R. A. da; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I. Influência da inoculação de bactérias diazotróficas endofíticas na formação de pelos radiculares em cana- de-açúcar. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 23. REUNIÃO SOBRE MICORRIZAS, 7., SIMPOSIO BRASILEIRO DE

MICROBIOLOGIA DO SOLO, 5., REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO, 2., 1988, Caxambu. **Anais...** Lavras: UFLA/sbcs/SBM, 1998. p.432.

GOMIDE, C. A. M.; GOMIDE, J. A. Morfogênese de cultivares de *Panicum maximum* Jacq. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.29, n.2, p.341-348, 2000.

GOMIDE, C. A. M.; PACIULLO, D. S. C.; GRASSELLI, L. C. P.; GOMIDE, J. A. Efeito da adubação sobre a morfogênese de gramíneas tropicais. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE XOOTECNIA, 1998, Botucatu. **Anais...** Botucatu: SBZ, 1998. p. 486-488.

GOMIDE, J. A. Aspectos biológicos e econômicos da adubação de pastagens. In: SIMPÓSIO SOBRE ECOSSISTEMAS DE PASTAGENS, 1989, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: Fundação Universidade Estadual Paulista, 1989. p.237-270.

GUILHERME, L. R. G.; VALE, F. R.; GUEDES, G. A. A. **Fertilidade do solo: dinâmica e disponibilidade de nutrientes**. Lavras: Escola Superior de Agricultura de Lavras, 1995. 171p.

GUIMARÃES, S. L. et al. Viabilidade do inoculante turfoso produzido com bactérias associativas e molibdênio. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 44, n. 1, p. 10-15, 2013.

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**, Goiânia, v.7, n. 13, pp.286-296, 2011b.

GUIMARÃES, S. L.; BONFIM-SILVA, E. M.; POLIZEL, A. C.; CAMPOS, D. T. da S. Produção de Capim-Marandu inoculado com *Azospirillum* spp. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 7, n. 13, pp.816-826, 2011a.

GUIMARÃES, S.L., CAMPOS, D.T.S., BALDANI, V.L.D., JACOB-NETO, J. Bactérias diazotróficas e adubação nitrogenada em cultivares de arroz. **Revista Caatinga,** Mossoró, v.23, n.4, p.32-39, 2010.

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.

HEFFER, D. M.; PRUD'HOMME, M. **Fertilizer Outlook 2011 – 2015**. In: 79th IFA ANNUAL CONFERENCE, Montreal, 2011.

HILLESHEIN, A., CORSI, M. Capim-elefante sob pastejo: fatores que afetam as perdas e utilização da matéria seca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 9, p. 1233-1246, 1990.

HODGSON, J. Grazing management: Science into practice. Longman Scientific and Technical. **Longman Group**, London, UK, 1990.

HOLL, F. B. Plant Genetics: Manipulation of the host. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 39, p. 945-953, 1983.

HUREK, T.; REINHOLD-HUREK, B.; VAN MONTAGUN, M.; KELLENBERGER, E. Root colonization and systematic spreading of *Azoarcus* sp. strai BH72 in grasses. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 176, p. 1913-1923, 1994.

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: 04 ago. 2014.

JACQUES, A. V. A. Caracteres morfológicos e suas implicações no manejo. In: CARVALHO, M. M.; ALVIM, M. J.; XAVIER, D. F. (Org.). **Capim-elefante**: produção e utilização. 2.ed. Brasília: EMBRAPA, 1997. p.31-48.

JAMES, E. K.; OLIVARES, F. L. Infection and colonization of sugar cane and other graminaceous plants by endophytic diazotrophs. **Critical Reviewin Plant Science**, Bosa Raton, v. 17, n. 1, p. 77-119, 1998.

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

KHAMMAS, K. M.; AGERON, E.; GRIMONT, P. A. D.; KAISER, P. *Azospirillum-irakense* sp-nov - A nitrogen-fixing bacterium associated with rice roots and rhizosphere soil. **Research in Microbiology**, Paris, v. 140, n. 9, p. 679-693, 1989.

KIRCHHOF, G.; REIS, V. M.; BALDANI, J. I.; ECKERT, B.; DÖBEREINER, J.; HARTMANN, A. Occurrence, physiological and molecular analysis of endophytic diazotrophic bacteria in gramineous energy plants. **Plant and Soil**, Dordrecht, n. 194, n. 1, p. 45 – 55, 1997.

KORNDÖRFER, G. H.; VALLE, M. R.; MARTINS, M.; TRIVELIN, P. C. O. Aproveitamento do nitrogênio da uréia pela cana-planta. **RevistaBrasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.21, n.1, p. .23-26, 1997.

KUSS, A. V. **Fixação de nitrogênio por bactérias diazostróficas em cultivares de arroz irrigado.** 2006. 109f. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2006.

LAVRES JUNIOR, J.; MONTEIRO, F. A. Diagnose nutricional de nitrogênio no capim-aruana em condições controladas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 30, n. 5 p. 829-837, 2006.

LAVRES JUNIOR, J.; MONTEIRO, F. A. Perfilhamento, área foliar e sistema radicular do capim-mombaça submetido a combinações de doses de nitrogênio e potássio. **Revista Brasiliera de Zootecnia,** Viçosa, v. 32, n. 5, p. 1068-1075, 2003.

LAVRES JUNIOR., J.; FERRAGINE, M. D. C.; GERDES, L. RAPOSO, R. W. C.; COSTA, M. N. X.; MONTEIRO, F. A. Yield and morphogenesis of Aruana grass as related to nitrogen supply. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 61, n. 6, p. 632-639, 2004.

LAZZARINI NETO, S. **Manejo das pastagens**. 2 ed. Viçosa: Aprenda Fácil, 2000, 124 p.

LEITE, R. M. B.; QUEIROZ FILHO, J. L. de; SILVA, D. S. da. Produção e valor nutritivo do capim-elefante cultivar Cameroon em diferentes idades. **Agropecuária Técnica**, Areia, v. 21, n. 1-2, p. 30-39, 2000.

LYNCH, J. P. Roots of the Green revolition. **Australian Journal of Botany**, Melbourne, v. 55, n. 5, p. 493-512, 2007.

MACEDO, M. C. M.; MACHADO, J. L.; VALLE, C. B. do. Resposta de cultivares e acessos promissores de *Brachiaria brizantha* ao fósforo em dois níveis de saturação por bases. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41., 2004, Campo Grande. **Anais...** A produção animal e a segurança alimentar. Campo Grande: SBZ: Embrapa Gado de Corte, 2004. 1 CD-ROM.

MAGALHÃES, F. M. M, SOUTO, S. M., KUYKENDALL J. R., DÖBEREINER, J. A new acid-tolerant *Azospirillum* species. **Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, 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**, São Paulo, v. 15, n. 4, p. 246-252, 1984.

MALAVOLTA, E. **Nutrição e adubação**. SIMPÓSIO BRASILEIRO DE FEIJÃO, 1, Campinas, 1972. p.211-42.

MALAVOLTA, E. **Os elementos minerais**. In: ELEMENTOS DE NUTRIÇÃO MINERAL DE PLANTAS. Ed.: Agronômica Ceres. São Paulo, 1980.

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.

MANARIN, C. A.; MONTEIRO, F. A. Nitrogênio na produção e diagnose foliar do capim-mombaça. **Boletim de Indústria Animal**, Nova Odesa, v. 59, n. 2, p. 115-123, 2002.

MARASCHIN, G. E. Produção de carne a pasto. In: PEIXOTO, A. M.; MOURA, J. C.; FARIA, V. P. (Org.). **Produção de bovinos a pasto**. Piracicaba, SP:FEALQ, 1999, p.

243-274.

MARENCO, R. A.; LOPES, N. F. **Fisiologia vegetal: fotossíntese, respiração, relações hídricas e nutrição mineral**. 3. ed. Viçosa: UFV, 2009.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants.** 2 ed. London: Academic Press, 1995.

MARTINEZ, J. C.; CARARETO, R.; ROMERO, J. V. Respostas dos capins Xaraés (*Brachiaria brizantha* (Hochst ex A. RICH.) STAPF.) e Marandu (*Brachiaria brizantha)* submetidos ao alagamento temporário. In. REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 44., 2007, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: SBZ, 2007. 1 CD-ROM.

MARTINS G. C. F.; TEIXEIRA, F. A.; BONOMO, P.; SOUZA, S. O.; HORA, D. S.; SANTOS, T. C. Densidade populacional de perfilhos de pastagem de *Brachiaria decumbens* diferida e adubada com nitrogênio. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 47., 2010, Salvador. **Anais...**Salvador: SBZ, 2010. 1 CD-ROM.

MARTINS, L. M. V.; XAVIER, G. R.; RANGEL, F. W.; RIBEIRO, J. R. A.; NEVES, M. C. P.; MORGADO, L. B.; RUMJANEK, N. G. Contribution of biological nitrogen fixation to cowpea: a strategy for improving grain yield in the semi-arid region of Brazil. **Biology and Fertility of Soils**, New York, v. 38, n. 6, p. 333-339, 2003.

MARTINS, R. C. R.; BORTOLUCI, J. P.; FLOH, E. I. S.; BARBOSA, H. R. Associações in vitro entre bactérias endofíticas diazotróficas e calos de cana-de-açúcar. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE ECOFISIOLOGIA, MATURAÇÃO E MATURADORES EM CANA-DE-AÇÚCAR, 1., 2008, Botucatu. **Anais...** Botucatu: UNESP, 2008.

MARTUSCELLO, J. A.; FONSECA, D. M.; NASCIMENTO JÚNIOR, D.; SANTOS, P. M.; RIBEIRO JUNIOR, J. I.; CUNHA, D. N. F. V.; MOREIRA, L. M. Características morfogênicas e estruturais de capim-xaraés submetido à adubação nitrogenada e desfolhação. **Revista Brasileira de Zootecnia,** Viçosa, v. 34, n. 5, p. 1475 - 1482, 2005.

MARTUSCELLO, J. A.; FARIA, D. J. G.; CUNHA, D. N. F. V.; FONSECA, D. M. Adubação nitrogenada e participação de massa em plantas de *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés e *Panicum maximim* x *Panicum infestum* cv. Massai. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 3, p. 663-667, 2009.

MATTOS, W. T.; MONTEIRO, F. A. Produção e nutrição de capim braquiária em função de doses de nitrogênio e enxofre. **Boletim de Indústria Animal**, Nova Odessa, v. 60, n. 1, p. 1-10, 2003.

MEIRELLES, N. M. F. Degradação de pastagens - Critérios de avaliação. In: ENCONTRO SOBRE RECUPERAÇÃO DE PASTAGENS, 1993, Nova Odessa. **Anais...** Nova Odessa: Instituto de Zootecnia, p.1-27. 1993.

MELLO, A. C. L. de; PEDREIRA, C. G. S. Respostas morfológicas do capim-Tanzânia (*Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia-1) irrigado à intensidade de desfolha sob lotação rotacionada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 33, n. 2, p. 282-289. 2004.

MELLONI, R.; NÓBREGA, R. S. A.I; MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. Densidade e diversidade fenotípica de bactérias diazotróficas endofíticas em solos de mineração de bauxita, em reabilitação. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 28, n. 1, p. 85-93, 2004.

MENGEL, K.; KIRKBY, E. A. **Principles of plant nutrition.** Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2001.

MILLS, H.A., JONES JR., J.B. Nutrient deficiencies andtoxities in plants: nitrogen. **Journal of Plant Nutrition**, Philadelphia, v. 1, n. 2, p. 101-122, 1979.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. **Recuperação de áreas degradadas.** Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/desenvolvimento-sustentavel/recuperacao-areas-degradadas>. Acesso em: 24 jul. 2014.

MINSON, D. J.**Forage in ruminant nutrition**. San Diego: Academic Press, 1990.

MIRANDA, C. H. B.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R. M. Selection of ecotypes of *Panicum maximum* for associated biological nitrogen fixation using the super (15)N isotope dilution technique. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford v.22, p 657-663, 1990.

MONTEIRO, F. A. Nutrição mineral e adubação. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 12, 1995, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Fundação Estudos Agrários Luiz de Queiroz, 1995. p.219-244.

MONTEIRO, F. A.; RAMOS, A. K. B.; CARVALHO, D. D.; ABREU, J. B. R.; DAIUB, J. A. S.; SILVA, J. E. P.; NATALE, W. Cultivo de *Brachiaria brizabtha* Stapf. cv. Marandu em solução nutritiva com omissões de macronutrientes. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 52, n. 1, p. 135-141, 1995.

MOREIRA, F. M. de S.; SILVA, K. da; NÓBREGA, R. S. A.; CARVALHO, F. de. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata Scientiae**, Bom Jesus, v. 1, n. 2, p. 74-79, 2010.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo.** 2. ed. Lavras: Editora UFLA, 2006.

MUIA, J. M. K.; TAMMINGA, S.; MBUGUA, P. N.; KARIUKI, J. N. Optimal stage of maturity for feeding napier grass (Pennisetum purpureum) to dairy cows in Kenya. **Tropical Grasslands**, Australia, v.33, p.182-190, 1999.

MUTHUKUMARASAMY, R., REVATHI, G., SESHADRI, S., LAKSHMINARASIMHAN, C. Gluconacetobacter diazotrophicus (syn. Acetobacter diazotrophicus), a promising diazotrophic endophyte in tropics. **Current Science**, Bangalore, v. 83, n. 2, p. 137 – 145, 2002.

NABINGER, C. Eficiência de uso de pastagens: disponibilidade e perdas de forragem. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 14., 1997, Piracicaba. **Anais…** Piracicaba: Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 1997. p.231-251.

NABINGER, C.; MEDEIROS, R. B. Produção de sementes em *Panicum maximum* Jacq. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 12., 1995, Piracicaba, **Anais...** Piracicaba: ESALQ, 1995, p. 59-121

NASCIMENTO, L. R. S. **Diversidade de isolados bacterianos e sua influência na FBN em diferentes coberturas vegetais.** 2013. 109 f. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Agronomia, Recife, 2013.

NEHL, D. B.; ALLEN, S. J.; BROWN, J. F. Deleterious rhizosphere bacteria: an integrating perspective. **Applied Soil Ecology**, Amsterdan, v. 5, n. 1, p. 1-20, 1996.

NGUYEN, H.T.; DEAKER, R.; KENNEDY, I.R.; ROUGHLEY, R.J. The positive yield response of field-grown rice to inoculation with a multi-strain biofertiliser in the Hanoi Area, Vietnam. **Symbiosis**, Philadelphia, v. 35, p. 231-245, 2003.

NICÁCIO, D. R. de O. **Avaliação nutricional de amostras obtidas por pastejo simulado em capim-xaraés adubado com nitrogênio.** 2012. 70 f. Dissertação (Mestrado em Produção Animal Sustentável) - Instituto de Zootecnia. Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Secretaria de Agricultura e Abastecimento. Nova Odessa, 2012.

NIKLAS, K.J. **Plant allometry: the scaling process**. University of Chicago Press. Chicago. Illinois. USA. 1994.

OKON, Y. *Azospirillum* as a potencial inoculant for agriculture. **Trends Biotechnology**, Oxford, v. 3, n. 9, p. 223-228, 1985.

OKON, Y.; ITZIGSOHN, R. Poly-b-hydroxybutyrate metabolism in *Azospirillum brasilense* and the ecological role of PHB in the rhizosphere. **FEMS Microbiology Letters**, Semimonthly, v. 103, p. 131-139, 1992.

OKON, Y.; LABANDERA-GONZALES, C. A. Agronomic applications of *Azospirillum*: an evaluation of 20 years worldwide field inoculation. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 26, n. 12, p. 1591-1601, 1994.

OKON, Y.; VANDERLEYDEN, J. Root-associated Azospirillum species can stimulate plants. **Applied and Environmental Microbiology**, New York, v. 63, n. 7, p. 366-370, 1997.

OLIVARES, F. L.; BALDANI, V. L. D.; REIS, V. M.; BALDANI, J. I.; DOBEREINER, J. Occurrence oh te endophytic diazotrophs *Herbaspirillum* ssp. In roots, stems and leaves predominanthy of Gramineae. **Biology and Fertility of Soils,** Berlim, v. 21, p. 197-200, 1996.

OLIVARES, F. L.; JAMES, E. K.; BALDANI, J. I.; DOBEREINER, J. Infection of mottled strip disease-susceptible and resistant sugar cane varieties by the endophytic diazotroph *Herbaspirillum.* **New Phytologist**, Cambridge, v. 145, p. 575-597, 1997.

OLIVEIRA, A. L. M.; URQUIAGA, S.; BALDANI, J. I. **Processos e mecanismos envolvidos na influência de microorganismos sobre o crescimento vegetal.** Seropédia: Embrapa Agrobiologia, 2003.

OLIVEIRA, P. P. A.; OLIVEIRA, W. S.; BARIONI, W. J.; **Produção de forragem e qualidade de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu com *Azospirillum brasilense* e fertilizada com nitrogênio.** São Carlos: Embrapa pecuária sudeste, 2007, 4p. (Circular Técnico, 54).

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**, New York, v.34, p.1539-1548, 2003.

PACIULLO, D. S. C.; FERNANDES, P. B.; GOMIDE, C. A. M.; CASTRO, C. R. T.; SOUZA SOBRINHO, F.; CARVALHO, C. A. B. The growth dynamics in *Brachiaria* species according to nitrogen doses and share. **Revista Brasileira de Zootecnia,** Viçosa, v. 40, n. 2, p. 270-276, 2011.

PASSOS, L. P. Estado do conhecimento sobre a fisiologia do capim-elefante. In: SIMPÓSIO SOBRE CAPIM ELEFANTE, 2, 1994. Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora: EMBRAPA/CNPGL, 1994. p. 12-56.

PATERSON, J. A.; BELYEA , R. L.; BOWMAN J. P..The impact of forage quality and supplementation regimen on ruminant intake and performance. In: FAHEY, G.C.J. (Org..). **Forage quality, evaluation, and utilization.** Lincoln, Madison: American Society of Agronomy, 1994. p.59-114.

PEDREIRA, B. C.; PEDREIRA, C. G. S.; SILVA, S. C. Estrutura do dossel e acúmulo de forragem de *Brachiaria brizantha* cultivar Xaraés em resposta a estratégias de pastejo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 2, p. 281-287, 2007.

PEDREIRA, C. G. S.; MELLO, A. C. L.; OTANI, L. O processo de produção de forragem em pastagens. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., 2001, Piracicaba. **Anais...**Piracicaba: SBZ, 2001. p. 772-807.

PEDREIRA, C. G. S.; MOURA, J. C.; FARIA, V. P. Fertilidade do solo para pastagens produtivas. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, **Anais...**, Piracicaba:FEALQ, 2004.

PENG, S.; BISWAS, J. C.; LADHA, J. K. Influence of rhizobial inoculation on photosynthesis and grain yield of rice. **Agronomy Journal,** Madison, v. 94, n. 4, p. 925 – 929, 2002.

PEOPLES, M. B.; CRASWELL, E. T. Biological nitrogen fixation: investments, expectations and actual contributions to agriculture. **Plant and Soil**, Netherlands, v. 141, n. 1-2, p. 13-40, 1992.

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 Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 23, n. 3, p.313-326, 1994.

PIT, L. L.; SILVA, L. S.; POCOJESKI, E.; GRAUPE, F. A.; ROSSI, J. B. Adubação nitrogenada na cultura do arroz irrigado por alagamento monitorada pelo clorofilômetro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 31. **Anais...** Gramado-RS: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007.

POCOJESKI, E. **Estimativa do estado nutricional de arroz irrigado por alagamento.** 2007. 97f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.

POCOJESKI, E. et al. Uso do clorofilômetro para o ajuste da adubação nitrogenada na cultura do arroz irrigado. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 28, REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 12, SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 10, REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO, 7. **Anais...** Londrina, PR: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2008.

PRADO, R. M. **Manual de Nutrição de Plantas Forrageiras**. Ed. FUNEP. Jaboticabal. 2008.

PRIMAVESI, A. C.; PRIMAVESI, O.; CORRÊA, L. A.; SILVA, A. G.; CANTARELLA, H. Nutrientes na fitomassa de capim marandu em função de fontes e doses de nitrogênio. **Revista Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.30, n.3, p.562-568, 2006.

PRIMAVESI, A. C.; PRIMAVESI, O.; CORRÊA, L. de A.; CANTARELLA, H.; ILVA, 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, v. 33, n. 1, p. 68-78, 2004.

REINHOLD, B.; HUREK, T.; FENDRIK, I.; POT, B.; GILLIS, M.; KERSTERS, K.; THIELEMANS, S.; DE LEY, J. *Azospirillum halopraeferens* sp. nov., a nitrogen-fixing organism associated with roots of kallar grass (Leptochloa fusca (L.) Kunth.). **International Journal of Systematic Bacteriology**, Washington, v.37, p.43-51, 1987.

REINHOLD-HUREK, B; HUREK, T. Living inside plants: bacterial endophytes. **Current Opinion in Plant Biology**. Elsevier, v. 4, p. 35-43, 2011.

REIS J. F. B., REIS, V. M. Inoculante em cana é novidade. **Campo & Negócios**, Uberlândia, v. 76, p. 31-32, 2009.

REIS JUNIOR, F. B.; MACHADO, C. T. T.; MACHADO, A. T.; SODEK, L. Inoculação de *Azospirillum amazonense* em dois genótipos de milho sob diferentes regimes de nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciência do solo**, Brasília, v. 32, n. 3, p. 1139-1146, 2008.

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**, Brasília, v.41, p. 431-438, 2006.

REIS JUNIOR, F. B.; SILVA, L. G.; REIS, V. M.; DÖBEREINER, J. Ocorrencia de bactérias diazotróficas em diferentes genótipos de cana-de-açucar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira,** Brasília, v.35, n.5, p.985-994, 2000

REIS, V. M. **Uso de bactérias fixadoras de nitrogênio como inoculante para aplicação em gramíneas.** Seropédica, RJ:Embrapa Agrobiologia, 2007. 22p. (Documentos, 232).

REIS, V. M.; REIS F. B. dos; QUESADA, D. M.; OLIVEIRA, O. C. A.; ALVES, B. J. R.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R. M. Biological nitrogen fixation associated with pasture grasses. **Autralian Journal of Plant Physiology**, Victoria, v. 28, n. 9, p. 837-844, 2001.

RELARE: Reuniao da rede de laboratorios para recomendacao, padronizacao e difusao de tecnologias de inoculantes microbiologicos de interesse agricola, 2010. Bonito. **Anais...** Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, p.65-71, 2010.

RODRIGUES, E. P. **Caracterização fisiológica de estirpes de *Azospirillum amazonense* e avaliação dos efeitos da inoculação em plantas de arroz inundado (Oriza sativa L.).** 2004. 66f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2004.

RODRIGUES, R. C.; ALVES, A. C.; BRENNECKE, K.; PLESE, L. P. de M.; LUZ, P. H. de. C. Densidade populacional de perfilhos, produção de massa seca e área foliar do cpim xaraés cultivado sob doses de nitrogênio e potássio. **Boletim de Indústria Animal**, Nova Odessa, v. 63, n. 1, p. 27-33, 2006.

RODRIGUES, R. C.; ALVES, A. C.; BRENNECKE, K.; PLESE, L. P. de M.; LUZ, P. H. de. C. Produção de massa seca, relação folha/colmo e alguns índices de crescimento do *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés cultivado com a combinação de doses de nitrogênio e potássio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 37, n. 3, p. 394-400, 2008.

RODRIGUES, R. C.; MOURÃO, G. B.; BRENNECKE, K.; LUZ, P. H. C; HERLING, V. R. Produção de massa seca, relação folha/colmo e alguns índices de crescimento do *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés cultivado com a combinação de doses de nitrogênio e potássio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 37, n. 3, p. 394-400, 2008.

ROESCH, L. F.; PASSAGLIA, L. M. P.; BENTO, F. M.; TRIPLETT, E. W.; CAMARGO, F. A. O. Diversidade de bactérias diazotróficas endofíticas associadas a plantas de milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 3,1 n. 6, 2007.

RONCATO-MACCARI, L. D. B.; RAMOS, H. J. O.; PEDROSA, F. O.;ALQUINI, Y.; CHUBATSU, L. S.; YATES, M. G.; RIGO, L. U.; STEFFNS, M. B. R.; SOUZA, E. M. Endophytic *Herbaspirillum seropedicae* expresses *nif* genes in gramineous plants. **FEMS Microbiology Ecology**, Semimonthly, v. 45, p. 39-47, 2003.

RUESS, R. W.; MCNAUGHTON. S. J. Grazing and the dynamics of nutrient and energy regulated microbial process in the Serengeti. **Okios**, Lund, v. 49, p. 101-110, 1987.
RUSCHEL, A. P. **Fixação biológica de nitrogênio.** 1975. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1975.

SÁ, J. C. M. Manejo da fertilidade do solo no sistema plantio direto. In: INTERRELAÇÃO FERTILIDADE, BIOLOGIA DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 8. **Anais...** Soil fertility, soil biology, and plant nutrition interrelationships. Viçosa: SBCS, 1999. p. 267-320.

SALA, V. M. R. Ocorrência e efeito de bactérias diazotróficas em genótipos de trigo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo,** Viçosa, v. 29, n. 4, p. 345-352, 2005.

SANTOS, C. S. A. dos. **Capim Marandu submetido à inoculação com bactérias diazotróficas associativas em Latossolo vermelho de Cerrado.** 2013. 69. f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Universidade Federal de Mato Grosso, Instituto de Ciências Agrárias e Tecnológicas, Rondonópolis, 2013.

SANTOS, M. C. M. dos. **Ocorrência de bactérias diazotróficas em gramíneas forrageiras na microrregião de Patos – PB**, 2009. 53 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia – Sistemas Agrassilvopastoris no Semi - Árido) - Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2009.

SANTOS, P. M.; THORNTON, B.; CORSI, M. Nitrogen dynamics in the intact grasses *Poa trivialis* and *Panicum maximum* receiving contrasting supplies of nitrogen. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 53, n. 378, p. 2167-2176, 2002.

SANTOS, R. V.; EVANGELISTA, A. R.; PINTO, J. C.; COUTO FILHO, C. C. C.; SOUZA, R. M. Composição química da cana-de-açucar (*Saccharum* spp.) e das silagens com diferentes aditivos em duas idades de corte. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.30, n.6, p.1184-1189, 2006a.

SANTOS, P. M.; CORSI, M.; PEDREIRA, C. G. S.; LIMA, C. G. Tiller cohort development and digestibility in Tanzania guinea grass (Panicum maximum cv. Tanzania) under three levels of grazing intensity. **Tropical Grasslands**, Austrália, v. 40, n. 2, p. 84-93, 2006b.

SARMENTO, P.; RODRIGUES, L. R. A.; LUGÃO, S. M. B.; CRUZ, M. C. P.; CAMPOS, F. P.; FERREIRA, M. E. Respostas agronômicas e morfológicas de *Panicum maximum* Jacq. cv. IPR-86 Milênio, sob pastejo, à adubação nitrogenada. **Boletim de Indústria Animal**, Nova Odessa, v. 62, n. 4, p. 333-346, 2005.

SARMENTO, P.; RODRIGUES, L. R. A.; LUGÃO, S. M. B.; CRUZ, M. C. P.; CAMPOS, F. P.; FERREIRA, M. E.; OLIVEIRA, R. F. Sistema radicular do *Panicum maximum* Jacq. cv. IPR-86 Milênio adubado com nitrogênio e submetido à lotação rotacionada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 37, n. 01, p. 27-34, 2008.

SBRISSIA, A. F.; da SILVA, S. C. Compensação tamanho/densidade populacional de perfilhos em pastos de capim-marandu. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.37, n.1, p.35-47, 2008.

SILVA, A. A.; DELATORRE, C. A. Alterações na arquitetura de raiz em resposta à disponibilidade de fósforo e nitrogênio. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v. 8, n. 2, p. 152-163, 2009.

SILVA, C. C. F.; BONOMO, P.; PIRES, A. J. V.; MARANHÃO, C. M. A.; PATÊS, N. M. S.; SANTOS, L. C.. Características morfogênicas e estruturais de duas espécies de braquiária adubadas com diferentes doses de nitrogênio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 38, n. 4, p. 657-661, 2009.

SILVA, D. G. R. G. **Características estruturais e eficiência da adubação nitrogenada do capim-marandu de pastagem em estágio moderado de degradação sob doses e fontes de nitrogênio.** 2007. 58 f. Dissertação (Mestrado – Ciência do Solo) – Universidade Federal de Lavras, 2007. Lavras: UFLA, 2007.

SILVA, L. R. **Produção experimental de inoculantes agrícolas á base de Azospirillum spp. para Fixação Biológicade Nitrogênio em gramíneas e Forrageiras.** 2006. 137 f.Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Pós-Graduação Interunidades em BiotecnologiaUSP/IPT/I.BUTANTAN, 2006.

SILVA, R. V. M. M.; ROSSIELLO, R. O. P.; BARBIERI JUNIOR, E.; MORENZ, M. J. F. Relação entre o acúmulo foliar de nitrogênio e leituras de um clorofilômetro, no capim tifton 85. In: ENCONTRO LATINO AMERICANO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 13.

ENCONTRO LATINO AMERICANO DE PÓS-GRADUAÇÃO, 9. **Anais... –** Universidade do Vale do Paraíba, 2009.

SILVA, V. N.; SILVA, L. E. S. F.; FIGUEIREDO, M. V. B.; CARVALHO, F. G.; SILVA, M. L. R. B.; SILVA, A. J. N. Caracterização e seleção de populações nativas de rizóbios de solo da região semi-árida de Pernambuco. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 37, p. 16-21, 2007.

SILVEIRA, A. P. D.; FREITAS, S. S. Microbiota do solo e qualidade ambiental.In: SALA, V. M. R.; SILVEIRA, A. P .D.; CARDOSO, E. J. B. N. **Bactérias Diazotróficas Associadas a Plantas Não-Leguminosas.** Campinas: Instituto Agronômico, 2007. p. 97-115.

SILVEIRA, C. P; MONTEIRO, F. A. Morfogênese e produção de biomassa do capim-tanzânia adubado com nitrogênio e cálcio. **Revista Brasileira de Zootecnia,** Viçosa, v. 36, n. 2, p. 335-342, 2007.

SOARES FILHO, C. V.; MONTEIRO, F. A.; CORSI, M. Recuperação de pastagem degradada de *Brachiaria decumbens*. 1. Efeito de diferentes tratamentos de fertilização e manejo. **Pasturas Tropicales**, Cali, v. 14, n. 2, p. 1-6, 1992.

SOARES FILHO, C. V.; RODRIGUES, L. R. A.; PERRI, S. H. V. Produção e valor nutritivo de dez gramíneas forrageiras na região noroeste do estado de São Paulo. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 24, n. 5, p. 1377-1384, 2002.

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; BOTREL, M. A. Produtividade e qualidade da forragem de *Brachiaria* na região norte fluminense. **In:** REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 42, Goiânia. **Anais...** SBZ.Goiânia, 2005.

SOUSA, D. M. G. de; LOBATO, E. (Ed.). **Cerrado: correção do solo e adubação.** Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2002, 416 p.

SOUTO, S. M. 1982. **Variação estacional da fixação de N_2 e denitrificação em gramíneas forrageiras tropicais.** 1982. 268 f. Tese (Doutorado). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica, 1982.

STACEY, G.; BURRIS, R. H.; EVANS, H. J. Biological Nitrogen Fixation. New York. In: STEIBORN, J., ROUGHLEY, R.J. Toxicity of sodium and chloride ions to Rhizobium spp. in broth and peat culture: **The journal of applied bacteriology**, Oxford, v.39, n. 2, p.133-138, 1992.

STEENHOUDT, O.; VANDERLEYDEN, J. *Azospirillum*, a free-living nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses: genetic, biochemical and ecological aspects. **FEMS Microbiology reviews**, Semimonthly, v. 24, n. 4, p. 487-506, 2000.

SUNSARAM, S.; KLUCAS, R. V. Characterization of *Aospirilla* isolated from seeds and roots of turf grass. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 34, p. 1238-1241, 1998.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal.** 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 819p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal.** Tradução de E.R. Santarém et al. 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

UCHÔAS, E. S.; FARIA, S. M. **Seleção de estirpes de rizóbio para sansão preto (*Mimosa* sp), dormideira comprida (*Mimosa quadrivalis*) e dormideira gigante (*Mimosa* sp). leguminosas florestais com potencial uso na recuperação de áreas degradadas.** Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2006. p. 6. (Embrapa Agrobiologia. Comunicado Técnico 89).

URQUIAGA, S., CRUZ, K.H.S., BODDEY, R. M. Contribution of nitrogen fixation to sugarcane: nitrogen-15 and nitrogen balance estimates. **Soil Science Society of American Journal**, Madison, v. 56, n. 1, p. 105-114, 1992.

URQUIAGA, S.; ZAPATA, F. **Manejo eficiente de la fertilización nitrogenada de cultivos anuales em América Latina y el Caribe.** Porto Alegre: Gênese, 2000. p.25-29.

VALLE, C. B.; EUCLIDES, V. P. B.; PEREORA, J. M.; VALÉRIO, J. R.; PAGLIARINI, M. S.; MACEDO, M. C. M.; LEITE, G. G.; LOURENÇO, A. J.; FERNANDES, C. D.; DIAS FILHO, M .B.; LEMPP, B. SOUZA, M. A. **O capim-xaraés (*Brachiaria brizantha* cv. Xaraés) na diversificação das pastagens de braquiária.** Campo Grande : Embrapa Gado de Corte, 2004. 36 p. (Embrapa Gado de Corte. Documentos, 149).

VALLE, C. B.; JANK, L.; RESENDE, R. M. S.; BONATO, A. N. V. Lançamentos de cultivares forrageiras: o processo e seus resultados – cvs. Massai, Pojuca, Campo Grande, Xaraés. In: NÚCLEO DE ESTUDOS EM FORRAGICULTURA, 4., 2003, Lavras. **Proceeding...** Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2003. p. 179-225.

VASCONCELOS, C. N. **Pastagens: implantação e Manejo.** Salvador: EDBA, 2006, 77 p.

VILELA, L.; MACEDO, M. C. M.; MARTHA JUNIOR, G. B.; KLUTHCOUSKI, J. Degradação de pastagens e indicadores de sustentabilidade. In: KLUTHCOUSKI, J.; STONE, L. F.; AIDAR, H. (Ed.). **Integração lavoura-pecuária**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2003. p. 105-128.

VILELA, L.; SOARES, W. V.; SOUSA, D. M. G.; MACEDO, V. C. M. **Calagem e adubação para pastagens na região dos Cerrados**. Planaltina: EMBRAPA - CPAC, 1998. 28 p. (Circular Técnica 37).

WERNER, J. C. **Adubação de pastagens.** Nova Odessa: Instituto de Zootecnia, 1986. 49 p. (IZ. Boletim Técnico, 18).

WERNER, J. C.; PAULINO, V. T.; CANTARELLA, H. Forrageiras. In: RAIJ, B. van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C. (Eds.). **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. Campinas: Instituto Agronômico, 1996. p. 263–273 (Boletim técnico, 100).

WHITEHEAD, D. C. **Grassland Nitrogen**. Wallingford: CAB International, 1990. 397 p.

WOOD, C. W.; REEVES, D. W.; DUFIELD, R. R.; EDMISTEN, K. L. Field chlorophyll measurements dor evaluation of corn nitrogen status. **Journal of Plant Nutrition**, Philadelphia, v. 15, n. 4, p. 487-500, 1992.

YANG, C. H.; CROWLEY, D. E. Rhizosphere microbial community structure in relation to root location and plant iron nutritional status. **Applied and Environmental Microbiology**, New York, v.66, p.345-351, 2000.

YATES, R. J.; HOWIESON, J. G.; NANDASENA, K. G.; O'HARA, G. W. Root – nodule bacterian from indigenous legumes in the north-west of Western Australia and their interaction with exotic legumes. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 36, n. 8, p. 1319-1329, 2004.

YDOYAGA, D. F.; LIRA, M. A.; SANTOS, M. V. F.; DUBEUX JÚNIOR, J. C. B.; SILVA, M. C.; SANTOS, V. F.; FERNANDES, A. P. M. Métodos de recuperação de pastagens *Brachiaria decumbens* Stapf. No Agreste Pernambucano. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n. 3, p. 69-70, 2006.

ZAMBRANO, E. R.; JIMÉNEZ SALGADO, T.; TAPIA HERNÁNDEZ, A. Estudo de bacterias asociadas a orquídeas (Orchidaceae). **Lankesteriana,** Costa Rica, n. 71-2, p. 322-325, 2007.

ANEXOS

Meio de Cultura DYGS (Döbereiner et al, 1995):

2 g Glicose
2 g Ácido málico
1,5 Peptona bacteriológica
2 g Extrato de levedura
0,5 g K_2HPO_4
0,5 g $MgSO_4.7H_2O$
1,5 g Ácido glutâmico

Ajustar o pH para 6,5 ou 6,8 com KOH e completar o volume para 1000 mL com água destilada. Colocar as substâncias na ordem indicada.

Meio de Cultura NFb (Döbereiner et al, 1995):

Este meio semi seletivo é para efetuar o isolamento Azospirillum spp.

5 g de Ácido Málico
0,5 g K_2HPO_4
0,2 g $MgSO_4.7H_2O$
0,1 g NaCl
0,02 g $CaCl_2.2H_2O$
2 ml de Solução de Micronutrientes para Meio de Cultura
2 ml de Azul de Bromotimol (solução 0,5% em 0,2N de KOH)
4 ml de FeEDTA (solução 1,64%)
1ml de Solução de Vitamina para Meio de Cultura

4,5 g KOH

Ajustar o pH para 6,5 ou 6,8 com NaOH e completar o volume para 1000 mL com água destilada. Colocar as substâncias na ordem indicada.
Para o meio Semi-Sólido, adicionam-se 1,75 a 1,8 g de Agar/L e para o meio Sólido adicionam-se 15 g de Agar/L.

Meio de Cultura LGI (Döbereiner et al., 1995):

Este meio semi seletivo é para isolamento de *Azospirillum amazonense.*

5 g sacarose ou açúcar cristal
0,2 gK_2HPO_4
0,6 g KH_2PO_4
0,2 g $MgSO_4.2H_2O$
0,02 g $CaCl_2.2H_2O$
0,002 g $Na_2Mo_4.2H_2O$
5 ml de Azul de Bromotimol (solução 0,5% em 0,2N de KOH)
4 ml de FeEDTA (solução 1,64%)
1ml de Solução de Vitamina para Meio de Cultura

Ajustar o pH para 6,0 a 6,2 com H_2SO_4 e completar o volume para 1000 mL com água destilada.
Para o meio Semi-Sólido, adicionam-se 1,75 a 1,8 g de Agar/L e para o meio Sólido adicionam-se 15 g de Agar/L.

Solução de micronutrientes (Döbereiner, 1995):

0,04 g $CuSO_4.5H_2O$;
1,20 g $ZnSO_4.7H_2O$;
1,40 g H_3BO_3;
1,00 g $Na_2MoO_4.2H_2O$
1,175 g $MnSO_4.H_2O$.

Completar o volume para 1000 mL com água destilada.

Solução de vitaminas (Döbereiner, 1995)

10 mg biotina
20 mg piridoxol-HCl

A solução era dissolvida em banho-maria e completada o volume para 100 mL com água destilada, em seguida era filtrada e mantida a solução em geladeira.

Solução salina (Döbereiner, 1995)

Para diluição do inóculo foi utilizada solução salina com a seguinte composição, por litro:

3,4 g KH2PO4;
0,2 g MgSO4.7H2O;
0,1 g NaCl;
0,02 g CaCl2.2H2O;
2,0 mL da solução de micronutrientes;
4,0 mL Fe EDTA (solução 1,64%);

4,5 g KOH

Ajustar o pH para 7,0 com KOH e completar o volume para 1000 mL com água destilada.