



**AZOSPIRILLUM BRASILENSE E RHIZOPHAGOS
INTRARADICES PROMOTORES DE CRESCIMENTO DE
UROCHLOA BRIZANTHA cv. BRS PIATÃ**

THATIANE MOTA VIEIRA

2021



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**AZOSPIRILLUM BRASILENSE E RHIZOPHAGOS
INTRARADICES PROMOTORES DE CRESCIMENTO DE
UROCHLOA BRIZANTHA cv. BRS PIATÃ**

Autor: Thatiane Mota Vieira
Orientador: Prof. Dr. Fábio Andrade Teixeira

ITAPETINGA
BAHIA – BRASIL
Agosto / 2021

THATIANE MOTA VIEIRA

**AZOSPIRILLUM BRASILENSE E RHIZOPHAGOS
INTRARADICES PROMOTORES DE CRESCIMENTO DE
UROCHLOA BRIZANTHA cv. BRS PIATÃ**

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia.

Orientador: Prof. Dr. Fábio Andrade Teixeira

Co-orientadores: Dr^a. Kaliane Sírío Araújo
Prof. Dr. Carlos Alberto Alves de Oliveira Filho

ITAPETINGA
BAHIA – BRASIL
Agosto/2021

633.2 Vieira, Thatiane Mota.
T719a Azospirillum brasilense e Rhizophagos intraradices promotores de crescimento de *Urochloa brizantha* cv. BRS Piatã. / Thatiane Mota Vieira. - Itapetinga: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2021. 43 fls.

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Sob a orientação do Prof. D. Sc. Fábio Andrade Teixeira e coorientação da Prof^a. D. Sc. Kaliane Sírío Araújo e Prof. D. Sc. Carlos Alberto Alves de Oliveira Filho.

1. *Urochloa brizantha* cv. BRS Piatã - Inoculação de microrganismos. 2. Capim BRS Piatã – Desenvolvimento e produção. 3. Sementes - Inoculação de microrganismos. I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. II. Teixeira, Fábio Andrade. III. Araújo, Kaliane Sírío. IV. Oliveira Filho, Carlos Alberto Alves de. V. Título.

CDD(21): 633.2

Catálogo na fonte:

Adalice Gustavo da Silva – CRB/5-535

Bibliotecária – UESB – Campus de Itapetinga-BA

Índice Sistemático para Desdobramento por Assunto:

1. Azospirillum brasilense - Inoculação
2. Rhizophagos intraradices – Inoculação
3. Microrganismos – Promotores de crescimento vegetal

DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

Título: "Azospirillum brasilense e Rhizophagos intraradices promotores de crescimento de urochloa brizhanta cv. BRS Pietá"

Autor (a): Thatiane Mota Vieira
Orientador (a): Prof. Dr. Fábio Andrade Teixeira
Coorientador (a): Prof.^a Dr^a. Daniela Deitos Fries

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE EM ZOOTECNIA, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: PRODUÇÃO DE RUMINANTES, pela Banca Examinadora:



Prof. Dr. Fábio Andrade Teixeira – UESB
Orientador



Dra. Kalliane Sírío Araújo – Pós-Doc IV



Dr. Carlos Alberto Alves de Oliveira Filho – INSTITUTO CNA

Data de realização: 03 de agosto de 2021.

Aquele que habita no abrigo do altíssimo e descansa à sombra do todo poderoso pode dizer ao Senhor: “Tu és o meu refúgio e a minha fortaleza, o meu Deus, em quem confio”

Salmos 91:1-2

“Não fui eu que ordenei a você? Seja forte e corajoso! Não se apavore nem desanime, pois, o Senhor, o seu Deus, estará com você por onde você andar”.

Josué 1:9

A Deus e a Nossa Senhora

Aos meus pais

À minha irmã

À Ícaro Sousa

E a toda minha família, amigos e meus mestres.

...DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, por me dar sabedoria, discernimento, coragem e força para viver e lutar pelos meus objetivos a cada dia.

À Nossa Senhora, por interceder e passar sempre a frente dos meus caminhos, me amparando e me livrando de todo mal.

Aos meus pais, Ednalva Mota e Valdecir Vieira, por todo carinho, orações e por me incentivar e motivar na busca dos meus sonhos.

À minha irmã Viviane Mota por todo apoio.

À Ícaro Sousa, por todo companheirismo, incentivo e paciência.

A minha família Mota e Vieira, por todo carinho e por estarem sempre me incentivando e vibrando com todas as minhas conquistas.

Ao professor Dr. Fábio Andrade Teixeira, pela oportunidade, confiança, orientação e atenção a mim prestado. Minha eterna gratidão!

À Renata Jardim, por toda orientação, atenção e por está sempre acessível em ajudar e compartilhar seus conhecimentos.

Aos membros da banca, Dr. Carlos Alberto Oliveira e Dr^a. Kaliane Sírío por toda contribuição nas correções que enriqueceram ainda mais o meu trabalho.

À Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, por ter me possibilitado desenvolver este trabalho e me proporcionar momentos de grande aprendizado científico e profissional, enriquecendo o meu crescimento pessoal.

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia (PPZ), por todo apoio e suporte durante essa etapa.

À CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela concessão da bolsa de estudos.

Aos amigos do grupo de pesquisa em forragicultura, por toda ajuda e pelos momentos de resenhas e experiências compartilhadas.

Aos meus queridos amigos e fiéis companheiros, Ingridy e Hackson minha eterna gratidão por toda ajuda e incentivo.

Aos professores e funcionários da UESB, pela amizade e colaboração. E a todos que contribuíram direta ou indiretamente para o desenvolvimento deste trabalho, os meus sinceros agradecimentos.

Que o nosso Deus todo poderoso abençoe a cada um de vocês!

MUITO OBRIGADA!

BIOGRAFIA

Thatiane Mota Vieira, filha de Ednalva Mota Silva Vieira e Valdecir Vieira de Souza, nasceu em Itapetinga- Bahia, no dia 25 de novembro de 1993.

Em 2013 iniciou o curso de Zootecnia na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia *campus* Juvino Oliveira, Itapetinga- Bahia, finalizando o mesmo em 2018.

Em 2019 iniciou o mestrado em Produção de Ruminantes, pelo programa de Pós-Graduação em Zootecnia (PPZ) da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), realizando estudos na área de forragicultura e pastagem, sob a orientação do professor Dr. Fabio Andrade Teixeira.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	x
RESUMO.....	xi
ABSTRACT.....	xiii
I- REFERENCIAL TEÓRICO.....	1
1.1. Introdução.....	1
1.2. Biofertilizantes e/ou bioestimulantes e o meio ambiente.....	2
1.3. Microrganismos promotores de crescimento.....	5
1.3.1. <i>Bactérias do gênero Azospirillum brasilense</i>	6
1.3.2. <i>Fungos micorrizicos arbusculares (FMA)</i>	7
1.3.3. <i>Associação de fungos micorrizicos arbusculares e bactérias diazotróficas..</i>	10
1.4. Referências bibliográficas.....	11
II- OBJETIVO.....	17
2.1. Objetivo geral.....	17
2.2. Objetivos específicos.....	17
III- MATERIAL E MÉTODOS.....	18
3.1. Local e período experimental.....	18
3.2. Tratamentos, protocolos de inoculação e semeadura.....	18
3.2.1 <i>Aplicação dos inoculantes</i>	20
3.3. Variáveis analisadas.....	21
3.3.1. <i>Características morfogênicas e estruturais</i>	21
3.3.2. <i>Produção de massa seca e volume de raiz</i>	21
3.3.3. <i>Área foliar e análise de crescimento</i>	22
3.3.4. <i>Análise Bromatológica</i>	22
3.4. Análise fisiológica.....	23
3.4.1. <i>Clorofila e caratenoides</i>	23
3.4.2. <i>Índice SPAD</i>	23

3.5. Análise estatística.....	23
IV- RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
V- CONCLUSÃO.....	36
VI- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	37
VII- CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	41

LISTA DE TABELAS

		Página
Tabela 01	Análise química do solo.....	19
Tabela 02	Produção de massa seca do resíduo (PMSRE) e massa seca da raiz (PMSRA) da <i>Urochloa brizantha</i> cv. BRS Piatã inoculadas com inoculada com <i>Azospirillum brasilense</i> e <i>Rhizophagos intraradices</i>	27
Tabela 03	Relação folha/colmo e volume de raiz da <i>Urochloa brizantha</i> cv. BRS Piatã inoculadas com <i>Azospirillum brasilense</i> e <i>Rhizophagos intraradices</i>	28
Tabela 04	Características morfogênicas e estruturais da <i>Urochloa brizantha</i> cv. BRS Piatã inoculadas com <i>Azospirillum brasilense</i> e <i>Rhizophagos intraradices</i>	29
Tabela 05	Área foliar (AF), índice de área foliar (IAF), área foliar específica (AFE) e razão da área foliar (RAF) da <i>Urochloa brizantha</i> cv. BRS Piatã inoculadas com <i>Azospirillum brasilense</i> e <i>Rhizophagos intraradices</i>	32
Tabela 06	Efeito da inoculação de <i>Azospirillum brasilense</i> e <i>Rhizophagos intraradices</i> em <i>Urochloa brizantha</i> cv. BRS Piatã sobre a composição bromatológica.....	33
Tabela 07	Efeito da inoculação de <i>Azospirillum brasilense</i> e <i>Rhizophagos intraradices</i> em <i>Urochloa brizantha</i> cv. BRS Piatã sobre o teor de clorofila a, clorofila b, clorofila total, caratenoides e razão clorofila a/clorofila b.....	34
Tabela 08	Avaliação do índice SPAD da <i>Urochloa brizantha</i> cv. BRS Piatã inoculadas com <i>Azospirillum brasilense</i> e <i>Rhizophagos intraradices</i>	34

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 01. Dados de umidade relativa, temperatura máxima, mínima e média do período experimental.....	18
Figura 02. Produção de massa seca da parte aérea da <i>Urochloa brizantha</i> cv. BRS Piatã inoculadas com <i>Azospirillum brasilense</i> e <i>Rhizophagos intraradices</i>	25

RESUMO

VIEIRA, Thatiane Mota. **Azospirillum brasilense e Rhizophagos intraradices promotores de crescimento de *Urochloa brizantha* cv. BRS Piatã.** Itapetinga, BA: UESB, 2021. 51f. Dissertação. (Mestrado em Zootecnia, Área de Concentração em Produção de Ruminantes) *.

Um grande desafio a ser enfrentado nas próximas décadas será suprir as demandas alimentares mitigando danos ambientais. O uso em excesso de agroquímicos sintéticos nas pastagens resulta em impactos ambientais negativos em todo o mundo, causando infertilidade do solo, eutrofização das águas e perda de biodiversidade. Por essa razão, um desafio atual é criar sistemas de cultivo mais eficientes e aumentar a demanda da produção agrícola através de tecnologias capazes de diminuir tanto a quantidade de produtos químicos como os impactos ambientais. O objetivo desta pesquisa foi avaliar os efeitos da inoculação de microrganismos promotores de crescimento vegetal nas características produtivas e fisiológicas da *Urochloa brizantha* cv. BRS Piatã. O experimento foi realizado entre o período de outubro de 2020 a janeiro de 2021, com instalação de 20 vasos com capacidade de 10 kg de solo, e conduzido sob condições de casa de vegetação localizada na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), em Itapetinga, Bahia. Adotou-se o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 1 x 4, com o uso da *U. brizantha* cv. BRS Piatã, e quatro protocolos de inoculação: Controle (Sem microrganismos), *Azospirillum brasilense* (AZOS), *Rhizophagos intraradices* (FMA) e Co- inoculação (Azos+FMA), considerando cinco repetições, totalizando 20 unidades experimentais. Os inoculantes contendo *Azospirillum brasilense* (Nome comercial AzoTotal®, na concentração garantida de $2,0 \times 10^8$ UFC/mL, cuja recomendação é de $300 \text{ mL} \cdot \text{ha}^{-1}$) e *Rhizophagos intraradices* (Nome comercial Rootella BR®, com cerca de 20.800 propágulos/g, como recomendação $120 \text{ g} \cdot \text{ha}^{-1}$), foram adquiridos comercialmente e os protocolos de inoculação seguiu as recomendações do fabricante, em que o *Rhizophagos intraradices* foi disposto no solo antes do plantio e o inóculo com AZOS, as sementes foram embebidas na dose proporcional de 2 mL do inoculante diluídas em 100 mL de água para cada 100g de sementes por um período de 1 hora. Após esses procedimentos, realizaram-se a semeadura e iniciaram as avaliações. O experimento teve duração de 120 dias, sendo 56 dias de coleta divididos em dois intervalos de corte de 26 dias. Houve efeito significativo ($P < 0,05$) com o uso dos microrganismos sobre a variável de produção, onde o tratamento utilizando o inoculante a base de *Azospirillum brasilense* apresentou-se superior aos demais, com uma produção de $1920,43 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$, representando um aumento percentual de 42,05%. Para a produção de massa seca do resíduo (PMSRE), os tratamentos que foram inoculados com o *Azospirillum brasilense* e *Rhizophagos intraradices* de forma associada, apresentaram um incremento de aproximadamente 46% quando comparado com os outros tratamentos, efeito benéfico dessa associação de bactérias e fungos para uma melhor qualidade de rebrota para a planta. Ao avaliar a produção de massa seca da raiz (PMSRA), houve efeito significativo no tratamento que foi inoculado com *Rhizophagos intraradices* e a co inoculação, ao se associarem os fungos micorrizicos aumentam a área de exploração

radicular, sendo importantes para a absorção eficiente de nutrientes e água. Para a variável volume de raiz notou-se que os tratamentos em que ocorreram a inoculação de *A. brasilense* e *R. intraradices* apresentaram valores superiores em relação as plantas não inoculadas (controle), sendo que a produção de volume de raiz foi significativamente maior nas plantas em que foi realizada a co inoculação, efeito este estimulado pela entrada simultânea de fósforo e nitrogênio ao solo ativando as atividades desses microrganismos favorecendo um maior desenvolvimento das raízes. Entre as variáveis morfológicas e estruturais foi identificado efeito significativo apenas para largura final da folha (LFF) e altura da planta (ALT) onde os tratamentos Azos, Rhizo e a co-inoculação obtiveram valores significativos para (LFF) e o tratamento co- inoculado obteve valor significativo para ALT em relação aos demais. A largura final da folha (LFF), obteve melhores resultado com o Azos, FMA e a co inoculação, a utilização desses microrganismos beneficiou uma maior captação e disponibilidade de nutrientes que favoreceram o melhor desenvolvimento e aumento da largura das folhas. Plantas inoculadas com *Azospirillum* e *Rhizophagos* apresentaram maiores alturas (ALT), diferindo-se do tratamento controle e a co-inoculação os quais não diferiram entre si apresentando uma média de 37,47 cm. O uso de *Azospirillum brasilense* e *Rhizophagus intraradices* tanto de forma isolada, como simultâneos influenciaram para o desenvolvimento e produtividade da *Urochola brizantha* cv. BRS Piatã.

Palavras-chave: bactérias diazotróficas, desempenho produtivo, fito hormônios, fungos micorrízicos arbusculares, gramínea

*Orientador: Fábio Andrade Teixeira, D.Sc. UESB e Co-orientadores: Kaliane Sírío Araújo Dr^a. UFV e Carlos Alberto Alves de Oliveira Filho Dr^o. UESB.

ABSTRACT

VIEIRA, Thatiane Mota. *Azospirillum brasilense* and *Rhizophagos intraradices* growth promoters of *Urochloa brizantha* cv. BRS Piatã. Itapetinga, BA: UESB, 2021. 51f. Dissertation. (Master in Animal Science, Area of Concentration in Ruminant Production) *.

A major challenge to be faced in the coming decades will be to meet food demands while mitigating environmental damage. Excessive use of synthetic agrochemicals in pastures results in negative environmental impacts worldwide, causing soil infertility, water eutrophication and loss of biodiversity. For this reason, a current challenge is to create more efficient cultivation systems and increase the demand for agricultural production through technologies capable of reducing both the amount of chemical products and the environmental impacts. The objective of this research was to evaluate the effects of inoculation of plant growth-promoting microorganisms on the productive and physiological characteristics of *Urochloa brizantha* cv. BRS Piatã. The experiment was carried out from October 2020 to January 2021, with the installation of 20 pots with a capacity of 10 kg of soil, and conducted under greenhouse conditions located at the Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), in Itapetinga, Bahia. A completely randomized design was adopted in a 1 x 4 factorial scheme, using *U. brizantha* cv. BRS Piatã, and four inoculation protocols: Control (No microorganisms), *Azospirillum brasilense* (AZOS), *Rhizophagos intraradices* (FMA) and Co-inoculation (Azos+FMA), considering five replications, totaling 20 experimental units. The inoculants containing *Azospirillum brasilense* (Trade name AzoTotal®, at the guaranteed concentration of 2.0×10^8 CFU/mL, whose recommendation is 300 mL.ha⁻¹) and *Rhizophagos intraradices* (Trade name Rootella BR®, with about 20,800 propagules /g, as recommended 120 g.ha⁻¹), were purchased commercially and the inoculation protocols followed the manufacturer's recommendations, in which *Rhizophagos intraradices* was placed in the soil before planting and the inoculum with AZOS, the seeds were soaked in proportional dose of 2 mL of the inoculant diluted in 100 mL of water for each 100 g of seeds for a period of 1 hour. After these procedures, sowing was carried out and evaluations began. The experiment lasted 120 days, with 56 days of collection divided into two 26-day cutting intervals. There was a significant effect ($P < 0.05$) with the use of microorganisms on the production variable, where the treatment using the inoculant based on *Azospirillum brasilense* was superior to the others, with a production of 1920.43 kg.ha⁻¹, representing a percentage increase of 42.05%. For the production of dry mass of residue (PMSRE), the treatments that were inoculated with *Azospirillum brasilense* and *Rhizophagos intraradices* in an associated way, showed an increase of approximately 46% when compared to the other treatments, a beneficial effect of this association of bacteria and fungi. for a better quality of regrowth for the plant. When evaluating root dry mass production (PMSRA), there was a significant effect in the treatment that was inoculated with *Rhizophagos intraradices* and co-inoculation, when associated with mycorrhizal fungi, increase the area of exploration root, being important for the efficient absorption of nutrients and water. For the root volume variable, it was noted that the treatments in

which *A. brasilense* and *R. intraradices* were inoculated showed higher values compared to non-inoculated plants (control), and the root volume production was significantly higher in the plants in which co-inoculation was performed, an effect stimulated by the simultaneous entry of phosphorus and nitrogen into the soil, activating the activities of these microorganisms, favoring a greater development of the roots. Among the morphogenic and structural variables, a significant effect was identified only for final leaf width (LFF) and plant height (ALT) where the treatments *Azos*, *Rhizo* and co-inoculation obtained significant values for (LFF) and the co-inoculated treatment obtained significant value for ALT in relation to the others. The final leaf width (LFF) obtained better results with *Azos*, FMA and co-inoculation, the use of these microorganisms benefited a greater uptake and availability of nutrients that favored better development and increased leaf width. Plants inoculated with *Azospirillum* and *Rhizophagos* showed higher heights (ALT), differing from the control and co-inoculation treatments, which did not differ from each other, with an average of 37.47 cm. The use of *Azospirillum brasilense* and *Rhizophagus intraradices* either alone or simultaneously influenced the development and productivity of *Urochloa brizantha* cv. BRS Piatã

Keywords: Diazotrophic bacteria, productive performance, phytohormones, arbuscular mycorrhizal fungi, grass

*Orientador: Fábio Andrade Teixeira, D.Sc. UESB e Co-orientadores: Kaliane Sírío Araújo Dr^a. UFV e Carlos Alberto Alves de Oliveira Filho Dr^o. UESB.

I REFERENCIAL TEÓRICO

1.1. Introdução

No Brasil os sistemas de produção de leite e carne são produzidos principalmente em áreas de pastagem. Visto que, o país apresenta vasta expansão de áreas territoriais e condições climáticas favoráveis, além dessas pastagens constituírem a principal fonte de nutrientes para os animais e serem a forma mais barata de alimentação reduzindo os custos de produção.

Embora, a atividade pecuária a pasto seja uma técnica viável e, relativamente barata no Brasil, são necessários estudos e emprego de tecnologias visando a redução da degradação das pastagens, a busca de alternativas para a estacionalidade na produção de forrageiras, da perda do valor nutritivo da forragem relacionado à solos com baixa fertilidade, principalmente pela baixa disponibilização de nitrogênio e fósforo, e do alto consumo de fertilizantes químicos que afeta o ecossistema e aumenta os gastos da produção.

Nesse contexto, algumas pesquisas com bactérias capazes de realizar a fixação biológica de nitrogênio estão sendo realizadas, como uma alternativa para a recuperação de pastagens degradadas de forma sustentável, com a redução dos gastos com fertilizantes nitrogenados. Essas bactérias podem promover o crescimento das forrageiras, como as gramíneas, por meio da disponibilização do nitrogênio (Silva et al., 2013; Guimarães et al., 2016; Hungria et al., 2016; Hanisch et al., 2017), bem como pela produção e liberação de substâncias reguladoras de crescimento com as auxinas, as quais viabilizam o crescimento do sistema radicular e, assim, atuam na melhoria da nutrição mineral e da utilização da água por essas plantas (Mutai et al., 2017).

Outro grupo de microrganismo mutualístico, que habita o solo e são de extrema importância para o desenvolvimento da planta, é o Fungo Micorrízico Arbuscular (FMA). Esses fungos podem colonizar simultaneamente as raízes de diferentes espécies de planta, formando redes de hifas, pelas quais nutrientes de áreas distantes podem ser transferidos para a planta, principalmente o P, o qual se encontra dissolvido nas soluções do solo nas formas aniônicas H_2PO_4^- , quando ácido, e HPO_4^{2-} (Harrison, 2012).

As gramíneas forrageiras representam plantas de grande interesse econômico. Diversas são as espécies tropicais que se apresentam como opções para a formação das pastagens no Brasil. A exemplo, temos as do gênero *Brachiaria*, que são gramíneas do grupo C4, esse gênero possui aproximadamente 90 espécies preponderantemente, tropical e subtropical de origem Africana. Entretanto, a busca pelo melhoramento genético de espécies forrageiras tem como objetivo o aumento da produtividade e da qualidade, a resistência a pragas, doenças e ao pastejo, a produção de sementes de boa qualidade e palatabilidade, adaptação ao estresse do solo e do clima e principalmente obter cultivares que promovam maior produtividade e desempenho animal.

Como exemplo, temos a cultivar *Urochloa brizantha* cv. BRS Piatã que foi selecionada após 16 anos de avaliações pela Embrapa e seus parceiros. É uma planta de crescimento ereto e hábito cespitoso, de porte médio com colmos verdes e finos, as bainhas foliares tem poucos pelos e a lâmina foliar é glabra e possui um florescimento precoce (Fonseca & Martuscello, 2010).

Apresenta alta produtividade, principalmente de folhas e é resistente a cigarrinhas-das-pastagens, mas, apresenta susceptibilidade à cigarrinha da cana e adapta-se, a solos de média e boa fertilidade das zonas tropicais brasileiras onde, tradicionalmente, outras cultivares de *Brachiaria brizantha*, como os capins marandu e xaraés, são largamente usadas.

Outra característica importante da cultivar BRS Piatã, é sua maior aptidão para o pastejo diferido quando comparado a cv. Xaraés (Embrapa, 2010). De acordo com Valle et al. (2007), em estudo realizado em solo de média fertilidade no período das águas e da seca a cv. piatã apresentou produção média respectivamente de 53,6 e 8,3 kg/há/dia resultado superior quando comparado a cv. marandu que apresentou 47,8 e 6,3 kg/há/dia.

Euclides et al. (2005) relataram que o capim piatã apresenta características agronômicas e adaptativas diferentes dos demais cultivares de *Brachiaria brizantha*, sendo por isso recomendado para a diversificação das pastagens, como alternativa ao cultivar Marandu.

Com a busca de alternativas ambientalmente corretas e economicamente viáveis nos sistemas de produção, o objetivo desse trabalho é avaliar os efeitos da inoculação de *Azospirillum brasilense* e *Rhizophagus intraradices* nas características de desenvolvimento e produtivas da *Urochloa brizantha* cv. BRS Piatã

1.2. Biofertilizantes e/ou bioestimulantes e o meio ambiente

Um grande desafio a ser enfrentado nas próximas décadas será suprir as demandas alimentares mitigando os danos ambientais (Odegard & Voet, 2014). O uso excessivo de

agroquímicos sintéticos resulta em impactos ambientais negativos, causando a infertilidade do solo, eutrofização das águas e perda da biodiversidade (Köhler e Triebkorn 2013; Chagnon et al. 2014; Hallmann, et al. 2014; FAO, 2015).

Por essa razão, um desafio da atual sociedade é criar sistemas de cultivo mais eficientes e aumentar a demanda da produção agrícola através de tecnologias capazes de diminuir o uso de produtos químicos como os impactos ambientais. (Tilman et al., 2002; Foley et al., 2011). Neste contexto, como uma alternativa econômica e sustentável, temos os biofertilizantes e/ou bioestimulantes que são produtos capazes de atuar nos processos metabólicos e enzimáticos das plantas, melhorando a produtividade e a qualidade das culturas.

São definidos como fertilizantes naturais produzidos utilizando microrganismos vivos ou compostos naturais que são derivados de organismos como algas, fungos e bactérias, quando aplicados nas plantas ou na rizosfera melhoram as propriedades do solo, beneficiam uma maior absorção e uso eficiente dos nutrientes, tolerância aos estresses abióticos e prevenção de doenças e contribuem para o aumento da produção e qualidade das plantas (Abdel Raouf et al. 2012).

Em várias pesquisas os biofertilizantes são amplamente testados como forma de acelerar os processos de fornecimento de nutrientes que devem ser incorporados pelas plantas. Por meio da fixação de nitrogênio e disponibilização de fosfatos, melhorando a fertilidade do solo (Mazid & Khan, 2015).

Os bioestimulantes contendo bactérias e fungos, compreendem uma categoria importante de bioestimulantes para as plantas (Du Jardin, 2015).

Os grupos benéficos representativos de bactérias incluem *Rhizobium spp.*, fixador de nitrogênio, *Azotobacter spp.*, *Azospirillum spp.*, *Pseudomonas spp.* e *Bacillus spp.*, e mobilizadores de fosfato são as micorrizas, que atuam de forma simbiótica entre a planta hospedeira e certo grupo de fungos no sistema radicular (Lugtenberg, 2015; Rouphael et al., 2020).

A aplicação do biofertilizante na lavoura de capim-elefante cv BRS Capiagu, aumentou a produtividade sem produzir efeito significativo sobre as variáveis nutricionais avaliadas, conforme resultados encontrados por Gonçalves (2019) que obteve maior produção em matéria seca (27,2 t/ha). Vitor et al. (2009) obtiveram resultados similares (29 t/ha) ao utilizar biofertilizante como fonte de nitrogênio na cultura do capim elefante.

Teixeira et al. (2017) obtiveram aumento na produção da massa de forragem do capim do gênero *Brachiaria* e melhoria na fertilidade do solo.

O uso do bioestimulante promoveu acréscimos nos acúmulos, variando entre 2,1 a 57,0% na massa seca da forragem; 0,7 a 53,5% nas folhas e 14,7 a 118,9% nos colmos em relação à testemunha, relacionando este acréscimo ao bioestimulante conter substâncias sintéticas com funções semelhantes aos fito hormônios, atuando no crescimento e desenvolvimento vegetal, visto que funcionam como sinais químicos altamente específicos entre as células produzindo assim efeitos amplificados (De Campos et al., 2015).

Em *Urochloa*, a aplicação de bioestimulantes promoveu aumento na produtividade de massa seca (MS) na ordem de 55%, aumento 54,71% na produção de folhas e redução na taxa de acúmulo de colmo e material morto de 9,8% e 39,02% respectivamente, quando comparada a maior dose utilizada com a testemunha (Freitas, 2016)

As substâncias presentes no bioestimulante atuam no retardamento do envelhecimento da planta, estimulando as divisões celulares e o desenvolvimento de gemas laterais e no alongamento celular caulinar (Taiz & Zeiger, 2009). Quando aplicado no início de desenvolvimento da planta o bioestimulante pode atuar no desenvolvimento do seu sistema radicular, fazendo com que a planta consiga absorver maior quantidade de nutrientes do solo, podendo assim reduzir a quantidade de adubo a ser aplicada por área (Oliveira et al., 2016).

Kleinschmitt (2018) observou que a produtividade de grãos de milho após a aplicação de bioestimulante é estatisticamente superior, em relação ao controle, expressando produtividade 18,4% superior, com ganho de 2.756,26 kg ha⁻¹. Na cultura da soja, Bertolin et al. (2010) observaram que o uso de bioestimulante aumentou o número de vagens por planta e produtividade de grãos em cerca de 37% em comparação com a testemunha, especialmente se a aplicação do bioestimulante for feita na fase reprodutiva da planta.

É sabido que, múltiplos processos fisiológicos, bioquímicos e genéticos estão envolvidos nas respostas vegetais e os efeitos observados a partir das aplicações podem ser diretos ou indiretos. Entretanto, pode-se perceber que o uso de bioestimulantes em diferentes culturas vem trazendo respostas positivas e promissoras para uma produção sustentável.

1.3. Microrganismos promotores de crescimento vegetal

Os microrganismos interagem de diferentes formas com as plantas, colonizando os tecidos vegetais de forma epífitas ou endofíticas, funcionando coletivamente como uma microbiota.

Na interação com as plantas, os microrganismos podem colonizar as superfícies externas, como a superfície das folhas (filosfera) e das raízes (rizoplano) e tecidos internos dos diferentes órgãos da planta (folha, caule e raiz). Em relação as raízes, os microrganismos colonizam não somente a endosfera, o rizoplano, como também a rizosfera (região do solo influenciada pelas raízes) (Mendes et al., 2014).

A presença de uma grande diversidade de microrganismos na rizosfera, despertou a curiosidade de diferentes estudiosos sobre a relação existente entre os microrganismos e a planta hospedeira, visando entender e esclarecer os benefícios que essa interação pode trazer para a produção agrícola.

Rocha et al. (2018) avaliaram o desempenho (Altura, teor de clorofila, massa seca, número de perfilhos e relação lâmina:colmo) de *Brachiaria brizantha* cv, Paiaguás inoculada com *Azospirillum brasilense* e diferentes doses de nitrogênio (0, 25, 50 75 e 100% de N, sendo o máximo 50 kg.N.ha-1), foi possível observar que para quase todas as variáveis em análise o tratamento controle (sem inoculação) apresentaram valores inferiores quando comparado com os tratamentos inoculados, independentemente da adubação utilizada.

Medina et al. (2010) avaliaram no México a inoculação de micorrizas arbusculares (*Glomus intraradices*) em sementes de milho, foram observados aumentos de produção da ordem de 4 a 19%, dependendo da localidade, da variedade e do nível de fertilização.

Dentre desta perspectiva, nos últimos anos, existe o incentivo de instituições públicas e privadas para o desenvolvimento de estudos com microrganismos eficientes na promoção do crescimento vegetal e na manutenção da saúde e da produtividade das plantas em razão da grande demanda do mercado e da sociedade por tecnologias sustentáveis. O emprego desses microrganismos benéficos pode reduzir os custos de produção, aumentar a produtividade e rentabilidade do agronegócio, sem trazer prejuízos ambientais.

Na relação mutualística que ocorre entre os microrganismos benéficos e as plantas hospedeiras, os microrganismos utilizam as substâncias oriundas das plantas (secreções, exsudados, lisados e metabólitos) e também podem oferecer substâncias de interesse da planta, numa teia alimentar complexa. Esses microrganismos benéficos compõem os

grupos das bactérias fixadoras de nitrogênio (BFN), fungos micorrízicos, rizobactérias promotoras de crescimento das plantas (RPCP) e agentes de controle biológico.

1.3.1. Bactérias do gênero *Azospirillum brasilense*

Aumentar a produtividade e a sustentabilidade das pastagens é um dos objetivos que vem se consolidando nas pesquisas, o que pode ser conseguido com o uso de bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV), que fixam biologicamente o nitrogênio atmosférico, disponibilizando-o para a cultura com a qual está associada. Além da fixação biológica de nitrogênio essas bactérias, agem na atividade da redutase do nitrato quando presente endofiticamente nas plantas, estimulam a produção de fito hormônios como: auxinas, citocininas, giberelinas, redução dos níveis de etileno no vegetal devido à ação da enzima ACC-deaminase, desviando compostos de rotas metabólicas que dariam origem ao hormônio gasoso no vegetal para a bactéria e produção de outros compostos como poliaminas; aliado à biorregulação vegetal. Esses microrganismos auxiliam também na solubilização de fosfato inorgânicos e atuam como agente de controle biológico de patógenos, promovem maior resistência a doenças e aumento da tolerância a condições de estresse (Taiz & Zeiger, 2017).

As bactérias fixadoras de N, classificadas como diazotróficas são encontradas na natureza na forma de vida livre, associadas a gramíneas ou em associação simbiótica com plantas, principalmente leguminosas, sendo amplamente distribuídas no solo (Didonet et al., 2000). Dentro do grupo das bactérias promotoras de crescimento tem-se o *Azospirillum brasilense*, que vem trazendo resultados positivos no cenário agropecuário, sendo utilizado na cultura do milho, trigo e pastagens, aumentando a produtividade entre valores de 20 a 30% e reduzindo custos de produção dessas culturas (Hungria, 2011; Basi, 2013).

Segundo Hungria et al. (2016) a utilização do *A. brasilense*, é uma alternativa promissora para a recuperação de pastagens e aumento da produtividade da forragem.

Bactérias do gênero *Azospirillum* foram obtidas pela primeira vez em terras holandesas em um solo com pouco nitrogênio e com textura arenosa, ficando estagnado por um período de tempo sem ser utilizado, até o momento em que surgiram pesquisas sobre o desenvolvimento de gramíneas associadas a bactéria, sem apresentar deficiência de nitrogênio (Holguin et al., 1999).

O estabelecimento da simbiose da bactéria nas raízes das plantas pode ocorrer em um processo composto por duas etapas, denominadas adsorção e ancoragem (Bashan &

Holguin, 1997a). A fase de adsorção é considerada rápida e fraca, uma vez que as bactérias podem entrar em contato com a raiz em no máximo duas horas de exposição, sendo esse processo reversível e regulado por compostos proteicos bacterianos, como a adesina produzida pela *A. brasilense*. Já a segunda fase, de ancoragem, é considerada forte levando horas para se formar, tornando-se irreversível, onde polissacarídeos extracelulares da bactéria formam uma rede fibrilar conectando a mesma a raiz da planta, evitando a remoção do local (Bashan & Holguin, 1997b; Egorenkova et al., 2000).

As bactérias do gênero *Azospirillum* podem colonizar plantas hospedeiras de maneira endofítica ou externamente (Bashan & Levanony, 1990).

Os benefícios observados com a inoculação de *Azospirillum* no milho, também são esperados em gramíneas forrageiras tropicais, de forma a aumentar a produção em massa de forragens e minimizar a degradação do solo. Segundo Hungria et al. (2016), a inoculação do *Azospirillum brasilense* em capim *Brachiaria spp.* aumentou a produção de massa de forragem em 13%.

Andrade et al. (2018), identificou incremento na produtividade e um melhor aproveitamento de nutrientes em *Panicum maximum* cv. BRS Tamani, quando comparando com o controle, sem inoculação. Maiores produções de *Brachiaria decumbens* foram alcançadas com a inoculação de *A. brasilense* aliadas a uma adubação de 100 kg N ha⁻¹, sobressaindo-se quando comparada com parcelas sem inoculação.

A inoculação com *A. brasilense* tem se mostrado eficiente no crescimento vegetal, ocupando a rizosfera dos vegetais, estimulando o crescimento, otimizando os rendimentos e proporcionando a fixação de concentrações de nitrogênio variáveis com média de 40 kg ha⁻¹ ano, que é capaz de substituir parte da adubação nitrogenada para diversas plantas de interesse agropecuário (Hartmann & Baldini, 2006; Hungria, 2011).

1.3.2. Fungos micorrízicos arbusculares (FMA)

Assim como o nitrogênio, a qualidade da forragem também é influenciada pela quantidade de fósforo presente no solo. Em situações com baixos teores de fósforo disponível, ocorre limitação da absorção de nitrogênio, fazendo com que as plantas não aproveitem adequadamente esse nutriente, comprometendo o rendimento forrageiro (Belarmino et al., 2003).

Segundo Malavolta (1980), o fósforo está diretamente ligado à produtividade das plantas, pois tem participação direta, nos fosfolipídios, nos ácidos nucléicos, no armazenamento e fornecimento de energia metabólica como o ATP e, portanto, em

diversos processos metabólicos da planta, por exemplo: fotossíntese, síntese de macromoléculas como os carboidratos, proteínas e lipídeos, absorção ativa de nutrientes no trabalho mecânico.

Na natureza, existem microrganismos capazes de solubilizar fosfatos, até mesmo captar nutrientes do solo para as plantas, e muitos são mutualistas, como por exemplo os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) (Smith & Read, 2008).

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) são membros do filo Glomeromycota que realizam mutualismo obrigatório com as raízes da maioria das espécies vegetais (Giovannetti et al. 2010) e apresentam uma relação trófica, na qual as plantas fornecem nutrientes fotoassimilados para os fungos, e estes ao explorarem o solo, transportam água e nutrientes minerais em solução para a planta potencializando o seu desenvolvimento (Strack et al., 2003).

O termo micorriza foi proposto pelo botânico alemão Albert Bernard Frank em 1885, originado do grego em que “mico” significa fungo e “riza” raízes (Souza et al., 2006). Essa associação com as raízes com os FMAs, denominada micorriza, promove o aumento da absorção de nutrientes pouco móveis, como fósforo, cobre e zinco para as plantas por meio da exploração de um volume maior de solo pelas hifas (Smith & Read, 2010) e/ou a solubilização de P orgânico por fosfatases produzidas pelos fungos (Yao et al., 2001; Cardoso & Kuyper, 2006).

Gramíneas possuem sistema radicular provido de alta densidade de raízes, que se renovam periodicamente, características que favorecem a distribuição dos exsudados no solo e estimulam a formação de biomassa e a atividade dos microrganismos rizosféricos (Silva & Mielniczuk, 1997). Também, devido ao seu sistema radicular abundante e de rápido crescimento, uma alta taxa de esporulação dos FMA é atribuída às gramíneas, que possibilita maior contato entre as raízes e os propágulos dos FMA (Daniels Hetrick & Bloom, 1986).

Na simbiose micorrízica arbuscular, o fungo e a planta apresentam uma perfeita interação genética, morfológica e funcional em que o fungo coloniza o tecido cortical de raízes de plantas micotróficas, formando estruturas intracelulares típicas denominadas de arbúsculos e posteriormente desenvolve o micélio extrarradicular que é capaz de adquirir nutrientes do solo com grande eficiência (Smith & Read, 2008; Moreira & Siqueira, 2006).

Em simbiose, a planta supre o fungo com energia para crescimento e reprodução via fotossíntese, e o fungo provê a planta e o solo com uma gama de serviços (Souza et al., 2008). O principal desses, ou pelo menos o mais evidente até o momento, é realizado

pelo micélio extrarradicular do fungo e consiste na absorção de nutrientes obtidos de áreas localizadas além da zona de depleção da raiz, em especial o fósforo, e translocação e disponibilização desses nutrientes para células contendo arbúsculos no córtex de raízes de plantas (Berbara et al., 2006).

Os esporos dos fungos micorrízicos conseguem germinar quando as condições de umidade, temperatura, pressão parcial de CO₂ e teores de alumínio são favoráveis, sendo o último, fator fundamental nos solos ácidos para a micorrização. Os fungos micorrízicos arbusculares também podem melhorar diretamente as relações hídricas da planta, aumentando a absorção de água pelas raízes e o potencial de água foliar, regulando a taxa de transpiração e aumentando as taxas fotossintéticas (Augé, 2004).

Os FMA são biotróficos obrigatórios e para completar seu ciclo de vida, associam-se com as raízes para a realização da simbiose (Souza et al., 2011).

Recentemente surgiu, através da empresa NovaTero a criação do primeiro inoculante comercial à base de FMA (*Rhizophagus intraradices*) com registro no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento- MAPA, o Rootella BR®. Dentre as características principais deste fungo, pode-se citar a elevada produção de esporos intra-radiculares.

Por estas razões, o *Rhizophagus intraradices* é a espécie de fungo mais estudada no mundo. Diferentemente de outras espécies, esta não possui restrições para o seu cultivo in vitro, o que torna a produção de inoculantes extremamente viáveis e sem limitações técnicas. A descoberta desta característica foi um avanço de extrema importância no setor de produção de inoculantes agrícolas, pois é uma alternativa sustentável e ecologicamente correta frente à produção de fertilizantes minerais.

A inoculação com *R. intraradices* em soja aumentou a tolerância das plantas hospedeiras a estresses abióticos como a presença de aminoácidos no solo (Spagnoletti & Lavado, 2015), apresentou melhorias nos índices de rendimento da soja (Meghvansi & Mahna, 2009) e beneficiou o crescimento com co-inoculação de FMA e bactérias (*R. intraradices* e *Bradyrhizobium japonicum* e *Paenibacillus*) (Bidondo et al., 2011).

Sena et al. (2014) observaram o aumento da velocidade de absorção de P em condições de baixa disponibilidade em tabaco. No trigo, a inoculação com *R. intraradices* e a adubação com esterco conseguiram suprir as principais necessidades nutricionais de macronutrientes (Ardakani et al., 2011).

Alguns testes de eficácia no milho e na soja foram realizados pela empresa em diversos locais em todo o Brasil, sob condições climáticas variadas e em vários tipos de solo. O desempenho obtido do Rootella BR® foi muito bom, aumentando as colheitas em

mais de 11% para cada e qualquer tratamento, tanto para soja, quanto para o milho sob todos os regimes de fertilização e em todos os locais (Groundwork Bioag, 2021).

1.3.3. Associação de fungos micorrízicos arbusculares e bactérias diazotróficas

Tratando da simbiose entre fungos micorrízicos arbusculares e bactérias promotoras de crescimento, é uma novidade em gramíneas de clima tropical. Sabemos que os FMA também permitem que as plantas hospedeiras absorvam e transportem maiores quantidades de nitrogênio, por meio de maior interceptação do micélio micorrízico dentro da micorrizosfera, (Yang et al, 2021). Além disso, fungos micorrízicos liberam glomalina no solo, que também contribui para a absorção dos nutrientes do solo, incluindo o N (He et al., 2020; Meng et al., 2020).

Bactérias e fungos podem estimular a síntese de metabólitos secundários em plantas por meio de um mecanismo denominado resistência sistêmica induzida. Esses mecanismos estão relacionados às respostas de defesa das plantas a agentes bióticos (Van Loon & Glick, 2004; Thakur et al., 2019).

1.4. Referências bibliográficas

ABDEL RAOUF, N., AL-HOMAIDAN, A.A. AND IBRAHEM, I.B.M. (2012) Agricultural importance of alga. **Afr J Biotechnol** 11:11648–11658.

ANDRADE, R. A., PORTO, M. O., CAVALI, J., FERREIRA, E., BERGAMIN, A. C., SOUZA, F. R. D., & AGUIAR, I. S. D. (2018). Azospirillum brasilense e fosfato natural reativo no estabelecimento de forrageira tropical. **Revista de Ciência Agrárias**, [s.l.], v. 1, n. 42, p.146-154.

ARDAKANI, M. R.; MAZAHARI, D.; MAFAKHERI, S.; MOGHADDAM, A. (2011). Absorption efficiency of N, P, K through triple inoculation of wheat (*Triticum aestivum* L.) by *Azospirillum brasilense*, *Streptomyces* sp., *Glomus intraradices* and manure application. **Physiol Mol Biol Plants**. 17(2):181– 192.

AUGÉ RM (2004) Arbuscular mycorrhizae and soil/plant water relations. **Can J Soil Sci** 84:373–381.

BASHAN, Y.; LEVANONY, H. (1990). Current status of *Azospirillum* inoculation technology: *Azospirillum* as a challenge for agriculture. **Canadian Journal Of Microbiology**, [s.l.], v. 36, n. 9, p.591-608, set.

BASHAN, Y. AND HOGUIN, G. (1997). *Azospirillum*-plant relationship: Environmental and physiological advances (1990-1996). **Canadian Journal Microbiology**, Ottawa, , v. 43, p. 103- 121.

BASI, S. **Associação de *Azospirillum brasilense* e de nitrogênio em cobertura na cultura do milho**.2012. 63 f. (2013). Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, Universidade Estadual do Centro Oeste, Guarapuava.

BELARMINO, M.C.J.; PINTO, J.C.; ROCHA, G.P. et al. (2003). Altura de perfilho e rendimento de matéria seca de capim Tanzânia em função de diferentes doses de superfosfato simples e sulfato de amônio. **Ciência Agrotecnologia**, v.27, n.4, p.879-885.

BERBARA, R. L. L.; SOUZA, F. A. de; FONSECA, H. M. A. C. Fungos micorrízicos arbusculares: muito além da nutrição. (2006). In: FERNANDES, M. S. (Ed.). Nutrição mineral de plantas. Viçosa: **Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, 2006. p. 53-88.

BERTOLIN, D. C.; SÁ, M. E.; ARF, O.; JUNIOR, E. F.; COLOMBO, A. S.; CARVALHO F. L. B. M. (2010). Produção e qualidade de sementes de soja convencional e geneticamente modificada em relação à aplicação via sementes e foliar de produto bioestimulante. **Bragantia, Campinas**, v.69, n.2, p.339-347.

BIDONDO, L. F.; SILVANI, V.; COLOMBO, R.; PÉRGOLA, M.; BOMPADRE, J.; GODEAS, A. (2011). Pre-symbiotic and symbiotic interactions between *Glomus intraradices* and two *Paenibacillus* species isolated from AM propagules. In vitro and in vivo assays with soybean (AG043RG) as plant host. **Soil Biology & Biochemistry**.

CARDOSO, I.M.; KUYPER, T.W. (2006). Mycorrhizas and tropical soil fertility. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 116, p. 72-84.

CHAGNON, M. ET AL. (2014). Risks of large-scale use of systemic insecticides to ecosystem functioning and services. **Environ Sci Pollut Res**. doi:10.1007/s11356-014-3277-x.

DANIELS HETRICK, B. A.; BLOOM, J. (1986). The influence of host plant on production and colonization ability of vesicular-arbuscular mycorrhizal spores. **Mycologia**, v.78, n.1, p.32-36. Disponível em: <https://www.jstor.org/stable/3793373?seq=1#page_scan_tab_contents> Acesso em: 29/06/2020.

DE CAMPOS, M. F.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. (2015). Desenvolvimento da parte aérea de plantas de soja em função de reguladores vegetais. **Ceres**, Viçosa, v.56, n.1, p.74-79.

DIDONET, D. A.; LIMA, O. S.; CANDATEN, M. H.; RODRIGUES, O. (2000). Realocação de nitrogênio e de biomassa para os grãos, em trigo submetido à inoculação de *Azospirillum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília**, DF, v. 35, p. 401-411.

DU JARDIN, P. (2015). Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. **Sci. Hort.**, 196, 3–14.

EGORENKOVA, IV, KONNOVA, SA, SKVORTSOV, IM, & IGNATOV, VV. (2000). Investigation of the initial stages of interaction of the bacterium *Azospirillum brasilense* with wheat seedling roots: Adsorption and root hair deformation. **Microbiology**, [s.l.], v. 69, n. 1, p.103-108, jan.

EMBRAPA- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. (2010). Capim BRS Piatã. Cultivar de *Brachiaria brizantha*. Campo Grande, MS: **Embrapa Gado de Corte**.

EUCLIDES, V.P.B; MACEDO, M.C.M, VALLE, C.B. (2005). Animal performance and productivity of new ecotypes of *Brachiaria brizantha* in Brazil. In: **International Grassland Congress**. Dublin, Ireland. p.120.

FAO- Food and Agriculture Organization of the United Nations (2015). Status of the world's soil resources (SWSR): main report.

FOLEY, J., RAMANKUTTY, N., BRAUMAN, K. ET AL. (2011). Solutions for a cultivated planet. **Nature** 478, 337–342. <https://doi.org/10.1038/nature10452>.

FONSECA, D.M.; SANTOS, M.E.R.; MARTUSCELLO, J.A. (2010). Importância das forrageiras no sistema de produção. In: FONSECA, D.M.; MARTUSCELLO, J.A. (Eds.). **Plantas forrageiras**. Viçosa: **Universidade Federal de Viçosa**, p.13-29.

FREITAS, R. A. S. M. (2016). **Variáveis de acúmulo de massa seca e teor nutricional de *Urochloa híbrida* submetida à aplicação de bioestimulante**. Trabalho de Conclusão de Curso- Universidade Federal de Uberlândia.

GIOVANETTI, M.; AVIO, L.; SBRANA, C. (2010). Fungal spore germination and pre-symbiotic mycelial growth – physiological and genetic aspects. In: Koltai, H.; Kapulnik, Y. (ed) **Arbuscular mycorrhizas: physiology and function**, Springer Dordrecht Heidelberg London-New York, pp. 4-32.

GONÇALVES, M. O. (2019). **Produtividade e teor de fibras em capim elefante brs Capiacu (*Pennisetum purpureum* Schum) fertirrigado com biofertilizante**. 2019. 22f. Trabalho de Final de Curso (Graduação em Engenharia Ambiental) – Universidade Federal de Juiz de Fora.

GROUNDWORK BIOAG (2021). Disponível em: <https://www.rootellabr.com.br/> Acesso em: 22 de dezembro de 2021.

GUIMARÃES, S. L.; dos SANTOS, C. S. A.; BONFIM-SILVA, E. M.; POLIZEL, A. C.; BATISTA, E. R. (2016). Nutritional characteristics of marandu grass (*Brachiaria brizantha* cv. marandu) subjected to inoculation with associative diazotrophic bacteria. **African Journal of Microbiology Research**, v. 10 (24), p. 873-882.

HALLMANN C.A., FOPPEN R.P.B., VAN TURNHOUT C.A.M., DE KROON, H., JONGEJANS, E. (2014) Declines in insectivorous birds are associated with high neonicotinoid concentrations. **Nature** 511:341–343.

HANISCH, A. L.; BALBINOT, A. A.; VOGT, G. A. (2017). Productive performance of *Urochloa brizantha* cv. Marandu as a function of inoculation with *Azospirillum* and nitrogen doses. **Revista Agro@mbiente On-line**, v. 11, n. 3, p. 200-208, 2017.

HARRISON, M. J. (2012). Cellular programs for arbuscular mycorrhizal symbiosis. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 15, p. 691-698.

HARTMANN, A; BALDINI, J.I. (2006). The genus *Azospirillum*. In: DWORKIN, M. (eds.) **The Prokaryotes**. New York: Springer, 2006, p.115-140.

HE, J. D.; CHI, G. G.; ZOU, Y. N.; SHU, B.; WU, Q. S.; SRIVASTAVA, A. K.; KUČA, K. (2020). Contribution of glomalin-related soil proteins to soil organic carbon in trifoliolate orange. **Appl Soil Ecol**, 154:103592.

HOLGUIN, G.; PATTEN, C. L.; GLICK, B. R. (1999). Genetics and molecular biology of *Azospirillum*. **Biology And Fertility Of Soils**, [s.l.], v. 29, n. 1, p.10-23, 7 abr.

HUNGRIA, M. (2011). Documento 325: Inoculação com *Azospirillum* brasileiro: inovação em rendimento a baixo custo. Londrina: **Embrapa**, 36 p.

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

KLEINSCHMITT, E. (2018). Desenvolvimento e produtividade da cultura do milho (zea mays) em resposta à inoculação de *azospirillum* brasileiro e ao uso de fertilizantes bioindutores. **Curitiba SC**.

KÖHLER H.R. AND TRIEBSKORN, R. (2013). Wildlife ecotoxicology of pesticides: can we track effects to the population level and beyond? **Science**. Aug 16;341(6147):759-65. doi: 10.1126/science.1237591. PMID: 23950533.

LUGTENBERG, B. (2015). Principles of Plant-Microbe Interactions: Microbes for Sustainable Agriculture; Lugtenberg, B., Ed.; **Springer: Cham, Switzerland**; pp. 1–15.

- MALAVOLTA, Euripedes. (1980). Elementos de nutrição mineral de plantas. São Paulo, **Agrônômica “Ceres”**, 251-254p.
- MAZID, M. & KHAN, T.A. (2015). Future of Bio-fertilizers in Indian Agriculture: An Overview. **International Journal of Agricultural and Food Research**, 3, 10-23.
- MEDINA, J. F. A.; GARZA, M. B. I.; PRADO, A. D.; CABRERA, O. G.; PENÁ DEL RIO, M. de Los A.; OSTI, C. L.; BAEZA, A. G. (2010). Los biofertilizantes microbianos: alternativa para la agricultura em México. Chiapas, México: **Centro de Investigación Regional Pacífico Sur**.
- MENDES, L.W. et al. (2014). Taxonomical and functional microbial community selection in soybean rhizosphere. *The ISME Journal*, New York, v. 8, p. 1577– 1587.
- MENG, L. L.; HE, J. D.; ZOU, Y. N.; WU, Q. S.; KUČA, K. (2020). Mycorrhizareleased glomalin-related soil protein fractions contribute to soil total nitrogen in trifoliolate orange. **Plant Soil Environ**, v.66 p.183–189.
- MOREIRA, F. S.; SIQUEIRA, J. O. (2006). **Microbiologia bioquímica do solo**. 2. ed. Lavras: UFLA.
- MUTAI, C.; NJUGUNA, J.; GHIMIRE, S. (2017). *Brachiaria* Grasses (*Brachiaria* spp.) harbor a diverse bacterial community with multiple attributes beneficial to plant growth and development. **Microbiology Open**, v. 6:e497, p. 1-11.
- ODEGARD, R.Y.I. AND VOET, E.V.D. (2014). The future of food - scenarios and the effect on natural resource use in agriculture in 2050. **Ecological Economics**, 97, p. 51–59.
- OLIVEIRA, F. A.; MEDEIROS, J. F.; CUNHA, R. C.; SOUZA, M. W. L.; LIMA, L. A. (2016). Uso de bioestimulante como agente amenizador do estresse salino na cultura do milho pipoca. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 47, n. 2, p. 307-315.
- ROCHA, A. F. de S.; COSTA, R. R. G. F. (2018) Desempenho de *Urochloa brizantha* cv. Paiaguás inoculada com *Azospirillum brasilense* e diferentes doses nitrogênio. **Global Science and Technology**, v.11, n.03, p.177-186, 2018.
- ROUPHAEL, Y.; COLLA, G. (2020). Biostimulants in Agriculture. **Front. Plant Sci.**, 11, 40.
- SENA, J. O. A.; ; STEFANUTTI, R.; DONHA, R. M. A.; CARDOSO, E. J. B. N. (2014). Cinética de absorção com doses de fósforo e fungos micorrízicos arbusculares em *Nicotiana tabacum*. **Científica, Jaboticabal**, v.42, n.3, p.294-298.
- SILVA, I.F. da ; MIELNICZUK, J. (1997). Ação do sistema radicular de plantas na formação e estabilização de agregados do solo. **Revista brasileira de Ciência do Solo**, v.21, n.1, p. 113-117.
- SMITH, S. E.; READ, D. J. (2008). Mycorrhizal symbiosis. 3. ed. Boston: **Academic Press**, 787 p.

SMITH S. E, FACELLI E, POPE S, SMITH FA. (2010). Plant performance in stressful environments: Interpreting new and established knowledge of the roles of Arbuscular Mycorrhizas. **Plant Soil** 326:3-20.

SOUZA, V. C.; SILVA, R. A.; CARDOSO, G. D.; BARRETO, A. F. (2006). Estudos sobre fungos micorrízicos. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. v. 10, n. 3, p. 612-618.

SOUZA, F. A. de; SILVA, I. C. L. da; BERBARA, R. L. L. (2008). Fungos micorrízicos arbusculares: muito mais diversos do que se imaginava. In: MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O.; BRUSSAARD, L. (Ed.). Biodiversidade do solo em ecossistemas brasileiros. Lavras: UFLA, p. 482-536.

SOUZA, F. A.; GOMES, E. A.; VASCONCELOS, M. J. V.; SOUSA, S. M. (2011). Micorrizas arbusculares: perspectivas para aumento da eficiência de aquisição de fósforo (P) em Poaceae (gramíneas). Sete Lagoas: **Embrapa Milho e Sorgo**.

SPAGNOLETTI, F.; LAVADO, R. S. (2015). The Arbuscular Mycorrhiza Rhizophagus intraradices Reduces the Negative Effects of Arsenic on Soybean Plants. **Agronomy**.

STRACK, D. et al. (2003). Arbuscular mycorrhiza: biological, chemical, and molecular aspects. **J Cheml Ecol**, v.29, n.9, p.1955-1979. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1023%2FA%3A1025695032113>>> Acesso em: 29/06/2020.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. (2009). **Fisiologia vegetal**. 4 ed. Porto Alegre, Artmed. 719p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. (2017). **Fisiologia Vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed. 954 p.

TEIXEIRA, F. O. P., BOTELHO, S. A., DE MELO, L. A., FIA, R., TEIXEIRA, G. A. P. (2017). Efeito da disposição de efluentes da bovinocultura no solo e na biomassa vegetal. **doi.org/10.13083/reveng**. v25i4.783.

THAKUR, M. P., VAN DER PUTTEN, W. H., COBBEN, M. M. P., VAN KLEUNEN, M. & GEISEN, S. (2019). Microbial invasions in terrestrial ecosystems. **Nature Reviews Microbiology** 17, 621–63.

TILMAN, D., CASSMAN, G. K., MATSON, A. P., NAYLOR, R. AND POLASKY, S. (2002). **Agricultural sustainability and intensive production practices**. Nature 418:671–677.

VALLE, C. B. do; EUCLIDES, V.; VALERIO, J.; MACEDO, M.; FERNANDES, C.; DIAS FILHO, M. (2007). Brachiaria Brizanta Cv. Piatã: Uma Forrageira Para A Diversificação De Pastagens Tropicais. **Seed News**. v. 11, n. 2, p. 28-30.

VAN LOON, L. C., GLICK, B.R. (2004). Increased plant fitness by rhizobacteria. **Research Gate**, DOI: 10.1007/978-3-662-08818-0_7.

VITOR, C. M. T., FONSECA, D. M. D., CÓSER, A. C., MARTINS, C. E., NASCIMENTO JÚNIOR, D. D., & RIBEIRO JÚNIOR, J. I. (2009). Produção de matéria seca e valor nutritivo de pastagem de capim-elefante sob irrigação e adubação nitrogenada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 38(3), 435-442.

YANG, L.; ZOU, Y. N.; TIAN, Z.H.; WU, Q. S.; KUČA, K. (2021). Effects of beneficial endophytic fungal inoculants on plant growth and nutrient absorption of trifoliolate orange seedlings. **Sci Horti**c, 277:109815.

YAO, Q.; LI, X. L.; FENG, G.; CHRISTIE, P. (2001). Mobilization of sparingly soluble inorganic phosphates by the external mycelium of an arbuscular mycorrhizal fungus. **Plant and Soil**, The Hague, v. 230, p. 279-285.

II OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Avaliar os efeitos da inoculação com microrganismos promotores de crescimento vegetal, sobre as características produtivas e fisiológicas da *Urochloa brizantha* cv. BRS Piatã.

2.2. Objetivos específicos

- Avaliar o efeito da inoculação dos microrganismos sobre as características produtivas de biomassa, produção de massa seca da parte aérea, desenvolvimento do resíduo e raiz da *Urochloa brizantha* cv. BRS Piatã;
- Quantificar a área foliar, área foliar específica, razão da área foliar, teores de pigmentos fotossintético e volume de raiz da *Urochloa brizantha* cv. BRS Piatã, inoculadas com *Azospirillum brasilense* e *Rhizophagus intraradices*;
- Quantificar os teores de matéria seca, proteína bruta, cinzas e componentes da parede celular da *Urochloa brizantha* cv. BRS Piatã, inoculadas com *Azospirillum brasilense* e *Rhizophagus intraradices*;

III MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Local e período experimental

O experimento foi executado na casa de vegetação, localizada na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB)- *campus Juvino Oliveira*, com coordenadas geográficas: 15°38'46" de latitude sul, 40°15'24" de longitude oeste e altitude de 280 m, no município de Itapetinga-Bahia no período de outubro (2020) a janeiro (2021).

A temperatura e a umidade do ar durante o período experimental foram monitoradas diariamente através de termo higrômetro de máxima e mínima, instalado no interior da casa de vegetação (Figura 01).

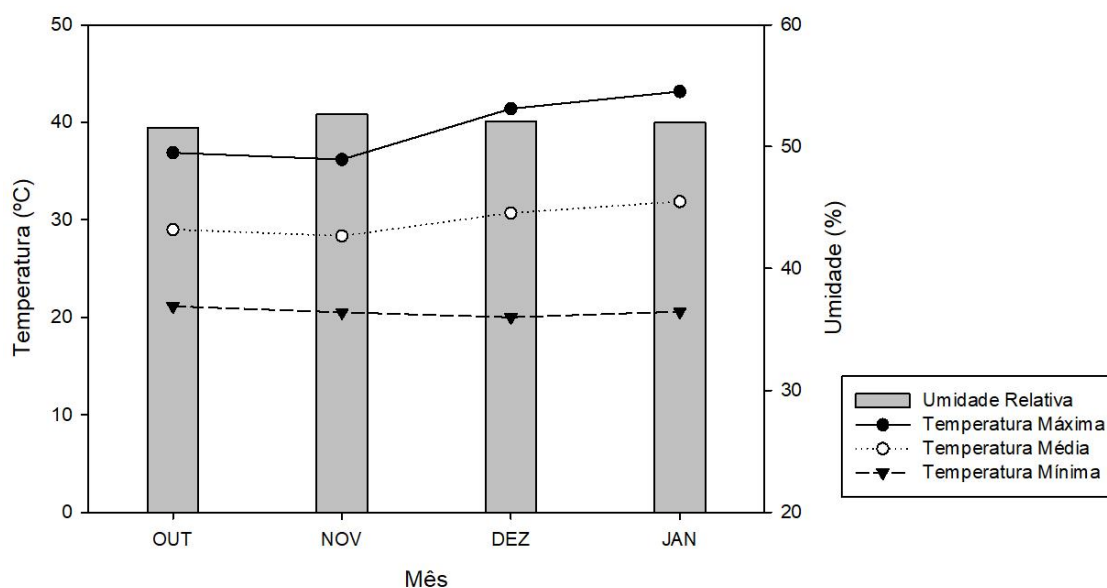


Figura 01. Dados de umidade relativa, temperatura máxima, mínima e média do período experimental.

3.2. Tratamentos, protocolos de inoculação e semeadura

O experimento foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial 1x4, com uma espécie de gramínea (*Urochloa brizantha* cv. BRS Piatã) e quatro protocolos de inoculação:

- Controle (sem inoculação microbiana);
- 100% *Azospirillum brasilense* (Azos);

- 100% *Rhizophagos intraradices* (Rhizo);
- Co inoculação (Azos+ Rhizo)

Sendo 5 repetições, totalizando 20 unidades experimentais.

Vinte vasos, com capacidade de 10 kg de solo seco foram utilizados no experimento. O solo utilizado para o preenchimento dos vasos, foi coletado na UESB, na camada arável (0-20 cm) de profundidade, posteriormente foi destorroado e passado em peneira com malha de quatro milímetros. Uma amostra de solo, foi retirada e enviada para o Laboratório de Solos do Departamento de Engenharia Agrícola e Solos da UESB, para as análises físicas e químicas (Tabela 1).

Tabela 1. Análise química do solo

pH	*mg/dm ³	 *cmol/dm ³ de							%	g/dm ³
	P	K ⁺	solo.....						V ⁴		
(H ₂ O)			Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H ⁺	S.B ¹	t ²	T ³		
6,4	14	0,87	1,6	1,7	0,0	1,7	4,2	4,2	5,9	71	12

¹Soma de bases, ²CTC efetiva, ³CTC pH, ⁴Saturação por bases, ⁵Saturação por Al³⁺, ⁶Matéria orgânica

Conforme os resultados da análise, o solo foi caracterizado com uma textura Franco Arenosa, e seguindo as recomendações da Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais - 5º aproximação (Alvarez & Ribeiro, 1999), no qual para a *Urochloa brizantha* cv. BRS Piatã é definida como médio nível tecnológico. Realizando uma adubação de manutenção, onde a adubação fosfatada foi com 50 kg.ha⁻¹ de P₂O₅, (1,39 g de superfosfato triplo por vaso), a adubação nitrogenada com 50 kg de N/ha (0,57 g de ureia por vaso). A adubação foi realizada antes do plantio, em todas as unidades experimentais.

O ensaio experimental teve duração de 120 dias, sendo 56 dias de coleta divididos em 2 intervalos de corte.

Para determinação da capacidade de campo (CC), os vasos foram preenchidos com solo totalmente seco, encharcados com água por 72 horas, em seguida, pesados diariamente até apresentarem o escoamento total da água. Esse peso final encontrado correspondeu ao peso do solo próximo à capacidade de campo, e foi utilizado para o reestabelecimento das perdas por evapotranspiração.

3.2.1. Aplicação dos inoculantes

Antes da realização da semeadura, a inoculação dos FMA foi realizada adicionando o inoculante do Novatero BioAg à base de *Rhizophagus intraradices*, ao solo, numa camada uniforme. O Rootella BR, nome comercial do produto, é o único produto a ser comercializado em larga escala no mercado nacional. São cerca de 20.800 propágulos/g em 1 hectare. O mesmo possui como recomendação 120 g.ha⁻¹ de pastagem.

Sendo assim, em cada unidade experimental foi disposto no solo 0,6 mg do fungo, conforme as orientações do fabricante.

Antes da semeadura, as sementes foram selecionadas e passaram por um processo de assepsia utilizando solução comercial de hipoclorito de sódio (Q-boa®) a 2%, por 10 minutos, com posterior lavagem em água corrente para remover resíduo de hipoclorito.

Para a inoculação das bactérias diazotróficas, utilizou-se o Azo Total Max, um inoculante à base de *Azospirillum brasilense*. As estirpes bacterianas presente no produto são as AbV5 e AbV6 na concentração de 2,0 x 10⁸ UFC/mL garantida pelo fabricante até a data do vencimento. Segundo o fabricante, as formas de aplicação podem ser realizadas via semente ou via foliar. Neste ensaio experimento, a utilização do inoculante foi realizada via semente.

As sementes utilizadas no tratamento com inoculante foram embebidas por 1 hora em uma solução de 2 mL diluídas em 100 mL de água. As recomendações do fabricante são 100 mL do produto (Azo Total) para 5kg de sementes.

A semeadura foi realizada em 18 de outubro de 2020, utilizando-se cerca de 25 sementes por vaso da espécie *Urochloa brizantha* cv. BRS Piatã, vendidas comercialmente.

Após 26 dias do plantio, realizou-se um desbaste, mantendo-se quatro plantas por vaso, tendo como requisito na escolha, o vigor e a homogeneidade das plantas. No 20º dia após o desbaste, foi realizado o corte de uniformização das plantas adotando a altura média de resíduo de 15 cm do solo e a partir da uniformização iniciou-se as avaliações.

Ao final do período experimental, foi realizado os desmanches dos vasos por tratamento, utilizando água corrente e fez-se a retirada das amostras para avaliação, e posteriormente a dessecação (raiz, colmo e folha) e assim determinada a matéria natural (MN) e matéria seca (MS) de cada componente da planta.

3.3. Variáveis analisadas

3.3.1. Características morfogênicas e estruturais

Para o estudo do crescimento e desenvolvimento das plantas, utilizou-se dois perfilhos por vasos que foram marcados com fitas coloridas, onde, após o corte de uniformização, foram avaliadas, a cada três dias durante todo o período de crescimento da planta (em cada período experimental) as seguintes características: aparecimento do ápice foliar; comprimento do colmo; número de folhas; comprimento e largura da folha.

A partir desses dados, foram calculadas as características morfogênicas e estruturais:

- Filocrono (dia/folha/perfilho): inverso matemático da taxa de aparecimento de folhas.
- Taxa de aparecimento foliar (TApF, folhas/perfilho/dia): obtida pela divisão do número de folhas surgidas nos perfilhos marcados de cada vaso pelo número de dias do período de avaliação.
- Taxa de alongamento foliar (TAIF, cm/perfilho/dia): calculada pela diferença entre os comprimentos foliares, final e inicial, dividido pelo número de dias do período de avaliação.
- Largura da folha (LF, cm): largura média das lâminas foliares completamente expandidos.
- Taxa de alongamento do colmo (TAIC, mm/perfilho/dia): obtida pela diferença entre o comprimento final e inicial do colmo de cada perfilho, medido do nível do solo até a altura da lígula da folha mais jovem, dividido pelo número de dias do período de avaliação.
- Altura da planta (ALT,cm).
- Comprimento final do colmo (CFC,cm).
- Comprimento total da planta (CTP, cm).

3.3.2. Produção de massa seca e volume de raiz

Para avaliar a matéria seca, os vasos de cada rebrota foram desmontados com o auxílio de água corrente, retirando-se as plantas inteiras, onde posteriormente foram dissecadas em folha, colmo, raiz e resíduo (no segundo período). A amostra de parte aérea (folha + colmo) foi considerada acima da linha de corte de 15 cm preconizada e o resíduo

correspondeu a produção abaixo da linha de corte, onde os dados de produção foram apresentados em kg de MS.ha⁻¹, considerando-se a área do vaso de 0,07065 m².

Assim, para determinação da produção de forragem, foram avaliadas as seguintes características agronômicas: produção de massa seca total da planta (PMS) (Kg/parcela), produção de massa seca de raiz (PMSr) (g/parcela), estimado através da divisão entre o peso verde da amostra e a densidade populacional de perfilhos.

Para avaliação das raízes, além da massa fresca e seca, determinou-se o volume, para isso utilizou-se uma proveta com quantidade de água conhecida, onde a raiz fresca foi introduzida e, por meio da diferença de volume foi obtido o volume de raiz.

3.3.3. Área foliar e análise de crescimento

Para quantificar a área foliar, as folhas das quatro plantas presentes em cada vaso foram escaneadas. As imagens digitalizadas foram utilizadas para a determinação das áreas foliares pelo programa computacional ImageJ. Esse programa determina a área da imagem ocupada pelas folhas pelo contraste com a área não ocupada.

Os cálculos de área foliar (AF), área foliar específica (AFE, cm²/g), índice de área foliar (IAF), razão área foliar (RAF, cm²/g), foram realizados conforme equações definidas por Cairo, Oliveira & Mesquita (2008).

3.3.4. Composição bromatológica

Logo após o corte, as amostras da *Urochloa brizantha* cv. BRS Piatã foram devidamente identificadas, dissecada (folha, colmo, resíduo e raiz) e pesada para posterior determinação da produção de matéria seca da forragem.

Para a determinação da pré-secagem, o material identificado foi pesado a massa fresca (MF) e após pré-seca em estufa de circulação forçada a 55° C por 72 horas, foi moído em moinho do tipo Wille, a aproximadamente 1 mm.

Após a moagem, foi realizada a determinação da matéria seca definitiva, seguindo a metodologia desenvolvida por Detmann et al. (2012).

Foram determinadas as seguintes análises químico-bromatológicas:

- Matéria seca (MS; Método INCT-CA G-003/1);
- Proteína bruta (PB; 152 (nitrogênio total x 6,25) (Método INCT-CA N-001/1);
- Fibra em detergente neutro (FDN) (Método INCT-CA F002/1);
- Fibra em detergente ácido (FDA) (Método INCT-CA F-004/1);
- Lignina (H₂SO₄ 72% p/p).

3.4. Análise fisiológica

3.4.1. Clorofila e carotenoides

A avaliação dessa variável foi realizada no dia anterior a cada corte, onde coletou-se duas folhas totalmente expandidas para avaliação da clorofila e a leitura das folhas pelo método SPAD.

A determinação dos teores de clorofila e carotenoides foi realizada segundo a metodologia descrita por Hiscox & Israelstam (1979), onde aproximadamente 0,03 g da massa fresca da folha coletada de cada vaso foi colocada em um frasco de vidro contendo 5ml de Dimetilsulfóxido (DMSO) e envolvidos com papel alumínio. Após identificados os frascos foram deixados no escuro por 72 horas.

Após as 72 horas foi realizada a quantificação em espectrofotômetro nos comprimentos de onda de 665, 649 e 480 nm.

Os cálculos das clorofilas e dos carotenoides foram realizados por meio das seguintes fórmulas (Wellburn, 1994), com os valores ajustados para $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ de matéria fresca:

- Clorofila a = $(12,19 \times A_{665}) - (3,45 \times A_{649})$;
- Clorofila b = $(21,99 \times A_{649}) - (5,32 \times A_{665})$;
- Clorofilas totais = Clorofila a + clorofila b;
- Razão clorofila a/b: Clorofila a / Clorofila b;
- Carotenoides = $[1000 \times A_{480} - (2,14 \times \text{Clorofila a}) - (70,16 \times \text{Clorofila b})] / 220$

3.4.2. Índice SPAD

Para determinação do índice SPAD foi utilizado o aparelho SPAD 502 plus para fazer a leitura das folhas. Para a leitura, duas folhas por vaso foram coletadas, sempre por volta das 10 horas da manhã. Realizou-se 3 leituras, sendo feitas no terço médio de cada folha completamente expandidas.

3.5. Análise estatística

Os dados foram analisados e submetidos à análise de variância utilizando o programa estatístico SAS- Free Statistical Software, SAS University Edition. O modelo

utilizado inclui o efeito do fator espécie e protocolos de inoculação, e também a interação espécie e protocolos de inoculação, como descrito abaixo:

$$Y_{ijk} = \mu + G_i + S_j + (G*S)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Onde:

Y_{ijk} = valor na parcela que recebeu o nível i do fator gramínea, o nível j do protocolo de inoculação, na repetição k ;

μ = média geral do experimento;

G = efeito do nível i do fator gramínea ($i = 1$);

S = efeito do nível j do fator protocolo de inoculação ($j = 1, 2, 3, 4$);

$G*S$ = efeito da interação entre os níveis i do fator gramínea e dos níveis j do fator protocolo de inoculação;

ϵ = efeito do erro experimental associado às observações Y_{ijk}

Paras as variáveis cujo efeito foi significativo, desdobraram-se de acordo com os fatores envolvidos, e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey, admitindo-se 5% de probabilidade.

IV RESULTADOS E DISCUSSÃO

A produção de massa seca da parte aérea (PMSPA), representou um aumento percentual de 42,05% utilizando o inóculo a base de *Azospirillum brasilense*, em detrimento aos demais protocolos de inoculação, os quais não diferiram estatisticamente entre si (Figura 2). Bactérias promotoras de crescimento em plantas (BPCP) do gênero *Azospirillum* auxiliam na captação do nitrogênio disposto no solo favorecendo assim um alto potencial produtivo da parte aérea.

Sabe-se que o nitrogênio é o principal nutriente para manutenção da produtividade das gramíneas forrageiras (Costa et al., 2006). Segundo Valle et al. (2009) e Jank et al. (2011), a produção de forragem é uma das principais características buscadas quando se objetiva ganhos diretos em produtividade animal.

Os resultados obtidos no presente estudo, corroboram com os resultados de estudos de Hungria et al. (2016) e Okumura et al. (2013), que o *A. brasilense* tem facilidade de se associar com gramíneas do gênero *Brachiaria*, essa associação resulta em um aumento da biomassa e uma melhor qualidade da forragem.

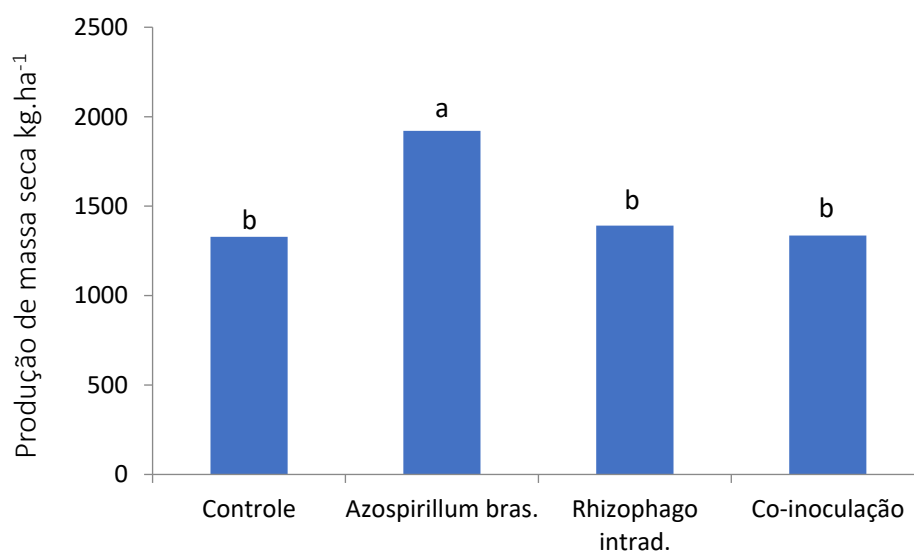


Figura 2. Produção de massa seca da parte aérea (PMSPA) da *Urochloa brizantha* cv. BRS Piatã inoculada com *Azospirillum brasilense* e *Rhizophagos intraradices*.

Em estudos com baixo nível de adubo nitrogenado ($50 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$) e inoculação com *A. brasilense*, pastos de *Urochloa brizantha* cv. Paiaguás, tiveram ganhos significativos de 56%, 20% e 42% em produção de forragem, relação lâmina: colmo e número de perfilho, respectivamente (Rocha e Costa, 2018). Hungria et al. (2016), avaliaram em pastagem de *Brachiaria spp.* (*Urochloa spp.*), adubada com $40 \text{ kg de N ha}^{-1}$ e inoculadas com *A. brasilense*, relatando ganho médio de 22,1% na produção de biomassa em relação a não inoculada.

Barassi et al. (2008) relataram que em consequência do desenvolvimento das raízes promovido pelo *Azospirillum*, as plantas apresentaram entre outros benefícios, uma maior produção de biomassa. Os microrganismos diazotróficos do gênero *Azospirillum* podem desempenhar importante papel na reabilitação e sustentabilidade dos ecossistemas uma vez que incorporam N por meio da fixação biológica em quantidade que pode variar de 25 a $50 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ e ainda produzem e liberam substâncias reguladoras de crescimento vegetal, como auxinas, giberilinas e citocininas, as quais contribuem para melhorar a nutrição mineral e utilização de água pelas plantas (Bazzicalupo & Okon, 2000; Oliveira et al., 2009).

Leite et al. (2018) avaliaram a inoculação do *Azospirillum brasilense* em *Brachiaria brizantha* cv. Marandu e foi possível observar que as plantas inoculadas apresentaram acúmulo diário de forragem em 12,5% a mais que as plantas não inoculadas quando não adubadas e 11% a mais no acúmulo de massa anual.

Avaliando a produção de matéria seca do resíduo (PMSRE), a co inoculação promoveu uma produção superior ($25,84$ vs $17,63$ a $17,36 \text{ kg/MS}$) (Tabela 2). Esse efeito foi proveniente do incremento na absorção de fósforo pelos FMA, propiciando melhores condições para o estabelecimento da associação com as bactérias diazotróficas e para o funcionamento da nitrogenase, demonstrando a influência e quanto esses nutrientes são de extrema importância nos processos produtivos.

A inoculação conjunta de bactérias diazotróficas e de fungos micorrízicos tem eficiência comprovada pela pesquisa em diferentes espécies, conferindo benefícios na nutrição, promoção de crescimento e proteção das mudas (Borges et al., 2003).

Mesmo que todas as plantas tiveram a mesma altura de corte (15 cm), a associação desses microrganismos favoreceu que as plantas apresentassem caules mais grossos, o que está relacionado a uma maior quantidade de reservas, favorecendo a rebrota e o perfilhamento.

Ao avaliar a produção de massa seca da raiz (PMSRA), houve efeito significativo no tratamento que foi inoculado com *Rhizophagos intraradices* e a co inoculação (Tabela 2).

Por funcionarem como uma extensão das raízes, as associações micorrízicas aumentam a área de exploração radicular, sendo importantes para a absorção eficiente de nutrientes e água por algumas plantas terrestres (Cardoso & Andreote 2016).

Tabela 2. Produção de massa seca do resíduo (PMSRE) e massa seca da raiz (PMSRA) da *Urochloa brizantha* cv. BRS Piatã inoculadas com inoculada com *Azospirillum brasilense* e *Rhizophagos intraradices*.

PMSRE Kg/MS				
	Protocolo de inoculação			Média
Controle	AZOS ²	FMA ³	Co- inocul. ⁴	
17,63b	15,96b	17,36b	25,84 ^a	19,20
¹ CV %	17,05			
PMSRA Kg/MS				
	Protocolo de inoculação			Média
Controle	AZOS ²	FMA ³	Co- inocul. ⁴	
28,58b	23,04b	40,01a	58,62 ^a	37,56
¹ CV %	34,51			

¹Coefficiente de variação em porcentagem; ²Azospirillum brasilense; ³Rhizophagos intrad.; ⁴A. brasilense+ Rhizophagos intrad. Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

A importância do desenvolvimento das raízes no crescimento das plantas se dá através da fixação da planta no solo e extração de água e nutrientes. Assim, é possível observar a produtividade de culturas que possuem rápido desenvolvimento do sistema radicular, pois a sua ocupação nas diferentes camadas do solo, comprimento e volume, são os responsáveis por mudanças na produtividade da parte aérea das forrageiras (Corsi et al., 2001).

Ao analisar o volume de raiz (Tabela 3), notou-se que os tratamentos em que ocorreram a inoculação de *A. brasilense* e *R. intraradices* apresentaram valores superiores em relação as plantas não inoculadas (controle), sendo que a produção de volume de raiz foi significativamente maior nas plantas em que foi realizada a co inoculação. Provavelmente, o efeito estimulante da entrada simultânea de fósforo e nitrogênio ao solo ativou a atividade desses microrganismos favorecendo um maior desenvolvimento das raízes, e esse efeito também foi relatado por (Jiang et al., 2018).

Resposta extremamente valiosa, já que as raízes possuem como principal função a captura e absorção de nutrientes no solo, desta forma, sabe-se que os fungos em

simbiose com a planta emitem hifas justamente com o intuito de aumentarem a superfície de contato da planta e conseqüentemente absorverem maiores quantidade de nutrientes.

O efeito estimulante da entrada simultânea de fósforo e nitrogênio ao solo ativou a atividade das bactérias e fungos, aumentando a taxa de crescimento e maior desenvolvimento das raízes (Jiang et al., 2018)

A co inoculação de FMA e BFN pode desencadear efeitos sinérgicos entre eles e a planta, amplificando suas funções positivas (Antunes et al, 2006).

Tabela 3. Relação folha/colmo e volume de raiz da da *Urochloa brizantha* cv. BRS Piatã inoculadas com inoculada com *Azospirillum brasilense* e *Rhizophagos intraradices*.

Volume de raiz				
Protocolo de inoculação				Média
Controle	AZOS ²	FMA ³	Co- inocul. ⁴	
38,00b	52,00b	40,00b	72,00a	50,5
¹ CV%	21,24			

Relação folha/colmo				
Protocolo de inoculação				Média
Controle	AZOS ²	FMA ³	Co- inocul. ⁴	
4,19 ^a	4,05a	4,02a	4,59a	4,21
¹ CV%	29,74			

¹Coefficiente de variação em porcentagem; ²Azospirillum brasilense; ³Rhizophagos intraradices.; ⁴A. brasilense+ Rhizophagos entrar.. Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

O estabelecimento da simbiose se inicia pela ativação dos propágulos do fungo (esporos) que germinam e formam um tufo de hifas na rizosfera. Quando as hifas no solo reconhecem uma fina raiz emergindo da planta hospedeira, conduzem o crescimento em direção a estas raízes e colonizam a superfície formando um manto de hifas, cercando-as e isolando-as do solo ao redor (Bertolazi et al., 2010).

Na associação das bactérias diazotróficas com as raízes das plantas, as bactérias captam exsudados liberados pela planta na região rizosfera e, por sua vez, elas fornecem para a planta hospedeira excreção de auxinas, entre outras substâncias, que induzem o crescimento e proliferação das raízes secundárias e pelos radiculares que favorecem uma maior absorção de nutrientes (Hungria et al., 2016).

Não houve efeito significativo (P>0,05), dos microrganismos na *Urochloa brizantha* cv. BRS Piatã para a variável relação folha/colmo (Tabela 3). Visto que o solo

utilizado no experimento não foi esterilizado e que contem microrganismos benéficos. Dessa forma, os microrganismos inoculados não apresentaram uma resposta superior em relação aos microrganismos nativos.

Para Pinto et al. (1994) com o avanço do desenvolvimento da planta forrageira, ocorre o alongamento do caule e a fração folha é reduzida progressivamente, havendo maior aporte de assimilados na parte reprodutiva da planta que na vegetativa, resultado na redução da relação F/C.

Rodrigues et al. (2008) explica que culturas de hábito de crescimento ereto, assim como a *Brachiaria*, tem alongamento do colmo, resultando no aumento de produção de biomassa, porém com baixa relação F/C, comprometendo a qualidade da forragem e reduzindo o ganho de peso animal.

Entre as variáveis morfológicas e estruturais foi identificado efeito significativo apenas para largura final da folha (LFF) e altura da planta (ALT) onde os tratamentos Azos, Rhizo e a co inoculação obtiveram valores significativos para (LFF) e o tratamento co- inoculado obteve valor significativo para ALT em relação aos demais (Tabela 4).

A largura final da folha (LFF), obteve melhores resultado com o Azos, FMA e a Co- inoculação ($P > 0,05$), a utilização desses microrganismos beneficiou uma maior captação e disponibilidade de nutrientes que favoreceram o melhor desenvolvimento e aumento da largura das folhas. O nitrogênio e o fósforo desempenham um papel fundamental no metabolismo vegetal por participam diretamente na biossíntese de proteínas que vão favorecer no melhor desenvolvimento e expansão foliar (Andrade et al., 2003).

Tabela 4. Características morfológicas e estruturais da *Urochloa brizantha* cv. BRS Piatã inoculadas com inoculada com *Azospirillum brasilense* e *Rhizophagos intraradices*.

Variável	Protocolos de inoculação				P valor	CV ¹
	Controle	<i>Azos brasil.</i>	Rhiz intr.	Co-inoc.		
TApF ² (folha/dia)	0,2442a	0,2481a	0,2440a	0,2556a	***	12,61
FILO ³ (dia/folha)	4,28a	4,10a	4,17a	4,13a	***	9,73
TAiF ⁴ (cm/dia)	1,81a	2,00a	2,31a	2,21a	0,5481	23,31
TAIC ⁵ (cm/dia)	0,35a	0,28a	0,33a	0,30a	0,4484	25,23
LFF ⁶ (cm)	1,40b	1,57a	1,56a	1,58a	0,0000	1,10
ALT ⁷ (cm)	38,58b	43,76a	42,55a	36,37b	0,0189	5,12

¹Coefficiente de variação; taxa de aparecimento foliar², filocrono³, taxa de alongamento foliar⁴, taxa de alongamento do colmo⁵, largura final da folha⁶, altura da planta⁷. *** Valores elevados de P. Médias seguidas de mesma letra minúscula, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

As folhas são as partes das plantas que possuem maior digestibilidade, por isso é de grande importância a maior presença desse composto. Além disso, o uso desses microrganismos deve ser mais recomendado por serem agentes biológicos, isto é, menos prejudiciais ao meio ambiente, tendo em vista que adubos químicos são produzidos a partir de combustíveis fósseis e nesse processo são emitidos gases de efeito estufa.

Em termos fisiológicos e bioquímicos, algumas respostas vem sendo encontradas com a interação dos FMA com as plantas, além de proporcionar uma maior captação e disponibilidade de P esses fungos proporcionam o aumento da atividade de ATPase na membrana periarbuscular, aumento da atividade de invertase, alteração do nível de hormônios, aumento da taxa de respiração das raízes, das taxas de fotossíntese, da absorção de nutrientes, da taxa de crescimento e da área foliar, aumento das taxas de transpiração e redução da resistência estomática e síntese de proteínas relacionadas com a simbiose (Smith et al., 2010). Como o *A. brasilense* tem como objetivo fornecer uma maior captação do nitrogênio do solo, por isso que esse tratamento teve um maior valor.

Segundo Martuscello et al. (2015), além dessa influência, o N é constituinte de muitas moléculas que atuam diretamente na formação da estrutura vegetal, por meio da síntese de compostos orgânicos e, dessa forma, reflete na estrutura da planta, tanto em características estruturais, quanto morfogênicas. Assim, maior área para captação de energia promove maior acúmulo de biomassa.

Sousa (2014), em seu experimento com *Urochloa brizantha* cv. Marandu observou que os tratamentos com a aplicação de *Azospirillum spp.* promoveram 8% mais folhas em relação a ausência de inoculação. Além disso, houve um significativo aumento na taxa de alongamento (22,39%), e de alargamento de folha (20,81%), o que resulta em maior área fotossinteticamente ativa.

Plantas inoculadas com *Azospirillum* e *Rhizophagos* apresentaram maiores alturas (ALT), diferindo-se do tratamento controle e a co-inoculação os quais não diferiram entre si apresentando uma média de 37,47 cm.

Com isso, pode-se verificar que a inoculação de *A. brasilense* e *R. intraradices* empregados isoladamente ou de forma sinérgica atuam no melhor desenvolvimento e aumento da produtividade da cultivar avaliada. Esse efeito se deu, pois, a utilização de microrganismos promotores de crescimento resulta na maior produção de hormônios de crescimento, maior fixação biológica de nitrogênio e solubilização de fósforo, pelas bactérias diazotróficas e fungos micorrizicos arbusculares (Santos et al., 2018).

O fósforo está presente em todas as células vivas, na forma biomoléculas como proteínas quinases, ácidos nucleicos, adenina trifosfato (ATP) e lipídios das membranas

celulares. Em nutrição vegetal é um macronutriente, sendo requerido em grande quantidade pelas plantas, pois participa de processos vitais para a células vegetais: metabolismo energético, transdução de sinais e fotossíntese (Barra et al., 2019).

Os efeitos positivos da micorrização sobre o crescimento e absorção de fósforo em gramíneas forrageiras dos gêneros *Brachiaria*, *Andropogon*, *Panicum* e *Sorghum* foram relatados em diversos trabalhos (Smith et al., 2003; Carneiro et al., 2007; Costa et al., 2007; Souza et al., 2011).

Estudos com *Rhizophagus intraradices* mostraram o efeito da inoculação dessa espécie no crescimento das plantas em diferentes condições ambientais (Ardakani et al., 2011; Bidondo et al., 2011; Meghvansi & Mahna, 2009; Sena et al., 2014; Spagnoletti & Lavado, 2015), perceberam que os FMA favoreceram a nutrição mineral e o crescimento das plantas por diferentes mecanismos.

As bactérias diazotróficas, que são consideradas promotoras de crescimento vegetal por possuírem a capacidade de fixar nitrogênio (N₂) para a planta, e de produzir hormônios de crescimento como auxinas e giberelinas, que estimulam o crescimento vegetal principalmente das raízes, atuando na maior absorção de nutrientes e água (Dobbelaere et al., 2002).

Ramos et al., (2010) constataram maior altura de plantas de milho nos tratamentos que envolveram a inoculação das sementes com *Azospirillum* sp em relação ao tratamento testemunha.

Guimarães et al. (2016) trabalhando com *B. brizantha* cv. Marandu inoculadas com *Azospirillum* sp. observaram maiores valores para a variável altura de plantas em plantas inoculadas quando comparado com as plantas que não receberam nitrogênio nem a inoculação.

Não houve efeito significativo dos microrganismos sobre a cultivar *Urochloa brizantha* cv. BRS Piatã, para área foliar (AF), índice de área foliar (IAF), área foliar específica (AFE) e razão da área foliar (RAF) (P>0,05).

Tabela 5. Área foliar (AF), índice de área foliar (IAF), área foliar específica (AFE) e razão da área foliar (RAF) da *Urochloa brizantha* cv. BRS Piatã inoculadas com inoculada com *Azospirillum brasilense* e *Rhizophagos intraradices*.

Variáveis	Protocolos de inoculação				
	Controle	Azos brasil	Rhiz. intr.	Co inoc.	CV ¹ %
AF (cm ²)	550,94a	621,54a	585,81a	496,98a	21,61
IAF (cm ²)	0,780a	0,885a	0,830a	0,702a	21,69
AFE (cm ² .g ⁻¹)	38,652a	42,046 ^a	37,918a	38,192a	9,72
RAF (cm ²)	4,21a	5,28a	4,47a	3,74a	20,07

¹Coefficiente de variação em porcentagem. Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

A importância de um índice da área foliar de uma cultura é amplamente conhecida por ser um parâmetro de indicativo em relação a produtividade, pois o processo fotossintético depende da interceptação da energia luminosa e a sua conversão em energia química.

No presente trabalho, o solo utilizado existe uma microbiota nativa e características que possam ter contribuído para as características morfológicas e fisiológicas da planta revelados nas tabelas 5 e 6, respectivamente, com a mesma proporção quando comparados aos tratamentos em que foram inoculados com o *A. brasilense* e *R. intraradices*.

Para Hunt (1990), fatores como luminosidade, temperatura, umidade e disponibilidade de nutrientes são de importante conhecimento para que as espécies forrageiras tenham uma resposta morfológica eficiente.

Com relação a avaliação da composição bromatológica, não foi verificado efeito da inoculação dos microrganismos sobre a *Urochloa brizantha* cv. BRS Piatã.

Porém ao observarmos o teor de matéria mineral (MM), os tratamentos que foram inoculados com os microrganismos, independentemente de estarem de forma isolada ou associada, tiveram um aumento percentual de 7% quando comparado com o controle, demonstrando efeito benéfico à quantidade de minerais presentes nas plantas, provavelmente ocasionado devido à maior capacidade de captação de nutrientes gerados a partir dos microrganismos.

Souza (2014), trabalhando com *A. brasilense* inoculado em *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, não observou diferença nas características fisiológicas, composição química e produção, concluindo que a fixação biológica do nitrogênio não foi suficiente para suprir a necessidade da planta. No presente trabalho, a microbiota nativa atuou de forma

que as características fisiológicas das plantas não inoculadas com *A. brasilense* e *R. intraradices* se mantiveram equivalentes as plantas inoculadas.

Alguns fatores que podem interferir na eficiência da inoculação, tais como os fatores abióticos, competitividade com os demais microrganismos do solo ou a disponibilidade adequada de nutrientes no solo, que inativaram a associação desses microrganismos com a gramíneas (Hanisch et al., 2017).

Tabela 6. Efeito da inoculação de *Azospirillum brasilense* e *Rhizophagos intraradices* na *Urochloa brizantha* cv. BRS Piatã sobre a composição bromatológica.

Variáveis	Protocolo				¹ CV%	Valor P
	Controle	AZOS	Rhiz intr.	Co- inoc.		
MS	24,56a	24,61a	24,56a	24,28 ^a	3,03	0,8960
MM	7,81a	8,31a	8,40a	8,34 ^a	4,69	0,0949
PB	5,72b	6,10ab	6,36a	6,42 ^a	4,33	0,0026
FDN	68,91a	67,61a	68,01a	67,54 ^a	2,02	0,3961
FDA	33,69a	34,51a	34,02a	33,63 ^a	4,03	0,8942
Lig	3,59a	3,85a	3,68a	3,85 ^a	8,39	0,4888
Cel	38,89a	36,62a	37,24 ^a	37,35 ^a	3,95	0,3284
Hem	35,21a	33,40a	33,99 ^a	33,91 ^a	4,57	0,2881

¹Coefficiente de variação em porcentagem. MS-matéria seca; MM-matéria mineral; PB-proteína bruta; FDN-fibra insolúvel em detergente neutro; FDA- fibra insolúvel em detergente ácido; LIG-lignina; CEL-celulose; HEM-hemicelulose; Co-inoculação (Azos+ Rhizo). Médias seguidas de mesma letra em linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

Os conteúdos de clorofila a, clorofila b, clorofila total, carotenoides e área foliar específica não apresentaram nível de significância nas características da *Urochloa brizantha* cv. BRS Piatã inoculadas com *Azospirillum brasilense* e *Rhizophagos intraradices* (Tabela 7).

A leitura do clorofilômetro é de grande importância para a concentração de nutrientes nas folhas e as adubações tem um papel importante no incremento dos teores de nutrientes nos tecidos, pois essa disponibilidade permiti melhor desenvolvimento vegetativo das plantas, e conseqüentemente, a maior produção de massa verde pelas plantas.

De acordo com Taiz & Zeiger (2016), quando há maior produção de clorofila a, ocorre um favorecimento para a síntese de ATP nos cloroplastos, pois esse pigmento proporciona maior captação de luz, sendo essa energia utilizada no processo de fotofosforilação.

Tabela 7. *Urochola brizantha* cv. BRS Piatã inoculadas com *Azospirillum brasilense* e *Rhizophagos intraradices* sobre o teor de clorofila a, clorofila b, clorofila total, caratenoides e razão a/b.

Variáveis	Protocolos				
	Controle	<i>Azos brasil.</i>	Rhiz intr.	Co-inoc.	¹ CV
Clorofila a	1,41b	1,85a	1,80a	1,33b	13,98
Clorofila b	0,87a	0,72a	0,79a	0,62a	23,26
Clorofila total	2,28ab	2,57a	2,60a	1,86b	14,37
Caratenoides	0,33a	0,27b	0,36a	0,29b	11,08
Razão a/b	1,76b	2,56a	2,30ab	2,53a	13,37

¹Coefficiente de variação em porcentagem. Médias seguidas de mesma letra em linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

A clorofila b e os carotenoides são denominados de pigmentos acessórios, auxiliando a clorofila a na absorção de luz e na transferência de energia para os centros de reação. Quando a molécula de clorofila b absorve luz, essa energia é transferida para a molécula da clorofila a que a transforma em energia química durante o processo de fotossíntese, já a principal função dos carotenoides é a de antioxidante, prevenindo a foto oxidação causada por altos níveis de irradiação na folha (Alves, 2004).

As leituras realizadas com o medidor SPAD-502 permitem obter índices que são altamente correlacionados com o teor de clorofila, onde segundo Gil et al. (2002) também podem identificar deficiência de nitrogênio, além de ter potencial de demonstrar situações onde seria necessária a aplicação adicional desse nutriente.

No presente trabalho, ao avaliar o índice SPAD o tratamento que foi inoculado com *A. brasilense* foi o que apresentou o melhor resultado (P<0,05) (Tabela 8).

Tabela 8. Avaliação do índice SPAD da *Urochola brizantha* cv. BRS Piatã inoculadas com *Azospirillum brasilense* e *Rhizophagos intraradices*.

Variável	Protocolos				
	Controle	<i>Azos brasil.</i>	Rhiz intr.	Co-inoc.	¹ CV
Índice SPAD	27,80b	31,18a	25,49b	29,18b	13,50

¹Coefficiente de variação em porcentagem. Médias seguidas de mesma letra em linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

Uma maior síntese de clorofila ocorre de acordo à absorção e assimilação do nitrogênio, logo, maior índice SPAD para o teor de clorofila em função da aplicação de *Azospirillum brasilense* (Souza, 2014).

Estudos demonstram que BPCP promovem o desenvolvimento das plantas devido à capacidade em aumentar o teor de clorofila, maior atividade enzimática, melhora a absorção de N e maior teor de nutrientes disponíveis na rizosfera (Li et al., 2020).

Resultados semelhantes foram encontrados por Jordão et al. (2010) em estudos realizados com inoculação em milho e capim, que observaram os valores do índice SPAD foram maiores nos tratamentos inoculados quando comparado ao não inoculado, principalmente nos tratamentos que receberam as menores doses de N comprovando a eficiência desse microrganismo em fixar nitrogênio.

Guimarães et al. (2011) que avaliaram a inoculação de *Azospirillum spp.* com *Brachiaria decumbens* e observaram efeito positivo dessas bactérias na leitura do índice de clorofila, confirmando que a associação entre a planta e bactérias podem resultar em um suprimento adequado de nitrogênio.

V CONCLUSÃO

O uso do *Azospirillum brasilense* e *Rhizophagos intraradices*, tanto de forma isolada, como simultâneos promovem o crescimento da *Urochloa brizantha* cv. BRS Piatã e podem ser incorporadas ao sistema de manejo dessa cultivar.

VI REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, A.O. **Estudo da fotossíntese de espécies dominantes em floresta de transição no sudoeste da Amazônia.** 2004. 77p. Tese de Doutorado. Dissertação (Mestrado em Física e Meio Ambiente) -Instituto de Ciências Exatas e da Terra, Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá.

ANDRADE, A. C.; FONSECA, D. M.; QUEIROZ, D. S.; SALGADO, L.T.; CECON, P. R. Adubação nitrogenada e potássica em capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum. cv. Napier). **Revista Ciência e Agrotecnologia**, p.1643-1651, 2003. Edição especial.

ANTUNES, P. M., DE VARENNES, A., ZHANG, T., & GOSS, M. J. (2006). The tripartite symbiosis formed by indigenous arbuscular mycorrhizal fungi, *Bradyrhizobium japonicum* and soya bean under field conditions. **Journal of Agronomy and Crop Science**, 192(5): 373-378.

ARDAKANI, M. R.; MAZAHERI, D.; MAFAKHERI, S.; MOGHADDAM, A. Absorption efficiency of N, P, K through triple inoculation of wheat (*Triticum aestivum* L.) by *Azospirillum brasilense*, *Streptomyces* sp., *Glomus intraradices* and manure application. **Physiol Mol Biol Plants**. 17(2):181– 192, 2011.

BARASSI, C.A.; SUELDO, R.J.; CREUS, C.M.; CARROZZI, L.E.; CASANOVAS, W.M.; PEREYRA, M.A. (2008). Potencialidad de *Azospirillum* en optimizer el crecimiento vegetal bajo condiciones adversas. In: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. (Ed.) ***Azospirillum* sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina**. Argentina: Asociación Argentina de Microbiología, p.49-59.

BARRA, P. J., PONTIGO, S., DELGADO, M., PARRA, L. A., Duran, P. A., VALENTINE, A. J., JORQUEIRA, M. A., MORA, M. L. (2019). Phosphobacteria inoculation enhances the benefit of P-fertilization on *Lolium perenne* in soils contrasting in P-availability. **Soil Biology and Biochemistry** [online] 136, 107516. Disponível: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2019.06.012>.

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

BERTOLAZI, A. A.; CANTON, G.C.; AZEVEDO, I.G.; CRUZ, Z. M. A.; SOARES, J. M.; SANTOS, W. O.; RAMOS, A. C. O papel das ectomicorrizas na biorremediação de metais pesados no solo. **Natureza on line**, v. 8, p. 24-31, 2010.

BIDONDO, L. F.; SILVANI, V.; COLOMBO, R.; PÉRGOLA, M.; BOMPADRE, J.; GODEAS, A. Pre-symbiotic and symbiotic interactions between *Glomus intraradices* and

two *Paenibacillus* species isolated from AM propagules. In vitro and in vivo assays with soybean (AG043RG) as plant host. **Soil Biology & Biochemistry**. 2011.

BORRIS, R. Use of Plant-Associated Bacillus Strains as Biofertilizers and Biocontrol Agents in Agriculture. In: MAHESHWARI, D. K. (Ed.). *Bacteria in Agrobiolgy: Plant Growth Responses*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2011. p. 41–76.

CARDOSO, E.J.B.N., Andreote, F.D. (2016). *Microbiologia do solo*. Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Doi: 10.11606/9788586481567

CARNEIRO. R.F.V.; MARTINS, M.A.; FREITAS, M.S.M.; DETMANN, E.; VÁSQUEZ, H.M. Inoculação micorrízica arbuscular e doses de fósforo na produção do capim-andropogon, em substrato não estéril. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v.2, n.3, p.212- 218, 2007.

CORSI, M.; MARTHA JUNIOR, G.B.; PAGOTTO, D.S. Sistema radicular: dinâmica e resposta a regimes de desfolha. **A produção animal na visão dos brasileiros—pastagens**. Piracicaba: FEALQ, p. 838-852, 2001.

COSTA, K.A. de P.; OLIVEIRA, I.P. de; FAQUIN, V. Adubação nitrogenada para pastagens do gênero *Brachiaria* em solos do Cerrado. Santo Antônio de Goiás: **Embrapa Arroz e Feijão**, 2006. 60f. (Embrapa Arroz e Feijão. Documentos, 192).

DOBBELAERE, S.; CROONENBORGH, A.; THYS, A.; PTACEK, D.; OKON, Y.; VANDERLEYDEN, J. Effect of inoculation with wild type *Azospirillum brasilense* and *A. irakense* strains on development and nitrogen uptake of spring wheat and grain maize. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 36, n. 4, p. 284-297, 2002.

GIL, P.T.; FONTES, P.C.R.; CECON, P.R.; AFFONSO, F. Índice SPAD para o diagnóstico do estado de nitrogênio e para o prognóstico da produtividade da batata. **Hortic. bras**, v. 20, n. 4, 2002.

GUIMARÃES, S. L.; dos SANTOS, C. S. A.; BONFIM-SILVA, E. M.; POLIZEL, A. C.; BATISTA, E. R. (2016). Nutritional characteristics of marandu grass (*Brachiaria brizantha* cv. marandu) subjected to inoculation with associative diazotrophic bacteria. **African Journal of Microbiology Research**, v. 10 (24), p. 873-882.

HANISCH, A. L.; BALBINOT, A. A.; VOGT, G. A. (2017). Productive performance of *Urochloa brizantha* cv. Marandu as a function of inoculation with *Azospirillum* and nitrogen doses. **Revista Agro@mbiente On-line**, v. 11, n. 3, p. 200-208, 2017.

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

HUNT, R. (1990) *Basic Growth Analysis. Plant Growth Analysis for Beginners*. London, **Unwin, Hyman, Boston, Sydney and Wellington**. <http://dx.doi.org/10.1007/978-94-010-9117-6>.

JANK, L.; VALLE, C. B.; RESENDE, R. M. S. Breeding tropical forages. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.11, Special edition, p.27-34, 2011.

JIANG, A., KEILUWEIT, M., CONTOSTA, A. R., FREY, S. D., SCHIMEL, J., SCHNECKER, J., SMITH, R. G., TIEMANN L., GRANDY, A. S. (2018). Minerals in the rhizosphere: overlooked mediators of soil nitrogen availability to plants and microbes. **Biogeochemistry** 139: 103–22. Disponível: <https://doi.org/10.1007/s10533-018-0459-5>.

JORDÃO, L. T.; LIMA, F. F.; LIMA, R. S.; MORETTI, P. A. E. M.; PEREIRA, H. V.; MUNIZ, A. S.; OLIVEIRA, M. C. N. (2010). Teor relativo de clorofila em folhas de milho inoculado com *Azospirillum brasilense* sob diferentes doses de nitrogênio e manejo com braquiária. In: Reunião Brasileira de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas, Simpósio Brasileiro de Microbiologia do Solo. **Fontes de nutrientes e produção agrícola: modelando o futuro: anais**. Viçosa.

LEITE, R. C.; SANTOS, J. G. D.; SILVA, E. L.; ALVES, C. R. C. R.; HUNGRIA, M.; SANTOS, A. C. Aumento da produtividade, redução do uso de fertilizantes nitrogenados e redução do estresse hídrico por inoculação de capim Marandu (*Urochloa brizantha*) com *Azospirillum brasilense*. **Crop and Pasture Science**, v.70, n.1, p.61–67, 2018.

LI, H.; QIU, Y.; YAO, T.; MA, Y.; ZHANG, H.; YANG, X. Effects of PGPR microbial inoculants on the growth and soil properties of *Avena sativa*, *Medicago sativa*, and *Cucumis sativus* seedlings. **Soil and Tillage Research**, v.199, p.104577, 2020

MARTUSCELLO, J. A., SILVA, L. P. D., CUNHA, D. D. N. F. V. D., BATISTA, A. C. D. S., BRAZ, T. G. D. S., & FERREIRA, P. S. Adubação nitrogenada em capim-massai: morfogênese e produção. **Ciência Animal Brasileira**, v. 16, n. 1, p. 1-13, 2015.

MEGHVANSI, M. K.; MAHNA, S. K. Evaluating the Symbiotic Potential of *Glomus intraradices* and *Bradyrhizobium japonicum* in Vertisol with Two Soybean Cultivars. **American Eurasian Journal of Agronomy** 2 (1): 21-25, 2009.

OKUMURA, R.S.; MARIANO, D.C.; DALLACORT, R.; ALBUQUERQUE, A.N.; LOBATO, A.K.S.; GUEDES, E.M.S.; OLIVEIRA NETO, C.F.; CONCEIÇÃO, H.E.O.; ALVES, G.R. *Azospirillum*: A new and efficient alternative to biological nitrogen fixation in grasses. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, v.11, p. 1142-1146, 2013.

OLIVEIRA, A.L.M.; STOFFELS, M.; SCHMID, M.; REIS, V.M.; BALDANI, J.I. & HARTMANN, A. Colonization of sugarcane plantlets by mixed inoculations with diazotrophic bacteria. **Eur. J. Soil Biol.**, 45:106-113, 2009.

PINTO, J. C.; GOMIDE, J. A.; MAESTRI, M. Produção de MS e relação folha/caule de gramíneas forrageiras tropicais, cultivadas em vasos, com duas doses de nitrogênio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 23, n. 3, p. 313-326, 1994.

RAMOS, A. S.; SANTOS, T. M. C.; SANTANA, T. M.; GUEDES, E. L. F.; MONTALDO, Y. C. Ação do *Azospirillum lipoferum* no desenvolvimento de plantas de milho. **Revista Verde**, v.5, n.4, p.113-117, 2010.

RODRIGUES, R. C.; MOURÃO, G. B.; BRENNECKE, K.; LUZ, P. H. de C.; HERLING, V. R. Produção de matéria 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**, v.37, n.3, p.394-400, 2008.

SANTOS, E. R., CARVALHO, B. R., RODRIGUES, P. M., BASSO, K. C., & DE CARVALHO, A. N. Características estruturais do capim-marandu diferido com alturas e doses de nitrogênio variáveis. **Archivos de zootecnia**, v. 67, n. 259, p. 420-426, 2018.

SENA, J. O. A.; STEFANUTTI, R.; DONHA, R. M. A.; CARDOSO, E. J. B. N. Cinética de absorção com doses de fósforo e fungos micorrízicos arbusculares em *Nicotiana tabacum*. **Científica, Jaboticabal**, v.42, n.3, p.294-298, 2014.

SMITH S. E, FACELLI E, POPE S, SMITH FA. (2010). Plant performance in stressful environments: Interpreting new and established knowledge of the roles of Arbuscular Mycorrhizas. **Plant Soil** 326:3-20.

SMITH, S.E.; SMITH, F.A.; JAKOBSEN, I. Mycorrhizal fungi can dominate phosphate supply to plants irrespective of growth responses. **Plant Physiology, Bethesda**, v.133, n.1, p.16-20, 2003.

SOUZA, F. A.; GOMES, E. A.; VASCONCELOS, M. J. V.; SOUSA, S. M. Micorrizas arbusculares: perspectivas para aumento da eficiência de aquisição de fósforo (P) em Poaceae (gramíneas). Sete Lagoas: **Embrapa Milho e Sorgo**, 2011.

SOUZA, P.T.D. (2014). **Inoculação com *Azospirillum brasilense* e adubação nitrogenada em *Brachiaria brizantha* cv. Marandu**. (Dissertação). Mestrado em Produção Vegetal. Universidade Federal de Goiás, Jataí, Goiás

SPAGNOLETTI, F.; LAVADO, R. S. The Arbuscular Mycorrhiza *Rhizophagus intraradices* Reduces the Negative Effects of Arsenic on Soybean Plants. **Agronomy** 2015.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. 6. Ed. Porto Alegre: ArtMed, 2016.548p.

VII CONSIDERAÇÕES FINAIS

Uso dos microrganismos promotores de crescimento vegetal é uma alternativa viável e sustentável, visto que seu uso vem ganhando espaço atualmente.

No presente estudo, considerando as variáveis avaliadas, algumas podem não ter sido significativas devido o solo utilizado em que o mesmo apresentava características favoráveis e uma microbiota nativa para que a forrageira pudesse se desenvolver. No entanto, foi possível verificar que o *Azospirillum brasilense* e *Rhizophagos intraradices* promovem o crescimento de *Urochloa brizantha* cv. BRS Piatã com resultados significativos quanto a produção de massa seca da parte aérea, altura da planta, área foliar, massa seca da raiz, volume de raiz e caratenoides.

Porém é imprescindível mais estudos sobre esses microrganismos, principalmente no processo de associação do *A. brasilense* com o *R. intraradices* em gramíneas tropicais.