



MICROORGANISMOS SIMBIÓTICOS ASSOCIADOS A  
CALAGEM E ADUBAÇÃO DO SOLO NO  
CRESCIMENTO DO CAPIM BRAQUIÁRIA

**JEANKARLO PENALVA DOS SANTOS**

**2023**



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

MICROORGANISMOS SIMBIÓTICOS ASSOCIADOS A  
CALAGEM E ADUBAÇÃO DO SOLO NO  
CRESCIMENTO DO CAPIM BRAQUIÁRIA

Autor: JeanKarlo Penalva dos Santos  
Orientador: Prof. Dr. Fábio Andrade Teixeira

ITAPETINGA  
BAHIA- BRASIL  
JUNHO DE 2023

**JEANKARLO PENALVA DOS SANTOS**

**MICROORGANISMOS SIMBIÓTICOS ASSOCIADOS A  
CALAGEM E ADUBAÇÃO DO SOLO NO  
CRESCIMENTO DO CAPIM BRAQUIÁRIA**

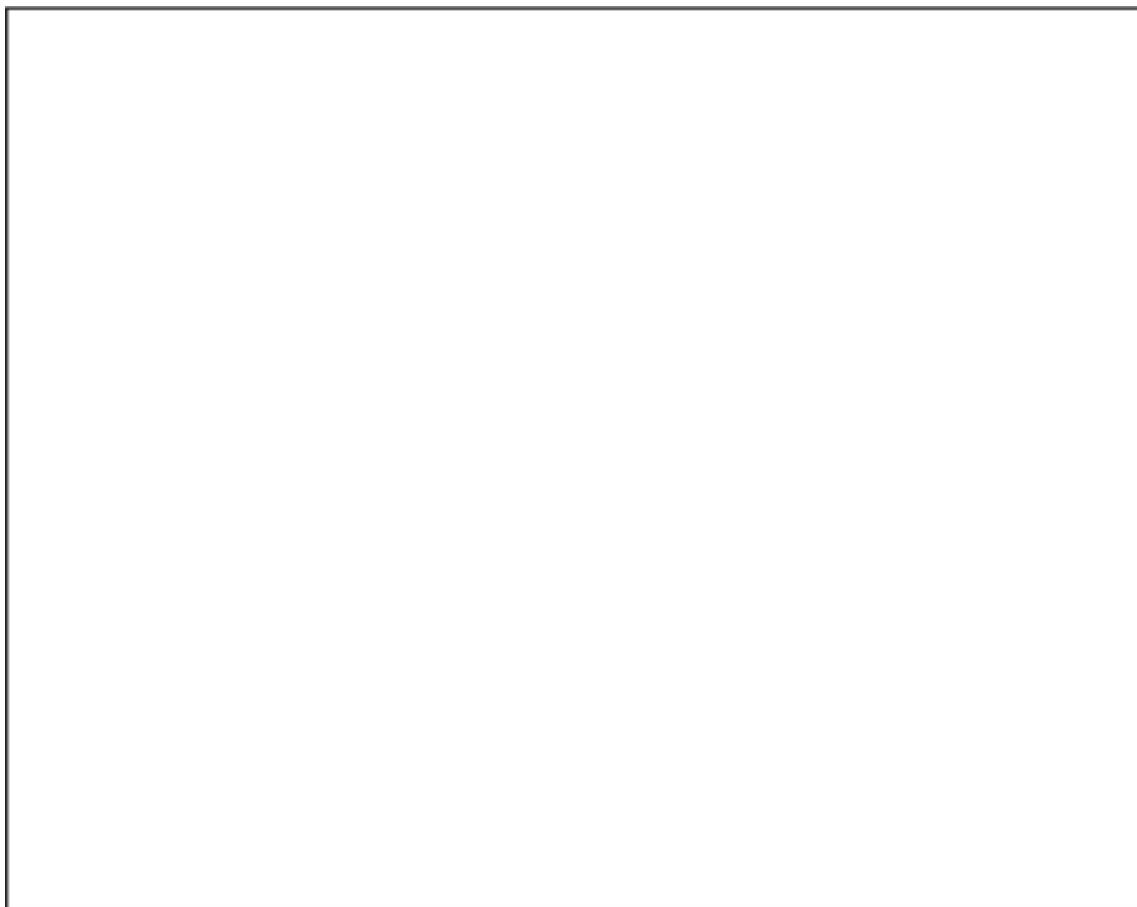
Tese apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia.

Orientador: Prof. Dr. Fábio Andrade Teixeira

Co-orientadores: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Daniela Deitos Fries  
Pós-doutoranda: Dr<sup>a</sup>. Renata Rodrigues Jardim

ITAPETINGA  
BAHIA – BRASIL  
JUNHO DE 2023

Ficha Catalográfica Preparada pela Biblioteca da UESB, Campus de Itapetinga

A large, empty rectangular box with a thin black border, occupying the central portion of the page. It is likely a placeholder for a catalog record or a drawing.

Aos meus filhos, Ariel Baruch e Enzo Gael, pela paciência e incentivo, pelo amor e carinho;

Aos meus pais amados, Gilberto dos Santos e Maria Dagmar Penalva dos Santos, pelo amor e dedicação. Vocês são minha referência de vida;

À minha irmã Carla, pela grande amizade e confiança, que sempre teve em mim.

**DEDICO...**

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por abençoar a minha vida e da minha família me, permitindo chegar aqui;

Aos meus pais, Gilberto dos Santos e Maria Dagmar Penalva dos Santos, por sempre acreditar na minha capacidade, tudo o que tenho e o que sou hoje devo a vocês;

À Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – Campus de Itapetinga, pela oportunidade de continuidade da realização da minha formação profissional;

Ao Professor, Dr. Fábio Andrade Teixeira, pelas orientações, amizade, ensinamentos e incentivo;

Às Coorientadoras, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Daniela Deitos Fries e Dra. Renata Rodrigues Jardim, pelos ensinamentos, por estarem sempre acessíveis para me ajudar;

Aos coordenadores e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia;

Aos demais professores do Programa de Pós-graduação em Zootecnia, pelos ensinamentos;

Aos membros da banca, por aceitarem o convite para ajudar na construção deste trabalho;

À minha noiva, Dayana Gama, por todo incentivo;

Aos amigos e colegas, Arthur, Fredy, Edson, Hackson, Natan, Taty, Ricardo e Eliene, pela amizade, disponibilidade de tempo e ajuda;

Aos colegas de turma, que contribuíram muito nessa minha caminhada;

**A todos vocês, o meu sincero MUITO OBRIGADO!**

## **BIOGRAFIA**

JEANKARLO PENALVA DOS SANTOS, filho de Gilberto dos Santos e Maria Dagmar Penalva dos Santos, nasceu em 17 de Outubro de 1975, em Itapetinga, Bahia.

Em 1995, iniciou o curso de Zootecnia na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia,finalizando-o em 2000.

Em 2015, iniciou o curso de Pós-Graduação em Zootecnia – Mestrado em Zootecnia, na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia –UESB, finalizando-o em 2017.

Em novembro de 2019, foi aprovado na seleção de doutorado do Programa de Pós-graduação em Zootecnia, da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB. Em junho de 2023, defendeu a presente tese.

## SUMÁRIO

|   | Página |
|---|--------|
| LISTA DE FIGURAS.....   | vi     |
| LISTA DE TABELAS.....   | vii    |
| RESUMO.....   | ix     |
| ABSTRACT.....   | x      |
| I - REFERENCIAL TEÓRICO.....  | 01     |
| 1.1 Introdução.....   | 01     |
| 1.2 <i>Urochloa decumbens</i> cv. Basilisk.....                               | 03     |
| 1.3 Acidez, pH e calagem do solo.....   | 04     |
| 1.4 Bactéria diasotrófica.....  | 06     |
| 1.5 <i>Azospirillum brasilense</i> .....                                      | 08     |
| 1.6 Fungos micorrizicos arbusculares ( <i>Rhizophagus intraradices</i> )..... | 10     |
| 1.7 Interação fungos micorrizicos arbusculares e bactérias diazotróficas..... | 13     |
| 1.8 Fracionamento de proteínas.....   | 14     |
| 1.9 Clorofila e carotenóides.....   | 15     |
| 2.0 Prolina .....   | 16     |
| II- REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....   | 17     |
| II I- OBJETIVO GERAL.....   | 29     |
| 3.1 Objetivos específicos.....  | 29     |
| IV - MATERIAL E MÉTODOS.....  | 30     |
| V - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....   | 38     |
| VI - CONCLUSÃO.....   | 75     |
| VII - REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....   | 76     |

**LISTA DE FIGURAS**

|   | Página |
|---|--------|
| FIGURA 1. Umidade relativa do ar (%) e temperatura (°C) máxima, mínima e média durante o período experimental ..... | 30     |
| FIGURA 2. Temperaturas máximas (TMAX) e mínimas (TMIN) de solo no período experimental.....                         | 32     |
| FIGURA 3. Variação de pH do solo no período experimental.....   | 32     |

## LISTA DE TABELAS

|            |  | Página |
|------------|--|--------|
| TABELA 1.  | Análise física do solo.....  | 31     |
| TABELA 2.  | Análise química do solo.....   | 31     |
| TABELA 3.  | Produção de massa seca de folha, colmo e da parte aérea da <i>Brachiaria decumbens</i> cv. Basilisk submetida à inoculação biológica e diferentes adubações (corte 1).....   | 38     |
| TABELA 4.  | Produção de massa seca de folha, colmo e da parte aérea da <i>Brachiaria decumbens</i> cv. Basilisk submetida à inoculação biológica e diferentes adubações (corte 2).....   | 39     |
| TABELA 5.  | Produção de massa seca de folha, colmo e da parte aérea da <i>Brachiaria decumbens</i> cv. Basilisk submetida à inoculação biológica e diferentes adubações (corte 3).....   | 40     |
| TABELA 6.  | Características morfogênicas e estruturais da <i>Brachiaria decumbens</i> cv. Basilisk submetida à inoculação biológica e diferentes adubações (corte 1).....  | 42     |
| TABELA 7.  | Características morfogênicas e estruturais da <i>Brachiaria decumbens</i> cv. Basilisk submetida à inoculação biológica e diferentes adubações (corte 2).....  | 46     |
| TABELA 8.  | Características morfogênicas e estruturais da <i>Brachiaria decumbens</i> cv. Basilisk submetida à inoculação biológica e diferentes adubações (corte 3).....  | 48     |
| TABELA 9.  | Composição bromatológica da <i>Brachiaria decumbens</i> cv. Basilisk submetida à inoculação biológica e diferentes adubações (corte 1).....  | 50     |
| TABELA 10. | Proteína bruta da <i>Brachiaria decumbens</i> cv. Basilisk submetida à inoculação biológica e diferentes adubações (corte 1).....  | 51     |
| TABELA 11. | Composição bromatológica da <i>Brachiaria decumbens</i> cv. Basilisk submetida à inoculação biológica e diferentes adubações (corte 2).....  | 54     |
| TABELA 12. | Composição bromatológica da <i>Brachiaria decumbens</i> cv. Basilisk submetida à inoculação biológica e diferentes adubações (corte 3).....  | 55     |
| TABELA 13. | Teores de clorofila <i>a</i> , clorofila <i>b</i> , clorofila total, carotenoides e razão clorofila <i>a</i> / clorofila <i>b</i> da <i>Brachiaria decumbens</i> cv. Basilisk submetida à inoculação biológica e diferentes adubações (corte 1)..... | 59     |
| TABELA 14. | Teores de clorofila <i>a</i> , clorofila <i>b</i> , clorofila total, carotenoides e razão clorofila <i>a</i> / clorofila <i>b</i> da <i>Brachiaria decumbens</i> cv. Basilisk submetida à inoculação biológica e diferentes adubações (corte 2)..... | 61     |
| TABELA 15. | Teores de clorofila <i>a</i> , clorofila <i>b</i> , clorofila total, carotenoides e razão clorofila <i>a</i> / clorofila <i>b</i> da <i>Brachiaria decumbens</i> cv. Basilisk submetida à inoculação biológica e diferentes adubações (corte 3)..... | 62     |
| TABELA 16. | Concentração de albumina, globulina, prolamina e glutelina da <i>Brachiaria decumbens</i> cv. Basilisk submetida à inoculação biológica e diferentes adubações (corte 1).....  | 65     |

|            |   |    |
|------------|---|----|
| TABELA 17. | Concentração de albumina, globulina, prolamina e glutelina da <i>Brachiaria decumbens</i> cv. Basilisk submetida à inoculação biológica e diferentes adubações (corte 2)..... | 67 |
| TABELA 18. | Concentração de albumina, globulina, prolamina e glutelina da <i>Brachiaria decumbens</i> cv. Basilisk submetida à inoculação biológica e diferentes adubações (corte 3)..... | 68 |
| TABELA 19. | Concentração de prolina nas folhas da <i>Brachiaria decumbens</i> cv. Basilisk submetida à inoculação biológica e diferentes adubações (corte 1).....                         | 69 |
| TABELA 20. | Concentração de prolina nas folhas da <i>Brachiaria decumbens</i> cv. Basilisk submetida à inoculação biológica e diferentes adubações (corte 2).....                         | 69 |
| TABELA 21. | Concentração de prolina nas folhas da <i>Brachiaria decumbens</i> cv. Basilisk submetida à inoculação biológica e diferentes adubações (corte 3).....                         | 71 |
| TABELA 22. | Volume e comprimento de raiz da <i>Brachiaria decumbens</i> cv. Basilisk submetida à inoculação biológica e diferentes adubações.....   | 73 |

## RESUMO

SANTOS, JeanKarlo Penalva dos. **Microrganismos simbióticos associados a calagem e adubação do solo no crescimento do capim braquiária**. Itapetinga- BA: UESB, 2023. 92 p. Tese (Doutorado em Zootecnia – Área de Concentração em Produção de Ruminantes)\*.

Objetivou-se avaliar o efeito da bactéria *Azospirillum brasilense* e do fungo *Rhizophagus intraradices*, em plantas de *Brachiaria decumbens* cultivadas em solos não corrigidos, corrigidos e corrigidos e adubados. O estudo foi conduzido na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB, no município de Itapetinga-Ba, durante o período de março a julho de 2020. Foi utilizado esquema fatorial 4 x 3 em delineamento inteiramente casualizado, sendo quatro tipos de combinação de microrganismos: Testemunha (Sem microrganismos); bactéria (*Azospirillum brasilense*); fungo (*Rhizophagus intraradices*) e bactéria + fungo, com três tipos de manejo de solo: (solo sem correção, corrigido e corrigido e adubado), com 4 repetições totalizando 48 unidades experimentais. Foram realizados três cortes com intervalos de 30 dias em um período de 60, 90 e 120 dias do plantio, onde foram avaliadas as características produtivas, morfogênicas, bromatológicas e fisiológicas. Houve efeito da interação entre o fator correção e adubação do solo e inoculação biológica sobre as produções de massa seca de folha, caule, e parte aérea, onde a correção e adubação do solo associada à inoculação com bactéria em cultivo exclusivo apresentaram as maiores produções de massa seca. As características morfogênicas e estruturais da *Brachiaria decumbens* foram influenciadas pela correção e adubação do solo e pela inoculação com a bactéria, ocorrendo um incremento na formação de tecidos vegetais, proporcionando aumento na proporção de folhas produzidas, número de perfilhos, relação folha: colmo e índice de área foliar. Em relação às características bromatológicas, a adubação e a inoculação com a bactéria promoveram aumento significativo no teor de proteína bruta e menores teores de FDN, FDA e lignina. A adubação e a inoculação biológica influenciaram os teores de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofilas totais e carotenoides, a concentração de albumina, globulina, prolamina, glutelina, e concentração de prolina, ocorrendo um aumento na concentração destas variáveis, com exceção da prolina, que apresentou menores concentrações. Recomenda-se o uso da correção e adubação do solo com médio nível tecnológico associado à inoculação biológica com a bactéria *Azospirillum brasilense* por melhorar as características produtivas, fisiológicas e o valor nutricional da *Brachiaria decumbens*.

**Palavras-chave:** inoculação biológica, pH, produção de forragem

---

\*Orientador: Fábio Andrade Teixeira, D.Sc., UESB. Co-Orientador: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Daniela Deitos Fries., UESB. Dr<sup>ª</sup>. Renata Rodrigues Jardim., UESB

## ABSTRACT

SANTOS, JeanKarlo Penalva dos. **Symbiotic microorganisms associated with liming and soil fertilization on signalgrass growth**. Itapetinga- BA: UESB, 2023. 92 p. Thesis (Doctorate in Animal Science - Concentration Area in Ruminant Production).

The objective was to evaluate the effect of the bacteria *Azospirillum brasilense* and the fungus *Rhizophagus intraradices* on *Brachiaria decumbens* plants grown in non-corrected, corrected and corrected and fertilized soils. The study was conducted at the State University of Southwest Bahia - UESB, in the municipality of Itapetinga-Ba, from March to July 2020. A 4 x 3 factorial scheme was used in a completely randomized design, with four types of combination of microorganisms : Control (Without microorganisms); bacteria (*Azospirillum brasilense*); fungus (*Rhizophagus intraradices*) and bacteria + fungus, with three types of soil management: (uncorrected soil, corrected and corrected and fertilized), with 4 replications totaling 48 experimental units. Three cuts were performed at intervals of 30 days in a period of 60, 90 and 120 days from planting, where the productive, morphogenic, chemical and physiological characteristics were evaluated. There was an effect of the interaction between soil correction and fertilization and biological inoculation on leaf, stem and aerial part dry mass production, where soil correction and fertilization associated with inoculation with bacteria in exclusive cultivation showed the highest production of dry mass. The morphogenetic and structural characteristics of *Brachiaria decumbens* were influenced by correction and soil fertilization and by inoculation with the bacteria, with an increase in the formation of plant tissues, providing an increase in the proportion of produced leaves, number of tillers, leaf: stem ratio and index of leaf area. Regarding the bromatological characteristics, fertilization and inoculation with the bacteria promoted a significant increase in the crude protein content and lower levels of NDF, ADF and lignin. Fertilization and biological inoculation influenced the contents of chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophylls and carotenoids, the concentration of albumin, globulin, prolamin, glutelin, and proline concentration, with an increase in the concentration of these variables with the exception of proline, which showed lower concentrations. It is recommended the use of correction and soil fertilization with medium technological level associated with biological inoculation with the bacteria *Azospirillum brasilense* to improve the productive, physiological characteristics and nutritional value of *Brachiaria decumbens*.

Keywords: biological inoculation, pH, forage production

## I - REFERENCIAL TEÓRICO

### 1.1. Introdução

A pecuária é um dos principais pilares da economia no Brasil, condição sustentada, principalmente, pelos avanços tecnológicos em melhoramento, nutrição e sanidade animal. Características que aliadas ao clima, solo e extensão territorial torna, a pecuária brasileira uma referência mundial. Junto a este cenário, projeções recentes das Nações Unidas preveem que a população mundial chegará a 9,7 bilhões em 2050 (Nações Unidas, 2019) demandando um grande suprimento de proteína animal. Ao mesmo tempo, existe uma pressão pela sociedade, por tecnologias que reduzam os impactos ambientais. Estes conjuntos de fatores direcionam a necessidade de inovações tecnológicas que harmonize a necessidade crescente de produção de alimento com preservação ambiental.

O rebanho brasileiro é alimentado em sua grande maioria a pasto, através do pastejo direto, modelo considerado o mais econômico e prático de fornecer alimentos aos rebanhos (JANK et al. 2014). Porém a queda de produtividade das pastagens, causada principalmente pela não reposição de nutrientes no solo (DIAS FILHO, 2014), principalmente de nitrogênio (N) e fósforo (P), têm gerado problemas econômicos e ambientais a este sistema. Assim, pesquisas com fontes alternativas de nitrogênio, que reduzam a demanda por insumos não renováveis, como os fertilizantes a base de fósforo podem contribuir para uma melhor produtividade e menor impacto ambiental.

Os solos brasileiros são, em geral, naturalmente ácidos em razão do alto grau de intemperização e da intensa lixiviação de bases (VAN RAIJ, 2011). Esta acidez é um dos principais atributos químicos que afeta a disponibilidade de quase todos os nutrientes, prejudicando o desenvolvimento da planta promovendo uma baixa taxa de enraizamento e absorção de água e nutrientes. A correção do solo por meio da calagem, melhora as características físicas e químicas destes solos gerando, condições favoráveis ao desenvolvimento da forragem.

O uso de microrganismos rizosféricos e endofíticos capazes de promover o crescimento de plantas despontam como ferramentas promissoras a agricultura e ao meio ambiente (MSIMBIRA & SMITH, 2020; HESHAM,

2021), tornando-se uma alternativa biotecnológica para otimizar a produtividade vegetal de forma sustentável, atenuando o uso de produtos químicos e garantindo a segurança alimentar (CHOUHAN et al., 2021; HESHAM et al. 2021). Estes microrganismos colonizam a rizosfera ou o interior da planta, estimulando seu crescimento de forma direta, como biofertilizantes, e bioestimulantes; e de forma indireta, como agentes de biocontrole (UMESHA et al., 2018; CHOUAN et al., 2021; REZENDE et al., 2021).

Entre estes microrganismos encontramos o *Azospirillum brasilense*, espécie de bactéria utilizada como bioinsumo com características importantes para melhoria da produtividade das forrageiras. Esta bactéria pode auxiliar, na nutrição das plantas através fixação biológica do nitrogênio (FUKAMI; CERZINI; HUNGRIA, 2018; MEHNAZ, 2015), e pela produção e liberação de fitormônios como: auxinas, citocininas e giberelinas, as quais têm efeito estimulante sobre o metabolismo vegetal interferindo no crescimento das plantas e alterando a morfologia das raízes (COHEN; BOTTINI; PICCOLI, 2008; HUNGRIA et al., 2010; MEHNAZ, 2015; SANTI; BOGUSZ; FRANCHE, 2013). Segundo HUNGRIA et al. (2016) e LEITE et al. (2018) incrementos na produtividade e mitigação do estresse pela seca foram observados em *Brachiarias* com uso de inoculante a base de *Azospirillum brasilense*.

Outro grupo de microrganismos que apresentam um grande leque de aplicações reconhecidamente benéficas, na absorção de nutrientes e água, e consequente promoção de crescimento das plantas são os fungos micorrizicos arbusculares da espécie *Rhizophagus intraradices* (*Glomus intraradice*), que através do micélio colonizam a raiz das plantas e se estende para o solo aumentando o volume de área explorado pelas raízes, permitindo maior absorção de nutrientes de baixa mobilidade como fósforo (SOUZA et al., 2011), aumentando o acesso da planta à água, melhorando a nutrição mineral das plantas micorrizadas.

A interação entre plantas e microrganismos no complexo de desenvolvimento vegetal é amplamente difundida, proporcionando efeitos benéficos contra estresses gerando maior resiliência as plantas a fatores bióticos e abióticos (CELY et al., 2016; MACHADO et al. 2020; LOPES et al., 2021; SALES et al., 2021). Portanto, considerar o potencial dos microrganismos como biopromotores de crescimento vegetal, e conhecer sua interação com as plantas resultará em maior sucesso do ponto de vista econômico e ecológico para atividade agropecuária brasileira.

## 1.2. *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk

A *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk é uma das gramíneas mais conhecidas e cultivadas em toda região tropical. Sua rápida difusão e aceitabilidade devem-se principalmente a sua alta adaptabilidade a solos ácidos e pouco férteis, resistência ao pastejo (PEDREIRA et al., 2017), e seu hábito de crescimento que garante boa cobertura do solo (ROZALINO SANTOS et al., 2014), adaptando-se as mais variadas condições edafoclimáticas (OLIVEIRA et al. 2011). Além disso, apresenta alto vigor vegetativo e competi muito bem com outras plantas indesejadas. Devido estas características, desempenha um papel importante na produção de carne e leite, viabilizando a pecuária em solos ácidos e de baixa fertilidade.

A *Brachiaria decumbens* é uma forrageira bastante utilizada em sistemas de lotação contínua (FAGUNDES et al., 2005; SANTOS et al., 2010; SANTOS et al., 2011), pastejo diferido (SANTOS et al., 2009) e, principalmente, em sistemas de baixo nível tecnológico. Nesse sentido, é comum encontrá-la em propriedades com baixa adoção de tecnologias como calagem, adubação e estratégias de manejo, dada a sua grande tolerância a erros de manejo (VALLE et al., 2010). Estas características fazem com que boa parte dos estudos científicos sobre manejo, formação e adubação de pastagens, seja desenvolvida com base nesta forrageira (PEDREIRA et al., 2009; GIACOMINI et al., 2009, SILVEIRA et al., 2013).

Segundo (GOEDERT et al. 1988), a *B. decumbens* pode alcançar uma produtividade anual entre 5 a 12 t/ha de matéria seca. Moraes et al. (2005), analisando a produção de matéria seca em piquetes de *Brachiaria decumbens*, encontraram produção média de 5.560 kg de MS/ha durante o período seco. Garcia et al. (2004) observaram um teor médio de PB em torno de 3,5 e 5,3% entre os meses de julho a novembro em pastagens diferidas de *Brachiaria decumbens*. Cavalcante Filho et al. (2008), estudando as características da *Brachiaria decumbens* sob pastejo contínuo durante a seca, descreveram que o pasto apresentou valores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) de 46,9; 6,3; 78,3 e 45,1%, respectivamente. Santos et al. (2009), estudando o valor nutritivo da forragem em pastos de *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk diferidos e adubados com nitrogênio (N), observaram que os teores de proteína bruta da forragem diferida variaram de 2,86 a

5,97%. Paciullo et al. (2001), encontraram valores de PB, FDN, celulose, hemiceluloses, lignina e DIVMS de 8,6%, 76,0%, 50,3%, 22,2%, 6,0% e 58,4% respectivamente, para o capim *Brachiaria decumbens* cultivada em canteiro experimental.

Quanto suas características morfológicas, o capim-braquiária (*Brachiaria decumbens* cv. Basilisk) é uma planta semiereta, decumbente, rústica, de colmos geniculados, rizomas pequenos e duros, lâmina foliar linear-lanceolada, papilo-pilosa nas duas faces. Apresenta inflorescência em panícula racemosa, com florescimento precoce ocorrendo em dias longos de verão (VALLE et al., 2010).

### 1.3. Acidez, pH e calagem do solo

A acidez dos solos deve-se, ao intenso intemperismo ocorrido ao longo do tempo, fenômeno este que ocasiona a lixiviação e remoção de cátions básicos da CTC do solo, principalmente, cálcio, magnésio, potássio e sódio, os quais dão lugar para o alumínio trocável e hidrogênio não dissociado (VAN RAIJ, 2011).

Os solos localizados nas regiões tropicais do país em sua maior parte apresentam moderada a elevada acidez, altos teores de Al trocável, baixa disponibilidade de nutrientes especialmente de cálcio (Ca), magnésio (Mg) e fósforo (P), e baixo conteúdo de matéria orgânica. A tomada de decisão para corrigir esta acidez e elevar o pH deste solo se baseia geralmente, na tolerância da cultura a condição de acidez ou pelo sistema de produção que deseja implantar.

Para Hartwig et al. (2007), o excesso de alumínio no solo é a principal causa de acidez nos solos brasileiros. Em geral, no Brasil, os solos apresentam alto teor de acidez, com teores elevados de alumínio e manganês, associados à deficiência de cálcio, magnésio e fósforo, promovendo uma baixa taxa de enraizamento e absorção de água e nutrientes. Para que a neutralização da acidez ocorra com eficiência, faz-se necessário que as partículas do solo entrem em contato com o calcário ou outro corretivo tornando necessário conhecer as particularidades de cada tipo de solo e a necessidade de incorporação deste corretivo agrícola (WEIRICH NETO et al., 2000).

O pH é o potencial hidrogeniônico de uma solução e avalia o grau de acidez ou alcalinidade de uma composição, que pode ser alcalino, ácido ou neutro. De acordo com Camargos (2015), no Brasil, o maior problema é que cerca de 70% dos solos são ácidos (pH em torno de 5.0), o que torna a prática de calagem indispensável em diversas

regiões. Embora existam algumas plantas forrageiras capazes de se desenvolver e se adapta a está condições como, por exemplo, o capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*), a maioria das espécies cultivadas precisam de solos com pH mais elevado, em torno de 6,0 - 6,5. Um solo que apresenta pH abaixo de 5,0 compromete a absorção de diversos nutrientes em especial nitrogênio (N), fósforo (P), Cálcio (Ca) e Magnésio (Mg). O pH do solo pode exercer influência de duas maneiras sobre a absorção de nutrientes e o crescimento das plantas em especial: mediante o efeito direto dos íons hidrogênio; ou indiretamente, mediante sua influência na disponibilidade de nutrientes e na presença de íons tóxicos. Miguel et al. (2010) citam que um dos fatores que causam maiores problemas de toxicidade em solos com pH abaixo de 5,0 é a elevada concentração de Al disponível, A presença do Al reduz o crescimento e o desenvolvimento das raízes e diminui a absorção de nutrientes, o que é desfavorável para o desenvolvimento de plantas sensíveis a esse elemento. O principal efeito do Al é o bloqueio da divisão celular do sistema radicular da planta e com isso a interrupção do crescimento de raízes (CAMARGOS, 2015).

A faixa de pH 5,5 - 6,5 é ideal para o crescimento da maioria das plantas de interesse agrícola, este é o chamado ponto de equilíbrio no qual a maioria dos nutrientes permanecem disponíveis às raízes. Esta faixa também é ideal para a maioria dos microrganismos do solo, isto porque nesta faixa as plantas crescem bem e produzem mais exsudatos como uma fonte de carbono disponível para a sobrevivência e multiplicação destes microrganismos. A maioria das bactérias se desenvolvem melhor em solos em torno do pH neutro. As atividades fúngicas, por outro lado, são favorecidas por condições de pH um pouco ácido, (ZIFCAKOVA, 2020). desenvolvendo-se melhor em valores de pH menores que 5,0 (LEITE, 2007)

A correção direta do solo ácido é realizada através da calagem (YIRGA et al., 2019). A calagem é uma das práticas agrícolas mais comuns e efetivas na melhoria das condições do solo, principalmente, pela elevação do pH, pela neutralização do  $Al^{+3}$  trocável, e por favorecer a disponibilidade de outros nutrientes (JORIS et al., 2013), tendo efeito também sobre a estrutura do solo, visto que os cátions  $Al^{3+}$  e  $Ca^{2+}$  atuam como agentes de agregação, diretamente ou indiretamente através de pontes catiônicas com a matéria orgânica do solo, entre as partículas de argila (BRONICK; LAL, 2005). Quando o calcário é aplicado no solo ocorrem várias reações para a redução da acidez, o calcário em contato com a água forma ions no solo de cálcio e magnésio e ânions  $HCO^{-3}$   $OH^{-}$ . Os ânions serão utilizados para reduzir a acidez do solo, neutralizando a acidez

(H<sup>+</sup>) e neutralizando a alumínio (AL<sup>+3</sup>). Assim, ocorre o aumento do pH, neutralização do alumínio e disponibilização de íons de cálcio e magnésio.

A baixa disponibilidade de nutrientes aliada à alta acidez dos solos são fatores que contribuem para limitar a produção das forrageiras. A calagem então é utilizada para elevar o pH do solo através da diminuição da toxicidade do alumínio, favorecendo o desenvolvimento radicular das plantas, permitindo maior persistência no sistema produtivo (Costa et al., 2019ab; 2020ab)

Costa et al. (2014) relataram efeito positivo da calagem nas características morfológicas em dosséis formados por *Trachypogon plumosus*. Em comparação à testemunha (solo sem correção e adubação), a calagem beneficiou o acúmulo de massa seca, bem como o aparecimento de folhas no dossel forrageiro. Assim, é evidente o papel da correção do solo para a manutenção da produtividade forrageira.

Porém, é importante observar que a calagem apresenta curvas de resposta com incrementos decrescentes. O que significa que acima de pH 5,8 os retornos devidos à calagem, mesmo em culturas exigentes quanto a pH mais elevado, não são tão acentuados, embora ainda de grande validade, dado seu efeito residual (ALVAREZ & RIBEIRO, 1999).

#### 1.4. Bactérias Diazotróficas

A maioria dos estudos propaga o potencial produtivo das gramíneas forrageiras após a aplicação dos fertilizantes nitrogenados, bem como, o seu alto custo devido as frequente necessidade de aplicação, e também o seu poder de gerar danos ambientais, uma vez que, nem todo o nitrogênio adicionado na forma mineral é absorvido pela planta (TEIXEIRA et al., 2018). Fica clara então, a necessidade de maior exploração do potencial de fixação biológica de nitrogênio pelas bactérias com objetivo de incrementar a produtividade de forma econômica e sustentável.

Dentre os microrganismos fixadores de nitrogênio encontrados em associações com gramíneas, as espécies do gênero *Azospirillum* constituem um dos grupos mais estudados (BALDINI, 1999). Um grande número de bactérias diazotróficas deste gênero, tem sido identificado em associação com as raízes das plantas, contribuindo por diversos mecanismos, dentre os quais: a incorporação de nitrogênio atmosférico no solo (MOREIRA et al., 2014, SANTOS et al., 2017), o estímulo a produção de fitormônios como auxinas, citocininas, giberilinas e etileno (BOSA et al., 2016), como aumento nos

níveis de clorofila, nitrogênio, prolina na parte aérea e nas raízes das plantas, maior produção de biomassa, desenvolvimento radicular e tolerância ao estresse hídrico (HUNGRIA et al., 2010; LANA et al., 2012; PANKIEVICZ et al., 2015).

Estas bactérias também atuam em processos como a solubilização de fosfatos (RODRIGUEZ et al., 2004; GALINDO et al., 2016), e no controle biológico de patógenos (COHEN; BOTTINI; PICCOLI, 2008; HUNGRIA et al., 2010; MEHNAZ, 2015; SANTI; BOGUSZ; FRANCHE, 2013) aumentando a resistência a doenças por atuarem como agente de controle biológico, devido à indução da expressão de genes envolvidos na defesa da planta (CORREA et al., 2008). O *Azospirillum brasilense* especificamente apresenta uma elevada produção de auxinas, sendo este hormônio responsável por modificações morfológicas nas raízes como, comprimento, ramificações e aumento de pelos radiculares (DOBBELAERE et al., 1999; MIYAUCHI, et al., 2008).

Em geral, acredita-se que a vantagem do crescimento das plantas através das bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) se dá pelas diversas combinações destes mecanismos (BABALOLA, 2010; DOBBELAERE et al., 2001; HUNGRIA et al., 2010).

Espécies do gênero *Azospirillum* foram isoladas em todo o mundo em uma diversidade de ambientes e rizosfera de plantas (LIN et al., 2012). Cada estirpe do gênero *Azospirillum* interage com a raiz da planta hospedeira de forma diferente, algumas predominantemente colonizam a superfície da raiz denominadas epifíticas, enquanto outras podem infectar o interior da raiz e, assim, atuar como endófitos, (MISRA, 2012).

O gênero *Azospirillum* possui atualmente 15 espécies: *A. brasilense*, *A. lipoferum*, *A. halopraeferens*, *A. largimobile*, *A. doebereinae*, *A. oryzae*, *A. melinis*, *A. canadense*, *A. zae*, *A. rugosum*, *A. picis* e *A. thiophilum*, *A. formosense*, *A. humicireducens* e *A. fermentarium* (FALEIRO, 2014). Dentre as espécies descritas as mais estudadas são *A. lipoferum* e *A. brasilense*, normalmente encontradas em áreas tropicais.

O gênero *Azospirillum* abrange um grupo de BPCV de vida livre, encontrada em quase todos os lugares (HUNGRIA et al., 2010; MEHNAZ, 2015). Essas espécies são abundantes principalmente em áreas tropicais e podem ser isoladas a partir da rizosfera e de raízes de plantas da família *Poaceae*. Até o momento, nenhum representante de *Azospirillum* foi relatado como patógeno humano ou de plantas. Desta forma, estas

bactérias são consideradas seguras, podendo ser utilizadas como biofertilizantes, a nível comercial para diversas culturas, especialmente gramíneas de importância econômica (MEHNAZ, 2015).

A fixação biológica de nitrogênio é um processo dinâmico que depende de diversos fatores. Para a bactéria estabelecer uma interação positiva com a planta é indispensável à utilização de estipes selecionadas (HUNGRIA, 2011) capazes de competir com os microrganismos já presentes no solo. Outro fator a considerado é a escolha do genótipo inoculado, pois a relação benéfica de simbiose entre o genótipo e a bactéria é determinada pela qualidade dos exsudatos liberados pelas raízes da planta. Esse fenômeno é conhecido por quimiotaxia, onde cada genótipo libera uma quantidade de exsudato diferente, com composição química distinta, que pode ou não ser atrativo e servir de fonte de carbono para as bactérias inoculadas (QUADROS et al., 2014).

A habilidade de fixar nitrogênio atmosférico em amônia permite aos diazotróficos não somente sobreviver, como também proliferar em condições de privação de nitrogênio. Essa estratégia, no entanto, impõe uma despesa energética grande, uma vez que a nitrogenase consome 16 moles de ATP por mol de dinitrogênio fixado in vitro, sendo que esse custo energético sobe para até 40 moles de ATP in vivo (HILL, 1992).

É importante destacar que, à maioria das espécies simbióticas fixadoras, apresentam algum tipo de sensibilidade à presença do nitrogênio mineral, que aplicados em doses elevadas pode inibir sua fixação (MOREIRA et al., 2014). Outro fator que pode interferir na eficiência da inoculação é a disponibilidade de nutrientes no solo, (HANISCH et al., 2017), áreas com elevada ciclagem de nutrientes, a fixação biológica de nitrogênio é pouco estimulada.

Podemos citar como aspectos importantes no processo de fixação biológica, a interação das bactérias com o genótipo da planta, fatores abióticos e a competitividade com os demais microrganismos do solo (KANEKO et al., 2015; COMPANT; CLÉMENT; SESSITSCH, 2010; FERREIRA et al., 2013; MUS et al., 2016).

### 1.5. *Azospirillum brasilense*

Dentre os microrganismos fixadores de nitrogênio encontrados em associações com gramíneas, o *Azospirillum brasilense* constituem um dos grupos mais estudados. Essa bactéria gram-negativa de vida livre, possui metabolismo de carbono e N bastante

versáteis, conferindo-lhe competitividade durante o processo de colonização (QUADROS, 2009). O *Azospirillum brasilense* se destaca como bactéria promotora de crescimento devido aspectos como produção de fitormônios e sua ocorrência em diversos tipos de solo e clima. Dentre as contribuições dessa bactéria destacam-se o aumento na taxa de acúmulo de massa seca, aumento na biomassa e altura, aceleração na taxa de germinação e benefícios no sistema radicular, proporcionando aumento na produtividade (HUNGRIA, 2010; VOGEL et al., 2013).

O *Azospirillum brasilense* tem demonstrado facilidade de se associar com gramíneas do gênero *Brachiaria*, conforme estudos de HUNGRIA et al. (2016). Além disso, está relacionado com o aumento da produtividade e qualidade da forragem, sendo que quando é associado com adubação nitrogenada eleva a produção da gramínea (FREITAS et al., 2019). Em estudos realizados no Brasil, Hungria et al. (2016) ao inocular *Brachiaria brizantha* com *Azospirillum brasilense* encontraram aumento significativo (4,6%) na produção de biomassa e quando essa foi associada a adubação nitrogenada (40 kg N/ha<sup>-1</sup>) esse aumento foi ainda maior (24,7%).

GUIMARÃES et al. (2011), avaliando a inoculação de *Azospirillum* spp. com *Brachiaria decumbens*, observou um efeito positivo dessas bactérias na leitura do índice de clorofila, equivalente a 82% das leituras observadas para o tratamento com adubação nitrogenada, confirmando que a associação entre a planta e bactérias podem resultar em um suprimento adequado de nitrogênio.

Diferentemente das bactérias simbióticas, bactérias associativas como os *Azospirillum brasilense* excretam somente uma parte do nitrogênio fixado diretamente para a planta associada e, posteriormente, a mineralização das bactérias pode contribuir com aportes adicionais de nitrogênio para as plantas, contudo, é importante salientar que o processo de fixação biológica por essas bactérias consegue suprir apenas parcialmente as necessidades das plantas. Desse modo, deve-se lembrar de que, ao contrário das leguminosas, a inoculação de não leguminosas com bactérias endofíticas ou associativas, ainda que essas consigam fixar nitrogênio, não consegue suprir totalmente as necessidades das plantas em nitrogênio (HUNGRIA, 2011). A contribuição da fixação biológica de nitrogênio associativa a nutrição vegetal não é tão significativa como nas simbiontes, entretanto se for considerada a grande extensão de terras recobertas por gramíneas, esta se torna importante, em termos globais.

ROCHA et al. (2018) avaliaram o desempenho (altura, teor de clorofila, massa seca, número de perfilhos e relação lâmina:colmo) da *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<sup>-1</sup>). Neste trabalho, foi possível observar que para quase todas as variáveis em análise o tratamento controle (sem inoculação) apresentou valores inferiores quando comparado com os tratamentos inoculados, independentemente da adubação utilizada. Analisando apenas os tratamentos inoculados, foi possível observar que a partir da dose de 50% de nitrogênio aplicado, os resultados não apresentaram grandes diferenças, com exceção da massa seca e do número de perfilhos, que apresentaram maiores valores com a dose máxima (100%), demonstrando elevado potencial de substituição de adubos químicos e consequentemente reduzindo a possibilidade de degradação da pastagem.

Quanto à sobrevivência deste microrganismo, sabe-se que as condições físico-químicas do solo e a ausência da planta hospedeira podem afetar diretamente a população da bactéria. Trabalhos realizados Baldani et al. (1999) retratam, que a influência por estresses físicos (baixa umidade e alta temperatura), químicos (acidez e baixos teores de nutrientes) e biológicos (espécie vegetal não hospedeira) podendo reduzir o número de unidades formadoras de colônia (UFC).

Os efeitos da inoculação dependem de uma série de fatores, de acordo com Cantarella (2007), existe uma relação bastante específica entre a estirpe da bactéria utilizada com a cultivar do vegetal que se deseja produzir, este evento se denomina especificidade planta-bactéria e, é uma das principais causas de inconsistência de ganhos produtivos com a utilização de bactérias promotoras do crescimento vegetal. Os benefícios da inoculação são inversamente proporcionais a dose de nitrogênio aplicada, sendo quanto maior a dose de nitrogênio, menor o benefício proporcionado pela inoculação, assim torna-se fundamental o entendimento da necessidade da adubação nitrogenada em acordo com a gramínea específica (FREITAS et al. 2019).

### 1.6. Fungos micorrízicos arbusculares

Novas técnicas de manejo têm sido aplicadas para que a produção animal e vegetal se desenvolva de uma forma sustentável, e a utilização dos fungos micorrízicos arbusculares tem contribuído bastante na melhoria dessas técnicas.

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) pertencem ao Filo Glomeromycota estão amplamente distribuídos na maioria dos ecossistemas temperados, tropicais e subtropicais. São organismos biotróficos (PARNISKE, 2008; SIQUEIRA et al., 2010),

que necessitam de uma raiz metabolicamente ativa para completar seu ciclo de vida, formando uma relação mutualista (SOUZA et al., 2010). Fato que tem dificultado os estudos básicos sobre a biologia e a genética desses fungos como também o desenvolvimento de tecnologias para a utilização de inoculantes micorrízicos em larga escala (SOUZA et al., 2011)

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 das raízes de plantas micotróficas, formando estruturas intracelulares típicas denominadas de arbúsculos e posteriormente desenvolve o micélio extra radicular capaz de adquirir nutrientes do solo com eficiência (SMITH & READ, 2008; MOREIRA & SIQUEIRA, 2006). Os nutrientes são transferidos para as raízes micorrizadas em troca de açúcares por meio transportadores de membrana específicos (SMITH & READ, 2008).

O estabelecimento da simbiose micorrízica, pode variar conforme as características intrínsecas das espécies de FMAs, de suas interações com a espécie hospedeira e das diferentes formas de uso e manejo do solo e plantas (LAMBALIS et al, 2010; SANDERS et al, 2010). Assim, a eficiência da simbiose depende da compatibilidade genética entre o genoma do fungo e da planta hospedeira para uma dada condição edafoclimática e de manejo. Esse processo inicia-se antes mesmo do contato físico de ambos os simbioss, com a exsudação de sinais moleculares pelas raízes das plantas, que estimulam o crescimento das hifas fúngicas no solo (PARNISKE, 2008; SANDERS et al, 2010).

Os fungos e as plantas desenvolveram a capacidade de se comunicarem molecularmente, por mecanismos de reconhecimento, tropismo e tactismo que permitiram a integração morfológica e funcional, requisistos essenciais à formação de uma relação simbiótica estável (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006)

A contribuição desses fungos para as plantas e solo ocorre por meio do crescimento das hifas extra-radiculares, as quais atuam como uma extensão do sistema radicular explorando um maior volume de solo e microporos e ampliam do imensamente a superfície de absorção de nutrientes e água da solução do solo. As hifas extra-radiculares atuam como um modificador do ambiente físico na rizosfera.

Os FMAs podem também aumentar a disponibilidade de nutrientes por solubilização e atuam como dreno de CO<sup>2</sup> da atmosfera estocando-o no solo por meio da produção de glomalina (BERBARA et al., 2006; PARNISKE, 2008; SIQUEIRA et al.,

2010; FOLLI-PEREIRA et al., 2012; MARTÍN; RIVERA, 2015; LEHMANN et al., 2017).

Nas regiões tropicais, que tradicionalmente apresentam solos com níveis baixos de fósforo (P), as associações micorrízicas se destacam como uma importante ferramenta de manejo já que em geral as hifas dos fungos micorrízicos são bastante eficientes na aquisição e no transporte de fósforo do solo até as raízes do que o sistema radicular das plantas (SMITH & READ, 2008), principalmente, em condições de baixa disponibilidade que é o caso dos solos brasileiros.

Estima-se que a contribuição na absorção de nutrientes por FMAs seja de 80% para o fósforo, 60% para o cobre e entre 10% a 25% para os demais nutrientes (MARSCHNER & DELL, 1994).

A ação dos FMAs em interação com espécies de *Urochloa* associada às boas práticas de manejo tem mostrado efeitos positivos na nutrição destas plantas, principalmente nitrogenada e fosfatada (CRESPO FLORES et al., 2014; GONZÁLEZ et al., 2011), tem aumentado rendimento e produtividade das pastagens (LEIGH et al., 2009), influenciado no estoque de carbono no solo melhorando a sua estruturação física (LEHMANN et al., 2017) e aumento da eficiência da adubação (KAVANOVA et al. 2006; GONZÁLEZ et al., 2011). Vale ressaltar, que a eficiência da inoculação depende de vários fatores de solo, clima, manejo, nutrição, FMAs e dependência micorrízica da espécie hospedeira (SIQUEIRA et al., 2010).

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

CARNEIRO et al. (2011) destacam que o manejo da simbiose micorrízica, como uma estratégia que visa à melhoria da nutrição e produtividade, com gasto mínimo de insumos, constituiu-se em uma prática promissora para uma maior viabilidade e sustentabilidade de pastagens, em solos tropicais.

A eficiência da simbiose micorrízica depende da interação entre a espécie da planta, com o fungo e o ambiente. A falta de relação entre a efetividade e a eficiência do fungo em promover o crescimento da planta pode estar relacionada ao tempo necessário ao estabelecimento da colonização radicular (ABBOTT & ROBSON, 1981). Em alguns casos de interações pouco eficientes, os fungos não produzem quantidade suficiente de

micélio externo para auxiliar a planta a explorar o substrato.

De maneira geral, a baixa fertilidade do solo favorece o desenvolvimento pleno e a alta fertilidade restringe a colonização radicular, pois nessa condição, a colonização micorrízica se torna um gasto de C desnecessário (KIRIACHECK et al., 2009). Isto porque as plantas micorrizadas têm maiores demanda energética no sistema radicular, contudo, essa demanda pode ser compensada quando a fotossíntese da planta aumentar em decorrência da maior aquisição de nutrientes e água (KASCHUK et al., 2009; GABRIEL-NEUMANN et al., 2011).

### **1.7. Interação fungos micorrízicos arbusculares e bactérias diazotróficas**

No solo existe uma grande diversidade de microrganismos que estão em constante interação, principalmente na região da rizosfera em razão da grande quantidade de nutrientes secretados e liberados pelas raízes, os exsudatos radiculares. Estas interações são altamente complexas, simultâneas e dependentes de uma série de fatores como: disponibilidade de água, pH, compactação e temperatura. Segundo HASHEM e ABO-ELYOUSR, (2011); ZABIHI et al., (2011) das relações ecológicas resultam muitos efeitos benéficos para as plantas, atuando direta ou indiretamente sobre sua nutrição, balanço hormonal e proteção contra organismos nocivos (UMESHA et al., 2018; CHOUAN et al., 2021; REZENDE et al., 2021).

Porém, para que essa tecnologia tenha sucesso é essencial conhecer a planta hospedeira e sua relação com o microrganismo. Isso porque, a composição do exsudado radicular varia com o genótipo e idade da planta, fatores determinantes para colonização dos microrganismos (MSIMBIRA & SMITH, 2020). Segundo Lopes et al. (2021), o sucesso da inoculação microbiana depende do método de inoculação, densidade de inóculo, capacidade de o fungo colonizar a raiz, multiplicação e distribuição na rizosfera, antagonismo microbiano, estado fisiológico e composição dos exsudatos radiculares da planta; além do pH, temperatura e umidade do solo.

Pouco se sabe sobre a simbiose entre fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e bactérias diazotróficas em gramíneas de clima tropical. De forma geral, tratando-se da simbiose entre fungos micorrízicos arbusculares e bactérias promotoras de crescimento, 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)

Os microrganismos atuam no crescimento das plantas, por regular fitormônios, aumentando a concentração de auxina, giberelina, citocinina, além de 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) deaminase, enzima que reduz o etileno. Além disso, produzem substâncias que induzem uma resistência sistêmica ao hospedeiro, como ácido cianídrico, bacteriocinas e antibióticos, prevenindo ou limitando o dano causado por fitopatógenos (BHAT et al., 2019; CHOUAN et al., 2021). Segundo Artursson et al. (2006), os benefícios da interação fungos micorrízicos arbusculares e bactéria diazotrófica podem ser atribuídos, principalmente, ao incremento na absorção de fósforo pelas plantas.

Devido à complexidade das interações entre fungos arbusculares e as bactérias diazotróficas, fica claro a necessidade de entender os benefícios e os efeitos inibitórios proporcionados por esta associação. De forma geral, essas interações podem ser de extrema importância para uma agricultura sustentável com menor emprego de insumos químicos, como os fertilizantes nitrogenados e fosfatados.

Dessa forma, a especificidade das associações e interações entre os organismos que habitam o solo e a rizosfera é chave para o sucesso da inoculação e maximização dos benefícios na produção vegetal. O estudo das interações deve ser realizado para entender o funcionamento e planejar o uso correto destas biotecnologias a campo.

### **1.8. Fracionamento de proteína**

As proteínas apresentam papel essencial as plantas tendo relação praticamente com todas as funções fisiológica: transporte de molécula, reserva de nitrogênio e carbono, formação de enzimas e hormônios. As proteínas podem ser classificadas conforme a sua solubilidade em determinadas soluções (OSBORNE, 1924). Segundo Osborne (1924), as proteínas solúveis são classificadas em função da sua solubilidade em: as albuminas (solúveis em água), as globulinas (solúveis em solução salina), as prolaminas (solúveis em álcool) e glutelinas (solúveis em solução básica).

A classificação das proteínas de acordo com sua solubilidade,

geralmente é utilizada para avaliar os tipos de proteína de reserva, por atuarem nos processos metabólicos de formação inicial da planta (BEWLEY & BLACK, 1994).

A maioria dessas proteínas tem função de prover nitrogênio e de estimular os processos de germinação e estágios primários de crescimento das plântulas, sua taxa de acúmulo depende da disponibilidade de nutrientes, sendo considerado um dreno do nitrogênio excedente disponível (GALLARDO et al., 2008).

Poucos estudos consideram a utilização da classificação das proteínas em função da sua solubilidade, como metodologia para classificação das proteínas em plantas forrageiras e sua real importância nos processos de restabelecimento da condição fisiológica das plantas após corte. Grande parte dos estudos que avalia a concentração de proteínas de reserva apresenta teores relativos, dificultando o entendimento da influência dessas proteínas sobre os processos de recuperação foliar, principalmente, em plantas forrageiras em condições tropicais.

### 1.9. Clorofila e Carotenoides

As clorofilas são pigmentos naturais de maior abundância nos tecidos vegetais, ocorrendo principalmente nas folhas as clorofilas localizam-se nos cloroplastos, sendo esta organela o local onde ocorrem as duas reações importantes: a fotoquímica, nas membranas dos tilacoides e a bioquímica, no estroma do cloroplasto.

A *clorofila a* é o pigmento utilizado para realizar a primeira fase do processo fotossintético, denominada etapa fotoquímica, os demais pigmentos (*clorofila b* e *carotenoides*) possuem como função o auxílio na absorção de luz e na transferência de elétrons energizados para os centros de reação, sendo assim chamados de pigmentos acessórios. Esta diversidade de pigmentos torna-se interessante, haja vista que cada um absorve a luz em comprimentos de luz diferente. As *clorofilas a* e *b* encontram-se na natureza numa proporção de 3:1 (STREIT et al. 2005).

Os pigmentos foliares clorofilas a e b, e os carotenoides estão diretamente associados à eficiência fotossintética, ao crescimento e à adaptabilidade das plantas a diversos ambientes. A combinação destes pigmentos fotossintéticos habilita as plantas a

captarem maior quantidade de radiação solar fotossinteticamente ativa (TAIZ & ZEIGER, 2004). Os carotenoides desempenham dois papéis principais na fotossíntese, agindo como pigmentos acessórios de captação de luz que absorvem na faixa de 450-570 nm e transferem a energia para clorofila e canalizam o excesso de energia para longe da clorofila protegendo-a contra danos foto oxidativos (DEMMIG-ADAMS et al., 1996). A maior parte dos carotenoides está localizada junto às clorofilas, em pigmentos funcionais embebidos em proteínas estruturais, nas membranas dos tilacoides

Os teores de clorofila total estão relacionados com os níveis de intensidades luminosa recebidos pela planta, podendo inibir ou estimular o crescimento das plantas (SANTOS et al., 2010), haja vista que à medida que as plantas recebem maiores quantidades de luz ela tende a se lignificar, reduzindo conseqüentemente o seu conteúdo celular, ou seja, limitando o número de moléculas de clorofila.

## 2.0. Prolina

O estresse causado pelo ambiente, como o déficit hídrico, temperaturas extremas, salinidade, deficiência mineral e baixo pH do solo, estimulam o aumento de diversos metabólitos, como exemplo dos aminoácidos. Alguns deles, relacionados ao estresse, como a prolina (BRAGA, 2014).

As plantas quando estão sob estresses ambientais, utilizam-se de mecanismos complexos que contribuem para tolerar curtos períodos sobre tais condições adversas dentre estes mecanismos podemos destacar o acúmulo de solutos orgânicos no citoplasma. A prolina é o mais estudado, em razão de sua sensibilidade de resposta a condições de estresse (TROVATO et al., 2008, ASHRAF et al., 2011). Em plantas sob estresse abiótico, o conteúdo de prolina pode aumentar até cem vezes, em comparação ao observado em plantas cultivadas sob condições normais (VERBRUGGEN & HERMANS, 2008). De acordo com Paulus et al. (2010) o aumento dos teores de prolina pode ativar várias funções celulares como ajustamento osmótico, reserva de carbono e nitrogênio, estabilizador de proteínas e membranas e eliminadores de radicais livres

Nas plantas, existem dois diferentes precursores da prolina, o glutamato e a ornitina, que fazem parte de vias distintas, a via do glutamato é responsável pelo maior acúmulo de prolina em função do estresse (HAYAT et al., 2012). As mudanças nos níveis de prolina são causadas pela biossíntese, degradação e transporte entre células e

diferentes compartimentos celulares. Segundo Kiyosue et al. (1996), o acúmulo de prolina pode ocorrer devido ao acionamento de sua síntese ou pela inativação da sua degradação. A prolina atua no mecanismo de minimização da acidez do citoplasma, mantendo as taxas de NADP<sup>+</sup>/NADH compatíveis com o metabolismo, permitindo a redução do estresse, o rápido catabolismo da prolina pode fornecer equivalentes redutores para manter a fosforilação oxidativa na mitocôndria, contribuindo na reparação de estruturas celulares danificadas pelo estresse (HARE & CRESS, 1997).

## II - REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ABBOTT, L.K.; ROBSON, A.D. **Infectivity and effectiveness of five endomycorrhizal fungi: competition with indigenous fungi in field soils.** Australian

ALVAREZ V., V.H.; RIBEIRO, A.C. **Calagem. In: Comissão de fertilidade do solo do estado de minas gerais (CFSMG).** Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais. 5ª aproximação, Viçosa, 1999.

ARTURSSON, V.; FINLAY, R.D.; JANSSON, J.K. **Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria and their potential for stimulating plant growth.** *Environmental Microbiology*, v.8, p.1-10, 2006.

ASHRAF, M.; AKRAM, N.A.; ALQURAINY, F.; FOOLAD, M.R. **Drought tolerance: roles of organic osmolytes, growth regulators, and mineral nutrients.** *Advances in Agronomy*, v.111, p.249-296, 2011.

BABALOLA, O. O. Beneficial bacteria of agricultural importance. **Biotechnology Letters**, v. 32, n. 11, p. 1559-1570, 2010.

BALDANI, J.L.; AZEVEDO, M.S.; REIS, V.M. et al. **Fixação biológica de nitrogênio em gramíneas: avanços e aplicações.** In: SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S.; LOPES, A.S. et al. (Eds.) *Inter-relações fertilidade, biologia e nutrição de plantas.* Viçosa, MG: SBCS/UFLA/DCS, p.621-666, 1999.

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

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination.**

New York: Plenum Press, 1994. 445 p.

BHAT, M. A., RASOOL, R. & RAMZAN, S. **Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) for sustainable and eco-friendly agriculture.** *Acta Scientific Agriculture*, 3, 23–25, (2019).

BOSA, C. K.; GUIMARÃES, S. L.; POLIZEL, A. C.; BONFIM-SILVA, E. M.; CANUTO, E. L. **Características produtivas e nutricionais do capim-xaraés inoculado com bactérias diazotróficas associativas.** *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 68, n. 5, p.1360-1368, 2016.

BRAGA, M.T.C. **Clonagem e caracterização molecular e funcional dos genes da Prolina Desidrogenase (PDH) em *Solanum nigrum* L. e *Solanum lycopersicum* L.** Dissertação (Mestrado). 2014. 101p. Faculdade de Ciências da Universidade do Porto.

BRONICK, C. J.; LAL, R. **Soil structure and management: a review.** *Geoderma*, v. 124, p. 3–22, 2005.

CAMARGOS, S.L. **Acidez do solo e calagem (reação do solo).** Universidade Federal do Mato Grosso, Cuiabá, 2015. 26 p.

CANTARELLA, H. Nitrogênio. In: NOVAIS, R. F. et al. (Eds.). **Fertilidade do solo.** Viçosa: SBCS, 2007. p. 375- 470.

CANTARUTTI, R. B.; MARTINS, C. A.; CARVALHO, M. M.; FONSECA, D. M.; ARRUDA, M. L.; VILELA, H.; OLIVEIRA, F. T. T. Pastagens. In: RIBEIRO, A. C.; GUIMARÃES, P. T. G.; ALVAREZ V. V. H., (Ed.). **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais (5ª Aproximação).** Viçosa, MG, 1999. p.13-20

CARDOSO, E. J. B. N.; CARDOSO, I. M.; NOGUEIRA, M. A.; BARETTA, C. R. D. M.; PAULA, A. M. **Micorrizas arbusculares na aquisição de nutrientes pelas plantas.** In: SIQUEIRA, J. O.; SOUZA, F. A. ; CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M. *Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil.* Lavras: Ed da UFLA, p. 153-214.2010.

CARNEIRO, R. F. V.; MARTINS, M. A.; ARAÚJO, A. S. F.; NUNES, L. A. P. L. **Inoculação micorrízica arbuscular e adubação fosfatada no cultivo de forrageiras consorciadas.** *Arch. Zootecnia*, v. 60, n.232, p.1191-1202, 2011.

CAVALCANTI FILHO, L. F. M.; SANTOS, M. V. F.; FERREIRA, M. A.; MODESTO, E. C. **Caracterização da pastagem de *Brachiaria decumbens* na zona da mata de Pernambuco,** *Archivos de Zootecnia.* v. 57, n. 220, p.391-402, 2008.

CELY, M. V. T., SIVIERO, M. A., EMILIANO, J., SPAGO, F. R., FREITAS, V. F. & BARAZETTI, A. R., **Inoculation of *Schizolobium parahyba* with mycorrhizal fungi and plant growth-promoting rhizobacteria increases wood yield under field conditions.** *Frontiers in Plant Science*, 7, 1708, 2016.

CHALK, P. M.; SOUZA, R. F.; URQUIAGA, S.; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M. **The role of arbuscular mycorrhiza in legume symbiotic performance.** *Soil Biology*

& Biochemistry, v.38, n.9, p.2944-2951, set. 2006.

CHOUHAN, D. K., JAISWAL, D. K. GAURAV, A. K., MUKHERJEE, A. & VERMA, J. P. **PGPM as a potential bioinoculant for enhancing crop productivity under sustainable agriculture.** In: Rakshit, A., Meena, V. S. M. P., Singh, H.B. & Singh A.K. (org). *Biofertilizers*, Woodhead Publishing, 221-237, 2021.

COHEN, A. C.; BOTTINI, R.; PICCOLI, P. N. ***Azospirillum brasilense* Sp 245 produces ABA in chemically-defined culture medium and increases ABA content in arabidopsis plants.** *Plant Growth Regulation*, v. 54, n. 2, p. 97-103, 2008.

COMPANT, S.; CLÉMENT, C.; SESSITSCH, A. **Plant growthpromoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: Their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization.** *Soil Biology and Biochemistry*, v. 42, n. 5, p. 669-678, 2010.

CORREA, O. S.; ROMERO, A. M.; SORIA, M. A.; ESTRADA, M. ***Azospirillumbrasilense*-plant genotype interactions modify tomato response to bacterial diseases, and root and foliar microbial communities.** In: CASSÁN, F. D.;

COSTA, N. L., MAGALHÃES, J. A., BENDAHAN, A. B., RODRIGUES, A. N. A., RODRIGUES, B. H. N., & SANTOS, F. J. S. (2020a). **Produtividade de forragem e morfogênese de *Brachiaria ruziziensis* sob níveis de nitrogênio.** *Research, Society and Development*, 9(1), e10911499. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsdv9i1.1499>

COSTA, N. L., MORAES, A., CARVALHO, P. C. F., MAGALHÃES, J. A., RODRIGUES, B. H. N., & SANTOS, F. J. S. (2019a). **Acúmulo de forragem e morfogênese de *Axoponus aureus* sob adubação potássica.** *Research, Society and Development*, 8(8), e49881270. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v8i8.1270>

COSTA, N. L., RODRIGUES, A. N. A., MAGALHÃES, J. A., BENDAHAN, A. B., RODRIGUES, B. H. N., & SANTOS, F. J. S. (2019b). **Morfogênese e composição química de *Brachiaria humidicola* cv. Llanero sob períodos de descanso.** *Research, Society and Development*, 8(10), e228101356.

COSTA, N. L., RODRIGUES, A. N. A., MAGALHÃES, J. A., BENDAHAN, A. B., RODRIGUES, B. H. N., & SANTOS, F. J. S. (2020b). **Rendimento de forragem, composição química e morfogênese de *Brachiaria brizantha* cv. Piatã sob períodos de rebrota.** *Research, Society and Development*, 9(1), e133911801. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i1.180>.

COSTA, N. L., MORAES, A. D., CARVALHO, P. C. F., MONTEIRO, A. L. G., MOTTA, A. C. V., SILVA, A. L. P., & OLIVEIRA, R. A. (2014). **Morfogênese de *Trachypogon plumosus* sob calagem, adubação e idades de rebrota.** *Archivos de Zootecnia*, 63(241), 109-120.

CRESPO FLORES, G.; RAMÍREZ, J. F.; GONZÁLEZ, P. J.; HERNÁNDEZ, I. **Coinoculation of rhizobium strains and one of the arbuscular micorrhizal fungus on *Stylosanthes guianensis*.** CIAT-184. *Cuban Journal of Agricultural Science*, v. 48, n. 3, 2014.

DEMMIG-ADAMS, B.; GILMORE, A.M.; ADAMS, W.W. In vivo functions of carotenoids in higher plants. **The FASEB Journal**, v.10, p.403-412, 1996.

DIAS-FILHO, MOACYR BERNARDINO. **Diagnóstico das pastagens no Brasil**. Documentos 402. Belém: Embrapa Amazônia Oriental 36 p, (Documentos, 402). 2014. ISSN 1983-0513.

DOBBELAERE, S. et al. **Responses of agronomically important crops to inoculation with *Azospirillum***. *Functional Plant Biology*, v. 28, n. 9, p. 871-879, 2001.

DOBBELAERE, S.; CROONENBORGHES, A.; THYS, A.; BROEK, A. V.; VANDERLEYDEN, J. **Phyostimulatory effect of *Azospirillum brasilense* wild type and mutant strains altered in IAA production on wheat**. *Plant and soil*, v. 212, n. 2, p. 153-162, 1999.

FACTORI, M. A.; SILVA, P. C. G.; GONÇALVES, D. M.; SCATULIN-NETO, A.; MARATTI, C. H. Z.; TIRITAN, C. S. **Produtividade de massa de forragem e proteína bruta do capim mombaça irrigado em função da adubação nitrogenada**. *Colloquium Agrariae*, v.13, n.3, set./dez. 2017.

FAGUNDES, J. L.; FONSECA, D. M.; GOMIDE, J. A.; NASCIMENTO JUNIOR, D.; VITOR, C. M. T.; MORAIS, R. V.; MISTURA, C.; REIS, G. C.; MARTUSCELLO, J. A. **Acúmulo de forragem em pastos de *Brachiaria decumbens* adubados com nitrogênio**. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.40, n.4, p.397-403, 2005.

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

FERREIRA, A. S. et al. **Implications of *Azospirillum brasilense* inoculation and nutrient addition on maize in soils of the Brazilian Cerrado under greenhouse and field conditions**. *Applied Soil Ecology*, v. 72, p. 103-108, 10// 2013.

FOLLI-PEREIRA, M. S.; MEIRA-HADDAD, L. S.; BAZZOLLI, D. M. S.; KASUYAH, M. C. M. **Micorriza arbuscular e a tolerância das plantas ao estresse**. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 36: p.1663-1679, 2012.  
**fósforo (P) em Poaceae (gramíneas)**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2011.

FREITAS, P.V.X.; TOMAZELLO, D.A.; ISMAR, M.G.; THIAGO,B.T.; ANDRÉ, F.R.; ABRAÃO,A.; MACIEL, L.P.; FIRMINO, A.E.; MELO, C.; NETO, S.; FRANÇA, A.F.S. **Produção de gramíneas forrageiras inoculadas com *azospirillum brasilense* associada à adubação nitrogenada**. *Revista Científica Rural*, Bagé-RS, volume 21, nº2, ano 2019.

FUKAMI, J.; CERZINI, P.; HUNGRIA, M. ***Azospirillum*: benefits that go far beyond biological nitrogen fixation**. *AMB Express*, Heidelberg, v. 8, n. 1, p. 73, 2018.

GABRIEL-NEUMANN, E.; NEUMANN, G.; LEGGEWIE, G.; GEORGE, E.

**Constitutive over expression of the sucrose transporter *SoS Ut1* in potato plants increases arbuscular mycorrhiza fungal root colonization under high, but not under low, soil phosphorus availability.** *Journal Plant Physiology*, v.168, p.911-919, 2011.

GALINDO, F.S.; TEIXEIRA-FILHO, M. C. M.; BUZETTI, S.; SANTINI, J. M. K.; ALVES, C. J.; NOGUEIRA, L. M.; LUDKIEWICZ, M. G. Z.; ANDREOTTI, M.; BELLOTTE, J.; L. M. **Corn yield and foliar diagnosis affected by nitrogen fertilization and inoculation with *Azospirillum brasilense*.** *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 40:e015036, 2016.

GALLARDO, K.; THOMPSON, R.; BURSTIN, J. **Reserve accumulation in legume seeds.** *Comptes Rendus Biologies*, v. 331, p. 755-762. 2008.

GARCIA DE SALAMONE, I. (Ed.) ***Azospirillum* ssp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina**, 2008. Argentina: Asociación Argentina de Microbiología, p. 87-95, 2008.

GARCIA, J.; ALCALDE, C. R.; ZAMBOM, M. A. **Desempenho de Novilhos em Crescimento em Pastagem de *Brachiaria decumbens* Suplementados com Diferentes Fontes Energéticas no Período da Seca e Transição Seca-Águas**, *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.33, n.6, p.2140-2150, 2004.

GIACOMINI, A. A.; DA SILVA, S. C.; SARMENTO, D. O. L.; ZEFERINO, C. V.; SOUZA JÚNIOR., S. J.; TRINDADE, J. K.; GUARDA, V. A.; NASCIMENTO JUNIOR., D. **Growth of marandu palisade grass subjected to strategies of intermitente stocking.** *Scientia Agricola*, v. 66, n. 6, p. 733-741, 2009.

GOEDERT, W.J., E. LOBATO E E. WAGNER. **Potencial agrícola da região de cerrados brasileiros.** *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, n.15, p.1-17, 1988.

GONZÁLEZ, P. J.; ARZOLA, J.; MORGAN, O.; ESPINOSA, R. R.; RAMÍREZ, J. F. **Efecto de la inoculación de la cepa de hongo micorrízico arbuscular *glomus hoi-like* en la respuesta de *Brachiaria híbrido* cv. Mulato ii (ciat 36087) a la fertilización orgánica y nitrogenada.** *Cultivos Tropicales*, v. 32, n. 4, p. 5-12, 2011.

GUIMARÃES, S. L.; BONFIM-SILVA, E.M.; POLIZEL, A. C.; CAMPOS, T. S. **Produção de capim Marandu inoculado com *Azospirillum* spp.** *Encic. Bios. - Centro Científico Conhecer*, v.7, n.13, p.816-825, 2011.

HANISCH, A. L.; BALBINOT Jr, A. A.; VOGT, G. A. **Desempenho produtivo de *Urochloa brizantha* cv. Marandu em função da inoculação com *Azospirillum* e doses de nitrogênio.** *Revista Agroambiente On-line*, v. 11., n. 3, p. 200-208, 2017.

HARE, P.D.; CRESS, W. A. **Metabolic implications of stress-induced proline accumulation in plants.** *Plant growth regulation*, Dordrecht, v. 21, p. 79-102, 1997.

HARTIWIG, I.; OLIVEIRA, A.C. de; CARVALHO, F.I.F. de; BERTAN, I.; SILVA, J.A.G. da; SCHMIDT, D.A.M.; VALÉRIO, I.P.; MAIAS, L.C.; FONSECA, D.A.R.;

- REIS, C.E.S. **Mecanismos associados ao mecanismo de tolerância de alumínio em plantas**. Ciências Agrárias, v. 28, n.2, p. 219-228, 2007.
- HASHEM, M.; ABO-ELYOUSR, K. A. **Management of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* on tomato with combinations of different biocontrol organisms**. *Crop Protection*, v.30, n.3, p.285-292, mar. 2011.
- HAYAT, S.; HAYAT, Q.; ALYEMENI, M.N.; WANI, A.S.; P.J., AHMAD, A. Role of proline under changing environments - A review. *Plant Signaling & Behavior*, v.7, p. 1456–1466, 2012.
- HE, J. D.; CHI, G. G.; ZOU, Y. N.; SHU, B.; WU, Q. S.; SRIVASTAVA, A. K.; KUČA, K. Contribution of glomalin-related soil proteins to soil organic carbon in trifoliolate orange. *Appl Soil Ecol*, 154:103592, 2020.
- HESHAM, A. E. L., Kaur, T., DEVI, R., KOUR, D., PRASAD, S., YADAV, N., SINGH, C., SINGH, J. & YADAV, A. J. **Current Trends in Microbial Biotechnology for Agricultural Sustainability: Conclusion and Future Challenges**. *Environmental and Microbial Biotechnology*. Elsevier, 555–572, 2021.
- HILL, S. Physiology of nitrogen fixation in free-living heterotrophs. *Biological Nitrogen Fixation*, p. 87-134, 1992.
- HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo**. Londrina: Embrapa Soja, 325, p.36, 2011.
- HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; SOUZA, E. M.; PEDROSA, F. O. **Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil**. *Plant and Soil*, v. 331, n. 1-2, p. 413-425, 2010.
- HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. **Inoculation of *Brachiaria* spp. With the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense*: An environment-friendly component in the reclamation of degraded pastures in the tropics**. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, v.221, p.125-131, jan. 2016.
- JANK L, BARRIOS SC, VALLE CB, SIMEÃO RM, ALVES GF. **O valor das pastagens melhoradas para a produção brasileira de carne**. *Crop Pasture Sci* 65: 1132–1137. 2014.
- JORIS, H. A. W.; CAIRES, E. F.; BINI, A. R.; SCHARR, D. A.; HALISKI, A. **Effects of soil acidity and water stress on corn and soybean performance under a no-till system**. *Plant and Soil*, v. 365, p. 409–424, 2013.
- Jornal of Agricultural Research*, Victoria, v.32, p.621-630, 1981.
- KANEKO, F.H.; SABUNDJIAN. M.T.; ARF, O.; FERREIRA, J.P., DOUGLAS DE CASTILHO GITTI, D. C.; LEAL, A.J.F. **Análise econômica do milho em função da inoculação com *Azospirillum*, fontes e doses de N em Cerrado de baixa altitude**. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, v. 14, n. 1, p. 23-37, 2015.

KASCHUK, G.; KUYPER, T. W.; LEFFELAAR, P. A.; HUNGRIA, M.; GILLER, K. E. **Are the rates of photosynthesis stimulated by the carbon sink strength of rhizobial and arbuscular mycorrhizal symbioses?** *Soil Biology & Biochemistry*, v.41, n.6, p.1233-1244, jun. 2009.

KAVANOVA, M.; GRIMOLDI, A. A.; LATTANZI, F. A.; SCHNYDER, H. **Phosphorus nutrition and mycorrhiza effects on grass leaf growth. P status- and size-mediated effects on growth zone kinematics.** *Plant Cell and Environment*, v. 29,511, 2006.

KIRIACHEK, S. G.; AZEVEDO, L. C. B.; PERES, L. E. P.; LAMBAIS, M. R. **Regulação do desenvolvimento de micorrizas arbusculares.** *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, v.33, n.1, p.1-16, jan/feb. 2009.

KIYOSUE, T.; YOSHIBA, Y.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; E SHINOZAKI, K. **A nuclear gene encoding mitochondrial proline dehydrogenase, an enzyme involved in proline metabolism, is upregulated by proline but downregulated by dehydration in *Arabidopsis*.** *Plant Cell*, v.8, p. 1323-1335, 1996.

LAMBAIS, M. R.; RAMOS, A. C.. **Sinalização e transdução de sinais em micorrizas arbusculares.** In: Siqueira, J. O.; Souza, F. A.; Cardoso, E. J. B. N.; TSAI, S. M. *Micorriza: 30 anos de pesquisa no Brasil*, p.119-126, 2010.

LANA, M. C.; DARTORA, J.; MARINI, D.; HANN, J. E. **Inoculation with *Azospirillum*, associated with nitrogen fertilization in maize.** *Revista Ceres*, Viçosa, v.59, n.3, p.399-405, mai./jun. 2012.

LEHMANN, E. F.; LEIFHEIT, A.; RILLIG, M. C. **Mycorrhizas and Soil Aggregation Mycorrhizal.** *Mediation of Soil*, 2017.

LEITE, L. F. C. **Ecologia Microbiana do Solo.** Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2007.  
LEITE, R.C.; SANTOS, J.G.D.; SILVA, E.L.; ALVES, C.R.C.R.; HUNGRIA, M.; **Productivity increase, reduction of nitrogen fertiliser use and drought-stress mitigation by inoculation of Marandu grass (*Urochloa brizantha*) with *Azospirillum brasilense*.** *Crop & Pasture Science*. v. 70, n. 1. p. 61-67, 2018.

LIN, S. Y.; SHEN, F. T.; YOUNG, L. S.; ZHU, Z. L.; CHEN, W. M.; YOUNG, C. C. ***Azospirillum formosense* sp. nov. a diazotroph from agricultural soil.** *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, v. 62, n. 5, p. 1185-1190, 2012.

LOPES, C. M., PACIULLO, D. S. C., ARAÚJO, S. A. C., MORENZ, M. J. F., GOMIDE, C. A. M., MAURÍCIO, R. M., & Braz, T. G. S. (2017). **Plant morphology and herbage accumulation of signal grass with or without fertilization, under different light regimes.** *Ciência Rural*, 47(2), e20160472.

LOPES, M. J. S., DIAS-FILHO, M. B. & GURGEL, E. S. C. **Successful plant growth-promoting microbes: inoculation methods and abiotic factors.** *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5 (606454), 1-13. 2021.

MACHADO, R., CALVI, V., PACCOLA, E., SCHMIDT FILHO, E., &

GASPAROTTO, F. **Inoculação foliar de plantas de milho com *Bacillus subtilis* e *Azospirillum brasilense***. *Enciclopédia Biosfera*, 17(34), 289-298, 2020.

MARSCHNER, H. & DELL, B. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. **Plant and Soil**, The Hague, v.159, p.89-102, 1994.

MARTÍN, G. M.; RIVERA, E. R. **Influencia de la inoculación micorrízica en los abonos verdes. Efecto sobre el cultivo principal**. *Cultivos Tropicales*. v. 36, p.34-50, 2015.

MEDINA, J. F. A.; GARZA, M. B. I.; PRADO, A. D.; CABRERA, O. G.; PENÃ DEL RIO, M. de Los A.; OSTI, C. L.; BAEZA, A. G. **Los biofertilizantes microbianos: alternativa para la agricultura em México**. Chiapas, México: Centro de Investigación Regional Pacífico Sur, 2010.

MEHNAZ, S. *Azospirillum*: A Biofertilizer for Every Crop. In: ARORA, N. K. (Ed.). **Plant Microbes Symbiosis: Applied Facets**. New Delhi: Springer India, 2015. p.297-314. ISBN 978-81-322-2068-8.

MENG, L. L.; HE, J. D.; ZOU, Y. N.; WU, Q. S.; KUČA, K. **Mycorrhizareleased glomalin-related soil protein fractions contribute to soil total nitrogen in trifoliolate orange**. *Plant Soil Environ*, v.66 p.183–189, 2020.

MIGUEL, P.S.B.; GOMES, F.T.; ROCHA, W.S.D.; MARTINS, C.E.; CARVALHO, C.A.; OLIVEIRA, A.V. **Efeitos tóxicos do alumínio no crescimento das plantas: mecanismos de tolerância, sintomas, efeitos Øiológicos, bioquímicos e controles genéticos**. *CES Revista*, Juiz de Fora, v.24, p.12-30, 2010.

MISRA, H.S., RAJPUROHIT, Y.S. & KHAIRNAR, N.P. (2012). **Pyrroloquinoline-quinone and its versatile roles in biological processes**. *Journal of biosciences*, v.37, n.2: 313-25, 2012.

MIYAUCHI, M. Y. H.; LIMA, D. S.; NOGUEIRA, M. A.; LOVATO, G. M.; MURATE, L. S.; CRUZ, M. F.; FERREIRA, J. M.; ZANGARO, W.; ANDRADE, G. **Interactions between diazotrophic bactéria and micorrhizal fungus in maize genotypes**. *Scientia Agricola*, v.65, n.5, p.525-531, 2008.

MORAES, E. H. B. K.; PAULINO, M. F. ZERVOUDAKIS, J. T. **Avaliação Qualitativa da Pastagem Diferida de *Brachiaria decumbens* Stapf., sob Pastejo, no Período da Seca, por Intermédio de Três Métodos de Amostragem**, *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.34, n.1, p.30-35, 2005.

MOREIRA, F. M. S. & SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2.ed. Lavras, Universidade Federal de Lavras, 729 p., 2006.

MOREIRA, F.M.S. & SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 2 ed. Lavras: UFLA, 2006.729p.

MOREIRA, V.; JUSTINO, G. C.; CAMARGOS, L. S.; AGUIAR, L. F. **Características adaptativas da associação simbiótica e da fixação biológica do**

**nitrogênio molecular em plantas jovens de *Lonchocarpus muehlbergianus* Hassl**, uma leguminosa arbórea nativa do Cerrado. *Rodriguésia*, v. 65, n. 2, p. 517-525, 2014.

MSIMBIRA, L. A., & SMITH, D. L. **The roles of Plant Growth Promoting Microbes in enhancing plant tolerance to acidity and alkalinity stresses.** *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 4, 1–14, 2020.

MUS, F. et al. **Symbiotic Nitrogen Fixation and the Challenges to Its Extension to Nonlegumes.** *Appl Environ Microbiol*, v. 82, n. 13, p. 3698-710, Jul 01 2016.

OKUMURA R. S.; MARIANO, D. C.; ZACCHEO, P. V. C. **Uso de fertilizante nitrogenado na cultura do milho: uma revisão.** *Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia*, Guarapuava, v. 4, n. 2, p. 26-244, 2011.

OLIVEIRA PA, MARQUES JA, BARBOSA LP, OLIVEIRA GJC, PEDREIRA TM, SILVA LL. **Aspectos metodológicos do comportamento ingestivo de vacas lactantes em pastejo de *Brachiaria decumbens*.** *Rev. Bras. Saúde Prod.* an, 12:166-175,2011.

ONU. United nations, department of economic and social affairs. **The United Nations, Population Division, Population Estimates and Projections Section**, 2012.

OSBORNE, T. B. **The vegetable proteins.** 2.ed. London: Longmans Green and company. 1924, p.154

PACIULLO, D. S. C.; GOMIDE, J. A.; QUEIROZ, D. S.; MONTEIRO DA SILVA, E. A. **Composição Química e Digestibilidade In Vitro de Lâminas Foliaves e Colmos de Gramíneas Forrageiras, em Função do Nível de Inserção no Perfilho, da Idade e da Estação de Crescimento.** *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 30, n. 3, p. 964-974, 2001.

PANKIEVICZ, V. C. S.; AMARAL, F. P.; SANTOS, K. F. D. N.; AGTUCA, B.; XU, Y.; SCHUELLER, M. J.; ARISI, A. C. M.; STEFFENS, M. B. R.; SOUZA, E. M.; PEDROSA, F. O.; STACEY, G.; FERRIERI, R. A. **Robust biological nitrogen fixation in a model grass–bacterial association.** *The Plant Journal*, v.81, p.907-919, jan. 2015.

PARNISKE, M. **Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses.** *Nature Reviews Microbiology*, v. 6, p.763-75, 2008.

PAULUS, D.; DOURADO NETO, D.; FRIZZONE, J.A.; SOARES, T.M. **Produção e indicadores fisiológicos de alface sob hidroponia com água salina.** *Horticultura Brasileira*, v.28, n.1, p.29-35, 2010.

PEDREIRA, B. C.; PEDREIRA, C. G. S.; Da SILVA, S. C. **Acúmulo de forragem durante a rebrotação de capim-xaraés submetido a três estratégias de desfolhação.** *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 38, n. 4, p. 618-625, 2009.

PEDREIRA, C.G.S., BRAGA, G.J., and PORTELA, J.N. 2017. **Herbage accumulation, plant-part composition and nutritive value ongrazed signal grass**

**(*Brachiaria decumbens*) pastures in response to stubble height and rest period based on canopy light interception.** *Crop and Pasture Science* 68:62-73.

QUADROS, P. D. D. **Inoculação de *Azospirillum spp.* em sementes de genótipos de milho cultivados no Rio Grande do Sul,** p. 74, 2009.

QUADROS, P. D.; ROESCH, L. F. W.; SILVA, P. R. F.; VIEIRA, V. M.; ROEHRS, D. D.; CAMARGO, F. A. O. **Desempenho agrônômico a campo de híbridos de milho inoculados com *Azospirillum*.** *Revista Ceres, Viçosa*, v. 61, p. 209-218, 2014.

REZENDE, C. C. SILVA, M. A., FRASCA, L. L. M., FARIA, D. R., FILIPPI, M. C. C., LANNA, A. C. & NASCENTE, A. S. **Microrganismos multifuncionais: utilização na agricultura.** *Research, Society and Development*, 10, 2, 2021.

ROCHA, A. F. de S.; COSTA, R. R. G. F. **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.

RODRIGUEZ, H.; GONZALEZ, T.; GOIRE, I.; BASHAN, Y. **Gluconic acid production and phosphate solubilization by the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum spp.*** *Naturwissenschaften*, v. 91, p. 552-555, 2004.

ROZALINO SANTOS, M.E., GOMES, V.M., e FONSECA, D.M. 2014. **Fatores causadores de variabilidade espacial do pasto de capim braquiária: manejo do pastejo, estação do ano e topografia do terreno.** *Bioscience Journal* 30:210-218.

SALES, L. Z. S., GARCIA, N. F. S., MARTINS, J. T., BUZO, F. S., GARÉ, L. M., RODRIGUES, R. A. F. & Arf, O. **Inoculation with *Azospirillum brasilense* and fertilizer reduction in upland rice.** *Research, Society and Development*, 10 (7), e9110716345,2021.

SANDERS, I.; CROLL, R. D. **Arbuscular mycorrhiza: the challenge to understand the genetics of the fungal partner.** *Annual review of genetics*, v. 44, p.271-292, 2010.  
SANTI, C.; BOGUSZ, D.; FRANCHE, C. **Biological nitrogen fixation in non-legume plants.** *Ann Bot*, v. 111, n. 5, p. 743-67, May 2013.

SANTI, C.; BOGUSZ, D.; FRANCHE, C. **Biological nitrogen fixation in non-legume plants.** *Ann Bot*, v. 111, n. 5, p. 743-67, May 2013.

SANTOS, C. M.; GONÇALVES, E. R.; ENDRES, L.; GOMES, T. C. A.; JADOSKI, C. J.; NASCIMENTO, L. A.; SANTOS, E. D. **Atividade fotossintética em alface (*Lactuca sativa* L.) submetidas a diferentes compostagens de resíduos agroindustriais.** *Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia*, v.3, p.95-102, 2010.

SANTOS, K. F. D. N.; MOURE, V. R.; HAUER, V.; SANTOS, A. R. S.; DONATTI, L.; GALVÃO, C. W.; PEDROSA, F. O.; SOUZA, E. M.; WASSEM, R.; STEFFENS, M. B. R. **Wheat colonization by an *Azospirillum brasilense* ammonium-excreting strain reveals up regulation of nitrogenase and superior plant growth promotion.** *Plant and Soil*, v. 415, p. 245-255, 2017.

SANTOS, M. E. R.; FONSECA, D. M.; BALBINO, E. M.; MONNERAT, J. P. I. S.; SILVA, S. P. **Capim-braquiária diferido e adubado com nitrogênio: produção e características da forragem.** Revista Brasileira de Zootecnia, v.38, n.4, p.650-656, 2009.

SANTOS, M. E. R.; FONSECA, D. M.; GOMES, V. M.; SANTOS, A. L.; CASTRO, M. R. S.; ALBINO, R. L. **Diversidade de perfilhos em pasto de *Brachiaria decumbens* manejado em regime de lotação contínua.** Boletim Indústria Animal, v.68, n.1, p.17-26, 2011.

SANTOS, M. E. R.; FONSECA, D. M.; GOMES, V. M.; SILVA, S. P.; PIMENTEL, R.M. **Morfologia de perfilhos basais e aéreos em pasto de *Brachiaria decumbens* manejado em lotação contínua.** Enciclopédia Biosfera, vol.6, n.9, p.1-13, 2010.

SANTOS, M. E. R.; FONSECA, D. M.; BALBINO, E. M. **Capim-braquiária diferido e adubado com nitrogênio: produção e características da forragem,** *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.38, n.4, p.650-656, 2009.

SILVEIRA, M. C. T.; DA SILVA, S. C.; SOUSA JUNIOR, S. J.; BARBERO, L. M.; RODRIGUES, C. S.; LIMÃO, V. A.; PENNA, K. S.; NASCIMENTO JUNIOR, D. **Herbage accumulation and grazing losses on Mulato grass subjected to strategies of rotational stocking management.** Scientia Agricola, v. 70, n. 4, p. 242-249, 2013.

SIQUEIRA, J. O. et al. **Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil.** Lavras: Editora UFLA, v. 1, p. 279-310, 2010.

SMITH, S. E.; READ, D.J. **Mycorrhizal Symbiosis.** London: Academic Press, third edition. p. 787, 2008.

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, F. A.; GOMES, E. A.; VASCONCELOS, M. J. V.; SOUSA, S. M. **Micorrizas arbusculares: perspectivas para aumento da eficiência de aquisição de** SOUZA, F.A.; STUMER, S.L.; CARRENHO, R. & TRUFEM, S.F.B. **Classificação e taxonomia de fungos micorrizicos arbusculares e sua diversidade e ocorrência no Brasil.** In: SIQUEIRA, J. O.; SOUZA, F. A. CARDOSO, E.J.B.N.; MITSUI, S (Ed). **Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil.** Lavras: UFLA, 2010. 716 p.

STREIT, N. M.; CANTERLE, L. P.; CANTO, M. W.; HECKTHEUER, L. H. H. As Clorofilas. **Ciência Rural**, v.35, n.3, p.748-755, 2005.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal.** 3.ed. Porto Alegre: Artmed, p.719, 2004.

TEIXEIRA, R. N. V; PEREIRA, C. E; KIKUTI, H; DEMINICIS, B. B. ***Brachiaria brizantha* (Syn. *Uroclhoa brizantha*) cv. Marandu sob diferentes doses de nitrogênio e fósforo em Humaitá-AM, Brazil.** Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia, Guarapuava, v. 11, n. 2, p. 35-41, 2018.

TROVATO, M.; MATTIOLI, R.; COSTANTINO, P. **Multiple roles of proline in plant stress tolerance and development.** *Rendiconti Lincei*, v.19, p.325-346, 2008.

UMESHA, S., K. SINGH, P., & P. SINGH, R. **Microbial Biotechnology and Sustainable Agriculture.** *Biotechnology for Sustainable Agriculture*, 185–205,2018.

VALLE, C. B.; MACEDO, M. C. M.; EUCLIDES, V. P. B.; JANK L.; RESENDE, RM. S. **Gênero *Brachiaria*.** In: FONSECA, D. M.; MARTUSCELLO, J. A. (Ed.). *Plantas Forrageiras*. Viçosa: Ed. da UFV, 2010. p.30-77.

VAN RAIJ, Bernardo. **Fertilidade do solo e manejo de nutrientes.** International Plant Nutrition Institute, 2011. 420 p.

VERBRUGGEN, N. & HERMANS, C. **Proline accumulation in plants: a review.** *Amino Acids*, v.35, p.753-759, 2008.

VOGEL; G. F.; MARTINKOSKI, L.; MARTINS, P. J.; BICHEL, A. **Desempenho agrônômico de *Azospirillum brasilense* na cultura do arroz: uma revisão.** *Revista em Agronegócios e Meio Ambiente*, v.6, n.3, p. 567-578, 2013.

WEIRICH NETO, P.H.; CAIRES, E.F.; JUSTINO, A.; DIAS, J. **Correção da acidez do solo em função de modos de incorporações do calcário.** *Ciência Rural*, v. 30, n 2, p. 257- 261, 2000.

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

YIRGA, C.; ERKOSSA, T.; Agegnehu, G. **Soil Acidity Management.** Addis Ababa: Ethiopian Institute of Agricultural Research. 2019.

ZABIHI, H.R.; SAVAGHEBI, K.; KHAVAZI, A.; GANJALI, M.; MIRANSARI, M. ***Pseudomonas* bacteria and phosphorous fertilization, affecting wheat (*Triticum aestivum* L.) yield and P uptake under greenhouse and field conditions.** *Acta Physiologiae Plantarum*, v.33, n.1, p.145-152, jan. 2011.

ZIFCAKOVA, L. **“Factors affecting soil microbial processes,”** in *Carbon and Nitrogen Cycling in Soil*, eds R. Datta, R. S. Meena, S. I. Pathan, and M. T. Ceccherini (Singapore: Springer Singapore), 2020.

## II - OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito do manejo do solo associado à inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Rhizophagus intraradices*, sobre as características produtivas e fisiológicas da *Brachiaria decumbens* cv. basilisk

### 2.1 Objetivos específicos

Avaliar os efeitos do manejo do solo associado à inoculação com microrganismos simbióticos sobre as características morfogênicas, estruturais e produtivas da *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk.

Quantificar os teores de clorofila, carotenoides, e a concentração de prolina nas folhas de *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk, em resposta ao manejo do solo associado à inoculação com microrganismos simbióticos.

Avaliar a composição bromatológica da *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk, em resposta ao manejo do solo associado a inoculação com microrganismos simbióticos.

Avaliar o comprimento e volume de raízes da *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk, em resposta ao manejo do solo associado a inoculação com microrganismos simbióticos.

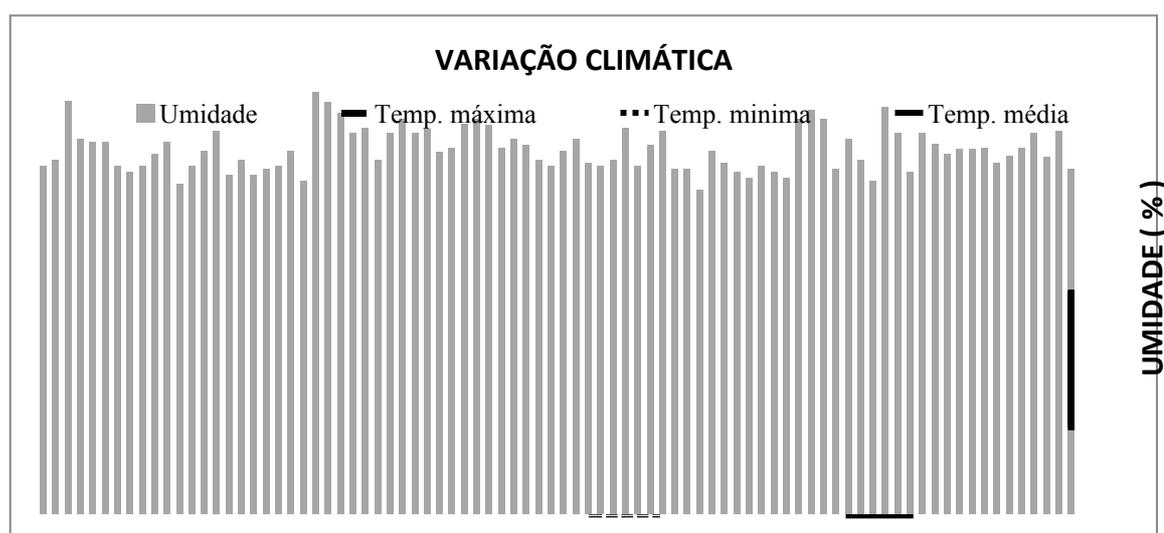
Avaliar o efeito do manejo do solo e da inoculação biológica sobre as diferentes frações protéicas (prolaminas, albuminas, globulinas e glutelinas) das folhas de *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk.

Avaliar o efeito da adubação e da inoculação biológica sobre os teores de prolina das folhas de *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk.

### III - MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Instalação do Experimento

O experimento foi realizado na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, campus Juvino Oliveira, Itapetinga, BA, entre março e julho de 2020, no setor de Forragicultura e Pastagem, casa de vegetação e Laboratório de Anatomia, Fisiologia e Ecologia de Plantas. As temperaturas e umidade média, mínima e máxima da casa de vegetação, foram registradas por meio de termômetro digital (Figura 1).



**Figura 1.** Umidade relativa do ar (%) e temperatura (°C) máxima, mínima e média durante o período Experimental.

O ensaio foi conduzido em esquema fatorial 4 x 3, sendo quatro tipos de inoculações biológicas [testemunha (Sem inoculação biológica); bactéria fixadora de nitrogênio (*Azospirillum brasilense*); fungo micorrízico (*Rhizophagus intraradices*) e bactéria fixadora de nitrogênio mais fungo micorrízico] e três tipos de adubação (sem adubação e sem calagem, sem adubação e com calagem, com adubação e calagem), com quatro repetições, em um delineamento inteiramente casualizado (DIC), totalizando 48 sacos plásticos preenchidos com 30 dm<sup>3</sup> de solo.

O solo utilizado no experimento, foi coletado na camada de 0-20 cm, destorroado e passado em peneira de quatro milímetros, sem realização de autoclavagem. As análises físico-químicas do solo foram realizadas no Departamento de Engenharia Agrícola e Solos da UESB e as recomendações adotadas, foram baseadas na metodologia da Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais 5ª Aproximação (Alvarez & Ribeiro, 1999). Os resultados das análises físicas e químicas são descritos na (Tabela 1 e 2), respectivamente.

**Tabela 1.** Análise física do solo

| Composição Granulométrica (g/kg) |       |        | Classificação Textural |
|----------------------------------|-------|--------|------------------------|
| Areia                            | Silte | Argila | Franco Argilo Arenoso  |
| 630                              | 50    | 320    |                        |

Fonte: Departamento de Engenharia Agrícola e Solos da UESB

**Tabela 2.** Análise química do solo

| pH                 | mg/dm <sup>3</sup> |                | cmolc/dm <sup>3</sup> solo |                  |                  |                |                 |      |     | % g/dm <sup>3</sup> |    |    |      |
|--------------------|--------------------|----------------|----------------------------|------------------|------------------|----------------|-----------------|------|-----|---------------------|----|----|------|
| (H <sub>2</sub> O) | P                  | K <sup>+</sup> | Ca <sup>2+</sup>           | Mg <sup>2+</sup> | Al <sup>3+</sup> | H <sup>+</sup> | Na <sup>+</sup> | S.B. | t   | T                   | V  | m  | M.O. |
| 4,5                | 3                  | 0,13           | 0,8                        | 0,7              | 1,1              | 5,3            | -               | 1,6  | 2,7 | 8                   | 20 | 40 | 16   |

S.B - Soma de bases, t - CTC efetiva, T - CTC pH 7, V - Saturação de bases, m - Saturação por Al<sup>3+</sup>, M.O - Matéria orgânica

Fonte: Departamento de Engenharia Agrícola e Solos da UESB

As doses de adubo foram definidas conforme os resultados da análise de solo e seguindo as recomendações da Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais - 5ª aproximação (Alvarez & Ribeiro, 1999), adotando-se médio nível tecnológico. A saturação por base do solo foi elevada para 40% utilizando calcário dolomítico com 82% de PRNT, o qual foi aplicado 45 dias antes do plantio na quantidade de 1951kg.ha<sup>-1</sup> (30 g por saco). A adubação fosfatada e potássica, foram realizadas no momento do plantio, com 70 kg.ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (8,75 g de superfosfato simples por saco), e com 40 kg.ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O (1,03g de cloreto de potássio por saco). A adubação nitrogenada com 50 kg de N/ha (1,67 g de ureia por saco), foi realizada em uma única aplicação após o corte de uniformização.

Para determinação da capacidade de retenção de água no solo, as unidades experimentais foram preenchidas com solo totalmente seco, encharcados com água por 72 horas, em seguida, pesados diariamente até apresentar escoamento total. O peso final

encontrado foi descontado do peso seco do solo, correspondendo assim, a máxima retenção de água do solo utilizado para reestabelecimento das perdas por evapotranspiração, a partir disso, as unidades experimentais foram mantidas com 60% da capacidade.

A inoculação com as bactérias fixadoras de nitrogênio foi realizada de duas formas, aplicada via semente misturando o inoculante com a semente no momento do plantio, na quantidade 100 ml para cada 5 kg de semente, e em pulverização na quantidade de 600 ml.ha<sup>-1</sup> três dias após cada corte. Para o fungo micorrízico, foram utilizados 120 g.ha<sup>-1</sup> do inóculo misturado à semente.

Para a inoculação das bactérias diazotróficas, utilizou-se o AzoTotal ®, um inoculante à base de *Azospirillum brasilense*. As estirpes bacterianas presente no produto são as AbV5 e AbV6 na concentração garantida pelo fabricante até a data do vencimento de 2,0 x 10<sup>8</sup> UFC/mL, e as formas de aplicação segundo o fabricante pode ser realizada via semente ou via foliar, cuja recomendação é de 300 mL.ha<sup>-1</sup> em pulverização (com volume de calda mínimo de 100 l.ha<sup>-1</sup>). Portanto, para cada unidade experimental foi calculado a área aproximada e aplicado conforme a recomendação. É importante destacar que era realizada a reinoculação após cada corte.

Foi utilizado o inoculante micorrízico comercial Rootella BR® à base de *Rhizophagus intraradices*, sendo o primeiro e único produto a ser comercializado em larga escala no mercado nacional, com cerca de 20.800 propágulos/g. O mesmo possui como recomendação 120 g.ha<sup>-1</sup> de pastagem. Sendo assim, em cada unidade experimental que havia o fungo, foi calculada a área aproximada e aplicado conforme a recomendação.

O plantio foi realizado no dia 17 de março de 2020, usando sementes de capim *Brachiaria* vendidas comercialmente. Após 15 dias do plantio, realizou-se um desbaste, mantendo-se quatro plantas por saco, tendo como requisito na escolha, o vigor e a homogeneidade das plantas. Aos 30 dias realizou-se o corte de uniformização, adotando a altura média de resíduo de 15 cm, quando iniciou a coleta de dados seguida de três períodos de 30 dias.

Para determinar a temperatura do solo, foram feitas quatro aferições durante o período de 24 horas a cada três dias (Figura 2). O pH do solo foi quantificado no início do experimento, três dias antes de cada corte, durante o período experimental (Figura 3).

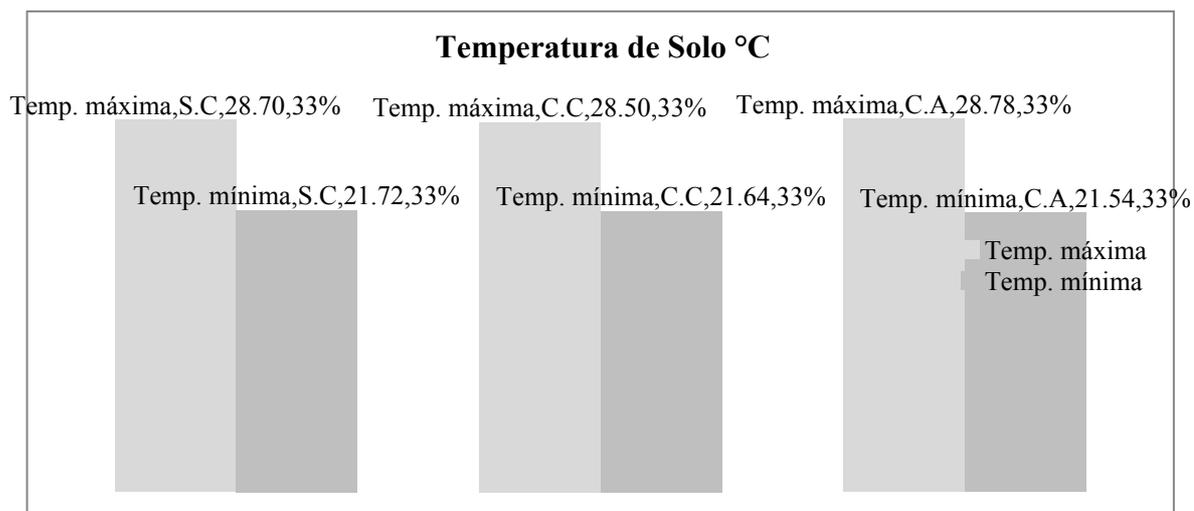


Figura 2 - Temperatura de solo durante o período do experimento (S.C - Sem Calagem; C.C - Com Calagem; C.A - Com adubação)

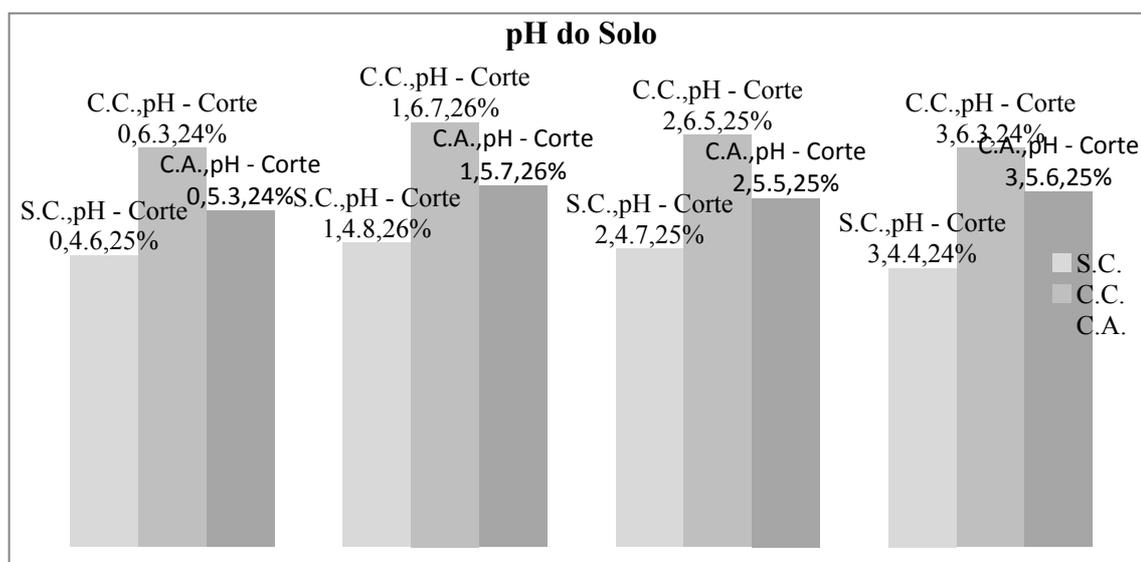


Figura 3 - pH de solo durante o período do experimento

O experimento teve 90 dias de coleta de dados, divididos em 3 períodos de 30 dias cada.

No final do período experimental, as unidades experimentais foram desmontadas utilizando água corrente, 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.

### **3.2 Avaliações**

#### ***3.2.1 Produção de massa seca da parte aérea, comprimento e volume de raiz***

Para a avaliação da massa seca, no primeiro e segundo período a forragem dos sacos foi cortada a 15 cm de altura e o material coletado dissecado em folha e colmo (parte aérea). No terceiro período, os sacos foram desmontados com o auxílio de água corrente, retirando-se as plantas inteiras, as quais foram dissecadas em folha e colmo (parte aérea), raiz e resíduo. 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 (15 cm) até o ponto de inserção da raiz. Os dados de produção foram apresentados em kg de MS.ha<sup>-1</sup>, considerando-se a área do vaso de 0,096163m<sup>2</sup>.

Logo após o corte, o material dissecado (folha, colmo, resíduo e raiz) foi pesado para a determinação de massa fresca (MF) e, em seguida, seco em estufa a 55° C por 72 horas, e pesados novamente para obtenção da massa seca (MS).

Para as raízes foi determinado o volume, utilizando-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.

De posse dos dados, foi calculada a produção de massa seca de folhas, produção de massa seca de colmo e produção de massa seca da parte aérea (kg de MS.ha<sup>-1</sup>).

#### ***3.2.2 Características morfológicas e estruturais***

Foram marcados dois perfilhos por unidade experimental com fitas coloridas, os mesmos foram escolhidos e marcados aleatoriamente após cada corte, nos quais foram avaliados, a cada três dias (em cada período experimental): aparecimento do ápice foliar; comprimento do colmo; comprimento da folha. A partir desses dados, foram calculadas as características morfológicas e estruturais:

–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.

- Filocrono (dia/folha/perfilho): inverso matemático da taxa de aparecimento de folhas.
- 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.
- Taxa de alongamento do colmo (TAIC, cm/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.
- Comprimento total de planta (cm);

### ***3.2.3 Área foliar***

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, a partir da identificação da área ocupada em relação a área total.

### ***3.2.4 Análises químico-bromatológicas***

Após o corte de uniformização (15 cm de altura) foram coletadas amostras de forragem, simulando a massa forrageira pastejada, as mesmas foram identificadas, pesadas e colocadas em estufa com ventilação forçada a (55°C por 72h) para a determinação da matéria seca. Após a pré-secagem as amostras da parte aérea foram moídas em moinho de facas em peneira de 2 milímetros.

Foram determinadas as seguintes análises químico-bromatológicas de acordo com a metodologia descrita por Detmann et al., (2012):

- Matéria seca (Método INCT-CA G-003/1);
- Proteína bruta (Método INCT-CA N-001/1),
- Fibra em detergente neutro (Método INCT-CA F002/1),
- Fibra em detergente ácido (Método INCT-CA F-004/1),
- Lignina (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 72% p/p).

O teor de nutrientes digestíveis totais (NDT) observado foi obtido a partir da equação somativa:  $NDT = PBD + 2,25 \times EED + FDN_{cpD} + CNFD$ , em que PBD, EED,

FDNcp e CNFD significam, respectivamente, proteína bruta digestível, extrato etéreo digestível, fibra em detergente neutro (isenta de cinzas e proteína) digestível e carboidratos não-fibrosos digestíveis segundo NRC (2001).

### ***3.2.5 Teores de pigmentos e de carboidratos***

#### ***Clorofilas e carotenoides***

No dia anterior, a cada corte, foi realizada a coleta de folhas totalmente expandidas de uma planta para a avaliação da clorofila. Foi coletada a terceira folha totalmente expandida por unidade experimental, a qual foi acondicionada em saco de papel de alumínio devidamente identificado. Os sacos foram colocados em caixa de isopor com gelo e levados para o laboratório para determinação das clorofilas e carotenoides. Essas coletas foram realizadas as 10 horas da manhã.

A determinação dos teores de clorofila e carotenoides foi realizada segundo a metodologia descrita por Hiscox & Israelstam (1979), onde fragmentos foliares homogêneos, aproximadamente 0,03 g da massa fresca da folha coletada de cada vaso foi colocada em um frasco de vidro, envolvido com papel alumínio, contendo 5mL de Dimetilsulfóxido (DMSO). 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 mg.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 =  $[1000 \times A_{480} - (2,14 \times \text{Clorofila a}) - (70,16 \times \text{Clorofila b})] / 220$ .

#### ***3.2.6 Fracionamento de proteína***

- Fração 1 (Albuminas) - extração com água destilada

Foi pesado 2 g da amostra de massa fresca da amostra, a qual foi macerada juntamente com o extrator: água destilada (volume do extrator 4 mL), em seguida foi incubado em banho maria a 35 C°, por 30 minutos, sob agitação constante.

Posteriormente a amostra foi centrifugada a 1200 g, por 20 minutos, e coletado sobrenadante. Por fim, o pellet foi ressuspensão com mais 3 mL de água destilada e centrifugado novamente para posterior coleta do sobrenadante, somando o com o anterior. A última etapa foi repetida novamente.

- Fração 2 (Globulinas) - extração com NaCl 1%

Ressuspender o pellet com 4 ml de NaCl 1% repetindo os mesmos processos descritos para a fração 1, variando apenas o extrator (NaCl 1%).

- Fração 3 (Prolaminas) - extração com etanol 80%

Ressuspender o pellet com 4 ml de Etanol 80%, repetindo os mesmos processos descritos na fração 1, variando apenas o extrator (Etanol 80%).

- Fração 4 (Glutelinas) - extração com NaOH 100 mM.

Ressuspender o pellet com 4 ml de NaOH 100 mM, repetindo os mesmos processos descritos na fração 1, variando apenas o extrator (NaOH 100 mM).

A quantificação foi realizada pelo o método de Bradford (BRADFORD, 1976).

### **3.2.7 Prolina**

Para determinação da prolina, amostras de folhas secas da *Brachiaria decumbnes* foram moídas em moinho de bola. Após esse processamento, foram pesados 100 mg de cada amostra, as quais foram colocadas em erlenmeyers junto do extrator ácido sulfosalicílico 3%, sendo homogeneizados sob agitação a temperatura ambiente por 60 minutos. Após esse período as amostras foram filtradas em papel filtro e realizada quantificação segundo Bates (1973).

### **3.3 Análise estatística**

Os dados foram submetidos a análise de variância considerando como fonte de variação, a adubação (A), a inoculação biológica (I) e a interação A x I. Procedeu-se com o desdobramento da interação, ou não, onde as médias foram comparadas pelo teste Tukey. Para todas as análises foram utilizados 5% de probabilidade

#### IV – RESULTADOS E DISCUSSÃO

A interação entre o manejo do solo e inoculação biológica foi significativa ( $P < 0,05$ ) para produção de massa seca de folha, colmo e da parte aérea, em todos os três cortes realizados (Tabela 03, 04 e 05). Observou-se maior produção destas variáveis quando associado o uso das bactérias com a calagem e adubação do solo.

**Tabela 3.** Produção de massa seca de folha, colmo e da parte aérea da *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk submetida à inoculação biológica e diferentes adubações (Corte 1)

| Adub.                                 | Inoculação |           |            |             | CV (%) | P - Valor |        |        |
|---------------------------------------|------------|-----------|------------|-------------|--------|-----------|--------|--------|
|                                       | Controle   | Bactéria  | Fungo      | Bact + Fung |        | A         | I      | AxI    |
| Folha (kg MS.ha <sup>-1</sup> )       |            |           |            |             |        |           |        |        |
| S.C.                                  | 638,9 Cc   | 1398,9 Ca | 896,6 Bcb  | 1194,7 Bba  |        |           |        |        |
| C.C.                                  | 968,3 Bb   | 1754,2 Ba | 1090,1 Bb  | 1424,6 Ba   | 10,24  | 0.0001    | 0.0001 | 0.0001 |
| C.A.                                  | 1945,4 Ac  | 3870,6 Aa | 2256,3 Ac  | 3121,8 Ab   |        |           |        |        |
| Colmo (kg MS.ha <sup>-1</sup> )       |            |           |            |             |        |           |        |        |
| S.C.                                  | 573,2 Bc   | 1066,3 Ba | 662,8 Bcb  | 769,4 Cba   |        |           |        |        |
| C.C.                                  | 756,0 Bc   | 1168,0 Ba | 855,8 Bcb  | 1081,9 Bba  | 12,68  | 0.0001    | 0.0001 | 0,0488 |
| C.A.                                  | 1437,4 Ab  | 2288,3 Aa | 1603,1 Ab  | 2031,4 Aa   |        |           |        |        |
| Parte aérea (kg MS.ha <sup>-1</sup> ) |            |           |            |             |        |           |        |        |
| S.C.                                  | 1212,2 Bc  | 2465,3 Ba | 1666,0 Bcb | 2062,7 Bba  |        |           |        |        |
| C.C.                                  | 1724,4 Bc  | 2922,3 Ba | 1945,9 Bbc | 2506,5 Bb   | 10,40  | 0.0001    | 0.0001 | 0.0001 |
| C.A.                                  | 3382,8 Ac  | 6158,9 Aa | 3859,4 Acb | 5153,3 Aba  |        |           |        |        |

Médias seguidas de mesma letra maiúscula, na coluna, e minúscula, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ); CV: Coeficiente de variação; I: Probabilidade erro para uso do inoculante; A: Probabilidade erro para métodos de adubações; AxI: Efeito de interação entre uso de inoculante biológico e adubação; S.C.: Sem calagem; C.C.: Com calagem; C.A.: Com calagem e adubação.

A correção da acidez através da calagem e o uso da adubação favoreceu a produção, o desenvolvimento das raízes e a atividade das bactérias diazotróficas, uma vez que pH do solo para a máxima atividade destas bactérias está entre 5,5 - 6,5 (DARTORA et al., 2013), faixa de pH também, onde a maioria dos nutrientes permanecem disponíveis às raízes promovendo um maior desenvolvimento da planta, e consequente maior produção de exsudatos usados como fonte de carbono pelas bactérias diazotróficas em sua multiplicação.

Em todos os tratamentos onde as plantas receberam inoculação biológica com a bactéria, observou-se um aumento na produção de massa seca nas variáveis analisadas

(folha, colmo e parte aérea) em relação ao controle, justificando a importância desses microrganismos como ferramenta biotecnológica para otimizar a produtividade das pastagens de forma sustentável. O *Azospirillum brasilense*, especificamente, apresenta uma elevada produção de auxinas, hormônio responsável por modificações morfológicas nas raízes como, comprimento, ramificações e aumento de pelos radiculares (MIYAUCHI, et al., 2008) favorecendo o desenvolvimento da planta.

**Tabela 4.** Produção de massa seca de folha, colmo e da parte aérea da *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk submetida à inoculação biológica e diferentes adubações (Corte 2)

| Adub.                                 | Inoculação |           |            |             | CV (%) | P - Valor |        |        |
|---------------------------------------|------------|-----------|------------|-------------|--------|-----------|--------|--------|
|                                       | Controle   | Bactéria  | Fungo      | Bact + Fung |        | A         | I      | AxI    |
| Folha (kg MS.ha <sup>-1</sup> )       |            |           |            |             |        |           |        |        |
| S.C.                                  | 554,3 Cc   | 1161,3 Ca | 736,6 Bcb  | 953,0 Bba   |        |           |        |        |
| C.C.                                  | 774,9 Bc   | 1385,4 Ba | 877,7 Bcb  | 1085,6 Ba   | 9,25   | 0.0001    | 0.0001 | 0.0001 |
| C.A.                                  | 1302,5 Ad  | 2979,0 Aa | 1545,2 Ac  | 2121,0 Ab   |        |           |        |        |
| Colmo (kg MS.ha <sup>-1</sup> )       |            |           |            |             |        |           |        |        |
| S.C.                                  | 494,9 Bc   | 886,4 Ba  | 628,5 Bcb  | 708,2 Bba   |        |           |        |        |
| C.C.                                  | 628,1 Bc   | 944,0 Ba  | 690,0 Bcb  | 831,2 Bba   | 10,42  | 0.0001    | 0.0001 | 0,0004 |
| C.A.                                  | 978,0 Ac   | 1735,2 Aa | 1104,3 Ac  | 1446,5 Ab   |        |           |        |        |
| Parte aérea (kg MS.ha <sup>-1</sup> ) |            |           |            |             |        |           |        |        |
| S.C.                                  | 1049,3 Cc  | 2047,7 Ba | 1365,1 Bbc | 1661,2 Bb   |        |           |        |        |
| C.C.                                  | 1403,0 Bc  | 2329,4 Ba | 1567,9 Bbc | 1916,9 Bb   | 9,16   | 0.0001    | 0.0001 | 0.0001 |
| C.A.                                  | 2280,5 Ac  | 4714,2 Aa | 2649,6 Ac  | 3567,5 Ab   |        |           |        |        |

Médias seguidas de mesma letra maiúscula, na coluna, e minúscula, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05); CV: Coeficiente de variação; I: Probabilidade erro para uso do inoculante; A: Probabilidade erro para métodos de adubações; AxI: Efeito de interação entre uso de inoculante biológico e adubação; S.C.: Sem calagem; C.C.: Com calagem; C.A.: Com calagem e adubação.

Pode-se observar que as plantas no solo corrigido e adubado apresentaram maior produção de massa seca quando comparada com as plantas no solo ácido e com as plantas no solo apenas corrigido, e melhores resultados com a inoculação dos microrganismos, destacando a importância da adubação associada a inoculação biológica.

Interação significativa entre *Azospirillum* e adubação nitrogenada foi observada por Hungria et al. (2016), em experimento com duas espécies de Braquiárias em três diferentes regiões do Brasil. Os autores encontraram aumento significativo (4,6%) na produção de biomassa, e quando essa foi associada a adubação nitrogenada (40 kg N/ha<sup>-1</sup>) esse aumento foi ainda maior (24,7%).

**Tabela 5.** Produção de massa seca de folha, colmo e da parte aérea da *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk submetida à inoculação biológica e diferentes adubações (Corte 3)

| Adub.                                 | Inoculação |           |           |             | CV (%) | P - Valor |        |        |
|---------------------------------------|------------|-----------|-----------|-------------|--------|-----------|--------|--------|
|                                       | Controle   | Bactéria  | Fungo     | Bact + Fung |        | A         | I      | AxI    |
| Folha (kg MS.ha <sup>-1</sup> )       |            |           |           |             |        |           |        |        |
| S.C.                                  | 437,4 Ab   | 802,6 Ba  | 526,8 Bb  | 620,6 Bba   |        |           |        |        |
| C.C.                                  | 515,6 Ab   | 867,1 Ba  | 602,7 Bb  | 633,5 Bb    | 13,60  | 0.0001    | 0.0001 | 0.0001 |
| C.A.                                  | 583,6 Ac   | 1697,6 Aa | 729,6 Acb | 891,4 Ab    |        |           |        |        |
| Colmo (kg MS.ha <sup>-1</sup> )       |            |           |           |             |        |           |        |        |
| S.C.                                  | 387,8 Ab   | 614,0 Ba  | 445,0 Ab  | 480,9 Bba   |        |           |        |        |
| C.C.                                  | 447,1 Ab   | 618,2 Ba  | 475,1 Ab  | 493,9 Bba   | 13,54  | 0.0001    | 0.0001 | 0,0014 |
| C.A.                                  | 461,7 Ac   | 955,1 Aa  | 530,8 Ac  | 705,5 Ab    |        |           |        |        |
| Parte aérea (kg MS.ha <sup>-1</sup> ) |            |           |           |             |        |           |        |        |
| S.C.                                  | 825,3 Ab   | 1416,6 Ba | 971,9 Ab  | 1101,5 Bb   |        |           |        |        |
| C.C.                                  | 962,7 Ab   | 1485,4 Ba | 1077,9 Ab | 1127,4 Bb   | 11,49  | 0.0001    | 0.0001 | 0.0001 |
| C.A.                                  | 1045,3 Ac  | 2652,8 Aa | 1260,5 Ac | 1597,0 Ab   |        |           |        |        |

Médias seguidas de mesma letra maiúscula, na coluna, e minúscula, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ); CV: Coeficiente de variação; I: Probabilidade erro para uso do inoculante; A: Probabilidade erro para métodos de adubações; AxI: Efeito de interação entre uso de inoculante biológico e adubação; S.C.: Sem calagem; C.C.: Com calagem; C.A.: Com calagem e adubação.

Apesar das melhores respostas estarem relacionadas com a correção e adubação, a disponibilidade de nutriente no solo pode interferir na eficiência da inoculação (HANISCH et al., 2017), áreas com elevada ciclagem de nutrientes, a fixação biológica é pouco estimulada (MOREIRA et al., 2010). Desta forma, é importante destacar a relevância do equilíbrio entre a utilização da adubação e a inoculação biológica para cada gênero e espécie de gramínea utilizada no sistema. O genótipo da planta exerce grande influência no resultado da inoculação, pois a composição do exsudato radicular varia com o genótipo e idade da planta, fatores determinantes para colonização dos microrganismos (Msimbira & Smith, 2020). Neste trabalho, foi utilizada uma dose baixa de nitrogênio (50 kg/ha) para que a mesma estimulasse a multiplicação das bactérias, mas não interferisse na fixação biológica de nitrogênio.

Os resultados menos expressivos observados com a inoculação com o fungo *Rhizophagus intraradices* quando comparado a bactéria *Azospirillum brasilense*, pode ser explicado pelo intervalo e altura dos cortes no período de avaliação, uma vez que as respostas das micorrizas variam com a intensidade do corte. Sob desfolha intensa ou repetida, a colonização micorrízica pode ser prejudicada, pois o fungo precisa dos

compostos orgânicos produzidos pela planta para sobreviver.

As plantas inoculadas com micorrizas apresentam maiores demanda energética no sistema radicular, onde a micorriza passa a ser um investimento energético desnecessário para planta durante a rebrota, uma vez que a simbiose implica em gasto de fotoassimilados para o desenvolvimento do fungo. Essa limitação de carbono conforme aumenta a desfolha, resulta em uma mudança no equilíbrio custo-benefício para a planta fazendo com que, os fungos não produzam quantidade suficiente de micélio para auxiliar a planta a explorar o substrato. A simbiose micorriza planta implica em gasto de fotoassimilados estimado em 10% a 15% da fotossíntese total (SIQUEIRA, 1994).

Avaliando a produção de massa seca das plantas inoculadas com *Azospirillum brasilense* em solo corrigido e adubado, no solo apenas corrigido e no solo ácido, podemos observar um incremento médio nos três cortes de 52,43%, 38,65%, e 47,11%, respectivamente, na produção de massa seca da parte aérea em relação ao tratamento controle. Demonstrando a importância da inoculação biológica, gerando maior resiliência das plantas a fatores abióticos como pH do solo, e do seu efeito econômico no sistema, permitindo um menor uso de adubos químicos.

Apesar das vantagens da inoculação biológica das bactérias diazotróficas (*Azospirillum brasilense*) e dos fungos micorrízicos arbusculares (*Rhizophagus intraradices*) em relação à produção de massa seca, aparentemente a eficiência da colonização das micorrizas parece ter sido afetada, sendo necessário maior intervalo entre os corte e menor intensidade de desfolha das plantas. Segundo Hartnett & Wilson (2002), sob pastejo leve a moderado, quando a disponibilidade de nutrientes minerais limita as taxas de crescimento das plantas, a simbiose micorrízica através da capacidade de crescimento compensatório torna-se mais eficiente, aumentando o suprimento de nutrientes para as plantas.

Não foi observado efeito de interação ( $P > 0,05$ ) entre os fatores adubação e inoculação biológica para as características morfogênicas e estruturais da *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk nos três cortes realizados (Tabela 06, 07 e 08).

**Tabela 6.** Características morfológicas e estruturais da *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk submetida á inoculação biológica e diferentes adubações (Corte1).

| Variável      | Adubação |         |         | Inoculação |          |         |            | CV (%) | P - Valor |        |        |
|---------------|----------|---------|---------|------------|----------|---------|------------|--------|-----------|--------|--------|
|               | S.C.     | C.C.    | C.A.    | Controle   | Bacteria | Fungo   | Bac.+ Fun. |        | A         | I      | AxI    |
| <b>TApF</b>   | 0,18 B   | 0,19 B  | 0,20 A  | 0,17 b     | 0,21 a   | 0,18 b  | 0,20 a     | 5,61   | 0,0002    | 0,0001 | 0,6197 |
| <b>FILOC.</b> | 5,44 A   | 5,33 A  | 4,98 B  | 5,65 a     | 4,82 b   | 5,45 a  | 5,07 b     | 5,85   | 0,0004    | 0,0001 | 0,5018 |
| <b>TAIF</b>   | 5,30 B   | 5,36 B  | 5,68 A  | 5,26 b     | 5,76 a   | 5,33 b  | 5,43 b     | 7,10   | 0,0125    | 0,0121 | 0,0738 |
| <b>TAIC</b>   | 1,54 A   | 1,53 A  | 1,43 B  | 1,54 a     | 1,45 a   | 1,53 a  | 1,49 a     | 6,86   | 0,0112    | 0,1038 | 0,0612 |
| <b>CFF</b>    | 33,44 A  | 32,99 A | 31,14 B | 33,55 a    | 30,78 b  | 33,18 a | 32,60 a    | 6,46   | 0,0090    | 0,0131 | 0,3830 |
| <b>CTP</b>    | 65,62 A  | 64,19 A | 60,25 B | 65,58 a    | 60,42 b  | 64,50 a | 62,92 b    | 4,67   | 0,0001    | 0,0009 | 0,1263 |
| <b>DPP</b>    | 37,52 C  | 45,00 B | 76,72 A | 45,00 b    | 63,32 a  | 46,32 b | 57,68 a    | 15,08  | 0,0001    | 0,0001 | 0,7032 |
| <b>NFV</b>    | 4,47 B   | 4,56 B  | 4,88 A  | 4,29 b     | 5,00 a   | 4,46 b  | 4,79 a     | 5,61   | 0,0002    | 0,0001 | 0,6183 |
| <b>RFC</b>    | 1,25 C   | 1,35 B  | 1,50 A  | 1,25 c     | 1,51 a   | 1,29 bc | 1,42 ab    | 8,56   | 0,0000    | 0,0000 | 0,2767 |
| <b>I.A.F</b>  | 2,59 B   | 2,85 B  | 5,17 A  | 3,09 b     | 4,04 a   | 3,26 b  | 3,77 a     | 10,16  | 0,0000    | 0,0000 | 0,1758 |

Médias seguidas de mesma letra maiúscula para adubação e minúscula para inoculação na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P>0,05$ ); I: Probabilidade erro para métodos de inoculação; A: Probabilidade erro para métodos de adubações; AxI: Efeito de interação entre uso de inoculante biológico e adubação; S.C.:Sem calagem; C.C.:Com calagem; C.A.:Com calagem e adubação.

Taxa de aparecimento foliar (TApF), filocrono, taxa de alongamento foliar (TAIF), taxa de alongamento de colmo (TAIC), comprimento final de folha (CFF), comprimento total da planta (CTP), densidade populacional de perfilho (DPP), e número de folhas vivas (NFV), relação folha colmo (RFC), índice de área foliar (I.A.F) de *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk submetida á inoculação biológica e diferentes adubações .

Houve efeito significativo ( $P < 0,05$ ) da adubação e inoculação biológica para TApF e nos cortes 1, 2 e 3 (Tabela 06, 07 e 08). O solo corrigido e adubado proporcionou maior TApF e redução nos valores de filocrono, ou seja, ocorreu um menor intervalo de tempo para o aparecimento de duas folhas expandidas consecutivas.

Quanto menor o valor do filocrono mais eficiente é a gramínea na interceptação e na conversão de energia luminosa em tecido foliar. A correção da deficiência de fósforo (P) associado ao fornecimento de nitrogênio (N) através da correção e adubação do solo acelerou o metabolismo da planta, aumentando o fluxo de tecidos necessitando assim de menor tempo para expansão foliar. Com relação à inoculação biológica, os melhores resultados para TApF e filocrono podem ser observados para a inoculação com bactéria e associação bactéria + fungo, resultado que pode ser explicado pelos benefícios da ação das bactérias diazotróficas na fixação biológica do nitrogênio e liberação de fitormônios.

A taxa de alongamento foliar (TAIF) foi influenciada pela adubação e pela inoculação biológica, nos cortes 1, 2 e 3 (Tabelas 06,07,08). As maiores taxas TAIF foram registradas no tratamento com a correção e adubação do solo, e no tratamento com a inoculação da bactéria. A TAIF é a variável morfogênica que mais se correlacionada, com o rendimento de matéria seca, determinando com a TApF, o tamanho da superfície fotossintetizante do dossel, diretamente por meio de sua influência no comprimento final das folhas, e indireto, pelo efeito sobre a densidade de perfilhos (LEMAIRE ET AL., 2008).

A taxa de alongamento do colmo (TAIC) apresentou diferença significativa para adubação nos cortes 1 e 2 (tabelas 06 e 07) ( $P < 0,05$ ), cujas plantas adubadas foram estimuladas ao perfilhamento, o que resultou em uma menor taxa de alongamento de colmo, quando comparadas às plantas não adubadas. No corte 3, não houve diferença significativa para taxa de alongamento de colmo para o fator adubação ( $P > 0,05$ ) e foi observado efeito significativo ( $P < 0,05$ ) para inoculação biológica com menor crescimento de colmo para inoculação com a bactéria (Tabela 08).

O comprimento final de folha (CFF) e o comprimento total da planta (CTP) apresentaram diferença significativa ( $P < 0,05$ ) para adubação e para inoculação biológica (Tabela 06, 07 e 08), onde o solo corrigido e adubado apresentou menor crescimento final de folha e menor comprimento total de plantas, resultado que pode ser justificado por mecanismo compensatório decorrente de maiores densidade de perfilho, haja visto que quando se realiza a adubação, ocorre indução ao perfilhamento e

produção de folhas ao invés de alongamento de colmo.

Na inoculação biológica com a bactéria as variáveis CFF e CTP, as plantas se comportaram de forma semelhante ao solo corrigido e adubado. O maior número de folhas em consequência do maior número de perfilhos é um fator primordial na produção de estruturas da planta, em virtude de aumentar a capacidade fotossintética e consequentemente formação de novos tecidos, no solo corrigido e adubado o menor tamanho de folha pode ser justificado pelo aumento na densidade de perfilho. As plantas corrigidas e adubadas e inoculadas com a bactéria foram estimuladas ao perfilhamento e em seguida ao crescimento, fazendo com que as plantas não alongassem tanto colmo quando comparada com plantas não adubadas.

Podemos observar efeito significativo ( $P < 0,05$ ) para adubação e inoculação biológica para a densidade populacional de perfilho (DDP) e número de folhas vivas (NFV) (Tabelas 06, 07 e 08). O uso da correção e adubação promoveu uma maior densidade populacional de perfilho (DPP) e maior número de folhas vivas (NFV). O acúmulo de biomassa de um dossel forrageiro está diretamente relacionado ao crescimento em nível de perfilhos, que resulta em um maior acúmulo de massa seca por área. Segundo Santos et al. (2009), pastos que apresentam elevado número de perfilhos possuem maior quantidade de massa seca potencialmente digestível, o que pode melhorar a resposta dos animais em pastejo. Podemos observar um incremento de 46%, 28 % e de 30,61% na densidade de perfilho nos solos corrigido e adubados em relação ao solo ácido e ao solo corrigido sem adubação, respectivamente.

Em relação à inoculação biológica a bactéria e a associação bactéria + fungo apresentaram melhores resultado, com um incremento em relação ao controle de 26,99% e 20,61%, respectivamente. Tal resultado é muito importante quando pensamos na questão estrutural do pasto.

O perfilho é considerado a unidade básica de desenvolvimento das plantas forrageiras. As gramíneas utilizam o perfilhamento como forma de crescimento, aumento de produtividade e de sobrevivência. Para manter o desenvolvimento do perfilho em condições limitantes de nutrientes, a economia de fotoassimilados inicia-se pela redução da densidade de perfilhos, o que pode justificar a menor número de perfilhos no solo que não recebeu adubação.

O número de folhas vivas respondeu positivamente à melhoria da fertilidade do solo. Os maiores valores foram verificados com a correção e adubação do solo e com a inoculação da bactéria e associação bactéria + fungo. Como houve condições ideais

de luminosidade, umidade e temperatura no período em que foi realizado o experimento as plantas responderam positivamente à adubação e tiveram uma maior taxa fotossintética, acelerando assim o seu metabolismo, potencializando os processos de aparecimento de novos perfilhos, bem como surgimento de folhas, expressando o potencial de produção através dos maiores rendimentos (LOPES et al., 2011; IWAMOTO et al., 2015).

A partir desse resultado podemos identificar uma característica muito importante de manejo do pasto com relação à correção e adubação associado à inoculação com a bactéria *Azospirillum brasilense*, as plantas adubadas e inoculadas com a bactéria atingiram máximo de folhas vivas mais precocemente possibilitando colheitas mais frequentes.

Ao avaliar o efeito da adubação para a variável relação folha:colmo, observou-se efeito significativo ( $P < 0,05$ ) para o solo corrigido e adubado e para inoculação biológica com a bactéria no corte 1 e 2 (Tabela 06 e 07). No corte 03, não foi observado efeito significativo ( $P > 0,05$ ) para variável adubação, quanto a variável inoculação biológica foi observado efeito significativo ( $P < 0,05$ ), com melhor resultado para inoculação com a bactéria (Tabela 08).

Podemos observar que as plantas no solo corrigido, adubado e inoculados com a bactéria, apresentaram maior razão folha/colmo devido à maior densidade de perfilhos resultando em maior número de folhas, haja vista que a resposta para essa avaliação é dada com base no peso da folha e do caule das plantas. A menor razão folha/caule observada para as plantas no solo ácido e apenas corrigido, deve-se a maior produção de colmo, porém podemos observar que a razão folha/colmo foi superior a razão crítica descrita para gramíneas de 1:1, razão mínima onde se obtém uma produção de forragem com quantidade e qualidade satisfatórias (PINTO et al., 1994). Esses resultados podem ser explicados pelas condições ambientais ótimas que espécie encontrou para seu crescimento vegetativo (temperatura, umidade e luminosidade) e a capacidade que *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk tem em se adaptar a solos ácidos.

**Tabela 7.** Características morfológicas e estruturais da *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk submetida à inoculação biológica e diferentes adubações (Corte 2).

| Variável      | Adubação |         |         | Inoculação |          |         |            | CV (%) | P - Valor |        |        |
|---------------|----------|---------|---------|------------|----------|---------|------------|--------|-----------|--------|--------|
|               | S.C.     | C.C.    | C.A.    | Controle   | Bacteria | Fungo   | Bac.+ Fun. |        | A         | I      | AxI    |
| <b>TApF</b>   | 0,14 B   | 0,15 B  | 0,16 A  | 0,13 b     | 0,16 a   | 0,14 b  | 0,15 a     | 6,54   | 0,0002    | 0,0001 | 0,4087 |
| <b>FILOC.</b> | 7,21 A   | 6,95 A  | 6,41 B  | 7,54 a     | 6,22 b   | 7,12 a  | 6,55 a     | 7,18   | 0,0002    | 0,0001 | 0,1920 |
| <b>TAIF</b>   | 3,51 B   | 3,55 B  | 3,77 A  | 3,49 b     | 3,82 a   | 3,54 b  | 3,61 ab    | 6,85   | 0,0126    | 0,0131 | 0,0748 |
| <b>TAIC</b>   | 1,20 A   | 1,19 A  | 1,11 B  | 1,20 a     | 1,12 a   | 1,19 a  | 1,16 a     | 6,88   | 0,0129    | 0,1000 | 0,0664 |
| <b>CFF</b>    | 26,72 A  | 26,34 A | 24,86 B | 26,78 a    | 24,57 b  | 26,53 a | 26,02 ab   | 6,43   | 0,0080    | 0,0120 | 0,3942 |
| <b>CTP</b>    | 55,94 A  | 54,63 A | 51,31 B | 55,83 a    | 51,43 b  | 54,92 a | 53,67 ab   | 5,12   | 0,0001    | 0,0008 | 0,0898 |
| <b>DPP</b>    | 45 C     | 55 B    | 93 A    | 55 b       | 77 a     | 56 b    | 70 a       | 15,10  | 0,0001    | 0,0001 | 0,7461 |
| <b>NFV</b>    | 3,94 B   | 4,06 B  | 4,38 A  | 3,75 b     | 4,50 a   | 3,96 b  | 4,29 a     | 6,55   | 0,0002    | 0,0001 | 0,4115 |
| <b>RFC</b>    | 1,28 C   | 1,39 B  | 1,54 A  | 1,28 c     | 1,55 a   | 1,32 cb | 1,45 ab    | 8,56   | 0,0000    | 0,0001 | 0,2749 |
| <b>I.A.F</b>  | 2,74 B   | 2,94 B  | 4,69 A  | 3,13 b     | 3,86 a   | 3,25 b  | 3,61 a     | 8,14   | 0,0000    | 0,0000 | 0,1614 |

Médias seguidas de mesma letra maiúscula para adubação e minúscula para inoculação na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ); E: Probabilidade erro para métodos de inoculação; A: Probabilidade erro para métodos de adubações; AxI: Efeito de interação entre uso de inoculante biológico e adubação; S.C.: Sem calagem; C.C.: Com calagem; C.A.: Com calagem e adubação.

Taxa de aparecimento foliar (TApF), filocrono, taxa de alongamento foliar (TAIF), taxa de alongamento de colmo (TAIC), comprimento final de folha (CFF), comprimento total da planta (CTP), densidade populacional de perfilho (DPP), e número de folhas vivas (NFV), relação folha colmo (RFC), índice de área foliar (I.A.F) de *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk submetida à inoculação biológica e diferentes adubações.

A relação folha:colmo é uma das variáveis estruturais da pastagem mais importante, pois uma alta relação lâmina:colmo, indica maior quantidade de folhas, sinalizando melhor valor nutritivo e maior digestibilidade da forragem.

Para a variável índice de área foliar (IAF), foi observada diferença significativa ( $P < 0,05$ ) para os dois fatores, adubação e inoculação biológica (Tabela 06, 07 e 08), nos três cortes realizados. A correção e adubação do solo promoveu acréscimo no número de perfilhos e maior quantidade de folha, e conseqüente aumento no índice de área foliar. O IAF é um fator muito importante no auxílio da estruturação do pasto.

Quando observamos o fator inoculação biológica o tratamento com a bactéria e a associação bactéria + fungo apresentaram o melhor resultado para IAF. Segundo Guimarães et al. (2011), o uso de *Azospirillum* em seu estudo promoveu aumento de 10% sobre número de folhas em pastagem de *Brachiaria decumbens* quando comparado à ausência do inoculante.

**Tabela 8.** Características morfológicas e estruturais da *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk submetida à inoculação biológica e diferentes adubações (Corte 3).

| Variável      | Adubação |         |         | Inoculação |          |          | CV (%)   | P - Valor  |        |        |        |
|---------------|----------|---------|---------|------------|----------|----------|----------|------------|--------|--------|--------|
|               | S.C.     | C.C.    | C.A.    | Controle   | Bacteria | Fungo    |          | Bac.+ Fun. | A      | I      | AxI    |
| <b>TApF</b>   | 0,14 B   | 0,14 B  | 0,15 A  | 0,13 b     | 0,16 a   | 0,14 b   | 0,15 a   | 7,43       | 0,0002 | 0,0001 | 0,2770 |
| <b>FILOC.</b> | 7,45 A   | 7,08 A  | 6,53 B  | 7,73 a     | 6,35 b   | 7,37 a   | 6,62 b   | 7,85       | 0,0000 | 0,0001 | 0,1226 |
| <b>TAIF</b>   | 2,48 B   | 2,66 AB | 2,82 A  | 2,43 b     | 2,97 a   | 2,44 b   | 2,76 ab  | 11,62      | 0,0165 | 0,0002 | 0,4207 |
| <b>TAIC</b>   | 0,74 A   | 0,68 A  | 0,60 A  | 0,78 a     | 0,54 b   | 0,75 ab  | 0,62 ab  | 30,06      | 0,1544 | 0,0215 | 0,9634 |
| <b>CFF</b>    | 29,54 A  | 27,08 B | 25,35 B | 26,51 a    | 28,14 a  | 26,95 a  | 27,70 a  | 9,62       | 0,0003 | 0,4336 | 0,3339 |
| <b>CTP</b>    | 47,26 A  | 46,63 A | 44,66 A | 50,07 a    | 42,45 c  | 47,17 ab | 45,04 bc | 7,81       | 0,1188 | 0,0001 | 0,4800 |
| <b>DPP</b>    | 53 B     | 75 A    | 84 A    | 62 b       | 81 a     | 63 b     | 76 a     | 16,63      | 0,0001 | 0,0004 | 0,2747 |
| <b>NFV</b>    | 3,81 B   | 4,00 B  | 4,31 A  | 3,67 b     | 4,42 a   | 3,83 b   | 4,25 a   | 7,43       | 0,0002 | 0,0001 | 0,2788 |
| <b>RFC</b>    | 1,24 A   | 1,28 A  | 1,43 A  | 1,18 b     | 1,50 a   | 1,28 ba  | 1,30 ba  | 16,91      | 0,0622 | 0,0102 | 0,3814 |
| <b>I.A.F</b>  | 2,06 B   | 2,21 B  | 3,53 A  | 2,32 b     | 2,93 a   | 2,42 b   | 2,74 a   | 8,05       | 0,0001 | 0,0001 | 0,1184 |

Médias seguidas de mesma letra maiúscula para adubação e minúscula para inoculação na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ); E: Probabilidade erro para métodos de inoculação; A: Probabilidade erro para métodos de adubações; AxI: Efeito de interação entre uso de inoculante biológico e adubação; S.C.: Sem calagem; C.C.: Com calagem; C.A.: Com calagem e adubação.

Taxa de aparecimento foliar (TApF), filocrono, taxa de alongamento foliar (TAIF), taxa de alongamento de colmo (TAIC), comprimento final de folha (CFF), comprimento total da planta (CTP), densidade populacional de perfilho (DPP), e número de folhas vivas (NFV), relação folha colmo (RFC), índice de área foliar (I.A.F) de *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk submetida à inoculação biológica e diferentes adubações.

A interação entre a adubação e a inoculação biológica não foi significativa ( $P>0,05$ ) no primeiro corte, para o teor de fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), lignina, cinzas e nutrientes digestíveis totais (NDT). As variáveis então foram avaliadas de forma independente (Tabela 09).

Podemos observar, que houve diferença significativa para o fator adubação e inoculação biológica ( $P<0,05$ ), para as variáveis FDN, FDA e lignina, as melhores respostas foram observadas no solo com calagem e adubação e com a inoculação biológica. Resultados que pode ser explicado pela menor quantidade de colmo, o que levou a uma diminuição das frações menos digestíveis da parede celular, sendo a lignina o principal constituinte. Valores elevados desses compostos não são interessantes por estar relacionada à baixa digestibilidade e baixo consumo.

A FDN representa a fração química da forrageira que se correlaciona mais estreitamente com o consumo voluntário dos animais, cujos valores acima de 55 a 60 % se correlacionam de maneira negativa (VAN SOEST, 1994). Neste estudo podemos notar que os menores valores de fibra em detergente neutro (FDN) obtidos pela forrageira foram no solo com calagem e adubação e nas plantas que receberam a inoculação biológica.

A fertilização com destaque para a nitrogenada tem o poder de reduzir o percentual de FDN por meio dos estímulos provocado através do rápido crescimento dos tecidos jovens, com menores teores de carboidratos estruturais.

A FDA é um indicativo da digestibilidade, quanto menor a FDA, maior é o valor energético da planta. Os teores de fibra em detergente ácido (FDA) têm relação com os teores de lignina dos alimentos, que determinam a digestibilidade da fibra, pois quanto menor o teor de FDA menor é o teor de lignina e, conseqüentemente, melhor a digestibilidade do alimento (MAGALHÃES ET AL. 2015). Podendo observar que para o fator adubação que o teor de FDA e lignina foi menor no solo com calagem e com adubação. Para o fator inoculação biológica o menor teor de FDA foi observado nas plantas que receberam os microrganismos, e para lignina a melhor resposta foi observada na inoculação exclusiva com a bactéria.

**Tabela 9.** Composição bromatológica da *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk submetida á inoculação biológica e diferentes adubações (Corte 1).

| Variável (%) | Adubação |         |         | Inoculação |          |         |            | CV (%) | P - Valor |        |        |
|--------------|----------|---------|---------|------------|----------|---------|------------|--------|-----------|--------|--------|
|              | S.C.     | C.C.    | C.A.    | Controle   | Bacteria | Fungo   | Bac.+ Fun. |        | A         | I      | AxI    |
| <b>FDN</b>   | 68,71 A  | 63,86 A | 62,20 B | 68,14 a    | 63,49 b  | 64,42 b | 63,65 b    | 3,50   | 0,0000    | 0,0000 | 0,4239 |
| <b>FDA</b>   | 36,19 A  | 34,37 A | 31,73 B | 34,94 a    | 32,30 b  | 33,16 b | 33,09; b   | 4,06   | 0,0000    | 0,0000 | 0,0941 |
| <b>LIG</b>   | 5,33 A   | 5,16 A  | 4,40 B  | 5,59 a     | 4,11 b   | 5,20 a  | 4,95 a     | 6,86   | 0,0020    | 0,0001 | 0,9929 |
| <b>CINZA</b> | 5,30 C   | 6,94 B  | 7,66 A  | 6,61 a     | 6,67 a   | 6,61 a  | 6,64 a     | 7,43   | 0,0000    | 0,9831 | 0,3591 |
| <b>NDT</b>   | 55,12 B  | 57,16 A | 57,85 A | 55,37 b    | 56,92 a  | 57,24 a | 57,31 a    | 1,67   | 0,0000    | 0,0000 | 0,4264 |

CV: Coeficiente de variação; E: Probabilidade erro para uso do inoculante; Médias seguidas de mesma letra maiúscula para inoculação e minúscula para adubação na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05);E: Probabilidade erro para métodos de inoculação;A: Probabilidade erro para métodos de adubações; AxI: Efeito de interação entre uso de inoculante biológico e adubação; S.C.:Sem calagem;C.C.:Com calagem;C.A.:Com calagem e adubação; MS: Matéria seca;PB: Proteína bruta; FDN: Fibra em detergente neutro; FDA: Fibra em detergente ácido; LIG: Lignina; NDT: Nutrientes digestíveis totais;\* Desdobramento.

Em relação à variável nutriente digestível total (NDT), o fator adubação e inoculação biológica apresentaram diferença significativa ( $P < 0,05$ ) no 1 corte com os menores teores de NDT para o solo sem correção e sem adubação e para o tratamento controle. Os teores de NDT das forrageiras são de aproximadamente 55%, podendo ser alterados de acordo com as condições climáticas solo e a idade de corte das plantas.

Para variável cinza o melhor resultado pode ser observado no solo corrigido e adubado, para a inoculação biológica não foi observado diferença significativo ( $P > 0,05$ ).

A interação entre a adubação e a inoculação biológica foi significativa ( $P < 0,05$ ) para proteína bruta (PB) no primeiro corte (Tabela 10). Ao analisar o desdobramento da adubação dentro da inoculação biológica, podemos observar o maior percentual de proteína bruta para o solo corrigido e adubado junto com a inoculação biológica da bactéria e a associação bactéria + fungo, com incremento médio no teor de proteína bruta de 45,94% e 26,49% em relação ao solo sem calagem e sem adubação e ao solo com calagem e sem adubação respectivamente.

No desdobramento do microrganismo dentro de cada nível de adubação, o solo sem calagem e sem adubação e o solo com calagem e sem adubação, não apresentaram diferença significativa ( $P > 0,05$ ). O solo corrigido e adubado apresentou diferença significativa ( $P < 0,05$ ) com maiores percentuais de proteína bruta para inoculação com a bactéria e com a associação bactéria + fungo, observando aumento de 19,87% e 13,72% respectivamente, em relação ao controle.

**Tabela 10.** Desdobramento das variáveis bromatológica da *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk contendo interação significativa.

| Adubação | Inoculação |          |          |              | CV (%) | P - Valor |        |        |
|----------|------------|----------|----------|--------------|--------|-----------|--------|--------|
|          | Controle   | Bactéria | Fungo    | Bact + Fungo |        | A         | I      | AxI    |
|          | PB (%)     |          |          |              |        |           |        |        |
| S.C.     | 7,36 Ba    | 8,70 Ca  | 8,54 Ca  | 8,55 Ca      |        |           |        |        |
| C.C.     | 12,53 Aa   | 11,83 Ba | 11,50 Ba | 11,47 Ba     | 7,25   | 0.0000    | 0.0014 | 0.0003 |
| C.A.     | 13,39 Ab   | 16,71 Aa | 13,56 Ab | 15,52 Aa     |        |           |        |        |

Médias seguidas de mesma letra maiúscula, na coluna, e minúscula, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ); CV: Coeficiente de variação; I: Probabilidade erro para uso do inoculante; A: Probabilidade erro para métodos de adubações; IxA: Efeito de interação entre uso de inoculante biológico e adubação; S.C.: Sem calagem; C.C.: Com calagem; C.A.: Com calagem e adubação.

Podemos observar que a adubação interferiu significativamente em todos os fatores da inoculação no primeiro corte, observando aumento significativo no teor de PB das plantas com a adubação. O efeito da adubação nitrogenada sobre o teor de PB é algo bem difundido (BERNARDI et al., 2018; FARIA et al., 2018). Podemos observar que a adubação teve influência direta nos teores de proteína bruta, por aumentar a disponibilidade de nitrogênio no solo e conseqüente absorção pela planta. O aumento no percentual de proteína bruta (PB) em resposta a adubação, principalmente pelo fornecimento do nitrogênio, deve-se, principalmente, à alta eficiência de absorção e conversão deste nutriente pelas plantas, sendo utilizado para a síntese de clorofila, enzimas e proteínas (TAIZ et al., 2017).

Quanto maior a disponibilidade de nitrogênio no solo maior o teor de proteína bruta na planta. Os maiores percentuais de proteína bruta (PB) com presença da inoculação das bactérias diazotróficas e dos fungos micorrízicos deve-se a capacidade destes microrganismos em estimular o crescimento vegetal através da produção de fitormônios, fixação biológica do nitrogênio no solo e aumento na absorção de nutrientes, por meio de uma maior exploração do perfil do solo pelo aumento no tamanho das raízes e presença dos micélios extra-radicular. Desta forma, deve ser valorizado o efeito obtido pela presença desses microorganismos, já que o incremento percentual de proteína bruta é muito importante do ponto de vista nutricional. Segundo Van Soest (1994), teores de PB das forrageiras inferiores a 7%, provocam redução na digestão devido a inadequados níveis de nitrogênio para os microrganismos do rúmen, diminuindo sua população, e conseqüentemente, ocorre redução da digestibilidade e da ingestão da massa seca. Neste trabalho, pode-se observar que os teores de PB estiveram acima de 7% da matéria seca.

A adubação e a inoculação da bactéria e sua associação com o fungo proporcionou maior perfilhamento e produção de folhas ao invés do alongamento de colmo, influenciando no aumento do teor de proteína bruta encontrado.

A interação entre a adubação e a inoculação biológica não foi significativa ( $P>0,05$ ) para o teor de proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), lignina, cinzas e nutrientes digestíveis totais (NDT), no segundo e terceiro corte (Tabela 11 e 12).

Podemos observar que houve diferença significativa para o fator adubação e inoculação biológica ( $P<0,05$ ), para as variáveis FDN e FDA onde os menores teores

foram observados nos solos com calagem e adubação e na inoculação com a bactéria, certamente pela maior eficiência do uso de nitrogênio (N) do solo. As plantas com menores teores de FDN e FDA foram às mesmas com maior IAF. A concentração de folhas proporciona redução dos teores de fibra por se tratar de tecidos menos lignificados quando comparado com o colmo.

A lignina apresentou apenas efeito significativo ( $P>0,05$ ) para o fator adubação, onde os melhores resultados foram observados no solo com calagem e sem adubação e no solo com calagem e com adubação. A inoculação biológica não interferiu nos teores de lignina no segundo e terceiro corte.

Em relação à variável nutriente digestível total (NDT), o fator adubação e inoculação biológica apresentaram diferença significativa ( $P<0,05$ ) no segundo e terceiro corte, com os melhores resultados para os teores de NDT nas plantas cultivadas nos solos com calagem e adubação e inoculadas com a bactéria.

A variável proteína bruta (PB) apresentou diferença significativa para os fatores adubação e inoculação biológica ( $P>0,05$ ) no segundo corte, com os melhores resultados para o solo com calagem e adubação e inoculados com a bactéria. No terceiro corte não foi observado diferença significativa para a inoculação biológica ( $P>0,05$ ), apresentando apenas diferença significativa ( $P<0,05$ ) para o fator adubação, onde o solo com calagem e com adubação apresentou maior teor de proteína bruta.

**Tabela 11.** Composição bromatológica da *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk submetida á inoculação biológica e diferentes adubações (Corte 2).

| Variável (%) | Adubação |         |         | Inoculação |          |         | CV (%)   | P - Valor  |        |        |        |
|--------------|----------|---------|---------|------------|----------|---------|----------|------------|--------|--------|--------|
|              | S.C.     | C.C.    | C.A.    | Controle   | Bacteria | Fungo   |          | Bac.+ Fun. | A      | I      | AxI    |
| <b>PB</b>    | 7,66 C   | 9,55 B  | 11,98 A | 8,79 b     | 10,51 a  | 9,49 ab | 10,15 ab | 15,91      | 0,0000 | 0,0490 | 0,4030 |
| <b>FDN</b>   | 74,14 A  | 65,85 B | 62,08 C | 69,77 a    | 64,19 b  | 68,46 a | 66,99 ab | 4,46       | 0,0000 | 0,0000 | 0,4377 |
| <b>FDA</b>   | 38,19 A  | 34,96 B | 32,45 C | 36,23 a    | 32,80 b  | 35,79 a | 35,98 a  | 7,05       | 0,0000 | 0,0051 | 0,8680 |
| <b>LIG</b>   | 6,05 A   | 5,05 B  | 4,66 B  | 5,45 a     | 5,02 a   | 5,26 a  | 5,30 a   | 17,70      | 0,0004 | 0,7247 | 0,9187 |
| <b>CINZA</b> | 5,89 C   | 7,46 B  | 8,16 A  | 7,13 a     | 7,19 a   | 7,17 a  | 7,19 a   | 7,03       | 0,0000 | 0,9914 | 0,2021 |
| <b>NDT</b>   | 52,87 C  | 56,33 B | 57,90 A | 54,69 b    | 57,01 a  | 55,23 b | 55,85 ab | 2,25       | 0,0000 | 0,0005 | 0,4376 |

CV: Coeficiente de variação; E: Probabilidade erro para uso do inoculante; Médias seguidas de mesma letra maiúscula para inoculação e minúscula para adubação na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P>0,05$ ); E: Probabilidade erro para métodos de inoculação; A: Probabilidade erro para métodos de adubações; ExA: Efeito de interação entre uso de inoculante biológico e adubação; S.C.: Sem calagem; C.C.: Com calagem; C.A.: Com calagem e adubação; MS: Matéria seca; PB: Proteína bruta; FDN: Fibra em detergente neutro; FDA: Fibra em detergente ácido; LIG: Lignina; NDT: Nutrientes digestíveis totais.

**Tabela 12.** Composição bromatológica de *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk submetida á inoculação biológica e diferentes adubações (Corte 3).

| Variável (%) | Adubação |         |         | Inoculação |          |         |            | CV (%) | P - Valor |        |        |
|--------------|----------|---------|---------|------------|----------|---------|------------|--------|-----------|--------|--------|
|              | S.C.     | C.C.    | C.A.    | Controle   | Bacteria | Fungo   | Bac.+ Fun. |        | A         | I      | AxI    |
| <b>PB</b>    | 8,47 C   | 10,40 B | 12,79 A | 9,76 a     | 10,44 a  | 10,80 a | 11,21 a    | 14,53  | 0,0000    | 0,1435 | 0,4037 |
| <b>FDN</b>   | 76,25 A  | 67,80 B | 63,93 C | 71,77 a    | 66,06 b  | 70,51 a | 68,98 ab   | 4,49   | 0,0000    | 0,0005 | 0,4405 |
| <b>FDA</b>   | 39,36 A  | 36,07 B | 33,58 C | 37,81 a    | 33,46 b  | 37,65 a | 36,65 a    | 6,86   | 0,0000    | 0,0000 | 0,8155 |
| <b>LIG</b>   | 6,92 A   | 5,96 B  | 5,58 B  | 6,63 a     | 5,79 a   | 6,22 a  | 5,98 a     | 14,29  | 0,0000    | 0,1305 | 0,8514 |
| <b>CINZA</b> | 7,06 B   | 7,58 B  | 8,43 A  | 7,10 c     | 8,26 a   | 7,45 ba | 7,96 ba    | 9,28   | 0,0000    | 0,0014 | 0,2076 |
| <b>NDT</b>   | 51,98 C  | 55,51 B | 57,13 A | 53,86 b    | 56,24 a  | 54,38 b | 55,02 ab   | 2,36   | 0,0000    | 0,0005 | 0,4405 |

CV: Coeficiente de variação; E: Probabilidade erro para uso do inoculante; Médias seguidas de mesma letra maiúscula para inoculação e minúscula para adubação na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P>0,05$ ); E: Probabilidade erro para métodos de inoculação; A: Probabilidade erro para métodos de adubações; ExA: Efeito de interação entre uso de inoculante biológico e adubação; S.C.: Sem calagem; C.C.: Com calagem; C.A.: Com calagem e adubação; MS: Matéria seca; PB: Proteína bruta; FDN: Fibra em detergente neutro; FDA: Fibra em detergente ácido; LIG: Lignina; NDT: Nutrientes digestíveis totais.

A interação não foi significativa ( $P > 0,05$ ) entre a adubação e a inoculação biológica, para os teores de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofilas totais, carotenoides e razão clorofila *a/ b* no primeiro corte (Tabela 13). A utilização de métodos de adubações apresentou efeito significativo ( $P < 0,05$ ) influenciando nos teores de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofilas totais, carotenoides e razão clorofila *a/b*, com os melhores resultados associados os solos com calagem e adubação.

Houve significância ( $P < 0,05$ ) do uso da inoculação biológica nos teores de clorofila *a*, clorofilas totais, carotenóides e razão clorofila *a/b*, exceto para clorofila *b*. Os melhores resultados foram encontrados com a inoculação da bactéria, além da associação fungo+bactérias para os carotenoides.

O incremento dos teores de clorofila *a* com a utilização da bactéria, justifica-se pela eficiência desse grupo de microrganismos na captura do nitrogênio atmosférico e na produção de fitormônios. A maior produção de clorofilas *a* favorece a síntese de ATP nos cloroplastos, esse pigmento possibilita a maior captação de luz, utilizada no processo de fotofosforilação (TAIZ & ZIGUER, 2017). Pouco se sabe sobre a atuação dos fitormônios na fotossíntese, sendo que a auxina parece poder influenciar indiretamente no movimento dos cloroplastos (EISKENTEN et al. 2016).

Guimarães et al. (2011), ao avaliaram a inoculação de *Azospirillum* spp na *Brachiaria decumbens*, observaram efeito positivo dessa bactéria na leitura do índice de clorofila, confirmando que a associação entre a planta e bactérias podem resultar em um suprimento adequado de nitrogênio. O nitrogênio é um mineral constituinte das moléculas de clorofila (Taiz et al., 2017) e a disponibilidade dele no solo aumenta os teores de clorofila nas folhas (Martuscello et al., 2016).

A clorofila *b* e os carotenoides são denominados pigmentos acessórios auxiliando a clorofila *a* na absorção de luz, ampliando a faixa de luz que pode ser utilizada, mesmo em condições de pouca insolação e na transferência de energia para os centros de reação. Conseguem assim, absorver a luz em comprimento de onda diferente um do outro, absorvendo maiores valores enérgicos oriundos da luz para a realização da fotossíntese. Outra função dos carotenoides é a de antioxidante, prevenindo a fotoxidação causada por altos níveis de irradiação na folha (KLUGE et al. 2015)

As melhores respostas nos solos com calagem e adubados, e inoculação com a bactéria, ocorreram devido o maior fornecimento de nitrogênio, de forma direta pela adubação, e indireta pela fixação biológica. O nitrogênio é constituinte das proteínas e

interfere diretamente no processo fotossintético, pela sua participação na molécula de clorofila atuando diretamente na formação de pigmentos fotossintéticos (clorofila a, b e conseqüentemente totais).

Pompeu et al. (2010) verificaram que à adubação nitrogenada elevou a taxa fotossintética em folhas de capim-aruaana, especialmente pelo nitrogênio ser substrato para formação de clorofilas e enzimas que atuam na fotossíntese. O potássio também fornecido com adubação contribuiu para as melhores respostas deste tratamento tendo funções fisiológicas e metabólicas como ativação de enzimas, fotossíntese, translocação de assimilados, absorção de nitrogênio e síntese proteica (WASSELAI et al., 2020).

Pode-se observar que os resultados com os índices de clorofila estão diretamente relacionados com a adubação, principalmente a nitrogenada, constatando aumento significativo para todas as variáveis quando as plantas receberam calagem e adubação em comparação com as plantas não adubadas. É comum na literatura as correlações positivas entre o aumento no teor de clorofila foliar com o incremento de nitrogênio (Cabral et al., 2013; Viana et al., 2014; Guimarães et al., 2016).

A presença da adubação elevou em 12,61% e 7,98% o teor de clorofilas totais em relação ao solo, sem calagem e sem adubação, e ao solo com calagem e sem adubação, respectivamente. Quando avaliamos o incremento na clorofila total pela presença da bactéria em relação ao controle observamos um incremento de 20,16 %.

A presença do nitrogênio, seja via adubação nitrogenada ou fixação biológica pelas bactérias, resulta na elevação dos teores de clorofila e de pigmentos acessórios, possibilitando maior disponibilização de foto assimilados.

GALINDO et al (2018), ao analisar o efeito de fontes e doses de nitrogênio no capim mombaça, encontrou aumento do teor de clorofila em função da disponibilidade de nitrogênio. BASHAN et al (2006) observaram aumento em vários pigmentos fotossintéticos na presença de *Azospirillum ssp*

Para razão clorofila a/b foi observado maior razão no solo com calagem e com adubação e nas plantas inoculada com a bactéria. Resultado obtido pela menor quantidade observada de *clorofila b*, aumentando assim a proporção de *clorofila a*.

Segundo Streit et al. (2005), as clorofilas a e b são geralmente encontradas em uma fração de 3:1 em gramíneas C4. No presente estudo, a razão de clorofila a/b

encontrada foi de 2,5:1. Os pigmentos fotossintéticos são utilizados para estimar a capacidade do processo fotossintético da planta, onde pode variar de acordo com a espécie e exposição ambientais (SILVA et al 2018).

Desta forma, observando o efeito da inoculação biológica de forma geral, deve-se destacar as repostas do tratamento que receberam a inoculação com cultivo exclusivo de bactérias, haja visto que os valores foram superiores para as variáveis analisadas. Resultado obtido devido o efeito aditivo das bactérias na absorção de nitrogênio.

**Tabela 13.** Teores de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total, carotenoides e razão clorofila *a*/clorofila *b* da *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk submetida á inoculação biológica e diferentes adubações (Corte 1)

| Variável                | Adubação |         |        | Inoculação |          |        |            | CV (%) | P - Valor |        |        |
|-------------------------|----------|---------|--------|------------|----------|--------|------------|--------|-----------|--------|--------|
|                         | S.C.     | C.C.    | C.A.   | Controle   | Bacteria | Fungo  | Bac.+ Fun. |        | A         | I      | AxI    |
| <b>Clorofila a</b>      | 1,48 B   | 1,56 B  | 1,70 A | 1,37 c     | 1,84 a   | 1,46 c | 1,65 b     | 7,56   | 0,0000    | 0,0000 | 0,3108 |
| <b>Clorofila b</b>      | 0,60 B   | 0,63 B  | 0,68 A | 0,62 a     | 0,64 a   | 0,63 a | 0,67 a     | 7,61   | 0,0001    | 0,1042 | 0,3128 |
| <b>Clor. Total</b>      | 2,08 B   | 2,19 B  | 2,38 A | 1,98 c     | 2,48 a   | 2,09 c | 2,32 b     | 5,96   | 0,0000    | 0,0000 | 0,7823 |
| <b>Caroten<br/>oide</b> | 0,25 B   | 0,28 BA | 0,32 A | 0,23 b     | 0,34 a   | 0,25 b | 0,31 a     | 17,69  | 0,0019    | 0,0000 | 0,0687 |
| <b>Razão a/b</b>        | 2,48 B   | 2,47 B  | 2,78 A | 2,37 b     | 2,92 a   | 2,42 b | 2,58 b     | 10,70  | 0,0039    | 0,0001 | 0,1827 |

CV: Coeficiente de variação; E: Probabilidade erro para uso do inoculante; Médias seguidas de mesma letra maiúscula para adubação e minúscula para inoculação na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P>0,05$ );E: Probabilidade erro para métodos de inoculação;A: Probabilidade erro para métodos de adubações; ExA: Efeito de interação entre uso de inoculante biológico e adubação; S.C.:Sem calagem;C.C.:Com calagem;C.A.:Com calagem e adubação. \* mg g<sup>-1</sup> de MS

A interação não foi significativa ( $P > 0,05$ ) entre a adubação e a inoculação biológica no segundo e terceiro corte para as variáveis analisadas (Tabela 14 e 15).

Os métodos de adubações e a inoculação biológica apresentaram efeito significativo ( $P < 0,05$ ) influenciando os teores de clorofila *a*, *clorofila b*, *clorofilas totais*, *carotenoides*, exceto a razão *clorofila a / clorofila b* no fator adubação no segundo corte e para razão clorofila *a/b* para os fatores adubação e inoculação no terceiro corte. Os melhores resultados estão associados aos solos com calagem e com adubação e a inoculação biológica com a bactéria.

Pode-se observar no segundo e terceiro corte, que o nitrogênio fornecido pelas bactérias, e o efeito residual da adubação, contribuíram para os melhores resultados nas plantas nos solos com calagem e adubação e inoculadas com bactéria. Evidenciando que os índices de clorofila na planta estão diretamente relacionados com a nutrição ofertada principalmente em relação ao nitrogênio.

É importante destacar que apesar da temperatura do ar e a intensidade luminosa, assim como nitrogênio, influenciarem diretamente na síntese de clorofila existe um momento em que a síntese se estabiliza, pois, a planta não produz mais clorofila do que necessita independente da exposição das plantas ao sol ou da nutrição adicional que lhes é oferecida, chamado ponto de maturidade fotossintético (COSTA et al., 2015). O excesso de luz e a temperatura do ar podem fazer com que as plantas ativem mecanismos que fazem diminuir temporariamente a absorção luminosa (fotoinibição e foto-oxidação), visando proteger a planta, podendo inibir a fotossíntese (fotoinibição e foto-oxidação).

Os resultados mostraram a interferência dos microorganismos, em destaque as bactérias, nos teores de clorofilas e pigmentos uma vez que, o maior número de pigmentos é benéfico às plantas, pois cada pigmento consegue absorver a luz em comprimento de onda diferente do outro, absorvendo desta forma maiores valores energéticos oriundos da luz para a realização da fotossíntese (TAIZ & ZEIGER, 2017).

**Tabela 14.** Teores de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total, carotenoides e razão clorofila *a*/clorofila *b* da *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk submetida á inoculação biológica e diferentes adubações (Corte 2)

| Variável                | Adubação |        |        | Inoculação |          |        |            | CV (%) | P - Valor |        |        |
|-------------------------|----------|--------|--------|------------|----------|--------|------------|--------|-----------|--------|--------|
|                         | S.C.     | C.C.   | C.A.   | Controle   | Bacteria | Fungo  | Bac.+ Fun. |        | A         | I      | AxI    |
| <b>Clorofila a</b>      | 0,92 C   | 1,14 B | 1,34 A | 0,77 d     | 1,51 a   | 0,99 c | 1,27 b     | 11,32  | 0,0000    | 0,0000 | 0,0568 |
| <b>Clorofila b</b>      | 0,40 C   | 0,49 B | 0,57 A | 0,44 b     | 0,56 a   | 0,44 b | 0,51 ab    | 15,29  | 0,0000    | 0,0006 | 0,5137 |
| <b>Clor. Total</b>      | 1,32 C   | 1,64 B | 1,91 A | 1,21 d     | 2,07 a   | 1,42 c | 1,78 b     | 11,18  | 0,0000    | 0,0000 | 0,5829 |
| <b>Caroten<br/>oide</b> | 0,14 B   | 0,21 A | 0,25 A | 0,14 b     | 0,26 a   | 0,16 b | 0,23 a     | 23,36  | 0,0181    | 0,0000 | 0,2433 |
| <b>Razão a/b</b>        | 2,28 A   | 2,35 A | 2,36 A | 1,77 c     | 2,75 a   | 2,28 b | 2,53 ab    | 17,07  | 0,8203    | 0,0000 | 0,2201 |

CV: Coeficiente de variação; E: Probabilidade erro para uso do inoculante; Médias seguidas de mesma letra maiúscula para inoculação e minúscula para adubação na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P>0,05$ );E: Probabilidade erro para métodos de inoculação;A: Probabilidade erro para métodos de adubações; ExA: Efeito de interação entre uso de inoculante biológico e adubação; S.C.:Sem calagem;C.C.:Com calagem;C.A.:Com calagem e adubação. \* mg g<sup>-1</sup> de MS

**Tabela 15.** Teores de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total, carotenoides e razão clorofila *a/b* de *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk submetida á inoculação biológica e diferentes adubações (Corte 3)

| Variável                | Adubação |        |        | Inoculação |          |         | CV (%) | P - Valor  |        |        |        |
|-------------------------|----------|--------|--------|------------|----------|---------|--------|------------|--------|--------|--------|
|                         | S.C.     | C.C.   | C.A.   | Controle   | Bacteria | Fungo   |        | Bac.+ Fun. | A      | I      | AxI    |
| <b>Clorofila a</b>      | 0,86 C   | 1,02 B | 1,22 A | 0,74 b     | 1,37 a   | 0,81 b  | 1,22 a | 14,99      | 0,0000 | 0,0000 | 0,6718 |
| <b>Clorofila b</b>      | 0,36 B   | 0,45 A | 0,49 A | 0,35 c     | 0,53 a   | 0,40 bc | 0,45 b | 15,23      | 0,0000 | 0,0000 | 0,3336 |
| <b>Clor. Total</b>      | 1,22 C   | 1,47 B | 1,71 A | 1,08 c     | 1,90 a   | 1,21 c  | 1,67 b | 10,96      | 0,0000 | 0,0000 | 0,2782 |
| <b>Caroten<br/>oide</b> | 0,12 C   | 0,18 B | 0,23 A | 0,13 c     | 0,24 a   | 0,16 b  | 0,19 b | 16,29      | 0,0000 | 0,0000 | 0,0503 |
| <b>Razão a/b</b>        | 2,41 A   | 2,27 A | 2,52 A | 2,17 b     | 2,68 a   | 2,62 ab | 2,73 a | 18,16      | 0,0052 | 0,0724 | 0,6248 |

CV: Coeficiente de variação; E: Probabilidade erro para uso do inoculante; Médias seguidas de mesma letra maiúscula para inoculação e minúscula para adubação na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P>0,05$ );E: Probabilidade erro para métodos de inoculação;A: Probabilidade erro para métodos de adubações; ExA: Efeito de interação entre uso de inoculante biológico e adubação; S.C.:Sem calagem;C.C.:Com calagem;C.A.:Com calagem e adubação. \*  $\text{mg g}^{-1}$  de MS

A concentração de albuminas, globulinas, prolaminas e glutelinas na folha de *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk, não apresentou interação significativa entre a adubação e a inoculação biológica no corte 1, 2 e 3 (Tabela 16, 17 e 18).

A concentração de albuminas apresentou diferença significativa ( $P > 0,05$ ) para adubação e inoculação biológica com valores maiores para o solo com calagem e adubado e inoculado com a bactéria nos três cortes avaliados. Os melhores resultados na concentração de albumina em resposta a correção e adubação do solo e inoculação com bactéria, estão relacionados à maior disponibilidade de nitrogênio, através da correção, adubação e fixação biológica. Podemos observar um incremento médio na concentração de albumina nos três cortes de 35,23% e 21,33% do solo corrigido e adubado em relação ao solo ácido e ao solo apenas corrigido, respectivamente.

Com relação à inoculação biológica, podemos observar um aumento médio nos três cortes de 51,48% na concentração de albumina na folha das plantas inoculadas com a bactéria em relação ao controle. Este aumento na concentração de albumina provavelmente está relacionado ao aumento na síntese de **enzimas envolvidas nos processos fotossintéticos** como à Rubisco e a PEP-carboxilase, sendo estas solúveis em água (CABRERABOSQUET et al., 2009).

A globulina apresentou diferença significativa ( $P < 0,05$ ) para adubação e inoculação biológica com maior concentração para as plantas no solo corrigido e adubado e inoculado com a bactéria nos três cortes analisados, com incremento médio de 29,86% e 14,78% no solo corrigido e adubado em relação ao solo ácido e ao solo apenas corrigido, respectivamente.

Com relação à inoculação biológica foi observado um aumento média de 36,62% na folha das plantas inoculadas com a bactéria em relação ao controle. A globulina atua na recepção e transporte de nutrientes entre o ambiente interno e externo da célula, esse grupo de proteínas é caracterizado por corpos proteicos ligados à membrana (TAIZ et al., 2017). Com o aumento da formação de clorofilas em resposta a adubação nitrogenada e fixação biológica ocorre um aumento na formação das proteínas de membrana. O aumento da concentração destas proteínas transportadoras favorece a passagem de substâncias inorgânicas pela membrana, elevando as taxas de absorção de nutrientes. Resultado importante, pois estas proteínas também exercem grande papel na distribuição de aminoácidos oriundos da mobilização das reservas, transportando aminoácidos para atender as regiões de demanda.

Avaliando o efeito da adubação nitrogenada e da desfolha sobre a formação e

mobilização das frações proteicas de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu (SEIXAS, 2020) encontrou aumento na concentração de globulinas de 128,9%, 30,87% e 35,4% para os cortes 1, 2 e 3, respectivamente, quando comparadas as plantas não adubadas em relação as plantas adubadas.

A correção e adubação e a inoculação com a bactéria proporcionou maiores concentrações de prolamina nos cortes 1, 2 e 3, com incremento médio de 36,64% e 23,14% no solo corrigido e adubado em relação ao solo ácido e ao solo apenas corrigido, respectivamente.

Com relação à inoculação biológica podemos observar um aumento médio de 41,58% nas plantas inoculadas com a bactéria em relação ao controle. Do ponto de vista fisiológico, a prolamina tem um papel trófico primordial, que é o de fornecer aminoácidos e outros compostos nitrogenados as plantas jovens, durante um período curto, mas crítico, até se tornarem autotróficas (D'OIDIO & MASCI, 2004). Sua maior concentração nas folhas se deve ao aumento da disponibilidade e absorção de nitrogênio, fornecido pela adubação (TAIZ et al., 2017). Este acréscimo de nitrogênio fornecido as plantas com a adubação e fixação biológica são utilizados para síntese de proteínas de reserva, garantindo fonte de aminoácidos prontamente sintetizados como substrato para o crescimento durante a rebrota (DIERKING et al., 2017).

Em situações de deficiências drásticas de nitrogênio, para além das proteínas de reserva, as plantas (como todos os organismos vivos) utilizam progressivamente proteínas estruturais ou funcionais para propósitos tróficos, de modo a fornecer aminoácidos para a reciclagem das proteínas vitais. A natureza das proteínas de reserva é geneticamente programada, mas a sua taxa de acúmulo depende da disponibilidade de nutrientes, sendo considerado um dreno do excedente disponível (GALLARDO et al., 2008).

**Tabela 16.** Concentração de albumina, globulina, prolamina e glutelina da *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk submetida á inoculação biológica e diferentes adubações (Corte 1).

| Variável                      | Adubação |         |        | Inoculação |          |        | CV (%) | P - Valor  |        |        |        |
|-------------------------------|----------|---------|--------|------------|----------|--------|--------|------------|--------|--------|--------|
|                               | S.C.     | C.C.    | C.A.   | Controle   | Bacteria | Fungo  |        | Bac.+ Fun. | A      | I      | AxI    |
| <b>Albumina</b> <sup>1</sup>  | 2,17 B   | 2,35 B  | 3,05 A | 1,89 c     | 3,36 a   | 2,03 c | 2,82 b | 17,84      | 0,0000 | 0,0000 | 0,7446 |
| <b>Globulina</b> <sup>1</sup> | 0,79 C   | 0,96 B  | 1,14 A | 0,72 c     | 1,29 a   | 0,81 c | 1,02 b | 15,35      | 0,0000 | 0,0000 | 0,4860 |
| <b>Prolamina</b> <sup>1</sup> | 0,37 B   | 0,44 B  | 0,56 A | 0,35 c     | 0,60 a   | 0,39 c | 0,50 b | 18,83      | 0,0000 | 0,0000 | 0,1024 |
| <b>Glutelina</b> <sup>1</sup> | 1,88 B   | 1,98 AB | 2,17 A | 1,78 b     | 2,29 a   | 1,81 b | 2,12 a | 10,53      | 0,0009 | 0,0000 | 0,2423 |

CV: Coeficiente de variação; E: Probabilidade erro para uso do inoculante; Médias seguidas de mesma letra maiúscula para inoculação e minúscula para adubação na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05);E: Probabilidade erro para métodos de inoculação;A: Probabilidade erro para métodos de adubações; AxI: Efeito de interação entre uso de inoculante biológico e adubação; S.C.:Sem calagem;C.C.:Com calagem;C.A.:Com calagem e adubação. <sup>1</sup> mg g<sup>-1</sup> de MS

As glutelinas apresentaram diferença significativa ( $P < 0,05$ ) para adubação e para inoculação biológica nos três períodos analisados, com incremento médio de 19% e 12,52% no solo corrigido e adubado em relação ao solo ácido e ao solo apenas corrigido, respectivamente. Com relação à inoculação biológica podemos observar um aumento médio de 26,66% das plantas inoculado com a bactéria em relação ao controle.

A elevação das glutelinas nas folhas em resposta à adubação nitrogenada está atribuída às maiores taxas de crescimento foliar. Por serem consideradas proteínas estruturais, as glutelinas conferem suporte e resistência, promovendo a sustentação estrutural dos tecidos. A concentração destas proteínas pode variar em função da espécie e/ou cultivar, da estrutura da planta e da utilização de fertilizantes nitrogenados, isto porque com exceção dos macronutrientes orgânicos Carbono (C), Oxigênio (O) e Hidrogênio (H), o nitrogênio é o elemento mineral mais requisitado para a formação das proteínas.

**Tabela 17.** Concentração de albumina, globulina, prolamina e glutelina da *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk submetida á inoculação biológica e diferentes adubações (Corte 2).

| Variável                      | Adubação |        |        | Inoculação |          |        | CV (%) | P - Valor  |        |        |        |
|-------------------------------|----------|--------|--------|------------|----------|--------|--------|------------|--------|--------|--------|
|                               | S.C.     | C.C.   | C.A.   | Controle   | Bacteria | Fungo  |        | Bac.+ Fun. | A      | I      | AxI    |
| <b>Albumina</b> <sup>1</sup>  | 2,33 C   | 2,71 B | 3,29 A | 1,94 c     | 3,87 a   | 2,14 c | 3,15 b | 9,67       | 0,0000 | 0,0000 | 0,2195 |
| <b>Globulina</b> <sup>1</sup> | 0,89 C   | 1,09 B | 1,30 A | 0,82 c     | 1,47 a   | 0,92 b | 1,16 b | 14,97      | 0,0000 | 0,0000 | 0,4795 |
| <b>Prolamina</b> <sup>1</sup> | 0,43 B   | 0,51 B | 0,65 A | 0,41 c     | 0,69 a   | 0,45 c | 0,58 b | 18,23      | 0,0000 | 0,0000 | 0,1123 |
| <b>Glutelina</b> <sup>1</sup> | 2,25 B   | 2,32 B | 2,53 A | 2,16 c     | 2,71 a   | 2,18 c | 2,46 b | 8,93       | 0,0008 | 0,0000 | 0,3337 |

CV: Coeficiente de variação; E: Probabilidade erro para uso do inoculante; Médias seguidas de mesma letra maiúscula para inoculação e minúscula para adubação na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05);E: Probabilidade erro para métodos de inoculação;A: Probabilidade erro para métodos de adubações; AxI: Efeito de interação entre uso de inoculante biológico e adubação; S.C.:Sem calagem;C.C.:Com calagem;C.A.:Com calagem e adubação.<sup>1</sup> mg g<sup>-1</sup> de MS

**Tabela 18.** Concentração de albumina, globulina, prolamina e glutelina da *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk submetida á inoculação biológica e diferentes adubações (Corte 3).

| Variável                      | Adubação |         |        | Inoculação |          |         | CV (%)  | P - Valor  |        |        |         |
|-------------------------------|----------|---------|--------|------------|----------|---------|---------|------------|--------|--------|---------|
|                               | S.C.     | C.C.    | C.A.   | Controle   | Bacteria | Fungo   |         | Bac.+ Fun. | A      | I      | AxI     |
| <b>Albumina</b> <sup>1</sup>  | 2,57 C   | 3,76 B  | 4,91 A | 2,79 b     | 4,67 a   | 3,12 b  | 4,40 a  | 24,34      | 0,0000 | 0,0000 | 0,4410  |
| <b>Globulina</b> <sup>1</sup> | 1,70 B   | 2,05 AB | 2,34 A | 1,83 b     | 2,33 a   | 1,87 ab | 2,09 ab | 22,23      | 0,0013 | 0,0375 | 0,9165  |
| <b>Prolamina</b> <sup>1</sup> | 0,70 C   | 0,89 B  | 1,21 A | 0,69 b     | 1,20 a   | 0,78 b  | 1,06 a  | 19,93      | 0,0000 | 0,0000 | 0,43,98 |
| <b>Glutelina</b> <sup>1</sup> | 2,63 C   | 3,10 B  | 3,90 A | 2,56 c     | 4,09 a   | 2,61 c  | 3,56 b  | 13,65      | 0,0000 | 0,0000 | 0,2373  |

CV: Coeficiente de variação; E: Probabilidade erro para uso do inoculante; Médias seguidas de mesma letra maiúscula para inoculação e minúscula para adubação na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05);E: Probabilidade erro para métodos de inoculação;A: Probabilidade erro para métodos de adubações; ExA: Efeito de interação entre uso de inoculante biológico e adubação; S.C.:Sem calagem;C.C.:Com calagem;C.A.:Com calagem e adubação.<sup>1</sup> mg g<sup>-1</sup> de MS

A interação entre adubação e a inoculação biológica foi significativa ( $P < 0,05$ ) para o teor de prolina nas folhas de *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk, no corte 1 (Tabela 19). Pode-se observar maior teor de prolina nas folhas das plantas no solo sem calagem e sem adubação e que não receberam inoculação biológica (0,93 mg/g<sup>-1</sup> na MS). As plantas que receberam inoculação com a bactéria apresentaram os menores teores de prolina. A correção e adubação do solo influenciou no teor de prolina com os menores resultados para o solo com calagem e adubados.

Tabela 19. Concentração de prolina nas folhas da *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk submetida á inoculação biológica e diferentes adubações (Corte1)

| Adubação | Inoculação   |          |         |              | CV (%) | P - Valor |        |        |
|----------|--------------|----------|---------|--------------|--------|-----------|--------|--------|
|          | Controle     | Bactéria | Fungo   | Bact + Fungo |        | A         | I      | AxI    |
|          | Folha (mg/g) |          |         |              |        |           |        |        |
| S.C.     | 0,93Aa       | 0,50 Bc  | 0,70 Ab | 0,53 Bc      |        |           |        |        |
| C.C.     | 0,70 Ba      | 0,44 Bb  | 0,49 Bb | 0,46 Bb      | 15,93  | 0.0000    | 0.0000 | 0,0005 |
| C.A.     | 0,41 Ca      | 0,38 Ba  | 0,46 Ba | 0,40 Ba      |        |           |        |        |

Médias seguidas de mesma letra maiúscula, na coluna, e minúscula, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ); CV: Coeficiente de variação; I: Probabilidade erro para uso do inoculante; A: Probabilidade erro para métodos de adubações; AxI: Efeito de interação entre uso de inoculante biológico e adubação; S.C.: Sem calagem; C.C.: Com calagem; C.A.: Com calagem e adubação.

A interação entre adubação e a inoculação biológica foi significativa ( $P < 0,05$ ) para o teor de prolina nas folhas de *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk, no corte 2 (Tabela 20). Pode-se observar menor teor de prolina nas folhas das plantas inoculadas com bactéria em cultivo exclusivo e associação bactéria + fungo. Em relação ao fator adubação as melhores respostas podem ser observadas nos solos corrigidos e adubados.

Tabela 20. Concentração de prolina nas folhas da *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk submetida á inoculação biológica e diferentes adubações (Corte2)

| Adubação | Inoculação   |          |          |              | CV (%) | P - Valor |        |        |
|----------|--------------|----------|----------|--------------|--------|-----------|--------|--------|
|          | Controle     | Bactéria | Fungo    | Bact + Fungo |        | A         | I      | AxI    |
|          | Folha (mg/g) |          |          |              |        |           |        |        |
| S.C.     | 0,71 Aa      | 0,44 Ab  | 0,68 Aa  | 0,42 Ab      |        |           |        |        |
| C.C.     | 0,54 Ba      | 0,36 Ab  | 0,44 Bab | 0,40 Ab      | 14,62  | 0.0000    | 0.0000 | 0,0070 |
| C.A.     | 0,47 Ba      | 0,35 Aa  | 0,37 Ba  | 0,36 Aa      |        |           |        |        |

Médias seguidas de mesma letra maiúscula, na coluna, e minúscula, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ); CV: Coeficiente de variação; I: Probabilidade erro para uso do inoculante; A: Probabilidade erro para métodos de adubações; AxI: Efeito de interação entre uso de inoculante biológico e adubação; S.C.: Sem calagem; C.C.: Com calagem; C.A.: Com calagem e adubação.

A concentração de prolina na folha de *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk, não apresentou interação significativa entre a adubação e a inoculação biológica no corte 3, (Tabela 21). Apresentado diferença significativa ( $P < 0,05$ ) para o fator adubação e para inoculação biológica. Foi observado maior teor de prolina nas folhas das plantas no solo sem calagem e adubação e no tratamento sem a inoculação biológica dos microorganismos.

Apesar dos menores teores de prolina nas plantas que receberam inoculação biológica e nos solos corrigidos e adubados nos três cortes, as concentrações de prolina foram baixas e variaram pouco entre os tratamentos para ser considerada na relação com estresse, causado pelo pH do solo.

Tabela 21. Concentração de prolina nas folhas de *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk submetida á inoculação biológica e diferentes adubações (Corte 3)

| Variável       | Adubação |        |       | Inoculação |          |         | CV (%) | P - Valor  |        |        |        |
|----------------|----------|--------|-------|------------|----------|---------|--------|------------|--------|--------|--------|
|                | S.C.     | C.C.   | C.A.  | Controle   | Bacteria | Fungo   |        | Bac.+ Fun. | A      | I      | AxI    |
| <b>Prolina</b> | 0,87 A   | 0,57 B | 0,63B | 0,85 a     | 0,58 b   | 0,68 ab | 0,65 b | 25,98      | 0,0000 | 0,0069 | 0,9422 |

CV: Coeficiente de variação; E: Probabilidade erro para uso do inoculante; Médias seguidas de mesma letra maiúscula para inoculação e minúscula para adubação na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P>0,05$ ); E: Probabilidade erro para métodos de inoculação; A: Probabilidade erro para métodos de adubações; ExA: Efeito de interação entre uso de inoculante biológico e adubação; S.C.: Sem calagem; C.C.: Com calagem; C.A.: Com calagem e adubação. <sup>1</sup> mg g<sup>-1</sup> de MS

As variáveis volume e comprimento de raiz foram analisadas apenas no corte 3, no momento do desmanche das unidades experimentais.

Não foi observado efeito de interação ( $P > 0,05$ ) entre os fatores adubação e inoculação biológica para as características volume e comprimento de raiz da *Brachiaria decumbens* cv. *Basilisk* (Tabela 22), porém, houve diferença estatística entre os tratamentos. O solo adubado e corrigido e inoculado com a bactéria de forma exclusiva apresentou maior volume e comprimento de raiz. O que pode ser explicado pelo fornecimento adequado de nutrientes, estimulando o desenvolvimento radicular. A disponibilidade de nitrogênio e fósforo influenciam a fotossíntese, que por sua vez resulta em aumento no crescimento das raízes. A adubação e a inoculação com a bactéria promoveram maior fixação de carbono permitindo maior crescimento e armazenamento na forma de raízes.

**Tabela 22.** Volume e comprimento de raiz de *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk submetida á inoculação biológica e diferentes adubações

| Variável            | Adubação |           |          | Inoculação |          |           | CV (%)   | P - Valor  |        |        |        |
|---------------------|----------|-----------|----------|------------|----------|-----------|----------|------------|--------|--------|--------|
|                     | S.C.     | C.C.      | C.A.     | Controle   | Bacteria | Fungo     |          | Bac.+ Fun. | A      | I      | AxI    |
| <b>Volume (ml)</b>  | 130,19 B | 146,88 AB | 160,00 A | 118,58 c   | 183,33 a | 133,33 bc | 147,50 b | 17,34      | 0,0077 | 0,0000 | 0,3465 |
| <b>Comprim (cm)</b> | 45,81 B  | 51,44 A   | 52,50 A  | 46,17 b    | 54,50 a  | 48,25 b   | 50,75 ab | 9,97       | 0,0011 | 0,0016 | 0,9927 |

CV: Coeficiente de variação; E: Probabilidade erro para uso do inoculante; Médias seguidas de mesma letra maiúscula para inoculação e minúscula para adubação na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P>0,05$ );E: Probabilidade erro para métodos de inoculação;A: Probabilidade erro para métodos de adubações; ExA: Efeito de interação entre uso de inoculante biológico e adubação; S.C.:Sem calagem;C.C.:Com calagem;C.A.:Com calagem e adubação.

## VI - CONCLUSÕES

Recomenda-se o uso da inoculação biológica com a bactéria *Azospirillum brasilense* associada à correção do solo e à adubação de médio nível tecnológico, visto que os mesmos melhoraram as características produtivas e qualitativas da *Brachiaria decumbens* cv. *Basilisk*.

A inoculação biológica com a bactéria *Azospirillum brasilense* associada à correção e à adubação do solo aumentaram os teores das frações de proteínas e o teor de clorofila nas folhas da *Brachiaria decumbens* cv. *Basilisk*.

## VII – REFERÊNCIAS

BASHAN, Y.; BUSTILLOS, J. J.; LEYVA, L. A. Increase in auxiliary photoprotective photosynthetic pigments in wheat seedlings induced by *Azospirillum brasilense*. **Biology and Fertility of Soils**, v.42, p.279-285, 2006.

BERNARDI, A.; SILVA, A.W.L.; BARETTA, D. Estudo metanalítico da resposta de gramíneas perenes de verão à adubação nitrogenada. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.70, p.545-553, 2018.

BOWN, A. W.; SHELP, B. J. Plant GABA: Not Just a Metabolite. **Trends in Plant Science**, v. 21, p. 811–813, 2016.

CABRERA-BOSQUET, L.; ALBRIZIO, R.; ARAUS, J. L.; NOGUÉS, S. Photosynthetic capacity of field-grown durum wheat under different N availabilities: A comparative study from leaf to canopy. **Environmental and Experimental Botany**, v.67, n.1, p.145–152, 2009.

CAPPELLE, E.R.; VALADARES FILHO, S.C.; SILVA, J.F.C.; CECON, P.R. **Estimativas do Valor Energético a partir de Características Químicas e Bromatológicas dos Alimentos**. Revista brasileira de zootecnia, v. 30, p.1837-1856, 2001.

COSTA, J.P.R.; CAPUTTI, G. DE P.; GALZERANO, L.; SILVA, W.L. da; RUGGIERI, A.C.; MALHEIROS, E.B. **Relative chlorophyll contents in the evaluation of the nutritional status of nitrogen from xaraes palisade grass and determination of critical nitrogen sufficiency index**. Acta Scientiarum. Animal Sciences. v.37, n.2, p.109-114, 2015.

COSTA, N.L.; MORAES, A.; CARVALHO, P.C.F.; MONTEIRO, A.L.G.; OLIVEIRA, R.A. **Características morfogênicas e estruturais de *Trachypogon plumosus* de acordo com a fertilidade do solo e o nível de desfolha**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.48, n.3, p.320-328, 2013.

D’OVIDIO, R.; MASCI, S. **The low-molecular-weight glutenin subunits of wheat gluten**. Journal of Cereal Science, London, v. 39, p. 321-329, 2004.

DARTORA, J.; GUIMARÃES, V.F., MARINI, D., SANDER, G. **Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho**. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, v. 17, n. 10, p. 1023–1029, 2013.

DEMIDCHIK, V. **Reactive oxygen species and their role in plant oxidative stress**. In: Shabala, S. (Ed.). *Plant Stress Physiology*. 2. ed. Boston: CABI, 2017. p. 64-96.

DIERKING, R. M.; ALLEN, D. J.; CUNNINGHAM, S. M.; BROUDER, S. M.; VOLENEC, J. J. **Nitrogen reserve pools in two *Miscanthus × giganteus* genotypes under contrasting N managements**. *Frontier in Plant Science*, v. 8, n. 1618, 2017.

ECKSTEIN, A.; KRZESZOWIEC, W.; WALIGÓRSKI, P.; GABRYŚ, H. **Auxin and chloroplast movements**. *Physiologia plantarum*, v.156, n.3, p.351-366, 2016.

EUCLIDES, V. P. B., MONTAGNER, D. B., MACEDO, M. C. M., ARAÚJO, A. R., DIFANTE, G. S., & BARBOSA, R. A. **Grazing intensity affects forage accumulation and persistence of Marandu palisadegrass in the Brazilian savannah**. *Grass and Forage Science*, 74(3), 450-462., 2019.

FARIA, B.M.; MORENZ, M.J.F.; PACIULLO, D.S.C.; LOPES, F.C.F.; GOMIDE, C.A.M. **Growth and bromatological characteristics of *Brachiaria decumbens* and *Brachiaria ruziziensis* under shading and nitrogen**. *Revista Ciência Agronômica*, v. 49, p. 529-536, 2018.

GAGNÉ-BOURQUE, F.; BERTRAND, A.; CLAESSENS, A.; ALIFERIS, K. A.; JABAJI, S. **Alleviation of Drought Stress and Metabolic Changes in Timothy (*Phleum pratense* L.) Colonized with *Bacillus subtilis* B26**. *Frontiers in Plant Science*, v. 7, p. 1–16, 2016.

GALINDO, F. S.; BUZETTI, S.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; DUPAS, E.; CARVALHO, F. C. **Manejo da adubação nitrogenada no capim-mombaça em função de fontes e doses de nitrogênio**. *Revista de Ciências Agrárias*, v.41, p.900-913, 2018.

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

HANISCH, A. L.; BALBINOT Jr, A. A.; VOGT, G. A. **Desempenho produtivo de *Urochloa brizantha* cv. Marandu em função da inoculação com *Azospirillum* e doses de nitrogênio**. *Revista Agroambiente On-line*, v. 11., n. 3, p. 200-208, 2017.

HUNGRIA, M; NOGUEIRA, M.A.; ARAUJO, R.S.. **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, 2016.

IWAMOTO, B.S.; CECATO, U.; RIBEIRO, O.L; MARI, G. C.; PELUSO, E. P.; LOURENÇO, D. A. L. **Características morfogênicas do capim-tanzânia fertilizado ou não com nitrogênio nas estações do ano**. *Bioscience Journal*, v.31, n.1, p.181-193,

2015.

KHAN, N.; BANO, A.; RAHMAN, M. A.; RATHINASABAPATHI, B.; BABAR, M. A. **UPLC-HRMS based Untargeted Metabolic Profiling Reveals Changes in Chickpea (*Cicer arietinum*) Metabolome following Long-Term Drought Stress.** *Plant, Cell & Environment*, p. 1–18, 2018.

KLUGE, R. A., TEZOTTO-ULIANA, J. V., & DA SILVA, P. P **Aspectos fisiológicos e ambientais da fotossíntese.** *Revista virtual de química*, v. 7, n. 1, p. 56-73, 2015.

LEMAIRE, G.; OOSTEROM, E. van; JEUFFROY, M.H.; GASTAL, F.; MASSIGNAM, A. **Crop species present different qualitative types of response to N deficiency during their vegetative growth.** *Field Crops Research*, v.105, p.253265, 2008.

LOBO, B. S.; SALES, E. C. J.; REIS, S. T.; MONÇÃO, F. P.; PEREIRA, D. A.; RIGUEIRA, J. P. S.; OLIVEIRA, P. M.; MOTA, V. A. C.; ALVES, D. D. **Parâmetros morfogênicos e produtividade do capim-Pioneiro submetido a doses de nitrogênio.** *Semina: Ciências Agrárias, Londrina*, v.35, n.6, p.3305-3318, 2014.

LOPES, W. B.; CARVALHO, G. G. P.; PATÊS, N. M. S.; PIRES, A. J. V.; MACÊDO, T. M.; FRIES, D. D.; SALES, R. M. P. **Dinâmica, produção e qualidade da *Brachiaria. brizantha* submetida a regime hídrico e adubação nitrogenada.** *Revista Brasileira Saúde e Produção Animal*, v.12, n.1, p.43-58, 2011

MAGALHÃES, J. A., DE SOUZA CARNEIRO, M. S., ANDRADE, A. C., PEREIRA, E. S., RODRIGUES, B. H. N., DE LUCENA COSTA, N., TOWNSEND, C. R. **Composição bromatológica do capim-Marandu sob efeito de irrigação e adubação nitrogenada.** *Semina: Ciências Agrárias*, v. 36, n. 2, p. 933-941, 2015.

MARIN, A.; SANTOS, D.M.M. dos. **Interação da deficiência hídrica e da toxicidade do alumínio em guandu cultivado em hidroponia.** *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.43, p.1267-1275, 2008.

MARIN, A.; SANTOS, D.M.M. dos; BANZATTO, D.A.; CODOGNOTTO, L.M. **Influência da disponibilidade hídrica e da acidez do solo no teor de prolina livre de guandu.** *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.41, p.355-358, 2006.

MIYAUCHI, M. Y. H.; LIMA, D. S.; NOGUEIRA, M. A.; LOVATO, G. M.; MURATE, L. S.; CRUZ, M. F.; FERREIRA, J. M.; ZANGARO, W.; ANDRADE, G. **Interactions between diazotrophic bacteria and micorrhizal fungus in maize genotypes.** *Scientia Agricola*, v.65, n.5, p.525-531, 2008.

MOREIRA, F.M.S.; SILVA, K.; NÓBREGA, R.S.A.; CARVALHO, F. **Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações.** *Comunicata Scientiae*, v. 1, n. 2, p. 74-99, 2010.

MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e bioquímica do solo**, 2º ed, Lavras, 2006.

MSIMBIRA, L. A., & SMITH, D. L. **The roles of Plant Growth Promoting Microbes in enhancing plant tolerance to acidity and alkalinity stresses**. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 4, 1–14, 2020.

NOGUEIROL, R. C.; MONTEIRO, F. A.; GRATÃO, P. L.; BORGIO, L.; AZEVEDO, R. A. **Tropical soils with high aluminum concentrations cause oxidative stress in two tomato genotypes**. *Environmental Monitoring and Assessment*, v. 187, p.1-16, 2015.

PINTO, J.C.; GOMIDE, J.A.; MAESTRI, M. **Produção de matéria seca 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.

RAMESH, S. A.; KAMRAN, M.; SULLIVAN, W.; CHIRKOVA, L.; OKAMOTO, M.; DEGRYSE, F.; MCLAUCHLIN, M.; GILLIHAM, M.; TYERMAN, S. D. **Aluminium Activated Malate Transporters Can Facilitate GABA Transport**. *The Plant Cell*, v.30, p.1147-64, 2018.

ROJAS, C. M.; SENTHIL-KUMAR, M.; TZIN, V.; MYSORE, K. S. **Regulation of primary plant metabolism during plant-pathogen interactions and its contribution to plant defense**. *Frontiers in Plant Science*, v. 5, p. 1–12, 2014.

SANTOS, M. E. R.; FONSECA, D. M. da; BALBINO, E. M.; MONNERAT, J. P. I. dos S.; SILVA, S. P. **Capim-braquiária diferido e adubado com nitrogênio: produção e características da forragem**. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.38, n.4, p.650-656, 2009.

SBRISSIA, A. F., DUCHINI, P. G., ZANINI, G. D., SANTOS, G. T., PADILHA, D. A., & SCHMITT, D. **Defoliation strategies in pastures submitted to intermittent stocking method: underlying mechanisms buffering forage accumulation over a range of grazing heights**. *Crop Science*, 58(2), 945-954, 2018.

SILVA, M. A.; PINCELLI, R. B.; BARBOSA, A. M. **Water stress effects on chlorophyll fluorescentes and chlorophyll content in sugarcane cultivares with contrasting tolerance**. *Bioscience Journal*, v.34, n. 1, p. 75-87, 2018.

SILVA, S.; PINTO, G.; CORREIA, B.; PINTO-CARNIDE, O.; SANTOS, C. **Rye oxidative stress under long term Al exposure**. *Journal of Plant Physiology*, v. 170, p. 879–889, 2013.

SIQUEIRA, J. O. **Micorrizas Arbusculares**. In: ARAÚJO, R.S; HUNGRIA, M. **Microrganismos de importância agrícola**. Brasília-DF: EMBRAPA, 1994.

SEIXAS, A. A. **Metabolismo de carboidratos e proteínas: efeito da adubação nitrogenada e da desfolha no capim-marandu.** p.146. Tese (Doutorado em Zootecnia) Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia-UESB, 2020.

STREIT, N. M.; CANTERLE, L. P.; CANTO, M. W.; HECKTHEUER, L. H. H. **As Clorofilas.** Ciência Rural, v.35, n.3, p.748-755, 2005.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal.** 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 888 p., 2017.

TODAKA, D.; ZHAO, Y.; YOSHIDA, T.; KUDO, M.; KIDOKORO, S.; MIZOI, J.; KODAIRA, K. S.; TAKEBAYASHI, Y.; KOJIMA, M.; SAKAKIBARA, H.; TOYOOKA, K.; SATO, M.; FERNIE, A. R.; SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. **Temporal and spatial changes in gene expression, metabolite accumulation and phytohormone content in rice seedlings grown under drought stress conditions.** Plant Journal, v. 90, p. 61–78, 2017.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant.**: Cornell University Press, 1994. 476p

VIANA, M. C. M.; SILVA, I.P.; FREIREL, F. M.; MOZART, M. F.; COSTA, E. L.; MASCARENHAS, M. H. T.; TEIXEIRA, M. F. F. **Production and nutrition of irrigated Tanzania guinea grass in response to nitrogen fertilization.** Revista Brasileira de Zootecnia V.43, n.5, p.238-243, 2014.

WASSELAI, J. H. T., VENDRUSCOLO, M. C., DALBIANCO, A. B., DANIEL, D. F., & CORRÊA, S. V. **Produção de forragem e características agrônômicas de Capim-Piatã sob doses de nitrogênio.** Boletim de Indústria Animal, v. 77, p. 1-14, 2020.

GUIMARÃES, S.L; BONFIM-SILVA, E.M; KROTH, B.E. et al. **Crescimento e desenvolvimento inicial de *Brachiaria decumbens* inoculada com *Azospirillum* spp.** Enciclopédia Biosfera/Centro Científico Conhecer, Goiânia, v.7, n.13, p.286-295, 2011.

WILLADINO, L.; CAMARA, T.R. Tolerância das plantas à salinidade: aspectos fisiológicos e bioquímicos. **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, Centro Científico Conhecer**, v.6, n.11, p.1-23, 2010.

YUAN, J., LI, H., & YANG, Y. **The compensatory tillering in the forage grass *Hordeum brevisubulatum* after simulated grazing of different severity.** *Frontiers in Plant Science*, 11, art. 792, 2020.

