

Avaliação da resposta de cultivares de *Brachiaria brizantha* a inoculação com bactérias diazotróficas para caracteres de produção de forragem e valor nutritivo



**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Gado de Corte
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

**BOLETIM DE PESQUISA
E DESENVOLVIMENTO
48**

Avaliação da resposta de cultivares de
Brachiaria brizantha a inoculação com
bactérias diazotróficas para caracteres de
produção de forragem e valor nutritivo

*Sanzio Carvalho Lima Barrios
José Ivo Baldani*

**Embrapa Gado de Corte
Campo Grande, MS
2021**

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Gado de Corte
Av. Rádio Maia, 830, Zona Rural, Campo Grande, MS,
79106-550, Campo Grande, MS
Fone: (67) 3368 2000
Fax: (67) 3368 2150
www.embrapa.br
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê Local de Publicações
da Embrapa Gado de Corte

Presidente
Gilberto Romeiro de Oliveira Menezes

Secretário-Executivo
Rodrigo Carvalho Alva

Membros
Alexandre Romeiro de Araújo, Davi José
Bungenstab, Fabiane Siqueira, Gilberto
Romeiro de Oliveira Menezes, Marcelo Castro
Pereira, Mariane de Mendonça Vilela, Marta
Pereira da Silva, Mateus Figueiredo Santos,
Vanessa Felipe de Souza

Supervisão editorial
Rodrigo Carvalho Alva

Revisão de texto
Rodrigo Carvalho Alva

Tratamento das ilustrações
Rodrigo Carvalho Alva

Projeto gráfico da coleção
Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica
Rodrigo Carvalho Alva

Foto da capa
Logomarca: Luiz Antônio Dias Leal

1ª edição
Publicação digitalizada (2021)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte,
constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Nome da unidade catalogadora

Lima, Sanzio Carvalho

Avaliação da resposta de cultivares de *Brachiaria brizantha* a inoculação
com bactérias diazotróficas para caracteres de produção de forragem e valor
nutritivo/ Sanzio Carvalho Lima e José Ivo Baldani. - Campo Grande, MS :
Embrapa Gado de Corte, 2021.

PDF (22 p.). – (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Gado de
Corte ISSN 1983-9715 ; 48).

1. *Urochloa brizantha*. 2. Interação planta-bactéria. 3. Promotor de
crescimento. 4. Inoculante. I. Baldani, José Ivo. II. Série.

Sumário

Introdução.....6

Material e Métodos8

Resultados e Discussão12

Conclusões.....17

Agradecimentos.....18

Referências18

Avaliação da resposta de cultivares de *Brachiaria brizantha* a inoculação com bactérias diazotróficas para caracteres de produção de forragem e valor nutritivo

Sanzio Carvalho Lima Barrios¹

José Ivo Baldani²

Resumo – As pastagens tropicais brasileiras são ocupadas em sua maioria por cultivares de *Brachiaria brizantha*, muita das vezes plantadas em solos de baixa fertilidade natural e associado a pouca tecnologia de manejo. Nesse contexto, a inoculação de bactérias diazotróficas selecionadas em associação com cultivares de *Brachiaria* torna-se uma alternativa interessante e sustentável para a melhoria do desempenho das pastagens. O presente estudo teve por objetivo avaliar o desempenho a campo das cultivares de *B. brizantha* (cv. Marandu e BRS Paiaguás) para caracteres agronômicos e de valor nutritivo em resposta a inoculação com cinco bactérias diazotróficas, um inoculante comercial e controles com e sem adubação nitrogenada. O delineamento experimental foi o de blocos casualizados, em esquema fatorial (fator 1 – cultivares e fator 2 – estirpes e controles), com três repetições. Os resultados para o acúmulo de massa verde e seca total de forragem referente aos sete cortes (cinco cortes no período das águas e dois no período da seca), não foram significativos ($p > 0,10$) para as fontes de variação da interação cultivares x estirpes e de estirpes. Entretanto, houve uma tendência de maior acúmulo de massa de forragem verde e seca total, assim como maior teor de proteína bruta, quando a cultivar Marandu foi inoculada com a bactéria *Azospirillum brasilense* estirpe NRB085, em comparação com o controle nitrogenado (90 kg N/ha) e o inoculante comercial. Para os demais caracteres de produção de forragem e valor nutritivo avaliados, também não foi observada diferença significativa ($p > 0,10$) para as fontes de variação da interação cultivares x estirpes e de estirpes. A ausência de resposta significa-

¹ Pesquisador da Embrapa Gado de Corte, Av. Rádio Maia, 830, Campo Grande, MS, 79010-040.

² Pesquisador da Embrapa Agrobiologia, Rodovia BR 465, km 7, Bairro Ecologia, Seropédica, RJ, 23891-000

tiva à inoculação pode ter sido em decorrência de diferentes efeitos bióticos e abióticos que normalmente interferem na associação planta-bactéria. A tendência de maior acúmulo de massa de forragem verde, seca e de proteína bruta com a inoculação da estirpe NRB085 na cultivar Marandu, sugere a realização de novos experimentos com maior controle ambiental, inclusive com pulverização foliar, para avaliar o desempenho dessa estirpe na interação com essa cultivar.

Termos para indexação: *Urochloa brizantha*, interação planta-bactéria, promotores de crescimento, inoculante.

Introdução

No Brasil, as pastagens tropicais são constituídas em sua maioria por cultivares do gênero *Brachiaria* (syn. *Urochloa*), com destaque para as espécies *B. brizantha*, *B. decumbens*, *B. ruziziensis* e *B. humidicola* (Jank *et al.* 2014). *B. brizantha* é a espécie mais importante do gênero, tanto em termos de comercialização de sementes quanto de extensão de área plantada de pastagem (Jank *et al.*, 2014). Nessa espécie, a Embrapa tem uma vasta experiência no lançamento de cultivares, iniciando com a cultivar Marandu, em 1984, Xaraés em 2003, BRS Piatã em 2007 e BRS Paiaguás em 2013 (Valle *et al.* 2004, Embrapa 2012, 2013). Cultivares de *Brachiaria brizantha* possuem média exigência em fertilidade do solo e apresentam boa produtividade de forragem associado ao bom valor nutritivo (Barrios *et al.* 2017). As pastagens com capim-braquiária são responsáveis pela fonte principal de alimentação de rebanho bovino brasileiro hoje constituído por mais de 200 milhões de cabeças voltados para a cria, recria e engorda (IBGE, 2021). Conseqüentemente, ocorre uma retirada constante de macronutrientes, principalmente o nitrogênio, do ecossistema (Boddey *et al.*, 2004), empobrecendo o solo e levando a uma degradação das pastagens, hoje calculada ao redor de 50% da área de pastejo (Landau *et al.*, 2020). Uma alternativa para reduzir o impacto negativo nas áreas de pastagens está no uso de genótipos de *Brachiaria* selecionados em associação com bactérias diazotróficas promotoras de crescimento. Essas bactérias estão associadas, além da fixação biológica de nitrogênio, com a capacidade de produzir e liberar fitorregulado-

res de crescimento, solubilização de fósforo inorgânico e produção de sideróforos (Ribeiro *et al.* 2019).

Sabe-se a aproximadamente 70 anos que as gramíneas possuem a capacidade de se associarem com diferentes grupos de bactérias diazotróficas (Baldani e Baldani, 2005). Diversos estudos mostram a ocorrência dessas bactérias diazotróficas em associação com *Brachiaria* e outras gramíneas forrageiras cultivadas no bioma Cerrado (Reis Jr., 2004), Caatinga (Oliveira *et al.*, 2018) e no Quênia (Mutai *et al.*, 2017). Recentemente, demonstrou-se a ocorrência de diversos gêneros dessas bactérias diazotróficas em 20 genótipos de *Brachiaria* mantidos no Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Gado de Corte (Ribeiro *et al.*, 2019). O potencial de resposta desses genótipos a inoculação com essas estirpes encontra-se em fase de estudos e, dados iniciais de experimento conduzido em casa de vegetação indicaram uma aparente especificidade na interação de algumas estirpes com alguns genótipos de *Brachiaria* (Ribeiro, 2018). É conhecido que existe uma forte influência do genótipo e do ambiente na resposta da planta a inoculação com bactérias diazotróficas promotoras de crescimento vegetal (Díaz-Zorita *et al.*, 2015). Este aspecto tem sido relatado como uma das principais causas pela variação da resposta das plantas (efeito positivo) a inoculação com estirpes do gênero *Azospirillum*, bactéria esta que vem sendo aplicada como inoculante nos últimos anos na América do Sul (Cassán *et al.*, 2020).

Atualmente, no Brasil, utiliza-se comercialmente um inoculante misto de duas estirpes de *Azospirillum brasilense* (Ab-V5 e Ab-V6) que apresentaram resultados promissores quando inoculados em milho (Hungria *et al.*, 2010) e em trigo (Boleta *et al.*, 2020). Posteriormente, a mistura dessas estirpes foi testada em conjunto com doses de fertilizante nitrogenados em algumas culturas, e aqui destacam-se cultivares de *Brachiaria*, que mostraram aumentos significativos na produção de forragem quando comparados ao tratamento controle, com aumentos de 5,4% em resposta ao fertilizante nitrogenado e 22,1% quando o fertilizante nitrogenado foi aplicado em conjunto com a mistura de *Azospirillum* (Hungria *et al.*, 2016). Portanto, ainda existe espaço para a introdução de novos inoculantes que buscam suprir parcialmente a demanda de nutrientes do capim-braquiária sem que seja necessário o uso combinado com fertilizante nitrogenado. Além disso, o uso de estirpes isoladas dos próprios genótipos de *Brachiaria* pode reforçar a interação entre planta-bactéria e assim tornar a resposta da planta mais eficiente.

Material e Métodos

O experimento foi estabelecido em campo experimental na Embrapa Gado de Corte, Campo Grande/MS, em um Latossolo Distroférico. O resultado da análise química do solo, antes da implantação do experimento e após a finalização do experimento, encontra-se na tabela 1. O delineamento experimental adotado foi o de blocos casualizados (DBC), em esquema fatorial, com três blocos e parcelas de 3 x 3 m (9 m²). O fator 1 correspondeu as cultivares de *Brachiaria brizantha* (*B. brizantha* cv. Marandu e *B. brizantha* cv. BRS Paiaguás) e o fator 2 a inoculação com as estirpes de *Azospirillum brasilense* (NRB085 e NRB214), *Paraburkholderia silvatlantica* (NRB142), *Nitrospirillum amazonense* (NRB153) e *Phytobacter diazotrophicus* (NRB043), o inoculante comercial (*Azospirillum brasilense* Ab-V5 e Ab-V6), além dos controles absoluto (sem inoculação e adubação nitrogenada) e o nitrogenado (90 kg N/ha). As estirpes testadas nesse trabalho foram previamente selecionadas e isoladas de raízes de acessos de *Brachiaria* do banco de germoplasma da Embrapa Gado de Corte (SisGen A49D2E7) (Ribeiro et al. 2019). As parcelas foram constituídas de 7 linhas de 3 m de comprimento cada, com espaçamento entre linhas de 50 cm e corredores entre parcelas de 3 m. Uma bordadura externa, circundando todo o experimento, foi plantada com a cultivar Massai de *Panicum maximum*.

O preparado da área foi realizado com sucessivas gradagens utilizando grade pesada e intermediária. A calagem foi feita três meses antes da implantação do experimento utilizando 2.000 kg/ha de calcário dolomítico (PRNT = 75%), no intuito de alcançar a seguinte meta: V% = 40%, Ca = 2,5 cmolc/dm³, Mg = 1,0 cmolc/dm³ e pH entre 4,7 a 5,0. As adubações fosfatada e potássica foram feitas antes da semeadura, com os adubos devidamente incorporados com grade intermediária. O fósforo foi fornecido via 400 kg/ha de superfosfato simples (18% de P₂O₅, 19% de Ca e 11% de S) com o objetivo de alcançar a meta de P = 4 mg/dm³ e S = 5 mg/dm³. O potássio foi fornecido via cloreto de potássio (60% de K₂O) para alcançar a meta de K > 0,13 cmolc/dm³.

A semeadura dos capins foi realizada em 16/04/2018 considerando uma taxa de semeadura de 5 kg de sementes puras viáveis por hectare. Para os tratamentos inoculados, as sementes foram inoculadas imediatamente antes da semeadura com turfa contendo as estirpes bacterianas na concentração de 10⁸

Tabela 1. Resultado da análise química do solo antes da implantação do experimento (camadas de 0 - 20 e 20 - 40 cm de profundidade) e após a finalização das avaliações (camada de 0 – 20 cm).

Amostra	pH	P ¹	MO ²	K ¹	Ca ³	Mg ³	Ca ⁺	Al ³	H ⁴	Al ⁺	S ⁵	T ⁶	V ⁷	Ca/ Mg	m ⁸	S ⁹	Fe ¹⁰	Mn ¹⁰	Zn ¹⁰	B ¹¹	
	Água	mg/ dm ³	g/ dm ³	g/dm ³	g/dm ³	g/dm ³	Cmol/dm ³	Cmol/dm ³	Cmol/dm ³	Cmol/dm ³	mg/dm ³	mg/dm ³	mg/dm ³	mg/dm ³	mg/dm ³	mg/dm ³	mg/dm ³	mg/dm ³	mg/dm ³	mg/dm ³	
Antes (0 - 20 cm)	5,16	1,83	53,36	0,08	2,15	0,90	3,05	0,19	7,36	7,55	3,13	10,68	29,31	2,39	5,72	--	61,73	76,54	2,66	4,51	0,10
Antes (20 - 40 cm)	5,03	1,29	47,19	0,07	1,65	0,60	2,25	0,29	6,53	6,82	2,32	9,14	25,38	2,75	11,11	--	65,58	63,53	2,00	4,15	0,08
Após (0 - 20 cm)	5,09	1,09	34,92	0,06	2,25	0,75	3,00	0,44	6,93	7,37	3,06	10,43	29,34	3,00	12,57	7,20	37,46	62,03	2,29	3,39	0,34

¹P e K: Mehlich I; ²MO: K₂C₂O₇; ³Ca, Mg e Al: KCL 1M; ⁴H: Acetato 1 e cálcio (pH 7,0); ⁵S: Soma de Bases (Ca, Mg e K); ⁶T: CTC (pH 7,0); ⁷V: Saturação de bases; ⁸m = (100 x Al) / (Ca + Mg + K + Al); ⁹S: Ca(H₂PO₄)₂ 0,01 mol L⁻¹; ¹⁰Fe, Mn, Zn e Cu: Mehlich I; ¹¹B: Água quente.

células/g turfa. Essas estirpes foram enviadas da Embrapa Agrobiologia para a Embrapa Gado de Corte, na véspera do plantio do experimento. O experimento foi conduzido em “sequeiro”, sem o uso de irrigação. Na tabela 2 encontram-se os dados meteorológicos, mês a mês, para o período de avaliação do experimento.

Os cortes foram realizados em toda a parcela, porém para efeito de pesagem da massa de forragem e coleta de dados, considerou-se apenas a área central da parcela (1,5 x 1,5 m). O restante da parcela, considerado como bordadura, foi descartado. Oito cortes foram realizados, sendo seis no período das águas da safra 2018/2019 (Corte 1: 29/10/18; Corte 2: 10/12/18; Corte 3: 22/01/19; Corte 4: 07/03/19; Corte 5: 15/04/19 e Corte 6: 03/06/19) e dois no período seco de 2019 (Corte 7: 12/08/19 e Corte 8: 01/10/19). As adubações de cobertura com nitrogênio (na forma de Uréia - 45% N), para os tratamentos controle com nitrogênio, foram parceladas e realizadas da seguinte maneira: 1^a) 30 kg/ha em 16/05/18; 2^a) 20 kg/ha em 01/11/18 (após o corte 1); 3^a) 20 kg/ha em 12/12/18 (após o corte 2) e 4^a) 20 kg/ha em 24/01/19 (após o corte 3). O total de N fertilizante aplicado em cada parcela com nitrogênio foi de 90 kg de N/ha, sendo que a aplicação foi sempre realizada com solo úmido para evitar perdas de N por volatilização.

Em cada corte, as parcelas foram cortadas a uma altura aproximada de 10 cm do nível do solo utilizando uma roçadeira costal. A forragem total colhida na área central da parcela (1,5 x 1,5 m) foi recolhida e pesada em campo para a determinação do peso da massa de forragem verde no campo (PVC, g/parcela). Após essa pesagem, foi retirada uma subamostra de forragem de aproximadamente 150 gramas, a qual foi encaminhada para a separação morfológica (lâmina foliar, colmo e material morto). Posteriormente, cada componente foi seco separadamente em estufa de ventilação forçada a 55°C para determinação da umidade e matéria seca. Com o peso seco desses componentes foram estimadas a produtividade de massa seca total (MST, Kg/ha), massa seca foliar (MSF, Kg/ha), relação folha:colmo (RFC) e porcentagem de folhas (%F, %). A capacidade de rebrota (REB) foi estimada sete dias após cada corte, sendo que a nota final de rebrota foi obtida por meio da combinação das notas de densidade de perfilhos rebrotados (1 = menos de 20% dos perfilhos rebrotados, 2 = 20-40%, 3 = 40-60%, 4 = 60-80% e 5 = mais de 80%) e velocidade de rebrota (1 = baixa, 2 = média e 3 = elevada), conforme descrito por Basso et al. 2009. Todos os caracteres agrônômicos descritos anteriormente foram avaliados e/ou estimados em todos os cortes,

Tabela 2. Dados meteorológicos mensais para o período de avaliação do experimento.

Parâmetros	Meses																		
	Abr 2018	Mai 2018	Jun 2018	Jul 2018	Ago 2018	Set 2018	Out 2018	Nov 2018	Dez 2018	Jan 2019	Fev 2019	Mar 2019	Abr 2019	Mai 2019	Jun 2019	Jul 2019	Ago 2019	Set 2019	Out 2019
Número de dias com precipitação pluvial (número)	9	8	7	0	9	10	4	12	11	16	11	17	10	9	4	5	1	4	8
Precipitação pluvial (mm)	89	37	11	0	112	89	167	125	64	122	251	166	104	76	20	46	1	16	30
Temperatura mínima (°C)	18	6	9	7	7	7	17	17	15	19	17	17	16	9	14	10	6	14	15
Temperatura máxima (°C)	32	33	30	32	34	35	33	34	35	36	35	32	31	31	30	31	34	39	39
Temperatura média (°C)	24	22	20	21	20	23	25	24	25	26	25	25	24	22	22	20	23	26	26

Fonte: Estação meteorológica de Campo Grande/MS - INMET, localizada na Embrapa Gado de Corte (disponível em: <https://portal.inmet.gov.br>).

exceto MST, MSF, %F e RFC que não foram estimados no corte 1 (sem separação morfológica).

Os caracteres relacionados ao valor nutritivo da forragem foram avaliados em cinco cortes (três cortes no período das águas - cortes 2, 3 e 5 e dois cortes no período seco - cortes 7 e 8). Para isso, o componente lâmina foliar, obtido após separação morfológica e secagem em estufa, foi moído em moinho de facas com peneira de 1 mm. As amostras de lâmina foliar moídas foram então encaminhadas para as análises de valor nutritivo utilizando espectrometria de refletância por infravermelho próximo (NIRS), segundo Marten et al. (1985). Os parâmetros avaliados foram: proteína bruta (PB, %), digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (DIV, %), fibra em detergente neutro (FDN, %) e lignina (LIG, %).

Para as análises estatísticas foram utilizados os valores de acúmulo (somatório dos dados de uma mesma parcela nos diferentes cortes) para os caracteres PVC, MST e MSF. Para esses caracteres, após o somatório, os valores foram transformados para ton/ha. Para os demais caracteres (RFC, %F, REB, PB, DIG, FDN e LIG), foi utilizada a média de cortes para a realização das análises. As análises estatísticas foram feitas por meio da metodologia de quadrados mínimos (ANOVA), utilizando o pacote *ExpDes* do *software* R (Ferreira et al. 2014). Para a comparação das médias fenotípicas entre tratamentos foi utilizado o teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

Os efeitos da interação cultivares x estirpes e estirpes não foram significativos ($p > 0,10$) para nenhum caráter e análise realizada (conjunta de todos os cortes, período das águas e período da seca). Vale destacar que o efeito de estirpes incluiu tanto as diferentes estirpes avaliadas, quanto os controles com e sem nitrogênio. O efeito de cultivares foi significativo ($p < 0,01$ ou $p < 0,05$) para todos os caracteres na análise conjunta (exceto FDN), no período das águas (exceto %F, REB e FDN) e no período da seca (exceto PVC, MSF, PB, FDN e LIG). As estimativas de coeficiente de variação variaram de 1,8% (FDN) a 28,1% (RFC) na análise conjunta, de 3,0% (FDN) a 17,9 (MSF) na análise do período das águas e de 1,7% (FDN) a 48,0% (RFC) na análise do período da seca (Tabela 3).

Tabela 3. Análise de variância (ANAVA) para diferentes caracteres agrônômicos e de valor nutritivo para cultivares (C) de *Brachiaria brizantha* e estirpes (E) de bactérias diazotróficas avaliadas em ensaio fatorial, sob cortes, em Campo Grande/MS.

CONJUNTA (ÁGUAS + SECA)											
Fonte de variação	GL	Quadrado médio									
		PVC ¹	MST ²	MSF ³	RFC ⁴	%F ⁵	REB ⁶	PB ⁷	DIG ⁸	FDN ⁹	LIG ¹⁰
Bloco	2	549,9 *	7,1 ns	4,0 ns	2,7 ns	32,3 ns	0,0 ns	1,7 *	3,9 ns	41,8 **	0,1 **
Cultivares (C)	1	2000,1 **	53,1 **	13,3 **	47,1 **	119,4 **	0,1 **	6,1 **	98,4 **	0,6 ns	0,1 **
Estirpes (E)	7	78,6 ns	3,1 ns	1,0 ns	1,7 ns	5,4 ns	0,0 ns	0,9 ns	2,5 ns	1,3 ns	0,0 ns
C x E	7	145,5 ns	4,4 ns	1,6 ns	1,9 ns	4,8 ns	0,0 ns	0,5 ns	3,1 ns	1,2 ns	0,0 ns
CV (%)		17,2	16,3	17,9	28,1	5,9	5,1	5,2	3,0	1,8	3,2
PERÍODO DAS ÁGUAS											
Fonte de variação	GL	Quadrado médio									
		PVC ¹	MST ²	MSF ³	RFC ⁴	%F ⁵	REB ⁶	PB ⁷	DIG ⁸	FDN ⁹	LIG ¹⁰
Bloco	2	549,9 *	7,1 ns	4,0 ns	2,7 ns	32,3 ns	0,0 ns	1,7 *	3,9 ns	41,8 **	0,1 **
Cultivares (C)	1	2000,1 **	53,1 **	13,3 **	47,1 **	119,4 **	0,1 **	6,1 **	98,4 **	0,6 ns	0,1 **
Estirpes (E)	7	78,6 ns	3,1 ns	1,0 ns	1,7 ns	5,4 ns	0,0 ns	0,9 ns	2,5 ns	1,3 ns	0,0 ns
C x E	7	145,5 ns	4,4 ns	1,6 ns	1,9 ns	4,8 ns	0,0 ns	0,5 ns	3,1 ns	1,2 ns	0,0 ns
CV (%)		17,2	16,3	17,9	28,1	5,9	5,1	5,2	3,0	1,8	3,2
PERÍODO DA SECA											
Fonte de variação	GL	Quadrado médio									
		PVC ¹	MST ²	MSF ³	RFC ⁴	%F ⁵	REB ⁶	PB ⁷	DIG ⁸	FDN ⁹	LIG ¹⁰
Bloco	2	0,5 ns	0,0 ns	0,0 ns	31,0 ns	108,0 *	0,5 *	1,8 ns	3,9 ns	13,6 **	0,0 ns
Cultivares (C)	1	0,0 ns	0,5 *	0,0 ns	374,1 **	1330,7 **	2,5 *	0,8 ns	106,7 **	1,2 ns	0,0 ns
Estirpes (E)	7	0,5 ns	0,1 ns	0,0 ns	17,4 ns	41,5 ns	0,0 ns	2,1 ns	15,4 ns	0,7 ns	0,0 ns
C x E	7	0,7 ns	0,0 ns	0,0 ns	20,8 ns	33,2 ns	0,0 ns	0,7 ns	9,0 ns	2,1 ns	0,0 ns
CV (%)		25,5	22,9	29,8	48,0	12,8	11,39	8,4	6,1	1,7	6,7

¹PVC: peso da massa de forragem verde no campo (ton/ha); ²MST: massa seca total (ton/ha); ³MSF: massa seca foliar (ton/ha); ⁴RFC: relação folha:colmo; ⁵%F: percentagem de folhas (%); ⁶REB: capacidade de rebrota (nola); ⁷PB: proteína bruta (% na matéria seca); ⁸DIG: digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (%); ⁹FDN: fibra em detergente neutro (% na matéria seca) e ¹⁰LIG: lignina (% na matéria seca). *, p < 0,05, **, p < 0,01 e ns: não significativo.

Para os caracteres em que o efeito de cultivares foi significativo ($p < 0,01$ ou $p < 0,05$), observou-se na análise conjunta que o desempenho da cultivar Marandu foi superior a BRS Paiaguás para a maioria dos caracteres avaliados (PVC, MST, MSF, RFC, PB, DIG e LIG). Padrão semelhante foi observado na análise do período das águas. Para o período da seca, a BRS Paiaguás se destacou para os caracteres %F e REB, sendo superior a cultivar Marandu (Tabela 4).

Tabela 4. Médias fenotípicas das cultivares de *Bracharia brizantha*, avaliadas em ensaio fatorial, sob cortes, em Campo Grande/MS, para diferentes caracteres agrônômicos e de valor nutritivo.

CONJUNTA (ÁGUAS + SECA)										
Cultivar	Média fenotípica *									
	PVC ¹	MST ²	MSF ³	RFC ⁴	%F ⁵	REB ⁶	PB ⁷	DIG ⁸	FDN ⁹	LIG ¹⁰
Marandu	70,55 a	12,95 a	7,25 a	5,15 a	52,71 b	3,03 b	13,59 a	56,30 a	67,51 a	3,02 a
BRS Paiaguás	57,64 b	10,85 b	6,20 b	3,17 b	55,86 a	3,15 a	12,87 b	53,44 b	67,28 b	2,92 b
PERÍODO DAS ÁGUAS										
Cultivar	Média fenotípica *									
	PVC ¹	MST ²	MSF ³	RFC ⁴	%F ⁵	REB ⁶	PB ⁷	DIG ⁸	FDN ⁹	LIG ¹⁰
Marandu	63,83 a	11,31 a	6,59 a	2,84 a	59,42 a	3,40 a	14,68 a	56,39 a	68,24 a	3,11 a
BRS Paiaguás	53,99 b	9,42 b	5,48 b	2,30 b	59,63 a	3,40 a	13,67 b	53,60 b	67,65 a	2,98 b
PERÍODO DAS ÁGUAS										
Cultivar	Média fenotípica *									
	PVC ¹	MST ²	MSF ³	RFC ⁴	%F ⁵	REB ⁶	PB ⁷	DIG ⁸	FDN ⁹	LIG ¹⁰
Marandu	3,72 a	1,64 a	0,65 a	10,93 a	35,92 b	1,91 b	11,94 a	56,18 a	66,41 a	2,89 a
BRS Paiaguás	3,64 a	1,42 b	0,71 a	5,35 b	46,45 a	2,37 a	11,67 a	53,19 b	66,73 a	2,84 a

¹PVC: peso da massa de forragem verde no campo (ton/ha); ²MST: massa seca total (ton/ha); ³MSF: massa seca foliar (ton/ha); ⁴RFC: relação folha:colmo; ⁵%F: porcentagem de folhas (%); ⁶REB: capacidade de rebrota (nota); ⁷PB: proteína bruta (% na matéria seca); ⁸DIG: digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (%); ⁹FDN: fibra em detergente neutro (% na matéria seca) e ¹⁰LIG: lignina (% na matéria seca).

* As médias seguidas da mesma letra, em cada variável, não diferiram entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Apesar dos efeitos de estirpes e interação cultivares x estirpes não terem sido significativos, houve uma tendência de maior acúmulo de massa de forragem verde, seca total, seca foliar e proteína bruta quando o genótipo Marandu foi inoculado com a bactéria *Azospirillum brasilense* estirpe NRB085, quando comparado com os controles sem e com adubação nitrogenada (Tabela 5). Os aumentos de PVC e MST foram de 31,7 e 34,4%, respectivamente, em relação ao tratamento controle não inoculado e sem adubação nitrogenada e de 9,8 e 8,8%, respectivamente, em relação ao controle não inoculado e com adubação nitrogenada (90 Kg N/ha). Esses incrementos, mesmo que não significativos, não foram observados para a cultivar BRS Paiaguás, em que o tratamento controle absoluto (não inoculado e sem nitrogênio) acumulou mais PVC e MST em relação aos demais tratamentos, inclusive ao controle nitrogenado (Tabela 5).

Tabela 5. Médias fenotípicas das cultivares de *Brachiaria brizantha* x estirpes, avaliadas em ensaio fatorial, sob cortes, em Campo Grande/MS, para alguns caracteres agrônômicos e de valor nutritivo.

Tratamentos	CONJUNTA (ÁGUAS + SECA)							
	Marandu				BRS Paiaguás			
	PVC ¹	MST ²	MSF ³	PB ⁴	PVC ¹	MST ²	MSF ³	PB ⁴
Controle - sem N	61,60	11,24	6,20	13,93	64,59	12,14	6,97	12,81
Estirpe NRB043	68,73	13,02	7,67	12,87	55,37	10,51	6,02	12,28
Estirpe NRB085	81,15	15,12	8,60	14,33	59,79	11,34	6,49	13,03
Estirpe NRB142	71,91	13,87	7,43	13,47	60,19	11,68	6,62	12,57
Estirpe NRB153	63,34	11,5	6,31	12,95	56,92	10,67	6,00	12,98
Estirpe NRB214	79,74	12,69	7,12	12,98	55,94	9,93	5,69	13,36
Inoculante Comercial	64,08	12,30	6,93	13,80	58,90	11,13	6,39	12,87
Controle - com N	73,94	13,90	7,81	14,39	49,51	9,41	5,46	13,12

¹PVC: peso da massa de forragem verde no campo (ton/ha); ²MST: massa seca total (ton/ha); ³MSF: massa seca foliar (ton/ha) e ⁴PB: proteína bruta (% na matéria seca);

A primeira revisão sobre os efeitos da inoculação de gramíneas com bactérias diazotróficas promotoras de crescimento vegetal, principalmente com estirpes de *Azospirillum* (*A. brasilense* e *A. lipoferum*) mostrou uma grande variação na resposta das plantas cultivadas em diferentes solos e regiões climáticas (Okon e Labandera-Gonzalez, 1994). Os autores observaram que o sucesso de resposta a inoculação foi para 60-70% dos experimentos realizados, porém os aumentos estatisticamente significativos de rendimento foram da ordem de 5 a 30%. Mesmo que os estudos sobre a interação planta-bactéria tenham avançado muito nos últimos 30 anos (Cassán et al., 2021), ainda não se conhece em profundidade as razões das respostas serem bastante heterogêneas. Em estudo sobre a resposta a inoculação com *Azospirillum* sp. conduzido na Argentina, Dias-Zorita et al. (2015) mostraram que as respostas estão geralmente relacionadas com as mudanças que ocorrem durante os primeiros estágios de desenvolvimento das plantas, as quais acarretam contribuições variáveis na produção final de grãos/forragens, dependente das diferenças na ocorrência de estresses abióticos (absorção de água e nutrientes). No presente estudo, as cultivares de *Brachiaria* foram submetidas as condições edafoclimáticas da região de Campo Grande, MS, sem o uso de irrigação na implantação e condução do experimento de campo. Com relação ao regime hídrico (Tabela 2), ressalta-se que a quantidade de chuvas nos três meses subsequentes a implantação do experimento foi muito pequena, o que prejudicou o estabelecimento dos capins e provavelmente afetou a interação planta-bactéria.

Segundo Okon e Labandera- Gonzalez (1994) os experimentos de inoculação bem-sucedidos tem relação com o número de células bacterianas no inoculante, em que o número ideal de células permanece viável e disponível para colonizar as raízes no momento da germinação das sementes. É possível que a ausência de resposta significativa das plantas a inoculação com as diferentes estirpes diazotróficas tenha tido relação com o número de células bacterianas (sobrevivência) no momento da germinação das sementes, período esse que foi influenciado por fatores abióticos. A falta de resposta a adubação nitrogenada para todos os caracteres avaliados, sugere que o estresse hídrico no início do experimento tenha limitado o estabelecimento das plantas e, também o efeito inicial das estirpes na promoção de crescimento das plantas. Os resultados não significativos observados com a inoculação do inoculante comercial (estirpes Ab-V5 e Ab-V6) também reforçam a

influência de aspectos abióticos durante o processo inicial de colonização e estabelecimento das estirpes. Nos últimos anos, diversos experimentos tem mostrados aumentos significativos de biomassa em diferentes cultivares de *Brachiaria* inoculadas com o inoculante comercial, muito embora o efeito seja bastante evidenciado quando foi associado a metade da dose do fertilizante nitrogenado aplicado (Hungria et al., 2016, Leite et al., 2018). É possível que as estirpes testadas também possam apresentar comportamento similar ao inoculante comercial, porém esse aspecto não foi objeto do presente estudo. Aqui foram testadas estirpes de diferentes espécies diazotróficas, isoladas de cultivares de *Brachiaria*, e que apresentavam atividades funcionais bastante variáveis (Ribeiro et al., 2019). Interessante que a bactéria *A. brasilense* estirpe NRB085 apresenta cinco atividades funcionais (produção de índoles e sideróforos, capacidade de solubilizar fosforo inorgânico e oxido de zinco e atividade celulolítica), enquanto as demais estirpes apresentaram de uma a quatro atividades. Portanto, novos estudos devem ser realizados para investigar o papel dessas atividades funcionais durante o desenvolvimento das plantas, haja visto que o uso de microrganismos multifuncionais tem sido objeto de pesquisas recentes (Cassan et al., 2020).

Os resultados obtidos com a inoculação das cinco estirpes pertencentes a diferentes espécies diazotróficas não permitiram concluir sobre o papel destas no desenvolvimento das plantas do capim-braquiária. Porém, a tendência de maior acúmulo de massa de forragem verde e seca, massa seca foliar e proteína bruta com a inoculação da estirpe *A. brasilense* NRB085 na cultivar Marandu, sugere a realização de novos experimentos em larga escala e com melhor controle ambiental, inclusive com pulverização foliar, para avaliar o papel dessa estirpe na interação com essa cultivar.

Conclusões

A inoculação de bactérias diazotróficas em cultivares de *Brachiaria brizantha*, no momento da sementeira, não promoveu ganhos significativos de biomassa da parte aérea e no valor nutritivo das forrageiras, considerando as estirpes diazotróficas utilizadas, cultivares avaliadas, metodologia empregada e condições edafoclimáticas do local do experimento.

Agradecimentos

Agradecemos o técnico Silvano Calixto, da Embrapa Gado de Corte, pelo apoio na implantação e condução do experimento de campo.

Referências

- BALDANI, J. I.; BALDANI, V. L. D. History on the biological nitrogen fixation research in graminaceous plants: special emphasis on the brazilian experience. In: ACADEMIA BRASILEIRA DE CIÊNCIAS, 77 (3), 2005. **Anais...**, 2005. p. 549-579. doi: 10.1590/S0001-37652005000300014
- BARRIOS, S. C. L.; CARROMEU, C.; SILVA, M. A. I.; SANTOS, M. F.; VALLE, C. B.; JANK, L. Pasto Certo – versão 1.0[®]: **Aplicativo para dispositivos móveis sobre forrageiras tropicais**. Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte, 2017. 7 p. (Embrapa Gado de Corte, Comunicado Técnico, 142).
- BASSO, K. C. et al. Avaliação de acessos de *Brachiaria brizantha* Stapf e estimativas de parâmetros genéticos para caracteres agronômicos. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 31, n. 1, p. 17-22, jan./mar. 2009.
- BODDEY, R. M.; MACEDO, R.; TARRÉ, R. M.; FERREIRA, E.; DE OLIVEIRA, O. C.; REZENDE, C. D. P.; ... & URQUIAGA, S. Nitrogen cycling in *Brachiaria* pastures: the key to understanding the process of pasture decline. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, 103(2), p. 389-403, 2004.
- BOLETA, E. H. M.; SHINTATE, G. F.; JALAL, A.; SANTINI, J. M. K.; RODRIGUES, W. L.; LIMA, B. H. de; ARF, O. S. M. R. da; BUZZETTI, S.; TEIXEIRA, F. M. C. M. Inoculation With Growth-Promoting Bacteria *Azospirillum brasilense* and Its Effects on Productivity and Nutritional Accumulation of Wheat Cultivars. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, 4, p.265, 2020.
- CASSÁN, F.; CONIGLIO, A.; LÓPEZ, G.; MOLINA, R.; NIEVAS, S.; DE CARLAN, C. L. N.; DONADIO, F.; TORRES, D.; ROSAS, S.; PEDROSA, F. O.; DE SOUZA, E.; ZORITA, M. D.; DE-BASHAN, L.; MORA, V. Everything you must know about *Azospirillum* and its impact on agriculture and beyond. **Biology and Fertility of Soils**, 56, p. 461-479, 2020.
- CASSÁN, F.; LÓPEZ, G.; NIEVAS, S.; CONIGLIO, A.; TORRES, D.; DONADIO, F.; ... & MORA, V. What Do We Know About the Publications Related with *Azospirillum*? A Metadata Analysis. **Microbial Ecology**, 81 (1), p. 278-281, 2021.
- DÍAZ-ZORITA, M.; CANIGIA, M. V. F.; BRAVO, O. Á.; BERGER, A.; & SATORRE, E. H. **Field evaluation of extensive crops inoculated with *Azospirillum* sp.** In: Handbook for *Azospirillum*, p. 435-445. Springer, Cham, 2015.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. BRS Paiaguás *Brachiaria brizantha*, uma nova força para a pecuária. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2013. 1 folder.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. BRS Piatã *Brachiaria brizantha*. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2012. 1 folder.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Marandu *Brachiaria brizantha* – Braquiarião. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2012. 1 folder.
- FERREIRA, ERIC & CAVALCANTI, PÓRTYA & NOGUEIRA, DENISMAR. ExpDes: an R package for ANOVA and experimental designs. **Applied Mathematics**, 5, p. 2952-2958, 2014.

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**, 331(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**, [s. l.], v. 221, p. 125-131, 2016.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2021). SIDRA - Sistema IBGE de Recuperação Automática. Pesquisa da Pecuária Municipal. <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3939>. Acessado em 14/07/2021.

JANK, L.; BARRIOS, S. C.; VALLE, C. B.; SIMEÃO, R. M.; ALVES, G. F. The value of improved pastures to Brazilian beef production. **Crop and Pasture Science**, v. 65, p. 1132-1137, 2014.

LANDAU, E. C.; RESENDE, R.; & MATOS NETO, F. D. C. (2020). Evolução da área ocupada por pastagens. Embrapa Milho e Sorgo-Capítulo em livro científico (ALICE).

LEITE, R. D. C.; DOS SANTOS, J. G.; SILVA, E. L.; ALVES, C. R.; HUNGRIA, M.; LEITE, R. D. C.; SANTOS, A. C. Productivity increase, reduction of nitrogen fertiliser use and drought-stress mitigation by inoculation of Marandu grass (*Urochloa brizantha*) with *Azospirillum brasilense*. **Crop and Pasture Science**, 70 (1), p. 61-67, 2018.

MARTEN, G. C.; SHENK, J. S.; BARTON, F. E. Near infrared reflectance spectroscopy (NIRS), analysis of forage quality. Washington: USDA, 1985. 110 p.

MUTAI, C.; NJUGUNA, J.; GHIMIRE, S. *Brachiaria* grasses (*Brachiaria* spp.) harbor a diverse bacterial community with multiple attributes beneficial to plant growth and development. **Microbiology Open**, 6 (5), 2017.

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

OLIVEIRA, J. T. C.; SILVA, G. T.; DINIZ, W. P. D. S.; FIGUEREDO, E. F.; SANTOS, I. B. D.; LIMA, D. R. M. D.; QUECINE, M. C.; SOBRAL, J. K.; FREIRE, F. J. Diazotrophic bacteria isolated from *Brachiaria* spp.: genetic and physiological diversity. **Ciencia e investigación agraria**, 45(3), p. 277-289, 2018.

REIS JUNIOR, F. B.; SILVA, M. F.; TEIXEIRA, K. R. S.; URQUIAGA, S.; REIS, V. M. Identificação de isolados de *Azospirillum amazonense* associados a *Brachiaria* spp., em diferentes épocas e condições de cultivo e produção de fitormônio pela bactéria. **R. Bras. Ci. Solo**, 28(1), p.103-113, 2004.

RIBEIRO, N. V. S. Estudo da atividade funcional de bactérias diazotróficas e o potencial de uso como biofertilizante em genótipos de *Brachiaria*. UFRRJ, 181 p., 2018

RIBEIRO, N. V. S.; VIDAL, M. S.; BARRIOS, S. C. L.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I. Genetic diversity and growth promoting characteristics of diazotrophic bacteria isolated from 20 genotypes of *Brachiaria* spp.. **Plant and Soil**, v. 1, p. 1-12, 2019.

VALLE, C. B.; EUCLIDES, V. P. B.; PEREIRA, J. M.; VALÉRIO, J. R.; PAGLIARINI, M. S.; MACEDO, M. C. M.; LEITE, G. G.; LOURENÇO, A. J.; FERNANDES, C. D.; DIAS FILHO, M. B.; LEMPP, B.; POTT, A.; SOUZA, M. A. **O capim-Xaraés (*Brachiaria brizantha* cv. Xaraés) na diversificação das pastagens de braquiária**. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2004. (Embrapa Gado de Corte, Série Documentos 149). 40 p.

Embrapa

Gado de Corte



MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO



PÁTRIA AMADA
BRASIL
GOVERNO FEDERAL