

Fixação Biológica de Nitrogênio Associada a Pastagens de Braquiária e outras Gramíneas Forrageiras



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

ISSN 1517-5111

Dezembro, 2002

Documentos 52

Fixação Biológica de Nitrogênio Associada a Pastagens de Braquiária e outras Gramíneas Forrageiras

Fábio Bueno dos Reis Júnior
Kátia Regina dos Santos Teixeira
Verônica Massena Reis

Planaltina, DF
2002

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Cerrados

BR 020, Km 18, Rod. Brasília/Fortaleza

Caixa Postal 08223

CEP 73301-970 Planaltina - DF

Fone: (61) 388-9898

Fax: (61) 388-9879

http\www.cpac.embrapa.br

sac@cpac.embrapa.br

Supervisão editorial: *Nilda Maria da Cunha Sette*

Revisão de texto: *Maria Helena Gonçalves Teixeira /*

Jaime Arbués Carneiro

Normalização bibliográfica: *Rosângela Lacerda de Castro*

Capa: *Chaile Cherne Soares Evangelista*

Foto da capa: *Segundo Urquiaga*

Editoração eletrônica: *Jussara Flores de Oliveira*

Impressão e acabamento: *Divino Batista de Souza /*

Jaime Arbués Carneiro

1ª edição

1ª impressão (2002): tiragem 300 exemplares

Todos os direitos reservados.

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

CIP-Brasil. Catalogação-na-publicação.

Embrapa Cerrados.

R375f Reis Júnior, Fábio Bueno dos.

Fixação biológica de nitrogênio associada a pastagens de braquiária e outras gramíneas forrageiras / Fábio Bueno dos Reis Júnior, Kátia Regina dos Santos Teixeira, Verônica Massena Reis. – Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2002.

27 p. – (Documentos / Embrapa Cerrados, ISSN 1517-5111; n.52)

1. Gramínea forrageira. 2. Fixação de nitrogênio. I. Teixeira, Kátia Regina dos Santos. II. Reis, Verônica Massena. III. Série.

633.2 - CDD 21

© Embrapa 2002

Autores

Fábio Bueno dos Reis Júnior
Eng. Agrôn., Ph.D., Embrapa Cerrados
fabio@cpac.embrapa.br

Kátia Regina dos Santos Teixeira
Biól., Ph.D., Embrapa Agrobiologia
katia@cnpab.embrapa.br

Verônica Massena Reis
Eng. Agrôn., Ph.D., Embrapa Agrobiologia
veronica@cnpab.embrapa.br

Apresentação

A atividade pecuária bovina brasileira detém o maior rebanho comercial do globo, com cerca de 164 milhões de cabeças. A área total de pastagens cultivadas soma cerca de 100 milhões de hectares, que representa o dobro da área destinada à produção de grãos. Somente na Região do Cerrado, existem 49,4 milhões de hectares de pastagens cultivadas que abrigam cerca de 40 milhões de cabeças de bovinos, responsáveis por mais de 35% da produção nacional.

A introdução do gênero *Brachiaria* foi, sem dúvida alguma, o elemento responsável pela grande expansão da pecuária nessa Região. Atualmente, o gênero está implantado em cerca de 85% das pastagens. Outras espécies como *Andropogon gayanus*, em razão da sua adaptação ao ambiente e características produtivas, viabilizaram a produção animal em algumas áreas do Cerrado.

No entanto, pastagens com baixa capacidade produtiva, manejo inadequado, exauridas pelos anos de exploração, descapitalização e linhas de crédito limitadas evidenciam a dificuldade do setor, o que constitui um dos maiores problemas sociais, econômicos e ambientais vividos pela pecuária regional, com estimativas de que 80% das pastagens da Região do Cerrado encontram-se em algum estágio de degradação.

A limitação de nitrogênio é considerada um dos principais fatores responsáveis pelo processo de degradação das pastagens. Logo, estudos sobre a contribuição da fixação biológica de nitrogênio para sustentabilidade desse sistema, tema abordado neste documento, são importantes, uma vez que se trata de uma característica adequada ao uso mínimo de insumo. Ainda sob o ponto de vista ambiental, a sustentabilidade do sistema de pastagem representará um melhor uso da terra com a conseqüente preservação dos ecossistemas ainda intactos.

Carlos Magno Campos da Rocha
Chefe-Geral da Embrapa Cerrados

Sumário

A Degradação de Pastagens e o Nitrogênio	9
Pastagens Utilizando Leguminosas em Consórcio com Braquiária	11
Fixação Biológica de Nitrogênio Associada a Gramíneas Forrageiras	12
Fixação Biológica de Nitrogênio Associada a Espécies de Braquiária	13
O Gênero <i>Azospirillum</i> e sua Associação com Gramíneas Forrageiras	14
<i>Azospirillum e Brachiaria</i>	17
Referências Bibliográficas	20
Abstract	27

Fixação Biológica de Nitrogênio Associada a Pastagens de Braquiária e outras Gramíneas Forrageiras

Fábio Bueno dos Reis Júnior

Kátia Regina dos Santos Teixeira

Verônica Massena Reis

A Degradação de Pastagens e o Nitrogênio

A degradação das pastagens em solos de regiões tropicais é um dos mais sérios problemas que atingem a pecuária brasileira. Milhões de hectares do território brasileiro, ocupados por pastagens nativas, que apresentam baixos níveis de produtividade e qualidade, estão sendo substituídas por espécies melhoradas de gramíneas forrageiras, como *Brachiaria* spp. e *Andropogon* spp. Essas espécies vêm sendo utilizadas por serem adaptadas aos solos ácidos e de baixa fertilidade das regiões tropicais, podendo sustentar produtividades de 100 a 300 kg.ha⁻¹.ano⁻¹ de carne (peso vivo animal), com apenas aplicações basais de P e K. No entanto, com o passar dos anos, observa-se que essas áreas iniciam um processo de degradação que atinge grande parte das áreas de pastagens do País. O declínio na produtividade com ingresso de ervas-daninhas são evidências do início desse processo ([Fischer & Kerridge, 1996](#)). Principalmente, em regiões onde predomina a agricultura de grãos, os solos ocupados por pastagens geralmente são marginais, apresentando problemas de fertilidade natural, topografia, pedregosidade ou limitações de drenagem. Portanto, é de se esperar que certas áreas de exploração pecuária apresentem problemas de produtividade e de sustentabilidade da produção ([Macedo, 2000](#)).

A degradação de pastagens, segundo [Macedo \(1995\)](#), pode ser definida como um processo evolutivo de perda de vigor, de produtividade, de capacidade de recuperação natural das pastagens para sustentar os níveis de produção e

qualidade exigida pelos animais, assim como o de superar os efeitos nocivos de pragas, doenças e plantas invasoras, culminando com a degradação avançada dos recursos naturais em razão de manejos inadequados. As causas mais importantes para a degradação das pastagens podem ser consideradas como as seguintes: germoplasma inadequado ao local; má formação inicial; manejo e práticas culturais inadequadas; ocorrência de pragas, doenças e plantas invasoras; manejo animal inadequado; ausência ou aplicação incorreta de práticas de conservação do solo ([Macedo, 2000](#)).

Em estudo recente com pastagens degradadas de braquiária, em solos de Cerrado, mostrou-se que somente a adição de adubo nitrogenado poderia elevar consideravelmente a produção da pastagem, o que confirmou as suspeitas de que a perda de produção do pasto seria, principalmente, de ordem nutricional ([Boddey et al., 2000](#)). Na verdade, entre os fatores que levam à degradação, a deficiência de N é um dos mais importantes ([Oliveira et al., 1997](#)). Tem sido demonstrado que o N pode ser removido do sistema solo-planta via exportação por produto animal (como a carne) e em maior quantidade pela volatilização do N depositado na forma de excretas bovinas ([Ferreira et al., 1995](#)). Em média, 90% do total de N ingerido pelo animal retorna à superfície do solo na forma de urina e fezes ([Ball & Ryden, 1984](#)), 34% a 80% do N depositado na urina e aproximadamente 10% do N depositado nas fezes são perdidos por volatilização da amônia ou lixiviação ([Ferreira et al., 1995, 2000](#)). A taxa de lotação dos animais nas pastagens também apresenta-se como um fator importante no processo de degradação, pois uma taxa muito elevada faz com que ocorra decréscimo na deposição de liteira e conseqüentemente na reciclagem de N do sistema ([Boddey et al., 1995](#)). Assim, se existe limitação de nitrogênio, a pastagem perde vigor, e problemas como aparecimento de invasoras menos exigentes em nitrogênio, exposição do solo, compactação, erosão etc., causam degradação, tornando cada vez mais difícil e caro o restabelecimento da capacidade produtiva da pastagem ([Boddey et al., 2000](#)).

Muitos pesquisadores buscam encontrar uma forma de contornar o problema das perdas de N no sistema de pastagens e assim diminuir ou controlar sua degradação. As formas minerais desse elemento, NH_4^+ e NO_3^- , são altamente solúveis e facilmente perdidas por volatilização de amônia, lixiviação ou por redução do NO_3^- a formas gasosas (N_2O e N_2), pelo processo de desnitrificação. Muitas vezes, dependendo do sistema de manejo utilizado, as aplicações de adubo nitrogenado beneficiam a produtividade vegetal somente em curto prazo, tornando-se, para o caso das pastagens, inviável economicamente ([Boddey et al., 1993](#)).

Como alternativas para um balanço de N mais sustentável nas pastagens, têm-se buscado sistemas adequados de manejo do pasto e dos animais. Alguns estudiosos mostraram que a adubação fosfatada, além de aumentar a produtividade vegetal da pastagem, também aumentou o teor de N (proteína) na gramínea. Esses autores observaram aumento da densidade das raízes e concluíram que o efeito positivo da adubação fosfatada foi em razão da maior captação de N, que, no tratamento sem P, foi perdido por lixiviação ([Boddey et al., 1993](#)). Pode-se citar também, a utilização de tecnologias associadas à recuperação de pastagens, como a integração da lavoura com a pecuária que permite que as pastagens possam aproveitar os resíduos dos fertilizantes aplicados aos cultivos.

Para alcançar um balanço de N mais positivo em pastagens de gramíneas, a fixação biológica de nitrogênio (FBN) pode ter papel importante, seja via consórcio com leguminosas, seja com a associação das gramíneas forrageiras com bactérias diazotróficas, como será visto a seguir.

Pastagens Utilizando Leguminosas em Consórcio com Braquiária

Uma forma de aumentar o suprimento de N em pastagens de gramíneas é pelo uso de leguminosas em consórcio que, além de incorporar o N fixado simbioticamente, ainda contribui efetivamente para a produção e a sustentabilidade dos sistemas de produção animal em pastejo.

Analisando diversos trabalhos com pastagens consorciadas, têm-se observado a superioridade delas quando comparadas às pastagens puras de gramíneas. Muitas espécies de leguminosas têm sido utilizadas em consórcio com diversas espécies de *Brachiaria*, mas poucas têm persistido depois do terceiro ano de utilização sob pastejo, possivelmente, devido às condições de baixa fertilidade dos solos, ao hábito de crescimento prostrado e à elevada competição imposta pela gramínea. Entre as espécies de *Brachiaria*, a *B. humidicola* é considerada como a mais competitiva ([Fischer & Kerridge, 1996](#)).

Em estudo realizado em área de Cerrado, no consórcio de *Brachiaria ruziziensis* com uma leguminosa forrageira (*Stylosanthes guianensis*) [Ayarza et al., 1997](#) observaram que a produção vegetal e animal da pastagem consorciada foi

superior a da pastagem em monocultura. [Zimmer & Correa \(1993\)](#) também mostraram o efeito positivo de pastagens consorciadas de leguminosas com gramíneas. Desse trabalho, foi possível deduzir que a presença da leguminosa, em consórcio, dependendo do manejo aplicado, pode produzir resultados que se equiparam a pastos de gramínea pura, adubados com até 100 kg N . ha⁻¹.

Em solos ácidos e de baixa fertilidade como os do Cerrado, as leguminosas que mais têm persistido em consórcio com braquiária são: *Calopogonium muconoides*, *Stylosanthes guianensis* cultivares Bandeirante e Mineirão, *S. macrocephala* cv. Pioneiro e *Arachis pintoii* ([Valle et al., 2000](#)).

Tanto os dados experimentais conseguidos por [Cadish et al. \(1994\)](#) quanto as simulações baseadas em modelos teóricos ([Thomas, 1992](#)) indicaram que, nessas regiões, uma composição botânica com aproximadamente 30% de leguminosas na pastagem consorciada seria suficiente para balancear as perdas de N do sistema e manter não só a produtividade vegetal como também a animal, assim como a fertilidade do solo em longo prazo.

Apesar de todos os resultados positivos, na prática, o uso da consorciação de gramíneas com leguminosas continua sendo pouco significativo. Diversos fatores têm limitado sua expansão. Em geral, o fracasso na utilização de pastagens consorciadas é atribuído à falta de persistência das leguminosas nas pastagens, à exigência de melhor manejo que pastagens de gramíneas puras, à necessidade de solos mais férteis, à susceptibilidade a doenças provocadas por fungos e nematóides e, ainda, pela adaptação das leguminosas às regiões de estabelecimento.

Fixação Biológica de Nitrogênio Associada a Gramíneas Forrageiras

A primeira associação de uma gramínea forrageira tropical com bactérias fixadoras de nitrogênio estudada, detalhadamente, foi aquela descrita entre *Paspalum notatum* e *Azotobacter paspali*. Analisando as estimativas da FBN, em cilindros intactos com amostras de solo e plantas, com o uso do método da redução do acetileno, observou-se que os valores foram da ordem de 340 g N.ha⁻¹.dia. Em experimentos nos quais se usou atmosfera enriquecida com ¹⁵N₂, conduzidos em vasos menores, verificou-se uma fixação de 110 g N.ha⁻¹.dia

([Neyra & Döbereiner, 1977](#)). [Boddey et al. \(1993\)](#), utilizando a técnica de diluição isotópica de ^{15}N , demonstraram que o *P. notatum*, cv. Batatais, conseguiu obter aproximadamente 10% do seu N ($20 \text{ kg N. ha}^{-1} \cdot \text{ano}^{-1}$) via fixação biológica.

Também aplicando a técnica de diluição isotópica de ^{15}N , [Miranda et al. \(1990\)](#), apresentaram resultados mostrando que, em diferentes ecótipos de *Panicum maximum*, a FBN era responsável por providenciar entre 16% e 39% de todo o N acumulado pelas plantas.

[Quesada \(2001\)](#), em um experimento de campo, utilizando a técnica de abundância natural de ^{15}N ($\delta^{15}\text{N}$), apresentou resultados em que a FBN, associada a *Pennisetum purpureum*, foi capaz de contribuir com até 57% do N acumulado pela planta, demonstrando ser possível alcançar grandes produções sem a aplicação de fertilizante nitrogenado.

A ocorrência de FBN também foi confirmada em associação com *Digitaria decumbens* ([De-Polli et al., 1977](#)) e *Cynodon dactylon*, entre outras ([Döbereiner & Day, 1975](#)).

Fixação Biológica de Nitrogênio Associada a Espécies de Braquiária

Sobre braquiária, mesmo com as observações de perdas de N, existem relatos na literatura indicando que alguns genótipos não apresentam reduções significativas em sua produtividade. Essas perdas de N podem estar sendo compensadas pela FBN que poderia ser responsável pela introdução de 30 a 45 kg de $\text{N} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{ano}^{-1}$ no sistema solo-planta ([Boddey & Victoria, 1986](#); [Loureiro & Boddey, 1988](#)).

[Pereira et al. \(1981\)](#) já haviam demonstrado que diferentes espécies de braquiária parecem receber contribuições via FBN de forma diferenciada. Esses autores estudaram quatro espécies diferentes de braquiária. Suas análises de redução de acetileno (atividade da nitrogenase) mostraram diferenças entre essas espécies, com *B. ruziziensis* apresentando maior atividade da nitrogenase quando comparada à *B. brizantha*, *B. radicans* e *B. mutica*. Com uso do mesmo método, [Oliveira & Souto \(1986\)](#) mostraram que *B. humidicola* apresentou

maiores taxas de atividade da nitrogenase, seguida por *B. ruziziensis*, *B. decumbens* e *B. brizantha*. Nos estudos sobre a quantificação da FBN, efetuados por [Boddey & Victoria \(1986\)](#), em que foi utilizado o método de diluição isotópica de ^{15}N , os autores demonstraram que as espécies *B. decumbens* e *B. humidicola* receberam uma quantidade de N via FBN significativamente superior àquela apresentada por *B. radicans* e *B. ruziziensis*. [Loureiro & Boddey \(1988\)](#), utilizando esse mesmo método, demonstraram que as raízes de *B. humidicola* apresentaram um enriquecimento de ^{15}N (% ^{15}N) significativamente menor do que as outras espécies estudadas, sugerindo, assim, maior contribuição da FBN para essa espécie em comparação com *B. decumbens*, *B. ruziziensis* e *B. radicans*.

Embora nesses estudos tenham-se mostrado que as contribuições da FBN não ultrapassaram 30% a 40% do N acumulado pelas plantas, é possível que, para sistemas de manejo mais extensivos, em que as vias de perdas são menos significativas, a quantidade de N fixado seja suficiente para proporcionar um balanço nulo ou até positivo de N para o sistema solo-planta. Isso permitiria maior longevidade da pastagem com uma produtividade aceitável.

O Gênero *Azospirillum* e sua Associação com Gramíneas Forrageiras

A maioria dos estudos de isolamento e identificação de bactérias fixadoras de N_2 em gramíneas forrageiras ocorreu nas décadas de 60 a 80. Nesse período, alguns diazotróficos, associados à *Brachiaria* spp., foram isolados, destacando-se, dentre eles, as espécies do gênero *Azospirillum* ([Neyra & Döbereiner, 1977](#); [Döbereiner & Day, 1976](#)).

[Döbereiner & Day \(1976\)](#) consideravam *Spirillum lipoferum*, logo depois reclassificada como *Azospirillum lipoferum*, a bactéria mais importante em relação à fixação biológica de nitrogênio, associada a forrageiras tropicais. Em vários experimentos, esses autores correlacionaram a atividade da nitrogenase em pedaços de raízes com a população de *Azospirillum lipoferum* encontrada, sugerindo ser esse microrganismo o principal responsável pela atividade da nitrogenase encontrada nessas raízes. De acordo com a classificação de [Tarrand et al. \(1978\)](#), baseada na homologia de DNA de 60 estirpes de

diferentes origens, duas espécies compunham esse gênero, *A. lipoferum* e *A. brasilense*. No entanto, ao longo dos anos, novas bactérias desse e de outros gêneros foram sendo descobertas em associação com plantas forrageiras, tornando mais difícil a determinação de quais microrganismos seriam realmente os principais responsáveis pela FBN.

Nos anos 80, uma bactéria com características semelhantes às do gênero *Azospirillum* foi isolada dos solos e raízes de gramíneas e algumas outras plantas, em várias localidades da Região Amazônica (Magalhães, 1981) e do Rio de Janeiro (Souto, 1982; Baldani, 1984). Pelas características apresentadas, foi proposta a inclusão de uma nova espécie dentro desse gênero, denominada *Azospirillum amazonense* (Magalhães et al., 1983). Posteriormente, a classificação dessa espécie foi confirmada por Falk et al. (1985), por meio de estudos de homologia de DNA. Souto (1982), mostrou, em seus estudos, maior ocorrência de *A. amazonense* comparada com *A. lipoferum* e *A. brasilense* em uma série de espécies forrageiras, como *Digitaria decumbens* e *Pennisetum purpureum*.

O gênero *Azospirillum* compreende as bactérias diazotróficas associativas mais estudadas, essas têm sido relatadas em associação com grande número de espécies de cereais e gramíneas forrageiras, cultivadas tanto em clima tropical quanto em clima temperado (Baldani, 1984). No entanto, nem todas as espécies têm sido encontradas colonizando plantas em diferentes localidades. *A. amazonense*, por exemplo, só foi isolada, até hoje, no Brasil, exceto por sua detecção em amostras de plantas de cana-de-açúcar cultivadas no Havaí, Tailândia e Argentina (Döbereiner, 1992; Monzón de Asconegui & Siroli, 1985), sendo esse o motivo de ser tão pouco estudada quando comparado com *A. lipoferum* ou *A. brasilense*.

Apenas três espécies das sete pertencentes ao gênero *Azospirillum* foram isoladas em associação com diferentes espécies de gramíneas forrageiras (Baldani et al., 1997), *A. lipoferum* (Tarrand et al., 1978), *A. brasilense* (Tarrand et al., 1978) e *A. amazonense* (Falk et al., 1985). Essas três espécies são também as que apresentam maior espectro de hospedeiros (Baldani et al., 1997), ao contrário de *A. irakense* (Khammas et al., 1989), isolado apenas de plantas de arroz, *A. halopraeferans* (Reinhold et al., 1987) que apresenta uma associação rizosférica bastante específica com "kallar grass", *A. largimobile*, com ocorrência restrita às águas de um lago na Austrália (Dekhil et al., 1997) e

A. dobereinerae, nova espécie isolada da gramínea *Miscanthus sinensis*, intimamente relacionada com as espécies *A. lipoferum*, *A. largimobile* e *A. brasilense* ([Eckert et al., 2001](#)).

Além da habilidade de fixar nitrogênio, as espécies que se associam com gramíneas forrageiras são capazes de produzir fito-hormônios como o ácido-indolacético (AIA) cuja presença de genes responsáveis por sua biossíntese foi demonstrada por [Vande Broek & Vanderleyden \(1995\)](#). Essas substâncias estimulam o desenvolvimento radicular, aumentando a densidade e o crescimento das raízes laterais e a sua área superficial ([Okon & Labandera-Gonzalez, 1994](#)).

Pouco se conhece da sobrevivência de *Azospirillum* no solo na ausência da planta hospedeira, mas já foi demonstrado que esses microrganismos apresentam vários mecanismos de proteção, como a formação de cistos, produção de melanina, de poli- β -hidroxibutirato e de polissacarídeos que podem facilitar a sobrevivência em condições desfavoráveis ([Del Gallo & Fendrik, 1994](#)). Apesar de esses organismos serem geralmente classificados como bactérias de rizosfera, colonizando, principalmente, a zona de elongação da raiz e os pêlos radiculares ([Döbereiner et al., 1995](#)), algumas estirpes de *Azospirillum* também podem ser encontradas no interior do vegetal ([Döbereiner et al., 1995](#); [Boddey & Döbereiner, 1995](#)). A existência de estirpes da mesma bactéria que são diferentes quanto ao seu habitat preferencial foi confirmada pelos estudos de [Schloter et al. \(1994\)](#) e [Assmus et al. \(1995\)](#). Esses autores mostraram que a estirpe Sp245 de *A. brasilense* colonizou tanto o interior dos pêlos radiculares quanto os vasos do xilema de raízes de trigo, enquanto a estirpe Sp7 apenas colonizou a superfície das raízes. De acordo com os resultados de estudos sobre infecção e colonização de plantas por *Azospirillum*, [Baldani et al. \(1997\)](#) propuseram o termo endófito facultativo para essas bactérias, capazes de infectar e colonizar o interior das plantas e, ao mesmo tempo, com boa capacidade de sobrevivência no solo.

Embora o gênero *Azospirillum* seja constituído de sete espécies, a quase totalidade dos experimentos de inoculação, feitos em mais de 20 anos, refere-se a *A. brasilense*, seguida de *A. lipoferum*, e apenas alguns poucos trabalhos, conduzidos no Brasil, usaram estirpes de *A. amazonense* ([Baldani et al., 1999](#)). A maioria desses trabalhos de inoculação foi feita com cereais (trigo, arroz, milho), no entanto, também existem relatos do efeito da

inoculação em gramíneas forrageiras. Nos Estados Unidos, experimentos de inoculação de *A. brasilense* feitos com as forrageiras *Pennisetum americanum*, *Panicum maximum* e *Digitaria decumbens* indicaram que por volta de 40 kg N . ha⁻¹ . ano⁻¹ foram fornecidos pela inoculação (Smith et al., 1978, citado por [Okon & Labandera-Gonzalez, 1994](#)). Em Israel, a inoculação com *A. brasilense* também causou incrementos significativos na produção de *Panicum miliaceum* ([Okon et al., 1988](#)). [Itzigsohn et al. \(2000\)](#) mostraram que a inoculação com *A. brasilense* aumentou a produção de pastagens nativas em regiões semi-áridas de Israel.

Ao avaliar dados de experimentos de inoculação com *Azospirillum*, durante 20 anos, em todo o mundo, [Okon & Labandera-Gonzalez \(1994\)](#) concluíram que esses organismos são capazes de promover incrementos na produtividade de importantes culturas em diferentes situações edafoclimáticas. Esses autores mostraram, ao avaliar extenso número de dados, que entre 60% e 70% dos experimentos apresentam resposta positiva com aumentos estatisticamente significativos na ordem de 5% a 30%.

[Baldani et al. \(1999\)](#) destacaram a importância de se considerar fatores como ambiente, estirpes e genótipos em estudos de inoculação e quantificação da FBN. Embora o termo especificidade hospedeira não seja usado para caracterizar essas associações, tem-se demonstrado que existe certa afinidade entre estirpes e cultivares ou entre a bactéria e espécies de plantas ([Baldani & Döbereiner, 1980](#); [Penot et al., 1992](#); [Boddey & Döbereiner, 1988](#)). Alguns autores sugeriram, para trabalhos com inoculação, o uso de estirpes homólogas, isto é, isoladas do mesmo tipo de planta que se deseja inocular ([Boddey & Döbereiner, 1988](#)).

Azospirillum e Brachiaria

[Reis et al. \(2001\)](#), ao avaliarem as populações de diazotróficas associadas a *B. brizantha*, *B. decumbens* e *B. humidicola*, relataram que *A. lipoferum*, *A. brasilense* e *A. amazonense* foram detectados em raízes lavadas e desinfestadas superficialmente, com números variando entre 10³ e 10⁷ células por grama de raízes frescas.

[Reis Jr. \(2002\)](#) apresentou resultados, mostrando que plantas de braquiária de diferentes espécies podem apresentar números populacionais diferentes de

Azospirillum spp. associados a suas raízes. Maiores números foram encontrados na espécie *B. humidicola*, seguida por *B. decumbens* e *B. brizantha*. Os números encontrados em *B. humidicola* eram pelo menos 10 vezes superiores aos encontrados em *B. brizantha*. Essas diferenças podem, provavelmente, estar ligadas aos resultados dos experimentos de [Pereira et al. \(1981\)](#), [Oliveira & Souto \(1986\)](#), [Boddey & Victoria \(1986\)](#) e [Loureiro & Boddey \(1988\)](#), citados anteriormente. Além disso, existe a possibilidade de essas diferenças entre as populações de *Azospirillum* estarem relacionadas, em parte, a diferenças entre as exigências quanto à fertilidade dos solos nas espécies *B. humidicola* e *B. decumbens* pouco exigentes, e *B. brizantha* é uma espécie considerada exigente ([Macedo, 1997](#); [Vilela et al., 1999](#)).

[Alvim et al. \(1990\)](#), comparando a produção forrageira de algumas espécies de braquiária, mostraram que, sem adubação nitrogenada, *B. brizantha* apresentou os menores valores de produtividade anual em peso da matéria seca, enquanto *B. decumbens* mostrou a maior produtividade entre as espécies testadas. Porém, *B. brizantha* foi a espécie que mais respondeu às aplicações de N.

Exemplos da influência do genótipo da planta sobre a FBN foram demonstrados para diversas outras gramíneas, como, por exemplo, milho ([Garcia de Salomone et al., 1996](#)), trigo ([Avivi & Feldman, 1982](#)) e cana-de-açúcar ([Urquiaga et al., 1992](#)). No entanto, não é comum o relato de estarem essas diferenças correlacionadas com diferenças na população de alguma bactéria diazotrófica. Um exemplo é o trabalho de [Döbereiner \(1977\)](#) que, estudando genótipos de *Paspalum notatum* e a ocorrência de *Azotobacter paspali*, correlacionou as diferenças na atividade da nitrogenase com a população de bactérias diazotróficas.

Observando as contagens comparativas, verifica-se que *A. amazonense* ocorre em números mais altos do que as outras espécies conhecidas de *Azospirillum* e de *Beijerinckia* em raízes de *Brachiaria* ([Magalhães & Döbereiner, 1984](#)). [Reis Jr. \(2002\)](#) mostrou que diferentes espécies de braquiária têm influência sobre a diversidade de isolados da espécie *A. amazonense*. Neste trabalho, observou-se que os isolados de *B. decumbens* e *B. brizantha* são similares geneticamente, enquanto os isolados de *B. humidicola* encontravam-se mais distantes. Um fato interessante é que *B. decumbens* cv. Basilisk (cultivar utilizada no estudo em questão) é, na verdade, um ecótipo intermediário entre as espécies de

B. brizantha e *B. decumbens* (Valle et al., 2000). Enquanto *B. decumbens* cv. Basilisk e *B. brizantha* cv. Marandu são tetraplóides, *B. humidicola* é hexaplóide. Esse tipo de análise permite inferir a distância genética entre os acessos de braquiária (Valle et al., 2000).

A composição de plantas, em determinada área, pode influenciar a diversidade da comunidade microbiana em razão da variabilidade da composição química de seus exsudatos (Christensen, 1989). Esses compostos influenciam a comunidade microbiana alterando a composição química do solo nas vizinhanças das raízes e servindo como substratos seletivos para o crescimento dos microrganismos do solo. Na verdade, a variedade de compostos orgânicos, liberados pelas plantas, tem sido enfatizada como o fator-chave de influência na diversidade de microrganismos presentes na rizosfera de diferentes espécies vegetais (Bowen & Rovira, 1991, citado por Grayston et al., 1998).

Possivelmente, as diferenças mostradas quanto às populações de *Azospirillum* spp., associadas a diferentes genótipos de braquiária, em conjunto com os resultados dos estudos de diversidade de *A. amazonense*, podem ser indicadas como possíveis fatores de influência nas taxas de FBN, associadas a essas plantas, assim como na sua adaptabilidade a solos de baixa fertilidade.

A associação entre *Azospirillum* e *Brachiaria* permite vislumbrar a possibilidade de inoculação de áreas de pastagens. Zaady et al. (1994) e Itzigsohn et al. (2000) mostraram que a inoculação de *Azospirillum* em pastagens tem potencial para tornar-se uma técnica aplicável a esses sistemas em condições de deficit hídrico, ou baixa fertilidade ou ambas, graças ao efeito hormonal que promove a expansão do sistema radicular e a fixação biológica de nitrogênio. Apesar de existirem formulações de inoculantes de *Azospirillum* comercialmente disponíveis, estudos sobre sua utilização ou de outras rizobactérias promotoras do crescimento de plantas, em pastagens, são muito escassos. Ainda não existem informações suficientes sobre os efeitos da inoculação de *Azospirillum* sobre essas áreas. No entanto, o uso desses microrganismos, baseado em comparações com a aplicação de fertilizantes, parece ser mais vantajoso economicamente (Okon & Vanderleyden, 1997) e do ponto de vista ecológico e ambiental, apresenta relativamente pouco impacto sobre o ambiente (Itzigsohn et al., 2000).

Referências Bibliográficas

- ALVIM, M.J.; BOTREL, M.A.; VERNEQ, R.S. & SALVATI, J.A. Aplicação de nitrogênio em acessos de *Brachiaria*. 1. Efeito sobre a produção de matéria seca. **Pasturas Tropicais**, Cali, v.12, p.2-6, 1990.
- ASSMUS, B.; HUTZLER, P.; KIRCHOF, G.; AMANN, R.; LAWRENCE, J.R. & HARTMANN, A. In situ localization of *Azospirillum brasilense* in the rhizosphere of wheat with fluorescently labeled, rRNA-targeted oligonucleotide probes and scanning confocal laser microscopy. **Applied Environmental Microbiology**, Washington, v. 61, p.1019-1031, 1995.
- AVIVI, Y. & FELDMAN, N. The response of wheat to bacteria of the genus *Azospirillum*. **Israel Journal of Botany**, Jerusalem, v. 32, p.237-241, 1982.
- AYARZA, M.; ALVES, B.J.R.; BODDEY, R.M. & URQUIAGA, S. Introdução de *S. guianensis* cv. Mineirão em pastagens de *Brachiaria ruziziensis*: Influência na produção da pastagem e na reciclagem da liteira. **Embrapa Agrobiologia**, Seropédica, Boletim Técnico nº 1, 1997.
- BALDANI, J.I. & Döbereiner, J. Host-plant specificity in the infection of cereals with *Azospirillum* spp. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v.12, p.433-439, 1980.
- BALDANI, J.I. Ocorrência e caracterização de *Azospirillum amazonense* em comparação com outras espécies deste gênero, em raízes de milho, sorgo e arroz. **Tese de Mestrado – UFRRJ**, 110 p., 1984.
- BALDANI, J.I.; CARUSO, L.; BALDANI, V.L.D.; GOI, S.R. & Döbereiner, J. Recent advances in BNF with non-legume plants. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 29, p.911-922, 1997.
- BALDANI, J.I.; de AZEVEDO, M.S.; REIS, V.M.; dos S. TEIXEIRA, K.R.; OLIVARES, F.L.; GOI, S.R.; BALDANI, V.L.D. & Döbereiner, J. Fixação biológica de nitrogênio em gramíneas: Avanços e aplicações. In: **Inter-relação fertilidade, biologia do solo e nutrição de plantas**. SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S.; LOPES, A.S.; GUILHERME, L.R.G.; FAQUIN, V.; FURTINI NETO, A.E.; CARVALHO, J.G. (eds.), Viçosa:SBCS, Lavras:UFLA/DCS, p. 621-666, 1999.
- BALL, P.R. & RYDEN, J.C. Nitrogen relationship in intensively managed temperate grasslands. **Plant & Soil**, Dordrecht, v.76, p.23-33, 1984.

BODDEY , R.M. & DÖBEREINER, J. Nitrogen fixation associated with grasses and cereals: recent progress and perspectives for the future. **Fertility Research**, v. 42, p.241-250, 1995.

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

BODDEY , R.M. & VICTORIA, R.L. Estimation of biological nitrogen fixation associated with *Brachiaria* and *Paspalum* grasses using ¹⁵N labelled organic matter and fertilizer. **Plant & Soil**, Dordrecht, v. 90, p.256-292, 1986.

BODDEY, R.M.; ALVES, B.J.R.; OLIVEIRA, O.C. & URQUIAGA, S. A degradação das pastagens e o ciclo do nitrogênio. In: **Anais do Workshop Nitrogênio na sustentabilidade de sistemas intensivos de produção agropecuária**, Embrapa Agropecuária Oeste, Documentos 26/Embrapa Agrobiologia, Documentos, 128, p. 110-124, 2000.

BODDEY , R.M.; DE PAULA RESENDE, C.; PEREIRA, J.M.; CANTARUTTI, R.; ALVES, B.J.R.; FERREIRA, E.; RICHTER, M.; CADISCH, G. & URQUIAGA, S. Nitrogen cycle in pure grass and grass/legume pastures. Evaluation of pasture sustainability. In: **Nuclear Techniques in Soil-Plant Studies for Sustainable Agriculture and Environmental Preservation**, Vienna, International Atomic Energy Agency, 309-319, 1995.

BODDEY , R.M.; RESENDE, C de P.; SCHUNKE, R.M.; ALVES, B.J.R.; CADISH, G.; PEREIRA, J.M. Sustentabilidade de pastagens consorciadas e de gramínea em monocultura: O papel chave das transformações de nitrogênio. In: **Palestras dos Simpósios da 30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Rio de Janeiro, p. 141-173, 1993.

CADISH, G.; SHUNKE, R.M.; GILLER, K.E. Nitrogen cycling in a pure grass pasture and a grass legume mixture on a red latossol in Brazil. **Tropical Grassland**, Indooroopilly, Australia, v. 28, p. 43-52, 1994.

CHRISTENSEN, M. A view of fungal ecology. **Mycologia**, Stanford, v. 81, p.1-19, 1989.

DECKHIL, S.B.; CAHILL, M.; STACKBRANDT, E. & SLY, L.I. Transfer of *Conglomerans largomobilis* subs. *largomobilis* to the genus *Azospirillum* as *Azospirillum largomobile* comb. nov. and elevation of *Conglomeromonas largomobilis* subs. *parooensis* to the new type species of *Conglomeromonas*,

Conglomeromonas parooensis sp. nov. **Systematic and Applied Microbiology**, München, v.20, p.72-77, 1997.

DEL GALLO, M. & FENDRIK, I. The rhizosphere and *Azospirillum*. In: **Azospirillum/plant associations**. OKON, Y (ed.), Rehovot, CRC Press, p. 57-75, 1994

DE-POLLI, H.; MATSUI, E.; DÖBEREINER, J. & SALATI, E. Confirmation of nitrogen fixation in two tropical grasses by $^{15}\text{N}_2$ incorporation. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 9, p.119-123, 1977.

DÖBEREINER, J. & DAY, J.M. Associative symbiosis in tropical grasses: Characterization of micro-organisms and dinitrogen-fixing sites. In: **Nitrogen fixation**. NEWTON, W.E. & NYMAN, C.J. (eds.), Washington, National Academy Press, p.518-538, 1976.

DÖBEREINER, J. & DAY, J.M. Nitrogen fixation in the rhizosphere of tropical grasses. In: **Nitrogen fixation by free-living micro-organisms**. STEWART, W.P.D. (ed.), Cambridge, Cambridge University Press, p.39-56, 1975.

DÖBEREINER, J. History and new perspective of diazotrophs in association with non-leguminous plants. **Symbiosis**, Rehovot, v. 13, p.1-13, 1992

DÖBEREINER, J. Plant genotype effects on nitrogen fixation in grasses. In: **Genetic diversity in plants**. MUHAMMED, A.; AKSEL, R. & BORSTEL, R.C. (eds.), New York: Plenum Press, p. 325-334, 1977.

DÖBEREINER, J.; BALDANI, V.L.D. & REIS, V.M. Endophytic occurrence of diazotrophic bacteria in non-leguminous crops. In: **Azospirillum VI and related microorganisms**, Fendrik, I.; del Gallo, M.; Vanderleyden, J. & de Zamaroczy, M. (eds.), Berlin, Springer-Verlag, p.3-14, 1995.

ECKERT, B.; WEBER, O.B.; KIRCHHOF, G.; HALBRITTER, A.; STOFFELS, M. & HARTMANN, A. *Azospirillum doebereineriae* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium associated with the C_4 -grass *Miscanthus*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Washington, v.51, p.17-26, 2001.

FALK, E.C.; DÖBEREINER, J.; JOHNSON, J.L.; KRIEG, N.R. Deoxyribonucleic acid homology of *Azospirillum amazonense* Magalhães et al 1984 and emendation of the description of the genus *Azospirillum*. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Washington, v.35, p.117-118, 1985.

FERREIRA, E.; RESENDE, A.S.; ALVES, B.J.R.; BODDEY, R.M. & URQUIAGA, S. Destino do ^{15}N -urina bovina aplicado na superfície de um solo Podzólico

descoberto, ou sob cultura de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. In: **Anais XXXII Reunião Anual da SBZ**, Brasília, p.109-110, 1995.

FERREIRA, E.; REZENDE, C de P.; GALINDO, L.L.G.; RESENDE, A.S.; TARRÉ, R.M.; MACEDO, R.O.; OLIVEIRA, O.C.; ALVES, B.J.R; URQUIAGA, S. & BODDEY, R.M. Recuperação do nitrogênio da urina bovina pela pastagem de *Brachiaria humidicola* (Rendle) Schweickdt cultivada no sul da Bahia. In: **Anais da XVI Reunião Latinoamericana de Produccion Animal y Congreso Uruguayo de Produccion Animal**, Montevideo, 2000.

FISCHER, M.J. & KERRIDGE, P.C. The agronomy and physiology of *Brachiaria* species. In: **Brachiaria: Biology, Agronomy, and Improvement**. MILES, J.W.; MAASS, B.L. & VALLE, C.B. (eds.), Cali, CIAT Publication 259, p. 43-52, 1996.

GARCIA DE SALOMONE, I.E.; Döbereiner, J.; URQUIAGA, S.; & BODDEY, R.M. Biological nitrogen fixation in *Azospirillum* strain-maize genotype associations as evaluated by ¹⁵N isotope dilution technique. **Biology & Fertility of Soils**, Berlin, v. 23, p.249-256, 1996.

GRAYSTON, S.J.; WANG, S.; CAMPBELL, C.D. & EDWARDS, A.C. Selective influence of plant species on microbial diversity in the rhizosphere. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 30, p.369-378, 1998.

ITZIGSOHN, R.; BURDMAN, S.; OKON, Y.; ZAADY, E.; YONATAM, A.; PEREVOLOTSKY, A. Plant-growth promotion in natural pastures by inoculation with *Azospirillum brasilense* under suboptimal growth conditions. **Arid Soil Research and Rehabilitation**, Utah, v.13, p.151-158, 2000.

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

LOUREIRO, M.F. & Boddey, R.M. Balanço de nitrogênio em quatro gramíneas do gênero *Brachiaria*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 23, p.1343-1353, 1988.

MACEDO, M.C.M. A integração lavoura e pecuária como alternativa de recuperação de pastagens degradadas. In: **Anais do Workshop Nitrogênio na sustentabilidade de sistemas intensivos de produção agropecuária**, Dourados, Embrapa Agropecuária Oeste, Documentos 26/Embrapa Agrobiologia, Documentos 128, p.90-104, 2000.

- MACEDO, M.C.M. Adubação e calagem para implantação de pastagens cultivadas na região dos cerrados. Curso de Pastagens, **Embrapa Gado de Corte**, Campo Grande, 1997.
- MACEDO, M.C.M. Pastagens no ecossistema Cerrados: pesquisa para o desenvolvimento sustentável. In: **Anais do Simpósio sobre pastagens nos ecossistemas brasileiros: pesquisa para o desenvolvimento sustentável**, Brasília, SBZ, 1995. p.28-62.
- MAGALHÃES, F.M.M. & Döbereiner, J. Ocorrência de *Azospirillum amazonense* em alguns ecossistemas da Amazônia. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v.15, p.246-252, 1984.
- MAGALHÃES, F.M.M. Nitrogen-fixing bacteria isolated from diverse soils and grass roots in Amazonia. In: **Associative N₂ fixation**. VOSE, P.B. & RUSCHEL, A.P. (eds.), Franklin Book Company, p.37-46, 1981.
- MAGALHÃES, F.M.M.; BALDANI, J.I.; SOUTO, S.M.; KUYKENDALL, J.R.; Döbereiner, J. A new acid-tolerant *Azospirillum* species. In: **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 55, p.417-430, 1983.
- MIRANDA, C.H.B.; URQUIAGA, S. & BODDEY, R.M. Selection of *Panicum maximum* for associated biological nitrogen fixation using the ¹⁵N isotope dilution technique. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 22, p.657-663, 1990.
- MONZÓN DE ASCONEGUI, M.A. & SIROLLI, N.S. Presencia de *Azospirillum amazonense* y micorrizas vesículo-arbusculares en rizósfera de gramíneas de Corrientes (Argentina). In: **IV Congreso Argentino de Microbiología**, San Martín, Resumen N°A49, 1985.
- NEYRA, C.A. & Döbereiner, J. Nitrogen fixation in grasses. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 29, p.1-38, 1977.
- OKON, Y. & LABANDERA-GONZALEZ, C.A. Agronomic applications of *Azospirillum*: an evaluation of 20 years worldwide field inoculation. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 26, p.1591-1601, 1994.
- OKON, Y. & VANDERLEYDEN, J. Root-associated *Azospirillum* species can stimulate plants. **American Society for Microbiology News**, Washington, v. 63, p.364-370, 1997.
- OKON, Y.; KAPULNIK, Y. & SARIG, S. Field inoculation studies with *Azospirillum* in Israel. In: **Biological Nitrogen Fixation Recent Developments**. SUBBA RAO, N.S. (ed.), Gordon and Breach Publishing Group, p.175-195, 1988.

OLIVEIRA, E. & SOUTO, S.M. Fixação biológica de nitrogênio em gramíneas forrageiras. In: **23º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Campo Grande : SBZ, ANAIS..., 1986.

OLIVEIRA, O.C.; OLIVEIRA, I.P.; FERREIRA, E.; ALVES, B.J.R.; CADISCH, G.; MIRANDA, C.H.B.; VILELA, L. BODDEY, R.M. & URQUIAGA, S. A baixa disponibilidade de nutrientes do solo como uma causa potencial da degradação de pastagens no cerrado brasileiro. In: **Anais III Simpósio Nacional de Recuperação de Áreas Degradadas**, Ouro Preto, Sociedade Brasileira de Áreas Degradadas/ Universidade Federal de Viçosa , p.110-117, 1997.

PENOT, I.; BERGES, N.; GUIGUENÉ, C. & FAGES, J. Characterization of *Azospirillum* associated with maize (*Zea mays* L.) in France using biochemical tests and plasmid profiles. **Canadian Journal of microbiology**, Ottawa, v.38, p.798-803, 1992.

PEREIRA, P.A.A.; Döbereiner, J. & NEYRA, C.A. Nitrogen assimilation and dissimilation in five genotypes of *Brachiaria* spp. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.59, p.1475-1479, 1981.

QUESADA, D.M. Seleção de genótipos de capim elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) para a alta produção de biomassa e eficiência da fixação biológica de nitrogênio (FBN). **Tese de mestrado - UFRRJ**, 119 p., 2001.

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

REIS JR., F.B. Ecologia e diversidade de bactérias do gênero *Azospirillum* em associação com pastagens de *Brachiaria* spp. **Tese de doutorado – UFRRJ**, 98p., 2002.

REIS, V. M.; REIS JR., F. B.; QUESADA, D. M.; OLIVEIRA, O. C.; ALVES, B. J. R.; URQUIAGA, S.; Boddey , R. M. Biological nitrogen fixation associated with tropical pastures grasses. **Australian Journal of Plant Physiology**, Canberra, v. 28, p.837-844, 2001.

SCHLOTTER, M.; KIRCHOF, G.; HEINZMANN, U., Döbereiner, J. & HATMANN, A. Immunological studies of the wheat root colonization by the *Azospirillum brasilense* strains SP7 and SP245 using strain specific monoclonal antibodies. In: **Nitrogen fixation with non-legumes**, Hegazi, N.A.; Fayez, M.; Monib, M., Eds., American University of Cairo Press, Cairo, 291-297, 1994.

SOUTO, S.M. Variação estacional da fixação de N₂ e denitrificação em gramíneas forrageiras tropicais. **Tese de Doutorado – UFRRJ**, 268p., 1982.

TARRANT, J.J.; KRIEG, N.R.; Döbereiner, J. A taxonomic study of *Spirillum lipoferum* group, with descriptions of a new genus, *Azospirillum* gen-nov and two species, *Azospirillum lipoferum* (Beijerinck) comb. nov. and *Azospirillum brasilense* sp. nov. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 24, p.967-980, 1978.

THOMAS, R.J. The role of the legume in the nitrogen cycle in pastures. **Grass & Forrage Science**, Washington, v. 47, p.133-142, 1992.

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

VALLE, C.B.; EUCLIDES, V.P.B. & MACEDO, M.C.M. Características das plantas forrageiras do gênero *Brachiaria*. In: **Anais do 17º Simpósio sobre manejo da pastagem: a planta forrageira no sistema de produção**. Piracicaba, FEALQ, p. 65-108, 2000.

VANDE BROEK, A. & VANDERLEYDEN, J. Review: genetics of the *Azospirillum*-plant root association. **Critical Review in Plant Science**, Boca Raton, 14: 445-466. 1995.

VILELA, L.; SOARES, W.V.; SOUSA, D.M.G. & MACEDO, M.C.M. Calagem e adubação para pastagens na região do cerrado. **Embrapa Cerrados**, Planaltina-DF, Circular Técnica nº 37, 15p., 1999.

ZAADY, E.; OKON, Y. & PEREVOLOTSKY, A. Growth response of Mediterranean herbaceous swards to inoculation with *Azospirillum brasilense*. **Journal of Range Management**, Colorado, v. 47, p.12-15, 1994.

ZIMMER, A.H. & CORREA, E.S. A pecuária nacional, uma pecuária de pasto? In: **Anais do Encontro sobre Recuperação de Pastagens**, Nova Odessa, Instituto de Zootecnia, FAPESP, FUNDEPAG, p.1-25, 1993.

Biological Nitrogen Fixation Associated with *Brachiaria* and other Forage Grasses

Abstract - *The biological nitrogen fixation (BNF) has an important role in the search for a more positive nitrogen balance in pastures systems by the consortium with leguminous that incorporate symbiotically fixed N or with the association of the forage grasses with diazotrophic bacteria. This document reviews important researches about nitrogen fixation associated to pastures. It is known that some forage grasses can be benefited by BNF that, according to the few available studies could be responsible for the introduction of until 45 kg of N ha⁻¹ ano⁻¹ in the soil-plant system. Some diazotrophic micro-organisms associated with grasses were isolated and identified and attention is given to the species of the Azospirillum genus. Although previous studies showed that the contributions of BNF did not cross 30 to 40% of the N accumulated by the plant tissues, it could be possible that, allied to good management systems, the amount of fixed N would allow a larger longevity of the pasture with acceptable productivities.*

Index terms: Plant growth promotion, Azospirillum spp., microbial ecology.