

Desempenho produtivo de *Urochloa brizantha* cv. Marandu em função da inoculação com *Azospirillum* e doses de nitrogênio

Productive performance of Urochloa brizantha cv. Marandu as a function of inoculation with Azospirillum and nitrogen doses

Ana Lúcia Hanisch^{1*}, Alvadi Antonio Balbinot Jr², Gilcimar Adriano Vogt³

Resumo: Bactérias do gênero *Azospirillum* podem fixar nitrogênio (N) atmosférico e promover o crescimento vegetal, contribuindo na nutrição das plantas. Com base nesse pressuposto, objetivou-se com o presente trabalho avaliar o efeito de doses de nitrogênio no desempenho de uma pastagem de *Urochloa brizantha* cv. Marandu na presença ou ausência de inoculação com *Azospirillum brasilense*. O experimento foi conduzido em delineamento em blocos completamente casualizados, em esquema fatorial (2 x 4) e quatro repetições. O primeiro fator correspondeu à presença ou ausência de inoculação de sementes com *Azospirillum brasilense*, e o segundo a quatro doses de N em cobertura (0; 50; 100 e 150 kg ha⁻¹ por ano). O período de avaliação foi de novembro de 2012 a abril de 2013 e de novembro de 2013 a abril de 2014, sendo realizados quatro cortes na pastagem, em cada ano. A inoculação de sementes de *U. brizantha* cv. Marandu com *A. brasilense* não alterou a disponibilidade e a composição química da forragem. Não houve influência da interação entre a inoculação das sementes com *A. brasilense* e doses de N mineral em cobertura sobre a disponibilidade e a composição química da forragem de *U. brizantha* cv. Marandu em nenhum ano de avaliação. A adubação nitrogenada em cobertura aumentou a produção de forragem de *U. brizantha* cv. Marandu, somente no primeiro ano de avaliação e não afetou sua composição química nos dois anos de avaliação. O N mineral não afeta a associação entre *Azospirillum brasilense* e *Urochloa brizantha*.

Palavras-chave: Bactérias diazotróficas. Fixação biológica de nitrogênio. Pastagem. Capim-braquiária.

Abstract: The bacteria of *Azospirillum* genus are effective at fixing atmospheric nitrogen and promote the plant growth, improving the plant nutrition. The objective of this research was to evaluate the effect of nitrogen doses on the performance of a *Urochloa brizantha* pasture, cultivar Marandu, in the presence or absence of seed inoculation with *Azospirillum brasilense*. The experiment was conducted in completely randomized design, in factorial scheme (2 x 4) and four replications. The first factor corresponded to the presence or absence of seed inoculation with *Azospirillum brasilense* and the second factor was four N doses in coverage (0, 50, 100 and 150 kg ha⁻¹ per year). The evaluation period was from November 2012 to April 2013 and from November 2013 to April 2014 with four cuts in the pasture in each year. Inoculation of *U. brizantha* cv. Marandu with *A. brasilense* did not alter the production and chemical composition of forage. The production and chemical composition of *U. brizantha* cv. Marandu forage were not influenced by the interaction among seed inoculation with *A. brasilense* and N mineral fertilization in no evaluation year. The nitrogen topdressing increased forage production by *U. brizantha* cv. Marandu only in the first year after implantation and did not affect the chemical composition of the same in the two evaluation years. The mineral N does not affect the association between *Azospirillum brasilense* and *Urochloa brizantha*.

Key words: Diazotrophic bacteria. Biological nitrogen fixation. Pasture. Signal grass.

*Autor para correspondência

Enviado para publicação em 13/10/2016 e aprovado em 12/06/2017

¹Engenheira Agrônoma, Pesquisadora da Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina, BR 280, 1101, Canoinhas, SC, CEP 89460-000, Brasil, analucia@epagri.sc.gov.br

²Engenheiro Agrônomo, Dr., Pesquisador da Embrapa Soja, Londrina, PR, Brasil, alvadi.balbinot@embrapa.br

³Engenheiro Agrônomo, Pesquisador da Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina, Canoinhas, SC, Brasil, gilcimar@epagri.sc.gov.br

INTRODUÇÃO

A inoculação de plantas da família das Poáceas com bactérias fixadoras de N_2 do gênero *Azospirillum* tem sido proposta desde a década de 1970, tendo como propósito reduzir a necessidade de fertilização do N mineral e/ou aumentar a produtividade das culturas, por meio da fixação biológica de nitrogênio (FBN) (DÖBEREINER, 1992; MOREIRA *et al.*, 2010).

Em plantas forrageiras, os resultados tem indicado forte influência de fatores ambientais, como clima e tipo de solo, no sucesso da interação entre as bactérias diazotróficas de vida livre e as poáceas (BRASIL *et al.*, 2005; BERGAMASCHI *et al.*, 2007; SILVA *et al.*, 2010). De maneira geral, nos experimentos com inoculação em forrageiras, *Azospirillum brasilense* e *Azospirillum lipoferum* são as espécies de bactérias mais utilizadas (BRASIL *et al.*, 2005; REIS *et al.*, 2006; VOGEL *et al.*, 2014).

Na associação não simbiótica entre poáceas e *Azospirillum* não há penetração da bactéria nas células das raízes, nem formação de nódulo, mas ocorre colonização da rizosfera por esses microrganismos (VOGT *et al.*, 2014). A promoção do crescimento vegetal, principalmente do sistema radicular, tem sido relacionada como uma das vantagens da associação de plantas com *Azospirillum*. A excreção de hormônios vegetais pelas bactérias, principalmente o ácido indolacético, pode promover o crescimento de plantas (OKON; ITZIGSOHN, 1995) e aumentar a absorção de nutrientes e água, tornando mais eficiente o uso desses recursos (HUNGRIA *et al.*, 2010).

A interação entre fertilizantes nitrogenados e *Azospirillum* não parece bem definida, sendo comprovada em algumas culturas como trigo (DIDONET *et al.*, 1996), milho (QUADROS *et al.*, 2014) e, mais recentemente, em pastagens (HUNGRIA *et al.*, 2016). Porém, resultados negativos dessa interação também têm sido verificados (ROESCH *et al.*, 2006; SANGOI *et al.*, 2015).

Uma possível limitação ao uso das bactérias diazotróficas em interação com fertilizantes nitrogenados pode ocorrer devido ao fato de que a enzima nitrogenase - responsável pela redução do N_2 - é inativada quando submetida à presença de amônio (RUDNIK *et al.*, 1997). Roesch *et al.* (2006) verificaram que a colonização de plantas de milho por bactérias diazotróficas foi inibida por doses de 70 kg ha^{-1} de N durante os estádios iniciais de desenvolvimento. O impacto observado não é um efeito negativo direto sobre a bactéria, mas reside no fato de que o N pode alterar o estado fisiológico da planta e, conseqüentemente, sua associação às bactérias (REIS *et al.*, 2006; NOVAKOWISKI *et al.*, 2011).

O uso de bactérias diazotróficas para suprir N em gramíneas forrageiras apresenta potencial à sustentabilidade de sistemas de produção animal. Entretanto, há carência de informações acerca dos impactos da inoculação de *A.*

brasilense sobre a disponibilidade e a composição química da forragem, bem como sobre a interação da inoculação com doses de N mineral. Isso ocorre porque a grande maioria dos trabalhos realizados com inoculação de *A. brasilense* foi realizada com as culturas de milho e trigo.

Com base nesse problema, objetivou-se avaliar o efeito do tratamento de sementes de *Urochloa brizantha* cv. Marandu com um inoculante comercial de *Azospirillum brasilense*, associado a diferentes doses de N mineral sobre a disponibilidade e a composição química da forragem.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi implantado na Estação Experimental da Epagri de Canoinhas, no município de Papanduva, SC (26° 22' 15" latitude Sul, 50° 16' 37" longitude Oeste, altitude de 800 m). De acordo com a classificação de Köppen, o clima da região é Cfb, com temperatura média anual de 17,6 °C e precipitação anual em torno de 1.500 mm. Os dados climáticos do período experimental estão apresentados na Figura 1.

O solo foi classificado como Latossolo Vermelho distrófico típico, que apresentava na ocasião da implantação do experimento as seguintes características na camada de 0-0,20 m: 400 g kg^{-1} de argila; 5,0 de pH em água; 7,9 mg dm^{-3} de P extraível (Mehlich); 88 mg dm^{-3} de K trocável; 3,4% de matéria orgânica do solo (M.O.S.); 1,4 $cmol_c dm^{-3}$ de Al trocável; 3,8 $cmol_c dm^{-3}$ de Ca trocável; 2,5 $cmol_c dm^{-3}$ de Mg trocável e 35% de saturação de bases. O solo foi preparado convencionalmente, por meio de uma aração e uma gradagem para nivelamento. Realizou-se se a aplicação de 3 t ha^{-1} de calcário dolomítico com 80% PRNT e 80 kg ha^{-1} de P_2O_5 e 80 kg ha^{-1} de K_2O na forma de adubo formulado 0-20-20 de acordo com as recomendações para gramíneas perenes de verão, seguindo critérios da CQFS-RS/SC (2004) para elevar o pH SMP a 5,5.

Foi utilizado o delineamento experimental em blocos completamente casualizados, com quatro repetições, em esquema fatorial 2 x 4. O primeiro fator experimental correspondeu à presença ou ausência de inoculação de sementes com *Azospirillum brasilense*, e o segundo fator foi composto de quatro doses de N em cobertura: 0, 50, 100 e 150 kg ha^{-1} , totalizando oito tratamentos. Cada parcela amostral media 1,6 x 5 m com área útil de 0,80 x 4 m (3,2 m^2).

As sementes de *Urochloa brizantha* cv. Marandu foram inoculadas com *A. brasilense* no dia da semeadura, utilizando-se o inoculante líquido comercial Azototal, o qual contém as estirpes Ab-V5 e Ab-V6 da bactéria. Foram utilizados 100 ml do produto comercial para cada 10 kg de sementes. A semeadura foi realizada manualmente, em linhas, em 23 de fevereiro de 2012, utilizando-se a densidade de 10 kg ha^{-1} de sementes. A incorporação ao solo foi realizada a 1 cm de profundidade, com auxílio de enxada. As parcelas

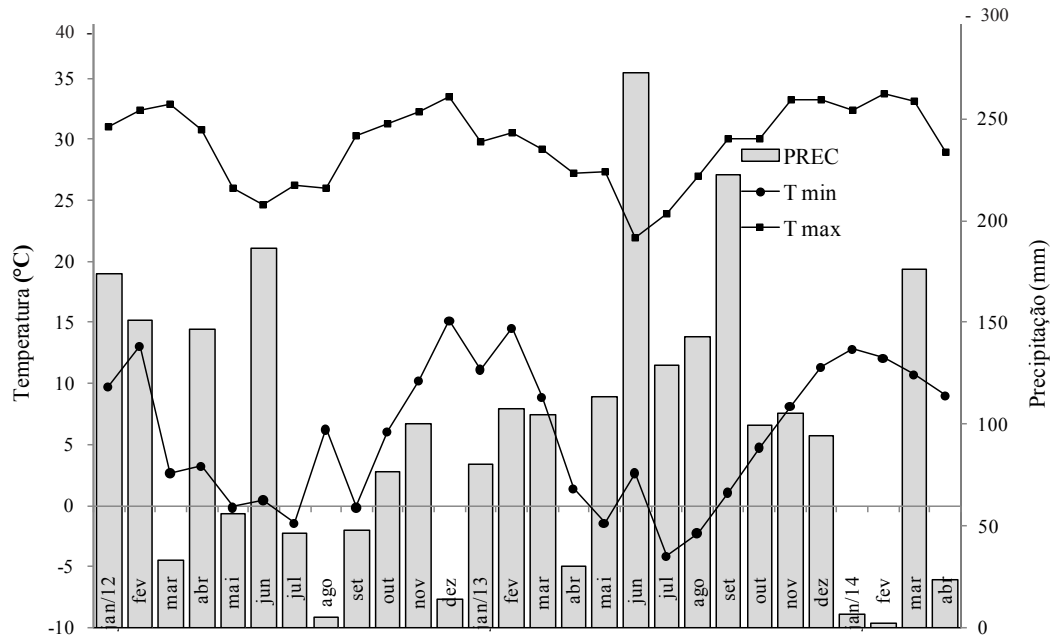


Figura 1 – Temperatura máxima e mínima absoluta e precipitação mensal ocorridas na área experimental entre fevereiro de 2012 a abril de 2014.

Figure 1 - Absolute maximum and minimum temperature and monthly precipitation occurred in the experimental area between February 2012 and April 2014.

foram mantidas livres de invasoras por meio da aplicação de herbicidas seletivos para poáceas, sempre que necessário.

Em outubro de 2012 e de 2013 foram realizados cortes para uniformização do dossel, a 0,10 m de altura do solo. As doses anuais de N referentes a cada tratamento foram aplicadas duas semanas após o corte de nivelamento. A fonte de N utilizada foi a ureia, aplicada a lanço, em uma única aplicação para todos os tratamentos. A aplicação desse fertilizante ocorreu com elevada umidade no solo, a fim de reduzir a volatilização.

Para determinação da disponibilidade de forragem foram realizados cortes, sempre que a altura média da pastagem atingia 0,50 m, deixando-se resíduo de 0,10 m. Os cortes foram realizados com auxílio de um quadro de metal de 1,0 m² lançado aleatoriamente na área útil da parcela. Após cada corte de avaliação, toda a parcela foi roçada e o seu material retirado. O material coletado foi pesado e, em seguida, seco em estufa com ventilação forçada a 65 °C, por 72 h e pesado novamente para obtenção da massa seca (MS). A disponibilidade de forragem total por período de avaliação foi obtida pela somatória de todos os cortes de cada período (kg ha⁻¹). As avaliações ocorreram por dois anos, durante o período de crescimento da pastagem, sendo realizados cortes em 20/11/12, 07/01/13, 28/02/13 e 04/04/13 no primeiro ano de avaliação e em 26/11/13, 07/01/14, 06/02/14 e 08/04/14 no segundo ano. O intervalo entre cortes foi variável em função do crescimento do pasto até a altura determinada.

No primeiro ano de avaliação foi realizada análise da composição química do tecido foliar da pastagem apenas nos tratamentos com e sem inoculação, nas doses de 0 e 100 kg de N, a fim de avaliar o efeito da interação na dose recomendada de N (CQFS RS/SC, 2004). As amostras secas de todos os cortes de cada tratamento foram agrupadas, formando amostras compostas que foram trituradas em moinho tipo Willey e enviadas para determinação dos teores de proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) e digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (DIVMO), utilizando-se o método de Espectroscopia de Infravermelho Próximo (NIRS).

Os resultados em cada ano e em cada data de corte foram submetidos à análise de normalidade de resíduos e à análise de variância (ANOVA), utilizando-se o programa R. Foi utilizado o seguinte modelo estatístico: $Y_{ij} = \mu + \beta_i + A_j + D_k + A_j D_k + \epsilon_{ijk}$, onde: μ = média geral do experimento; β = blocos ($i=1,2,3,4$); A = *Azospirillum* ($j=1,2$); D = doses de nitrogênio ($k=1,2,3,4$); e ϵ = erro experimental. Em caso de significância ($p \leq 0,05$), as médias da disponibilidade de forragem foram submetidas à análise de regressão, utilizando-se os modelos que melhor se ajustaram aos dados e ao fenômeno investigado. Para a análise da composição química do tecido foliar, as médias foram comparadas pelo teste F, também ao nível de 5%, utilizando-se o mesmo modelo, onde blocos ($i=1,2,3$); A = *Azospirillum* ($j=1,2$); D = doses de nitrogênio ($k=1,2$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve efeito da inoculação com *Azospirillum brasilense* ($p>0,05$) e tampouco da interação entre a inoculação e a aplicação das doses de nitrogênio ($p>0,05$) sobre a disponibilidade de forragem de *Urochloa brizantha* cv. Marandu nos dois anos de avaliação, sendo observado efeito linear de doses de N apenas no primeiro ano (Tabela 1).

Tabela 1 - Disponibilidade total de forragem (kg ha⁻¹ MS) de pastagem de *Urochloa brizantha* cv. Marandu inoculada com *Azospirillum brasilense* e após aplicação de diferentes doses de N (kg MS ha⁻¹)

Table 1 - Forage availability of *Urochloa brizantha* cv. Marandu with and without inoculation with *Azospirillum brasilense* after application different doses of N (kg DM ha⁻¹)

	2012/2013					Doses
	Doses de N (kg ha ⁻¹)					
<i>Azospirillum</i>	0	50	100	150	Media	
Com	8648	9171	9979	10718	9624 ^{ns}	
Sem	8572	9664	9722	10223	9533	
Média	8610	9417	9850	10470		*L
R ²						0,9852
	2013/2014					
Com	4881	5131	4710	4730	4863 ^{ns}	
Sem	4538	4623	4447	4856	4616	
Média	4709	4877	4578	4793		ns
R ²						-

Comparação de médias de *Azospirillum* pelo teste F a 5% de probabilidade. * = significativo; ^{ns} = não significativo. Efeito de doses L = efeito linear. Equação: $\hat{Y} = 8691,58 + 11,82x$.

Comparison of average *Azospirillum* for F test at 5% probability. * = significant; ^{ns} = not significant. Doses effect L = Linear regression model: $y = bx + a$, where "a" is the intercept and "b" is the slope; R² is the coefficient of determination. Equation = $\hat{Y} = 8691,58 + 11,82x$.

A ausência de efeito da inoculação e da interação entre a inoculação e as doses de N pode estar relacionada ao elevado teor de matéria orgânica do solo (MOS), acima de 3%. É provável que a MOS tenha disponibilizado altas quantidades de N mineral na solução do solo na primavera/verão – período de crescimento da forrageira -, o que pode ter reduzido o potencial de associação entre as bactérias diazotróficas e as plantas, como discutido por Novakowski *et al.* (2011). A disponibilidade adequada dos demais nutrientes no solo, além do N, também pode ter sido um fator de desestímulo na busca das bactérias por proteção no sistema radicular das gramíneas e, por consequência, ter reduzido o efeito da inoculação no desempenho das plantas.

Em áreas não perturbadas, com elevada ciclagem de nutrientes, a FBN é pouco estimulada, enquanto em solos com baixo aporte de N mineral pode ser mais efetiva (MOREIRA *et al.*, 2010; NOVAKOWSKI *et al.*, 2011).

Embora a implantação da pastagem tenha sido realizada em plantio convencional, o solo da área experimental vinha sendo cultivado em plantio direto há quase uma década, o que pode ter contribuído para a ausência do efeito da inoculação. Sabe-se que o potencial de FBN depende, além da interação das bactérias com o genótipo da planta, de fatores abióticos e da competitividade com os demais microrganismos do solo (BERGAMASCHI, 2007). Entre os trabalhos em que foram observados efeitos da inoculação sobre o desempenho de gramíneas, o teor de MOS tem sido abaixo de 3,0, o que pode ser um indicador para uso eficiente dessa tecnologia (BRASIL *et al.*, 2005; KANEKO *et al.*, 2015).

Outro fator abiótico que pode contribuir para a ausência de efeitos das bactérias diazotróficas é o pH do solo, cuja faixa considerada ideal para a máxima atividade microbiana no solo é entre 6,0 e 6,5 (DARTORA *et al.*, 2013). Para esses autores, sob valores extremos de pH, o crescimento de micro-organismos do solo pode ser prejudicado não apenas pelo efeito direto da elevada concentração de íons H⁺ e OH⁻, mas, também, pela influência indireta na disponibilidade de nutrientes e de compostos tóxicos presentes no interior das células microbianas. Embora neste trabalho o pH estivesse adequado para o desenvolvimento da gramínea (pH=5,5), considerando a interação com os outros componentes do solo, como o alto teor de MOS, pode não ter sido adequado para o desenvolvimento do *Azospirillum*.

Em trabalho desenvolvido por Brasil *et al.* (2005) também se constatou ausência de efeito de *A. brasilense* na produção de forragem de *Brachiaria humidicola*, embora tenham verificado aumento da produção da massa seca de raízes, o que não influenciou o crescimento vegetativo da pastagem. Por outro lado, Oliveira *et al.* (2007), avaliando efeito da interação entre doses de N e *A. brasilense* em capim-marandu, observaram interação entre a inoculação e as doses de N, mas apenas no primeiro corte após a implantação, em que o tratamento sem aplicação de N e com inoculação produziu mais forragem do que a testemunha (sem aplicação de N e sem inoculação). Ao aplicarem diferentes doses de N, os autores não observaram efeito da inoculação sobre a produção forrageira.

Interação positiva entre *Azospirillum* e adubação nitrogenada foi observada por Hungria *et al.* (2016) em um experimento com duas espécies de Braquiária em três diferentes regiões do Brasil ao longo de 2 anos. Esses autores obtiveram aumento médio de 22,1% na produção de forragem em resposta ao N-fertilizante (40 kg ha⁻¹ de N) em combinação com *Azospirillum*, em relação ao tratamento controle não inoculado e não fertilizado com N. Importante observar que no referido trabalho, embora o teor de MOS fosse alto (acima de 3,5), o pH_{agua} do solo foi superior a 5,5 nos três locais, sendo superior a 6,0 em um deles. Esses dados reforçam o papel do pH para a máxima atividade microbiana conforme descrito anteriormente (DARTORA *et al.*, 2013), associado à baixa dose de N.

Independentemente do tipo de associação entre a planta e a bactéria, o genótipo da planta exerce grande influência na fixação de N₂ (REIS *et al.*, 2006). Apesar de serem realizados trabalhos com *A. brasilense* com *Urochloa* sp.,

há indícios de que talvez houvesse mais efetividade dessa forrageira com *A. amazonense*, uma vez que o mesmo tem sido encontrado associado a esse gênero em condições naturais (REIS JÚNIOR *et al.*, 2004; BRASIL *et al.*, 2005; MOREIRA *et al.*, 2010).

Os valores de disponibilidade total de forragem obtidos no primeiro ano para o capim-marandu, com e sem inoculação (Tabela 1), foram compatíveis com aqueles julgados normais para essa forrageira em solos com qualidade adequada e adubação nitrogenada (PRIMAVESI *et al.*, 2006; MOREIRA *et al.*, 2009; COSTA *et al.*, 2009).

Foi observada acentuada redução na disponibilidade de forragem entre os 2 anos de avaliação, cuja produção total média foi de 9.587 e 4.740 kg ha⁻¹ MS, respectivamente, para os períodos de crescimento dos anos 2012/2013 e 2013/2014 (Tabela 1). Essa redução de forragem entre os anos deve estar relacionada às condições climáticas e ao manejo da adubação. O ano de 2013 apresentou condições extremas de frio no período de junho a agosto, com a ocorrência de neve em julho, sendo considerado atípico para a região. Os episódios de frio, como a neve e a ocorrência de cinco geadas severas ao longo do período de junho a setembro contribuíram para a redução do vigor pós-rebrota do capim-marandu, que, apesar de ser uma forrageira de clima tropical, tem apresentado adaptação ao clima Cfb (HANISCH *et al.*, 2011). No entanto, sua exposição a frios extremos por períodos prolongados tende a prejudicar o perfilhamento, o que foi observado a campo, pela menor densidade das touceiras no momento dos cortes, que foram determinados em função da altura.

Houve efeito linear da adubação nitrogenada sobre a disponibilidade de forragem total de *U. brizantha* cv. Marandu no primeiro ano de avaliação (Tabela 1), correspondente ao incremento de 11,82 kg de MS por kg de N aplicado. Quando esse efeito foi desdobrado por corte, verificou-se que o efeito linear ocorreu apenas no primeiro

corte, não sendo verificado efeito significativo da aplicação de N em cobertura sobre os demais períodos (Figura 2).

O comportamento de resposta à adubação nitrogenada no início do ciclo de crescimento está de acordo com a fisiologia de gramíneas perenes, pois é quando as condições para o desenvolvimento das plantas tendem a ser mais favoráveis (PRIMAVESI *et al.*, 2006).

No segundo ano de avaliação não houve efeito das doses de N sobre a disponibilidade de forragem em nenhuma data de corte (Figura 3).

Além dos efeitos anteriormente justificados relativos às condições climáticas adversas, a aplicação em dose única de N no início do período de crescimento pode ser o principal fator relacionado à ausência de resposta da adubação nitrogenada na pastagem no segundo ano. Primavesi *et al.*, (2003) afirmam que um dos fatores que aumenta a eficiência do aproveitamento do N é seu parcelamento na adubação. Martha Jr. *et al.*, (2004) constataram maiores valores de volatilização acumulada (kg ha⁻¹) nas doses mais elevadas de N-ureia, após a aplicação de adubação nitrogenada em capim-tanzânia, com perda acumulada de N-NH₃ de até 42% na adubação com 120 kg ha⁻¹ de N-ureia.

Neste trabalho, a aplicação foi realizada em uma só dose em função de ser uma prática comum na região. Mas, a ausência de resposta no segundo ano é um forte indicativo de perdas de N, bem como pode estar associada ao comprometimento radicular das plantas devido à severidade do clima, o que provavelmente influenciou negativamente a absorção de nutrientes.

Não houve efeito da inoculação com *Azospirillum* sobre a composição química da pastagem, nem das doses de N, nem tampouco da interação entre ambos ($p > 0,05$) (Tabela 2). Os teores observados para os componentes PB, DIVMO e FDN, com valores médios de, respectivamente, 15, 66 e 66%, indica

Tabela 2 – Proteína bruta (PB), digestibilidade in vitro da matéria orgânica (DIVMO) e fibra detergente neutro (FDN) do tecido foliar de *Urochloa brizantha* cv. Marandu com e sem inoculação com *Azospirillum brasilense* e doses de nitrogênio

Table 2 – Crude protein (PB), in vitro digestibility of organic matter (DIVMO) and neutral detergent fiber (FDN) in leaves of *Urochloa brizantha* cv. Marandu with and without inoculation with *Azospirillum brasilense* and different doses of N

	PB (%)			DIVMO (%)			FDN (%)		
	Doses N (kg ha ⁻¹)								
	0	100	Media	0	100	Media	0	100	Media
<i>Azospirillum</i>									
Sem	14,9	15,0	14,3 ^{NS}	67,1	67,0	67,0 ^{NS}	66,2	66,7	66,4 ^{NS}
Com	13,4	15,2	15,0	64,9	67,4	66,0	66,8	68,5	67,7
Media	14,1 ^{ns}	15,1		66,0 ^{ns}	67,0		66,5 ^{ns}	67,6	
C.V. (%)	6,22	1,32	1,59						

Médias seguidas de letras diferentes, minúscula para inoculação e maiúscula para nitrogênio, diferem entre si pelo teste F a 5% de probabilidade. C.V.= coeficiente de variação.

Means followed by different letters, lowercase for inoculation and uppercase for nitrogen differ by F test at 5% probability.

manejo adequado da pastagem, uma vez que as análises foram realizadas na amostra composta de todos os cortes do primeiro ano. São valores altos para pastagem perene de verão e que tendem a favorecer o consumo animal.

Apesar das possíveis vantagens que as bactérias diazotróficas podem proporcionar às plantas da família das poáceas, aparentemente sua eficiência é prejudicada

em função de estarem associadas livremente à planta, tornando-se muito vulneráveis ao ambiente (REIS et al., 2006). Soma-se a isso a influência do genótipo da planta hospedeira e da bactéria, o que também tem sido frequentemente associada à ausência de resposta à inoculação, de forma semelhante aos resultados observados neste trabalho.

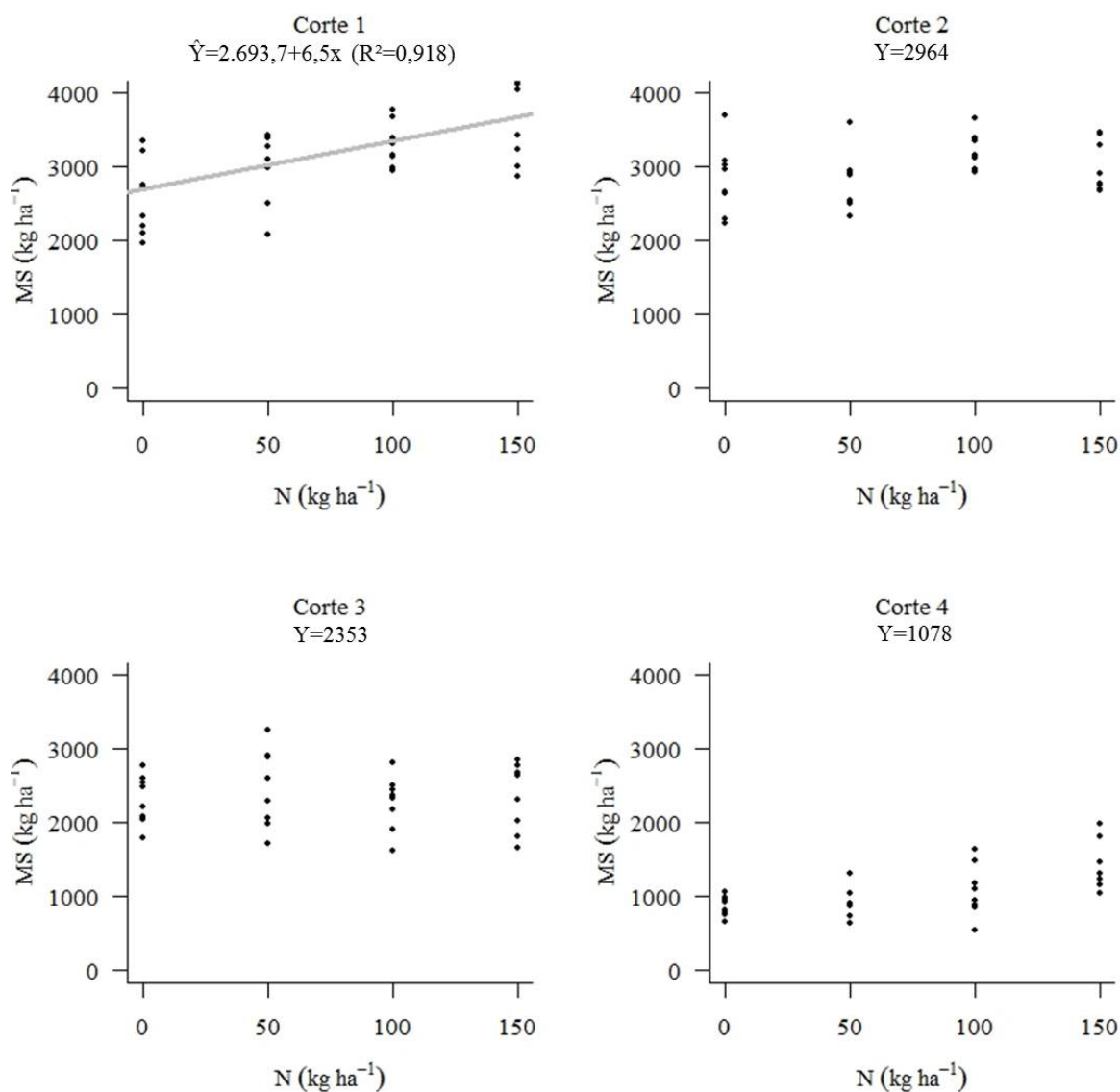


Figura 2 – Disponibilidade de forragem (kg ha⁻¹ MS) de *Urochloa brizantha* cv. Marandu em função de doses de N, em quatro cortes no primeiro ano de avaliação, Y= média.

Figure 2 - Forage availability (kg ha⁻¹MS) of *Urochloa brizantha* cv. Marandu with different N levels in four cuts in first year of evaluation, Y = mean.

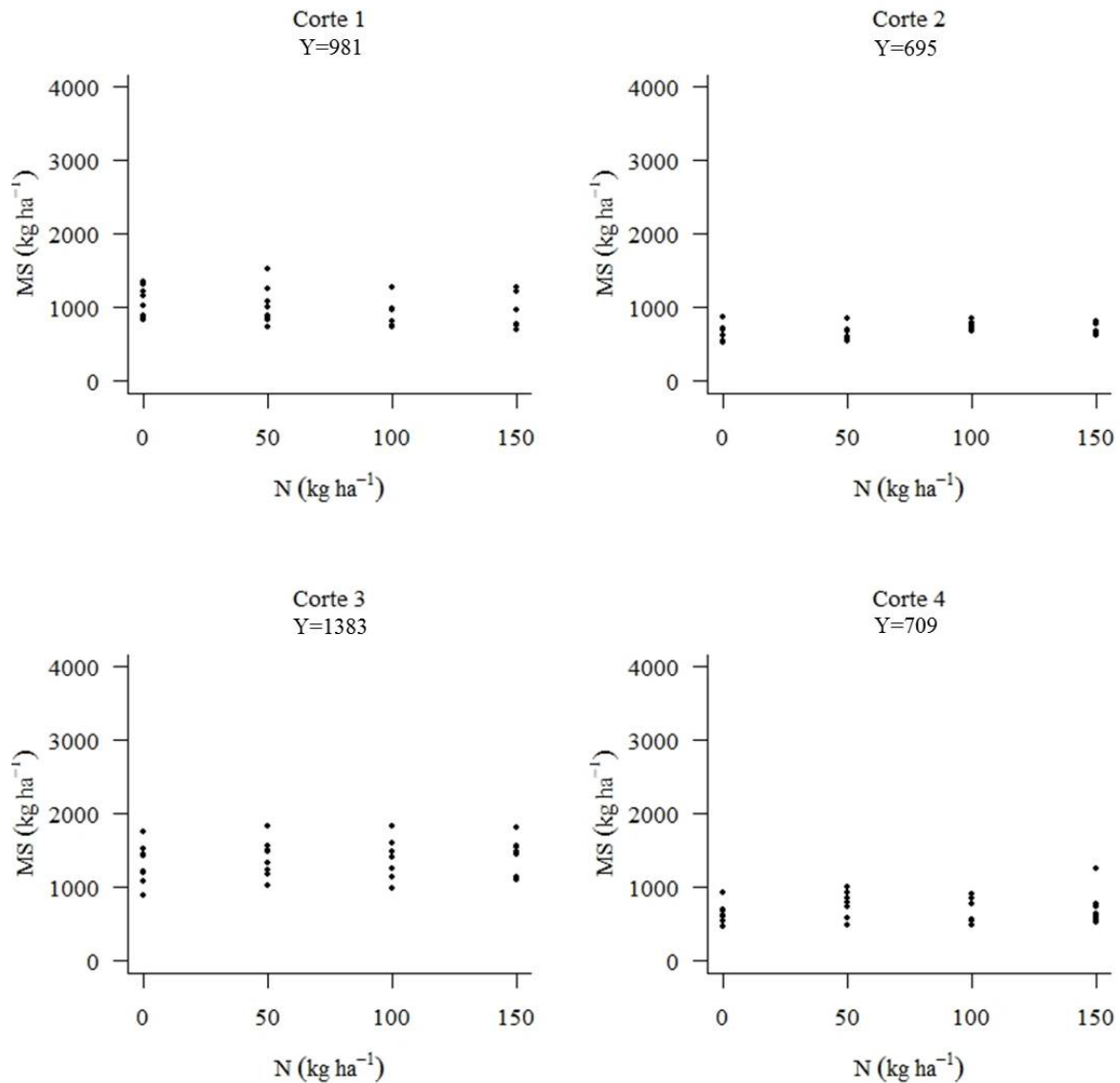


Figura 3 – Disponibilidade de forragem (kg ha^{-1} MS) de *Urochloa brizantha* cv. Marandu em função de doses de N, em quatro cortes no segundo ano de avaliação, Y= média.

Figure 3 - Forage availability (kg ha^{-1} MS) of *Urochloa brizantha* cv. Marandu with different N levels in four cuts in second year of evaluation, Y = mean.

CONCLUSÃO

Em clima subtropical e solo com alto teor de matéria orgânica, a produção de forragem e a composição química de *Urochloa brizantha* cv. Marandu não são influenciadas

pela inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* ou pela interação entre a inoculação e doses de N mineral, até a dose de 150 kg ha^{-1} N aplicado em uma única cobertura.

LITERATURA CIENTÍFICA CITADA

- BERGAMASCHI, C.; QUADROS, P.D.; ROESCH, L.F.W.; CAMARGO, F.A.O. Ocorrência de bactérias diazotróficas associadas a cultivares de sorgo forrageiro. **Ciência Rural**, v. 37, n. 3, p. 727-733, 2007.
- BRASIL, M.S.; BALDANI, D.; BALDANI, J.I.; SOUTO, S.M. Efeitos da inoculação de bactérias diazotróficas em gramíneas forrageiras do Pantanal. **Pasturas Tropicais**, v. 27, n. 3, p. 22-33; 2005.
- COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO RS/ SC - CQFS-RS/SC. **Manual de adubação e de calagem para o Estado do Rio Grande do Sul e Santa Catarina**. Porto Alegre, SBCS/Núcleo Regional Sul, UFRGS, 2004. 400p.
- COSTA, K.A.P.; FAQUIN, V.; OLIVEIRA, I.P.; ARAÚJO, J.L.; RODRIGUES, R.B. Produção de massa seca e nutrição nitrogenada de cultivares de *Brachiaria brizantha* (A. Rich) Stapf sob doses de nitrogênio. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, n. 6; p. 1578-1585, 2009.
- 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.
- DIDONET, A.D.; RODRIGUES, O., KENNER, M.H. Acúmulo de nitrogênio e de massa seca em plantas de trigo inoculadas com *Azospirillum brasilense*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 16, n. 9, p. 645-651, 1996.
- DÖBEREINER, J. History and new perspectives of diazotrophs in association with non-leguminous plants. **Symbiosis**, v. 13, p. 1-13, 1992.
- HANISCH, A.L.; RECH, A.F.; DALGALLO, D. Comportamento produtivo de seis gramíneas forrageiras tropicais no Planalto Norte Catarinense. **Agropecuária Catarinense**, v. 24, p. 79-81, 2011.
- HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; SOUZA, E. M. S.; 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 & Environment**, v. 221, p. 125-131, 2016.
- 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.
- MARTHA JR, G.B.; CORSI, M.; TRIVELIN, P.C.O.; VILELA, L.; PINTO, T.L.F.; TEIXEIRA, G.M.; MANZONI, C.S.; BARIONI, L.G. Perda de amônia por volatilização em pastagem de capim-tanzânia adubada com ureia no verão. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 6, supl,3, 2004.
- MOREIRA, L. M.; MARTUSCELLO, J.A.; FONSECA, D.M.; MISTURA, C.; MORAIS, R.V.; RIBEIRO JR., J.I. Perfilhamento, acúmulo de forragem e composição bromatológica do capim-braquiária adubado com nitrogênio. **Revista Brasileira Zootecnia**, v. 38, n. 9, p. 1675-1684. 2009.
- 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.
- NOVAKOWISKI, J. H.; SANDINI, I. E.; FALBO, M. K.; MORAES, A.; NOVAKOWISKI, J. H.; CHENG, N.C. Efeito residual da adubação nitrogenada e inoculação de *Azospirillum brasilense* na cultura do milho. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, suplemento 1, p. 1687-1698, 2011.
- OKON, Y.; ITZIGSOHN, R. The development of *Azospirillum* as a commercial inoculant for improving crop yield. **Biotechnology Advances**, v. 13, p. 415-424, 1995.
- OLIVEIRA, P. P. A.; OLIVEIRA, W. S.; BARIONI, W. J.; **Produção de forragem e qualidade de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu com *Azospirillum brasilense* e fertilizada com nitrogênio**. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2007, 6p. (Circular Técnico, 54).
- PRIMAVESI, A.C.; PRIMAVESI, O.; CORREA, L.A.; SILVA, A.G.; CANTARELLA, H. Nutrientes na fitomassa de capim-marandu em função de fontes e doses de nitrogênio. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. 3, p. 562-568, 2006.
- QUADROS, P.D.; ROESCH, L.F.W.; SILVA, P.R.F.; VIEIRA, V.M.; ROEHRS, D.D.; CAMARGO, F.A.O. Desempenho agrônomo a campo de híbridos de milho inoculados com *Azospirillum*. **Revista Ceres**, v. 61, n. 2, p. 209-218, 2014.

REIS, V.M.; OLIVEIRA, A.L.M.; BALDANI, V.L.D.; OLIVARES, F.L.; BALDANI, J.I. **Fixação biológica de nitrogênio simbiótica e associativa**. In: Nutrição mineral de plantas/ Ed. MANLIO SILVESTRE FERNANDES – Viçosa, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. 432p.

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 (1). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 28, p. 103-113, 2004.

ROESCH, L. F. W.; OLIVARES, F. L.; PASSAGLIA, L. P. M.; SELBACH, P. A.; SÁ, E. L. S de; CAMARGO, F. A. O. Characterization of diazotrophic bacteria associated with maize: effect of plant genotype, ontogeny and nitrogen-supply. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. 22, n. 9, p.967-974, 2006.

RUDNIK, P.; MELETZUS, D.; GREEN, A.; HE, L.; KENNEDY, C. Regulation of nitrogen fixation by ammonium in diazotrophic species of proteobacteria. **Soil Biology Biochemistry**, v. 29, p. 831-841, 1997.

SANGOI, L.; MARASCHI, L.M.; MOTA, M.R.; PANISON, F.; SCHMITT, A.; SOUZA, N.M.; GIODANI, W.; SHENATTO, D.E. Desempenho agrônomico do milho em razão do tratamento de sementes com *Azospirillum* sp. e da aplicação de doses de nitrogênio mineral. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 39, p. 1141-1150, 2015.

SILVA, L.L.G.G.; ALVES, G.C.; RIBEIRO, J.R.A.; URQUIAGA, S.; SOUTO, S.M.; FIGUEIREDO, M.V.B.; BURITY, H.A. Fixação biológica de nitrogênio em pastagens com diferentes intensidades de corte. **Archivos de Zootecnia**, v. 59, n. 225, p. 21-30. 2010.

VOGEL, G.F.; MARTINKOSKI, L.; RUZICKI, M. Efeitos da utilização de *Azospirillum brasilense* em poáceas forrageiras: importancia e resultados. **Agropecuaria Científica no Seminário**, v. 10, n. 1, p. 1-6, 2014.

VOGT, G.A.; BALBINOT JR., A.A.; GALLOTTI, G.J.M.; PANDOLFO, C.M.; ZOLDAN. Desempenho de genótipos de milho na presença de inoculação com *Azospirillum brasilense* e adubação nitrogenada de cobertura. **Agropecuária Catarinense**, v. 27, n. 2, p. 49-54, 2014.