

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

BRUNO COSTA BRUCI

**AMENIZAÇÃO DO ESTRESSE DE FÓSFORO USANDO BACTÉRIAS
ASSOCIATIVAS EM BRACHIARIA EM SOLO DO CERRADO**

MONTE CARMELO

2022

BRUNO COSTA BRUCI

**AMENIZAÇÃO DO ESTRESSE DE FÓSFORO USANDO BACTÉRIAS
ASSOCIATIVAS EM BRACHIARIA EM SOLOS DO CERRADO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Agronomia da Universidade Federal de Uberlândia, Campus Monte Carmelo, como requisito necessário para a obtenção do grau de Engenheiro Agrônomo.

Orientador : Douglas Jose Marquês

MONTE CARMELO

2022

FICHA CATALOGRÁFICA

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

B887 2022	<p>Bruci, Bruno Costa, 1995- Amenização do estresse de fósforo usando bactérias associativas em Brachiaria em solos do cerrado [recurso eletrônico] : investigar a inoculação da bactéria associativa Bacillus aryabhattai aplicada no solo, visando amenizar o estresse de fósforo no crescimento das plantas do gênero Brachiaria / Bruno Costa Bruci. - 2022.</p> <p>Orientador: Douglas José Marques. Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Uberlândia, Graduação em Agronomia. Modo de acesso: Internet. Inclui bibliografia. Inclui ilustrações.</p> <p>1. Agronomia. I. Marques, Douglas José, 1980-, (Orient.). II. Universidade Federal de Uberlândia. Graduação em Agronomia. III. Título.</p> <p style="text-align: right;">CDU: 631</p>
--------------	--

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:
Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091
Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074

BRUNO COSTA BRUCI

**AMENIZAÇÃO DO ESTRESSE DE FÓSFORO USANDO BACTÉRIAS
ASSOCIATIVAS EM BRACHIARIA EM SOLOS DO CERRADO**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao curso de Agronomia da
Universidade Federal de Uberlândia,
Campus Monte Carmelo, como requisito
necessário para a obtenção do grau de
Engenheiro Agrônomo.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Douglas José Marques
Orientador

Prof. Dra. Adriane de Andrade Silva
Membro da Banca

Prof. Dra. Vanessa Andaló Mendes de Carvalho
Membro da Banca

Homologado pelo Colegiado do Curso Supervisionado em: ____/____/20__

Coordenador do Curso

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço à Deus por me conceder a oportunidade de realizar o sonho de trabalhar com o campo, por ter me concedido uma família que sempre me apoiou, especialmente meus pais, e também por me sustentar durante esse percurso com saúde e força de vontade para chegar até o atual momento.

Agradeço também ao professor Douglas José Marques. À toda a comunidade acadêmica, especialmente os professores por me fornecerem o conhecimento necessário para atuar no mercado de trabalho.

À minha avó pelo apoio e incentivo ao deixar sua casa aberta no tempo do estágio, cuja ajuda foi de fundamental importância para meu crescimento profissional.

Aos meus amigos de faculdade e meus melhores amigos de infância que sempre acompanharam meu desempenho, me dando forças e estímulo para continuar buscando os meus sonhos.

A minha namorada que sempre me estimulou a querer vencer e entregar o meu melhor. Enfim, meus sinceros sentimentos de gratidão a todas essas pessoas mencionadas acima. Que Deus continue abençoando a vida de cada um de vocês.

RESUMO

O fósforo (P) é o segundo nutriente essencial mais limitante à produção agrícola nos solos tropicais e a sua deficiência é extremamente prejudicial para a cultura da brachiaria (Syn. *Urocloa*). Como alternativa para melhorar a eficiência no uso do fósforo, a aplicação de bactérias capazes de solubilizá-lo torna-se uma importante ferramenta no manejo do P. Sendo assim, objetivou-se investigar a inoculação da bactéria associativa *Bacillus aryabhatai* aplicada no solo, visando amenizar o estresse de fósforo no crescimento das plantas do gênero *Brachiaria*, e seus efeitos sobre os aspectos agronômicos, químicos e bioquímicos do P no solo e na folha por meio de colorimetria. O experimento foi implantado sob delineamento em blocos casualizados em esquema fatorial 2x2 com quatro repetições. Os tratamentos foram, assim, constituídos: *B. aryabhatai* aplicado no solo (presença e ausência da bactéria associativa) e 2 níveis de P-estresse aplicado no solo: teor severo (150 mg Kg solo) e P-estresse controle (300 mg kg solo) com quatro repetições. Durante a pesquisa, foram avaliados a altura das plantas, número de folhas, perfilhamento, rebrota, teores de P (solo e folha), translocação do P, clorofila e índice SPAD. Concluiu-se com a pesquisa que a presença da bactéria ajudou na amenização P-estresse, proporcionando maior translocação do fósforo na folha, quantidade de fósforo nas folhas perfilhamento e rebrota na brachiaria.

Palavras-chave: Brachiaria híbrida, *Bacillus aryabhatai*, matéria seca

ABSTRACT

Phosphorus (P) is the second most limiting essential nutrient for agricultural production in tropical soils and its deficiency is extremely harmful to the brachiaria crop. As an alternative to improve the efficiency in the use of phosphorus by brachiaria, the application of bacteria capable of solubilizing compounds containing phosphorus becomes an important tool in the management of P. Therefore, the objective of this research was to investigate the inoculation of associative bacteria *Bacillus aryabhatai* applied to the soil aiming to alleviate P-stress in the genus Brachiaria, and its effects on the agronomic, chemical and biochemical aspects of P in the soil and in the leaf by the shades of green color. The experiment was implemented in randomized block design in a 2x2 factorial scheme with four replications. The treatments were thus constituted: 2 *Bacillus aryabhatai* applied to the soil (presence and absence of the associative bacteria) and 2 levels of severe P-stress (150 mg kg soil) and control P-stress (300 mg kg soil) with four replications. During the research, height, number of leaves, tillering, regrowth, P contents (soil and leaf), P translocation, chlorophyll and SPAD index were evaluated. It was concluded by the research that the presence of the bacteria helped in the P-stress amelioration, providing greater translocation of the phosphorus in the leaf, amount of phosphorus in the leaf's growth is re-growth is in Brachiaria plant.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	10
2.2 Adubação fosfatada da <i>Brachiaria</i>	10
2.3 Aplicação de bactéria na <i>Brachiaria</i>	11
2.4 Atividade enzimática do fósforo.....	12
3 MATERIAL E MÉTODOS	14
3.1 Local, cultivar e condução da pesquisa	14
3.2 Característica do solo e adubação.....	14
3.3 Delineamento experimental.....	15
3.4 Avaliações da pesquisa.....	15
3.4.1 Avaliação agrônômica	15
3.4.2 Análise de massa de matéria seca.....	16
3.4.3 P translocação	16
3.4.4 Avaliação pigmentos e SPAD	17
3.4.5 Análise dos resultados	17
4 RESULTADOS	17
5 CONCLUSÕES.....	22
REFERÊNCIAS	23

1 INTRODUÇÃO

O fósforo é o segundo nutriente essencial mais limitante à produção agrícola no solo tropical, dessa forma torna-se necessário manejar a construção da fertilidade do solo, uma vez que esses solos apresentam baixa disponibilidade natural e alta capacidade de adsorção e de fixação desse nutriente. Somado a esses fatos, a absorção, assimilação e translocação de nitrogênio nas plantas podem ser restringidas pela deficiência de fósforo, porque a falta desse elemento paralisa o crescimento e desenvolvimento das forrageiras.

Os solos dos cerrados brasileiros geralmente são deficientes em fósforo por serem altamente intemperizados, o que faz com que as reservas deste nutriente nesses solos não suportem cultivos sucessivos, devido às quantidades extraídas pela brachiária. Deste modo, a sua restituição no solo deve ser feita mediante ao manejo da adubação.

A aplicação de fósforo no solo proporciona na brachiária um papel importante para o desenvolvimento das raízes e, conseqüentemente, aumento no perfilhamento, que são estratégias fenotípicas importantes para aumentar a produção de matéria verde e proteína dessa forrageira. A deficiência desse elemento é extremamente prejudicial para a cultura porque reduz o crescimento das raízes e produção de matéria verde. O fósforo está relacionado com a respiração vegetal, atua no processo fotossintético, na síntese das proteínas e no metabolismo de enzimas.

Como alternativa para melhorar a absorção de fósforo pela brachiária, a aplicação de bactérias capazes de solubilizar os compostos contendo fósforo por meio da produção de diversos ácidos orgânicos torna-se uma ferramenta importante no manejo desse elemento no solo. O processo de aplicação de bactérias aumenta a produção de microrganismos no solo que ajudam na absorção desse nutriente, auxiliando em processos como a fixação de nitrogênio atmosférico, promovendo o crescimento e desenvolvimento da cultura.

O uso do *Bacillus aryabhattai* na agricultura tem um enorme potencial e isso se deve à diversa gama de benefícios que essa bactéria pode trazer para as plantas. Eles vão desde o aumento da resistência aos estresses abióticos, como a seca, à disponibilização de nutrientes.

Sendo assim, objetivou-se com a pesquisa investigar a inoculação de bactérias associativas *Bacillus aryabhattai* aplicadas no solo, visando amenizar a P-estresse no gênero *Brachiaria* e seus efeitos sobre os aspectos agrônômicos, químicos e bioquímicos do P no solo e da folha pelas tonalidades da cor verde.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Cultura da *Brachiaria*

Estima-se que a *Brachiaria* ocupe cerca de 85% da área de pastagens do território brasileiro. Tem sido considerado como um instrumento de inclusão do cerrado no processo produtivo, pois é uma das forrageiras mais cultivadas nesta região, indicada para solos de baixa fertilidade e com sérias restrições químicas naturais, acidez e topografia (LUCENA, 2010).

A *brachiaria* híbrida (cv.) Mulato II (CIAT 36087) é o resultado de 3 gerações de cruzamento e seleção realizada pelo Projeto de Forragens Tropicais do centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Os cruzamentos foram entre a *brachiaria* *ruzizensis*, *brachiaria* *decumbens* cv, Basilisk (FRANCO 2006).

A *Brachiaria* possui cerca de cem espécies, sendo que no Brasil são encontradas 15 espécies nativas e introduzidas. Considerando a difusão e a importância econômica, destacam-se a *B. brizantha*, *B. decumbens*, *B. ruzizensis* e *B. humidicola* (RODRIGUES, 2004).

A cultura é caracterizada pela sua robustez, pela agressividade, pelo apelo por regiões tropical e ainda pela baixa exigência por solos férteis, possibilitando amplo espectro de uso e manejo. Alta produção de matéria seca e crescimento bem distribuído também compõem suas características, além da boa capacidade de suporte sob carga de animais (EMBRAPA, 2009).

De modo geral, a forma de propagação das braquiárias é inerente a cada espécie, ou mesmo cultivar, podendo se dar por sementes ou de modo vegetativo e apresentar, quando feita a semeadura, desuniformidades de germinação e florescimento. (SEIFFERT, 1984).

2.2 Adubação fosfatada na *Brachiaria*

Em razão da deficiência generalizada em P disponível nos solos brasileiros utilizados para pastagens, respostas à adubação fosfatada têm sido obtidas, particularmente na implantação da cultura. O fato é que, mesmo as braquiárias, espécies citadas como menos exigentes em P, ou seja, mais eficientes em sua utilização, necessitam de um mínimo de adubação com este elemento para um adequado estabelecimento nas áreas de plantio (PEREIRA, 1986). A braquiária híbrida cv. Mulato II é um híbrido exigente, que requer boa fertilidade do solo.

O manejo da adubação fosfatada é fundamental, independente do sistema de exploração, seja extensivo ou intensivo, para que esse elemento não seja limitante na resposta da planta forrageira, principalmente quando são aplicados níveis elevados de nitrogênio (MACEDO, 2004). O fósforo deve ser repostado anual ou bienalmente para que não ocorra degradação da pastagem (EMBRAPA, 2001).

Em trabalho realizado por Ieiri (2010), verificou-se que a aplicação de doses crescentes de fósforo promoveu respostas crescentes em produtividade de matéria seca, enquanto que os métodos de aplicação do fósforo não influenciaram na produtividade. As fontes mais solúveis, como o superfosfato triplo, apresentaram teores maiores de fósforo nos tecidos vegetais.

Serrão (1971) concluiu em experimentos de campo que *B. ruziziensis* não produziu quantidades satisfatórias de forragem em solos com baixos teores de P e K. Medeiros e Oliveira (1982) obtiveram ótimos rendimentos de forragem sob dose baixa de P (50 kg de P₂O₅/ha). A adição de P ao solo aumentou significativamente o teor do elemento no tecido vegetal.

O problema do fósforo nos solos brasileiros não está na sua baixa concentração e sim, na baixa disponibilidade do nutriente às plantas. Segundo Pavinato (2020), cerca de 70% do fósforo aplicado via fertilizantes minerais ou orgânicos é acumulado no solo em formas pouco ou nada acessíveis às plantas.

2.3 Aplicação de bactéria na Brachiaria

Áreas de pastos com Brachiaria têm mantido níveis razoáveis de produtividade sem a aplicação de fertilizantes nitrogenados, o que indica que este fenômeno poderia estar relacionado com a contribuição da fixação biológica de nitrogênio por micro-organismos associativos. Existem inúmeros trabalhos evidenciando os benefícios da inoculação destas bactérias no crescimento e nutrição de várias plantas, particularmente gramíneas (BALDANI et al., 1997; SALA, 2005).

Em solos com pequena ou ausente comunidade nativa de diazotróficos, (organismos fixadores de N) as bactérias podem viver livres em diversos ecossistemas, estabelecer simbioses ou estar associados às plantas, sendo neste último caso denominados de diazotróficas associativas; As respostas à inoculação são mais consistentes e a recomendação de inoculação pode fazer parte do manejo da cultura (OKON, 1985).

Em experimento realizado por Oliveira et al. (2007) a inoculação de *Brachiaria* spp. com *Azospirillum* spp. aumentou em 6% a produção de forragem no primeiro corte. Barassi et

al. (2008) relatam diversos efeitos benéficos provenientes da associação das forrageiras com o *Azospirillum*, como maior produção de biomassa e maior altura de plantas.

Guimarães et al. (2011) ao testarem, em casa de vegetação, a inoculação de *Azospirillum* spp. estirpe AZ 18 em *Brachiaria decumbens*, observaram que esta proporcionou aumento de 10% no número de folhas em relação a testemunha absoluta.

Oliveira et al. (2007) avaliando a produção de forragem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu em função da inoculação com *Azospirillum brasilense* e da fertilização com nitrogênio observaram que o tratamento sem aplicação de nitrogênio e com inoculação produziu mais forragem do que a testemunha e quando foi aplicado o nitrogênio na pastagem não houve efeito da inoculação. A inoculação aumentou a produção de forragem no primeiro corte.

Em trabalho realizado por Souza (2014) a aplicação de *A. brasilense* não foi suficiente para proporcionar maior produção de massa seca de folhas. Entretanto, a inoculação pode ser bastante conveniente no estabelecimento de áreas de pastagens, pois o aumento no aparecimento de folhas pode proporcionar maior taxa de colonização de solo, reduzindo o tempo de formação da pastagem.

2.4 Atividade enzimática do fósforo

Segundo Malavolta (2006), o fósforo promove maior crescimento da forrageira principalmente por desempenhar função estrutural na planta além de fazer parte de compostos orgânicos como o ATP (adenosina trifosfato), os aminoácidos e de enzimas e, assim, participa de diversos processos metabólicos, em especial no processo de transferência e de armazenamento de energia.

As gramíneas são plantas de metabolismo C4. Estresses como baixo nível de fósforo influenciam no comportamento morfofisiológico das brachiarias, uma vez que o elemento é imprescindível para a realização dos processos metabólicos (DIAS, 2006).

Embora os mecanismos envolvidos não sejam ainda totalmente explicados, a dinâmica das frações fosfatadas na planta está relacionada com a atividade de fosfatases, enzimas responsáveis pela desfosforilação de moléculas orgânicas. À medida que diminui o suprimento de P para as plantas, ocorre um aumento da atividade dessas enzimas (BIELESKI; FERGUNSON, 1983). Vários trabalhos têm relatado a relação entre deficiência de P e atividade de fosfatases, enzimas responsáveis pela desfosforilação de moléculas orgânicas. (FERNANDES et al., 1998).

Segundo Besford (1979), a determinação da atividade de fosfatases para algumas espécies vegetais pode ser utilizada como uma ferramenta de diagnose nutricional, prevendo deficiência de P nas plantas antes do aparecimento dos sintomas visuais de deficiência.

Nunes (2005) verificou que forrageiras cultivadas em baixa disponibilidade de P e com o corte mais intenso, apresentam maiores atividades da fosfatase ácida e da ribonuclease. Alterações nos teores de P das frações orgânicas mais lábeis e na atividade das fosfatases na forrageira podem ser indicadores precoces do processo de degradação dos pastos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local, cultivar e condução da pesquisa

O experimento foi realizado na Estação Experimental de Hortaliças da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Campus Monte Carmelo, MG (18°42'43,19" S, 47°29'55,8" W e altitude de 873 m). As plantas foram cultivadas em casa de vegetação do tipo arco (7 x 21 m), com pé direito de 4 metros, coberta com filme de polietileno transparente de 150 micra aditivado contra raios ultravioleta e cortinas laterais de tela branca anti-afídeo.

O clima da região é caracterizado como Aw, segundo a classificação de Köppen, e é marcado por duas estações bem definidas, uma chuvosa e outra seca (ROSA et al., 1991).

Foi utilizado a cultivar de *Brachiaria* “Mulato IP”. A semeadura foi realizada em bandejas com 128 células; comprimento de 54,7 cm; largura de 28,7 cm; altura de 5 cm, no dia 10 de dezembro de 2021. Após 30 dias as mudas foram transplantadas para os vasos de 4,8 dm³ no dia 10 de janeiro de 2022. Foram padronizadas 3 mudas por vasos.

3.2 Característica do solo e adubação

O solo foi coletado no Campus da Universidade Federal de Uberlândia, Campus Monte Carmelo, sendo classificado como latossolo vermelho (EMBRAPA, 2018) de classe textural argilosa. O solo foi submetido à tamisagem, utilizando peneira com malha de 5 mm, em seguida submetido às análises de caracterização física e química no laboratório (LABRAS), localizado em Monte Carmelo-MG.

A composição química e física do solo utilizada neste estudo foi: MO = 1,4 (dag kg⁻¹); P por extração com Mehlich 5,4 (mg dm⁻³); Mg, Ca e Al = 0,04; 0,18; 0,26 (cmol dm⁻³) respectivamente; Si = 8,3 (mg dm⁻³); Zn = 0,7 (mg dm⁻³); Cu = 1 (mg dm⁻³); S = NS (mg dm⁻³); B = 0,13 (mg dm⁻³); Fe = 16 (mg dm⁻³); T = capacidade de troca catiônica em pH 7,0 (2,52); t = capacidade de troca catiônica efetiva (0,57); m = índice de saturação de alumínio (45%); V = Índice de saturação de base (12%). A granulometria do solo foi à composição física do solo utilizada neste estudo, determinada pelo método da pipeta (areia, silte e argila = 33%, 2,5% e 64,5%).

Os cálculos para a correção da acidez dos solos seguiram as recomendações de Guimarães et al. (1999), visando a neutralização do Al³⁺ e a elevação dos teores de Ca²⁺ e Mg²⁺.

O calcário utilizado (Poder de Neutralização: 92,5%, Eficiência Relativa: 100% e Poder Real Neutralização Total: 92,5%) foi aplicado ao solo, acondicionado em vasos com 4,8 dm³, em seguida os solos foram umedecidos com 1,5 L de água e envolvidos com saco plástico preto para que não houvesse a evaporação da água ficando incubados por 30 dias para favorecer a reação do corretivo com o solo.

Após a incubação foi realizado a adubação de base usando os fertilizantes ureia (CO(NH₂)₂), superfosfato simples (Ca (H₂PO₄)₂+CaSO₄.H₂O), sulfato de potássio (K₂SO₄), ácido bórico (H₃BO₃), sulfato de cobre (CuSO₄), molibdato de amônio (NH₄)₆Mo₇O₂₄), sulfato de zinco (ZnSO₄), sulfato de manganês (MnSO₄), sulfato ferroso (FeSO₄). Como fonte de P foi utilizado o fertilizante superfosfato simples (Ca (H₂PO₄)₂+CaSO₄.H₂O) com os seguintes teores de nutrientes: P₂O₅ 18%, S 10%, Ca 18%. A recomendação de adubação para os macros e micronutrientes foi baseada nas recomendações de Novais et al. (1991), adaptada por Marques et al. (2021).

3.3 Delineamento experimental

O experimento foi implantado sob delineamento em blocos casualizados em esquema fatorial 2x2 com quatro repetições. Os tratamentos foram assim constituídos: *B. aryabhatai* aplicado no solo (presença e ausência da bactéria associativa) e níveis de P-estresse: severo (150 mg Kg solo) e P-estresse controle (300 mg kg solo) com quatro repetições. As plantas foram conduzidas em vasos com 4,8 dm³ de solo. A bactéria usada na pesquisa foi o *B. aryabhatai* aplicada em volta das plantas 7 dias após o transplante das mudas. Para o preparo da solução com o *B. aryabhatai* foi diluído 1 mL da solução de concentração 1x10⁸ UFC mL em 2 L de água. Foi feita uma abertura de 5 centímetros em volta de cada planta e aplicado 1 mL do preparo.

3.4 Avaliações da pesquisa

3.4.1 Avaliação vegetativa

Foi avaliada a altura da planta, padronizando a linha do coleto acima do solo, essa medição foi realizada usando uma trena (cm). O número de folhas foi avaliado no final da pesquisa, sendo padronizada a contagem em folhas totalmente expandidas. As plantas foram numeradas para a determinação da quantidade de folhas e perfílios.

Foi feito o corte das plantas 10 cm acima do solo em cada planta do vaso e marcado com fecho de arame em cada corte delimitado. A medição foi realizada usando uma trena (cm) a cada dois dias durante duas semanas.



3.4.2 Análise de massa seca e avaliação nutricional

Para determinação de massa de matéria seca das plantas de brachiaria foi coletada a parte aérea (caule e folhas). Em seguida, os componentes foram secos em estufa a 70° C, com ventilação forçada por 72 horas até atingirem massa constante. Após a secagem em estufa, o material vegetal foi pesado em balança semi-analítica digital Modelo: Shimadzu UX6200H e seu peso expresso em gramas.

Para a avaliação nutricional (macro e micronutrientes) foram coletadas as folhas das plantas da brachiaria, padronizando as folhas fisiologicamente ativas medianas para a análise quanto à composição mineral aos 60 dias após o transplante, conforme metodologia descrita por Malavolta et al. (1997).

3.4.3 P translocação

A concentração de P nas folhas foi feita no laboratório Araguari Fértil e foi expressa em porcentagem $[(\text{massa do nutriente}/\text{massa seca da folha}) \times 100]$ e em mg kg. Para determinar a

concentração total de P foliar, utilizou-se a equação $NC = (NL/100) \times MS$, onde NC é a concentração de P, NL é o nível de P expresso em porcentagem e MS é a massa seca da folha. Os resultados são expressos em miligramas (mg). Para determinar a translocação de nutrientes (transporte da raiz para a parte aérea), utilizou-se a equação $NT = (NC/TNP) \times 100$, onde NT representa a translocação de nutrientes, NC é a massa de nutrientes e TNP é a concentração total de nutrientes da planta. Os resultados foram expressos em porcentagem, conforme descrito anteriormente (MARQUES et al., 2021).

3.4.4 Avaliação pigmentos e SPAD

Foram quantificadas aos 40 dias após o transplante o índice SPAD, medido no período da tarde e padronizado três leituras por planta de cada parcela, após a leitura obteve-se o valor médio das leituras. Durante a análise das folhas foi usado um papel toalha para limpar a área foliar e foram excluídas as nervuras. Foi utilizado o equipamento clorofilômetro modelo Minolta SPAD-502 CFL1030.

Para a extração da clorofila total foi realizada a coleta das folhas, que foram lavadas e trituradas com auxílio de um *mixer* de modo que as partículas atingissem em média 10 mm de tamanho. Foram pesadas 0,3 g de folhas trituradas e adicionou-se 2,0 mL de acetona P.A. e 2,0 mL de éter de petróleo P.A. Essas amostras foram acondicionadas em tubos de ensaio fechados por 24h na ausência de luz. Após este período foram verificadas as absorvâncias das amostras em espectrofotômetro UV-190. Com os resultados, calculou-se os teores da clorofila total (WITHAM et al., 1971).

3.4.5 Análise dos resultados

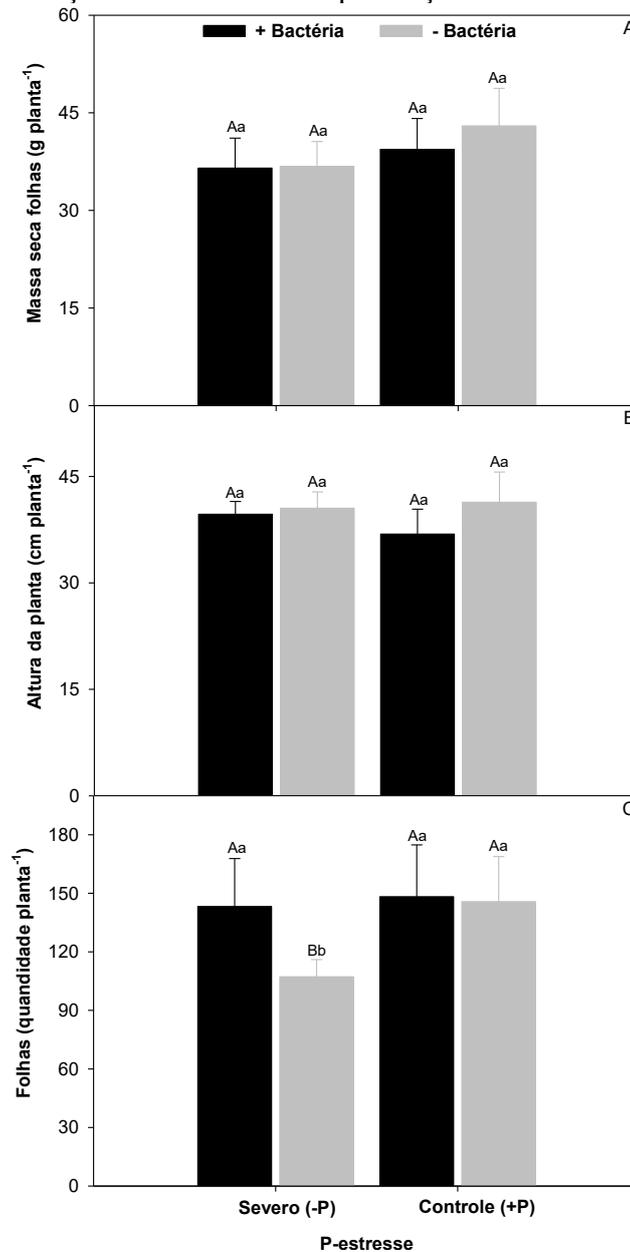
Os resultados encontrados nas diferentes avaliações foram submetidos à análise de variância (ANAVA). Para avaliação das médias, foram aplicados os testes de Scott-Knott de acordo com as teorias preconizadas por Steel, Torrie e Dickey (2006). Os desvios padrões foram calculados e aplicados os estimadores usando o software SISVAR (FERREIRA, 2011).

4 RESULTADOS

Para a massa seca da parte aérea (folhas e caule) e altura das plantas (Figura 1 A e B) não foi observada diferença significativa. Para o número de folhas P-estresse severo foi menor,

sem a presença da bactéria (Figura 1C). Segundo Guss et al. (1990), citado por Rossi e Monteiro (1999) o aumento na concentração de fósforo na matéria seca com o aumento na dose de fósforo mostra que espécies na *Brachiaria* possuem capacidade de acumular fósforo no tecido após atingir o crescimento máximo. De acordo com os resultados obtidos por Porto et al. (2012), o aumento das doses de fósforo na forma de superfosfato simples ocasionou a maior produção de matéria seca das folhas de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu.

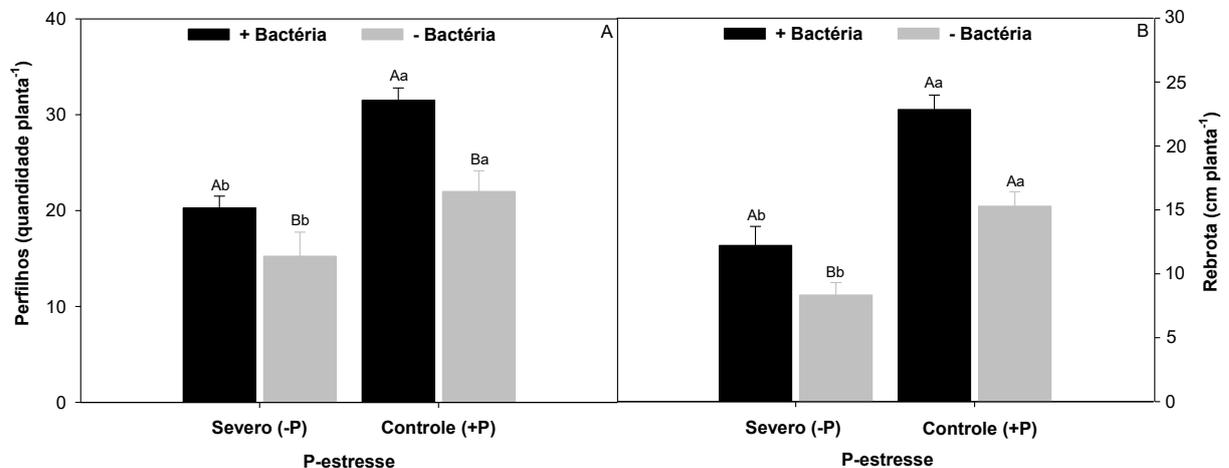
Figura 1 – Massa seca das folhas (A), altura da folha (B) e quantidade de folhas por vaso (C) de brachiaria em função de P-estresse e a presença da bactéria *Bacillus aryabhattai*.



Nota: Colunas com diferentes letras maiúsculas (cores diferentes) entre presença e ausência de bactéria e letras minúsculas (mesma cor) entre dosagens de fósforo indicam diferenças significativas do teste de Scott-Knott ($P < 0,05$). Colunas correspondentes as médias de quatro repetições e desvios-padrão.

Os maiores perfilhamentos na brachiaria foram observados para os tratamentos P-estresse severo e controle, variando de 20 a 30 perfilhos por vaso na presença da bactéria (Figura 2A). A mesma tendência foi observada para a rebrota, representado pelo crescimento da planta após o corte (Figura 2B), para os tratamentos P-estresse severo e controle, na presença da bactéria. Segundo Mesquita et al. (2010), as doses de P elevaram o número de perfilhos das gramíneas estudadas, sendo que a *Brachiaria* híbrida cultivar “Mulato” obteve maior densidade de perfilhos quando as doses de P aplicadas foram maiores.

Figura 2 – Número de perfilhos (A) e rebrota medida pelo crescimento a cada 48 horas (B) de *Brachiaria cv. Mulato II* em função de P-estresse e aplicação de bactéria *Bacillus aryabhatai*.



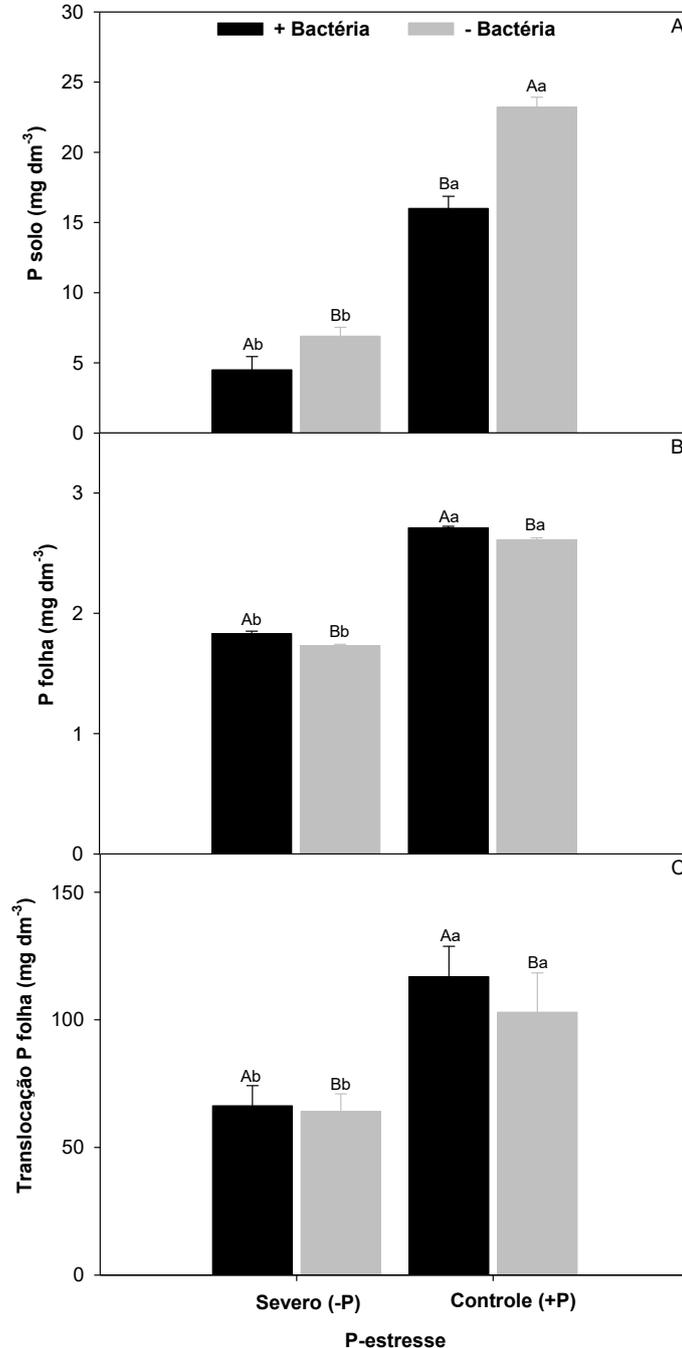
Nota: Colunas com diferentes letras maiúsculas (cores diferentes) entre presença e ausência de bactéria e letras minúsculas (mesma cor) entre dosagens de fósforo indicam diferenças significativas do teste de Scott-Knott ($P < 0,05$). Colunas correspondentes as médias de quatro repetições e desvios-padrão.

Os teores de P-solo, P-folha e P-translocação estão apresentados na Figura 3. Para o teor P-solo os tratamentos P-estresse severo e controle foram maiores na ausência da bactéria (Figura 3A). Para os maiores teores de P-folha foram para o P-estresse severo e controle na presença da bactéria (Figura 3B). Para o P-translocação nas folhas as maiores movimentações P-estresse severo e controle foram para na presença da bactéria (Figura 3C).

O acúmulo e posterior remobilização de P às outras partes da planta apresentam um padrão mais lento, pois o P absorvido pela planta está principalmente concentrado nas folhas (FAOZI et al., 2019). De acordo com Xue et al., (2014), o adequado fornecimento de P, aumenta o seu acúmulo nas folhas e no caule em doses baixas a moderadas de P, diminuindo a aplicação em altas doses. O acúmulo e translocação de P nas folhas foram influenciados pelos estresse de P, com maior acumulação nos níveis de estresse controle, ocorrendo maior translocação de P no solo. As maiores concentrações e acumulação de P estavam dentro da faixa indicada como

satisfatória, em contraste com valores considerados como não adequados, segundo Seixas et al. (2020).

Figura 3 – P solo (A), P folha (B) e P translocação na folha (C) de ... em função do P-estresse e aplicação de bactéria *Bacillus aryabhatai*.

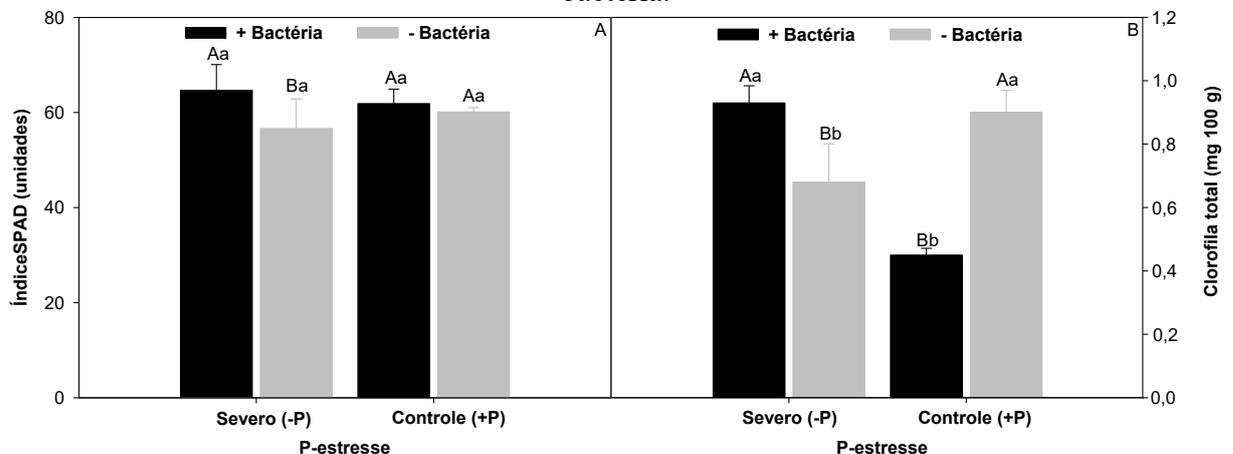


Nota: Colunas com diferentes letras maiúsculas (cores diferentes) entre presença e ausência de bactéria e letras minúsculas (mesma cor) entre dosagens de fósforo indicam diferenças significativas do teste de Scott-Knott ($P < 0,05$). Colunas correspondentes às médias de quatro repetições e desvios-padrão.

Para a quantificação das unidades de SPAD, observamos que no P-estresse severo na ausência da aplicação da bactéria foi menor a intensidade de verde (Figura 4A). Já a

determinação da clorofila total no P-estresse severo foi maior na presença da bactéria, no entanto, para o P-estresse controle o teor de pigmentos foi maior para o tratamento sem a presença da bactéria (Figura 4B). Abrahão (2007) avaliou o efeito de diferentes doses de nitrogênio e densidades de plantio na resposta espectral do dossel do *Panicum maximum* cv. Tanzânia, nas correlações entre índices de vegetação e medições de clorofila (valores SPAD) e massa seca (MS). Já Villar et al. (2015) testaram variáveis espectrais obtidas por meio do clorofilômetro portátil (SPAD 502) e índices de vegetação calculados a partir de dados da resposta espectral da cultura obtidos com espectrorradiômetro ASD Field Spec Pro espectrômetro FR com objetivo de ajustar metodologia de aplicação de adubo nitrogenado com doses variadas de N em *B. decumbens* com base em índice de suficiência de nitrogênio (ISN). Esses métodos se baseiam no fato do teor de clorofila se correlacionar positivamente com o teor de nitrogênio foliar, uma vez que de 50% a 60% do N contido nas folhas estão nos cloroplastos participando da síntese e da estrutura das moléculas de clorofila (WOOD et al., 1993). Portanto, a utilização do clorofilômetro como ferramenta auxiliar no manejo da adubação nitrogenada vem apresentando resultados positivos em relação à recomendação de N parcelada com base nas leituras indiretas do teor de clorofila foliar em diversas culturas, incluindo forrageiras (SILVA JÚNIOR et al., 2013). Jordão et al. (2010) realizou um estudo sobre inoculação em milho e capim, que observaram os valores do índice SPAD foram maiores nos tratamentos inoculados quando comparado ao não inoculado, da mesma maneira notou-se que houve uma diferença em P severo na ausência de *Bacillus aryabhattai*, comprovando a eficiência do microrganismo *B. Aryabhattai* em fixar nitrogênio.

Figura 4 – Índice SPAD (A) e clorofila total (B) em função de P-estresse e aplicação de bactéria.



Nota: Colunas com diferentes letras maiúsculas (cores diferentes) entre presença e ausência de bactéria e letras minúsculas (mesma cor) entre dosagens de fósforo indicam diferenças significativas do teste de Scott-Knott ($P < 0,05$). Colunas correspondentes as médias de quatro repetições e desvios-padrão.

5 CONCLUSÕES

Concluiu-se com a pesquisa que a presença da bactéria ajudou na amenização P-estresse, proporcionando maior translocação do fósforo na folha, quantidade de fósforo nas folhas perfilhamento e rebrota na brachiaria.

REFERÊNCIAS

- A.O.A.C. **Official Methods of Analysis**. 15. ed. Association of Official Analytical Chemist, Washington, 1990.
- ABRAHÃO, S. A. **Resposta espectral do capim-tanzânia à adubação nitrogenada e densidade de plantio**. 2007. 83 f. Dissertação (Mestrado) – Departamento de Engenharia Agrícola, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007.
- BALDANI, J. I.; CARUSO, L.; BALDANI, V. L. D. et al. Recent advances in BNF with non-legume plants. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 29, n. 5/6, p. 911-922, 1997. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(96\)00218-0](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(96)00218-0)
- BARASSI, C. A.; SUELDO, R. J.; CREUS, C. M. et al. Potencialidad de *Azospirillum* en optimizer el crecimiento vegetal bajo condiciones adversas. *In*: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. (Eds.) ***Azospirillum sp.*: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina**. Argentina: Asociación Argentina de Microbiología, 2008. p.49-59.
- BESFORD, R. T. Phosphorus nutrition and acid phosphatase activity in the leaves of seven plant species. **J. Sci. Food Agric.**, v.30, p.281-285, 1979. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740300312>
- BIELESKI, R. L.; FERGUNSON, J. B. Physiology and metabolism of phosphate and its compounds. *In*: PIRSON, A.; ZIMMERMANN, M.H. (Eds.). **Encyclopedia of plant physiology: inorganic plant nutrition**. Berlin: Spring Verlang, p.422-4490, 2001. https://doi.org/10.1007/978-3-642-68885-0_15
- DIAS, M. B. Respostas morfofisiológicas de *Brachiaria spp.* Ao alagamento do solo e a síndrome da morte do capim-marandu. *In*: BARBOSA, R. A. (ed.) **Morte de pastos de braquiárias**. Campo grande: Embrapa Gado de Corte, p. 83-101, 2006.
- EMBRAPA. **Adubação fosfatada para manutenção de pastagem de *Brachiaria decumbens* no cerrado**. 2001. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/566167/1/comtec53.pdf>. Acesso em: 07 abr. 2020.
- EMBRAPA. **Manejo das forrageiras dos gêneros *Brachiaria* e *Panicum* consorciadas com o milho em sistemas de Integração Lavoura-Pecuária**. 2009. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/658667/1/Circ130.pdf>. Acesso em: 31 mar. 2020.
- FAOZI, K. et al. Effectiveness of phosphorus fertilizer on soybean plants in the coastal sands soil. *In*: **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**. IOP Publishing, 2019. p. 012060. Disponível em: <https://doi.org/10.1088/1755-1315/250/1/012060>

FRANCO, M. 2006. Mulato II. Chega ao mercado o novo híbrido de brachiaria. Revista DBO (Brasil). Agosto 2006. www.portaldbo.com.br.

FERNANDES, L. A.; FURTINI NETO, A. E.; CURI, N. et al. Fósforo e atividade da fosfatase ácida em plantas de feijoeiro. **Pesq. Agropec. Bras.**, v.33, p.769-778, 1998.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n.6, p. 1039-1042, 2011. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542011000600001>

FISCHER, K. S. WOOD G. Breeding and selection for drought tolerance in tropical maize. *In: Proc. Symp. on Principles and Methods in Crop Improvement for Drought Resistance with Emphasis on Rice*, IRRI, Philippines, 1981.

FISCHER, R. A., MAURER, R. Drought resistance in spring wheat cultivars. I. Grain yield responses in spring wheat. **Australian. J. Agric. Sci.**, v. 29, p. 892-912, 1978. <https://doi.org/10.1071/AR9780897>

GUIMARÃES, S. L.; BONFIM-SILVA, E. M.; KROTH, B. E. et al. Crescimento e desenvolvimento inicial de *Brachiaria decumbens* inoculada com *Azospirillum* spp. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v.7, n. 13, pp.286- 296, 2011b.

IEIRI, A. Y. et al. Fontes, doses e modos de aplicação de fósforo na recuperação de pastagem com *Brachiaria*. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 34, n. 5, p. 1154-1160, 2010. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542010000500011>

JORDÃO, L. T.; LIMA, F. F.; LIMA, R. S.; MORETTI, P. A. E. M.; PEREIRA, H. V.; MUNIZ, A. S.; OLIVEIRA, M. C. N.. Teor relativo de clorofila em folhas de milho inoculado com *Azospirillum braziliense* sob diferentes doses de nitrogênio e manejo com braquiária. Guarapari. Fontes de nutrientes e produção agrícola: modelando o futuro: anais. Viçosa: SBCS, 2010. 4 p, 2010.

LUCENA, M. A. C. **Características agronômicas e estruturais de *Brachiaria* spp. submetidas a doses e fontes de nitrogênio em solo de cerrado**. Nova Odessa, 2010. 101p. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Zootecnia.

MALAVOLTA, E. Manual de nutrição mineral de plantas. São Paulo: **Agronômica Ceres**, 2006. 638p.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: Associação Brasileira de Potassa e do Fósforo, 1997. 319 p.

MARQUES, D. J., BIANCHINI, H. C., MACIEL, G. M., MENDONÇA, T. F. N. & SILVA, M. F. E. Morphophysiological changes resulting from the application of silicon in corn plants under water stress. *J. Plant Growth Regul.* <https://doi.org/10.1007/s00344-021-10322-5>

MEDEIROS, J. da C.; OLIVEIRA, J.R. da C. **Introdução e avaliação de gramíneas e leguminosas forrageiras em Rondônia.** Porto Velho: EMBRAPA-UEPAE, 1982. 35p.

MELCHER, P. J.; MEINZER, F. C.; YOUNY, D. E. et al. Comparative measurements of xylem pressure in transpiring and non-transpiring leaves by means of the pressure chamber and the xylem pressure probe. *Journal of Experimental Botany*, p.757-1760, 1998.

MESQUITA, E. E.; NERES, M. A.; OLIVEIRA, P. S. R. et al. Teores críticos de fósforo no solo e características morfológicas de *Panicum maximum* cultivares Tanzânia e Mombaça e *Brachiaria* híbrida Mulato sob aplicação de fósforo. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v.11, n.2, p.292-302, 2010

NUNES, F. M. **Atividade de fosfatases em forrageiras e frações de fósforo no solo como indicador de degradação de pastagens.** 2005. 59 p. Tese (Pós-Graduação em solo e nutrição de plantas) – Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2005.

OKON, Y. *Azospirillum* as a potencial inoculant for agriculture. *Trends Biotechnology*, Oxford, v. 3, n. 9, p. 223-228, 1985. [https://doi.org/10.1016/0167-7799\(85\)90012-5](https://doi.org/10.1016/0167-7799(85)90012-5)

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, 4p. (Circular Técnico, 54).

PAVINATO, P.S., CHERUBIN, M.R., SOLTANGHEISI, A. et al. **Revealing soil legacy phosphorus to promote sustainable agriculture in Brazil.** *Sci Rep* 10, 15615 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-72302-1>

PORTO, E. M. V.; ALVES, D. D.; VITOR, C. M. T. et al. Rendimento forrageiro da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu submetida a doses crescentes de fósforo. *Scientia Agraria Paranaensis*, v. 11, p. 25-34, 2012. <https://doi.org/10.18188/1983-1471/sap.v11n3p25-34>

RICHARDS, L. A. **Diagnosis and improvement of saline and alkali soils.** U. S. Dep. Agric. Handbook 60 Washington. U. S. Government Printing, Office, D. C., 1954. 160 p.

RODRIGUES, D. C. **Produção de forragem de cultivares de *Brachiaria brizantha* Stapf e Modelagem de respostas produtivas em função de variáveis climáticas.** Piracicaba, 2004. 94 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz.

ROSA, R.; LIMA, S. C.; ASSUNÇÃO, W. L. Abordagem preliminar das condições climáticas de Uberlândia (MG). Uberlândia, Brasil: **Sociedade & Natureza**, v. 3, p. 91-108, 1991. <https://doi.org/10.14393/SN-v3-1991-60693>

ROSSI, C., MONTEIRO, F. A. Doses de fósforo, épocas de coleta e o crescimento e diagnose nutricional nos capins Braquiária e colônia. **Scientia Agrícola**, 56, n. 4, p. 1101-1110, 1999. <https://doi.org/10.1590/S0103-90161999000500011>

SCHOLANDER, P.F.; HAMMEL, H.T.; HEMMINGSEN, E.A. et al. Hydrostatic pressure and osmotic potential in leaves of mangroves and some other plants. USA: **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.52, p.119–125, 1964. <https://doi.org/10.1073/pnas.52.1.119>

SEIFFERT, N. F. **Leguminosas para pastagens no Brasil Central**. Brasília:Embrapa-CNPGC, 1984. 131 p.

SEIXAS, C.D.S. et al. Tecnologias de produção de soja. **Embrapa Soja-Sistema de Produção (INFOTECA-E)**, 2020.

SERRÃO, E. A. S. **Resposta de três gramíneas forrageiras (*Brachiaria decumbens* Stapf., *Brachiaria ruziziensis* Germain et Everard e *Pennisetum purpureum* Schum.) a elementos fertilizantes em Latossolo Amarelo Textura Média)**. Belém: IPEAN, 1971. 38p.

SILVA JÚNIOR M. C.; PINTO, F. A. C.; QUEIROZ, D. M. et al. Utilização de um clorofilômetro portátil na detecção do teor de nitrogênio em brachiaria decumbens. **REVENG Engenharia na Agricultura**, Viçosa, MG, v. 21 n. 4. p. 340-350, 2013. <https://doi.org/10.13083/1414-3984.v21n04a03>

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análises de alimentos (métodos químicos e biológicos)**. 3.ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2002. 235p.

SOUZA, P. T. **Inoculação com *Azospirillum brasilense* e adubação nitrogenada em *Brachiaria brizantha* cv. Marandu**. Jataí, 2014. 92p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás, 2014.

STEEL, R. G. D.; TORRIE, J. H.; DICKY, D. A. **Principles and Procedures of Statistics, A Biometrical Approach**. McGraw Hill, Inc. Book Co., New York, 352-358, 1997.

VILLAR, F. M. M.; PINTO, F. A. C.; FONSECA, D. M. et al. Production efficiency and nitrogen concentration in palisade grass, signal grass and convert grass submitted to nitrogen. **Bioscience Journal**, v. 31, n. 5, p. 1333-1340, 2015. <https://doi.org/10.14393/BJ-v31n5a2015-26338>

WITHAM, F. H.; BLAYDES, D. F.; DEVLIN, R. M. **Experiments in plant physiology**. New York: D. V. Nostrand, 1971. 58 p.

XUE, A. O. et al. Effect of phosphorus fertilization to P uptake and dry matter accumulation in soybean with different P efficiencies. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 13, n. 2, p. 326-334, 2014. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(13\)60390-1](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(13)60390-1).