

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA

APLICAÇÃO DE *Azospirillum* sp EM DIFERENTES SISTEMAS DE MANEJO
DE PASTAGEM

GUILHERME CARDOSO COSTA

Uberlândia - MG
Abril – 2013

GUILHERME CARDOSO COSTA

APLICAÇÃO DE *Azospirillum* sp EM DIFERENTES SISTEMAS DE MANEJO DE PASTAGEM

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de Agronomia, da Universidade Federal de Uberlândia, para obtenção do grau de Engenheiro Agrônomo.

Orientadora: Profa. Dra. Regina Maria Quintão Lana

Co-orientadora: Dra. Adriane de Andrade Silva

Uberlândia - MG
Abril - 2013

GUILHERME CARDOSO COSTA

APLICAÇÃO DE *Azospirillum* sp EM DIFERENTES SISTEMAS DE MANEJO DE PASTAGEM

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de Agronomia, da Universidade Federal de Uberlândia, para obtenção do grau de Engenheiro Agrônomo.

Aprovado pela Banca Examinadora em 11 de abril de 2013.

Profa. Dra. Regina Maria Quintão Lana
Orientadora

Dra. Adriane de Andrade Silva
Co-orientadora
Membro da Banca

Eng. Agr^a. Carolina Prudente
Membro da Banca

Sumário

1. - Introdução Geral

Na década de 1970, houve uma grande expansão da produção pecuária devida, especialmente, ao baixo valor das terras, às ofertas de crédito e ao surgimento de espécies forrageiras com alta capacidade de adaptação ao clima e à baixa fertilidade dos solos.

Atualmente, a atividade de pecuária bovina é responsável por mais de 44% do rebanho nacional, e esse rebanho tem nas pastagens cultivadas sua principal fonte alimentar (MOREIRA e ASSAD, 1997). No entanto, a degradação das pastagens tem sido um grande problema para a pecuária brasileira, por ser essa desenvolvida basicamente em pastos, afetando diretamente a sustentabilidade do sistema produtivo. A degradação de pastagem é atualmente um grande problema encontrado na pecuária brasileira. A alta lotação de animais por hectare, a falta reposição de nutrientes e o não controle de ervas daninhas, fazem com que esse processo de degradação se acentue cada vez mais.

A adubação tem sido indispensável na formação, na manutenção e na recuperação das pastagens e, de modo particular, a adubação nitrogenada tem sido uma das maiores necessidades nos casos de pastagens exclusivas de gramíneas, quando se trata da recuperação de áreas degradadas. Desse modo, todos os nutrientes das plantas podem ser limitantes em determinada condição de pastagem, mas tem sido frequente a limitação por N. (MYERS & ROBBINS, 1991; SOARES FILHO, 1993).

Dentre os nutrientes, o nitrogênio é o principal macronutriente limitante à produtividade da pastagem. O nitrogênio age como indutor de processos metabólicos, que resultam em efeitos marcantes na produção de matéria seca e energia para gramíneas e

leguminosas forrageiras, provocando o crescimento diferenciado de órgãos e sistemas.

Existe um interesse crescente pelo uso de inoculantes contendo bactérias que promovem o crescimento e incrementam a produtividade de plantas, devido ao alto custo dos fertilizantes químicos e a uma conscientização em prol de uma agricultura sustentável e menos poluente. Sabe-se que existem interações entre o nitrogênio e os efeitos de bactérias diazotróficas, promotoras de crescimento na assimilação e utilização desse nutriente (Myers e Robbins (1991), podendo ser essa uma forma de diminuir custos e elevar a produtividade em gramíneas.

As primeiras associações de bactérias promotoras de crescimento com gramíneas identificadas foram as de bactérias aeróbias do gênero *Beijerinckia* spp. Com a cana-de-açúcar e *Azotobacter paspali* com a grama batatais (*Paspalum notatum*) (DÖBEREINER, 1995 e 1997). Até então, várias destas associações já foram identificadas, sendo a maioria, em regiões de clima tropical e subtropical onde as temperaturas do solo são mais favoráveis aos processos microbiológicos durante todo o ano, sendo várias as culturas envolvidas (BARRAQUIO et al., 1997).

O gênero *Azospirillum* abrange um grupo de Bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) de vida livre que é encontrado em quase todos os lugares da terra; há relatos, também, de que as bactérias desse gênero podem ser endofíticas facultativas (DÖBEREINER & PEDROSA, 1987; HUERGO ET AL., 2008).

Para amenizar esses índices de degradação de pastagem, vem sendo realizado estudos com bactérias do gênero *Azospirillum* fazendo com que diminua o uso de nitrogenados no solo.

Este trabalho objetivou estudar o efeito do *Azospirillum* sp em diferentes sistema de manejo de pastagem e milho, aplicado no solo.

2. - Revisão Bibliográfica

Degradação das pastagens é definida por Macedo (1993) e Macedo e Zimmer (1993), como sendo o 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 invasoras, culminando com a degradação avançada dos recursos naturais, em razão de manejos inadequados.

Segundo Macedo (1995), a degradação de forragens pode ser considerada conforme as seguintes etapas: implantação e estabelecimento das pastagens; utilização das pastagens (ação climática e biótica, práticas culturais e de manejo); queda do vigor e da produtividade - efeito na capacidade suporte; queda na qualidade nutricional - efeito no ganho de peso do animal; degradação de recursos naturais. É de conhecimento

de todos a baixa fertilidade dos solos sob pastagens no Brasil, principalmente nas regiões do cerrado e da Amazônia. Partindo-se do fato de que a quantidade

de minerais disponíveis nesse solo é muito baixo, pode-se inferir que o crescimento inicial a partir do estabelecimento da forrageira implica na imobilização de grande parte desses minerais na massa da forrageira produzida (NASCIMENTO JÚNIOR et al., 1994).

Segundo Myers e Robbins (1991) a deficiência de nitrogênio (N) é uma das principais causa de degradação de pastagens cultivadas de gramíneas e é acentuada quando o manejo da pastagem não favorece a reciclagem de nutrientes.

A adubação, especialmente a nitrogenada, é fundamental para o aumento da produção de biomassa. Muitos pesquisadores reportam aumento da produtividade de biomassa mediante a utilização de adubação nitrogenada (PACIULLO et al., 1998; OLIVEIRA, 2002; GARCEZ NETO et al., 2002).

O uso de fertilizantes nitrogenados, tem sido uma das peças chave no manejo de pastagem, o qual, tem provocado aumento na produtividade das pastagens, retornando maior lucro ao produtor. Com a aplicação dos fertilizantes nitrogenados tem-se encontrado boa resposta, quando a planta se encontra em um ambiente, no qual, não se apresenta fatores limitantes ao seu desenvolvimento como fertilidade do solo ou fatores climáticos. (Myers e Robbins (1991).

O aumento da produção de forragem com a aplicação de nitrogênio ocorre de forma linear e crescente. O potencial de resposta das gramíneas forrageiras à adubação nitrogenada é um aspecto importante na escolha de cultivares para sistemas intensivos (VICENTE-CHANDLER, 1974; GOMIDE, 1989).

Vicente-Chandler (1973), trabalhando doses de nitrogênio de 0 a 1792 Kg N.ha⁻¹ com *P. maximum* e outras seis espécies de forrageiras, encontrou que esses propiciam expressivas respostas à adubação até o máximo nível estudado. O colônio mostrou-se mais produtivo que o gordura e o pangola, mas inferior ao capim elefante em altos níveis.

O nitrogênio é o nutriente mais consumido no mundo, sob forma de fertilizantes. No Brasil, o consumo de nitrogênio é de 1.177.000 t/ano (ANDA, 1995). A fonte de nitrogênio mais difundida e usada no Brasil, principalmente

no Sul do país, é a ureia. No entanto, dados de pesquisa indicam perdas por volatilização de até 30,3% do N aplicado em pastagens de clima tropical. Outra fonte de nitrogênio disponível no mercado é o sulfato de amônio, com perdas praticamente nulas, frequentemente menores que 1% do nitrogênio aplicado (ANJOS e TEDESCO, 1976).

De acordo com diversos pesquisadores citados por Kennedy et al. (2004), a ureia é a forma de fertilizante mais utilizada pelos agricultores. Porém menos de 50% do fertilizante aplicado é utilizado pelas plantas. Esta baixa eficiência na utilização da ureia pelas plantas é devida principalmente pela volatilização de NH_3 , à desnitrificação e também a perdas por lixiviação. A volatilização e também a desnitrificação poluem a atmosfera através da emissão de gases, que provoca o aumento do efeito estufa, tais como N_2O , NO e NH_3 . Além disso, a lixiviação de NO_3 causa poluição do lençol freático (KENNEDY ET AL., 2004).

Bactérias diazotróficas são microrganismos capazes de realizar a conversão enzimática do nitrogênio gasoso (N_2) a formas acessíveis aos demais eucariotos (NH_3 , etc.). Esses microrganismos podem associar-se a rizosfera de gramíneas (associativos) ou até mesmo colonizar o interior dos tecidos das mesmas (endofíticos) (BALDANI et al., 1987). Além da fixação biológica de nitrogênio, alguns desses microrganismos também possuem a capacidade de promover o crescimento vegetal através da solubilização de fosfatos minerais ou outros nutrientes do solo e produzem, ou alteram, a concentração de hormônios vegetais, como o ácido indol acético, ácido giberélico, citocininas e etileno. Por essas características, essas bactérias foram coletivamente chamadas de rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (CATTELAN, 1999).

A associação de bactérias diazotróficas a gramíneas não exhibe modificação morfológica, conforme se observa na interação entre bactérias diazotróficas do gênero *Rizóbio* e as raízes das plantas leguminosas. Os diazotróficos que habitam a rizosfera e a superfície das raízes utilizam os exudatos radiculares, secreções e lisados como fonte de carbono para fixação de nitrogênio e os números populacionais destes microrganismos podem variar de acordo com as condições ambientais (BAKKER ET al., 1987;

CHANWAY & HOLL, 1994). A capacidade dos endofíticos de colonizar o interior do tecido das plantas, representa uma vantagem em relação aos associativos na utilização de substratos. Possivelmente, com fontes de carbono mais prontamente disponíveis os problemas de competição com não diazotróficos podem ser reduzidos (OLIVARES et al., 1997). Além disso, a colonização endofítica promove proteção às variações ambientais e as elevadas concentrações de oxigênio (O₂), inibidoras da atividade da nitrogenase.

Os principais diazotróficos capazes de se associar com gramíneas são de ocorrência ampla e variada no ambiente e na planta. As espécies mais estudadas são *Azospirillum lipoferum* e *A. brasiliense*. Elas ocorrem em grande abundância no solo, rizosfera e interior dos tecidos de gramíneas. Devido a sua ocorrência generalizada, tanto na superfície, como no interior das plantas, são classificadas como bactérias endofíticas facultativas ou rizosféricas. Algumas estirpes são capazes de colonizar apenas a superfície das raízes, enquanto outras podem colonizar o interior das mesmas (BALDANI et al., 1987).

Azospirillum sp é uma bactéria aeróbia Gram-negativa, que possui grande versatilidade na utilização de fontes de carbono e de nitrogênio, o que permite sua adaptação ao ambiente competitivo da rizosfera. Em condições adversas, tais como dessecação e limitação de nutrientes, esses microrganismos podem formar cistos, facilitando a sobrevivência em condições desfavoráveis (LAMM & NEYRA, 1981; SADASIVAN & NEYRA, 1987). Além de mudanças morfológicas, sob condições de estresse, as bactérias desse gênero podem aumentar a produção de polissacarídeos, que servem de fonte de carbono e energia (TAL et al, 1985).

O gênero *Herbaspirillum* apresenta uma distribuição ecológica mais restrita, a exceção de *H. seropedicae*, que tem sido isolada do solo, superfície e interior de gramíneas e cereais cultivados no Brasil. As bactérias deste gênero são classificadas como endofíticas obrigatórias (JAMES e OLIVARES, 1997), porém assim como ocorre com o gênero *Azospirillum*, existem relatos da ocorrência de *H. seropedicae* no

solo (BALDANI et al., 1986), o que sugere que este diazotrófico não coloniza obrigatoriamente o interior dos tecidos das plantas. Por outro lado, JAMES & OLIVARES (1997) sugerem que o isolamento de *Herbaspirillum* em solo ocorreu devido à contaminação por raízes ou pêlos radiculares no solo examinado. Essas bactérias são Gram-negativas e, em meio de cultura semi-sólido, apresentam células na forma de bastão com 0,6 a 0,7 μm de espessura por 3 a 5 μm de comprimento. Em geral, são curvadas, mostrando movimento espiralóide quando próximas a bolhas de ar (DÖBEREINER et al., 1995).

As bactérias associativas podem contribuir para o aumento do rendimento de diversas culturas. SOBRAL (2003) considerou que a promoção do crescimento vegetal por estas bactérias pode ser resultado tanto de ações indiretas quanto diretas. Em relação às ações indiretas foram citados o controle biológico por competição por nutriente, a produção de sideróforos, a antibiose e a indução de resistência sistêmica no hospedeiro. Como ações diretas estão a disponibilização de nutriente às plantas, a fixação biológica de nitrogênio e a produção de promotores de crescimento das plantas (PCPs).

A habilidade das bactérias diazotróficas em produzir PCPs é considerada como um fator de grande importância para a fertilidade do solo. A maioria dos diazotróficos associados a gramíneas pode sintetizar e excretar PCPs, que são compostos orgânicos que influenciam os processos fisiológicos das plantas em baixas concentrações. Entre os principais PCPs sintetizados pelas bactérias diazotróficas destacam-se as auxinas, que são hormônios responsáveis pelo aumento da área de absorção radicular e pelo desenvolvimento da planta pelo alongamento e proliferação de raízes secundárias. Entre as bactérias diazotróficas produtoras de PCPs destacam-se *Azospirillum lipoferum*, *A. brasiliense* e *Azotobacter spp.* (ASGHAR, 2002).

O uso de bactérias diazotróficas concomitante a fertilizante nitrogenado pode ser promissor para cultivos de gramíneas. Estudos têm demonstrado que as bactérias diazotróficas associativas podem contribuir com, pelo menos, 20 a 40% da quantidade de N requerida por diversos cereais através da FBN

(DÖBEREINER, 1997). Diversos estudos verificaram que a bactéria *Azospirillum* estimula o desenvolvimento das plantas através da produção de PCPs. Dentre os PCPs produzidos, o ácido indol-acético (AIA) e o ácido giberélico podem ser os principais fatores (BASHAN et. al., 2004). GADAGI et.al.(2004) consideraram que a inoculação com *Azospirillum* pode promover significantes mudanças em vários parâmetros de crescimento das plantas, incluindo o aumento de biomassa da planta, absorção de nutrientes, teor de N nos tecidos, altura da planta, tamanho da folha e comprimento e área da raiz de diversas gramíneas. Porém alguns fatores que afetam o tamanho da população tais como as características do solo, interações entre as comunidades bacterianas dos locais, o estágio de crescimento da planta e também do tamanho do inoculo, podem influenciar indiretamente a produção de PCPs.

Pesquisas realizadas demonstram que a inoculação de bactérias diazotróficas em plantas de milho promovem respostas significativas. TILAK et.al. (1981) comprovaram que a inoculação das bactérias *Azospirillum brasiliensis* e *Azotobacter chroococcum* em sementes de milho aumentaram a produção de grãos. O aumento da produção devido à inoculação de duas espécies foi de 16,1% em relação ao tratamento que não recebeu inoculação. O rendimento de grãos foi maior no experimento, em que, junto com os microorganismos, foram adicionados 40 Kg N/ha.

3. - Material e Métodos

3.1 Local do experimento, delineamento experimental e tratamentos

O experimento foi implantado na área experimental da Fazenda Capim Branco pertencente à Universidade Federal de Uberlândia. O clima predominante no município é temperado com estação chuvosa e seca bem definida e a média anual da temperatura é de 22 °C. A fazenda está localizada a 818m de altitude, 18°52'59" de latitude e 48°20'33" de longitude.

A área tem aproximadamente 13 hectares, sendo cinco hectares para área de milho oito para os demais sistemas. Foram feitas parcelas de 400 m², para cada sistema, onde nessa área foram feito os tratamentos.

Foi implantado um delineamento inteiramente casualizado, em quatro sistemas, cada sistema foi avaliado individualmente com tratamentos com e sem inoculação de *Azospirillum* sp em relação as melhorias no incremento de produtividade, e atributos de solo. Os sistemas implantados foram :

- Milho solteiro com sucessão de *Brachiaria brizantha* cv. marandú: com e sem inoculação de *Azospirillum* sp.
- Reforma de pastagem com implantação de *Brachiaria brizantha* cv. piatã: com e

sem inoculação e de *Azospirillum* sp.

- Reforma de pastagem com implantação de *Brachiaria brizantha* cv. piatã consorciada com *Stilosantes* sp. com e sem inoculação de *Azospirillum* sp.
- Manutenção de pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandú com e sem inoculação de *Azospirillum* sp.

3.2 Caracterização dos diferentes sistemas de manejo de pastagem

3.2.1 *Brachiaria brizantha* cv. Piatã

Foi realizado uma fertilização fosfatada no solo com 100 kg ha^{-1} de P_2O_5 , no momento do plantio, para tal foi utilizado como fonte de fósforo o super triplo. Dez dias após o plantio, foi feito a aplicação de 300 mL ha^{-1} do produto Masterfix. Esse produto foi diluído em 20 L de água e aplicado no sulco.

3.2.2 *Brachiaria brizantha* cv. marandú

Foi realizada uma fertilização fosfatada no solo com 100 kg ha^{-1} de P_2O_5 logo após a retirada dos animais do pasto. Dez dias após a adubação fosfatada, foi aplicado o produto Masterfix, o qual foi diluído em água e aplicado via sulco o equivalente a 300 mL ha^{-1} .

3.2.3 Milho

Para realização do plantio do milho, foi feito uma adubação de base para plantio, de acordo com a análise de solo. Foi utilizado o adubo 04-14-08 na proporção de 200 kg ha^{-1} . Imediatamente após o plantio do milho, foi feito a aplicação do produto na dose de 300 mL ha^{-1} , o qual foi diluído em água e aplicado por meio da bomba costal. Após quarenta dias do plantio, foi feito uma adubação de cobertura com 100 kg ha^{-1} de nitrogênio e 100 kg ha^{-1} de potássio, a formulação utilizada foi 20-00-20.

Espécie	pH	P	K +	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H+Al	SB	t	T
V			H ₂ O		-mgdm ⁻³ -			-----cmolcdm ⁻³ -----		

%											
Piatã	5,7	3,1	84	2,0	1,2	0,0	1,6	3,41	3,41	5,01	68
Marand	5,8	1,7	131	2,3	1,4	0,0	1,8	4,04	4,04	5,84	69
ú											
Milho	5,5	1,6	124,0	3,2	1,6	0,0	1,9	5,12	5,12	7,02	73

SB= Soma de Bases/ t= CTC efetiva/ T CTC a pH 7,0;V= Saturação de Base;P= meh⁻¹;P, K= [HCL 0,005 mol L⁻¹ + H₂SO₄ 0,0125 molL⁻¹]; Ca, Mg, Al= [KCL 1 molL⁻¹] / H+Al= [Solução Tampão SMP a pH 7,5] (EMBRAPA, 2009)

3.3 Avaliações

Para as áreas de milho foram avaliados a produtividade de massa verde, seca e análise foliar. Para quantificar a massa verde e seca do milho, foi feito o corte da planta inteira 90 dias após semeadura. A planta foi pesada, secada e quantificada o teor de massa seca. Para análise foliar foi retirada a 4ª folha acima da espiga. Essa folha foi secada na estufa a 65 °C por 48 horas e posteriormente moída

Para as áreas de pastagens foram avaliados o teor de matéria seca, verde e análise foliar. As avaliações foram feitas 40 dias após implantação do experimento. Para o corte foi utilizado um quadrado de 1m² e jogado aleatoriamente sobre a pastagem. Após o corte, a matéria verde foi imediatamente levada ao laboratório de análise de solos da UFU, pesados e levados à estufa à 65°C para secagem. Após 48 horas foram retiradas as amostras e pesadas novamente para determinar o peso de matéria seca. Após determinar o peso de matéria seca, foram feito a moagem das amostras e feito as análises foliares dos tratamentos.

4. - Resultados e Discussão

Observa-se na tabela 1 que em relação a produção de massa verde dos sistemas houve incremento de produtividade somente para os sistemas com

cultivo de milho. Esse fato deve-se mais a diferença de espécie dos cultivos do que a presença ou ausência da aplicação de *Azospirillum* sp. Em relação ao milho com ausência de *Azospirillum* sp apesar de não observar diferença significativa em relação ao milho com presença de *Azospirillum* sp, houve um aumento de 8,9% com a aplicação de *Azospirillum* sp no sulco de semeadura. Aumentos desse valor podem indicar para o produtor rural uma maior disponibilidade de massa verde para alimentação dos animais, sendo que a aplicação da bactéria *Azospirillum* sp ser uma dose baixa (300mLha⁻¹) representando uma tecnologia de baixo custo para ser adotada.

O mesmo comportamento foi observado para massa seca, com incremento de 18,10% no milho em que foi aplicado o inoculante (tabela 1). Em relação à porcentagem de massa seca, observa-se que houve diferença entre os tratamentos com milho, sendo que essa diferença não representa importância biológica em função dessa variável ser a porcentagem de umidade das amostras.

Em relação à *Brachiaria brizantha* cv. marandú, sistema o qual encontrava a pastagem já estabelecida, observou-se que houve um incremento de 28,64% da pastagem inoculada com *Azospirillum* sp em relação à não inoculada. Apesar de não significativa, houve uma elevada diferença na produção da *Brachiaria brizantha* cv. Marandú em relação à *Brachiaria brizantha* cv. Piatã, atribui-se a esse fato ser devido a *Brachiaria brizantha* cv. Piatã ser área recém estabelecida nos 40 dias de ambas, houve essa grande diferença. Segundo JÚNIOR et.al. (2008), A inoculação com *A. amazonense* no milho promoveu maior produção de matéria seca e acúmulo de N nas raízes.

Tabela1- Análise de produtividade de massa seca e verde em diferentes sistemas com e sem aplicação de *Azospirillum* sp

Tratamentos	Massa verde -----kg ha ⁻¹ -----	Massa seca	% Massa seca %
M - A	34800,0 a	13920,0 a	40 a
M + A	37907,0 a	16440,0 a	38 b
BM + A	3427,8 b	1485,33 b	43,3 ab
BM - A	2664,6 b	1200,26 b	45 a
BP + A + E	12243,85 b	4187,4 b	34,2 b

BP + A - E	7003,96 b	2829,6 b	40,4 a
BP - A + E	11019,47 b	4187,4 b	38 b
BP - A - E	9227,89 b	3506,6 b	38 b
CV%	98,0	77,5	3,7
DMS	12000	8130	5,0

M-A Milho sem *azospirillum*; M+A Milho com *azospirillum*; BM+A *Brachiaria brizantha* cv. marandú com *azospirillum*; BM-A *Brachiaria brizantha* cv. marandú sem *azospirillum*; BP+A-E *Brachiaria brizantha* cv. Piatã com *azospirillum* sem estilosante; BP+A+E *Brachiaria brizantha* cv. Piatã com *azospirillum* com estilosantes; BP-A+E *Brachiaria brizantha* cv. Piatã sem *azospirillum* com estilosantes; BP-A-E *Brachiaria brizantha* cv. Piatã sem *azospirillum* sem estilosantes

Na tabela2 observa-se que estatisticamente, houve incremento na produtividade de massa seca e verde apenas na *Brachiaria brizantha* cv. Piatã com o inoculante. Fato esse que se deve à área ser recém-implantada. Comparando-se a *Brachiaria brizantha* cv. Marandú houve um incremento de 19% na massa seca quando feito uso do inoculante. Já na área da *Brachiaria brizantha* cv. Piatã consorciada com estilosantes e inoculada o aumento foi de 42% quando se comparada com a área sem estilosantes. Comparando a área inoculada com estilosantes com a área sem inoculação com estilosantes não houve incremento nenhum no teor de massa seca. Esses resultados mostram que o estilosantes obteve um resultado positivo no consórcio com a gramínea braquiária, porém a inoculação não mostrou resultados.

Tabela 2 - Análise de produtividade de massa seca e verde em pastagem com e sem aplicação de *Azospirillum* sp.

Tratamentos	Massa verde	Massa seca	% Massa seca
	-----kg ha ⁻¹ -----	-----	%
BM + A	3427,8 b	1485,33	43,3 a
BM - A	2664,6 b	1200,26	45 a
BP + A + E	12243,85 a	4187,4	34,2 b
BP + A - E	7003,96 b	2829,6	40,4 a
BP - A + E	11019,47 a	4187,4	38 b
BP - A - E	9227,89 a	3506,6	38 b
CV%	78,0	56,0	2,8
DMS	5100	4572	4,5

BM+A *Brachiaria brizantha* cv. marandú com *azospirillum*; BM-A *Brachiaria brizantha* cv. marandú sem *azospirillum*; BP+A-E *Brachiaria brizantha* cv. Piatã com *azospirillum* sem estilosante; BP+A+E *Brachiaria brizantha* cv. Piatã com *azospirillum* com estilosantes; BP-A+E *Brachiaria brizantha* cv. Piatã sem *azospirillum* com estilosantes; BP-A-E *Brachiaria brizantha* cv. Piatã sem *azospirillum* sem estilosantes

A tabela 3 mostra que com o uso do inoculante tanto no milho, quanto na braquiária, os teores de nitrogênio foram satisfatórios. No milho o incremento foi de 6 %, no capim marandú esse aumento foi ainda maior com 14% de incremento, já no piatã consorciado foi de apenas 2%, e no piatã sem consórcio não houve efeito. Para esses resultados é observado que apenas no milho, houve diferença significativa. JUNIOR et.al. (2008) observou que a inoculação com as estirpes juntamente com adubação nitrogenada de 60kg ha^{-1} , houve um incremento de 103,82% no teor de matéria seca em relação à testemunha, porém não houve diferença no teor de nutrientes na análise foliar.

Tabela3- Análise de teores de nutrientes em diferentes sistemas com e sem aplicação de *Azospirillum* sp.

Tratamentos	N	P	K	Ca	Mg	S
	-----g kg ⁻¹ -----					
M - A	27,56 ab	2,86 a	31,83 a	3,8 a	2,06 b	7,0 b
M + A	29,33 a	2,90 a	33,60 a	3,4 ab	2,23 b	9,1 b
BM + A	18,9 d	2,5 b	16,0 c	3,8 a	3,3 b	7,8 b
BM - A	16,1 d	2,0 c	19,0 c	3,5 a	2,5 b	13,5 a
BP + A + E	25,2 b	2,1 bc	21,5 b	2,2 b	5,2 a	12,4 b
BP + A - E	24,5 c	1,9 c	26,0 b	2,0 b	4,2 a	12,5 b
BP - A + E	23,8 c	1,9 c	24,0 b	2,4 b	4,0 a	12,1 b
BP - A - E	23,8 c	2,7 ab	27,0 a	2,4 b	2,8 b	29,3 a
CV%	15	3	34	7,2	6,0	43
DMS	4,2	0,4	5,2	1,4	1,3	6,3

M-A Milho sem *azospirillum*; M+A Milho com *azospirillum*; BM+A *Brachiaria brizantha* cv. marandú com *azospirillum*; BM-A *Brachiaria brizantha* cv. marandú sem *azospirillum*; BP+A-E *Brachiaria brizantha* cv. Piatã com *azospirillum* sem estilossante; BP+A+E *Brachiaria brizantha* cv. Piatã com *azospirillum* com estilossantes; BP-A+E *Brachiaria brizantha* cv. Piatã sem *azospirillum* com estilossantes; BP-A-E *Brachiaria brizantha* cv. Piatã sem *azospirillum* sem estilossantes

5.- Conclusões

Os resultados indicam que o azospirillum apresenta potencial para promover incrementos na produtividade das gramíneas.

6.- Referências Bibliográficas

ANDA. Anuário Estatístico Setor de Fertilizantes. 1995. **Associação nacional para difusão de adubos e corretivos agrícolas**. 1995. São Paulo, ANDA. 151p.

ANJOS, J.T., TEDESCO, M.J. 1976. **Volatilização de amônia proveniente de dois fertilizantes nitrogenados aplicados em solos cultivados**. Científica, 4(1):49-55

ASGHAR, H.N.; ZAHIR, Z.A.; ARSHAD, M.; KHALIQ, A. Relationship between *in vitro* production of auxins by rhizobacteria and their growth-promoting activities in *Brassica juncea*L. **Biology and Fertility of Soils**, Berlen, v.35, n.4,p.231-237, 2002

BAKKER, P. A.; BAKKER, H. M.; MARUGG, A. W.; WEISBECK, J. D.; SCHIPPERS, P. J. Bioassay for studying the role of siderophores in potato stimulation by *Pseudomonas* spp. in short potato rotations. **Soil Biol. Biochem.**, Oxford, v.19, p.443-449, 1987.

BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I.; DÖBEREINER, J. Inoculation of field-grown wheat (*Triticum aestivum*) with *Azospirillum* spp. In Brazil. **Biol. Fertil. Soils**, Berlin, v.4, p.37-40, 1987.

BALDANI, J.L.; BALDANI, V.L.; SELDIN, L.; DÖBEREINER, J. Characterization of *Herbaspirillum seropedicae*. nov., sp. nov., a root associated nitrogen fixing bacterium. **Intern. J. Syst. Bacteriol**, Washington, v.36, p.86-93, 1986.

BARRAQUIO, W.L.; LADHA, J.K. & REVILLA, L. **Isolation of endophytic diazotrophic bacteria from wetland rice**. Plant Soil, 194:15-24, 1997.

BASHAN, Y.; HOLGUIN, G.; BASHAN, L.E. *Azospirillum*-plant relationships: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances(1997-2003). **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v.50, p.521-577,2004.

CATTELAN, A. J. **Métodos quantitativos para determinação de características bioquímicas e fisiológicas associadas com bactérias promotoras do crescimento vegetal**. Londrina: EMBRAPA/Soja, 1999. 36p.

CHANWAY, C. P.; HOLL, F. B. **Growth of outplanted lodgepole pine seedlings one year after inoculation with growth promoting rhizobacteria.** Forest Science, v.40, p.238-246, 1994.

DÖBEREINER J. Biological nitrogen fixation in the tropics: social and economics contributions **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.29, n.5/6p. 771-774, 1997

DÖBEREINER, J.; BALDANI, V.L.D.; BALDANI, J.I. **Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não leguminosas.** Brasília: Embrapa-SPI, 1995. 60p

DÖBEREINER, J.; PEDROSA, F.O. **Nitrogenfixing bacteria in non leguminous crop plants.** Science Tech, Springer Verlag, Madison, USA, 1987. p. 1-155.

FARIA, V.P. (eds.). **Simpósio sobre manejo de pastagem**, 11, Piracicaba, 1994. *Anais...* Piracicaba: FEALQ, 1994. 325p

GADAGI, R.S.; KRISHNAJ, P.U.; KULKARNI,J.H.;AS, T. **The effect of combined *Azospirillum* inoculation and nitrogen fertilizer on plant growth promotion and yield response of the blanket flower *Gaillardia pulchella*.** *Scientia Horticulturae*, Amsterdam, v. 100, p. 323-332, 2004.

GARCEZ NETO, A.F.; NASCIMENTO JR., D.; REGAZZI, O. et al. Respostas morfogênicas e estruturais de *Panicum maximum* cv. Mombaça sob diferentes níveis de adubação nitrogenada e alturas de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, p.1890-1900, 2002.

GOMIDE, J.A. **Aspectos biológicos e econômicos da adubação de pastagens.** In: SIMPÓSIO SOBRE ECOSISTEMAS DE PASTAGENS, 1989, Jaboticabal. *Anais...* Jaboticabal: Fundação Universidade Estadual Paulista, 1989. p.237-270.

HUERGO, L.F.; MONTEIRO, R.A.; BONATTO,A.C.; RIGO, L.U.; STEFFENS, M.B.R.; CRUZ, L.M.; CHUBATSU, L.S.; SOUZA, E.M.; PEDROSA, F.O. **Regulação a fixação de nitrogênio em *Azospirillum brasilense*.** In: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. *Azospirillum* sp.:Fisiologia celular, as interações de plantas e pesquisa agrônômica na Argentina. Associação Argentina de Microbiologia, Argentina, 2008. p.17-35.

JAMES, E.K.; OLIVARES, F.L. Infection and colonization of sugar cane and other gramineous plants by endophytic diazotrophs. **Crit. Rev.Pl. Sci.** Amsterdam, v.17, n.1, p.77-119, 1997.

JÚNIOR, F.B.R. **Inoculação de *azospirillum amazonense* em dois genótipos de milho sob diferentes regimes de nitrogênio.** São Pulo: Revista brasileira de ciência do solo, p. 1139-1146, 2008.

KENNEDY, I.R.; CHOUDHURY, A.T.M.A.; KECSKÉS, M.L. **Non-symbiotic bacterial diazotrophs** in crop-farming systems: can their potential for plant growth promotion be better exploited? *Soil biology and Biochemistry*. Oxford, v.36, n.8, p.1229-1245, 2004.

KENNEDY, I.R.; CHOUDHURY, A.T.M.A.; KECSKÉS, M.L. **Non-symbiotic bacterial diazotrophs** in crop-farming systems: can their potential for plant growth promotion be better exploited? *Soil biology and Biochemistry*. Oxford, v.36, n.8, p.1229-1245, 2004.

LAMM, R. B.; NEYRA, C. A. Characterization and cyst production of *Azospirilla* isolated from selected grasses growing in New Jersey and New York. *Can. J. Microbiol.*, Ottawa, v.27, p.1320-1325, 1981.

MACEDO, M.C.M. **Pastagens no ecossistema do Cerrado: pesquisas para o desenvolvimento sustentável**. In: Andrade, R.P.; Barcelos, A.O.; Rocha, C.M.C. (eds.). SIMPÓSIO SOBRE PASTAGENS NOS ECOSISTEMAS BRASILEIROS – PESQUISAS PARA O DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL, 32, Brasília, 1995. Anais... Brasília: SBZ, 1995. p.28-62.

MACEDO, M.C.M. **Recuperação de áreas degradadas: pastagens e cultivos intensivos**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIAS DO SOLO, 7, Goiânia, 1993. Anais... Goiânia: SBSC, 1993. p.71-72.

MACEDO, M.C.M.; ZIMMER, A.H. **Sistema pasto-lavoura e seus efeitos na produtividade agropecuária**. In Favoretto, V.; Rodrigues, L.R.A.; Reis, R.A. (eds.). SIMPÓSIO SOBRE ECOSISTEMAS DE PASTAGENS, 2, 1993, Jaboticabal. Anais... Jaboticabal: FUNEP, UNESP, 1993. p.216-245.

MOREIRA, L.; ASSAD, E. D. **Segmentação e classificação supervisionada para identificar pastagens degradadas**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1997.

MYERS, R.K.; ROBBINS, G.B. **Sustaining productive pastures in the tropics. 5. Maintaining productive sown grass pastures**. *Tropical Grasslands*, v.25, n.2, p.104-110, 1991.

NASCIMENTO JÚNIOR, D.; QUEIROZ, D.S.; SANTOS, M.V.F. **Degradação das pastagens e critérios para avaliação**. In: Peixoto, A.M.; Moura, J.C., Piracicaba 1994

OLIVARES, F. L.; JAMES, E. K.; BALDANI, J. I.; DÖBEREINER, J. Infection of mottled stripe disease susceptible and resistant varieties of sugar cane by endophytic diazotroph *Herbaspirillum*. *New Phytol.*, Oxford, v.135, p.723- 737, 1997.

OLIVEIRA, M.A. **Características morfofisiológicas e valor nutritivo de gramíneas forrageiras do gênero *Cynodon* sob diferentes condições de irrigação, fotoperíodo, adubação nitrogenada e idades de rebrota.** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2002. 142p. Dissertação (Doutorado) – Universidade Federal de Viçosa, 2002.

PACIULLO, D.S.C.; GOMIDE, J.A.; RIBEIRO, K.G. **Adubação nitrogenada do capim-elefante cv. Mott. 1. Rendimento forrageiro e características morfofisiológicas ao atingir 80 e 120 cm de altura.** Revista Brasileira de Zootecnia, v.27, p.1069-1075, 1998.

Sadasivan L. and Neyra C.A. 1987. **Cyst production and brown Upaichit A. 1998. Construction and physiological analysis of a pigment formation in aging cultures of *Azospirillum brasilense*Xanthomonas mutant to examine the role of the oxyR gene in ATCC 29145.** J. Bacteriol. 169: 1670–1677.

SOARES FILHO, C.V. **Tratamento físico-químico, correção e adubação para recuperação de pastagens.** In: ENCONTRO SOBRE RECUPERAÇÃO DE PASTAGENS, 1., 1993, Nova Odessa. Anais... Nova Odessa: Instituto de Zootecnia, 1993. p.79-117.

SOBRAL, JK. **A comunidade bacteriana endofítica e epifítica de soja (*Glycine Max*) e estudo da interação endófitos-planta.** Piracicaba: ESALQ, 2003. 174 f. Tese (Doutorado)- Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiros”, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

TAL, S.; OKON, Y. **production of the reserve material poly-b-hydroxybutyrate and its function in *Azospirillum brasiliense* Cd.** Can. J. Microbiol., Ottawa, v.31, p.608-613, 1985.

TILAK, K.V.B.R.; LI, C.Y.; HO, I. **Occurrence of nitrogen-fixing *Azospirillum* in a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi.** Plant and Soil, Dordrecht, v.116, p.286-288, 1989.

VICENTE-CHANDLER, J. **Fertilization of humid tropical grasslands.** In: MAYS, D.A. (Ed.) Forage fertilization. Madison:ASA-CSA-SSSA, 1974. p.277-300.

VICENTE-CHANDLER, J. **Intensive grassland management** in Puerto rico. R. da Sociedade Brasileira de Zootecnia, v.2, n.2, p.173-215, 1973.

ZIMMER, A.H.; MACEDO, M.C.M.; BARCELLOS, A.O.; KICHEL, A.N. **Estabelecimento e recuperação de pastagens de *Brachiaria*.** In: Peixoto, A.M.; Moura, J.C.; Faria, V.P. (eds.). SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DE PASTAGEM, 11, Piracicaba, 1993. Anais... Piracicaba: FEALQ, 1993. 325p.

