

Características produtivas e nutricionais do capim-xaraés inoculado com bactérias diazotróficas associativas

[*Productive and nutritional characteristics of Xaraés grass inoculated with diazotrophic associative bacteria*]

C.K. Bosa¹, S.L. Guimarães^{2*}, A.C. Polizel², E.M. Bonfim-Silva², E.L. Canuto³

¹Aluna de pós-graduação – Universidade Federal de Mato Grosso – UFMT – Rondonópolis, MT

²Universidade Federal de Mato Grosso – UFMT – Cuiabá, MT

³Ciência e Tecnologia de Mato Grosso – IFMT – Cuiabá, MT

RESUMO

O objetivo do trabalho foi avaliar as características produtivas e nutricionais do capim-xaraés inoculado com bactérias diazotróficas associativas, em primeiro cultivo em Latossolo Vermelho do Cerrado. O experimento foi realizado em casa de vegetação. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, constituído por fatorial 6x3: três estirpes de bactérias diazotróficas associativas (MTAz8, MTH2 e Y2), uma combinação das estirpes MTAz8 e MTH2, adubação nitrogenada e testemunha absoluta, e três cortes (30, 60 e 90 dias), em cinco repetições. A inoculação foi feita por meio da inserção de uma alíquota de 5mL de caldo bacteriano contendo 10^8 células mL⁻¹ no solo próximo ao sistema radicular. As variáveis avaliadas foram: massa seca da parte aérea, porcentagem de proteína bruta, acúmulo e concentração de nitrogênio na parte aérea e determinação do número de bactérias diazotróficas do solo. No tratamento adubado com nitrogênio, a produção de massa seca aumentou ao longo dos cortes. Entre as estirpes de bactérias associativas, a Y2 apresentou maior acúmulo de nitrogênio e maior população de bactérias no meio de cultura LGI. As características nutricionais do capim-xaraés decaíram à medida que foram realizados os cortes.

Palavras-chave: *Brachiaria brizantha*, fixação biológica de nitrogênio, Cerrado

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate yield and nutritional characteristics of Xaraés grass inoculated with diazotrophic associative bacteria in the first cultivation in the Cerrado Oxisol. The experiment was conducted in the greenhouse. The experimental design was completely randomized factorial 6x3 consisting of: three strains of diazotrophic associative bacteria (MTAz8, MTH2 and Y2), a combination of strains MTAz8 and MTH2, nitrogen fertilization and absolute control, and three cuts (30, 60 and 90 days) in five replicates. The inoculation was performed by inserting an aliquot of 5ml of the bacterial broth containing 10^8 cells mL⁻¹ in the soil near the root zone of each plant. The variables evaluated were: dry weight of shoot, crude protein, accumulation and nitrogen concentration in the shoot and determining the number of nitrogen-fixing bacteria in the soil. The fertilized soil dry matter production increased over the cuts. Among the strains Y2 showed higher accumulation of nitrogen and largest population of bacteria in the middle of the LGI culture. The nutritional characteristics of Xaraés grass declined as the cuts were made.

Keywords: *Brachiaria brizantha*, biological nitrogen fixation, Cerrado

Recebido em 19 de março de 2015

Aceito em 18 de fevereiro de 2016

*Autor para correspondência (*corresponding author*)

E-mail: slguimaraes@ufmt.br

INTRODUÇÃO

As pastagens são de suma importância nos sistemas pecuários brasileiros e, mesmo assim, em 197 milhões de hectares de pastagens, aproximadamente 70 milhões delas estão em processo de degradação ou degradadas (Dias - Filho, 2011).

O nitrogênio é o principal nutriente para a manutenção da produtividade e a persistência das gramíneas forrageiras. Sua deficiência é apontada como a principal causa de redução na produtividade e degradação das áreas cultivadas, pois o crescimento e o desenvolvimento da planta tornam-se lentos, a produção de perfilhos é negativamente afetada e o teor de proteína torna-se deficiente para o atendimento das exigências do animal (Alexandrino *et al.*, 2010; Brambilla *et al.*, 2012).

Uma das formas de tentar minimizar os impactos oriundos das aplicações, muitas vezes desordenadas, dos adubos nitrogenados seria a disponibilização do nitrogênio atmosférico por meio da fixação biológica de nitrogênio (FBN) realizada por bactérias diazotróficas, as quais desempenham papel importante na agricultura, pois reduzem o custo de produção das culturas (Reis Júnior *et al.*, 2008; Guimarães *et al.*, 2013). As bactérias diazotróficas associativas são encontradas em diferentes espécies vegetais, incluindo representantes da família Poacea (Bhattacharjee *et al.*, 2008; Moreira *et al.*, 2010).

As associações entre bactérias diazotróficas e as raízes de gramíneas têm sido tema de pesquisas no mundo todo, devido ao seu potencial biotecnológico, evidenciado no aumento da produtividade das culturas, à possibilidade de redução dos custos de produção ao diminuir o volume de adubos nitrogenados que são aplicados e, conseqüentemente, à melhor conservação dos recursos ambientais (Moreira *et al.*, 2010).

Muitos avanços foram realizados na pesquisa sobre bactérias diazotróficas associativas, todavia ainda há muito a ser feito, desde estudos sobre os microrganismos e os processos envolvidos na associação com as plantas hospedeiras até a aplicação dessa biotecnologia pelos agricultores (Sala *et al.*, 2007).

Assim, objetivou-se avaliar as características produtivas e nutricionais do capim-xaraés inoculado com bactérias diazotróficas associativas, em primeiro cultivo em Latossolo Vermelho do Cerrado.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação da Universidade Federal de Mato Grosso, *Campus* Universitário de Rondonópolis, no período de junho a setembro de 2014.

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, constituído por fatorial 6x3, correspondente a seis tratamentos: três estirpes de bactérias diazotróficas associativas (MTAz8, MTH2 e Y2), uma combinação das estirpes MTAz8 e MTH2, adubação nitrogenada (com nitrogênio, fósforo e potássio) e testemunha absoluta e três cortes (30, 60 e 90 dias), em cinco repetições.

O solo utilizado foi um Latossolo Vermelho distrófico (Sistema... 2013), coletado na camada de 0-0,20m, em área de primeiro cultivo. Para a composição das unidades experimentais, o solo foi peneirado em malha de 4mm de abertura e acondicionado em vasos plásticos com capacidade de 7,5dm³.

Após a coleta, uma amostra de solo foi peneirada em malha de 2mm para realização das análises químicas e granulométricas conforme metodologia proposta pela Sistema (2013), apresentando as seguintes características químicas e físicas: pH (CaCl₂): 4,1; P (mg dm⁻³) = 2,4; K (mg dm⁻³) = 28mg dm⁻³; Ca (cmolc dm⁻³) = 0,3; Mg (cmolc dm⁻³) = 0,2; H (cmolc dm⁻³) = 4,2; Al (cmolc dm⁻³) = 1,1; SB (cmolc dm⁻³) = 0,6; CTC (cmolc dm⁻³) = 5,9; V (%) = 9,8; matéria orgânica (g dm⁻³) = 22,7; areia (g kg⁻¹) = 549; silte (g kg⁻¹) = 84; argila (g kg⁻¹) = 367.

De acordo com a análise de solo, verificou-se a necessidade de calagem, utilizando-se o método de saturação por bases para elevação a 45%, com a incorporação de calcário dolomítico (PRNT = 80,3%), permanecendo incubado por um período de 30 dias. Tanto no período de incubação quanto na condução do experimento, a umidade do solo foi mantida a 60% da capacidade máxima de retenção de água, por método

gravimétrico, de acordo com Bonfim-Silva *et al.* (2011).

Após a calagem, foi realizada a adubação de implantação com fósforo e potássio nas recomendações de 200 e 150mg dm⁻³, cujas fontes foram, respectivamente, superfosfato simples e cloreto de potássio. A adubação de implantação foi realizada em todas as parcelas experimentais, exceto a testemunha absoluta. A recomendação do nitrogênio para o tratamento adubação nitrogenada foi de 200mg dm⁻³, o qual foi parcelado em duas aplicações: a primeira quando a planta tinha 10cm, e a segunda após sete dias da primeira, sendo utilizada a ureia como fonte (Bezerra *et al.*, 2014).

A adubação com os micronutrientes foi realizada utilizando-se uma solução contendo ácido bórico, cloreto de cobre, cloreto de zinco e molibdato de sódio, nas doses de 1,5; 2,5; 2,0 e 0,25mg dm⁻³, respectivamente (Bonfim-Silva *et al.*, 2007).

A gramínea forrageira utilizada foi a *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés, e as sementes foram semeadas, após quebra da dormência pela imersão em água, à temperatura ambiente por 24 horas, em bandejas plásticas contendo areia lavada.

Foram transplantadas 10 plantas por unidade experimental, selecionando-se as mais homogêneas. Quando as plantas atingiram 10cm de altura, realizou-se o desbaste, deixando cinco plantas por vaso. Após o desbaste, todas as parcelas experimentais receberam os tratamentos (adubação nitrogenada e inoculantes).

Para produzir o inoculante, a estirpe Y2 foi multiplicada em meio líquido LGI (Döbereiner *et al.*, 1995), e as estirpes MTAz8 e MTH2 foram multiplicadas em meio líquido DYGS (Döbereiner *et al.*, 1995) sob agitação de 100rpm a 30°C, durante 24 horas. Posteriormente ao crescimento, uma alíquota de 5mL de caldo bacteriano contendo 10⁸ células mL⁻¹ foi aplicada no solo próximo à área radicular de cada planta.

Foram realizados três cortes da parte aérea das plantas, com intervalo de 30 dias. Após cada corte, foi reaplicada a adubação nitrogenada (100mg dm⁻³ de N) apenas para o tratamento adubação nitrogenada e adubação potássica (200mg dm⁻³ de K₂O) para todos os tratamentos,

exceto a testemunha absoluta, na forma de ureia e cloreto de potássio, respectivamente. Também foram reinoculados 5mL de caldo bacteriano contendo 10⁸ células mL⁻¹ nos tratamentos correspondentes à inoculação.

A coleta dos dados foi realizada em três avaliações, cada uma acompanhada de um corte. Aos 30 dias após o transplantio, foi realizado o primeiro corte das plantas a 5cm da superfície do solo, coletando apenas a parte aérea e deixando 5cm residuais para possibilitar a rebrota, conforme descrito por Bonfim-Silva *et al.* (2007).

Esse procedimento também foi mantido no segundo corte, 60 dias após o transplantio. No terceiro corte (90 dias após transplantio), as plantas foram cortadas rente ao solo.

As variáveis analisadas foram: massa seca da parte aérea, porcentagem de proteína bruta, concentração e acúmulo de nitrogênio na parte aérea e número de bactérias diazotróficas associativas no solo em relação ao meio de cultura LGI e NFb (Döbereiner *et al.*, 1995).

A parte aérea das plantas foi acondicionada em sacos de papel, identificados e levados à estufa para secagem a 65°C, por 72 horas, ou até massa constante. Posteriormente, esse material foi pesado em balança semianalítica para obtenção da massa seca. Após a secagem e a pesagem, as amostras foram moídas em moinho tipo Willey, com peneiras de diâmetro de 1mm. As lâminas foliares, colmo+bainha e raízes foram submetidos à análise de nitrogênio e proteína bruta segundo o método de Kjeldahl, descrito por Malavolta *et al.* (1997).

Para determinação do número de bactérias diazotróficas associativas presentes no solo, antes do preenchimento das unidades experimentais, foi retirada uma amostra representativa do solo para determinar o número de bactérias presentes no solo antes do preparo do solo e implantação dos tratamentos, e após cada corte foi retirada uma amostra homogênea de 10g de solo de cada unidade experimental.

As amostras de 10g de solo foram transferidas para frascos contendo 90mL de solução salina, que permaneceram sob agitação constante para fragmentação dos agregados. Em seguida, 1mL dessa solução foi utilizado para a realização das

diluições seriadas de 10^2 a 10^5 em tubos de ensaio contendo 9mL de solução salina, e, de cada diluição, 0,1mL foi inoculado em 5mL dos meios semissólido, LGI e NFb em três repetições.

Os frascos inoculados foram incubados por cinco dias, a 30°C, sendo considerados positivos para a contagem aqueles que apresentaram a formação da película característica produzida por esses microrganismos.

A contagem da população de bactérias diazotróficas foi realizada por meio da técnica do número mais provável (NMP), baseada na presença da película formada no meio semissólido, utilizando-se a tabela de McCrady para três repetições por diluição (Döbereiner *et al.*, 1995), e os valores obtidos sofreram transformação logarítmica.

Todos os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, e, para as médias dos tratamentos, foi utilizado o teste t de contrastes ortogonais a 5% de probabilidade. No caso de significância da interação tratamentos x cortes, realizou-se o seu desdobramento. As análises estatísticas foram realizadas pelo programa estatístico SISVAR (Ferreira, 2008). As variáveis microbiológicas foram transformadas por $(X+1)^{0,5}$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com relação à massa seca da parte aérea (Tab. 1), para os contrastes C1 e C2, observou-se diferença significativa para os três cortes. No contraste C1 para o primeiro corte, observou-se que a adubação nitrogenada e a testemunha absoluta produziram, em média, 3,48g vaso⁻¹ a menos que os tratamentos inoculados. Houve acréscimo na produção ao longo dos cortes para os contrastes C1 e C2. No que diz respeito aos contrastes entre tratamentos inoculados, não houve diferença estatística.

Os dados dos contrastes C1 e C2 demonstram que o tratamento que utilizou adubo nitrogenado apresentou maior produção do capim-xaraés ao longo dos cortes em relação aos tratamentos que não fizeram seu uso.

Martuscello *et al.* (2009) constataram efeito positivo do nitrogênio na produtividade de

matéria seca total de plantas de *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés, e segundo Rodrigues *et al.* (2008), o capim-xaraés é uma planta altamente responsiva à adubação nitrogenada, no que se refere à produção de massa seca.

As variáveis proteína bruta e concentração de nitrogênio apresentaram respostas semelhantes (Tab. 1). Houve efeito significativo nos contrastes C1 para os três cortes e no contraste C2 para o segundo e terceiro cortes.

Para a proteína bruta, observou-se no contraste C1 que a adubação nitrogenada e a testemunha absoluta apresentaram, em média, 11,78; 10,77 e 6,75% a mais que os tratamentos inoculados, respectivamente, no primeiro, segundo e terceiro cortes. Analisando o mesmo contraste para a concentração de nitrogênio, observou-se que a adubação nitrogenada e a testemunha absoluta obtiveram, em média, 18,85, 17,23 e 10,82g kg⁻¹ de nitrogênio a mais que os tratamentos inoculados.

Quando se analisou o contraste C2 para a proteína bruta, observou-se que a adubação nitrogenada apresentou, em média, 0,46, 7,13 e 9,10% a menos que a testemunha absoluta, respectivamente, no primeiro, segundo e terceiro cortes, e para o mesmo contraste em relação à concentração de nitrogênio, obteve-se que a adubação nitrogenada apresentou, em média, 0,74, 11,41 e 14,56g kg⁻¹ de nitrogênio a menos que a testemunha absoluta.

Os maiores valores encontrados na testemunha absoluta podem ter ocorrido devido ao menor porte das plantas da testemunha absoluta, aumentando a concentração de nitrogênio na parte aérea, caracterizando o chamado efeito diluição nas plantas mais desenvolvidas, no caso, a adubação nitrogenada.

A elevação nos teores de proteína bruta observada nos experimentos com gramíneas proporcionadas pela adubação nitrogenada ocorre devido ao fato de o nitrogênio participar ativamente na síntese de compostos orgânicos que formam a estrutura do vegetal (Prado, 2008). Para Mattos e Monteiro (2003) e Bonfim-Silva e Monteiro (2006), a disponibilidade do nitrogênio exerce grande influência na nutrição das plantas, o que reflete na produção e qualidade da forragem.

Tabela 1. Estimativas dos contrastes ortogonais para o desdobramento de tratamentos dentro dos cortes na massa seca da parte aérea, concentração e acúmulo de nitrogênio e porcentagem de proteína bruta da parte aérea do capim-xaraés inoculado com bactérias diazotróficas associativas

Contrastes ¹	Cortes		
	1	2	3
Contraste estimativa - Massa seca da parte aérea (g vaso ⁻¹)			
C1	-3,48	12,78	44,46
C2	22,17	42,83	90,39
C3	1,02	0,25	0,31
C4	-1,20	0,38	-1,18
C6	-0,01	-0,21	-0,56
Contraste estimativa - Proteína bruta (%)			
C1	11,78	10,77	6,75
C2	-0,46	-7,13	-9,10
C3	0,95	0,07	0,17
C4	0,35	0,36	0,52
C6	1,36	-0,31	0,35
Contraste estimativa - Concentração de nitrogênio (g kg ⁻¹)			
C1	18,85	17,23	10,82
C2	-0,74	-11,41	-14,56
C3	1,52	0,12	0,28
C5	0,57	0,57	0,83
C6	2,17	-0,49	0,55
Contraste estimativa - Acúmulo de nitrogênio (mg vaso ⁻¹)			
C1	157,92	358,77	530,00
C2	724,22	756,72	791,37
C3	37,77	2,73	4,66
C4	-7,45	8,01	-0,87
C6	33,78	-5,92	1,01

¹C1 = adubação nitrogenada e testemunha absoluta vs. todos os tratamentos inoculados; C2 = adubação nitrogenada vs. testemunha absoluta; C3 = estirpe Y2 vs. estirpes MTaz8, MTH2 e MTaz8 + MTH2; C4 = estirpes MTaz8 + MTH2 vs. MTaz8 e MTH2; C5 = estirpe MTaz8 vs. MTH2.

Para o acúmulo de nitrogênio na parte aérea, verificou-se diferença significativa nos três cortes para os contrastes C1 e C2, e para o primeiro corte no C3 (Tab. 1). Nos contrastes C1 e C2, pôde-se observar que houve acréscimo no acúmulo de nitrogênio ao longo dos cortes, sobressaindo o tratamento nitrogenado.

No contraste C1, os tratamentos adubação nitrogenada e testemunha absoluta apresentaram, respectivamente, em média, 157,92; 358,77 e 530,00mg vaso⁻¹ a mais que os tratamentos inoculados, enquanto no contraste C2 houve acréscimo de 724,22; 756,72 e 791,37mg vaso⁻¹ a mais na adubação nitrogenada em relação à testemunha absoluta.

Essa maior extração de nitrogênio na adubação nitrogenada pode ser explicada pelo aumento de

produção de massa seca, em que a planta exigiu uma quantidade maior de nutrientes para obter sua produção, ou seja, o aumento na disponibilidade do nitrogênio no solo estimula o crescimento da forrageira (Garcez Neto *et al.*, 2002) e, conseqüentemente, aumenta os valores do nitrogênio acumulado na biomassa (Silva *et al.*, 2009).

A baixa disponibilidade de nutrientes é situação comum e que restringe o crescimento e desenvolvimento das plantas (Silva e Delatorre, 2009), fato esse observado na testemunha.

No primeiro corte, para o contraste C3, as plantas inoculadas com a estirpe Y2 acumularam, em média, 37,77mg de nitrogênio vaso⁻¹ a mais que os demais tratamentos inoculados. Segundo Reis Júnior *et al.* (2000), existe um consenso de que o

Características produtivas...

genótipo da planta é um fator-chave para obtenção dos benefícios propiciados por bactérias diazotróficas endofíticas.

Quando se analisaram os cortes dentro de cada tratamento (Tab. 2), notou-se que, na massa seca da parte aérea, houve diferença significativa no

contraste C1 para todos os tratamentos e no C2 para adubação nitrogenada, estirpe MTaz8 + MTH2 e testemunha absoluta. Esses dados demonstram que a adubação nitrogenada e a testemunha absoluta aumentaram a produção ao longo do primeiro e segundo cortes, enquanto nas estirpes MTaz8 + MTH2 ocorreu o inverso.

Tabela 2. Estimativas dos contrastes ortogonais para o desdobramento de cortes dentro dos tratamentos na massa seca da parte aérea, concentração e acúmulo de nitrogênio e porcentagem de proteína bruta da parte aérea do capim-xaraés inoculado com bactérias diazotróficas associativas

Contrastes ¹	Tratamentos					
	Adubação nitrogenada	Y2	MTaz8	MTH2	MTaz8 + MTH2	Testemunha absoluta
Contraste estimativa - Massa seca da parte aérea (g vaso ⁻¹)						
C1	-48,98	5,90	5,62	5,23	4,63	-4,55
C2	-53,72	1,71	1,41	1,06	2,80	-6,16
Contraste estimativa - Proteína bruta (%)						
C1	11,65	5,43	5,30	3,96	4,54	4,00
C2	5,07	-0,01	-0,18	0,48	-0,01	3,10
Contraste estimativa - Concentração de nitrogênio (g kg ⁻¹)						
C1	18,65	8,68	8,47	18,65	7,27	6,40
C2	8,11	-0,01	-0,28	8,11	-0,02	4,96
Contraste estimativa - Acúmulo de nitrogênio (mg vaso ⁻¹)						
C1	-162,54	174,34	162,05	125,81	132,91	-112,71
C2	-175,69	11,42	6,92	13,87	19,27	-141,04

¹C1: primeiro corte vs. segundo e terceiro cortes; C2: segundo corte vs. terceiro corte.

Em relação à proteína bruta (Tab. 2), o contraste C1 apresentou diferença para todos os tratamentos, exceto para o tratamento inoculado com a combinação das estirpes MTaz8 + MTH2, e no contraste C2 apenas a adubação nitrogenada e a testemunha absoluta. Quando analisados os dois contrastes para a adubação nitrogenada e a testemunha absoluta, pôde-se observar que houve redução na porcentagem de proteína bruta.

As maiores mudanças que ocorrem na composição química das plantas forrageiras são aquelas que acompanham sua maturação. O declínio do valor nutritivo está relacionado com o avanço no estágio fisiológico (Cano *et al.*, 2004) e com a maturidade das plantas (Soares Filho *et al.*, 2002). Essa afirmação confirma os dados encontrados neste trabalho, já que se verificou redução nos teores de proteína bruta ao longo dos cortes.

A concentração e o acúmulo de nitrogênio na parte aérea responderam de forma similar (Tab. 2), apresentando diferença estatística em todos os tratamentos para o contraste C1 e para a

adubação nitrogenada e a testemunha absoluta no C2. Porém, ao se avaliar a concentração de nitrogênio, observou-se decréscimo em relação aos cortes para adubação nitrogenada e testemunha absoluta enquanto o acúmulo de nitrogênio obteve acréscimo ao longo dos cortes.

O efeito significativo para o contraste C1, quando comparado o primeiro corte aos demais cortes, pode estar associado à matéria orgânica no solo, pois Reis *et al.* (2001) relatam que a decomposição da matéria orgânica auxilia, de maneira limitada, no atendimento das exigências de nitrogênio das plantas forrageiras, o que justifica uma maior quantidade de nitrogênio extraída do solo apenas no primeiro corte. Além disso, a concentração de nitrogênio nos tratamentos inoculados pode ter sido oriunda da FBN das estirpes de bactérias diazotróficas associativas inoculadas nesses tratamentos.

Entre as populações de bactérias diazotróficas presentes no solo antes do plantio, verificou-se que a maior população foi detectada em meio NFb (Tab. 3).

Tabela 3. Número de bactérias diazotróficas no solo (número de bactérias g⁻¹ solo⁻¹) avaliado em meio de cultura LGI e NFb, antes da implantação do experimento

Meio seletivo	Número de bactérias g ⁻¹ solo
LGI	0
NFb	2,30

Segundo Baldani *et al.* (1999), o meio NFb também permite o crescimento de outras bactérias endofíticas além das bactérias diazotróficas associativas, o que pode justificar o valor observado no presente estudo.

Após a implantação dos tratamentos, foi determinado, após cada corte, o número de bactérias diazotróficas associativas no solo em relação ao meio de cultura LGI (Tab. 4), onde se observou significância nos contrastes C1 no primeiro corte e C2 no segundo corte.

Tabela 4. Estimativas dos contrastes ortogonais para o desdobramento de cortes dentro dos tratamentos no número mais provável de bactérias diazotróficas associativas (número de células g⁻¹ solo⁻¹) em meio de cultura LGI, em solo cultivado com capim-xaraés inoculado com bactérias diazotróficas associativas

Contrastes ¹	Cortes		
	1	2	3
C1	-3,80	-1,37	-0,11
C2	0,87	4,25	-1,07

¹C1 = adubação nitrogenada e testemunha absoluta vs. Y2; C2 = adubação nitrogenada vs. testemunha absoluta.

Isto demonstra que, no primeiro corte do contraste C1, a testemunha absoluta e a adubação nitrogenada apresentaram 3,80 células g⁻¹ solo⁻¹ a menos que o tratamento inoculado com a estirpe Y2. Para o segundo corte do contraste C2, houve aumento médio de 4,25 células g⁻¹ vaso⁻¹ no tratamento adubado em relação à testemunha absoluta, em discordância de Kennedy *et al.* (2004), que verificaram queda nas populações de

bactérias diazotróficas quando aumentadas as doses de adubo nitrogenado.

Quando se analisaram os cortes dentro de cada tratamento (Tab. 5), observou-se que o número de bactérias diazotróficas associativas no solo em relação ao meio de cultura LGI apresentou efeito significativo para os contrastes C1, nos tratamentos adubação nitrogenada e testemunha absoluta, e C2 na testemunha absoluta.

Tabela 5. Estimativas dos contrastes ortogonais para o desdobramento de tratamentos dentro dos cortes na cortes no número mais provável de bactérias diazotróficas associativas (número de células g⁻¹ solo⁻¹) em meio de cultura LGI, em solo cultivado com capim-xaraés inoculado com bactérias diazotróficas associativas

Contrastes ¹	Tratamentos		
	Adubação nitrogenada	Y2	Testemunha absoluta
C1	-3,64	-0,22	-2,92
C2	1,46	0,06	-3,86

¹C1: primeiro corte vs. segundo e terceiro cortes; C2: segundo corte vs. terceiro corte.

Esses dados demonstram que o tratamento cujas plantas receberam adubação nitrogenada apresentou no contraste C1 uma média de 3,64 células g⁻¹ solo⁻¹ a menos que no segundo e terceiro cortes. Na testemunha absoluta no contraste C1, verificou-se um número de 2,92 células g⁻¹ solo⁻¹ a menos que no segundo e terceiro cortes.

A testemunha absoluta no contraste C2 apresentou, em média, 3,86 células g⁻¹ solo⁻¹ a menos que no terceiro corte, demonstrando menor número de bactérias presente no segundo corte quando comparado ao terceiro, o que corrobora com Kennedy *et al.* (2004), que observaram aumentos populacionais na ausência ou baixa dose de nitrogênio.

Para o número de bactérias diazotróficas associativas no solo em relação ao meio de cultura NFb, não se observou efeito significativo, provavelmente pelo meio NFb também favorecer o crescimento de outros microrganismos diazotróficos (Baldani *et al.*, 1999).

A contribuição da FBN associativa à nutrição vegetal não é tão significativa como as simbioses, entretanto, se for considerada a grande extensão de terras recobertas por gramíneas e cereais, esta se torna importante, em termos globais (Moreira *et al.*, 2010).

CONCLUSÕES

A produção de massa seca do capim-xaraés adubado com nitrogênio aumentou ao longo dos cortes. Entre as bactérias estudadas, a estirpe Y2 apresentou maior acúmulo de nitrogênio. A maior população de bactérias diazotróficas foi encontrada no tratamento inoculado com a estirpe Y2, no meio de cultura LGI. As características nutricionais do capim-xaraés decaíram à medida que foram realizados cortes em área de primeiro cultivo em Latossolo Vermelho do Cerrado.

REFERÊNCIAS

- ALEXANDRINO, E.; VAZ, R.G.M.V.; SANTOS, A.C. Características da *Brachiaria brizantha* cv. marandu durante o seu estabelecimento submetida a diferentes doses de nitrogênio. *Biosc. J.*, v.26, p.886-893, 2010.
- BALDANI, J.I.; AZEVEDO, M.S.; REIS, V.M. *et al.* Fixação biológica de nitrogênio em gramíneas: avanços e aplicações. In: SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S.; LOPES, A.S. *et al.* (Eds.). *Inter-relação fertilidade, biologia do solo e nutrição de plantas*. Viçosa: SBCS, 1999. p.621-666.
- BEZERRA, M.D.L.; BONFIM-SILVA, E.M.; SILVA, T.J.A. Wood ash effect on the productive characteristics of marandu grass in cerrado soils. *Afr. J. Agric. Res.*, v.9, p.2339-2344, 2014.
- BHATTACHARJEE, R.B; SINGH, A.; MUKHOPADHYAY, S.N. Use of nitrogen-fixing bacteria as biofertiliser for non-legumes: prospects and challenges. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, v.80, p.199-209, 2008.
- BONFIM-SILVA, E.M.; MONTEIRO, F.A. Nitrogênio e enxofre em características produtivas do capim-braquiária proveniente de área de pastagem em degradação. *Rev. Bras. Zootec.*, v.35, p.1289-1297, 2006.
- BONFIM-SILVA, E.M.; MONTEIRO, F.A.; SILVA, T.J.A. Nitrogênio e enxofre na produção e no uso de água pelo capim-braquiária em degradação. *Rev. Bras. Ciênc. Solo*, v.31, p.909-317, 2007.
- BONFIM-SILVA, E.M.; SILVA, T.J.A.; CABRAL, C.E.A. *et al.* Desenvolvimento inicial de gramíneas submetidas ao estresse hídrico. *Rev. Caatinga*, v.24, p.180-186, 2011.
- BRAMBILLA, D.M.; NABINGER, C.; KUNRATH, T.R. *et al.* Impact of nitrogen fertilization on the forage characteristics and beef calf performance on native pasture over seeded with ryegrass. *Rev. Bras. Zootec.*, v.41, p.528-536, 2012.
- CANO, C.C.P.; CANTO, M.W.; SANTOS, G.T. *et al.* Valor nutritivo do capim-Tanzânia (*Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia-1) pastejado em diferentes alturas. *Rev. Bras. Zootec.*, v.33, supl.2, p.1959-1968, 2004.
- DIAS-FILHO, M.B. *Degradação de pastagens: processos, causas e estratégias de recuperação*. 4.ed. Belém: Dias-Filho, 2011. 216p.
- DÖBEREINER, J.; BALDANI, V.L.D.; BALDANI, J.I. *Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas*. Brasília: Embrapa-CNPAB, 1995. 60p.
- FERREIRA, D.F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. *Rev. Symp.*, v.6, p.36-41, 2008.
- GARCEZ NETO, A.F.; NASCIMENTO JUNIOR, D.; REGAZZI, A.J. *et al.* Respostas morfológicas e estruturais de *Panicum maximum* cv. mombaça sob diferentes níveis de adubação nitrogenada e alturas de corte. *Rev. Bras. Zootec.*, v.31, p.1890-1900, 2002.
- GUIMARÃES, S.L.; BALDANI, V.L.D.; JACOB-NETO, J. Viabilidade do inoculante turfoso produzido com bactérias associativas e molibdênio. *Rev. Ciênc. Agron.*, v.44, p.10-15, 2013.

- 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 Biol. Biochem.*, v.36, p.1229-1244, 2004.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. *Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações*. 2.ed. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1997. 319p.
- MARTUSCELLO, J.A.; FARIA, D.J.G.; CUNHA, D.N.F.V.; FONSECA, D.M. Adubação nitrogenada e participação de massa em plantas de *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés e *Panicum maximum* x *Panicum infestum* cv. Massai. *Ciênc. Agrotec.*, v.33, p.663-667, 2009.
- MATTOS, W.T.; MONTEIRO, F.A. Produção e nutrição de capim braquiária em função de doses de nitrogênio e enxofre. *Bol. Ind. Anim.*, v.60, p.1-10, 2003.
- MOREIRA, F.M.S.; SILVA, K.; NÓBREGA, R.S.A.; CARVALHO, F. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. *Comum. Sci.*, v.1, p.74-79, 2010.
- PRADO, R.M. *Manual de nutrição de plantas forrageiras*. Jaboticabal: FUNEP, 2008. 500p.
- REIS JUNIOR, B.F.; MENDES, I.C.; REIS, V.M.; HUNGRIA, M. *Fixação biológica de nitrogênio: uma revolução na agricultura*. Distrito Federal: Embrapa Cerrados, 2008. 32p.
- REIS JUNIOR, F.B.; SILVA, L.G.; REIS, V.M.; DÖBEREINER, J. Ocorrência de bactérias diazotróficas em diferentes genótipos de cana-de-açúcar. *Pesqui. Agropecu. Bras.*, v.35, p.985-994, 2000.
- REIS, V.M.; REIS F.B.; QUESADA, D.M. et al. Biological nitrogen fixation associated with pasture grasses. *Aust. J. Plant Physiol.*, v.28, p.837-844, 2001.
- RODRIGUES, R.C.; MOURÃO, G.B.; BRENNECKE, K. et al. Produção de massa seca, relação folha/colmo e alguns índices de crescimento do *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés cultivado com a combinação de doses de nitrogênio e potássio. *Rev. Bras. Zootec.*, v.37, p.394-400, 2008.
- SALA, V.M.R.; SILVEIRA, A.P.D.; CARDOSO, E.J.B.N. Bactérias diazotróficas associadas a plantas não-leguminosas. In: SILVEIRA, A.P.D.; FREITAS, S.S. (Eds.). *Microbiota do solo e qualidade ambiental*. Campinas: Instituto Agronômico, 2007. p.97-115.
- SILVA, A.A.; DELATORRE, C.A. Alterações na arquitetura de raiz em resposta à disponibilidade de fósforo e nitrogênio. *Rev. Ciênc. Agrovet.*, v.8, p.152-163, 2009.
- SILVA, C.C.F.; BONOMO, P.; PIRES, A.J.V. et al. Características morfogênicas e estruturais de duas espécies de braquiária adubadas com diferentes doses de nitrogênio. *Rev. Bras. Zootec.*, v.38, p.657-661, 2009.
- SISTEMA brasileiro de classificação de solos. 3.ed. Brasília: Embrapa, 2013. 353p.
- SOARES FILHO, C.V.; RODRIGUES, L.R.A.; PERRI, S.H.V. Produção e valor nutritivo de dez gramíneas forrageiras na região noroeste do estado de São Paulo. *Acta Sci.*, v.24, p.1377-1384, 2002.