

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

Priscila Flôres Aguirre

**AVALIAÇÃO DA COASTCROSS-1 INOCULADA COM
*Azospirillum brasilense***

**Santa Maria, RS
2017**

Priscila Flôres Aguirre

AVALIAÇÃO DA COASTCROSS-1 INOCULADA COM
Azospirillum brasilense

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Área de concentração em Produção Animal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Doutora em Zootecnia.**

Orientador: Prof. Dr. Clair Jorge Olivo

Santa Maria, RS
2017

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Flôres Aguirre, Priscila
AVALIAÇÃO DA COASTCROSS-1 INOCULADA COM *Azospirillum*
brasileNSE / Priscila Flôres Aguirre.- 2017.
73 p.; 30 cm

Orientador: Clair Jorge Olivo
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-
Graduação em Zootecnia, RS, 2017

1. Forragicultura I. Olivo, Clair Jorge II. Título.

© 2017

Todos os direitos autorais reservados a Priscila Flôres Aguirre. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita mediante a citação da fonte.

Endereço: Rua Joana R. Machado, 103, ap. 402, Bairro Camobi, Santa Maria, RS. CEP: 97105-180.

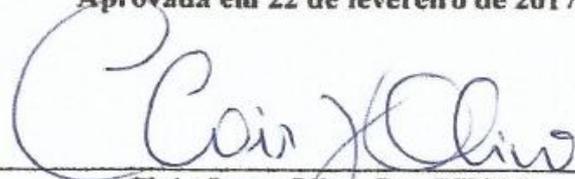
Fone (0xx)55 98116-8385; E-mail: priscilafloresaguirre@yahoo.com.br

Priscila Flôres Aguirre

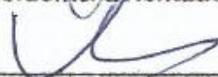
**AVALIAÇÃO DA COASTCROSS-I INOCULADA COM
*Azospirillum brasilense***

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Área de concentração em Produção Animal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Doutora em Zootecnia**.

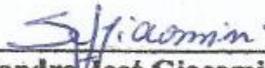
Aprovada em 22 de fevereiro de 2017:



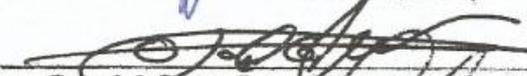
Clair Jorge Olivo, Dr. (UFSM)
(Presidente/Orientador)



Fernando Luiz Ferreira de Quadros, Dr. (UFSM)



Sandro José Giacomini, Dr. (UFSM)



Otoniel Geter Lauz Ferreira, Dr. (UFPel)*



Ulysses Cecato, Dr. (UEM)*

Santa Maria, RS
2017

*Participação via videoconferência.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar sempre comigo, não me deixando desistir quando as coisas se tornam difíceis, mostrando que tudo que é conquistado com esforço tem mais valor e que as recompensas vem no Seu tempo.

Aos meus pais, Leiza e Otávio, que sempre priorizaram a minha educação. A minha vó Serlei, que infelizmente não está mais aqui, ela que foi a pessoa mais integrada e batalhadora que já conheci, meu exemplo de mulher, quem me inspirou na escolha da minha profissão e que, sempre vai estar comigo em memória. Ao meu irmão Patricke, que, mesmo sem nos falarmos diariamente, sei que torce muito por mim. As minhas tias/irmãs, Lédia e Letícia, pela confiança que tem em mim e pela disponibilidade do ombro/ouvido amigo, sempre que preciso. Aos meus primos/afilhados por me proporcionarem momentos maravilhosos de convívio. Ao meu noivo Gilmar, pelo companheirismo, pela ajuda no experimento e por entender as ausências necessárias. A todos meus familiares que mesmo não citados, sabem que colaboraram para que eu chegasse até aqui.

Aos amigos, em especial a Verônica e a Michelle, por estarem sempre torcendo por mim e disponíveis para me ajudar.

Ao meu estimado orientador, professor Clair, por esses quase dez anos de convívio, pela paciência sempre presente, pela orientação e o conhecimento proporcionado. Ao agora, Professor Carlos, pela ajuda na instalação da experimentação quando ainda era o técnico do Setor. A todos os bolsistas/estagiários do Setor de Bovinocultura de Leite que colaboraram para a realização do experimento, em especial ao Júlio e ao Marcello, pela grande ajuda na realização dos cortes. Aos colegas/amigos da pós-graduação Vinicius, Maurício, Daiane e Gabriela pela ajuda manual e também pelas trocas de conhecimento.

Ao professor Sandro Giacomini, pela parceria na realização do experimento e análises laboratoriais, além da disponibilidade para sanar dúvidas. Ao professor Paulo Pacheco, por sempre estar disponível para sanar dúvidas sobre estatística. Ao secretário Marcos, pela ajuda nas burocracias. Aos professores que participaram do Exame de Qualificação e/ou da banca de defesa da Tese, Fernando Quadros, Julio Viégas, Otoniel Ferreira, Sandro Giacomini, Thomas Martin, Ulysses Cecato, pelas contribuições realizadas.

A Universidade Federal de Santa Maria, por proporcionar ensino de qualidade nestes dez anos que estou aqui. A Capes, pela bolsa de estudo no mestrado e doutorado.

A todos meu sincero, MUITO OBRIGADA!

Poeminho do Contra

Todos esses que aí estão
Atravancando meu caminho,
Eles passarão...
Eu passarinho!

Mario Quintana

RESUMO

AVALIAÇÃO DA COASTCROSS-1 INOCULADA COM *Azospirillum brasilense*

AUTORA: Priscila Flôres Aguirre
ORIENTADOR: Clair Jorge Olivo

Pesquisas com o uso de inoculantes contendo bactérias promotoras do crescimento vegetal vêm aumentando ao longo dos anos, devido a preocupações com a poluição e o elevado custo dos fertilizantes. Desta forma, nesta pesquisa objetivou-se avaliar a produção de forragem, o valor nutritivo, a fixação biológica de nitrogênio (FBN) e a recuperação do nitrogênio (N) fertilizante em pastos de Coastcross-1, inoculados com *Azospirillum brasilense* e submetidos ao regime de corte. O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso, com três repetições, em esquema fatorial. Os fatores foram o uso da inoculação (não inoculado, inoculado somente no plantio e reinoculado no segundo ano), doses de N (0, 100 e 200 kg de N/ha/ano) e os períodos do ano em que foram realizados cortes dos pastos. Avaliaram-se no decorrer de dois anos agrícolas a produção de forragem, a taxa de acúmulo de forragem, a massa de forragem, as composições botânica e estrutural do pasto, o teor de proteína bruta, a digestibilidade *in situ* da matéria orgânica e os nutrientes digestíveis totais da Coastcross-1. As produções de forragem, nos pastos sem aplicação de N, no primeiro ano, foram de 9,1; 11,7 e 11,7 t de MS/ha, e no segundo ano de 8,6; 11,2 e 11,5 t de MS/ha, para o fator inoculação, respectivamente. A participação média da Coastcross-1 nos pastos sem adubação nitrogenada foi de 47,9; 58,5 e 62,7%, respectivamente para o fator inoculação. Houve redução nos teores de proteína bruta da Coastcross-1, quando o pasto adubado com 200 kg de N/ha/ano foi inoculado. Há aumento na produção de forragem e na participação da Coastcross-1 com a inoculação na implantação dos pastos, quando não há aplicação de N, sendo que, a reinoculação não é necessária. Para a avaliação da FBN e da recuperação do N, foram considerados dois tratamentos para cada variável. As coletas foram realizadas durante um ano agrícola. Para a estimativa da FBN os tratamentos foram: a Coastcross-1 inoculada no plantio e a Coastcross-1 não inoculada, ambas sem adubação nitrogenada. O N biologicamente fixado foi de 53,8 e 23,0 kg/ha/ano para Coastcross-1 inoculada e não inoculada, respectivamente. A inoculação eleva a FBN na Coastcross-1 não submetida à adubação nitrogenada. Para a estimativa da recuperação do N aplicado os tratamentos foram: a Coastcross-1 inoculada no plantio e a Coastcross-1 não inoculada, ambas submetidas à adubação com 100 kg de N/ha/ano. A recuperação isotópica de N foi de 16,5 e 13,7 kg/ha/ano para Coastcross-1 inoculada e não inoculada, respectivamente. A inoculação aumenta a recuperação do N fertilizante aplicado pela Coastcross-1. A elevação da produção de forragem em pastos não submetidos à adubação nitrogenada causada pela inoculação tem relação com o aumento da FBN.

Palavras-chave: *Cynodon dactylon*. Digestibilidade. Fixação biológica de N. Produção de forragem. Proteína bruta. Recuperação de N.

ABSTRACT

EVALUATION OF COASTCROSS-1 INOCULATED WITH *Azospirillum brasilense*

AUTHOR: Priscila Flôres Aguirre

ADVISOR: Clair Jorge Olivo

Researches with the use of inoculants containing bacteria that promote plant growth have been increasing over the years, due to concerns about pollution and high costs of fertilizers. Therefore the objective of this research was to evaluate the forage yield, nutritive value, biological nitrogen fixation (BNF) and the N recovery of Coastcross-1 pastures inoculated with *Azospirillum brasilense* subjected to cut. The experimental design was randomized blocks with three replications, in a factorial scheme. The factors were the inoculation (without inoculation, inoculated just in the implantation and reinoculated in the second year), levels of nitrogen (0, 100 and 200 kg of N/ha/year) and periods of the years where cuts were made. Forage yield, daily accumulation rate, forage mass, botanical and structural pasture composition, crude protein content, *in situ* digestibility of organic matter and total digestible nutrients of Coastcross-1 were evaluated during two years. Forage yield without nitrogen fertilizer use in pastures was in the first year 9.1, 11.7 and 11.7 t of DM/ha, and in the second year 8.6, 11.2 and 11.5 t of DM/ha, to inoculation factor, respectively. The average Coastcross-1 contribution in pastures without nitrogen fertilization was 47.9, 58.5 and 62.7%, respectively to the inoculation. There was reduction in Coastcross-1 crude protein content when pasture fertilized with 200 kg of N/ha/year was inoculated. The forage yield and Coastcross-1 contribution rises with the inoculation without nitrogen fertilizers use; and reinoculation is not necessary. To evaluate BNF and the N recovery two treatments were considered for each variable. Evaluations were carried out during one year. To estimate the BNF the treatments were: Coastcross-1 inoculated and Coastcross-1 uninoculated, both without nitrogen fertilization. The biologically fixed nitrogen was 53.8 and 23.0 kg/ha/year for Coastcross-1 inoculated and uninoculated, respectively. In Coastcross-1 without nitrogen fertilization, inoculation elevates the BNF. To estimate the N recovery the treatments were: Coastcross-1 inoculated and Coastcross-1 uninoculated, both fertilized with 100 kg of N/ha/year. Isotopic recovery of N was 16.5 and 13.7 kg/ha/year for Coastcross-1 inoculated and uninoculated, respectively. Inoculation increases recovery of N in Coastcross-1. The forage yield increase when don't use nitrogen fertilizers with the inoculation is related to the increase of biological nitrogen fixation.

Keywords: Biological N fixation. Crude protein. *Cynodon dactylon*. Digestibility. Forage yield. N recovery.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 3 - PRODUÇÃO DE FORRAGEM EM PASTOS DE COASTCROSS-1 INOCULADOS COM BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS

- Tabela 1 – Produção de forragem em pastos de Coastcross-1, inoculados com *Azospirillum brasilense* e submetidos a diferentes doses de adubação nitrogenada. Santa Maria – RS, 2014-2016..... 28
- Tabela 2 – Relação lâmina foliar:colmo+bainha da Coastcross-1* inoculada com *Azospirillum brasilense* e submetida a diferentes doses de adubação nitrogenada. Santa Maria – RS, 2014-2016..... 31
- Tabela 3 – Composição botânica na massa de forragem disponível de pastos de Coastcross-1, inoculados com *Azospirillum brasilense* e submetidos a diferentes doses de adubação nitrogenada. Santa Maria – RS, 2014-2016. 33

CAPÍTULO 4 - VALOR NUTRITIVO E MASSA DE FORRAGEM DE COASTCROSS-1 INOCULADA COM *Azospirillum brasilense*

- Tabela 1 – Massa de forragem disponível dos pastos e participação da Coastcross-1 inoculada com *Azospirillum brasilense* e submetida a diferentes doses de adubação nitrogenada. Santa Maria – RS, 2014-2016 42
- Tabela 2 – Efeito da interação de diferentes doses de adubação nitrogenada e períodos de avaliação sobre a composição estrutural da Coastcross-1. Santa Maria – RS, 2014-2016 44
- Tabela 3 – Teores e disponibilidade de proteína bruta da Coastcross-1 inoculada com *Azospirillum brasilense* e submetida a diferentes doses de adubação nitrogenada. Santa Maria – RS, 2014-2016..... 46
- Tabela 4 – Digestibilidade *in situ* da matéria orgânica, teor e disponibilidade de nutrientes digestíveis totais da Coastcross-1 inoculada com *Azospirillum brasilense* e submetida a diferentes doses de adubação nitrogenada. Santa Maria – RS, 2014-2016.. 48

CAPÍTULO 5 - FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE N E RECUPERAÇÃO DO N FERTILIZANTE EM COASTCROSS-1 INOCULADA COM *Azospirillum brasilense*

- Tabela 1 – Análise química do solo, coletado em diferentes profundidades, utilizado para cultivo em casa de vegetação. Santa Maria – RS, 2014-2015 57
- Tabela 2 – Produção de forragem da Coastcross-1 (t de MS/ha). Santa Maria – RS, 2014-2015..... 60
- Tabela 3 – Teor de N e proteína bruta da Coastcross-1. Santa Maria – RS, 2014-2015..... 61

Tabela 4 – Nitrogênio presente na Coastcross-1 (kg de N/ha). Santa Maria – RS, 2014-2015.....	62
Tabela 5 – Contribuição percentual da FBN (%Ndfa) para a nutrição nitrogenada na Coastcross-1. Santa Maria – RS, 2014-2015.....	63
Tabela 6 – N biologicamente fixado (NBF) na Coastcross-1 (kg/ha). Santa Maria – RS, 2014-2015.....	64
Tabela 7 – Recuperação percentual de ¹⁵ N-ureia (R ¹⁵ N) na Coastcross-1. Santa Maria – RS, 2014-2015.....	65
Tabela 8 – Nitrogênio derivado do fertilizante marcado (Ndfm kg/ha) na Coastcross-1. Santa Maria – RS, 2014-2015	65
Tabela 9 – Recuperação aparente do N fertilizante na Coastcross-1 (kg/ha/ano). Santa Maria – RS, 2014-2015	66

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 3 - PRODUÇÃO DE FORRAGEM EM PASTOS DE COASTCROSS-1 INOCULADOS COM BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS

- Figura 1 – Normais climatológicas e valores registrados no período experimental para temperatura média e precipitação acumulada mensal. Santa Maria – RS, 2014-2016..... 24
- Figura 2 – Equações de regressão para taxa de acúmulo diário de forragem da interação entre estações do ano e uso da inoculação (1=primavera; 2=verão; 3=outono e 4=inverno). Santa Maria – RS, 2014-2016 30

CAPÍTULO 4 - VALOR NUTRITIVO E MASSA DE FORRAGEM DE COASTCROSS-1 INOCULADA COM *Azospirillum brasilense*

- Figura 1 – Normais climatológicas e valores registrados no período experimental para temperatura média e precipitação acumulada mensal. Santa Maria – RS, 2014-2016 38

CAPÍTULO 5 - FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE N E RECUPERAÇÃO DO N FERTILIZANTE EM COASTCROSS-1 INOCULADA COM *Azospirillum brasilense*

- Figura 1 – Normais climatológicas e valores registrados no período experimental para temperatura média e precipitação acumulada mensal. Santa Maria – RS, 2014-2015 54

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS	11
1.1 INTRODUÇÃO.....	11
1.2 HIPÓTESES	12
1.2.1 Hipótese geral.....	12
1.2.2 Hipóteses específicas.....	12
1.3 OBJETIVOS	12
1.3.1 Objetivo geral.....	12
1.3.2 Objetivos específicos.....	12
1.4 ESTRUTURA DO TRABALHO	13
CAPÍTULO 2 - ESTUDO BIBLIOGRÁFICO	14
2.1 COASTCROSS-1	14
2.2 BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS	18
CAPÍTULO 3 - PRODUÇÃO DE FORRAGEM EM PASTOS DE COASTCROSS-1 INOCULADOS COM BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS	22
3.1 INTRODUÇÃO.....	22
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	23
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
3.4 CONCLUSÕES	34
3.5 REFERÊNCIAS	34
CAPÍTULO 4 - VALOR NUTRITIVO E MASSA DE FORRAGEM DE COASTCROSS-1 INOCULADA COM <i>Azospirillum brasilense</i>	36
4.1 INTRODUÇÃO.....	37
4.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	37
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
4.4 CONCLUSÕES	49
4.5 REFERÊNCIAS	50
CAPÍTULO 5 - FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE N E RECUPERAÇÃO DO N FERTILIZANTE EM COASTCROSS-1 INOCULADA COM <i>Azospirillum brasilense</i>	52
5.1 INTRODUÇÃO.....	53
5.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	54
5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	59
5.4 CONCLUSÕES	67
5.5 REFERÊNCIAS	67
CAPÍTULO 6 - CONSIDERAÇÕES FINAIS	69
REFERÊNCIAS	71

CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS

1.1 INTRODUÇÃO

Gramíneas do gênero *Cynodon*, como Tifton 85, Tifton 68 e Coastcross-1, vêm sendo amplamente utilizadas para a alimentação de ruminantes e equinos, como pasto e forragem conservada, especialmente feno (BRANCO et al., 2012). A Coastcross-1, quando bem manejada, apresenta elevada produção de forragem, boa adaptação ao clima subtropical e boa relação folha/colmo. Devido a sua resposta à fertilização esta gramínea é cultivada, normalmente, com elevadas quantidades de adubos químicos, em especial o nitrogenado (AGUIRRE et al., 2014, 2016).

O N é um dos principais nutrientes necessários à intensificação da produtividade das gramíneas forrageiras, sendo o principal responsável pela formação de tecidos. É constituinte essencial das proteínas e interfere diretamente no processo fotossintético. Há projeções de que, nos próximos anos, haverá um incremento substancial no uso de fertilizantes químicos no Brasil, para atender à intensificação da agricultura e à recuperação de áreas degradadas. Nosso País, no entanto, depende das importações, que, no caso do N são responsáveis pelo fornecimento de cerca de 70% (HUNGRIA, 2011).

Neste cenário, a inoculação de gramíneas com bactérias *Azospirillum brasilense*, também conhecidas como rizobactérias promotoras do crescimento vegetal, pode ser uma alternativa para a redução da utilização de adubos nitrogenados, tendo-se em vista que as bactérias poderão suprir parte do N necessário para o desenvolvimento da planta através da FBN, além de outras vantagens como a produção de fitormônios (HUNGRIA et al., 2010, 2016), solubilização de fosfatos e antagonismo a fitopatógenos (MOREIRA et al., 2010).

Pesquisas com inoculação de bactérias em pastos perenes são raras, em especial com o gênero *Cynodon*. Desta forma, objetivou-se com esta pesquisa avaliar pastos de Coastcross-1, inoculados com *Azospirillum brasilense*, recebendo diferentes doses de N e cultivadas em parcelas, quanto à produtividade, valor nutritivo, FBN e recuperação do N fertilizante.

1.2 HIPÓTESES

1.2.1 Hipótese geral

As bactérias da espécie *Azospirillum brasilense* inoculadas em pastos de Coastcross-1 irão agir como promotoras de crescimento da gramínea, aumentando a produção de forragem e o valor nutritivo da Coastcross-1.

1.2.2 Hipóteses específicas

- Para uma mesma quantidade de N fornecido, haverá uma maior produção de forragem nos pastos inoculados, quando comparadas com os não inoculados, especialmente nas menores doses de N;
- O valor nutritivo dos pastos inoculados será superior ao dos não inoculados, comparando-se as mesmas doses de N aplicado;
- A resposta à inoculação será inversamente proporcional ao aumento das doses de N aplicadas;
- A inoculação da Coastcross-1, sem adubação nitrogenada, irá aumentar a FBN;
- Quando submetida à adubação nitrogenada, a Coastcross-1 inoculada terá uma melhor recuperação do N fertilizante, em relação a não inoculada.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo geral

Avaliar a produtividade, o valor nutritivo, a FBN e a recuperação do N fertilizante aplicado em pastos de Coastcross-1 inoculados com bactérias *Azospirillum brasilense*, estirpes Ab-V5 e Ab-V6.

1.3.2 Objetivos específicos

Avaliar o efeito da inoculação com *A. brasilense*, quando associado a diferentes doses de adubação nitrogenada, sobre:

- Taxa de acúmulo diário do pasto;
- Produção de forragem do pasto;
- Composição botânica do pasto e estrutural da Coastcross-1;
- Valor nutritivo da Coastcross-1;

Avaliar o efeito da inoculação com *A. brasilense* na Coastcross-1 sobre a FBN.

Avaliar o efeito da inoculação com *A. brasilense* na Coastcross-1, quando associado com a adubação com 100 kg de N/ha/ano, sobre a recuperação do N fertilizante aplicado.

1.4 ESTRUTURA DO TRABALHO

No capítulo 1, foram apresentadas as considerações iniciais. No capítulo 2, tem-se a revisão bibliográfica, que aborda o uso da Coastcross-1 e, a caracterização e benefícios da associação de bactérias diazotróficas com gramíneas.

Nos capítulos 3, 4 e 5, estão apresentados os artigos desenvolvidos na pesquisa, sendo que, no capítulo 3, avaliou-se a produção de forragem de pastos de Coastcross-1 inoculados com *A. brasilense* e submetidos a diferentes doses de N, durante dois anos agrícolas. No capítulo 4, foi avaliado o valor nutritivo da Coastcross-1 inoculada com *A. brasilense* e submetida a diferentes doses de N, também durante dois anos agrícolas. E no capítulo 5, avaliou-se a FBN na Coastcross-1 inoculada com *A. brasilense* e não submetida à adubação nitrogenada; e, a recuperação do N fertilizante pela Coastcross-1 inoculada com *A. brasilense* e submetida à adubação com 100 kg de N/ha/ano, ambas no decorrer de um ano agrícola.

No capítulo 6, são apresentadas as considerações finais da pesquisa.

CAPÍTULO 2 - ESTUDO BIBLIOGRÁFICO

2.1 COASTCROSS-1

O gênero *Cynodon*, tradicionalmente conhecido como grama bermuda (*Cynodon dactylon* (L.) Pers.) é considerado bem adaptado às regiões tropicais e subtropicais. Apresenta grande potencial forrageiro principalmente por sua resposta à fertilização, grande capacidade de adaptação às diversas condições de solo, clima e utilização para produção animal, elevada produtividade por área, boa qualidade de forragem e grande resistência ao pisoteio (VILELA, 2005). Todas essas vantagens suplantam os seus pontos fracos, como o de se multiplicar por mudas (na maioria das cultivares mais utilizadas) e exigir solos férteis para se propagar (VILELA et al., 2005). As cultivares desse gênero são comumente utilizadas para pastejo e produção de feno.

Sob o aspecto botânico e taxonômico, o gênero *Cynodon* representa um grupo de gramíneas sistematicamente distinto, dentro da família *Chloridoideae*. Especialistas elaboraram uma chave para diferenciação das espécies deste gênero, usando a presença de rizomas como a principal característica, sendo que o *C. dactylon*, gramas ou capins bermuda, possuem rizomas, e *C. plectostachyus*, *C. aethiopicus*, e *C. nlemfuënsis*, as três, gramas ou capins estrela, não possuem rizomas (PEDREIRA, 2005). O melhoramento de espécies desse gênero iniciou-se nos Estados Unidos, onde se desenvolveram as cultivares pioneiras, como a Coastal e a Coastcross-1.

A Coastcross-1 foi desenvolvida na Estação Experimental de Tifton (na cidade de Tifton, Geórgia, EUA). Trata-se de um híbrido interespecífico F₁ entre a cv. Coastal e uma introdução *Cynodon nlemfuënsis* com alta digestibilidade proveniente do Quênia, sendo que em condições experimentais, na mesma Estação, a Coastcross-1 apresentou maior digestibilidade, entre 12 e 13%, e até 160% mais produtiva que a Coastal (PEDREIRA, 2005). Ela é uma forrageira perene, rasteira, rizomatoso-estolonífera, com estolões longos, possui inflorescência pequena constituída por agrupamentos de três a cinco espigas; é uma planta de porte baixo (MITIDIERI, 1992).

Esta cultivar tem crescimento estival com grande capacidade de propagação, feita normalmente por estolões e rizomas. Boas mudas devem ser maduras (com cerca de 100 dias de idade), vigorosas e preferencialmente com mais de 10 gemas viáveis e livres de plantas daninhas, fungos e insetos. O plantio pode ser realizado em sulcos, em covas, ou distribuído superficialmente e incorporado ao solo por meio de gradagem leve, sendo que o plantio em

sulco é a estratégia com maior resposta no cultivo. As mudas devem ser colocadas nos sulcos em um espaçamento de 50 cm e profundidade de 15 cm, necessitando em média de duas toneladas e meia de mudas por hectare (LIMA e VILELA, 2005).

A Coastcross-1, quando bem manejada e adubada, apresenta algumas características forrageiras desejáveis, como elevada produção de forragem, boa adaptação ao clima subtropical, boa relação folha/colmo (AGUIRRE et al., 2014) e alto valor nutritivo, sendo indicada para produção de feno e formação de pastos para sistemas de produção animal (BORTOLO et al., 2001).

O metabolismo fisiológico C4 confere a essa gramínea alta eficiência fotossintética e no uso de nutrientes do solo (TAIZ e ZEIGER, 2013), tendo assim, elevada resposta à fertilização, que normalmente, é aplicada em elevadas quantidades, em especial a nitrogenada (AGUIRRE et al., 2014, 2016). Neste contexto, pesquisas avaliando níveis de adubação nitrogenada, e também alternativas para a redução destes níveis, como o consórcio com leguminosas, vem sendo realizadas.

Avaliando Coastcross-1, cultivada em parcelas, sendo fertilizadas com diferentes fontes de adubação nitrogenada (uréia x nitrato de amônia), com doses crescentes de N (até 200 kg de N/ha/corte) e realizando cortes a cada 30 dias, Corrêa et al. (2007), verificaram que com o aumento das doses de N, houve aumento na produção de matéria seca (MS), no teor de proteína bruta (PB) e na digestibilidade *in vitro* da MS (DIVMS) do pasto, sendo que o nitrato de amônia foi superior à uréia na produção de forragem. A aplicação de 78 kg de N/ha/corte na forma de nitrato de amônia correspondeu a uma produção de 3,2 t de MS/ha/corte, com intervalo médio de 30 dias. Por sua vez, Pereira et al. (2011), também com manejo de cortes, avaliaram Coastcross-1 sob diferentes idades de rebrotação (28 e 42 dias) e doses crescentes de N (0, 100, 200, 300 e 400 kg de N/ha). Estes autores chegaram a conclusão que, durante a estação de maior crescimento, intervalos de corte próximos a 28 dias são mais adequados para pastos recebendo maiores doses de N, já pastos sem adubação nitrogenada, ou com níveis baixos de fornecimento, podem ser manejadas com intervalos maiores. Oliveira et al. (2011), na mesma experimentação acrescenta, que para haver incremento na DIVMS da Coastcross-1 em resposta à aplicação de doses crescentes de N, deve-se adotar alta frequência de desfolhação, implicando em menores intervalos de corte.

Em experimentação com Coastcross-1 e Tifton 85 ao longo de dois anos, trabalhando com inclusões crescentes de amendoim forrageiro (0, 25, 50 e 75%) e adubação de 80 kg de N/ha/ano, Ziech et al. (2015) registraram aumento nas massas de forragem disponíveis do ano de implantação do pasto, para o segundo ano de avaliação; para a PB dos pastos, a média

para a Coastcross-1 foi de 19,0% e para o Tifton 85 de 17,8%, para a DIVMS as médias foram de 63,93 e 62,92%, para a Coastcross-1 e Tifton 85, respectivamente, demonstrando neste trabalho o melhor valor nutritivo da Coastcross-1 em comparação com o Tifton 85. Ribeiro et al. (2012) também avaliando o consórcio da Coastcross-1 (CC) com amendoim forrageiro (AF), sob diferentes níveis de adubação nitrogenada (CC+AF; CC+AF+100 kg de N/ha/ano; CC+AF+200 kg de N/ha/ano; CC+200 kg de N/ha/ano), obtiveram teores de proteína bruta de 14,3; 17,1; 18,4 e 18,3% para lâmina foliar da Coastcross-1 nos respectivos tratamentos, e de 6,9; 8,0; 8,6; 9,3% de proteína bruta no colmo + bainha, sendo os valores médios de relação folha:colmo de 0,75; 0,71; 0,68 e 0,72, respectivamente. Nesta mesma experimentação, Ribeiro et al. (2011) avaliaram a biomassa de raízes da Coastcross-1, registrando valores de 0,3475; 0,4483; 0,3936 e 0,3619 kg/m³ no solo para os respectivos tratamentos e valores médios de distribuição das raízes no solo de 62,4; 24,7 e 12,9%, para as camadas de 0-15, 15-30 e 30-45 cm respectivamente.

Trabalhando com avaliação do desempenho de vacas leiteiras da raça Holandesa em pasto de Coastcross-1 durante três anos, com adubação nitrogenada de 200 kg/ha/ano, Vilela et al. (2006) mantiveram uma lotação de cinco vacas/ha em pastejo rotacionado, encontrando valores médios de taxa de acúmulo diário de lâminas foliares de 99,6 kg/ha para o período estival, produção de 13,4 t/ha/ano de MS e produção de 77,8 kg de leite/ha/dia (fornecendo 3 kg de concentrado/vaca/dia). Vilela et al. (1996) utilizando adubação nitrogenada de 350 kg/ha/ano, obtiveram taxa de lotação média de seis vacas em lactação/ha (vacas com 580 kg) e produção média de leite de 16,6 kg de leite/vaca/dia, fornecendo três kg de concentrado/vaca/dia, quanto ao valor nutritivo dos pastos, foram de 16,8% de PB, 61,8% de fibra em detergente neutro (FDN) e 63,8% de DIVMS. Valores semelhantes, 14,5% de PB e 69,0% de nutrientes digestíveis totais (NDT), considerando a média de pré e pós-pastejo, foram obtidos por Scaravelli et al. (2007), em pastos de Coastcross-1 sobressemeadas com aveia e azevém, com adução de cobertura de 80 kg de N/ha/ano, na forma de uréia.

Em pesquisa feita com novilhas de corte em pastejo contínuo, Barbero et al. (2009), avaliando pasto de Coastcross-1 em mistura com amendoim forrageiro e diferentes níveis de adubação nitrogenada (CC+AF+200 kg/N; CC+AF+100 kg/N; CC+200 kg/N e CC+AF) verificaram valores de massa de forragem total de 13,1 t de MS/ha/ano para o consórcio sem adubação nitrogenada (2,4 t a menos do que o consórcio utilizando 100 kg de N). Observações como esta permitiram concluir que o uso de adubação nitrogenada em plantas em consórcio propicia aumento nas produções de massa de forragem. Na sequência de estudos, Barbero et al. (2010) avaliaram parâmetros qualitativos de lâminas foliares de

Coastcross-1 e encontraram valores médios de 16,1% de PB, 70,1% de FDN e 64,2% de DIVMS para o consórcio de Coastcross-1 e amendoim forrageiro sem adubação nitrogenada. Observou-se, ainda, que, a inclusão gradativa de N, aumentou significativamente os teores de PB e reduziu os de FDN, sem alterar a DIVMS.

Avaliando Coastcross-1 em consórcio com diferentes leguminosas de ciclo hibernal (CC + 100 kg de N/ha/ano + ervilhaca comum; CC + 100 kg de N/ha/ano + trevo vesiculoso; e CC + 200 kg de N/ha/ano), Aguirre et al. (2014) encontraram valores semelhantes de produção de forragem para o pasto de Coastcross-1 em consórcio com ervilhaca (21,0 t de MS/ha) e o pasto de Coastcross-1 em cultivo singular que recebeu o dobro da adubação nitrogenada (24,3 t de MS/ha). No mesmo trabalho os autores obtiveram valores elevados de relação folha/colmo em todos os sistemas estudados, observando-se uma tendência de diminuição deste valor com o avanço do ciclo vegetativo da Coastcross-1. Na sequência de publicações do mesmo estudo, Aguirre et al. (2016) avaliaram o valor nutritivo do pasto de Coastcross-1 ao longo do ano agrícola, concluindo que o consórcio com ervilhaca colabora para a elevação do teor de PB e diminui o valor de FDN do pasto no inverno, e que o valor nutritivo de todos os sistemas forrageiros decai com o avanço do ciclo vegetativo da gramínea em estudo. Avaliando os mesmos sistemas forrageiros, Anjos et al. (2015) obtiveram valores de produção de forragem de 20,8; 17,9 e 19,7 t de MS/ha/ano, para os consórcios com ervilhaca, com trevo vesiculoso e o cultivo singular, respectivamente.

Trabalhando com Coastcross-1 pastejada por bovinos de corte, Branco et al. (2012) avaliaram a composição química dos componentes estruturais (folha, colmo e material morto) da Coastcross-1, obtendo valores de PB elevados para as folhas, com média de 16,7% e baixos para colmo, de 7,0% de PB. Os valores de FDN foram mais baixos para as folhas, de 63,4% e mais elevados para colmos, de 74,1%. Estes resultados confirmam a importância de elevadas relações folha/colmo para se obter pastos com bom valor nutritivo. Corroborando com essa afirmativa, Olivo et al. (2016) avaliando pastos de Coastcross-1 em cultivo singular ou em consórcio (CC + AF + 75 kg de N/ha; CC + ervilhaca + 75 kg de N/ha e CC + 150 kg de N/ha), obtiveram maiores valores de PB (22,2%) e de DISMS (70,3%), no pasto em consórcio com ervilhaca onde a participação de folhas foi mais elevada (53,8%).

As pesquisas descritas demonstram o potencial de exploração da Coastcross-1, sendo avaliadas a produção e qualidade desta forrageira sob diferentes níveis e fontes de adubação nitrogenada, o seu consórcio com leguminosas e diferentes taxas de lotação. Observa-se nesses estudos o alto potencial forrageiro da Coastcross-1 e também sua dependência da adubação, especialmente a nitrogenada. Alternativas visando diminuir essa dependência, com

melhoria no sistema forrageiro são escassas e com resultados irregulares. Pesquisas que tratem sobre a inoculação desta gramínea com bactérias diazotróficas associativas são incipientes.

2.2 BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS

No solo, diversos processos são mediados por microrganismos, desempenhando papel importante na ciclagem de nutrientes. Dentre estes processos destaca-se a FBN, que é realizada por microrganismos procarióticos conhecidos como diazotróficos (MOREIRA et al., 2010). A FBN consiste na conversão de N_2 gasoso em NH_3 , a qual é incorporada a compostos de carbono. Os diazotróficos são capazes de realizar tal processo graças à enzima dinitrogenase que rompe a tripla ligação do N_2 e o reduz a amônia, a mesma forma obtida no processo industrial (HUNGRIA, 2011).

Segundo Moreira e Siqueira (2006) apesar de ser uma pequena parcela dos procariotos que tem a capacidade de fixar N_2 , esta apresenta alta diversidade morfológica, fisiológica, genética e filogenética. A maioria dos diazotróficos é de vida livre, ocorrendo em todos os tipos de solos, na rizosfera e filosfera de plantas. Alguns são encontrados em simbiose com espécies vegetais, principalmente leguminosas, como as bactérias dos gêneros *Rhizobium* e *Bradyrhizobium*. Outros, porém, podem estabelecer relações menos especializadas com as plantas, sendo denominadas de associações, destacando-se neste grupo as bactérias do gênero *Azospirillum*.

A capacidade de fixação de N pelas bactérias do gênero *Azospirillum*, foi descoberta em 1975, pela pesquisadora da Embrapa, Dra. Johanna Döbereiner (1924-2000), que primeiramente as chamou de *Spirillum* (DÖBEREINER et al., 1976), posteriormente nomeadas de *Azospirillum* (TARRAND et al., 1978).

A contribuição da FBN assimbiótica à nutrição vegetal não é tão significativa como a simbiótica (MOREIRA et al., 2010; HUERGO et al., 2008), tendo-se em vista que ao contrário das bactérias simbióticas, bactérias associativas excretam somente uma parte do N fixado diretamente para a planta associada; após a morte da bactéria e sua mineralização, pode haver contribuição com aportes adicionais de N, suprimindo, assim, parcialmente as necessidades de N das plantas (HUNGRIA, 2011). 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). Silva et al. (2010), avaliando capim elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) e braquiárias (*B. decumbens* Stapf. e *B. humidicola* Rendle) detectaram a

presença de *Azospirillum* spp. na *B. decumbens* e no capim elefante, *Herbaspirillum* spp. nas duas braquiárias avaliadas, e *Gluconacetobacter diazotrophicus* no capim elefante, com valor médio de contribuição da FBN nas plantas de 27,8; 21,0 e 27,8% do N total acumulado nas plantas, para o capim elefante *B. decumbens* e *B. humidicola*, respectivamente.

As bactérias do gênero *Azospirillum* são aeróbicas quando supridas de N combinado, e microaerofílicas quando crescem dependente da fixação de N₂ (CHAVARRIA e MELLO, 2011). São microrganismos situados no Domínio Bacteria na subdivisão α -Proteobacteria, gram-negativas, móveis, formato espiral, sendo que a espécie *A. brasilense* possui um flagelo polar desenvolvido quando em meio líquido e vários flagelos laterais adicionais, quando cultivadas em meio semissólido (HUERGO et al., 2008). São endofíticas facultativas e colonizam tanto o interior (entre os espaços intercelulares ou até dentro de algumas células da raiz), como a superfície das raízes (MOREIRA et al., 2010; HUERGO et al., 2008).

A inoculação com bactérias *A. brasilense*, e também outras espécies deste gênero, tem um papel importante, pois estas são consideradas rizobactérias promotoras do crescimento vegetal, pois além da sua capacidade de FBN, estas produzem fitormônios, como as auxinas, giberelinas e citocininas, responsáveis pelo maior desenvolvimento do sistema radicular com o aumento da densidade e comprimento de pelos radiculares, número e volume de raízes laterais, havendo assim aumentos significativos na absorção de nutrientes pela planta hospedeira, aumentando, também a resistência das plantas ao estresse hídrico (MOREIRA et al., 2010; HUERGO et al., 2008). Há também outras vantagens como o antagonismo contra fitopatógenos e a capacidade de solubilizar fosfatos inorgânicos (HUNGRIA, 2011; MOREIRA et al., 2010; MOREIRA e SIQUEIRA, 2006).

Diversas pesquisas vêm sendo desenvolvidas no Brasil com a inoculação com bactérias do gênero *Azospirillum*, sendo que grande parte destas trata da inoculação em milho e trigo. Hungria (2011) relata que em uma sequência de experimentos desenvolvidos em parceria entre a Embrapa Soja e a Universidade Federal do Paraná, a partir dos quais foi desenvolvido o primeiro inoculante líquido comercializado no País, foram obtidos incrementos médios de produção de grãos de 31% para o trigo, em relação ao controle, não inoculado, sendo que ambos receberam somente 20 kg de N no momento do plantio. Já para o milho o incremento médio de produção com a inoculação foi de 26%, em relação ao controle não inoculado, tendo ambos recebido 24 kg de N no plantio. Hungria et al. (2010) detalham os ganhos obtidos com a inoculação de diferentes estirpes de *A. brasilense*, sendo, para a produção de grãos no milho de 30% quando inoculado com a estirpe Ab-V5, e 28,6% com a Ab-V6, comparados ao controle não inoculado. Com relação à produção de sementes de trigo,

obtiveram ganhos na produção na ordem de 16,0 e 18,1% para a inoculação com as estirpes Ab-V5 e Ab-V6, respectivamente, quando comparadas ao controle não inoculado. Segundo Hungria et al. (2010, 2016), os ganhos obtidos com a inoculação destas duas cepas de *A. brasilense* (Ab-V5 e Ab-V6) estão mais relacionados a promoção do crescimento vegetal, do que à FBN.

Em trabalho também realizado no Paraná, testando-se o efeito residual da adubação nitrogenada realizada (0, 75, 150, 225 e 300 kg/ha) no pasto de inverno (aveia preta + azevém) sobre a produtividade do milho cultivado em sucessão, inoculado com *A. brasilense* ou não (controle), obteve-se maior produtividade de milho com a inoculação, mesmo com o aumento da dose de N aplicada no inverno. Para o controle, a equação de regressão mostrou que, a aplicação de 261 kg/ha proporcionaria a máxima produtividade de milho (9938 kg/ha), esta mesma produtividade, para o tratamento com a inoculação de *A. brasilense* seria obtida com a aplicação de 172 kg/ha, o que representa uma economia de 89 kg/ha de N (NOVAKOWISKI et al., 2011).

Lana et al. (2012) avaliando a biomassa seca da parte aérea do milho, obtiveram ganhos com a inoculação com *A. brasilense* quando não forneceram N em cobertura, na ordem de 6,5%, porém com o fornecimento de 100 kg de N em cobertura, estes autores encontraram resposta negativa, com diminuição da biomassa quando inoculado (10%). Os níveis de N na folha também foram influenciados pela inoculação, sendo que a utilização de adubação nitrogenada na semeadura (20 kg de N/ha) elevou o teor de N, porém quando associada à inoculação ocorreu queda nos níveis de N nas folhas, o que demonstra a sensibilidade e também a variabilidade da resposta das bactérias à adubação nitrogenada, sendo necessários estudos em torno dessa associação inoculação/adubação nitrogenada.

Avaliando o rendimento de grãos do trigo na Região Noroeste do Rio Grande do Sul, Corassa et al. (2013) obtiveram igualdade (aproximadamente 5 t/ha) quando cultivaram o trigo inoculado com *Azospirillum brasilense* recebendo apenas adubação nitrogenada de cobertura (65 kg de N/ha) em comparação com o cultivo de trigo sem inoculação, recebendo adubação nitrogenada de base (15 kg de N/ha) e de cobertura (65 kg de N/ha).

Em uma série de experimentos realizados na Argentina com aveia, trigo, centeio, triticale e azevém, em pastejo, sendo inoculados com *A. brasilense*, e recendo diferentes doses de N no plantio (0, 22 e 50 kg de N/ha), observou-se superioridade média de 12% na produção de forragem nas culturas que receberam inoculação em relação as não inoculadas, independentemente do nível de adubação nitrogenada (DÍAZ-ZORITA e CANIGIA, 2008).

Avaliando durante três anos pastos de *Brachiaria* spp. (*B. brizanta* e *B. ruzizensis*), Hungria et al. (2016) obtiveram ganho médio de 5,4 e 22,1% na produção de biomassa, quando os pastos foram adubados com 40 kg de N/ha, e quando se associou a adubação (40 kg de N/ha) com a inoculação com *A. brasilense*, respectivamente, comparando-se a produção em pastos sem adubação nitrogenada e não inoculados. Para o teor de N na biomassa de pastos o aumento foi em média de 21,7% comparando-se os pastos adubados com 40 kg de N ha⁻¹, quando inoculadas com *A. brasilense* (estirpes Ab-V5 e Ab-V6), em relação àqueles não inoculados e submetidos à mesma dose de N.

As pesquisas relatadas demonstram o potencial da inoculação de *A. brasilense* em gramíneas, tanto para produção de grãos, quanto de forragem, porém pesquisas com inoculação de *A. brasilense* em gramíneas perenes, como as do gênero *Cynodon*, e sua associação com a adubação nitrogenada são escassas.

CAPÍTULO 3 - PRODUÇÃO DE FORRAGEM EM PASTOS DE COASTCROSS-1 INOCULADOS COM BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS

RESUMO - O elevado preço dos fertilizantes nitrogenados onera a produção animal baseada no pasto. A inoculação com bactérias promotoras de crescimento vegetal pode ser uma alternativa para redução destes gastos. Assim, objetivou-se avaliar a produção de forragem de pastos de Coastcross-1, inoculados com *Azospirillum brasilense*, fertilizados com diferentes doses de N e submetidos ao regime de cortes. O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso, com três repetições, em esquema fatorial. Os fatores foram o uso da inoculação (não inoculado, inoculado somente no plantio e reinoculado no segundo ano), doses de N (0, 100 e 200 kg de N/ha/ano), e as estações do ano em que foram realizados cortes. Avaliaram-se a produção de forragem, a taxa de acúmulo de forragem e as composições botânica e estrutural do pasto. As produções de forragem, nos pastos sem aplicação de N, no primeiro ano, foram de 9,1; 11,7 e 11,7 t de MS/ha, e no segundo ano de 8,6; 11,2 e 11,5 t de MS/ha, para o fator inoculação, respectivamente. Há aumento na produção de forragem com a inoculação na implantação dos pastos, quando não há aplicação de N, sendo que, a reinoculação não é necessária.

Palavras-chave: *Azospirillum brasilense*. Composição botânica. *Cynodon dactylon*.

FORAGE YIELD OF COASTCROSS-1 PASTURES INOCULATED WITH DIAZOTROPHIC BACTERIA

ABSTRACT - The high nitrogen fertilizers cost increases the expenses in pasture based animal production. The inoculation with plant growth promoting bacteria is able to be an alternative to reduce the costs. This study evaluated the forage yield of Coastcross-1 pastures inoculated with *Azospirillum brasilense* and fertilized with different levels of nitrogen subjected to cuts. The experimental design was randomized blocks with three replications, in a factorial scheme. The factors were the inoculation (without inoculation, inoculated just in the implantation and reinoculated in the second year), levels of nitrogen (0, 100 and 200 kg of N/ha/year) and seasons where cuts were made. Forage yield, daily accumulation rate, botanical and structural pasture composition were evaluated. The forage yield with no nitrogen fertilizer use in pastures, were in the first year 9.1, 11.7 and 11.7 t of DM/ha, and in the second year 8.6, 11.2 and 11.5 t of DM/ha, to inoculation factor, respectively. The forage yield rises with the inoculation with no nitrogen fertilizers use; and reinoculation is not necessary.

Keywords: *Azospirillum brasilense*. Botanical composition. *Cynodon dactylon*.

3.1 INTRODUÇÃO

Gramíneas do gênero *Cynodon*, como a Coastcross-1, vêm sendo amplamente utilizadas em regiões tropicais e subtropicais para a alimentação de ruminantes e equinos, tanto na forma de pasto quanto na forma de forragem conservada, especialmente feno

(BRANCO et al., 2012). Devido a sua resposta à fertilização estas gramíneas são cultivadas, normalmente, com elevadas quantidades de adubos químicos, em especial o nitrogenado (CORRÊA et al., 2007).

O N é um dos nutrientes mais necessários à intensificação da produtividade das gramíneas forrageiras, sendo o principal responsável pela formação de tecidos. Porém o alto custo dos fertilizantes nitrogenados e a crescente preocupação com o desenvolvimento de uma agricultura mais sustentável e menos poluente, levam a busca de alternativas para a redução do impacto ambiental de fertilizantes químicos (COSTA et al., 2015), sem que ocorram perdas em produtividade.

Neste contexto, a inoculação das gramíneas com bactérias diazotróficas associativas, como a *Azospirillum brasilense*, pode ser uma alternativa para a redução da utilização de adubos nitrogenados, tendo-se em vista que as bactérias poderão contribuir com parte do N necessário para o desenvolvimento da planta através da FBN. E, em maior escala, pela produção de fitormônios, responsáveis pelo aumento da área superficial das raízes das gramíneas e, conseqüentemente, maior área explorada no solo com incremento na absorção de minerais, inclusive o N, e água, resultando em uma planta mais produtiva e resistente (MOREIRA et al., 2010; HUNGRIA et al., 2010; COSTA et al., 2015).

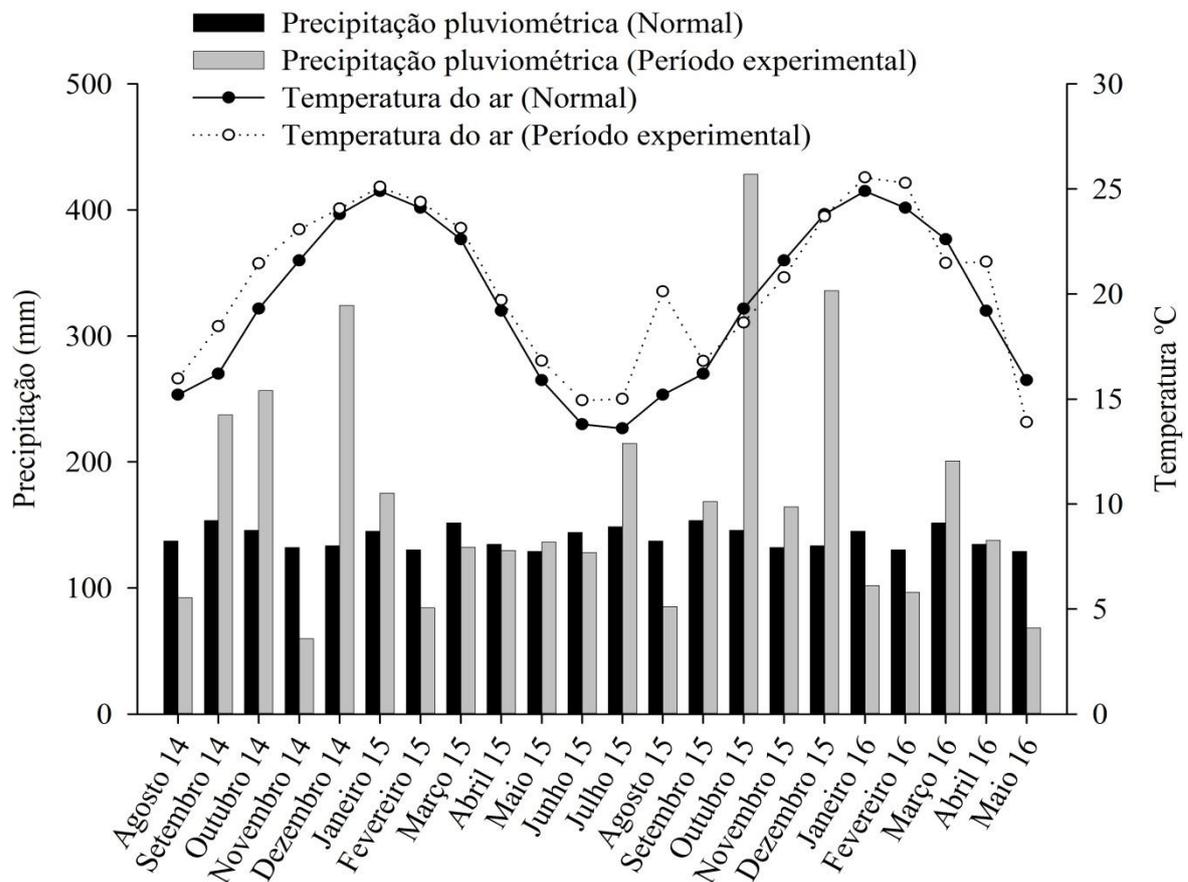
Há uma ampla gama de pesquisas realizadas com inoculação de *A. brasilense* em culturas anuais, como milho e trigo, mas pesquisas desta natureza com pastos perenes são raras, em especial com o gênero *Cynodon*. Desta forma, objetivou-se com esta pesquisa avaliar pastos de Coastcross-1, inoculados com *A. brasilense* e adubados com diferentes doses de N, quanto à produção de forragem.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi conduzida em área do Setor de Bovinocultura de Leite, pertencente ao Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), situada na Depressão Central do Rio Grande do Sul, no decorrer de dois anos agrícolas, de agosto de 2014 a maio de 2016. O clima da região é o subtropical úmido (Cfa), conforme classificação de Köppen, sendo as normais climatológicas (Figura 1) de temperatura de 19,2°C e precipitação de 140,5 mm/mês. Para o período experimental, os valores de temperatura média mensal e precipitação pluviométrica, foram de 20,5°C e 170,9 mm/mês (INMET, 2016). Neste período foram registradas na Estação Meteorológica da UFSM, situada a aproximadamente 700 m da área experimental, 16 geadas, sendo seis em agosto de 2014, sete em junho de 2015,

uma em julho de 2015 e duas em setembro de 2015. O solo é classificado como Argissolo Vermelho distrófico arênico (STRECK et al., 2008), e, conforme os resultados da análise de solo (0-20 cm), realizada antes da implantação do experimento, obteve-se os seguintes valores médios: pH-H₂O=5,3; índice SMP=5,7; argila=28%; P-Mehlich=7,6 mg/dm³; K=116 mg/dm³; MO=3,2%; Al=0,2 cmol_c/dm³; Ca=8,2 cmol_c/dm³; Mg=3,4 cmol_c/dm³; saturação de bases=65,7% e saturação por Al=1,7%.

Figura 1 – Normais climatológicas e valores registrados no período experimental para temperatura média e precipitação acumulada mensal. Santa Maria – RS, 2014-2016.



Para as avaliações foi utilizada área de aproximadamente 700 m², dividida em 27 parcelas, com dimensões de 5 m de comprimento e 3 m de largura, cada uma, e corredores de 1 m de largura entre elas. O experimento foi constituído por um arranjo fatorial completo, sendo o fator A (qualitativo), a utilização ou não da inoculação (Coastcross-1 não inoculada; Coastcross-1 inoculada somente no plantio; e Coastcross-1 inoculada no plantio e no segundo ano de utilização) e o fator B (quantitativo), os diferentes níveis de adubação utilizados (0, 100 e 200 kg de N/ha/ano). Desta forma, foram constituídos os seguintes tratamentos:

Coastcross-1 não inoculada; Coastcross-1 não inoculada + 100 kg de N/ha/ano; Coastcross-1 não inoculada + 200 kg de N/ha/ano; Coastcross-1, mudas inoculadas no momento do plantio; Coastcross-1, mudas inoculadas no momento do plantio + 100 kg de N/ha/ano; Coastcross-1, mudas inoculadas no momento do plantio + 200 kg de N/ha/ano; Coastcross-1, mudas inoculadas no momento do plantio + reinoculação na parte aérea das plantas no segundo ano de utilização; Coastcross-1, mudas inoculadas no momento do plantio + reinoculação na parte aérea das plantas no segundo ano de utilização + 100 kg de N/ha/ano; Coastcross-1, mudas inoculadas no momento do plantio + reinoculação na parte aérea das plantas no segundo ano de utilização + 200 kg de N/ha/ano.

Aproximadamente 45 dias antes da implantação da Coastcross-1, foi realizada a correção da acidez do solo, com calcário dolomítico, mediante incorporação ao solo com o auxílio de grade aradora. A adubação de base do primeiro ano agrícola foi realizada na semana anterior ao plantio das mudas, aplicando-se 100 kg/ha de P_2O_5 e 60 kg/ha de K_2O , seguida de gradagem leve para incorporação; no ano subsequente, no mesmo período, aplicou-se, em superfície, 80 kg/ha de P_2O_5 e 60 kg/ha de K_2O . Para as adubações fosfatada e potássica, bem como a correção da acidez, seguiu-se a recomendação da Comissão Brasileira de Química e Fertilidade do Solo- RS/SC (2004), para gramíneas perenes de estação quente. Para o N, usou-se ureia, sendo a quantidade total dividida em cinco aplicações por ano. No primeiro ano agrícola a primeira aplicação foi feita 20 dias após o plantio das mudas e as demais após a realização do 1º, 2º, 3º e 4º corte do pasto; para o segundo ano as aplicações foram realizadas após o 1º, 2º, 3º, 4º e 5º corte do pasto.

Em setembro de 2014 foi realizada a implantação da gramínea, utilizando-se mudas de “capim bermuda” (*Cynodon dactylon* L. Pers.), cv. Coastcross-1, maduras e dotadas de raízes; plantadas em covas de aproximadamente 10 cm de profundidade, espaçadas a cada 0,5 m. Para inoculação das mudas, nos respectivos tratamentos, foi utilizado o produto comercial AzoTotal® (inoculante líquido composto de cultura pura de bactérias *Azospirillum brasilense*, estirpes Ab-V5 e Ab-V6, com concentração de $2,0 \times 10^8$ UFC/ml); fez-se a diluição do produto, na proporção de 0,5 l de inoculante para cada 199,5 l de água. A aplicação da calda foi realizada, utilizando-se pulverizador costal, diretamente na muda colocada na cova, antes desta ser coberta com solo, utilizando-se uma proporção de 200 l de calda/ha. Para os tratamentos com inoculação no segundo ano agrícola, utilizou-se a mesma diluição e proporção de inoculante do primeiro ano, sendo realizada a aplicação na parte aérea das plantas no final do mês de setembro de 2015.

Os pastos foram manejados sob regime de corte, sendo realizados quando estes atingiam altura de dossel de aproximadamente 25 cm. Em cada parcela era realizado corte do material acima de 7 cm do solo, em local aleatório, utilizando-se um quadrado de 0,25 m², caracterizando a massa de forragem disponível. Na sequência, no mesmo local, era realizado corte rente ao solo para a determinação da massa de forragem residual. Posteriormente, as amostras foram pesadas, homogeneizadas, sendo separada uma subamostra para determinação da composição botânica do pasto e estrutural da Coastcross-1 (lâmina foliar e colmo + bainha). Após a separação, os componentes foram secos em estufa de ar forçado a 55°C, até atingirem peso constante para determinação da porcentagem de matéria seca. Após a coleta das amostras, fez-se um corte (7 cm do solo) do material remanescente, uniformizando as parcelas. A forragem cortada foi retirada das parcelas experimentais.

A produção de forragem foi calculada somando-se as produções de cada corte realizado na estação. Para as demais variáveis optou-se pela apresentação dos dados médios dos cortes ocorridos dentro de uma mesma estação. A taxa de acúmulo diário da forragem foi obtida subtraindo-se da massa de forragem total do corte em questão a massa de forragem residual do corte anterior, dividindo-se pelo número de dias do intervalo entre os cortes. A relação lâmina foliar:colmo + bainha foi obtida pelo quociente dos componentes estruturais da Coastcross-1.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso, distribuído em um esquema fatorial (inoculação x níveis de adubação x estações do ano) com três repetições (parcelas). Os resultados foram submetidos à análise de variância, por meio do procedimento MIXED. O efeito dos fatores e de suas interações foram submetidos ao teste T de Student para a comparação de médias, em nível de 5% de probabilidade ao erro, desprotegidos pelo teste F. As matrizes de covariância utilizadas foram escolhidas pelo menor valor de AIC (Akaike's Information Criteria). Os dados referentes à taxa de acúmulo de forragem foram submetidos à análise de regressão polinomial, em função das estações do ano. Os erros foram submetidos ao teste de normalidade. Para verificar a associação entre as variáveis fez-se a análise de correlação de Pearson. As análises foram realizadas com auxílio do pacote estatístico SAS (2016).

Foi utilizado o seguinte modelo estatístico: $Y_{ijkl} = m + T_i + D_j + E_k + T_iD_j + T_iE_k + D_jE_k + T_iD_jE_k + B_l + B_l(T_iD_j) + \varepsilon_{ijkl}$. Em que, Y_{ijkl} representa as variáveis dependentes; m é a média de todas as observações; T_i é o efeito do uso da inoculação ($i=3$); D_j , é o efeito dos níveis de N ($j=3$); E_k , é o efeito das estações ($k=7$); T_iD_j é a interação entre inoculação e doses de N; T_iE_k é a interação entre inoculação e estações; D_jE_k é a interação doses de N e estações;

$T_iD_jE_k$ é a interação entre inoculação, doses de N e estações; B_l é o efeito dos blocos ($l=3$); $B_l(T_iD_j)$ é o efeito de blocos dentro da interação inoculação x níveis de N (erro a) e ε_{ijkl} é o efeito residual (erro b).

O efeito referente aos anos agrícolas não está contemplado no modelo estatístico, pelo fato do primeiro ano se tratar da implantação do pasto, optando-se pela discussão entre as estações.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Do plantio das mudas até a realização do último corte transcorreram-se 618 dias, tendo-se realizado um total de 14 cortes dos pastos, distribuídos da seguinte forma: um na primavera de 2014, três no verão de 2014/2015, dois no outono de 2015, um no inverno de 2015 (primeiro ano agrícola); dois na primavera de 2015, três no verão de 2015/2016 e dois no outono de 2016 (segundo ano agrícola). Destaca-se a realização de corte no inverno do primeiro ano de avaliação, devido às temperaturas elevadas ocorridas, especialmente em agosto, com média de 4,9°C acima da normal climatológica (Figura 1), além de não ter ocorrido geada neste mês, propiciando o desenvolvimento da Coastcross-1.

Os intervalos de cortes nas diferentes estações, no primeiro ano de avaliação, foram de 68, 35, 48 e 60 dias, para a primavera, o verão, o outono e o inverno, respectivamente, totalizando um intervalo médio de cortes de 47 dias; já para o segundo ano de avaliação foram de 64, 29 e 37 dias, para a primavera, o verão e o outono, respectivamente, com média de 41 dias. O intervalo médio de cortes considerando todo o período experimental foi de 44 dias. Pereira et al. (2011), em pesquisa com Coastcross-1 sob diferentes idades de rebrotação (28 e 42 dias) e doses crescentes de N (0 a 400 kg de N/ha) chegaram a conclusão que, durante a estação de maior crescimento, intervalos de corte próximos a 28 dias são mais adequados para pastos recebendo maiores doses de N. Pastos sem adubação nitrogenada, ou com níveis baixos de fornecimento, podem ser manejados com intervalos maiores. Os intervalos médios obtidos, nos verões, especialmente no segundo ano, quando o pasto encontrava-se estabelecido, estão próximos ao preconizado pelos autores para os maiores níveis de adubação nitrogenada, o que pode ter favorecido o desenvolvimento dos pastos recebendo doses de N mais elevadas, principalmente aqueles inoculados.

Para a produção de forragem no primeiro ano agrícola (Tabela 1), não foram observadas diferenças nas distintas estações, comparando-se os mesmos níveis de adubação nitrogenada. No entanto, para a produção de forragem total do ano agrícola, verificou-se

diferença ($P \leq 0,05$) entre os pastos que não receberam adubação nitrogenada, com maiores valores para os pastos submetidos à inoculação com *A. brasilense*.

Tabela 1 – Produção de forragem em pastos de Coastcross-1, inoculados com *Azospirillum brasilense* e submetidos a diferentes doses de adubação nitrogenada. Santa Maria – RS, 2014-2016.

Dose N (kg)	Estações (1º ano agrícola)				Total	Estações (2º ano agrícola)			Total	CV (%)
	Pri	Ver	Out	Inv		Pri	Ver	Out		
Produção de forragem (t de MS/ha)										
Não inoculado										
0	1,8 ^{Bcd}	4,4 ^{Ca}	2,0 ^{Bbc}	0,9 ^{Ce}	9,1 ^D	2,8 ^{Cb}	4,6 ^{Da}	1,2 ^{Cde}	8,6 ^D	9,5
100	2,4 ^{ABc}	6,0 ^{ABa}	1,9 ^{Bc}	1,2 ^{BCd}	11,4 ^C	3,6 ^{Bb}	5,6 ^{BCDa}	2,0 ^{ABc}	11,3 ^C	7,4
200	2,7 ^{ABc}	7,1 ^{Aa}	2,2 ^{ABcd}	1,7 ^{ABd}	13,8 ^{AB}	4,3 ^{ABb}	6,9 ^{ABa}	2,3 ^{Ac}	13,4 ^{AB}	6,2
Inoculado no primeiro ano										
0	2,4 ^{ABb}	5,7 ^{BCa}	2,3 ^{ABbc}	1,3 ^{ABCc}	11,7 ^C	4,7 ^{Aa}	5,0 ^{CDa}	1,5 ^{BCbc}	11,2 ^C	7,3
100	2,7 ^{ABcd}	7,0 ^{ABa}	2,2 ^{ABd}	1,2 ^{BCe}	13,1 ^{BC}	4,0 ^{ABbc}	5,8 ^{BCa}	2,2 ^{ABd}	12,0 ^{BC}	6,7
200	3,0 ^{Ac}	7,2 ^{Aa}	2,4 ^{ABc}	1,6 ^{ABCd}	14,3 ^{AB}	4,5 ^{Ab}	7,2 ^{Aa}	2,5 ^{Ac}	14,2 ^A	5,9
Inoculado no primeiro e segundo ano										
0	2,5 ^{ABc}	5,5 ^{BCa}	2,3 ^{ABc}	1,4 ^{ABCd}	11,7 ^C	4,1 ^{ABb}	5,2 ^{CDab}	2,2 ^{ABc}	11,5 ^C	7,3
100	2,6 ^{ABc}	6,7 ^{ABa}	2,1 ^{ABc}	1,2 ^{BCd}	12,6 ^{BC}	4,0 ^{ABb}	5,7 ^{BCDab}	2,2 ^{ABc}	11,9 ^{BC}	6,9
200	3,1 ^{Ac}	7,1 ^{Aa}	2,8 ^{Ac}	2,0 ^{Ad}	15,0 ^A	4,5 ^{Ab}	8,1 ^{Aa}	2,2 ^{ABcd}	14,9 ^A	5,6
CV(%)	7,9	3,2	8,9	14,4	8,9	5,0	3,3	9,8	8,6	

Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, diferem entre si pelo teste T de Student ($P \leq 0,05$). CV= coeficiente de variação; Pri= primavera; Ver= verão; Out= outono; Inv= inverno.

No segundo ano agrícola, para os pastos que não receberam adubação nitrogenada, verificou-se superioridade ($P \leq 0,05$) na produção, na estação primaveril e na produção total de forragem, para os pastos inoculados; no outono, porém, apenas no pasto submetido à reinoculação foi registrada maior produção de forragem em relação ao não inoculado. Com esses resultados confirma-se que houve efeito da inoculação, quando não associada à adubação nitrogenada, sobre a produção de forragem, com incrementos médios de 28,6 e 32,0%, para o primeiro e segundo ano agrícola, respectivamente. Hungria et al. (2010), obtiveram ganhos semelhantes, avaliando o rendimento de grãos de milho, fertilizado com 24 kg de N/ha na semeadura, inoculados com diferentes estirpes de *A. brasilense*, inclusive as presentes no inoculante usado neste trabalho, sendo de 30% quando inoculado com a estirpe Ab-V5, e 28,6% com a Ab-V6, comparados ao controle não inoculado. No mesmo trabalho estes autores avaliaram a produção de sementes de trigo inoculado, fertilizado com 20 kg de N/ha na semeadura, obtendo, embora em menor escala, ganhos na produção, sendo de 16,0 e

18,1% para a inoculação com as estirpes Ab-V5 e Ab-V6, respectivamente, quando comparadas ao controle não inoculado.

Destaca-se que nos pastos inoculados (independente da reinoculação), quando fertilizados com 100 kg de N/ha/ano, a produção de forragem nas estações e também a produção total, nos dois anos agrícolas, foi igual à observada nos pastos não inoculados que receberam 200 kg de N/ha/ano, evidenciando a contribuição da inoculação também neste nível de adubação nitrogenada, indicando um possível efeito sinérgico (presença da bactéria x adubação nitrogenada) nesta dose de N. Lana et al. (2012) trabalhando com milho, registraram ganhos com a inoculação na biomassa seca da parte área do milho, quando não forneceram N em cobertura, na ordem de 6,5%, porém com a aplicação de 100 kg de N/ha em cobertura, estes autores encontraram resposta negativa, com diminuição da biomassa, na ordem de 10%, quando inoculado. Respostas positivas da inoculação de bactérias *A. brasilense* em gramíneas, quando não associadas à adubação nitrogenada em cobertura, são descritas por diversos autores (HUNGRIA et al., 2010; LANA et al., 2012), entretanto a sinergia entre a aplicação de doses de N em cobertura e a inoculação ainda não está clara. Hungria et al. (2016), avaliando durante dois anos pastos de *Brachiaria* spp. (*B. brizanta* e *B. ruziziensis*), obtiveram aumento médio de 5,4 e 22,1% da produção de biomassa, quando os pastos foram adubados com 40 kg de N/ha, e quando se associou a adubação (40 kg de N/ha) com a inoculação com *A. brasilense*, respectivamente, comparadas a produção em pastos sem adubação nitrogenada e não inoculados.

Na comparação entre os pastos inoculados somente no primeiro ano e os inoculados no primeiro e segundo ano, observa-se que não houve diferença entre eles considerando-se os mesmos níveis de N. Isto indica que as bactérias permaneceram no sistema, não havendo, assim, a necessidade de se reaplicar a inoculação no segundo ano agrícola.

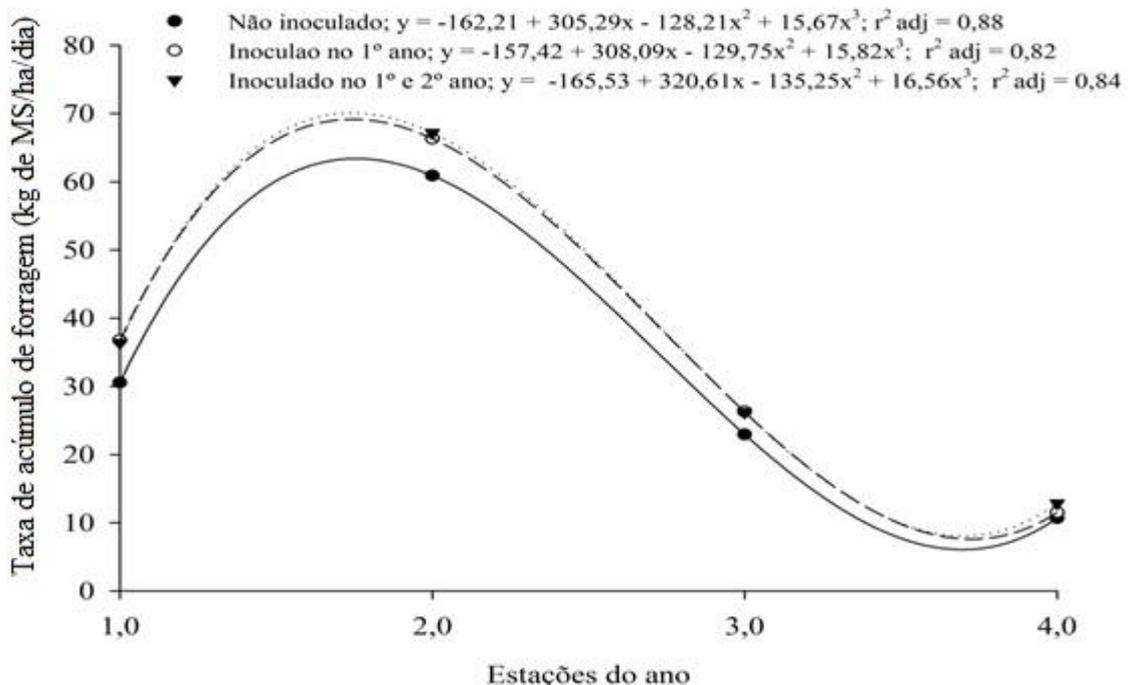
Considerando-se os diferentes níveis de N, observa-se que houve diferenças ($P \leq 0,05$) na produção de forragem, sendo mais evidentes nos pastos não inoculados. Na produção total de forragem as variações nos pastos não inoculados foram de 51,6 e 55,8%, no primeiro e segundo ano agrícola, respectivamente. Já a média de variações para os pastos inoculados foi de 25,2 e 28,2%, no primeiro e segundo ano agrícola, respectivamente. Evidenciando o efeito da inoculação quando não associada à adubação nitrogenada.

Quanto à distribuição da produção de forragem ao longo do ano (Tabela 1), de forma geral, ocorreu de acordo com o ciclo de produção da Coastcross-1 em regiões de clima subtropical, com produções mais elevadas no verão, e menores na primavera e outono (ANJOS et al., 2016; AGUIRRE et al., 2014; BARBERO et al., 2009). Apesar de, no

primeiro ano de avaliação, o clima ter colaborado para que ocorresse um corte no inverno, em função das temperaturas terem sido mais amenas, a produção nesta estação foi inferior às demais.

Quanto aos dados referentes à taxa de acúmulo diário de forragem (Figura 2), agrupados por estações do ano, estes apresentam um comportamento típico, com efeito cúbico com início ascendente, da primavera para o verão, e posterior queda no outono e também no inverno. Observando-se o traçado das curvas que representam os pastos submetidos à inoculação, constata-se que há semelhança, demonstrando-se, assim, não haver necessidade de se reinocular o pasto. A taxa de acúmulo diário registrada no verão para os pastos inoculados, de 66,8 kg de MS/ha, é semelhante à obtida por Anjos et al. (2016), na mesma estação, de 67,8 kg de MS/ha, avaliando Coastcross-1, adubada com 200 kg de N/ha/ano e pastejada por bovinos leiteiros.

Figura 2 – Equações de regressão para taxa de acúmulo diário de forragem da interação entre estações do ano e uso da inoculação (1=primavera; 2=verão; 3=outono e 4=inverno). Santa Maria – RS, 2014-2016.



Para a relação lâmina foliar:colmo + bainha da Coastcross-1 (Tabela 2), considerando-se os mesmo níveis de N, apenas no inverno do primeiro ano houve diferença ($P \leq 0,05$) nos pastos que não receberam adubação nitrogenada, com maior valor naquele que não foi

inoculado. Este comportamento, apesar de isolado, pode estar ligado a um possível maior desenvolvimento das raízes das plantas inoculadas, estimulado pela produção de fitormônios, com conseqüentemente maior exploração do solo, maior absorção do N disponível (MOREIRA et al., 2010; HUNGRIA et al., 2010) e, assim, maior desenvolvimento da parte aérea, e proporcionalmente de colmos, como observado quando foi aplicado N.

Tabela 2 – Relação lâmina foliar:colmo+bainha da Coastcross-1* inoculada com *Azospirillum brasilense* e submetida a diferentes doses de adubação nitrogenada. Santa Maria – RS, 2014-2016.

Dose N (kg)	Estações (1º ano agrícola)				Estações (2º ano agrícola)			Média	CV (%)
	Pri	Ver	Out	Inv	Pri	Ver	Out		
Não inoculado									
0	1,67 ^{Aa}	1,35 ^{ABab}	1,35 ^{Aab}	1,40 ^{Aab}	1,18 ^b	1,30 ^{Aab}	1,11 ^{ABb}	1,34	5,6
100	1,57 ^{ABa}	1,17 ^{CDEb}	1,17 ^{BCb}	1,03 ^{Bb}	1,12 ^b	1,11 ^{BCb}	0,90 ^{Cb}	1,15	6,5
200	1,10 ^{ABab}	1,02 ^{DEab}	1,07 ^{Cab}	0,96 ^{Bb}	1,25 ^a	1,18 ^{ABCab}	0,83 ^{Cb}	1,06	7,0
Inoculado no primeiro ano									
0	1,35 ^{ABa}	1,45 ^{Aa}	1,28 ^{ABab}	1,02 ^{Bb}	1,18 ^{ab}	1,30 ^{Aab}	1,18 ^{Aab}	1,25	5,9
100	1,03 ^{Bab}	1,21 ^{BCDab}	1,24 ^{ABab}	1,06 ^{Bab}	1,27 ^a	1,28 ^{Aa}	0,94 ^{BCb}	1,15	6,5
200	1,20 ^{ABa}	1,05 ^{DEab}	1,05 ^{Cab}	0,86 ^{Bb}	1,18 ^a	1,18 ^{ABCa}	0,82 ^{Cb}	1,05	7,1
Inoculado no primeiro e segundo ano									
0	1,36 ^{ABab}	1,39 ^{ABa}	1,19 ^{ABCb}	1,10 ^{Bb}	1,27 ^{ab}	1,24 ^{ABab}	1,27 ^{Aab}	1,26	5,9
100	1,40 ^{ABa}	1,10 ^{DEb}	1,21 ^{ABCab}	1,03 ^{Bbc}	1,29 ^{ab}	1,26 ^{Aab}	0,72 ^{Cc}	1,14	6,5
200	1,11 ^{ABab}	0,98 ^{Ebc}	1,15 ^{BCab}	0,89 ^{Bc}	1,20 ^a	1,08 ^{Cab}	0,80 ^{Cc}	1,03	7,2
CV(%)	10,5	3,5	2,9	5,0	4,8	2,1	4,4		

Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, diferem entre si pelo teste T de Student ($P \leq 0,05$). *Coleta das amostras a 7 cm do solo. CV= coeficiente de variação; Pri= primavera; Ver= verão; Out= outono; Inv= inverno.

De maneira geral, observa-se que os níveis de N tiveram maior influência sobre a composição estrutural da Coastcross-1, com maiores participações de lâmina foliar onde não houve aplicação de N e declínio à medida que se aplica e aumenta-se a dose de N. O valor médio de relação lâmina foliar:colmo + bainha da Coastcross-1, de 1,28, obtido para os pastos sem adubação nitrogenada é semelhante ao obtido por Ziech et al. (2015), de 1,34, avaliando Coastcross-1, adubada com 80 kg de N/ha/ano, utilizando metodologia de coleta da forragem semelhante ao deste trabalho. Valores elevados de participação de folhas são desejáveis, uma vez que, normalmente, apresentam maiores teores de proteína bruta e menores de fibra em detergente neutro que os colmos (BRANCO et al., 2012).

Para a composição botânica (Tabela 3), considerando-se os pastos sem adubação nitrogenada, foram observadas diferenças ($P \leq 0,05$) na participação da Coastcross-1 em cinco das sete avaliações, sendo que, em ao menos um dos pastos inoculados, houve participação de

Coastcross-1 superior ao não inoculado. Na dose de 200 kg de N/ha/ano, foi observada diferença apenas na primavera do primeiro ano agrícola, com maior valor no pasto inoculado somente naquele ano, quando comparado ao não inoculado. As diferenças observadas e também as médias de participação, demonstram o favorecimento, tanto do desenvolvimento inicial quanto da manutenção da participação da gramínea em estudo no pasto, quando inoculada com *A. brasilense*, especialmente quando não fertilizada com N. Esta resposta pode estar associada ao aumento da área superficial das raízes das gramíneas, resultando em uma planta mais produtiva e resistente (MOREIRA et al., 2010; HUNGRIA et al., 2010).

Na comparação da participação da Coastcross-1 entre as estações, não foram observadas diferenças ($P \geq 0,05$) apenas no nível de 200 kg de N/ha/ano, quando inoculado somente no primeiro ano, demonstrando a regularidade da participação da Coastcross-1 neste pasto, com média de 61,7%. Para os pastos que foram inoculados nos dois anos agrícolas, em todos os níveis de N, foram registradas, de forma geral, menores participações da Coastcross-1 na estação da sua implantação, com posterior aumento e estabilização da presença da gramínea. As maiores variabilidades ocorreram nos pastos não inoculados.

A presença de outras plantas (Tabela 3) está correlacionada negativamente (-0,91510; $P < 0,0001$) com a participação da Coastcross-1, possivelmente devido à concorrência por nutrientes, água e luz entre elas. Desta forma, nos pastos sem adubação nitrogenada, as diferenças ($P \geq 0,05$) observadas na participação de outras plantas, no verão e no outono dos dois anos agrícolas, tiveram sempre maiores valores registrados no pasto sem inoculação, em relação à ao menos um dos pastos inoculados. Para a dose de 100 kg de N/ha/ano, no outono do primeiro ano, houve maior participação de outras espécies no pasto sem inoculação. As diferenças observadas demonstram que o maior desenvolvimento da Coastcross-1, propiciado pela inoculação, teve resultado positivo sob o controle do desenvolvimento de plantas invasoras.

No decorrer das avaliações, a presença de outras plantas foi maior nas duas primeiras estações avaliadas. Isso ocorreu em função da Coastcross-1 estar se estabelecendo, permitindo assim, que na primavera do primeiro ano, houvesse participação significativa de azevém de ressemeadura natural, sendo de 23% da massa de forragem disponível. No ano seguinte, na mesma estação a participação do azevém foi de apenas 10%. No verão do primeiro ano houve desenvolvimento de espécies de crescimento espontâneo como o capim setária (*Setaria* spp.), o *Paspalum conjugatum*, a grama paulista (*Cynodon dactylon*), o capim das roças (*Paspalum urvillei* Steud.) e o capim pêlo de porco (*Piptochaetium montevidense*), o que aconteceu com menor intensidade no ano seguinte, devido à Coastcross-1 encontrar-se estabelecida.

Tabela 3 – Composição botânica na massa de forragem disponível de pastos de Coastcross-1, inoculados com *Azospirillum brasilense* e submetidos a diferentes doses de adubação nitrogenada. Santa Maria – RS, 2014-2016.

Dose N (kg)	Estações (1º ano agrícola)				Estações (2º ano agrícola)			Média	CV (%)
	Pri	Ver	Out	Inv	Pri	Ver	Out		
Coastcross-1 (%)*									
Não inoculado									
0	28,9 ^{Bc}	37,8 ^{Bbc}	50,8 ^{Bab}	56,7 ^{Ba}	58,1 ^a	55,3 ^{Ba}	47,6 ^{Bab}	47,9	6,7
100	31,7 ^{Bc}	51,3 ^{Ab}	59,1 ^{ABab}	73,5 ^{Aa}	54,2 ^b	54,6 ^{Bb}	45,2 ^{Bbc}	52,8	5,1
200	33,8 ^{Bc}	51,0 ^{Ab}	69,0 ^{Aab}	74,9 ^{Aa}	66,8 ^{ab}	66,7 ^{ABab}	53,7 ^{ABb}	59,4	4,8
Inoculado no primeiro ano									
0	49,6 ^{Ab}	53,7 ^{Aab}	64,3 ^{Aa}	67,8 ^{ABa}	58,7 ^{ab}	55,8 ^{Bab}	59,7 ^{ABab}	58,5	5,8
100	38,4 ^{Bc}	50,5 ^{Abc}	68,7 ^{Aab}	76,2 ^{Aa}	59,1 ^{abc}	60,9 ^{ABab}	50,5 ^{Bbc}	57,8	6,7
200	54,6 ^A	56,0 ^A	67,6 ^A	70,2 ^{AB}	66,3	59,0 ^{AB}	58,1 ^{AB}	61,7	5,3
Inoculado no primeiro e segundo ano									
0	40,2 ^{ABb}	58,6 ^{Aa}	68,0 ^{Aa}	68,0 ^{ABa}	66,4 ^a	71,0 ^{Aa}	66,4 ^{Aa}	62,7	3,2
100	35,1 ^{Bb}	49,5 ^{ABab}	67,8 ^{Aa}	67,2 ^{ABa}	59,5 ^a	64,0 ^{ABa}	51,9 ^{ABa}	56,4	4,9
200	42,2 ^{ABb}	55,9 ^{Aab}	65,9 ^{Aa}	63,6 ^{ABa}	61,3 ^a	65,9 ^{ABa}	56,0 ^{ABab}	58,6	7,9
CV(%)	13,1	6,1	6,1	3,5	6,3	4,6	7,2		
Outras plantas (%)*									
Não inoculado									
0	47,1 ^{Aab}	55,6 ^{Aa}	25,1 ^{Ac}	34,3 ^{Abc}	33,6 ^{bc}	37,7 ^{Abc}	39,8 ^{Abc}	39,0	11,8
100	44,6 ^{Aa}	44,0 ^{ABa}	22,9 ^{ABb}	19,9 ^{Bb}	37,4 ^{ab}	37,7 ^{Aab}	41,4 ^{Aa}	35,4	12,4
200	42,5 ^{ABab}	42,8 ^{ABa}	12,5 ^{BCc}	21,4 ^{Bbc}	26,6 ^{abc}	24,8 ^{ABabc}	33,0 ^{ABab}	29,1	13,6
Inoculado no primeiro ano									
0	33,3 ^{ABa}	40,1 ^{ABa}	14,8 ^{BCb}	27,1 ^{ABab}	32,4 ^{ab}	37,5 ^{Aa}	26,4 ^{Bab}	30,2	12,8
100	42,2 ^{ABa}	43,5 ^{ABa}	10,2 ^{Cc}	18,8 ^{Bbc}	32,4 ^{ab}	30,5 ^{ABab}	36,8 ^{ABab}	30,6	13,2
200	30,4 ^{Ba}	36,2 ^{Ba}	11,0 ^{Cb}	21,9 ^{Bab}	26,2 ^a	34,0 ^{ABa}	28,1 ^{ABa}	26,8	13,6
Inoculado no primeiro e segundo ano									
0	38,4 ^{ABa}	32,9 ^{Ba}	8,4 ^{Cb}	27,6 ^{ABa}	24,3 ^{ab}	20,4 ^{Bab}	22,6 ^{Bab}	24,9	14,3
100	40,6 ^{ABa}	43,2 ^{ABa}	10,7 ^{Cb}	26,4 ^{ABab}	31,5 ^a	29,6 ^{ABa}	31,3 ^{ABa}	30,5	12,9
200	36,7 ^{ABa}	36,8 ^{Ba}	15,4 ^{BCb}	27,9 ^{ABa}	26,5 ^{ab}	27,2 ^{ABab}	30,9 ^{ABa}	28,8	13,1
CV(%)	5,7	5,6	8,4	6,6	6,3	6,2	6,2		
Material morto (%)*									
Não inoculado									
0	24,0 ^{Aa}	6,6 ^{ABb}	24,1 ^a	9,0 ^{Ab}	8,3 ^{ABb}	7,0 ^b	12,6 ^{Bb}	13,1	11,8
100	23,8 ^{Aa}	4,8 ^{Bc}	18,0 ^a	6,6 ^{ABc}	8,4 ^{ABbc}	7,7 ^{bc}	13,4 ^{ABab}	11,8	13,1
200	23,7 ^{Aa}	6,3 ^{ABd}	18,5 ^{ab}	3,7 ^{Bd}	6,6 ^{Bd}	8,5 ^{dc}	13,4 ^{ABbc}	11,5	13,4
Inoculado no primeiro ano									
0	17,1 ^{ABab}	6,2 ^{ABd}	20,9 ^a	5,1 ^{ABd}	9,0 ^{ABcd}	6,7 ^d	13,9 ^{ABbc}	11,2	13,7
100	19,5 ^{ABa}	6,0 ^{ABc}	21,1 ^a	4,9 ^{ABc}	8,5 ^{ABbc}	8,6 ^{bc}	12,8 ^{Bab}	11,6	13,3
200	15,0 ^{Bb}	7,8 ^{Ad}	21,4 ^a	8,0 ^{Ac}	7,5 ^{Bd}	6,9 ^d	13,8 ^{ABbc}	11,5	13,4
Inoculado no primeiro e segundo ano									
0	21,4 ^{ABa}	8,5 ^{Ab}	23,6 ^a	4,4 ^{Bb}	9,3 ^{ABb}	8,6 ^b	11,0 ^{Bb}	12,4	12,5
100	24,4 ^{Aa}	7,3 ^{ABc}	21,5 ^{ab}	6,4 ^{ABc}	9,0 ^{ABc}	6,4 ^c	16,8 ^{Ab}	13,1	11,8
200	21,1 ^{ABa}	7,3 ^{ABc}	18,7 ^{ab}	8,5 ^{Ac}	12,2 ^{ABc}	6,9 ^c	13,1 ^{ABbc}	12,5	12,3
CV(%)	8,9	10,2	11,3	15,4	10,6	8,6	7,0		

Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, diferem entre si pelo teste T de Student ($P \leq 0,05$). *Coleta das amostras a 7 cm do solo. CV= coeficiente de variação; Pri= primavera; Ver= verão; Out= outono; Inv= inverno.

Quanto à presença de material morto (Tabela 3), nota-se irregularidade nas respostas observadas, não estando relacionadas claramente à inoculação ou aos níveis de N. Ao longo dos dois anos de avaliação, os maiores valores foram registrados na primavera e no outono do primeiro ano agrícola. Este comportamento pode ser explicado, na primavera do primeiro ano agrícola, pela alta participação do azevém, que chegando ao fim do seu período vegetativo, colaborou para o aumento da participação de material morto nos pastos e, no outono do primeiro ano agrícola, pela senescência das espécies de crescimento espontâneo de ciclo estival, que tinham participação elevada no pasto nesta estação.

3.4 CONCLUSÕES

A inoculação com bactérias *Azospirillum brasilense*, estirpes Ab-V5 e Ab-V6, na implantação da Coastcross-1, acarreta melhor estabelecimento da gramínea, especialmente quando não associada à adubação nitrogenada.

A inoculação proporciona aumento na produção de forragem dos pastos sem adubação nitrogenada, não sendo necessária a reinoculação no segundo ano agrícola.

Os ganhos com a inoculação decrescem à medida que se aumenta a dose de N aplicado.

3.5 REFERÊNCIAS

AGUIRRE, P. F. et al. Produtividade de pastagens de Coastcross-1 em consórcio com diferentes leguminosas de ciclo hibernal. **Ciência Rural**, v. 44, n. 12, p. 2265-2272, 2014.

ANJOS, A. N. A. et al. Forage yield in pastures with bermuda grass mixed with different legumes. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 38, n. 3, p. 261-266, 2016.

BARBERO, L. M. et al. Produção de forragem e componentes morfológicos em pastagem de coastcross consorciada com amendoim forrageiro. **Revista Brasileira de zootecnia**, v. 38, n. 5, p. 788-795, 2009.

BRANCO, A. F. et al. Chemical composition and crude protein fractions of Coastcross grass under grazing on winter, spring and summer in Southern Brazil. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 34, n. 2, p. 183-187, 2012.

COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO – RS/SC. **Manual de adubação e calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina**. 10. ed. Porto Alegre: SBCS-CQFS, 2004. 400p.

CORRÊA, L. A. et al. Efeito de fontes e doses de nitrogênio na produção e qualidade da forragem de capim-coastcross. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 4, p. 763-772, 2007.

COSTA, R. R. G. F. et al. Efficiency of inoculant with *Azospirillum brasilense* on the growth and yield of second-harvest maize. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 45, n. 3, p. 304-311, 2015.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Inoculation of *Brachiaria* spp. with the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense*: An environment-friendly component in the reclamation of degraded pastures in the tropics. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 221, n. 1, p. 125-131, 2016.

HUNGRIA, M. et al. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant and Soil**, v. 331, n. 1, p. 413-425, 2010.

INMET: INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA. **Banco de dados meteorológicos para ensino e pesquisa**. Dados mensais. Estação Meteorológica de Santa Maria – Cód. A803, 2014-2016. INMET: 2016.

LANA, M. C. et al. Inoculation with *Azospirillum*, associated with nitrogen fertilization in maize. **Revista Ceres**, v. 59, n. 3, p. 399-405, 2012.

MOREIRA, F. M. S. et al. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata Scientiae**, v. 1, n. 2, p. 74-99, 2010.

PEREIRA, O. G. et al. Análise de crescimento do capim Coastcross-1 sob adubação nitrogenada em duas idades de rebrotação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, n. 10, p. 2121-2128, 2011.

SAS INSTITUTE, SAS, **Studio user's guide version 3.5**, Cary: SAS Institute, 2016. 302p.

STRECK, E. V. et al. **Solos do Rio Grande do Sul**. 2. ed. Porto Alegre: EMATER/RS, 2008. 222p.

ZIECH, M. F. et al. Nutritive value of pastures of *Cynodon* mixed with forage peanut in southwestern Paraná State. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 37, n. 3, p. 243-249, 2015.

CAPÍTULO 4 - VALOR NUTRITIVO E MASSA DE FORRAGEM DE COASTCROSS-1 INOCULADA COM *Azospirillum brasilense*

RESUMO – A inoculação de gramíneas com bactérias diazotróficas, também conhecidas como promotoras do crescimento vegetal, vem ao encontro da necessidade de uma produção mais sustentável de alimentos. Assim, objetivou-se com esse trabalho avaliar o valor nutritivo e a massa de forragem disponível de pastos de Coastcross-1, inoculados com *Azospirillum brasilense*, fertilizados com diferentes doses de N e submetidos ao regime de corte. O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso, com três repetições, em esquema fatorial. Os fatores foram o uso da inoculação (não inoculado, inoculado somente no plantio e reinoculado no segundo ano), níveis de N (0, 100 e 200 kg de N/ha/ano), e os períodos do ano. Avaliou-se a massa de forragem disponível, composição botânica e estrutural do pasto; teor de proteína bruta, digestibilidade *in situ* da matéria orgânica e os nutrientes digestíveis totais da Coastcross-1. A inoculação, nos pastos não adubados com N, ocasionou aumento na massa de forragem disponível, na participação da Coastcross-1 e na disponibilidade de nutrientes digestíveis totais. Houve redução nos teores de proteína bruta da Coastcross-1, quando o pasto adubado com 200 kg de N/ha/ano foi inoculado. A inoculação tem efeito positivo em pastos de Coastcross-1 não submetidos à adubação nitrogenada.

Palavras-chave: *Cynodon dactylon*. Digestibilidade. Nutrientes digestíveis totais. Proteína bruta.

NUTRITIVE VALUE AND FORAGE MASS OF COASTCROSS-1 INOCULATED WITH *Azospirillum brasilense*

ABSTRACT – Grasses inoculation with diazotrophic bacteria, also known as plant-growth-promoting, meets the need for a more sustainable food production. Thus, the objective of this study was evaluate the nutritive value and forage mass of Coastcross-1 pastures inoculated with *Azospirillum brasilense* and fertilized with different levels of nitrogen subjected to cut. The experimental design was randomized blocks with three replications, in a factorial scheme. The factors were the inoculation (without inoculation, inoculated just in the implantation and reinoculated in the second year), levels of nitrogen (0, 100 and 200 kg of N/ha/year) and periods of the year. Forage mass, botanical and structural pasture composition; crude protein content, *in situ* digestibility of organic matter, and the total digestible nutrients of Coastcross-1 were evaluated. Inoculation increased the forage mass, Coastcross-1 content and availability of total digestible nutrients, when the pasture was not fertilized with N. There was reduction in Coastcross-1 crude protein content when fertilized with 200 kg of N/ha/year. The inoculation has a positive effect on Coastcross-1 pastures not submitted to nitrogen fertilization.

Keywords: *Cynodon dactylon*. Digestibility. Total digestible nutrients. Crude protein.

4.1 INTRODUÇÃO

Em distintos sistemas de produção pecuária vêm ocorrendo aumento significativo do uso de forrageiras perenes, com ênfase para as do gênero *Cynodon*. Dentre as cultivares, a Coastcross-1 destaca-se pela elevada produção (AGUIRRE et al., 2014) e bom valor nutritivo da forragem (ZIECH et al., 2015). Esta gramínea é bastante exigente em fertilidade, tendo boa resposta à adubação, principalmente a nitrogenada (BARBERO et al., 2010). Porém o uso indiscriminado desse tipo de adubação pode elevar o custo de produção, além de poder causar danos ao ambiente, pois grande parte do N aplicado não é aproveitado pelas plantas, podendo ser perdido por lixiviação, volatilização de amônia e desnitrificação (CHAVARRIA e MELLO, 2011).

Desta forma, o emprego de tecnologias que visem à diminuição do uso de adubos nitrogenados, sem perdas na produtividade e no valor nutritivo da forragem, é desejável. Neste contexto, a inoculação de gramíneas com bactérias diazotróficas associativas, como a *Azospirillum brasilense*, conhecidas também como bactérias promotoras do crescimento vegetal, que além de fixar N atmosférico, produzem fitormônios, responsáveis pelo maior desenvolvimento do sistema radicular, havendo assim aumentos significativos na absorção de nutrientes pela planta hospedeira (MOREIRA et al., 2010), vem sendo estudada. Pesquisas já realizada com estirpes dessa bactéria tem resultados satisfatórios, principalmente com milho e trigo (CHAVARRIA e MELLO, 2011; HUNGRIA et al., 2010; LANA et al., 2012).

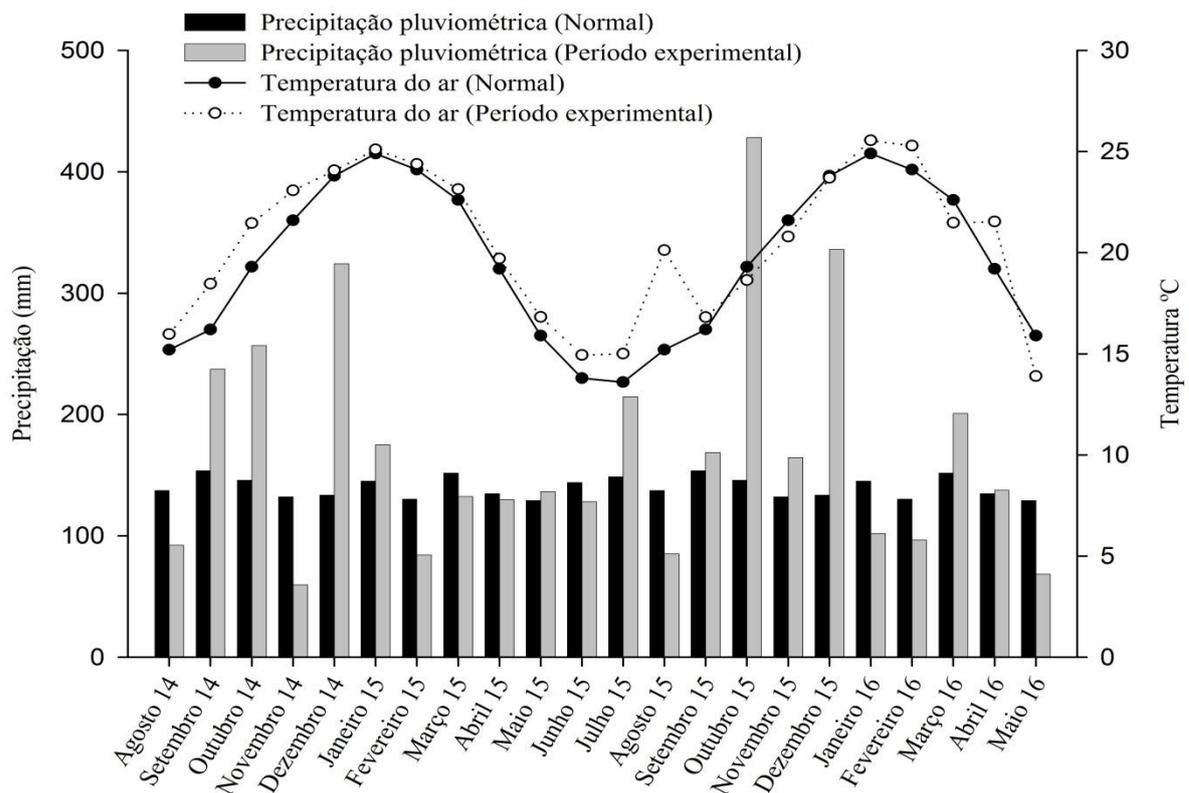
Estudos avaliando a contribuição da inoculação com *A. brasilense* em gramíneas perenes são raros. Assim, este trabalho tem como objetivo avaliar o valor nutritivo e a massa de forragem de pastos de Coastcross-1, inoculados com *A. brasilense* e submetidos a diferentes níveis de adubação nitrogenada.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi conduzida em área do Setor de Bovinocultura de Leite, pertencente ao Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), situada na Depressão Central do Rio Grande do Sul, no decorrer de dois anos agrícolas, de agosto de 2014 a maio de 2016. O clima da região é o subtropical úmido (Cfa), conforme classificação de Köppen, sendo as normais climatológicas (Figura 1) de temperatura de 19,2°C e precipitação de 140,5 mm/mês. Para o período experimental, os valores de temperatura média mensal e precipitação pluviométrica, foram de 20,5°C e 170,9 mm/mês (INMET, 2016). Neste

período foram registradas na Estação Meteorológica da UFSM, situada a aproximadamente 700 m da área experimental, 16 geadas, sendo seis em agosto de 2014, sete em junho de 2015, uma em julho de 2015 e duas em setembro de 2015. O solo é classificado como Argissolo Vermelho distrófico arênico (STRECK et al., 2008), e, conforme os resultados da análise de solo (0-20 cm), realizada antes da implantação do experimento, obteve-se os seguintes valores médios: pH-H₂O=5,3; índice SMP=5,7; argila=28%; P-Mehlich=7,6 mg/dm³; K=116 mg/dm³; MO=3,2%; Al=0,2 cmol/dm³; Ca=8,2 cmol/dm³; Mg=3,4 cmol/dm³; saturação de bases=65,7% e saturação por Al=1,7%.

Figura 1 – Normais climatológicas e valores registrados no período experimental para temperatura média e precipitação acumulada mensal. Santa Maria – RS, 2014-2016.



Para as avaliações foi utilizada área de aproximadamente 700 m², dividida em 27 parcelas, com dimensões de 5 m de comprimento e 3 m de largura, cada uma, e corredores de 1 m de largura entre elas. O experimento foi constituído por um arranjo fatorial completo, com nove tratamentos, sendo o fator A (qualitativo), a utilização ou não da inoculação (Coastcross-1 não inoculada; Coastcross-1 inoculada somente no plantio; e Coastcross-1

inoculada no plantio e no segundo ano de utilização) e o fator B (quantitativo), os diferentes níveis de adubação utilizados (0, 100 e 200 kg de N/ha/ano).

Aproximadamente 45 dias antes da implantação da Coastcross-1, foi realizada a correção da acidez do solo, com calcário dolomítico, mediante incorporação ao solo com o auxílio de grade aradora. A adubação de base do primeiro ano agrícola foi realizada na semana anterior ao plantio das mudas, aplicando-se 100 kg/ha de P_2O_5 e 60 kg/ha de K_2O , seguida de gradagem leve para incorporação; no ano subsequente, no mesmo período, aplicou-se, em superfície, 80 kg/ha de P_2O_5 e 60 kg/ha de K_2O . Para as adubações fosfatada e potássica, bem como a correção da acidez, seguiu-se a recomendação da Comissão Brasileira de Química e Fertilidade do Solo- RS/SC (2004), para gramíneas perenes de estação quente. Para o N, usou-se ureia, sendo a quantidade total dividida em cinco aplicações por ano. No primeiro ano agrícola a primeira aplicação foi feita 20 dias após o plantio das mudas e as demais após a realização do 1º, 2º, 3º e 4º corte do pasto; para o segundo ano as aplicações foram realizadas após o 1º, 2º, 3º, 4º e 5º corte do pasto.

Em setembro de 2014 foi realizada a implantação da gramínea, utilizando-se mudas de “capim bermuda” (*Cynodon dactylon* L. Pers.), cv. Coastcross-1, maduras e dotadas de raízes; plantadas em covas de aproximadamente 10 cm de profundidade, espaçadas a cada 0,5 m. Para inoculação das mudas, nos respectivos tratamentos, foi utilizado o produto comercial AzoTotal® (inoculante líquido composto de cultura pura de bactérias *Azospirillum brasilense*, estirpes Ab-V5 e Ab-V6, com concentração de $2,0 \times 10^8$ UFC/ml); fez-se a diluição do produto, na proporção de 0,5 l de inoculante para cada 199,5 l de água. A aplicação da calda foi realizada, utilizando-se pulverizador costal, diretamente na muda colocada na cova, antes desta ser coberta com solo, utilizando-se uma proporção de 200 l de calda/ha. Para os tratamentos com inoculação no segundo ano agrícola, utilizou-se a mesma diluição e proporção de inoculante do primeiro ano, sendo realizada a aplicação na parte aérea das plantas no final do mês de setembro de 2015.

Os pastos foram manejados sob regime de corte, sendo realizados quando estes atingiam altura de dossel de aproximadamente 25 cm. Em cada parcela era realizado corte do material acima de 7 cm do solo, em local aleatório, utilizando-se um quadrado de 0,25 m², caracterizando a massa de forragem disponível. Posteriormente, as amostras foram pesadas, homogeneizadas, sendo separada uma sub amostra para determinação da composição botânica do pasto e estrutural da Coastcross-1 (lâmina foliar e colmo + bainha). Após a separação, os componentes foram secos em estufa de ar forçado a 55°C, até atingirem peso constante para determinação da porcentagem de matéria seca. Após a coleta das amostras, fez-se um corte (7

cm do solo) do material remanescente, uniformizando as parcelas. A forragem cortada foi retirada das parcelas experimentais.

Os componentes estruturais da Coastcross-1 (lâmina foliar e colmo +bainha), separados na amostra, após serem secos em estufa e pesados, foram moídos em moinho do tipo “Willey” e acondicionadas na forma de amostra composta, misturando-se inicialmente as amostras de lâmina foliar e de colmo + bainha de cada parcela, do mesmo corte e, posteriormente fez-se a mistura das amostras dos cortes de acordo com os períodos (primavera/verão e outono/inverno, para o primeiro ano de avaliação, e primavera/verão e outono, para o segundo ano de avaliação). Em laboratório, primeiramente foi determinada a matéria seca (MS) total das amostras, realizada em estufa a 105°C, durante 16 horas. A matéria mineral (MM) foi determinada através de incineração em mufla a 550°C durante 4 horas; a matéria orgânica (MO) foi obtida pela diferença entre o peso das amostras resultantes na matéria seca e as da matéria mineral. Também foram realizadas análises quanto à proteína bruta (PB), pelo método Kjeldahl (AOAC, 1995) e digestibilidade *in situ* da matéria orgânica (DISMO), segundo Mehrez e Orskov (1977). A estimativa dos teores de nutrientes digestíveis totais (NDT) foi obtida pelo produto entre a porcentagem de MO e a DISMO, dividido por 100 (BARBER et al., 1984).

Para o cálculo de disponibilidade de PB da Coastcross-1, primeiramente obteve-se a massa de Coastcross-1 presente na massa de forragem disponível, multiplicando-se a massa de cada corte pela percentagem de participação da Coastcross-1 dividido por 100. Após foram somadas as massas de Coastcross-1 de cada período, e então multiplicou-se pelo teor de PB, dividido por 100. Para a disponibilidade de NDT usou-se a mesma metodologia de cálculo, valendo-se do NDT estimado.

Da mesma forma que as variáveis de valor nutritivo, que foram analisadas por períodos do ano, optou-se também pelo agrupamento dos demais dados, sendo utilizados para a análise estatística os dados médios dos cortes realizados nos mesmos períodos.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso, distribuído em esquema fatorial (inoculação x níveis de adubação x períodos do ano) com três repetições (parcelas). Os resultados foram submetidos à análise de variância, por meio do procedimento MIXED. O efeito dos fatores e de suas interações foram submetidos ao teste de T de Student para a comparação de médias, em nível de 5% de probabilidade ao erro, desprotegidos pelo teste F. As matrizes de covariância utilizadas foram escolhidas pelo menor valor de AIC (Akaike's Information Criteria). Os erros foram submetidos ao teste de normalidade. Para

verificar a associação entre as variáveis fez-se a análise de correlação de Pearson. As análises foram realizadas com auxílio do pacote estatístico SAS (2016).

Foi utilizado o seguinte modelo estatístico: $Y_{ijkl} = m + T_i + D_j + P_k + T_iD_j + T_iP_k + D_jP_k + T_iD_jP_k + B_l + B_l(T_iD_j) + \varepsilon_{ijkl}$. Em que, Y_{ijkl} representa as variáveis dependentes; m é a média de todas as observações; T_i é o efeito do uso da inoculação ($i=3$); D_j , é o efeito dos níveis de N ($j=3$); P_k , é o efeito dos períodos ($k=4$); T_iD_j é a interação entre inoculação e doses de N; T_iP_k é a interação entre inoculação e períodos; D_jP_k é a interação doses de N e períodos; $T_iD_jP_k$ é a interação entre inoculação, doses de N e períodos; B_l é o efeito dos blocos ($l=3$); $B_l(T_iD_j)$ é o efeito de blocos dentro da interação inoculação x níveis de N (erro a) e ε_{ijkl} é o efeito residual (erro b). O efeito referente aos anos agrícolas não está contemplado no modelo estatístico, pelo fato do primeiro ano se tratar da implantação do pasto, optando-se pela discussão entre os períodos.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os pastos, estabelecidos em setembro de 2014, atingiram altura de corte cerca de 70 dias após. Durante o período de avaliação foram realizados 14 cortes, com intervalo médio de 44 dias. No primeiro ano de avaliação foram realizados quatro cortes no período compreendido entre a primavera e o verão, e três cortes entre o outono e o inverno. O último corte foi feito no mês de agosto, em função das condições meteorológicas atípicas para a região, com temperaturas elevadas para essa época (Figura 1). No segundo ano de avaliação, com o pasto já estabelecido, foram realizados cinco cortes no período primavera/verão e dois no outono.

Com relação à disponibilidade de forragem (Tabela 1), comparando-se os pastos que não receberam adubação nitrogenada, houve diferença ($P \leq 0,05$) nos quatro períodos em que os cortes foram agrupados. Nos três primeiros períodos, foram registrados valores superiores nos pastos submetidos à inoculação. No outono do segundo ano de avaliação, apenas no pasto que foi inoculado nos dois anos, houve maior disponibilidade de forragem em relação ao não inoculado. Para dose de 100 kg de N/ha/ano, observou-se diferença no último período avaliado, com valores superiores no pasto que foi inoculado nos dois anos comparativamente ao não inoculado. Esses resultados apontam que houve efeito positivo da inoculação com bactérias *A. brasilense*, especialmente quando não associada à adubação nitrogenada, possivelmente em função da sua ação como promotoras do crescimento vegetal, através da

FBN e produção de fitormônios (CHAVARRIA e MELLO, 2011; HUNGRIA et al., 2010; LANA et al., 2012).

Tabela 1 – Massa de forragem disponível dos pastos e participação da Coastcross-1 inoculada com *Azospirillum brasilense* e submetida a diferentes doses de adubação nitrogenada. Santa Maria – RS, 2014-2016.

Dose N (kg)	Períodos Ano 1		Períodos Ano 2		Média	CV (%)
	Pri – Ver ¹	Out – Inv ²	Pri – Ver ³	Out ⁴		
Massa de forragem disponível (kg de MS/ha/corte)*						
Não inoculado						
0	1235 ^{Eab}	1090 ^{Cb}	1415 ^{Da}	776 ^{Dc}	1129	11,2
100	1674 ^{CDa}	1233 ^{BCb}	1750 ^{Ca}	1204 ^{BCb}	1465	8,6
200	1998 ^{ABa}	1599 ^{Ab}	2098 ^{ABa}	1335 ^{ABb}	1758	7,2
Inoculado no primeiro ano						
0	1580 ^{Da}	1550 ^{Aa}	1780 ^{Ca}	1028 ^{CDb}	1484	8,5
100	1932 ^{ABCa}	1419 ^{ABb}	1808 ^{BCa}	1327 ^{ABb}	1622	7,8
200	2128 ^{Aa}	1604 ^{Ab}	2216 ^{Aa}	1453 ^{ABb}	1850	6,8
Inoculado no primeiro e segundo ano						
0	1573 ^{Da}	1422 ^{ABab}	1835 ^{BCa}	1207 ^{BCb}	1509	8,4
100	1811 ^{BCDa}	1442 ^{ABb}	1776 ^{Ca}	1527 ^{Ab}	1639	7,7
200	2193 ^{Aa}	1709 ^{Ab}	2343 ^{Aa}	1581 ^{Ab}	1957	6,5
CV (%)	3,5	4,4	3,3	5,0		
Coastcross-1 (%)*						
Não inoculado						
0	35,6 ^{Bb}	52,8 ^{Ba}	56,4 ^{Ba}	47,6 ^{Bab}	48,1	4,5
100	46,4 ^{ABb}	63,9 ^{ABa}	54,4 ^{Bab}	45,2 ^{Bb}	52,4	3,9
200	46,7 ^{ABb}	71,0 ^{Aa}	66,7 ^{ABa}	53,7 ^{ABb}	59,5	3,6
Inoculado no primeiro ano						
0	52,7 ^{Ab}	65,5 ^{ABa}	57,0 ^{ABab}	59,7 ^{ABab}	58,7	2,6
100	47,5 ^{ABc}	71,2 ^{Aa}	60,2 ^{ABab}	50,5 ^{Bbc}	57,3	4,5
200	55,6 ^{Ab}	68,5 ^{ABa}	61,9 ^{ABab}	58,1 ^{ABab}	61,0	4,8
Inoculado no primeiro e segundo ano						
0	54,0 ^{Ab}	68,0 ^{ABa}	69,2 ^{Aa}	66,4 ^{Aa}	64,4	3,0
100	45,9 ^{ABc}	67,6 ^{ABa}	62,2 ^{ABab}	51,9 ^{ABbc}	56,9	3,1
200	52,5 ^{Ab}	65,1 ^{ABa}	64,1 ^{ABab}	56,0 ^{ABab}	59,4	3,1
CV(%)	6,1	4,5	5,0	7,2		

Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, diferem entre si pelo teste T de Student ($P \leq 0,05$). *Coleta das amostras a 7 cm do solo. ¹Quatro cortes; ²Três cortes; ³Cinco cortes; ⁴Dois cortes; Pri= primavera; Ver= verão; Out= outono; Inv= inverno; CV= coeficiente de variação.

Comparando-se os diferentes níveis de N, nota-se maior distanciamento dos valores entre os pastos não inoculados. Para os pastos inoculados, houve menor variabilidade, destacando-se que, no outono/inverno do primeiro ano agrícola, a disponibilidade de forragem foi igual em todos os níveis de N nos pastos inoculados, com valor médio de 1524 kg de

MS/ha. Ziech et al. (2015) avaliando Coastcross-1 com adubação de 80 kg de N/ha/ano, sob metodologia de corte semelhante ao desse trabalho, obtiveram valor inferior, de 1312 kg de MS/ha, para o outono do ano de implantação do pasto.

Os resultados apontam que, além de haver efeito positivo da inoculação nos pastos sem adubação nitrogenada, também houve, embora em menor escala, efeito sinérgico da inoculação com a adubação nitrogenada na dose de 100 kg de N/ha/ano na disponibilidade de forragem. Avaliando o acúmulo de biomassa de *Brachiaria brizanta* e *Brachiaria ruziziensis*, adubadas com 40 kg de N/ha, Hungria et al. (2016) observaram ganho de 16,7%, para os pastos inoculados com *A. brasilense*, em relação àqueles não inoculados, demonstrando o sinergismo da inoculação com a aplicação de baixos níveis de N nos pastos.

Comparando-se as massas de forragem disponíveis obtidas nos diferentes períodos avaliados, os maiores valores foram registrados na primavera/verão dos dois anos. Ziech et al. (2015) registraram aumento nas massas de forragem disponíveis do verão do ano de implantação do pasto, para a primavera/verão do segundo ano de avaliação, sendo as médias de 1492 e 2653 kg de MS/ha, respectivamente. No presente trabalho, apesar das médias não diferiram entre os períodos de primavera/verão de um ano para o outro, no segundo ano foi realizado maior número de cortes. Estes resultados eram esperados, pois é no verão que ocorre o pico de produção da Coastcross-1 (BARBERO et al., 2010). Salienta-se a importância da disponibilidade de forragem registrada no outono/inverno do primeiro ano e no outono do segundo ano agrícola, principalmente no período outonal, quando as forrageiras de ciclo hibernal muitas vezes ainda não apresentam condições para o uso, com destaque para a disponibilidade nos pastos inoculados.

Quanto à participação da Coastcross-1 na massa de forragem disponível (Tabela 1), na fase inicial de estabelecimento da cultura (primavera/verão do primeiro ano), nos pastos sem adubação nitrogenada, foram observadas maiores participações ($P \leq 0,05$) naqueles inoculados. Esse resultado demonstra que, quando não adubada com N, há efeito positivo da inoculação com *A. brasilense* na fase inicial de estabelecimento da Coastcross-1. Também houve efeito no segundo ano de avaliação, nos dois períodos avaliados, com participação superior da Coastcross-1 no pasto que foi reinoculado naquele ano, em relação ao não inoculado. O melhor estabelecimento da gramínea quando inoculada pode estar ligado a um maior desenvolvimento do sistema radicular, com aumento da área superficial das raízes, maior absorção de nutrientes e conseqüentemente melhor desenvolvimento como um todo da planta. Esse estímulo ao crescimento de raízes com a inoculação é relatado por diversos autores para

gramíneas como o milho e trigo (CHAVARRIA e MELLO, 2011; HUNGRIA et al., 2010) e está associado à produção de fitormônios pelas bactérias.

Para a participação da Coastcross-1 nos pastos ao longo dos dois anos avaliados, os menores valores registrados, na primavera/verão do primeiro ano, ocorreram por ser a fase inicial de estabelecimento da gramínea. Os valores elevados encontrados no outono/inverno do mesmo ano, devem-se principalmente ao corte realizado no inverno, que com a ocorrência de temperaturas acima das médias normais (Figura 1), propiciou o desenvolvimento da Coastcross-1. A média de participação da Coastcross-1, de 62,4%, observada na primavera/verão do segundo ano de avaliação, nos pastos inoculados, é semelhante à registrada, no verão, por Aguirre et al. (2014), de 61,7%, avaliando pasto de Coastcross-1 em consórcio com trevo vesiculoso e adubado com 100 kg de N/ha/ano.

Não houve efeito da inoculação sobre a composição estrutural da Coastcross-1. Houve, no entanto, efeito ($P \leq 0,05$) da adubação nitrogenada (Tabela 2), com aumento da participação da fração colmo + bainha e consequente diminuição de lâminas foliares, quando os pastos foram submetidos à adubação nitrogenada e também com a elevação da dose aplicada. Isto ocorre porque a adubação nitrogenada implica em maior desenvolvimento da gramínea, com aumento na participação de colmos na sua composição estrutural (AGUIRRE et al., 2014). As maiores variabilidades na composição estrutural ao longo das avaliações foram observadas para a Coastcross-1 dos pastos adubados com 200 kg de N/ha/ano.

Tabela 2 – Efeito da interação de diferentes doses de adubação nitrogenada e períodos de avaliação sobre a composição estrutural da Coastcross-1. Santa Maria – RS, 2014-2016.

Doses N (kg)	Períodos Ano 1		Períodos Ano 2		Média	CV (%)
	Pri – Ver ¹	Out – Inv ²	Pri – Ver ³	Out ⁴		
Lâmina foliar (%)*						
0	57,9 ^{Aa}	54,9 ^{Ab}	55,2 ^{Ab}	54,3 ^{Ab}	55,6	1,9
100	54,1 ^{Ba}	53,2 ^{Aa}	54,4 ^{ABa}	45,9 ^{Bb}	51,9	2,0
200	50,6 ^{Cb}	50,4 ^{Bb}	53,6 ^{Ba}	45,1 ^{Bc}	49,9	2,1
CV(%)	1,4	1,5	1,1	2,7		
Colmo + bainha da folha (%)*						
0	42,1 ^{Cb}	45,1 ^{Ba}	44,8 ^{Ba}	45,7 ^{Ba}	44,4	2,3
100	45,9 ^{Bb}	46,8 ^{Bb}	45,6 ^{ABb}	54,1 ^{Aa}	48,1	2,2
200	49,4 ^{Ab}	49,6 ^{Ab}	46,4 ^{Ac}	54,9 ^{Aa}	50,1	2,1
CV (%)	1,7	1,7	1,4	2,5		

Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, diferem entre si pelo teste T de Student ($P \leq 0,05$). *Coleta das amostras a 7 cm do solo. ¹Quatro cortes; ²Três cortes; ³Cinco cortes; ⁴Dois cortes; Pri= primavera; Ver= verão; Out= outono; Inv= inverno; CV= coeficiente de variação.

Não houve interação entre os fatores (inoculação e adubação) para os valores de MM e MO. Apenas houve efeito de período de avaliação ($P \leq 0,05$). Os teores de MM da Coastcross-1 aumentaram com o avanço do ciclo vegetativo da planta, tendo sido obtido maior valor no outono/inverno do primeiro ano, de 8,3%, seguido do outono do segundo ano de avaliação, de 7,5%. Para o teor de MO, os maiores valores foram obtidos no período de primavera/verão, em ambos os anos, sendo de 93,1 e 92,5%, respectivamente. Estas duas variáveis estão fortemente correlacionadas com os teores de PB (Tabela 4), sendo positiva para a MM (0,76005; $P < 0,0001$) e negativa para a MO (-0,76005; $P < 0,0001$).

Para os teores de PB da Coastcross-1 (Tabela 3), houve diferença ($P \leq 0,05$) em três dos quatro períodos. O teor de PB da Coastcross-1, quando não inoculada e adubada com 200 kg de N/ha/ano, foi maior ($P \leq 0,05$) que o daquelas inoculadas e com igual adubação nitrogenada, tanto na primavera/verão, quanto no outono/inverno do primeiro ano de avaliação. Na primavera/verão do segundo ano, também na dose de 200 kg de N/ha/ano, apenas o teor de PB da Coastcross-1 que foi inoculada novamente neste período foi inferior ao da gramínea não inoculada. Lana et al.(2012), trabalhando com milho, observaram queda no teor de N foliar quando se associou a inoculação com 100 kg de N/ha em cobertura. No presente trabalho esta dose de N não teve interação com a inoculação, apresentando queda com 200 kg de N/ha/ano. Estes autores relataram a necessidade de maiores estudos para compreender a contribuição da inoculação quando associadas à adubação nitrogenada, uma vez que nem sempre os resultados são positivos. No entanto, Hungria et al. (2016), obtiveram aumentos de 21,7% no teor de N na biomassa de pastos de *Brachiaria brizanta* e *Brachiaria ruziziensis*, adubadas com 40 kg de N/ha, quando inoculadas com *A. brasilense* (estirpes Ab-V5 e Ab-V6), comparativamente aqueles não inoculados e submetidos à mesma dose de N.

Comparando-se os períodos, no decorrer das avaliações, os maiores valores de PB foram encontrados no outono/inverno do primeiro ano, para todos os tratamentos, tendo se equiparado em alguns deles aos valores do outono do segundo ano. Comportamento similar a este foi observado por Olivo et al. (2007), também trabalhando com gramínea de ciclo estival (capim elefante), com valores de 13,37 e 17,17% de PB, para os períodos estival e hibernal, respectivamente. Os autores relacionaram os resultados ao maior desenvolvimento das gramíneas tropicais no período estival, principalmente verão, com elevação da matéria seca, da fibra em detergente neutro e conseqüente diminuição da PB.

Tabela 3 – Teores e disponibilidade de proteína bruta da Coastcross-1 inoculada com *Azospirillum brasilense* e submetida a diferentes doses de adubação nitrogenada. Santa Maria – RS, 2014-2016.

Doses N (kg)	Períodos Ano 1		Períodos Ano 2		Média	CV (%)
	Pri – Ver ¹	Out – Inv ²	Pri – Ver ³	Out ⁴		
Proteína bruta (%)*						
Não inoculado						
0	9,6 ^{Dc}	16,3 ^{Ba}	12,2 ^{BCb}	15,6 ^a	13,5	3,8
100	11,2 ^{Bc}	16,9 ^{ABa}	12,0 ^{BCc}	14,9 ^b	13,8	3,7
200	12,9 ^{Ab}	18,2 ^{Aa}	13,5 ^{Ab}	14,5 ^b	14,8	3,5
Inoculado no primeiro ano						
0	9,9 ^{CDc}	16,0 ^{Ba}	12,3 ^{BCb}	14,3 ^{ab}	13,1	3,9
100	10,7 ^{BCc}	16,9 ^{ABa}	11,7 ^{BCc}	14,2 ^b	13,4	3,9
200	11,6 ^{Bb}	16,4 ^{Ba}	12,7 ^{ABb}	14,7 ^a	13,9	3,7
Inoculado no primeiro e segundo ano						
0	10,3 ^{CDc}	16,5 ^{Ba}	11,2 ^{Cc}	14,2 ^b	13,0	3,9
100	10,9 ^{BCc}	17,7 ^{ABa}	11,4 ^{Cc}	14,6 ^b	13,7	3,8
200	11,0 ^{BCc}	15,8 ^{Ba}	12,2 ^{BCbc}	13,8 ^{ab}	13,2	3,9
CV(%)	2,5	2,3	1,9	3,0		
Disponibilidade de proteína bruta da Coastcross-1 (kg de MS/ha/período)*						
Não inoculado						
0	169 ^{Bb}	292 ^{Cb}	510 ^{Ca}	118 ^{Bb}	272	4,7
100	359 ^{ABb}	400 ^{BCb}	572 ^{Ca}	168 ^{ABc}	375	2,8
200	483 ^{Ab}	643 ^{Ab}	946 ^{Aa}	207 ^{Ac}	570	2,1
Inoculado no primeiro ano						
0	337 ^{ABb}	504 ^{ABCab}	639 ^{BCa}	175 ^{ABc}	414	3,3
100	408 ^{ABb}	516 ^{ABCab}	653 ^{ABCa}	168 ^{ABc}	436	3,5
200	580 ^{Ab}	550 ^{ABb}	883 ^{ABa}	237 ^{Ac}	562	4,2
Inoculado no primeiro e segundo ano						
0	354 ^{ABc}	489 ^{ABCb}	720 ^{ABCa}	230 ^{Ad}	448	2,0
100	362 ^{ABbc}	515 ^{ABCab}	638 ^{BCa}	228 ^{Ac}	436	2,7
200	517 ^{Ab}	530 ^{ABb}	934 ^{Aa}	245 ^{Ac}	556	3,0
CV(%)	5,0	4,5	3,9	5,4		

Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, diferem entre si pelo teste T de Student ($P \leq 0,05$). *Coleta das amostras a 7 cm do solo. ¹Quatro cortes; ²Três cortes; ³Cinco cortes; ⁴Dois cortes; Pri= primavera; Ver= verão; Out= outono; Inv= inverno; CV= coeficiente de variação.

Para a disponibilidade de PB, não foram observadas diferenças relacionadas à inoculação, considerando-se os mesmos níveis de N (Tabela 3), demonstrando que os volumes produzidos e a participação da Coastcross-1 na massa de forragem disponível (Tabela 1) compensaram as diferenças observadas nos teores de PB. Para a Coastcross-1 inoculada, a disponibilidade de PB foi igual em todos os níveis de adubação nitrogenada,

exceto na primavera/verão do segundo ano, onde observou-se diferença entre os níveis de N para a gramínea reinoculada neste período. Esta similaridade evidencia a colaboração da inoculação nas doses mais baixas de adubação nitrogenada, especialmente quando não adubada com N.

Maiores valores para disponibilidade de PB foram registrados, em todos os tratamentos, na primavera/verão do segundo ano de avaliação, mesmo com menores teores de PB que os do outono/inverno. Este resultado é justificado pelo maior número de cortes realizados, e também pela maior massa de forragem disponível (Tabela 1) obtida nesse período.

Para a DISMO e o NDT (Tabela 4), na Coastcross-1 não submetida à adubação nitrogenada, foi observada diferença ($P \leq 0,05$) na primavera/verão do segundo ano de avaliação, tendo apresentado maiores valores quando foi reinoculada neste período, comparativamente a que só foi inoculada no plantio. No outono do segundo ano de avaliação, foi observada diferença para os valores de DISMO e NDT na Coastcross-1 adubada com 100 kg de N/ha/ano, apresentando valores superiores na gramínea inoculada somente no primeiro ano, comparativamente a que foi reinoculada no segundo ano com igual adubação nitrogenada. Não há uma explicação clara para esta diferença, possivelmente, a reinoculação nesse período, possa ter colaborado para a manutenção da digestibilidade, mesmo com a elevada massa de forragem disponível registrada no período (Tabela 1). Segundo Oliveira et al. (2011), o aumento das doses de N aplicados na Coastcross-1 causa aumento na digestibilidade da gramínea, fato este que não ocorreu no presente estudo, nem mesmo nos pastos não inoculados, onde se tem uma maior amplitude de massa de forragem (Tabela 1).

A Coastcross-1, quando inoculada, apresentou regularidade, tanto para os valores de DISMO, quanto nos teores de NDT, registrados ao longo dos dois anos avaliados, com exceção para o pasto inoculado somente no plantio, sem adubação nitrogenada, que apresentou maiores valores no outono/inverno do primeiro ano de avaliação. Essa estabilidade do pasto é interessante à medida que, quando for utilizado para pastejo, consegue-se ter um melhor equilíbrio energético da dieta dos animais ao longo dos períodos. Olivo et al. (2016) obtiveram valores de DISMO e NDT semelhantes aos do presente trabalho para pastos de Coastcross-1 adubados com 150 kg de N, sendo de 63,7; 65,2 e 63,0% de DISMO e de 58,6; 56,9 e 58,2% de NDT, para a primavera, verão e outono, respectivamente, com amostras coletadas simulando o pastejo.

Tabela 4 – Digestibilidade *in situ* da matéria orgânica, teor e disponibilidade de nutrientes digestíveis totais da Coastcross-1 inoculada com *Azospirillum brasilense* e submetida a diferentes doses de adubação nitrogenada. Santa Maria – RS, 2014-2016.

Doses N (kg)	Períodos Ano 1		Períodos Ano 2		Média	CV (%)
	Pri – Ver ¹	Out – Inv ²	Pri – Ver ³	Out ⁴		
Digestibilidade <i>in situ</i> da matéria orgânica (%)*						
Não inoculado						
0	57,7 ^c	69,7 ^{Aa}	63,6 ^{ABb}	64,0 ^{ABab}	63,7	3,2
100	63,8 ^{ab}	69,0 ^{ABa}	64,8 ^{ABab}	63,6 ^{ABb}	65,3	3,1
200	60,8 ^b	65,4 ^{ABab}	66,5 ^{Aa}	60,8 ^{ABb}	63,4	3,2
Inoculado no primeiro ano						
0	57,1 ^b	67,2 ^{ABa}	61,3 ^{Bb}	61,3 ^{ABb}	61,6	3,3
100	58,5	64,5 ^{AB}	65,0 ^{AB}	65,4 ^A	63,3	3,2
200	62,3	67,1 ^{AB}	62,3 ^{AB}	64,7 ^{AB}	64,1	3,2
Inoculado no primeiro e segundo ano						
0	61,7	65,4 ^{AB}	66,7 ^A	62,6 ^{AB}	64,1	3,2
100	59,6	64,8 ^{AB}	64,1 ^{AB}	60,1 ^B	62,1	3,3
200	62,2	64,3 ^B	63,5 ^{AB}	60,9 ^{AB}	62,7	3,3
CV (%)	3,2	1,7	1,7	1,7		
Nutrientes digestíveis totais (%)*						
Não inoculado						
0	53,6 ^b	63,7 ^a	59,0 ^{ABab}	59,2 ^{ABab}	58,9	3,2
100	59,3	63,1	60,2 ^{AB}	58,5 ^{AB}	60,3	3,1
200	56,5 ^{ab}	59,8 ^{ab}	61,7 ^{Aa}	56,2 ^{ABb}	58,5	3,2
Inoculado no primeiro ano						
0	53,3 ^b	61,7 ^a	56,9 ^{Bb}	56,4 ^{ABb}	57,1	3,3
100	54,6	59,5	60,6 ^{AB}	60,6 ^A	58,8	3,2
200	57,9	61,7	58,0 ^{AB}	60,2 ^A	59,5	3,2
Inoculado no primeiro e segundo ano						
0	57,3	59,8	61,9 ^A	57,6 ^{AB}	59,2	3,2
100	55,5	59,3	59,6 ^{AB}	55,5 ^B	57,5	3,3
200	57,9	59,1	59,3 ^{AB}	56,6 ^{AB}	58,2	3,3
CV (%)	3,2	1,7	1,7	1,7		
Disponibilidade de nutrientes digestíveis totais da Coastcross-1 (kg de MS/ha/período)*						
Não inoculado						
0	929 ^{Cb}	1140 ^{Bb}	2419 ^{Da}	456 ^{Cc}	1236	4,2
100	1849 ^{Bb}	1492 ^{ABb}	2889 ^{CDa}	662 ^{BCc}	1723	2,5
200	2093 ^{Bb}	2113 ^{Ab}	4301 ^{Aa}	802 ^{ABc}	2327	1,9
Inoculado no primeiro ano						
0	1748 ^{Bb}	1911 ^{Ab}	2919 ^{CDa}	691 ^{ABCc}	1817	1,8
100	2074 ^{Bb}	1802 ^{Ab}	3395 ^{BCa}	724 ^{ABCc}	1999	3,2
200	2795 ^{Ab}	2044 ^{Ab}	3992 ^{ABa}	966 ^{ABc}	2449	2,7
Inoculado no primeiro e segundo ano						
0	1946 ^{Bb}	1759 ^{Ab}	3942 ^{ABa}	938 ^{ABc}	2146	1,7
100	1875 ^{Bb}	1744 ^{Ab}	3314 ^{BCa}	891 ^{ABc}	1956	2,7
200	2718 ^{Ab}	1984 ^{Ab}	4544 ^{Aa}	1002 ^{Ac}	2562	2,4
CV (%)	3,8	3,8	3,0	4,5		

Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, diferem entre si pelo teste T de Student ($P \leq 0,05$). *Coleta das amostras a 7 cm do solo. ¹Quatro cortes; ²Três cortes; ³Cinco cortes; ⁴Dois cortes; Pri= primavera; Ver= verão; Out= outono; Inv= inverno; CV= coeficiente de variação.

Diferentemente do teor de NDT, para a disponibilidade de NDT (Tabela 4) houve diferença ($P \leq 0,05$) em todos os períodos avaliados. Comparando-se a Coastcross-1 sem adubação nitrogenada, fica evidenciado o efeito da inoculação na disponibilidade de NDT, com valores superiores em todos os períodos para a gramínea inoculada nos dois anos agrícolas quando comparada a não inoculada. Para a Coastcross-1 inoculada somente no primeiro ano, a disponibilidade de NDT foi superior nos dois primeiros períodos avaliados, em relação ao não inoculado. Analisando-se a média da disponibilidade de NDT nos dois anos, os valores para os tratamentos com inoculação (inoculado somente no plantio e reinoculado no segundo ano), sem adubação nitrogenada, é 60,3% maior que no não inoculado. Para a dose de 200 kg de N/ha/ano, houve diferença ($P \leq 0,05$) na primavera/verão do primeiro ano, com valores superiores para as gramíneas inoculadas em relação a não inoculada.

Ao longo dos períodos avaliados, verificou-se comportamento similar da Coastcross-1 para a disponibilidade de NDT, tendo-se registrado os maiores valores na primavera/verão do segundo ano, período com maior número de cortes, e também de maior desenvolvimento da gramínea em estudo (BARBERO et al., 2010). Os valores obtidos em ambos os períodos do primeiro ano foram intermediários; na primavera/verão os valores são inferiores em relação ao segundo, por ser o ano de implantação do pasto. Valores inferiores foram registrados no último período avaliado, tendo-se realizado apenas dois cortes da forragem, diferentemente do ano anterior, devido às condições meteorológicas próximas das normais, com diminuição da temperatura (Figura 1).

4.4 CONCLUSÕES

A inoculação com *A. brasilense*, estirpes Ab-V5 e Ab-V6, quando não associada à adubação nitrogenada, tem efeito positivo no estabelecimento da Coastcross-1 e na disponibilidade de forragem dos pastos.

A inoculação com *A. brasilense*, quando associada a adubação de 200 kg de N/ha/ano, tem efeito negativo sobre o teor de proteína bruta da Coastcross-1.

A inoculação com *A. brasilense* afeta positivamente a disponibilidade de energia (NDT) na massa de forragem de Coastcross-1, quando não adubada com N, sendo, para tal, necessária a reinoculação anual.

4.5 REFERÊNCIAS

- AGUIRRE, P. F. et al. Produtividade de pastagens de Coastcross-1 em consórcio com diferentes leguminosas de ciclo hibernal. **Ciência Rural**, v. 44, n. 12, p.2265-2272, 2014.
- ASSOCIATION OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 16.ed. Washington: AOAC, 1995. 2v, 1015p.
- BARBER, W. P. B.; ADAMSON, A. H.; ALTMAN, J. F. B. New methods of feed evaluation. In: HARESIGN, W.; COLE, D. J. A. (Eds.) **Recent advances in animal nutrition**. London: Butterworths, 1984. p. 161- 176.
- BARBERO, L. M. et al. Produção animal e valor nutritivo da forragem de pastagem de *coastcross* consorciada com amendoim forrageiro. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, n. 3, p. 645-653, 2010.
- CHAVARRIA, G.; MELLO, N. Bactérias do gênero *Azospirillum* e sua relação com gramíneas. **Revista Plantio Direto**, v. 125, n. 1, p. 34-42, 2011.
- COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO – RS/SC. **Manual de adubação e calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina**. 10. ed. Porto Alegre: SBCS-CQFS, 2004. 400p.
- HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Inoculation of *Brachiaria* spp. with the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense*: An environment-friendly component in the reclamation of degraded pastures in the tropics. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 221, n. 1, p. 125- 131, 2016.
- HUNGRIA, M. et al. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant and Soil**, v. 331, n. 1, p. 413-425, 2010.
- INMET: INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA**. Banco de dados meteorológicos para ensino e pesquisa. Dados mensais. Estação Meteorológica de Santa Maria – Cód. A803, 2014-2016. **INMET**: 2016.
- LANA, M. C. et al. Inoculation with *Azospirillum*, associated with nitrogen fertilization in maize. **Revista Ceres**, v. 59, n. 3, p. 399-405, 2012.
- MEHREZ, A. Z.; ORSKOV, E. R. A study of the artificial fibre bag technique for determining the digestibility of feed in the rumen. **Journal of Agricultural Science**, v. 88, n. 3, p. 645-650, 1977.
- MOREIRA, F. M. S. et al. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata Scientiae**, v. 1, n. 2, p. 74-99, 2010.
- OLIVEIRA, M. A. et al. Produção e valor nutritivo do capim-*coastcross* sob doses de nitrogênio e idades de rebrotação **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, n. 3, p. 694-703, 2011.

OLIVO, C. J. et al. Forage mass and nutritive value of bermuda grass mixed to forage peanut or common vetch. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 38, n. 3, p. 255-260, 2016.

OLIVO, C. J. et al. Produtividade e valor nutritivo de pasto de capim-elefante manejado sob princípios agroecológicos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 6, p.1729-1735, 2007.

SAS INSTITUTE, SAS, **Studio user's guide version 3.5**, Cary: SAS Institute, 2016. 302p.

STRECK, E. V. et al. **Solos do Rio Grande do Sul**. 2. ed. Porto Alegre: EMATER/RS, 2008. 222p.

ZIECH, M. F. et al. Nutritive value of pastures of *Cynodon* mixed with forage peanut in southwestern Paraná State. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 37, n. 3, p. 243-249, 2015.

CAPÍTULO 5 - FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE N E RECUPERAÇÃO DO N FERTILIZANTE EM COASTCROSS-1 INOCULADA COM *Azospirillum brasilense*

RESUMO – A inoculação de gramíneas com bactérias promotoras do crescimento vegetal é uma importante estratégia para melhorar a recuperação do N aplicado, assim como para a elevação da fixação biológica de N (FBN). Desta forma, objetivou-se avaliar a produção de forragem da Coastcross-1 inoculada com *Azospirillum brasilense*, estimar a FBN e a recuperação do N fertilizante. Foi conduzido, no decorrer de um ano, experimento com arranjo fatorial 2 (não inoculada e inoculada no plantio) x 2 (sem adubação nitrogenada e 100 kg de N/ha/ano) x 7 (cortes), com delineamento em blocos ao acaso e três repetições. Para a estimativa da FBN foram considerados os tratamentos constituídos pela Coastcross-1 sem adubação nitrogenada. Para a estimativa da recuperação do N fertilizante, foram considerados os tratamentos constituídos pela Coastcross-1 submetida à adubação com 100 kg de N/ha/ano. As produções de forragem foram maiores nas gramíneas inoculadas, sendo de 7,4 e 8,0 t de MS/ha/ano, para a Coastcross-1 sem adubação nitrogenada e recebendo 100 kg de N/ha/ano, respectivamente, ambas submetidas à inoculação. O N biologicamente fixado foi de 53,8 e 23,0 kg/ha/ano para Coastcross-1 inoculada e não inoculada, respectivamente. A recuperação isotópica de N foi de 16,5 e 13,7 kg/ha/ano para Coastcross-1 inoculada e não inoculada, respectivamente. A inoculação com *A. brasilense* eleva a contribuição da FBN para a nutrição nitrogenada da Coastcross-1. A inoculação aumenta a recuperação pela Coastcross-1 do N fertilizante.

Palavras-chave: Abundância natural de ^{15}N . Bactérias diazotróficas. *Cynodon dactylon*. Produção de forragem.

BIOLOGICAL NITROGEN FIXATION AND NITROGEN RECOVERY IN COASTCROSS-1 INOCULATED WITH *Azospirillum brasilense*

ABSTRACT – The inoculation of grasses with plant growth-promoting bacteria is an important strategy to improve the applied N recovery, as well as to increase the biological N fixation (BNF). Therefore the objective of this study was to evaluate the forage yield of Coastcross-1 inoculated with *Azospirillum brasilense*, to estimate the biological N fixation (BNF) and the N recovery. Was carried during a year an experiment with factorial scheme 2 (without inoculation and inoculated in the implantation) x 2 (without N fertilizer and 100 kg of N/ha/year) x 7 (cuts), with randomized blocks design and three replications. For the estimation of BNF, the treatments constituted by Coastcross-1 without nitrogen fertilization were considered. To estimate the recovery of N applied fertilizer, the treatments constituted by Coastcross-1 fertilized with 100 kg of N/ha/year were considered. Forage yield were higher in inoculated grasses, 7.4 and 8.0 t of DM/ha/year for Coastcross-1 without nitrogen fertilizer and fertilized with 100 kg of N/ha/year, both inoculated, respectively. The biologically fixed N was 53.8 and 23.0 kg/ha/year for Coastcross-1 inoculated and uninoculated, respectively. Isotopic recovery of N was 16.5 and 13.7 kg/ha/year for Coastcross-1 inoculated and uninoculated, respectively. Inoculation with *A. brasilense* elevates the contribution of BNF in nitrogen nutrition of Coastcross-1. Inoculation increases N recovery in Coastcross-1.

Keywords - *Cynodon dactylon*. Diazotrophic bacteria. Forage yield. Natural abundance of ^{15}N .

5.1 INTRODUÇÃO

A FBN em gramíneas vem sendo estudada no Brasil desde a década de 50. No ano de 1975, Döbereiner e Day descobriram a capacidade de FBN no gênero *Spirillum*, posteriormente nomeado para *Azospirillum* (TARRAND et al., 1978). A associação destas bactérias com gramíneas traz benefícios que não se restringem à FBN, há também a produção de fitormônios, como as auxinas, giberelinas e citocininas, responsáveis pelo maior desenvolvimento do sistema radicular com o aumento da densidade e comprimento de pelos radiculares, número e volume de raízes laterais, aumentando assim a capacidade de absorção de nutrientes (MOREIRA et al., 2010), com consequente maior recuperação da adubação aplicada em pastos constituídos por gramíneas associadas a estas bactérias. Sabe-se que a eficiência da associação *Azospirillum*-gramínea não pode ser comparada a das simbioses rizóbio-leguminosa, porém devido a grande extensão de terras com pastagens em nosso País, sendo mais de 175 milhões de ha (LAPIG, 2017), a contribuição desta associação pode tomar grandes proporções.

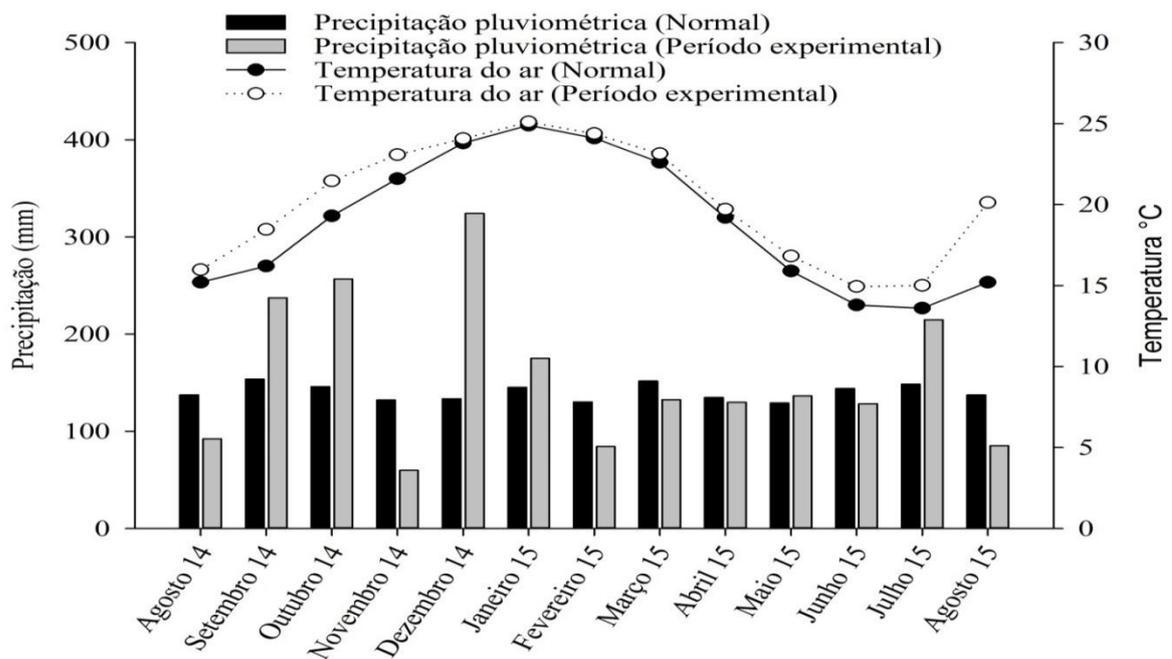
Para se estimar a FBN em gramíneas a técnica da abundância natural de ^{15}N vem sendo utilizada (SILVA et al., 2010). Esta técnica está baseada no fato que o N no solo é enriquecido com isótopo ^{15}N , em relação à proporção de ^{15}N do ar. Desta forma, se parte do N presente em determinada planta tiver origem na FBN esta terá um enriquecimento em ^{15}N menor que outras que absorveram N exclusivamente do solo (SHEARER e KOHL, 1986). Em pastos recebendo adubação nitrogenada, para se estimar a recuperação desta, o enriquecimento do fertilizante com isótopo de ^{15}N , vem sendo utilizado com sucesso (MARTHA JR. et al., 2009).

Apesar da utilização destas técnicas em pesquisas com gramíneas, inclusive perenes como o capim elefante (SILVA et al., 2010), avaliações, tanto da FBN, como da recuperação isotópica de N, em pastagens perenes do gênero *Cynodon*, não são de nosso conhecimento. Devido ao crescente uso de gramíneas deste gênero como fonte de forragem para a alimentação animal, dentre as quais, podemos destacar a Coastcross-1 que, quando bem manejada apresenta boa adaptação ao clima subtropical, resposta à fertilização e boa relação folha/colmo (AGUIRRE et al., 2014), o presente estudo buscou avaliar a Coastcross-1 submetida à inoculação com *Azospirillum brasilense* quanto a produção de forragem, a FBN e a recuperação de N fertilizante.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada em área do Setor de Bovinocultura de Leite, pertencente ao Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), situada na Depressão Central do Rio Grande do Sul, de agosto de 2014 a agosto de 2015. O clima da região é o subtropical úmido (Cfa), conforme classificação de Köppen, sendo as normais climatológicas (Figura 1) de temperatura de 19,2°C e precipitação de 140,5 mm/mês. Durante o período experimental, os valores de temperatura média mensal e precipitação pluviométrica, foram de 20,2°C e 158,2 mm/mês (INMET, 2016). Neste período foram registradas na Estação Meteorológica da UFSM, situada a aproximadamente 700 m da área experimental, 14 geadas, sendo seis em agosto de 2014, sete em junho de 2015 e uma em julho de 2015. O solo é classificado como Argissolo Vermelho distrófico arênico (STRECK et al., 2008), e, conforme os resultados da análise de solo, realizada anteriormente à instalação da experimentação, obteve-se os seguintes valores médios para a camada superficial (0-20 cm): pH-H₂O=5,3; índice SMP=5,7; argila=28%; P-Mehlich=7,6 mg/dm³; K=116 mg/dm³; MO=3,2%; Al=0,2 cmol/dm³; Ca=8,2 cmol/dm³; Mg=3,4 cmol/dm³; saturação de bases=65,7% e saturação por Al=1,7%.

Figura 1 – Normais climatológicas e valores registrados no período experimental para temperatura média e precipitação acumulada mensal. Santa Maria – RS, 2014-2015.



Para as avaliações foram utilizadas parcelas com dimensões de 5 m de comprimento e 3 m de largura, e corredores de 1 m de largura entre elas. O experimento foi constituído por um arranjo fatorial, sendo o fator A o uso da inoculação (Coastcross-1 não inoculada e Coastcross-1 inoculada no plantio) e o fator B o uso da adubação nitrogenada (sem adubação nitrogenada e 100 kg de N/ha/ano). As variáveis relacionadas à FBN foram analisadas apenas na Coastcross-1 sem adubação nitrogenada; as variáveis relacionadas à recuperação de N, por sua vez, foram estimadas na Coastcross-1 adubada com 100 kg de N/ha/ano.

Cerca de 45 dias antes da implantação da Coastcross-1, foi realizada a correção da acidez do solo, com calcário dolomítico, mediante incorporação ao solo com o auxílio de grade aradora. A adubação de base foi realizada na semana anterior ao plantio das mudas, aplicando-se 100 kg/ha de P_2O_5 e 60 kg/ha de K_2O , seguida de gradagem leve para incorporação. A recomendação da Comissão Brasileira de Química e Fertilidade do Solo-RS/SC (2004), para gramíneas perenes de estação quente, foi utilizada para as adubações fosfatada e potássica, bem como para a correção da acidez.

Nos tratamentos com aplicação de N, usou-se ureia, sendo dividida em cinco aplicações. A primeira aplicação foi feita 20 dias após o plantio das mudas e as demais após a realização do 1º, 2º, 3º e 4º corte do pasto; foram aplicados 20, 20, 30, 20 e 10 kg de N/ha, respectivamente. Na área central de cada parcela submetida à adubação nitrogenada foram demarcadas subparcelas, não confinadas, de 1,5 x 1,0 m. Nestas subparcelas a ureia aplicada foi moída e enriquecida a 1% com isótopos de ^{15}N , para a avaliação de recuperação de N.

Em setembro de 2014 foi realizada a implantação da gramínea, utilizando-se mudas de “capim bermuda” (*Cynodon dactylon* L. Pers.), cv. Coastcross-1, maduras e dotadas de raízes; plantadas em covas de aproximadamente 10 cm de profundidade, espaçadas a cada 0,5 m. Para inoculação das mudas, nos respectivos tratamentos, foi utilizado o produto comercial AzoTotal® (inoculante líquido composto de cultura pura de bactérias *Azospirillum brasilense*, estirpes Ab-V5 e Ab-V6, com concentração de $2,0 \times 10^8$ UFC/ml). Fez-se a diluição do produto, na proporção de 0,5 l de inoculante para cada 199,5 l de água. A aplicação da calda foi realizada, utilizando-se pulverizador costal, diretamente na muda colocada na cova, antes desta ser coberta com solo, utilizando-se uma proporção de 200 l de calda/ha.

Os cortes foram realizados quando os pastos atingiam aproximadamente 25 cm de altura. Para estimativa da produção de forragem do pasto foi realizada coleta do material acima de 7 cm do solo, em local aleatório, utilizando-se um quadrado de 0,25 m², caracterizando a massa de forragem disponível. Na sequência, no mesmo local, era realizado um corte rente ao solo para a determinação da massa de forragem residual. Posteriormente, as

amostras foram pesadas, homogeneizadas, sendo separada uma subamostra para determinação da participação da Coastcross-1 nos pastos. Após a separação, os componentes foram secos em estufa de ar forçado a 55°C, até atingirem peso constante para determinação da porcentagem de matéria seca. A produção de forragem do pasto em cada corte foi determinada subtraindo-se da massa de forragem (massa de forragem disponível + massa de forragem residual) do respectivo corte a massa de forragem residual do corte realizado anteriormente. A partir da produção de forragem do pasto e da porcentagem de participação da Coastcross-1 no pasto, calculou-se a produção de forragem da Coastcross-1.

Foram coletadas plantas de Coastcross-1 para a determinação dos teores de N total por combustão seca (Flash EA 1112, Thermo Finnigan, Milan, Italy) e do excesso isotópico de ^{15}N , determinado por espectrometria de massa (DELTA V Advantage, Thermo Fisher Scientific, Bremen, Alemanha), ambos no Laboratório de Biotransformações de Carbono e Nitrogênio da UFSM. Nos pastos sem adubação nitrogenada as coletas foram realizadas aleatoriamente nas parcelas, a 7 cm do solo. Nos pastos submetidos à adubação com 100 kg de N/ha/ano, as coletas foram realizadas na área central de cada subparcela adubada com ureia enriquecida com ^{15}N , também a 7 cm do solo. A matéria seca das amostras foi obtida pela secagem em estufa a 55°C, até massa constante. O material utilizado para as análises foi moído em moinho de facas do tipo “Willey” e depois em moinho de bolas, tendo-se passado o material em peneira de 40 mesh. Os teores de proteína bruta (PB) da Coastcross-1 foram calculados multiplicando o teor de N por 6,25.

Após a coleta das amostras, fez-se um corte (7 cm do solo) do material remanescente, uniformizando as parcelas. A forragem cortada foi retirada das parcelas experimentais.

A estimativa da FBN foi realizada pela técnica de abundância natural de ^{15}N , descrita por Shearer e Kohl (1986). Essa técnica prima que sejam coletadas amostras de plantas não fixadoras de N, que explorem a mesma profundidade do solo que a planta fixadora em estudo. Desta forma, foi desenvolvido estudo adicional em casa de vegetação, com cultivo de plantas não fixadoras de N, em três camadas de solo, coletadas na área experimental (0-15; 15-30 e 30-45 cm de profundidade). As plantas cultivadas foram o nabo forrageiro (*Raphanus sativus* L.), o picão preto (*Bidens pilosa* L.) e a ciperácea (*Cyperus eragostis* Lam.). O solo referente a cada profundidade foi coletado nos três blocos experimentais, em setembro de 2014. Este foi seco e peneirado utilizando malha de 2 mm. Na Tabela 1 consta o resultado médio da análise química do solo coletado nas diferentes camadas.

Para o cultivo em casa de vegetação utilizaram-se vasos contendo 200 g de solo. Anteriormente ao plantio foi realizada adubação básica de 0,12 g de superfosfato simples e

0,04 g de cloreto de potássio, em cada vaso. No total foram cultivados 81 vasos, sendo distribuídos da seguinte maneira: três espécies não fixadoras (testemunhas), cultivadas em três repetições, nas três camadas do solo coletadas nos três blocos experimentais (3 x 3 x 3 x 3).

Tabela 1 – Análise química do solo, coletado em diferentes profundidades, utilizado para cultivo em casa de vegetação. Santa Maria – RS, 2014-2015.

Prof. (cm)	pH H ₂ O	MO (%)	Al (cmol _c /dm ³)	Ca (cmol _c /dm ³)	Mg (cmol _c /dm ³)	P-Mehlich (mg/dm ³)	K (mg/dm ³)
0-15	5,4	3,0	0,2	7,3	3,3	15,8	210,0
15-30	4,7	2,5	2,1	3,9	2,1	7,2	40,0
30-45	4,3	2,0	3,6	3,0	1,3	7,8	37,3

Prof.= profundidade de coleta

A densidade de semeadura utilizada para as plantas testemunhas foi de: 10 sementes/vaso para o nabo forrageiro e para o picão preto, e 0,1 g de sementes/vaso para a ciperácea. As sementes de picão preto e ciperácea foram coletadas na área experimental. As plantas foram cultivadas até apresentarem sinais de deficiência de N. Sendo então coletadas rente ao solo e pesadas. As amostras obtidas em casa de vegetação foram secas, moídas e analisadas da mesma forma descrita para a Coastcross-1 coletada no experimento a campo.

O cálculo da contribuição percentual da FBN (%Ndfa) para a nutrição nitrogenada das plantas de Coastcross-1 foi realizado usando-se a equação 1 (SHEARER e KOHL, 1986):

$$\%Ndfa = \left(\frac{\square^{15}N \text{ planta testemunha} - \square^{15}N \text{ planta teste}}{\square^{15}N \text{ planta testemunha}} \right) \times 100 \quad (1)$$

Para o $\square^{15}N$ planta testemunha foram ponderados os resultados obtidos nas amostras provindas do cultivo do solo de cada camada coletada, de acordo com a proporção de raízes da Coastcross-1 no solo, que segundo Ribeiro et al. (2011) é de 62,4; 24,7 e 12,9%, para as camadas de 0-15, 15-30 e 30-45 cm respectivamente. Do valor obtido para as três plantas cultivadas fez-se a média, sendo obtido valor de $\square^{15}N$ de 11,3.

A partir da percentagem de N fixado biologicamente (%Ndfa), do teor de N (%N) e da produção de forragem (kg/ha) da Coastcross-1, calculou-se o N biologicamente fixado (NBF) em kg/ha presente nas plantas, pela equação 2:

$$NBF(kg/ha) = \frac{\text{Produção da Coastcross em kg/ha} \times \left(\frac{\%N \times \%Ndfa}{100} \right)}{100} \quad (2)$$

Para o cálculo da recuperação do N aplicado, utilizaram-se dois métodos, o de recuperação aparente (RAN) e o de recuperação isotópica. A RAN foi determinada pela diferença do N absorvido pelas plantas das parcelas adubadas com 100 kg de N/ha/ano (tratamento) e o N absorvido pelas plantas não adubadas e não inoculadas (testemunha), equação 3:

$$\text{RAN}(\%) = \left(\frac{\text{Acúmulo de N (tratamento)} - \text{Acúmulo de N (testemunha)}}{\text{N aplicado (tratamento)}} \right) * 100 \quad (3)$$

Para o estimativa da recuperação isotópica do N, primeiramente calculou-se o N derivado do fertilizante marcado (Ndfm) com ^{15}N , equação 4:

$$\text{Ndfm}(\text{mg}) = \left(\frac{\% \text{átomos } ^{15}\text{N em excesso na amostra}}{\% \text{átomos } ^{15}\text{N em excesso no fertilizante}} \right) \times \text{N total da amostra em mg} \quad (4)$$

O valor obtido de Ndfm em mg foi então convertido para kg, e calculou-se o Ndfm (kg/ha) para a Coastcross-1, pela equação 5:

$$\text{Ndfm}(\text{kg/ha}) = \frac{\text{Produção da Coastcross em kg/ha} \times \text{Ndfm em kg}}{\text{peso da amostra em kg}} \quad (5)$$

Para o cálculo do percentual de ^{15}N -ureia recuperado na Coastcross-1 (R^{15}N) utilizou-se a equação 6:

$$\text{R}^{15}\text{N} (\%) = \left(\frac{\text{Ndfm em kg/ha}}{\text{dose de N fertilizante}} \right) \times 100 \quad (6)$$

Para as doses de N-fertilizante, foram consideradas as doses acumuladas aplicadas até o corte em questão, descontando o que já foi recuperado em cortes anteriores.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso, distribuído em esquema fatorial (inoculação x adubação nitrogenada x cortes da forragem) com três repetições (parcelas). Para as variáveis referentes à FBN apenas os tratamentos sem adubação nitrogenada foram considerados; para as variáveis referentes à recuperação de N apenas os tratamentos com aplicação de N foram considerados. Os resultados foram submetidos à análise de variância, por meio do procedimento MIXED, quando verificado efeito

significativo dos fatores e/ou da interação entre eles, as médias foram comparadas pelo teste de T de Student, em nível de 5% de probabilidade ao erro. As matrizes de covariância utilizadas foram escolhidas pelo menor valor de AIC (Akaike's Information Criteria). Os erros foram submetidos ao teste de normalidade. Para verificar a associação entre as variáveis fez-se a análise de correlação de Pearson. As análises foram realizadas com auxílio do pacote estatístico SAS (2016).

Para as variáveis de produção de forragem da Coastcross-1, Teor de N, PB e N presente na Coastcross-1 foi utilizado o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ijkl} = m + T_i + D_j + C_k + T_i D_j + T_i C_k + D_j C_k + T_i D_j C_k + B_l + B_l(T_i D_j) + \varepsilon_{ijkl}$$

Para as variáveis referentes à FBN e à recuperação de N o modelo estatístico utilizado foi:

$$Y_{ikl} = m + T_i + C_k + T_i C_k + B_l + B_l(T_i) + \varepsilon_{ikl}$$

Em que, Y_{ijkl} e Y_{ikl} representam as variáveis dependentes; m é a média de todas as observações; T_i é o efeito do uso da inoculação ($i=2$); D_j é o efeito do uso da adubação nitrogenada ($j=2$); C_k é o efeito dos cortes ($k=7$); $T_i D_j$ é a interação entre inoculação e adubação nitrogenada; $T_i C_k$ é a interação entre inoculação e cortes; $D_j C_k$ é a interação adubação nitrogenada e cortes; $T_i D_j C_k$ é a interação entre inoculação, adubação nitrogenada e cortes; B_l é o efeito dos blocos ($l=3$); $B_l(T_i D_j)$ é o efeito de blocos dentro da interação inoculação x adubação nitrogenada (erro a); $B_l(T_i)$ é o efeito de blocos dentro da inoculação (erro a) e ε_{ijkl} e ε_{ikl} são o efeito residual (erro b).

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o período de avaliação dos pastos, entre setembro de 2014 e agosto de 2015, foram realizados sete cortes, com intervalo médio de 47 dias. Para a produção de forragem da Coastcross-1 (Tabela 2), houve interação entre inoculação, adubação nitrogenada e cortes ($P < 0,0001$). Na comparação das médias, foram observadas diferenças ($P \leq 0,05$) em todos os cortes realizados, e também para a produção total de forragem da Coastcross-1. Para a Coastcross-1 que não recebeu adubação nitrogenada, quando foi inoculada, houve produção de forragem superior em seis dos sete cortes realizados, comparativamente a não inoculada. Quando adubada com 100 kg de N/ha/ano, houve superioridade da gramínea inoculada em cinco dos sete cortes realizados.

Tabela 2 – Produção de forragem da Coastcross-1 (t de MS/ha). Santa Maria – RS, 2014-2015.

Tratamentos	Cortes							Total
	1° (nov/14)	2° (jan/15)	3° (fev/15)	4° (mar/15)	5° (abr/15)	6° (jun/15)	7° (ago/15)	
0N	0,5 ^D	0,9 ^C	0,3 ^C	0,6 ^B	0,8 ^B	0,3 ^B	0,5 ^B	3,9 ^D
I-0N	1,4 ^A	1,6 ^B	0,9 ^B	0,9 ^A	0,9 ^{AB}	0,7 ^A	1,0 ^A	7,4 ^B
100N	0,8 ^C	1,6 ^B	1,2 ^A	0,5 ^B	0,8 ^B	0,3 ^B	0,9 ^A	6,1 ^C
I-100N	1,2 ^B	2,2 ^A	1,1 ^A	0,9 ^A	1,0 ^A	0,7 ^A	0,9 ^A	8,0 ^A
CV(%)	7,3	5,7	4,2	3,9	1,8	7,0	4,2	2,0

Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste t de Student ($P \leq 0,05$). 0N= Coastcross-1 não inoculada, sem adubação nitrogenada; I-0N= Coastcross-1 inoculada, sem adubação nitrogenada; 100N= Coastcross-1 não inoculada + 100 kg de N/ha/ano; I-100N= Coastcross-1 inoculada + 100 kg de N/ha/ano; CV= coeficiente de variação.

Destaca-se que na primeira avaliação realizada, a Coastcross-1 inoculada e que não recebeu adubação nitrogenada teve a maior produção de forragem, e em outros quatro cortes realizados teve produção igual a da Coastcross-1 inoculada e adubada com 100 kg de N/ha/ano. Avaliando Coastcross-1 sem adubação nitrogenada e recebendo 125 kg de N/ha/ano, na forma de ureia, parcelada em cinco aplicações, assim como no presente trabalho, Primavesi et al. (2004) obtiveram produções de 4,0 e 7,1 t de MS/ha/ano, respectivamente; os valores se aproximam a produção da Coastcross-1 não aduba e não inoculada e da Coastcross-1 não aduba e submetida a inoculação, obtidas neste trabalho. Assim, pode-se afirmar que a inoculação, quando não associada à adubação nitrogenada, equivale-se a aplicação de mais de 100 kg de N, uma vez que, a produção total de forragem da Coastcross-1 inoculada e sem adubação nitrogenada foi maior que a da não inoculada e adubada com 100 kg de N/ha/ano.

Quanto ao teor de N da Coastcross-1 (Tabela 3), houve interação apenas entre adubação nitrogenada e cortes ($P=0,0405$). Na comparação das médias, foi observada diferença no quarto e sétimo corte realizado na Coastcross-1, com valores superiores na gramínea que foi adubada com 100 kg de N/ha/ano. Lana et al. (2012), quando avaliaram milho sem adubação nitrogenada, obtiveram comportamento semelhante ao do presente estudo, não observando efeito da inoculação nos teores de N nas folhas, no entanto, quando aplicaram 100 kg de N/ha em cobertura, registraram diminuição de 6,23% no teor de N nas folhas das plantas inoculadas, comparativamente às não inoculadas recebendo a mesma adubação nitrogenada. Já Hungria et al. (2016) avaliando, em três locais diferentes, *Brachiaria ruziziensis* adubada com menor quantidade de N (40 kg/ha), obtiveram no

primeiro ano de avaliação incrementos médios de 9,2% no teor de N da biomassa das plantas, quando submetidas à inoculação com *A. brasilense*.

Tabela 3 – Teor de N e proteína bruta da Coastcross-1. Santa Maria – RS, 2014-2015.

Doses de N (kg)	Cortes							Média
	1° (nov/14)	2° (jan/15)	3° (fev/15)	4° (mar/15)	5° (abr/15)	6° (jun/15)	7° (ago/15)	
Teor de N (%)								
0	1,9	1,6	2,1	1,8 ^B	2,5	2,8	2,4 ^B	2,2
100	2,1	1,6	2,2	2,0 ^A	2,6	2,8	2,8 ^A	2,3
CV(%)	6,3	2,7	2,7	2,8	3,0	2,9	4,4	
Proteína bruta (%)								
0	12,2	9,9	12,9	11,5 ^B	15,7	17,7	14,8 ^B	13,5
100	13,1	10,0	13,4	12,7 ^A	16,4	17,5	17,4 ^A	14,4
CV(%)	4,1	5,2	3,9	4,3	3,2	2,9	3,2	

Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste t de Student ($P \leq 0,05$). CV= coeficiente de variação.

Para o teor de PB da Coastcross-1, da mesma forma que para o teor de N, somente houve interação entre adubação nitrogenada e cortes ($P=0,0500$). Foram observadas diferenças em dois dos sete cortes realizados, com valores superiores registrados para a Coastcross-1 adubada com 100 kg de N/ha/ano. Segundo Ribeiro et al. (2012), o uso de adubação nitrogenada tende a elevar os teores de PB da Coastcross-1; estes autores, avaliando Coastcross-1 sem adubação nitrogenada e adubada com 200 kg de N/ha/ano, obtiveram valores médios de PB de 11,1 e 14,3%, respectivamente.

Na análise do N presente na Coastcross-1 (Tabela 4), houve interação entre inoculação, adubação nitrogenada e cortes ($P < 0,0001$). Na comparação das médias foram observadas diferenças em todos os cortes realizados e também no total de N presente na Coastcross-1. O efeito da inoculação sobre o N presente na Coastcross-1, quando não adubada com N, é claro, sendo obtidos valores superiores em todas as avaliações, comparativamente a Coastcross-1 não inoculada e também sem adubação nitrogenada. Quando associada à adubação nitrogenada, a inoculação também mostrou efeito, sendo que, em seis das sete avaliações a Coastcross-1 inoculada e adubada com 100 kg de N/ha/ano apresentou valores superiores aos da gramínea recebendo a mesma adubação e não inoculada.

Tabela 4 – Nitrogênio presente na Coastcross-1 (kg de N/ha). Santa Maria – RS, 2014-2015.

Tratamentos	Cortes							Total
	1° (nov/14)	2° (jan/15)	3° (fev/15)	4° (mar/15)	5° (abr/15)	6° (jun/15)	7° (ago/15)	
0N	9,4 ^D	13,3 ^C	6,6 ^D	10,7 ^B	19,5 ^C	9,6 ^C	12,7 ^C	81,8 ^D
I-0N	28,6 ^A	25,3 ^B	18,9 ^C	17,1 ^A	22,5 ^B	21,4 ^A	22,8 ^B	156,6 ^B
100N	16,3 ^C	26,5 ^B	26,8 ^A	10,2 ^B	22,5 ^B	7,5 ^D	24,6 ^{AB}	134,4 ^C
I-100N	24,1 ^B	33,2 ^A	22,8 ^B	17,8 ^A	25,6 ^A	19,6 ^B	26,7 ^A	169,8 ^A
CV(%)	6,2	2,7	2,0	2,9	3,4	2,5	4,9	3,5

Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste t de Student ($P \leq 0,05$). 0N= Coastcross-1 não inoculada, sem adubação nitrogenada; I-0N= Coastcross-1 inoculada, sem adubação nitrogenada; 100N= Coastcross-1 não inoculada + 100 kg de N/ha/ano; I-100N= Coastcross-1 inoculada + 100 kg de N/ha/ano; CV= coeficiente de variação.

Para o total de N acumulado na Coastcross-1 no ano, os valores foram maiores para a Coastcross-1 adubada com 100 kg de N/ha/ano e inoculada, seguida da Coastcross-1 sem adubação nitrogenada e inoculada. Estes resultados confirmam os obtidos ao longo dos cortes e que, assim como na produção de forragem, a inoculação com *A. brasilense* da Coastcross-1 não adubada com N equivaleu à aplicação de mais de 100 kg de N/ha/ano, visto que a gramínea inoculada e sem adubação nitrogenada apresentou maior N total que a gramínea não inoculada e adubada com 100 kg de N/ha/ano.

Avaliando o N presente nas plantas de milho, Martins et al. (2017), obtiveram igualdade de valores quando compararam o milho sem adubação nitrogenada e inoculado com bactérias *A. brasilense*, estirpes Ab-V5 e Ab-V6, com milho não inoculado e recebendo 100 kg de N/ha, demonstrando, assim como no presente trabalho, o efeito da inoculação quando não associada a adubação nitrogenada. Na avaliação das plantas sem adubação nitrogenada, os autores obtiveram aumento de 41,1%, quando inocularam as sementes; quando associaram a inoculação à adubação com 100 kg de N/ha o aumento do N presente na planta foi de 71,4%, comparativamente a plantas não inoculadas e recebendo a mesma adubação nitrogenada. Para a Coastcross-1, o aumento causado pela inoculação foi de 91,4 e 26,3%, para as plantas sem adubação nitrogenada e recebendo 100 kg de N/ha/ano, respectivamente, demonstrando, que ao contrário do obtido por Martins et al. (2017), o efeito da inoculação sobre o N presente na planta foi mais marcante quando não associada a adubação nitrogenada.

Com relação à %Ndfa (Tabela 5), a interação inoculação *versus* cortes foi significativa ($P < 0,0001$). Foi observada diferença em cinco dos sete cortes realizados, com valores

superiores na Coastcross-1 que foi submetida à inoculação, demonstrando o potencial de FBN das estirpes de *A. brasilense* contidas no inoculante utilizado quando associadas à gramínea em estudo, sem adubação nitrogenada. Este resultado contraria a afirmação feita por Hungria et al. (2010), de que os benefícios da inoculação com as estirpes Ab-V5 e Ab-V6 de *A. brasilense* não estariam relacionados à FBN e sim somente a capacidade de promoção de crescimento das plantas.

Tabela 5 – Contribuição percentual da FBN (%Ndfa) para a nutrição nitrogenada na Coastcross-1. Santa Maria – RS, 2014-2015.

Tratamentos	Cortes							Média
	1º (nov/14)	2º (jan/15)	3º (fev/15)	4º (mar/15)	5º (abr/15)	6º (jun/15)	7º (ago/15)	
0N	7,0	41,7	28,9 ^B	19,1 ^B	22,4 ^B	38,0 ^B	37,2 ^B	27,8
I-0N	10,1	41,8	37,8 ^A	28,5 ^A	39,9 ^A	46,5 ^A	42,1 ^A	35,2
CV(%)	18,9	3,9	4,8	6,8	5,2	3,8	4,1	

Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste t de Student ($P \leq 0,05$). 0N= Coastcross-1 não inoculada, sem adubação nitrogenada; I-0N= Coastcross-1 inoculada, sem adubação nitrogenada; CV= coeficiente de variação.

Observa-se que mesmo na Coastcross-1 sem inoculação, a contribuição da FBN é expressiva, em média de 27,8%. Esta FBN está possivelmente relacionada à presença de bactérias diazotróficas nativas associadas à Coastcross-1. Silva et al. (2010), avaliando capim elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) e braquiárias (*Brachiaria decumbens* Stapf. e *B. humidicola* Rendle) detectaram a presença de *Azospirillum* spp. na *B. decumbens* e no capim elefante, *Herbaspirillum* spp. nas duas braquiárias avaliadas, e *Gluconacetobacter diazotrophicus* no capim elefante. A %Ndfa média encontrada por estes autores foi de 23,6%, estando próxima a média encontrada na Coastcross-1 não inoculada neste estudo.

Avaliando em casa de vegetação gramíneas nativas coletadas e cultivadas em solo da mesma região do presente trabalho, Marques et al. (2017) isolaram da rizosfera e raízes das gramíneas bactérias dos gêneros *Azospirillum*, *Herbaspirillum* e *Azotobacter*. Estes autores obtiveram maior %Ndfa para a gramínea *Aristida laevis*, aproximadamente 36%, e menor para a *Axonopus affinis*, 22%, valores que são próximos aos encontrados na Coastcross-1 inoculada e não inoculada, respectivamente. Demonstrando a ocorrência da FBN pelas bactérias associadas às gramíneas de forma natural nos solos da região, podendo a inoculação contribuir para elevação dessas taxas.

Para o NBF (Tabela 6), a interação inoculação *versus* cortes também foi significativa ($P < 0,0001$). Na comparação das médias, houve superioridade ($P \leq 0,05$) dos valores encontrados na Coastcross-1 submetida à inoculação com *A. brasilense* em todas as avaliações realizadas e também no total de NBF. Esta superioridade deve-se a soma dos efeitos da maior produção da Coastcross-1 (Tabela 2) e a maior %Ndfa (Tabela 5) encontrada na maioria dos cortes realizados.

Tabela 6 – N biologicamente fixado (NBF) na Coastcross-1 (kg/ha). Santa Maria – RS, 2014-2015.

Tratamentos	Cortes							Total
	1º (nov/14)	2º (jan/15)	3º (fev/15)	4º (mar/15)	5º (abr/15)	6º (jun/15)	7º (ago/15)	
0N	0,6 ^B	5,6 ^B	1,9 ^B	2,1 ^B	4,4 ^B	3,7 ^B	4,7 ^B	23,0 ^B
I-0N	2,8 ^A	10,6 ^A	7,2 ^A	4,8 ^A	8,9 ^A	9,9 ^A	9,6 ^A	53,8 ^A
CV(%)	20,4	4,4	7,7	10,2	5,3	5,2	4,9	3,7

Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste t de Student ($P \leq 0,05$). 0N= Coastcross-1 não inoculada, sem adubação nitrogenada; I-0N= Coastcross-1 inoculada, sem adubação nitrogenada; CV= coeficiente de variação.

Analisando-se o N total acumulado nas plantas de Coastcross-1 inoculadas, que não receberam adubação nitrogenada (Tabela 4), houve um ganho de 74,8 kg de N, comparativamente as plantas não inoculadas, também sem adubação nitrogenada, o que representa um aumento de 91,4%. Para o NBF total (Tabela 6), o ganho na Coastcross-1 inoculada foi de 30,8 kg, o que representou um aumento de 133,9% comparativamente àquelas não inoculadas. Estes resultados confirmam que a inoculação elevou a FBN na gramínea em estudo, e que, apesar de uma possível concorrência com bactérias nativas, a inoculação com *A. brasilense* foi efetiva.

O aumento do acúmulo de N nas plantas inoculadas pode ser associado, além da FBN, à atuação das bactérias como promotoras do crescimento vegetal, como descrito por Hungria et al. (2010), que através da produção de fitormônios estimulam o desenvolvimento das raízes da gramínea, possibilitando maior absorção de nutrientes, água, resultando em uma planta mais produtiva (Tabela 2) e com maior acúmulo também de N provindo do solo, o que explica os 44 kg de N acumulado a mais na Coastcross-1 inoculada, que não vieram da FBN.

Para a $R^{15}N$ (Tabela 7), a interação inoculação *versus* cortes foi significativa ($P = 0,0080$). Na comparação das médias houve diferença em quatro das sete avaliações realizadas, com maiores valores na Coastcross-1 submetida à inoculação. Esta maior

recuperação pelas gramíneas inoculadas está relacionada à maior produção de forragem (Tabela 2) destas (0,72353; $P < 0,0001$). De acordo com diversos autores (HUNGRIA et al., 2010, 2016; MOREIRA et al., 2010), quando associadas com gramíneas, as bactérias *A. brasilense*, especialmente as estirpes Ab-V5 e Ab-V6 (HUNGRIA et al., 2010), atuam como bactérias promotoras do crescimento vegetal, o que explica a maior produtividade das gramíneas quando inoculadas, possivelmente devido ao maior desenvolvimento radicular o que possibilitou a maior $R^{15}N$ nas quatro avaliações relatadas.

Tabela 7 – Recuperação percentual de ^{15}N -ureia ($R^{15}N$) na Coastcross-1. Santa Maria – RS, 2014-2015.

Tratamentos	Cortes							Média
	1° (nov/14)	2° (jan/15)	3° (fev/15)	4° (mar/15)	5° (abr/15)	6° (jun/15)	7° (ago/15)	
100N	12,4 ^B	4,8	7,4	1,9	2,1 ^B	0,2 ^B	1,0 ^B	4,3
I-100N	14,0 ^A	5,3	6,6	3,7	3,4 ^A	0,7 ^A	1,2 ^A	5,0
CV(%)	5,1	4,3	8,9	5,4	6,0	9,5	6,1	

Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste t de Student ($P \leq 0,05$). 100N= Coastcross-1 não inoculada + 100 kg de N/ha/ano; I-100N= Coastcross-1 inoculada + 100 kg de N/ha/ano; CV= coeficiente de variação.

Quanto ao Ndfm (Tabela 8), não houve interação inoculação *versus* cortes ($P=0,0793$), havendo apenas efeito de inoculação no total de Ndfm ($P=0,0411$). O total de Ndfm, que também pode se chamado de total de N recuperado pela Coastcross-1 no ano, foi mais elevado nas plantas que foram submetidas à inoculação.

Tabela 8 – Nitrogênio derivado do fertilizante marcado (Ndfm kg/ha) na Coastcross-1. Santa Maria – RS, 2014-2015.

Tratamentos	Cortes							Total
	1° (nov/14)	2° (jan/15)	3° (fev/15)	4° (mar/15)	5° (abr/15)	6° (jun/15)	7° (ago/15)	
100N	2,5	1,8	4,9	1,5	1,9	0,2	0,9	13,7 ^A
I-100N	2,8	2,0	4,3	2,9	3,0	0,6	1,0	16,6 ^B
CV(%)	6,6	2,7	4,8	6,0	4,3	10,0	7,5	7,8

Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste t de Student ($P \leq 0,05$). 100N= Coastcross-1 não inoculada + 100 kg de N/ha/ano; I-100N= Coastcross-1 inoculada + 100 kg de N/ha/ano; CV= coeficiente de variação.

Os valores obtidos, tanto para a Coastcross-1 inoculada, quanto para a não inoculada, são maiores que os observados por Martha Jr. et al., (2009) que avaliando *Panicum maximum* cv. Tanzânia, sob diferentes doses de adubação nitrogenada (40, 80 e 120 kg/ha), obtiveram recuperação do N aplicado, no estrato superior do pasto (acima de 40 cm), de 1,2; 3,0 e 4,7 kg/ha, nas respectivas doses de N. Ressalta-se que no presente trabalho foi avaliada a Coastcross-1 coletada acima de 7 cm, considerado como estrato superior, devido à características de crescimento desta gramínea. Além do efeito da inoculação, a aplicação parcelada do nitrogênio, como descrita na metodologia, pode ter colaborado para essa maior recuperação, comparativamente ao observado por Martha Jr. et al., (2009), uma vez que esses autores não parcelaram a aplicação do N.

Na recuperação aparente do N fertilizante (Tabela 9) houve efeito de inoculação ($P=0,0016$), sendo observada superioridade na Coastcross-1 inoculada. O valor obtido para a Coastcross-1 não submetida à inoculação é semelhante ao estimado por Primavesi et al. (2004), avaliando Coastcross-1 sob doses crescentes de N. Estes autores trabalhando com análise de regressão, obtiveram o valor de 44,5 kg de N aparentemente recuperado pelas plantas, na dose de 100 kg de N/ha/ano na forma de ureia.

Tabela 9 – Recuperação aparente do N fertilizante na Coastcross-1 (kg/ha/ano). Santa Maria – RS, 2014-2015.

100N	41,2 ^B
I-100N	57,3 ^A
CV(%)	5,2

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste t de Student ($P \leq 0,05$). 100N= Coastcross-1 não inoculada + 100 kg de N/ha/ano; I-100N= Coastcross-1 inoculada + 100 kg de N/ha/ano; CV= coeficiente de variação.

Os valores de recuperação aparente do N aplicado são 200,7 e 245,2%, maiores que os obtidos pelo método isotópico (Ndfm total, Tabela 8), para a Coastcross-1 não inoculada e submetida à inoculação, respectivamente. Desta forma, pode-se afirmar que o cálculo pelo método aparente superestimou a recuperação do N aplicado, que segundo Martha Jr. et al. (2009) ocorre pelo fato deste método pressupor que as transformações do N no solo e os processos fisiológicos das plantas são similares na presença e ausência de adubação nitrogenada, o que não ocorre na realidade. Desta forma a utilização do método isotópico é de grande importância para se estimar a recuperação real do N aplicado.

5.4 CONCLUSÕES

A inoculação com *A. brasilense*, estirpes Ab-V5 e Ab-V6, no momento do plantio, eleva a produção da Coastcross-1 e o N presente nas plantas.

Há FBN na Coastcross-1 de forma natural. O uso da inoculação com *A. brasilense* eleva a FBN.

A inoculação melhora a recuperação do N fertilizante pela Coastcross-1.

5.5 REFERÊNCIAS

AGUIRRE, P. F. et al. Produtividade de pastagens de Coastcross-1 em consórcio com diferentes leguminosas de ciclo hibernal. **Ciência Rural**, v. 44, n. 12, p. 2265-2272, 2014.

COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO – RS/SC. **Manual de adubação e calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina**. 10. ed. Porto Alegre: SBSC-CQFS, 2004. 400p.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Inoculation of *Brachiaria* spp. with the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense*: An environment-friendly component in the reclamation of degraded pastures in the tropics. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 221, n. 1, p. 125-131, 2016.

HUNGRIA, M. et al. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant and Soil**, v. 331, n. 1, p. 413-425, 2010.

INMET: INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA. **Banco de dados meteorológicos para ensino e pesquisa**. Dados mensais. Estação Meteorológica de Santa Maria – Cód. A803, 2014-2016. INMET: 2016.

LANA, M. C. et al. Inoculation with *Azospirillum*, associated with nitrogen fertilization in maize. **Revista Ceres**, v. 59, n. 3, p. 399-405, 2012.

LAPIG: LABORATÓRIO DE PROCESSAMENTO DE IMAGENS E GEOPROCESSAMENTO. **Programa pastagem**. Disponível em: <<http://maps.lapig.iesa.ufg.br/lapig.html>>. Acesso em: 05 jan. 2017.

MARQUES, A. C. R. et al. Biological nitrogen fixation in C4 grasses of different growth strategies of South America natural grasslands. **Applied Soil Ecology**, v. 113, n. 1, p. 54-62, 2017.

MARTINS, M. R. et al. Impact of plant growth-promoting bacteria on grain yield, protein content, and urea-15 N recovery by maize in a Cerrado Oxisol. **Plant and Soil**, v. 412, n. 1, p. 1-12, 2017.

MARTHA JR, G. B. et al. Recuperação de ^{15}N -ureia no sistema solo-planta de pastagem de capim-tanzânia. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v. 33, n. 1, p. 95-101, 2009.

MOREIRA, F. M. S. et al. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata Scientiae**, v. 1, n. 2, p. 74-99, 2010.

PRIMAVESI, A. N. et al. Adubação Nitrogenada em Capim-*Coastcross*: Efeitos na Extração de Nutrientes e Recuperação Aparente do Nitrogênio **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 1, p. 68-78, 2004.

RIBEIRO, O. L. et al. Composição botânica e química da *Coastcross* consorciada ou não com *Arachis pintoi*, com e sem nitrogênio. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 13, n. 1, p. 47-61, 2012.

RIBEIRO, O. L. et al. Biomassa radicular e reservas orgânicas em *coastcross* consorciada ou não com *Arachis pintoi*, com e sem nitrogênio, sob pastejo. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 12, n. 2, p. 318-328, 2011.

SAS INSTITUTE, SAS, **Studio user's guide version 3.5**, Cary: SAS Institute, 2016. 302p.

SHEARER, G.B.; KOHL, D. H. N_2 -fixation infield settings: estimations based on natural ^{15}N abundance. **Australian Journal of Plant Physiology**, v.13, n.1, p. 699-756, 1986.

SILVA, L.L.G.G. et al. Fixação biológica de nitrogênio em pastagens com diferentes intensidades de corte. **Archivos de Zootecnia**, v. 59, n. 225, p. 21-30, 2010.

STRECK, E. V. et al. **Solos do Rio Grande do Sul**. 2.ed. Porto Alegre: EMATER/RS, 2008. 222p.

TARRANT, J. J.; KRIEG, N. R.; DÖBEREINER, J. A taxonomic study of the *Spirillum lipoferum* group, with descriptions of a new genus, *Azospirillum* gen. nov. and two species, *Azospirillum lipoferum* (Beijerinck) comb. nov. and *Azospirillum brasilense* sp. nov. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 24, n. 1, p. 967-980, 1978.

CAPÍTULO 6 - CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso da inoculação de bactérias *A. brasilense*, estirpes Ab-V5 e Ab-V6, em *Cynodon dactylon* L. Pers., cv. Coastcross-1 teve resultados promissores, demonstrando a ocorrência da associação destas bactérias com a gramínea em estudo.

O efeito positivo da inoculação foi maior quando não associada à adubação nitrogenada. Nos pastos sem adubação nitrogenada a inoculação da gramínea propiciou maior produção de forragem, massa de forragem disponível mais elevada e maior participação da Coastcross-1 na composição botânica dos pastos, com conseqüente menor presença de plantas invasoras. Os teores de PB, DISMO e NDT da Coastcross-1 que não foi submetida à adubação nitrogenada não foram alterados com o uso da inoculação. A disponibilidade de nutrientes digestíveis totais na Coastcross-1, quando inoculada em ambos os anos, foi maior que na gramínea não inoculada. Todos estes resultados podem ser relacionados com o incremento na FBN propiciada pela inoculação na ausência do uso de fertilizantes nitrogenados, além da promoção do crescimento desencadeado pelas bactérias, que foi detectado indiretamente neste trabalho.

Quando se associou a inoculação da gramínea com a aplicação de 100 kg de N/ha/ano, os efeitos foram menores, mesmo assim conseguiu-se obter igualdade de produção anual de forragem do pasto inoculado neste nível de adubação ao daquele que não foi inoculado e que recebeu 200 kg de N/ha/ano. Da mesma forma que nos pastos sem adubação nitrogenada, quando se aplicou 100 kg de N/ha/ano, o valor nutritivo da Coastcross-1 não foi alterado com a inoculação da gramínea. A recuperação do N fertilizante aplicado, na dose de 100 kg de N/ha/ano, foi maior quando se inoculou a gramínea, o que demonstra a vantagem, principalmente ambiental, do uso da inoculação, com melhor aproveitamento do N.

No nível de adubação de 200 kg de N/ha/ano, a inoculação não teve efeito sobre a produtividade da Coastcross-1. Para o valor nutritivo, houve efeito negativo da inoculação sobre os teores de PB, o que não se repetiu na disponibilidade de PB, havendo igualdade entre os pastos inoculados e não inoculados. Estes resultados demonstram, que na Coastcross-1, à medida que se aumenta a dose de N aplicado as vantagens do uso da inoculação vão diminuindo, e até mesmo causando desvantagens como observado para o teor de PB na dose de 200 kg de N/ha/ano.

A composição estrutural da Coastcross-1 não foi influenciada pela inoculação. Houve efeito de dose de N, sendo que, com o aumento da dose de N aplicada ocorreu diminuição da participação de lâminas foliares e aumento da participação de colmo+bainha da folha.

Para as variáveis relacionadas à produtividade analisadas por dois anos agrícolas, quando houve efeito da inoculação, este ocorreu tanto para a Coastcross-1 inoculada somente no momento do plantio, quanto para a Coastcross-1 inoculada no plantio e reinoculada na primavera do segundo ano de utilização; indicando, neste caso, não ser necessário reinocular o pasto no segundo ano agrícola. Porém para variáveis relacionadas ao valor nutritivo a reinoculação apresentou efeito, sendo negativo, como descrito para o teor de PB na dose de 200 kg de N/ha/ano, e positivo para a disponibilidade de nutrientes digestíveis totais, quando não associada a adubação nitrogenada.

Os resultados apresentados demonstram o potencial da utilização da inoculação com *A. brasilense* na Coastcross-1, dentro das condições experimentais enfrentadas, principalmente na ausência da utilização de adubação nitrogenada. Seria interessante a realização de trabalhos com doses entre zero e 100 kg de N/ha/ano, para se avaliar um possível efeito sinérgico da inoculação x adubação nitrogenada, mais pronunciado do que o encontrado na dose de 100 kg de N/ha/ano nesta pesquisa.

REFERÊNCIAS

- AGUIRRE, P. F. et al. Valor nutritivo de pastagens de Coastcross-1 em consórcio com diferentes leguminosas de ciclo hibernal. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 68, n. 1, p. 173-181, 2016.
- AGUIRRE, P. F. et al. Produtividade de pastagens de Coastcross-1 em consórcio com diferentes leguminosas de ciclo hibernal. **Ciência Rural**, v. 44, n. 12, p. 2265-2272, 2014.
- ANJOS, A. N. A. et al. Forage yield in pastures with bermuda grass mixed with different legumes. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 38, n.3, p. 261-266, 2016.
- BARBERO, L. M. et al. Produção animal e valor nutritivo da forragem de pastagem de *coastcross* consorciada com amendoim forrageiro. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, n. 3, p. 645-653, 2010.
- BARBERO, L. M. et al. Produção de forragem e componentes morfológicos em pastagem de coastcross consorciada com amendoim forrageiro. **Revista Brasileira de zootecnia**, v. 38, n. 5, p. 788-795, 2009.
- BORTOLO, M. et al. Avaliação de uma pastagem de Coastcross (*Cynodon dactylon* (L.) Pers.) sob diferentes níveis de matéria seca residual. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 3, p. 627-635, 2001.
- BRANCO, A. F. et al. Chemical composition and crude protein fractions of Coastcross grass under grazing on winter, spring and summer in Southern Brazil. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 34, n. 2, p. 183-187, 2012.
- CHAVARRIA, G.; MELLO, N. Bactérias do gênero *Azospirillum* e sua relação com gramíneas. **Revista Plantio Direto**, v. 125, n. 1, p. 34-42, 2011.
- CORASSA, G. M. et al. Inoculação com *Azospirillum brasilense* associada à adubação nitrogenada em trigo na região norte do Rio Grande do Sul. **Enciclopédia Biosfera**, v. 9, n. 16, p. 1298-1308, 2013.
- CORRÊA, L. A. et al. Efeito de fontes e doses de nitrogênio na produção e qualidade da forragem de capim-*coastcross*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 4, p. 763-772, 2007.
- DÍAZ-ZORITA, M.; CANIGIA, M. V. F. Análisis de la producción de cereales inoculados con *Azospirillum brasilense* en la República Argentina. In: CASSÁN, F. D.; SALAMONE, I. G. *Azospirillum sp.*: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Buenos Aires: Asociación Argentina de Microbiología, 2008. p. 155-164.
- DÖBEREINER, J.; MARRIEL, I.; NERY, M. Ecological distribution of *Spirillum lipoferum* Beijerinck. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 22, n. 1, p. 1464-1473, 1976.

HUERGO, L. F. et al. Regulation of nitrogen fixation in *Azospirillum brasilense*. In: CASSÁN, F. D.; SALAMONE, I. G. *Azospirillum sp.*: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Buenos Aires: Asociación Argentina de Microbiología, 2008. p. 17-28.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Inoculation of *Brachiaria* spp. with the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense*: An environment-friendly component in the reclamation of degraded pastures in the tropics. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 221, n. 1, p. 125-131, 2016.

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo**. Londrina [EMBRAPA Soja], 2011. 38 p. (Documentos 325)

HUNGRIA, M. et al. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant and Soil**, v. 331, n. 1, p. 413-425, 2010.

LANA, M. C. et al. Inoculation with *Azospirillum*, associated with nitrogen fertilization in maize. **Revista Ceres**, v. 59, n. 3, p. 399-405, 2012.

LIMA, J. A.; VILELA, D. Formação e manejo de pastagens *Cynodon*. In: VILLELA, D.; RESENDE, J. C.; LIMA, J. ***Cynodon*: Forrageiras que estão revolucionando a pecuária brasileira**. Juiz de Fora: Embrapa-CNPGL, 2005. p. 11-32.

MITIDIARI, J. **Manual de gramíneas e leguminosas para pastos tropicais**, 2. ed. 1992, 198p.

MOREIRA, F. M. S. et al. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata Scientiae**, v. 1, n. 2, p. 74-99, 2010.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. ed. Lavras: Editora UFLA, 2006. 729p.

NOVAKOWISKI, J. H. et al. Efeito residual da adubação nitrogenada e inoculação de *Azospirillum brasilense* na cultura do milho. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n. 1, p. 1687-1698, 2011.

OLIVEIRA, M. A. et al. Produção e valor nutritivo do capim-*coastcross* sob doses de nitrogênio e idades de rebrotação **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, n. 3, p. 694-703, 2011.

OLIVO, C. J. et al. Forage mass and nutritive value of bermuda grass mixed to forage peanut or common vetch. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 38, n. 3, p. 255-260, 2016.

PEDREIRA, C. G. S. Capins do gênero *Cynodon*: histórico e potencial para a pecuária brasileira. In: VILELA, D.; RESENDE, J. C. de; LIMA, J. ***Cynodon*: forrageiras que estão revolucionando a pecuária brasileira**. Juiz de Fora: Embrapa-CNPGL, 2005. p. 33-58.

- PEREIRA, O. G. et al. Análise de crescimento do capim Coastcross-1 sob adubação nitrogenada em duas idades de rebrotação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, n. 10, p. 2121-2128, 2011.
- RIBEIRO, O. L. et al. Composição botânica e química da Coastcross consorciada ou não com *Arachis pintoi*, com e sem nitrogênio. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 13, n. 1, p. 47-61, 2012.
- RIBEIRO, O. L. et al. Biomassa radicular e reservas orgânicas em coastcross consorciada ou não com *Arachis pintoi*, com e sem nitrogênio, sob pastejo. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 12, n. 2, p. 318-328, 2011.
- SCARAVELLI, L. F. B. et al. Produção e qualidade de pastagens de Coastcross-1 e milho utilizadas com vacas leiteiras. **Ciência Rural**, v. 37, n. 3, p. 841-846, 2007.
- SILVA, L.L.G.G. et al. Fixação biológica de nitrogênio em pastagens com diferentes intensidades de corte. **Archivos de Zootecnia**, v. 59, n. 225, p. 21-30, 2010.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 954 p.
- TARRANT, J. J.; KRIEG, N. R.; DÖBEREINER, J. A taxonomic study of the *Spirillum lipoferum* group, with descriptions of a new genus, *Azospirillum* gen. nov. and two species, *Azospirillum lipoferum* (Beijerinck) comb. nov. and *Azospirillum brasilense* sp. nov. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 24, n. 1, p. 967-980, 1978.
- VILELA, D.; LIMA, J. A.; RESENDE, J. C. Desempenho de vacas da raça Holandesa em pastagem de coastcross. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 2, p. 555-561, 2006.
- VILELA, D. Potencial das pastagens de *Cynodon* na pecuária de leite. In: VILELA, D.; RESENDE, J. C.; LIMA, J. (Eds.) *Cynodon*: forrageiras que estão revolucionando a pecuária brasileira. Juiz de Fora: EMBRAPA-CNPGL, 2005. p. 191-223.
- VILELA, D.; RESENDE, J.C. de; LIMA, J. *Cynodon*: forrageiras que estão revolucionando a pecuária brasileira. Juiz de Fora: EMBRAPA-CNPGL, 2005. 251p.
- VILELA, D. et al. Produção de leite de vacas Holandesas em confinamento ou em pastagens de Coast-cross. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 25, n. 6, p. 1228-1244, 1996.
- ZIECH, M. F. et al. Nutritive value of pastures of *Cynodon* mixed with forage peanut in southwestern Paraná State. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 37, n. 3, p. 243-249, 2015.