



Serviço Público Federal
Ministério Da Educação

Fundação Universidade Federal do Mato Grosso Do Sul

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL

CAMPUS DE CHAPADÃO DO SUL



**INOCULAÇÃO DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO VEGETAL
EM *Brachiaria ruziziensis* EM CONDIÇÕES DE CERRADO**

Lívia Garcia Machado

Chapadão do Sul – MS

Julho, 2024

**INOCULAÇÃO DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO VEGETAL
EM *Brachiaria ruziziensis* EM CONDIÇÕES DE CERRADO**

Autora : LÍVIA GARCIA MACHADO

Trabalho de Conclusão
de Curso apresentado
à Universidade Federal
de Mato Grosso do Sul,
como parte dos requisitos
para obtenção do título
de Engenheiro Agrônomo.

Orientadora Profa. Dra Rita De Cássia Félix Alvarez

Chapadão Do Sul – MS

Julho – 2024

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Diva Regina e Kelcio, que sob muito sol fizeram-me chegar até aqui na sombra e meu irmão e cunhada, Kelcio e Lara, por me incentivarem e apoiarem em todo esse processo.

Aos meus amigos que de alguma forma contribuíram nesse projeto, Gabriel Henrique de Souza e Silva, Bruno Denadai, Pedro Arnaldo Rigodanzo, Otávio Silva Trombim e Breno Fernandes De Oliveira.

A minha orientadora, Rita de Cássia Félix Alvarez por me proporcionar um projeto de iniciação científica tão relevante.

SUMÁRIO

RESUMO:.....	5
ABSTRACT:.....	6
INTRODUÇÃO	7
MATERIAL E MÉTODOS	8
RESULTADOS E DISCUSSÃO	11
CONCLUSÃO	13
REFERÊNCIAS	14

INOCULAÇÃO DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO VEGETAL EM *Brachiaria ruziziensis* EM CONDIÇÕES DE CERRADO

Resumo

Afim de estabelecer e conhecer o potencial de crescimento de plantas, viabilizando a produção de inoculantes foram testadas diferentes bactérias em pastagens, principalmente aquelas conhecidas como braquiárias. O objetivo do trabalho foi avaliar o potencial de bactérias isoladas e selecionadas como inoculantes em *Brachiaria ruziziensis* na produção de massa seca, acúmulo de N e teor de proteína em condições de Cerrado. O estudo foi realizado em condições de campo em Chapadão do Sul – MS. O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados com quatro tratamentos e cinco repetições. Sendo os tratamentos : T1 Testemunha (sem inoculação), T2 Inoculação com produto comercial nas sementes (100 ml ha⁻¹) + no sulco (200 ml ha⁻¹), T3 Inoculação de MAY1:1 nas sementes (100 ml ha⁻¹) + no sulco (200 ml ha⁻¹), T4 Inoculação VBE1:1 nas sementes (100 ml ha⁻¹) + no sulco (200 ml ha⁻¹). As cepas utilizadas neste estudo são *Bacillus spp.* (VBE 23) e *Azospirillum brasilense* (MAY 1) pertencentes à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) de Corumbá/MS, Brasil. O T2, produto comercial de *A. brasilense*, apresentou maior média de massa seca, seguido por T1, T4 e T3 (testemunha, *Bacillus spp.* e *A. brasilense* MAY 1, respectivamente). No acúmulo de N em plantas de *Brachiaria* sob efeito de inoculantes os tratamentos não apresentaram diferença entre si nas duas épocas de coleta. O maior teor de proteína em plantas de *Brachiaria* foi verificado no tratamento de *A. brasilense* comercial. Posto isso ao comparar o potencial de massa seca, acúmulo de N e teor de proteína a bactéria comercial *Azospirillum brasilense* obteve os melhores resultados.

Palavras-chave: pastagem, potencial, *Azospirillum*, biomas.

INOCULATION OF PLANT GROWTH PROMOTING BACTERIA IN *Brachiaria ruziziensis* IN CERRADO CONDITIONS

Summary

In order to establish and understand the growth potential of plants, enabling the production of inoculants, different bacteria were tested in pastures, mainly those known as *brachiaria*. The objective of the work was to evaluate the potential of isolated and selected bacteria as inoculants in *Brachiaria ruziziensis* in the production of dry mass, N accumulation and protein content in Cerrado conditions. The study was carried out under field conditions in Chapadão do Sul – MS. The experimental design used was randomized blocks with four treatments and five replications. The treatments are: T1 Control (without inoculation), T2 Inoculation with commercial product on the seeds (100 ml ha⁻¹) + in the furrow (200 ml ha⁻¹), T3 Inoculation of MAY1:1 on the seeds (100 ml ha⁻¹) + in the furrow (200 ml ha⁻¹), T4 Inoculation VBE1:1 in the seeds (100 ml ha⁻¹) + in the furrow (200 ml ha⁻¹). The strains used in this study are *Bacillus* spp. (VBE 23) and *Azospirillum brasilense* (MAY 1) belonging to the Federal University of Mato Grosso do Sul (UFMS) in Corumbá/MS, Brazil. T2, a commercial product of *A. brasilense*, presented the highest average dry mass, followed by T1, T4 and T3 (control, *Bacillus* spp. and *A. brasilense* MAY 1, respectively). In terms of N accumulation in *Brachiaria* plants under the effect of inoculants, the treatments showed no difference between them in the two collection periods. The highest protein content in *Brachiaria* plants was observed in the treatment of commercial *A. brasilense*. That said, when comparing the potential dry mass, N accumulation and protein content, the commercial bacteria *Azospirillum brasilense* obtained the best results.

Keywords: pasture, potential, *Azospirillum*, biomes.

INTRODUÇÃO

A base da alimentação de bovinos no Brasil era realizada por meio de pastagens nativas até o final do século XX. Nos últimos anos houve a introdução de pastagens exóticas, principalmente aquelas conhecidas como braquiárias, como alternativa para melhorar a disponibilidade e qualidade das pastagens (IBGE, 2006). No Brasil, 177.294.874,984 ha são destinados a pastagens, ou seja, cerca de 21% do território brasileiro (Pinto et al.). Sendo os estados de Minas Gerais, Mato Grosso e Pará retendo maiores áreas. O Mato Grosso do Sul ocupa o quinto lugar no ranking de áreas com pastagens, com 14.881.830,38 ha.

Com níveis de degradação em pastagens plantadas o Brasil possui 28 milhões de hectares (Galinari, 2024). Sendo a região do Cerrado respondendo por 44% da área de pastagem degradada de acordo com o último censo agropecuário, afetando negativamente os índices zootécnicos do rebanho bovino nacional que é criado essencialmente a pasto.

O manejo inadequado dos pastos e a falta de reposição de nutrientes são os principais responsáveis pelo processo. A escolha e a formação inicial da forrageira também podem comprometer a exploração da pastagem (Vilela e Marchão, 2021) . Metas de redução da emissão de gases de efeito estufa em 30% até 2030 e ainda, de recuperar 30 milhões de hectares de pastagens degradadas foram estabelecidas na COP 26. Desse modo, existe uma gama de oportunidades de pesquisa na área de pastagens promovendo a sustentabilidade da cadeia do agronegócio bovino.

Para uma agricultura sustentável o uso das bactérias promotoras de crescimento vegetal é significativo devido sua fácil aplicação como inoculantes de sementes, raízes, parte aérea e por estas bactérias serem nativas nos solos ou plantas, não interferindo no equilíbrio ecológico e, portanto, enquadrando-se plenamente na realidade da agricultura orgânica e sustentável. Esses microrganismos desempenham importantes papéis para a manutenção do ecossistema, e têm capacidade de promover o crescimento de plantas, seja pela produção de hormônios vegetais, disponibilização de nutrientes e até mesmo inibição de fitopatógenos.

Nesse sentido, há a necessidade de pesquisar a contribuição desses microrganismos, bem como, a diversidade associada a pastagens, a fim de se

estabelecer e conhecer o potencial desse microbioma para promover o crescimento das plantas, viabilizando a produção de inoculantes e biofertilizantes.

Embora já exista formulações de inoculantes para promoção de crescimento vegetal no mercado, estudos sobre sua utilização em pastagens são muito escassos nos biomas Pantanal e Cerrado.

O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito de bactérias isoladas de uso como inoculantes em *Brachiaria ruziziensis* na produção de massa seca, acúmulo de N e teor de proteína em condições de Cerrado.

MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi realizado em condições de campo em Chapadão do Sul – MS (18°46'17,7"S, 52°37'27,7"W; altitude 813 m). Segundo a classificação de Köeppen, a região possui clima tropical úmido (Aw) com estação chuvosa no verão e estação seca no inverno, com precipitação média anual de 1.850 mm e temperaturas anuais variando de 13°C a 28°C.

Os dados de precipitação pluvial, temperatura máxima e mínima diária durante o período de realização do experimento de campo estão representados na figura 1.

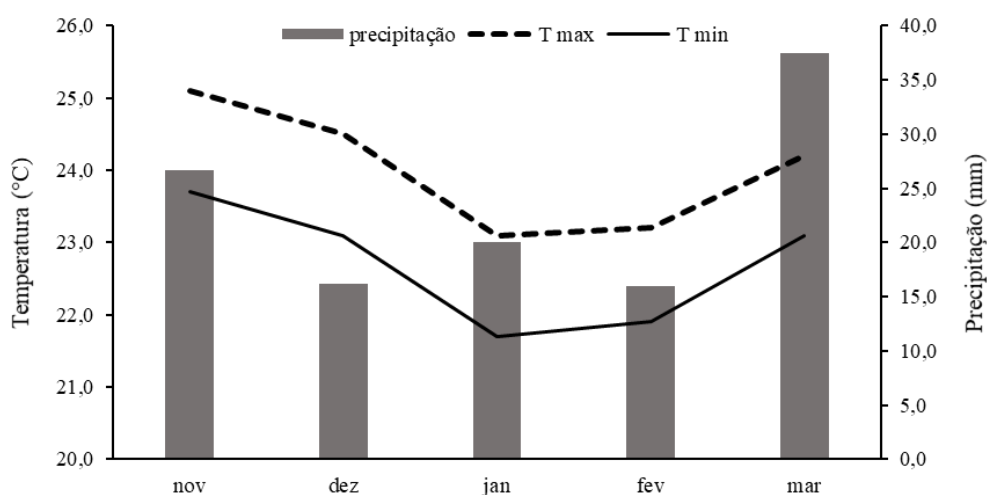


Figura 1: Dados climáticos diários da precipitação pluvial, temperatura máxima e mínima, de novembro a março no município de Chapadão do Sul, safra 23/24.

O solo utilizado foi identificado como Latossolo vermelho Distrófico (EMBRAPA, 2013), onde previamente a instalação do experimento foi realizada coleta de amostras de solo na camada de 0,00 – 0,10 m para análise química (Raij et al., 2001), cujos os valores obtidos foram: 21,9 mg dm⁻³ P (mel); 26,4 g dm⁻³ M.O; 5,0 pH (CaCl₂); Ca+Mg, H+Al = 4,10; 4,10 (cmol_c dm⁻³); Cu, Fe, Mn, Zn (Mehlich1) = 1,3; 61; 11,7 e 4,5 (mg dm⁻³); 0,26 mg dm⁻³ de B (água quente) e 51,5 de saturação de bases.

Para a correção do solo foi aplicado 1750 kg ha⁻¹ de calcário. A adubação foi realizada com base nas recomendações de Souza e Lobato (2004) e interpretação do resultado da análise química do solo, sendo aplicados 1,33 kg ha⁻¹ de uréia, 16,67 kg ha⁻¹ de SS (super simples) e 2,5 kg ha⁻¹. KCl, em solo preparado convencionalmente, por meio de uma aração e gradagem na incorporação do calcário 60 dias antes do plantio.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados com quatro tratamentos e cinco repetições. Sendo os tratamentos: T1, testemunha (sem inoculação), T2, inoculação com produto comercial (*Azospirillum brasilense*) nas sementes (100 mL ha⁻¹) + no sulco (200 mL ha⁻¹), T3, inoculação de MAY1 nas sementes (100 mL ha⁻¹) + no sulco (200 mL ha⁻¹), e T4, inoculação VBE1 nas sementes (100 mL ha⁻¹) + no sulco (200 mL ha⁻¹).

As cepas utilizadas neste estudo são *Bacillus* spp. (VBE1) e *Azospirillum brasilense* (MAY1) pertencentes ao laboratório de Microbiologia do Campus do Pantanal – UFMS.

As cepas utilizadas neste estudo, *Bacillus* spp. (VBE 23) e *Azospirillum brasilense* (MAY 1) são pertencentes à Coleção de Culturas da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) de Corumbá - MS, Brasil.

A cepa VBE 23 foi isolada e identificada por Viana et al. (2020). Enquanto, a cepa MAY 1 foi isolada e identificada por Souza et al. (2017). Para a preparação do inóculo para o experimento as cepas bacterianas foram inicialmente cultivadas em placa de petri com meio ágar nutriente e as colônias foram transferidas com o auxílio de uma alça de platina para serem crescidas em meio líquido Dygs, por 48 horas a 160 rpm em temperatura ambiente. A concentração de células foi dada pela leitura de

densidade óptica em espectrofotômetro a 600 nm. Com 48 horas de crescimento *Bacillus spp.* e *A. brasilense* mostraram a absorbância de 1.1, enquanto o inoculante comercial mostrou 2.2 de absorbância, sendo necessária uma diluição na proporção de 1:1 com o meio Dygs.

A cultivar utilizada foi a *Brachiaria ruziziensis*, inoculada ou não conforme os tratamentos utilizados.

Logo após a inoculação das sementes, foi realizada a semeadura, manualmente a lanço. As parcelas foram constituídas por 3m².

O produto comercial utilizado como fonte de *A. brasilense*, foi o inoculante Azosphera®, contendo estirpes Abv5 e Abv6 (2 x 10⁸ células viáveis por mL). A inoculação foi realizada à sombra, no máximo duas horas antes da semeadura.

Após 32 dias da semeadura foi realizado a re-inoculação, para maior contato entre inoculante, semente e solo, com pulverizador costal, com pressão de 0,4 mpa, uma vazão de 0,35 L min⁻¹, equipado com lança contendo 1 bico, trabalhando a uma altura de 30 cm do alvo e a uma velocidade de 1 m segundo-1, com um volume de calda de 2 L ha⁻¹.

Aos 45 e 101 dias da semeadura, uma área de 1m² foi coletada utilizando a metodologia do quadrado; Amostragem direta, cortada em quadrado dentro de cada parcela ao nível do solo (Silveira Pedreira), seca em estufa com circulação forçada de ar a 65 °C por 72 h e pesada para determinação da massa seca. Na sequência, o material vegetal foi moído para determinação do conteúdo de proteínas e acúmulo de N (Bataglia et al., 1993). A determinação de N foi efetuada pelo método semi-micro-Kjeldahl.

Os teores de nitrogênio foliar e de proteína da massa vegetal foram determinados de acordo com o método de Kejl Dahl, descrito por Chang (1998), no Laboratório de Solos da UFMS. O teor de proteína foi estimado multiplicando-se o teor de nitrogênio encontrado pelo fator 6,25.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância ($p < 0,05$) e, quando significativas, as médias foram comparadas teste de Tukey ($p < 0,05$). Foi utilizado o Sisvar, versão 4.3 para as análises estatísticas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 1 - Análise de variância para os dados de massa seca, acúmulo de nitrogênio e teor de proteína em plantas de *Brachiaria ruziziensis*

FV	GL	QM		
		MS	N	Proteína
ÉPOCA (E)	1	152,61 ^{ns}	1015145,62 ^{**}	10670,02 ^{**}
TRATAMENTO (T)	3	135,85 [*]	257266,63 ^{**}	2996,96 ^{**}
E x T	3	11,00 ^{ns}	64750,77 [*]	707,29 ^{**}
BLOCO	4	44,14	45403,99	221,40
RESÍDUO	28	41,57	21616,53	141,84
CV (%)	-	13,71	21,03	13,02
Média geral	-	47,03	699,06	91,49

FV - Fonte de variação; GL – Graus de liberdade; CV - Coeficiente de variação; *, **, - Significativo e ^{ns}, não significativo em $P \leq 0,05$ e $P \leq 0,01$, respectivamente, pelo teste F.

Foi verificado na Tabela 2 o efeito significativo dos tratamentos para massa seca.

O T2, produto comercial, apresentou maior média de massa seca, seguido por T1, T4 e T3 (testemunha, VBE23 e MAY1, respectivamente). Os tratamentos não se diferiram significativamente inclusive da testemunha, devido o solo ter histórico de cultivo de culturas comerciais, podendo apresentar microrganismos benéficos presentes. Este resultado é semelhante ao obtido por (Stancheva et al., 1992) onde no milho, também gramínea, há evidências de que o *A. brasilense* aumenta a taxa de acúmulo de massa seca, o que pode estar relacionado ao aumento na atividade das enzimas fotossintéticas. E concorda com (Duarte et al., 2020), onde a utilização das bactérias promotoras do crescimento vegetal apresentou-se como uma excelente ferramenta de manejo de pastagem para o desenvolvimento e crescimento do capim *ruziziensis* como aumento na produção de massa de forragem.

Tabela 2 - Massa seca de plantas de *Brachiaria* sob efeito de inoculantes para uso em pastagens cultivadas com microrganismos do Pantanal e Cerrado.

Tratamentos	Massa seca (g m ⁻²)
Sem inoculação	46,09 ab
Inoculante comercial	52,45 a
MAY 1	44,28 b
VBE 23	45,31 ab

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Para o parâmetro acúmulo de N em plantas de *Brachiaria*, os tratamentos não apresentaram diferença entre si nas duas épocas de coleta. Porém aos 45 dias após a semeadura obtiveram maiores médias comparadas a 101 dias após a semeadura, devido a um intenso período chuvoso como ilustrado no gráfico da figura 1, levando ao acamamento da parte aérea, interferindo no crescimento vegetativo e consequentemente menor acúmulo de N, não diferindo os tratamentos, conforme ilustrado pela Tabela 3.

Tabela 3 - Acúmulo de N em plantas de *Brachiaria* sob efeito de inoculantes para uso em pastagens cultivadas com microrganismos do Pantanal e Cerrado.

Tratamentos	45 DAS	101 DAS
Sem inoculação	869,68 aB	581,67 bA
Inoculante comercial	1.153,34 aA	599,91 bA
MAY 1	805,15 aBC	608,33 bA
VBE 23	605,30 aC	369,11 bA

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na linha e letras minúsculas na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Aos 45 dias após a semeadura, o melhor resultado foi obtido pelo tratamento com inoculante comercial. A inoculação de MAY 1 não se diferiu da inoculação com VBE 23 e da testemunha sem inoculação, reafirmando possíveis microrganismos benéficos presentes no solo, visto que toda a área foi adubada igualmente e como o solo utilizado não foi esterilizado possivelmente ocorreu maior competição entre microrganismos, afetando a bactéria na colonização nas plantas (MORAIS et al., 2014). Posto isto, conforme (Duarte et al., 2020) a inoculação das bactérias também proporciona uma menor dependência de insumos de origem fosseis, como os adubos nitrogenados, contribuindo para o desenvolvimento de uma pecuária sustentável.

O maior teor de proteína em plantas de *Brachiaria* foi verificado no tratamento do produto comercial (Tabela 4).

Tabela 4 - Teor de proteína em plantas de *Brachiaria* sob efeito de inoculantes para uso em pastagens cultivadas com microrganismos do Pantanal e Cerrado.

Tratamentos	45 DAS	101 DAS
Sem inoculação	111,00 bA	84,80 aB
Inoculante comercial	131,81 aA	74,00 abB
MAY 1	111,00 bA	87,88 aB
VBE 23	77,48 cA	53,95 bB

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na linha e letras minúsculas na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Na primeira e segunda época de avaliação de teor de proteína na parte aérea das plantas os tratamentos não se diferiram entre si. Dentre os tratamentos o que obteve melhor resultado foi o inoculante comercial, seguido pelo MAY1, a testemunha e o VBE 23 com menor teor de proteína, respectivamente. Esse resultado concorda com os obtidos por Dartora et al. (2013) que observou incrementos no teor de proteínas no milho, que também é uma gramínea, em virtude de aumentos promovidos pela bactéria na taxa fotossintética e na disponibilidade de N.

CONCLUSÃO

O inoculante comercial aumentou a massa seca, bem como proporcionou maiores valores para a acumulo de N e teor de proteína comparado aos outros isolados utilizados nesse estudo.

REFERÊNCIAS

- BATAGLIA O C, FURLANI A M C, TEIXEIRA J P F, FURLANI P R, GALLO J R. 1983. Métodos de Análise Química de Plantas. Instituto Agronômico, Campinas.
- CHANG, S.K.C. Protein analysis. In: NIELSEN, S.S. Foodanalysis. 2.ed. Gaithersburg: Aspen, 1998. p.237-269.
- DARTORA, J.; GUIMARAES, V. F.; MARINI, D.; SANDER, G. Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum* Brasilense e *Herbaspirillum* Seropedicae na cultura do milho. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, Campina Grande, v. 17, n. 10, p. 1023-1029, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1415-43662013001000001>
- DUARTE, et . Inoculação de bactérias promotoras do crescimento vegetal em *Urochloa Ruziziensis*. Research, Society and Development, v. 9, n. 8, e630985978, 2020.
- GALINARI, et .Brasil possui 28 milhões de hectares de pastagens degradadas com potencial para expansão agrícola. Disponível em : <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/87076753/brasil-possui-28-milhoes-de-hectares-de-pastagens-degradadas-com-potencial-para-expansao-agricola> . Data de acesso : 05 Maio, 2024.
- IBGE (2006) Censo agropecuário 1920/2006. Até 1996, dados extraídos de: Estatística do Século XX. Rio de Janeiro: IBGE, 2007. Disponível em: https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/51/agro_2006.pdf
- MORAIS, T.M. Adubação Nitrogenada e inoculação com *Azospirillum* brasilense em híbrido de milho. Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia, 2012. (Dissertação de Mestrado).
- SOUZA, MAYARA S. T.; DE BAURA, VALTER A.; SANTOS, SANDRA A.; FERNANDES-JÚNIOR, PAULO IVAN; REIS JUNIOR, FÁBIO B.; MARQUES, MARIA RITA; PAGGI, GECELE MATOS; DA SILVA BRASIL, MARIVAINÉ. *Azospirillum* spp. from native forage grasses in Brazilian Pantanal floodplain: biodiversity and plant growth promotion potential. WORLD JOURNAL OF MICROBIOLOGY & BIOTECHNOLOGY. Fator de Impacto(2022 JCR): 4,1000, v.33, p.1 - 13, 2017.
- SOUSA D. M. G.; LOBATO, E. Cerrado: correção do solo e adubação. 2.ed. Planaltina, Embrapa Cerrados; 2004. 416p.

STANCHEVA, L; DIMITROV, IL; KALOYANOVA, N.:DIMITROVA, A.; ANGELOV, M. Effects of inoculation with *Azospirillum brasilense* on photosynthetic enzyme activities and grain yield in maize. *Agronomie*, v.12, p.319-324, 1992.

UFG, universidade federal de Goiás. Atlas das pastagens 2024. Disponível em : <https://atlasdaspastagens.ufg.br/>

VIANNA, T. F. C.; CAMPELO, A. P. S.; BALDANI, José Ivo; FERNANDES JUNIOR, P. I.; BALDANI, Vera Lúcia Divan; SILVA, W. M.; Paggi, G.M; BRASIL, M.S.. Cultivable bacterial diversity associated with bromeliad roots from ironstone outcrops in central Brazil. *BRAZILIAN JOURNAL OF BIOLOGY (ONLINE)*. Fator de Impacto(2020 JCR): 1,6510, v.08, p.1578, 2020.

VICENTE, Microrganismos das plantas auxiliam o vegetal e podem ser fontes de antibióticos. Disponível em : <https://www.embrapa.br/en/busca-de-noticias/-/noticia/10456334/microrganismos-das-plantas-auxiliam-o-vegetal-e-podem-ser-fontes-de-antibioticos#:~:text=Os%20cientistas%20explicaram%20que%20os,agentes%20causadores%20de%20doen%C3%A7as%20em> . Data de acesso : 20 Julho, 2024.

VILELA e MARCHÃO, O papel da integração lavoura-pecuária na recuperação de pastagens degradadas. Disponível em : <https://www.embrapa.br/en/busca-de-noticias/-/noticia/68235241/artigo---o-papel-da-integracao-lavoura-pecuaria-na-recuperacao-de-pastagens-degradadas> . Data de acesso : 17 Junho, 2024.