



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ  
CAMPUS UNIVERSITÁRIO PROFª CINOBELINA ELVAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS**

**ACACYARA BATISTA DE SOUSA**

**BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO DE PLANTAS E ADUBAÇÃO  
NITROGENADA NO CRESCIMENTO E METABOLISMO DE CULTIVARES DE  
PALMA FORRAGEIRA EM REGIÃO SEMIÁRIDA**

**Bom Jesus**

**2023**

**ACACYARA BATISTA DE SOUSA**

**BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO DE PLANTAS E ADUBAÇÃO  
NITROGENADA NO CRESCIMENTO E METABOLISMO DE CULTIVARES DE  
PALMA FORRAGEIRA EM REGIÃO SEMIÁRIDA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias - PPGCA, Campus Professora Cinobelina Elvas - CPCE, da Universidade Federal do Piauí - UFPI, na área de concentração Ciência do Solo como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Agrárias.

Orientadora: Profa. Dra. Elaine Martins da Costa

**Bom Jesus**

**2023**

FICHA CATALOGRÁFICA  
Universidade Federal do Piauí  
Biblioteca Setorial CCA  
Serviço de Representação Temática da Informação

- S725b Sousa, Acacyara Batista de.  
Bactérias promotoras do crescimento de plantas e adubação nitrogenada no crescimento e metabolismo de cultivares de palma forrageira em região semiárida / Acacyara Batista de Sousa. -- 2023.  
65 f.
- Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Piauí, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias, 2024.  
“Orientadora: Profa. Dra. “Elaine Martins da Costa.”
1. Nopalea cochenillifera salm dyck. 2. Bacillus subtilis. 3. Paenibacillus sp. 4. Fixação biológica de nitrogênio. 5. Inoculante. I. Costa, Elaine Martins da. II. Título.

CDD 631.83

Bibliotecário: Rafael Gomes de Sousa - CRB3/1163

**ACACYARA BATISTA DE SOUSA**

**BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO DE PLANTAS E ADUBAÇÃO  
NITROGENADA NO CRESCIMENTO E METABOLISMO DE CULTIVARES DE  
PALMA FORRAGEIRA EM REGIÃO SEMIÁRIDA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias, do Campus Professora Cinobelina Elvas, da Universidade Federal do Piauí, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Agrárias.

Área de Concentração: Ciência do Solo.

Linha de Pesquisa: Fertilidade, Biologia do Solo e Nutrição de Plantas.

Aprovado em 21 de dezembro de 2023.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof<sup>a</sup>. Dra. Elaine Martins da Costa (CPCE/UFPI)  
Orientadora

---

Prof<sup>a</sup>. Dra. Aline Oliveira Silva (UFLA)  
Examinador Externo ao Programa

---

Prof<sup>a</sup>. Dra. Romilda Rodrigues do Nascimento (UFCEG)  
Examinador Externo ao Programa

---

Prof. Dr. Marcos Renan Lima Leite (UFPI)  
Examinador interno

---

Prof. Dr. Rafael de Souza Miranda (UFPI)  
Examinador interno

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus, pela minha vida, por estar sempre comigo e por me ajudar a ultrapassar todos os obstáculos encontrados ao longo desta jornada, enfim, por tudo. Toda honra e glória a Deus.

À minha mãe, Iranete Batista, que muito se esforçou para me proporcionar uma educação baseada em valores, por todo amor e incentivo incondicional. À minha irmã Ariane, vó Nazaré, tia Ivete, enfim, a todos os meus familiares por todo empenho e apoio.

Aos professores da Pós-graduação, em especial, a minha orientadora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Elaine Martins da Costa, por ter desempenhado tal função com dedicação e pelas valiosas contribuições dadas no decorrer de todo o processo. Só gratidão e admiração pela profissional que és.

Ao grupo do projeto da palma forrageira, em especial, Gonçalves Dauaia, pela ajuda e pela troca de conhecimentos que me possibilitaram crescer não só como pessoa, mas também como profissional e a Stelamaris, por todo conhecimento repassado de forma proveitosa e apoio nas atividades.

Ao grupo de pesquisa por toda ajuda no desenvolvimento das atividades, em especial, Helena, Gilnair, Helane e Tatiana.

A todos os meus amigos, em especial, Ingridi, Jenilton, Murilo e Fátima por toda ajuda, apoio e amizade incondicional.

Ao Grupo de Pesquisa Bioplant, pelo apoio no desenvolvimento das atividades relacionadas ao projeto.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias, da Universidade Federal do Piauí - PPGCA/UFPI.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Piauí (FAPEPI).

A todos aqueles que cooperaram de alguma forma, para a concretização deste trabalho e sonho, meu muito obrigado!

## RESUMO

A palma forrageira é uma cultura de extrema importância para a região semiárida brasileira, no entanto, é cultivada com baixo nível tecnológico, o que reduz seu potencial produtivo. Neste sentido, uma tecnologia de baixo custo e de grande sustentabilidade é o emprego de inoculantes contendo bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCPs), pois apresentam potencial de uso na agricultura como complemento aos fertilizantes químicos nitrogenados. Assim, este estudo teve como objetivo avaliar o papel de BPCPs na morfologia, crescimento e metabolismo do nitrogênio em duas cultivares de palma forrageira (baiana e doce miúda) sob diferentes regimes de adubação nitrogenada em solo do semiárido piauiense. Seis tratamentos compostos por duas estirpes de *Bacillus subtilis* (IPACC29 e IPACC26), duas estirpes de *Paenibacillus* sp. (IPACC55 e IPACC38), um inoculante comercial contendo estirpes de *Azospirillum brasilense* (AbV5+AbV6) (AB) e um controle sem inoculação foram associados a três doses de N (0, 50 e 100%). As cultivares responderam de forma diferenciada à inoculação com as BPCPs e às doses de N. A maioria dos parâmetros morfométricos foram influenciados apenas pelas doses de N. Para a cultivar baiana, quando cultivada sob a dose de 50%, a estirpe IPACC29 aumentou a produção de massa fresca (MFC) e seca (MSC) de cladódios e massa seca total (MST), a estirpe IPACC26 foi destaque em aumentar o teor (TNC) e acúmulo (ANC) de N dos cladódios, a atividade da nitrato redutase nas raízes e a proteína solúvel dos cladódios (PSC), a IPACC55 incrementou os teores de amônio das raízes ( $\text{NH}_4^+\text{R}$ ) e carboidratos solúvel dos cladódios e essa estirpe juntamente com a IPACC38 foi eficiente em aumentar o N-aminossolúveis das raízes (Naminor). Para a doce miúda, na dose de 50%, a IPACC38 foi destaque em aumentar a MFC, MSC e MST, as estirpes IPACC29 e AB foram eficientes em incrementar o TNC, ANC,  $\text{NH}_4^+\text{R}$  e PSC, todas as inoculações aumentaram os teores de Naminor e a proteína solúvel das raízes e as estirpes IPACC38 e AB aumentaram o teor de nitrato dos cladódios. Esses resultados sugerem que as estirpes IPACC26, IPACC29 e IPACC55 apresentam potencial de uso como inoculantes na cultura da palma forrageira.

**Palavras-chave:** *Nopalea cochenillifera* Salm Dyck, *Bacillus subtilis*, *Paenibacillus* sp., fixação biológica de nitrogênio, Inoculante.

## ABSTRACT

Cactus pear is an extremely important crop for the Brazilian semi-arid region, however, it is cultivated with a low technological level, which reduces its productive potential. In this sense, a low-cost and highly sustainable technology is the use of inoculants containing plant growth-promoting bacteria (PGPB), as they have potential for use in agriculture as a complement to chemical nitrogen fertilizers. Thus, this study aimed to evaluate the role of PGPB in the morphology, growth and nitrogen metabolism of two cactus cultivars (baiana and doce) under different nitrogen fertilization regimes in semi-arid soil in Piauí. Six treatments composed of two strains of *Bacillus subtilis* (IPACC29 and IPACC26), two strains of *Paenibacillus* sp. (IPACC55 and IPACC38), a commercial inoculant containing strains of *Azospirillum brasilense* (AbV5+AbV6) (AB) and a control without inoculation were associated with three doses of N (0, 50 and 100%). The cultivars responded differently to inoculation with PGPB and N doses. Most morphometric parameters were influenced only by N doses. For the baiana cultivar, when cultivated at a dose of 50%, the IPACC29 strain increased production of fresh (CFM) and dry mass (CDM) of cladodes and total dry mass (TDM), the IPACC26 strain was highlighted in increasing the content (NCC) and accumulation (NAC) of N of cladodes, the activity of nitrate reductase in roots and the soluble protein of cladodes (CSP), IPACC55 increased the ammonium content of roots ( $\text{RNH}_4^+$ ) and soluble carbohydrates of cladodes and this strain together with IPACC38 was efficient in increasing N-aminosolubles of roots (RNamino). For the doce cultivar, at a dose of 50%, IPACC38 stood out in increasing CFM, CDM and TDM, the IPACC29 and AB strains were efficient in increasing NCC, NAC,  $\text{RNH}_4^+$  and CSP, all inoculations increased the levels of RNamino and the soluble root protein and strains IPACC38 and AB increased the nitrate content of cladodes. These results suggest that the strains IPACC26, IPACC29 and IPACC55 have potential for use as inoculants in cactus pear cultivation.

**Keywords:** *Nopalea cochenillifera* Salm Dyck, *Bacillus subtilis*, *Paenibacillus* sp., Biological nitrogen fixation, Inoculant.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

|                                |                                                |
|--------------------------------|------------------------------------------------|
| BPCPs                          | Bactérias promotoras do crescimento de plantas |
| CAM                            | Metabolismo ácido das crassuláceas             |
| UFPI                           | Universidade Federal do Piauí                  |
| TSA                            | Agar Triptona de Soja                          |
| TSB                            | Caldo Triptona de Soja                         |
| NMP                            | Número mais provável                           |
| FBN                            | Fixação biológica de nitrogênio                |
| AP                             | Altura de plantas                              |
| NCP                            | Número de cladódios primários                  |
| LCP                            | Largura de cladódios primários                 |
| CCP                            | Comprimento de cladódios primários             |
| ECP                            | Espessura de cladódios primários               |
| NCS                            | Número de cladódios secundários                |
| LCS                            | Largura de cladódios secundários               |
| CCS                            | Comprimento de cladódios secundários           |
| ECS                            | Espessura de cladódios secundários             |
| MFC                            | Massa fresca de cladódios                      |
| MSC                            | Massa seca de cladódios                        |
| MFR                            | Massa fresca de raízes                         |
| MSR                            | Massa seca de raízes                           |
| MST                            | Massa seca total                               |
| CR                             | Comprimento de raiz                            |
| ACP                            | Área de cladódios primários                    |
| ACS                            | Área de cladódios secundários                  |
| AM                             | Área da matriz                                 |
| TNC                            | Teor de nitrogênio nos cladódios               |
| ANC                            | Acúmulo de nitrogênio nos cladódios            |
| TNR                            | Teor de nitrogênio nas raízes                  |
| ANR                            | Acúmulo de nitrogênio nas raízes               |
| NR                             | Nitrato redutase                               |
| NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> C | Nitrato dos cladódios                          |

|                          |                                     |
|--------------------------|-------------------------------------|
| $\text{NO}_3^- \text{R}$ | Nitrato das raízes                  |
| $\text{NH}_4^+ \text{C}$ | Amônio dos cladódios                |
| $\text{NH}_4^+ \text{R}$ | Amônio dos raízes                   |
| CSC                      | Carboidratos solúveis dos cladódios |
| NaminoC                  | N-aminossolúveis dos cladódios      |
| NaminoR                  | N-aminossolúveis das raízes         |
| PSC                      | Proteínas solúveis dos cladódios    |
| PSR                      | Proteínas solúveis das raízes       |

## LISTA DE SÍMBOLOS

|     |                                        |
|-----|----------------------------------------|
| N   | Nitrogênio                             |
| P   | Fósforo                                |
| K   | Potássio                               |
| Ca  | Cálcio                                 |
| Mg  | Magnésio                               |
| Al  | Alumínio                               |
| H   | Hidrogênio                             |
| SB  | Soma de bases                          |
| CTC | Capacidade de troca catiônica a pH 7,0 |
| Cu  | Cobre                                  |
| Mn  | Manganês                               |
| Fe  | Ferro                                  |
| Zn  | Zinco                                  |
| V   | Índice de saturação de bases           |
| m   | Índice de saturação de alumínio        |
| %   | Porcentagem                            |
| M.O | Matéria orgânica                       |
| UFC | Unidade formadora de colônia           |
| g   | Grama                                  |
| kg  | Quilograma                             |
| cm  | Centímetro                             |
| mm  | Milímetro                              |

## SUMÁRIO

|          |                                                                                                         |           |
|----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1</b> | <b>INTRODUÇÃO.....</b>                                                                                  | <b>11</b> |
| <b>2</b> | <b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>                                                                       | <b>13</b> |
| 2.1      | Semiárido brasileiro .....                                                                              | 13        |
| 2.2      | Histórico e importância da palma forrageira .....                                                       | 14        |
| 2.3      | Caracterização botânica e morfológica de palma forrageira .....                                         | 16        |
| 2.4      | Bactérias promotoras do crescimento de plantas.....                                                     | 17        |
| 2.4.1    | Fixação biológica de nitrogênio .....                                                                   | 18        |
| 2.4.2    | Gênero <i>Bacillus</i> .....                                                                            | 20        |
| 2.4.3    | Gênero <i>Paenibacillus</i> .....                                                                       | 21        |
| 2.4.4    | Gênero <i>Azospirillum</i> .....                                                                        | 22        |
| 2.5      | Adubação nitrogenada na palma forrageira .....                                                          | 23        |
| <b>3</b> | <b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>                                                                          | <b>25</b> |
| 3.1      | Origem das estirpes e obtenção dos inoculantes .....                                                    | 25        |
| 3.2      | Localização, instalação e condução dos experimentos e delineamento experimental .....                   | 26        |
| 3.3      | Avaliação de parâmetros morfométricos e bioquímicos, produção de biomassa e acúmulo de nitrogênio ..... | 27        |
| 3.4      | Análise estatística dos dados .....                                                                     | 30        |
| <b>4</b> | <b>RESULTADOS.....</b>                                                                                  | <b>31</b> |
| 4.1      | Aspectos visuais das plantas e parâmetros morfométricos .....                                           | 31        |
| 4.2      | Produção de biomassa.....                                                                               | 34        |
| 4.3      | Teor e acúmulo de nitrogênio nos cladódios e raízes .....                                               | 36        |
| 4.4      | Parâmetros bioquímicos .....                                                                            | 38        |
| <b>5</b> | <b>DISCUSSÃO.....</b>                                                                                   | <b>43</b> |
| <b>6</b> | <b>CONCLUSÃO.....</b>                                                                                   | <b>49</b> |
|          | REFERÊNCIAS .....                                                                                       | 50        |
|          | ANEXOS.....                                                                                             | 64        |

## 1 INTRODUÇÃO

O semiárido brasileiro apresenta grande variabilidade pluviométrica, com chuvas pouco distribuídas no espaço e no tempo, de altas intensidades e curta duração (Silva *et al.*, 2020). Essa irregularidade pluviométrica, além de outros fatores, pode causar sérios prejuízos ao setor agropecuário, comprometendo a criação de rebanhos, a produção de alimentos e a população em geral. Neste cenário, a palma forrageira é um excelente recurso forrageiro, pois tolera episódios prolongados de seca e tem elevada eficácia na utilização da água em razão de seus atributos morfofisiológicos em situações de estresse hídrico. Essa forrageira possui o Metabolismo Ácido Crassuláceo (CAM), tornando-a uma das plantas mais adaptadas às condições áridas (Edvan *et al.*, 2020).

As principais espécies de palma forrageira cultivadas no semiárido do Nordeste brasileiro são *Opuntia ficus indica* Mill e *Nopalea cochenillifera* Salm Dyck. Dentro dessa segunda espécie, ganham destaque as cultivares baiana e doce miúda, em razão à sua tolerância à cochonilha do Carmim (*Dactylopius opuntiae*), uma importante praga que acomete a cultura, assim como sua significativa relevância como insumo para fabricar alimentos e fonte de água para os ruminantes, especialmente durante o período de seca (Barbosa *et al.*, 2018). Apesar da adaptação da palma forrageira às condições semiáridas, a sua produtividade ainda é baixa frente à aptidão da cultura, o que é atribuído ao baixo nível tecnológico adotado (Carvalho *et al.*, 2017). Neste sentido, uma tecnologia de baixo custo e de grande sustentabilidade, que pode contribuir para nutrição, desenvolvimento e produtividade dessa forrageira, é o emprego de inoculantes contendo bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCPs).

As BPCPs são microrganismos de vida livre, associativas e/ou simbióticas que habitam na rizosfera do vegetal, estimulando o crescimento das plantas através da modulação de diferentes processos (Puri *et al.*, 2020). Algumas dessas bactérias, além de mediar a fixação biológica de N<sub>2</sub> e solubilização de fosfatos inorgânicos, podem sintetizar fitohormônios e antibióticos e estimular nas plantas a atividade de enzimas de defesa contra estresses e todos esses fatores podem resultar em incrementos no crescimento, nutrição e produtividade de diversas culturas (Oliveira-

Longatti *et al.*, 2014; Costa *et al.*, 2015; Fukami *et al.*, 2017; Silva *et al.*, 2021a; Aquino *et al.*, 2021; 2022).

O emprego de BPCPs pode constituir um importante elo na agricultura como complemento aos adubos químicos (Masood *et al.*, 2020), especialmente o nitrogênio (N), elemento requerido em maior quantidade pela maioria dos vegetais. Assim, a associação da adubação nitrogenada com BPCPs têm sido bastante relatada na literatura (Aquino *et al.*, 2019; 2021; 2022), visando reduzir o uso de fertilizantes nitrogenados, que, além do alto custo, podem provocar contaminação do ambiente quando mal manejados (Guo *et al.*, 2022).

Estirpes dos gêneros *Azospirillum*, *Bacillus* e *Paenibacillus* são comumente citados na literatura como BPCPs (Pathania *et al.*, 2023; Liu *et al.*, 2023a; Ribeiro *et al.*, 2022). Membros desses gêneros são importantes promotores do crescimento de planta, além de alguns defenderem os vegetais contra fitopatógenos, influenciando de forma positiva o crescimento e o desenvolvimento vegetal (Aquino *et al.*, 2019; 2021; Patowary, Deka, 2020; Ozfidan-Konakci *et al.*, 2023; Paravar *et al.*, 2023). Contudo, ainda não há relatos dos benefícios da inoculação de estirpes desses gêneros na cultura da palma forrageira.

A hipótese estabelecida para esse trabalho foi que estirpes de BPCPs dos gêneros *Azospirillum*, *Bacillus* e *Paenibacillus*, associadas à adubação nitrogenada, favorecem o crescimento e o metabolismo do nitrogênio de cultivares de palma forrageira (*Nopalea cochenillifera*) em solo de região semiárida. O objetivo deste estudo foi avaliar o papel de BPCPs na morfologia, crescimento e metabolismo do nitrogênio de cultivares de palma forrageira sob diferentes regimes de adubação nitrogenada em solo do semiárido piauiense.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Semiárido brasileiro

A região semiárida brasileira é representada por temporadas pequenas e aperiódicas de precipitações, elevada evapotranspiração e elevada temperatura, sendo a região mais superpovoada do país, com cerca de 27 milhões de pessoas (Medeiros *et al.*, 2023). Essa região ocupa cerca de 12% do território nacional, com a maior parte situada no Nordeste do país, abarcando 1.262 municípios, dos estados do Maranhão, Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe, Bahia e Minas Gerais (da região Sudeste) (Sudene, 2017).

O semiárido brasileiro apresenta uma extensa exploração dos seus recursos, o que o deixa exposto à intensa atividade antrópica, desde a colonização, mas com maior intensidade após a década de 1970, resultando em cenários com extrema alteração, no clima e na paisagem natural, principalmente, vinculados ao extrativismo, manejo agrícola impróprio e sobrepastoreio, os modificadores basais que alteram a vegetação nativa dessa região (Silva *et al.*, 2021b).

A pecuária constitui-se de uma das fundamentais práticas econômicas do território do Nordeste brasileiro (Macêdo *et al.*, 2020). No entanto, existe um grande problema em se assegurar a nutrição dos animais com o passar das temporadas, em razão às características edafoclimáticas dessa região (Lima *et al.*, 2010), especialmente em áreas inseridas dentro da região semiárida.

As culturas presentes no semiárido apresentam, na sua maior parte, metabolismos fotossintéticos C<sub>3</sub> e C<sub>4</sub>, que proporcionam produtividade limitada nas situações de carência de água, onde as plantas CAM (Metabolismo Ácido das Crassuláceas) recebem evidência (Silva *et al.*, 2015). Pois, as espécies CAM fecham os estômatos no decorrer do dia para impedir a perda de água, porém abrem os estômatos e fixam CO<sub>2</sub> durante a noite, pois as taxas de evapotranspiração são pequenas, desse modo, essas plantas melhoram a eficácia da utilização da água em situações de estresse hídrico (Wang *et al.*, 2022a). Dentre as culturas de metabolismo CAM, a de máxima evidência e mais numerosas nas áreas semiáridas são as cactáceas e estas culturas têm como evidência a particularidade xerófila, que

proporciona máxima resistência em situações de carência de água, elevada temperatura e solos de pequena fertilidade (Pereira *et al.*, 2015).

Nesse sentido, o futuro dos cultivos no semiárido está sujeito ao manuseio sustentável dos agroecossistemas baseados na utilização de plantios apropriados às suas situações. A exploração de plantas mais adaptadas às condições de adversidade do semiárido se torna uma alternativa viável, contribuindo assim, para o fornecimento de forragem de qualidade para os animais (Oliveira *et al.*, 2010).

## **2.2 Histórico e importância da palma forrageira**

A palma forrageira é uma cactácea exótica, originou-se no México, de procedência natural de modo silvestre. No entanto, evidências apontam que a mesma ocorre em vários locais do planeta, sendo avaliada como uma cultura cosmopolita, já que há explanações de sua procedência desde as colinas do Peru, a mais de 4.500 metros de altitude, até em lugares áridos bem como em diversos locais da África e do Oriente Médio, em que as temperaturas durante o dia excedem os 50°C (Macêdo *et al.*, 2020).

Desde o tempo pré-hispânico a palma forrageira é usada pelos seres humanos no México, onde ocupava um local de relevância na economia agrônômica do Império Asteca. Ainda nesse período era corriqueira a utilização da fruta da palma na nutrição humana. Após as atividades colonialistas, o fruto passou a ser degustado no Sul da Itália e na ilha da Sicília (Gois *et al.*, 2013).

A palma forrageira foi inserida no Brasil aproximadamente no século XVIII, levada pelos colonizadores de Portugal, apresentando como principal finalidade a fabricação do corante carmim, empregado no tempo pela indústria têxtil (Rocha, 2012). Atualmente, vem sendo cultivada no Nordeste e usada como alimento para os ruminantes, entretanto, essa planta é utilizada a nível global com vários desígnios, como por exemplo, preservação do solo, ornamentação e alimento humano (Leite *et al.*, 2018a). Na medicina comum, há informações para finalidades antiúlcera, cicatrizante e diurético (Albuquerque *et al.*, 2023).

A palma forrageira é um alimento que oferece ótima palatabilidade, rica em aminoácidos, vitaminas, minerais, relevante fonte energética, proporciona pequena

porcentagem de componentes da parede celular e grande grau de digestibilidade de matéria seca, sendo um complemento de alimento de elevada capacidade para nutrição dos ruminantes (Rocha *et al.*, 2020; Fernandes, 2014). Independentemente do gênero proporciona pequenos níveis de matéria seca ( $11,69 \pm 2,56\%$ ), proteína bruta ( $4,81 \pm 1,16\%$ ), fibra em detergente neutro ( $26,79 \pm 5,07\%$ ) e fibra em detergente ácido ( $18,85 \pm 3,17\%$ ), todavia, proporciona bons níveis de carboidratos totais ( $81,12 \pm 5,9\%$ ), carboidratos não-fibrosos ( $58,55 \pm 8,13\%$ ), carboidratos não-estruturais ( $47,9 \pm 1,9$ ) e matéria mineral ( $12,04 \pm 4,7\%$ ) (Paulino, 2013).

Em razão aos pequenos teores de fibra em detergente neutro e proteína bruta nessa cactácea, é imprescindível a aplicação de fontes de fibra bastante eficientes, com o intuito de ultrapassar essa restrição (Cardoso *et al.*, 2019). Em razão disso, a tática nutricional de combinar a palma forrageira aos outros elementos na alimentação enriquece a ingestão de fibra, ampliando a ingestão eficaz dos nutrientes, sendo capaz de cooperar em até 40 a 50% da matéria seca da alimentação dos animais (Galvão Júnior *et al.*, 2014).

Essa forrageira possui metabolismo ácido das crassuláceas (CAM), o que faz com que a planta seja uma das mais adaptadas as condições áridas, pois esta ferramenta infere numa maior eficiência na utilização da água (Dubeux Júnior *et al.*, 2021). No entanto, quando sujeitas a extensos tempos de seca, acontecem modificações fisiológicas, como diminuição da fotossíntese do cladódio em razão à redução do conteúdo hídrico, diminuição da grossura do parênquima e danos nos pigmentos fotossintéticos, fazendo-se a irrigação propícia em lugares predispostas a temporadas de seca (Campos *et al.* 2021).

Assim, a ampla heterogeneidade de empregos e utilidades da palma forrageira mostra a variabilidade desse vegetal, que embora seja cultivada no semiárido para alimento dos animais, não tem sua capacidade analisada inteiramente. Tudo isso ocasiona a falta de uso de ótimas possibilidades para o melhoramento dos níveis sociais e econômicos, por meio da criação de postos de trabalho, ganho, oferta de comidas e conservação do ambiente (Chiacchio *et al.*, 2006).

Desse modo, o conhecimento dos métodos de cultivo dessa forrageira pode proporcionar importante ajuda na concepção do manuseio dessa relevante cultura usada pelos fazendeiros do semiárido do Brasil. Assim, será possível encontrar estratégias e orientar táticas e demandas de análises a serem efetuados, ideias e

programas de desenvolvimento agrônomo, aspirando conseguir, de modo sustentável, todo o potencial produtivo dessa cactácea (Leite *et al.*, 2014).

### 2.3 Caracterização botânica e morfológica de palma forrageira

A palma forrageira é classificada na Divisão: Embryophyta, Sub-divisão: Angiospermea, Classe: Dicotyledoneae, Sub-classe: Archiclamideae, Ordem: Opuntiales e família: Cactaceae (SILVA; SANTOS, 2006). Nessa família, são achados próximo de 130 gêneros e 1.500-1.870 espécies destacadas por suas adaptações fantásticas a lugares com restrição hídrica (Agostini-Costa, 2022).

A palma forrageira é uma planta xerófita, suculenta, perene, seu caule é segmentado em artículos, que compõem os cladódios, onde esses podem ser colunares ou globosos, cilíndricos e planos, sendo definidos em primários ou secundários. Conforme seu arranjo sobre o desenvolvimento, os cladódios podem possuir espinhos bem modificáveis nos tamanhos, arranjo, formato e cor, agrupados em um local deprimido ou acentuado, que compõe a aréola, nas quais se formam flores, espinhos ramos e folhas (Necchi, 2011). O fruto é uma baga que altera em forma, dimensão e coloração, apresentando um número consistente de sementes rígidas, possuindo elevado conteúdo de açúcar e pouca acidez (Issami *et al.*, 2024).

Essas plantas formam raízes bem desenvolvidas, com repartição alterando com o tipo de solo e manuseio adotado, mas com dominância de raízes superficiais que sustenta a amplos tempos de seca e geralmente alcançam a grande profundidade de 30 cm (Marques *et al.*, 2017).

Determinados gêneros, como *Opuntia* e *Nopalea*, foram domesticados no passado e são usados pelos homens tanto para sua nutrição como também dos animais, apresentando-se como os gêneros mais produtivos desta cultura (Dubeux Júnior *et al.*, 2021). Dentre as espécies produtivas da palma forrageira podemos citar a *Nopalea cochenillifera* Salm Dyck, que ganham destaque as cultivares baiana e doce miúda.

A cultivar baiana tem hábito de crescimento vertical, possuindo cladódios de tamanho mediano, largura pequena, formato elíptico mediano, espessura graúda, de cor verde-amarelada, contendo cinco aréolas na fila do centro, coloração cinza,

alterando de 0 a 4 espinhos por aréola (Voltolini *et al.*, 2022). Apresenta ótima produtividade, rica em carboidratos, apresenta baixa tolerância à seca em relação à palma gigante (*Opuntia-fícus indica* Mill), entretanto apresenta resistência à cochonilha-do-carmim (Senar, 2018).

Já a cultivar doce miúda exibe cladódios reduzidos e pequenos, formato elíptico mediano, espessura estreita, cor verde-mediana, com quatro aréolas na fila do centro e de coloração cinza, alterando de 0 a 3 espinhos por aréola (Voltolini *et al.*, 2022). As flores são de coloração vermelha e sua corola continua meio fechada no decorrer do ciclo, o fruto é em forma de baga e de cor roxa. É bastante nutritiva e apreciada pelo gado (palatável), entretanto proporciona baixa resistência à seca, mas proporciona resistência à cochonilha do carmim (Galvão Júnior *et al.*, 2014).

## **2.4 Bactérias promotoras do crescimento de plantas**

O uso exagerado de adubos e pesticidas comprometem a segurança agrônômica e ambiental. A utilização demasiada, por exemplo, de adubos químicos nitrogenados e fosfatados induz a poluição da água, prejudicando intimamente a saúde das pessoas e o desenvolvimento vegetal (Sun *et al.*, 2023). O solo saudável é muito importante para o desenvolvimento vegetal, com os microrganismos exercendo um papel essencial como indivíduos naturais da terra, participando efetivamente na ciclagem de elementos, aprimorando as populações microbianas e garantindo uma estrutura adequada. Portanto, o emprego adequado desses microrganismos nas lavouras aparece como uma opção econômica, ambientalmente correta e eficaz aos adubos químicos (Li *et al.*, 2024).

Assim, a utilização de insumos biológicos, visando melhorar o desenvolvimento, nutrição e produtividade das culturas, representa uma importante estratégia, tanto em termos econômicos, como ambientais. Dentre os grupos de microrganismos que podem ser usados na composição desses insumos, têm-se as bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCPs). As BPCPs podem ocorrer livremente no solo, associadas aos vegetais e/ou ser endofíticas, colonizando os tecidos internos das plantas. Essas bactérias são capazes de estimular o crescimento vegetal através de diferentes processos e sua utilização na agricultura

sustentável tem recebido muita atenção nos últimos anos em razão aos seus efeitos favoráveis no solo e na produtividade das plantas (Ramakrishna *et al.*, 2019).

Essas bactérias podem incrementar o crescimento vegetal de modo direto e/ou indireto. Dentre os mecanismos de ação direta, destaca-se a fixação biológica de nitrogênio, solubilização de nutrientes minerais (fósforo, potássio e outros minerais), ampliando a disponibilidade de nutrientes para as culturas, e a síntese de fitohormônios (citocininas, etileno, auxina e ácido indol acético) (Liu *et al.*, 2023a; Wei *et al.*, 2023; Solouki, *et al.*, 2023; Costa *et al.*, 2015). Os mecanismos de ação indireta incluem a produção de antibióticos, diminuindo os efeitos inibitórios de diversos fitopatógenos no desenvolvimento da cultura, e a síntese de enzimas envolvidas na atenuação dos efeitos do estresse abióticos, entre outros (Collado-González *et al.*, 2023; Emmanuel, Babalola, 2020; Silva *et al.*, 2021a).

Conforme Martínez-Viveros *et al.* (2010), as BPCPs exibem variações em sua relação com as células do sistema radicular do vegetal, onde podem ser agrupadas como BPCPs extracelulares ou intracelulares. No primeiro caso, elas se localizam tanto na rizosfera como em lugares entre as células do córtex da raiz. Já no segundo caso, estas são encontradas comumente em ambientes exclusivos no interior dessas células. Alguns dos importantes gêneros bacterianos mais usados nos estudos das BPCPs, como o *Azospirillum* e o *Bacillus*, estão dentro do grupo de bactérias de crescimento extracelular de plantas (Gray; Smith, 2005).

A informação da pluralidade de microrganismos relacionados ao vegetal é de grande relevância, já que possibilita a concepção do seu desempenho ecológico e com potencialidade para utilização biotecnológica agrícola (Roriz *et al.*, 2023). Assim, dentre os gêneros fundamentais com potencialidade de promoção do crescimento vegetal podemos citar *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Microbacterium*, *Paenibacillus*, *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas* e *Azospirillum* (Arfaoui *et al.*, 2018; Lopes *et al.*, 2016; Roriz *et al.*, 2023; Temesgen *et al.*, 2019; Pathania *et al.*, 2023).

#### 2.4.1 Fixação biológica de nitrogênio

O nitrogênio (N) é um nutriente importante para o crescimento e desenvolvimento vegetal, participando da composição de diversos compostos como

proteínas, ácidos nucleicos, pigmentos fotossintéticos, dentre outros processos. Embora o N esteja presente em grande quantidade na atmosfera, os vegetais não conseguem absorver de forma direta o  $N_2$  do ar, mas somente na forma de amônio ou nitrato (Ahmed *et al.*, 2023).

Vários microrganismos exercem distintas funções relevantes no solo e uma dessas funções é a fixação biológica de nitrogênio (FBN). No processo FBN os microrganismos possuem a enzima nitrogenase, que é eficaz para o rompimento da tripla ligação da molécula  $N_2$ , modificando o N em formas disponíveis para as plantas (Moreira; Siqueira, 2006). Esses organismos são chamados de diazotróficos, podendo ser de vida livre, ligados às plantas ou até mesmo estar em interação com as leguminosas, sendo o seu estudo de grande relevância, em razão à sua colaboração para o suprimento de N a vários ambientes, sejam manejados ou não (Moreira *et al.*, 2010). A FBN exerce uma função relevante na preservação dos ecossistemas e na instalação de uma estabilidade ecológica de nitrogênio, proporcionando diversos benefícios, bem como segurança, eficácia e omissão de contaminação subsidiária (Zhang *et al.*, 2023).

Algumas BPCPs tem a habilidade de fixar o N da atmosfera e disponibilizá-los para os vegetais por dois meios simbióticos e não-simbióticos. O primeiro é uma associação mutualística entre a bactéria e o vegetal, em que o procarioto adentra na raiz e, posteriormente, forma nódulos, onde acontece a FBN (Ahemad; Kibret, 2014), podendo ser dos gêneros *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium*, *Azorhizobium*, entre outros (Etesami, 2022). O segundo, são os denominados diazotróficos de vida livre que interage com plantas não-leguminosas e podem ser dos gêneros: *Azoarcus*, *Azotobacter*, *Acetobacter*, *Azospirillum*, *Burkholderia*, *Diazotrophicus*, *Enterobacter*, *Gluconacetobacter*, *Pseudomonas*, dentre outros (Bhattacharyya; Jha, 2011). A fixação simbiótica de N faz parte de uma interação mutualística, onde os vegetais ofertam carbono às bactérias e em compensação elas fornecem nitrogênio fixo, e isso estar sujeito aos circuitos reguladores complexos entre os dois companheiros (Mus; Wu, 2023).

A contribuição da fixação de  $N_2$  de vida livre (FNVL) na terra é comumente restringida pela acessibilidade de carbono (C), já que os processos biológicos de fixação de N gastam bastante energia (Zuberer, 2021). Os microrganismos de vida livre adquirem energia dos compostos orgânicos e padece com alterações do meio ambiente (Smercina *et al.*, 2019). Outro fator relevante da FNVL é a acessibilidade

de N, onde em locais abundantes em N, a FNVL é limitada e os microrganismos não atuam nesse processo (Dynarski; Houlton, 2018). Assim, as acessibilidades de C e N, como também a estequiometria do substrato (relação C:N), definem a contribuição da FNVL (Wang *et al.*, 2023). Desse modo, o estudo das bactérias fixadoras de N<sub>2</sub> é de extrema importância, em razão à sua cooperação na ciclagem de nutrientes do solo e para garantir o desenvolvimento dos vegetais como também à qualidade do solo (Liang *et al.*, 2023).

#### 2.4.2 Gênero *Bacillus*

O gênero *Bacillus* é um dos grupos bacterianos mais universais, recebeu popularidade nos últimos tempos devido a sua grande variabilidade fenotípica e diversidade, abrangendo atualmente 268 espécies e 7 subespécies (Becerra *et al.*, 2022). Com fundamento nos atributos morfológicos e fisiológicos, as bactérias presentes neste gênero são relatadas em formato de bastonete, gram-positivas, aeróbicas ou anaeróbicas facultativas e catalase-positivas, em razão à sua vasta habilidade fisiológica e habilidade de produzir endósporos, sendo assim tolerantes a situações de adversidade no meio ambiente e ubíquo em uma grande multiplicidade de locais, abrangendo o solo (Miljaković *et al.*, 2020).

Espécies desse gênero são aptas para se desenvolver com eficiência utilizando fontes de carbono de baixo peso e secretar uma multiplicidade de conteúdos benéficos, que são largamente usadas nas indústrias agronômica, alimentícia, ambiental e farmacêutica. No mais, esse gênero apresenta segurança com um fundamento genético levemente simples, que dirige à produtividade industrial de metabólitos (Qian *et al.*, 2023).

Membros desse gênero são empregados como biofertilizantes e fitoestimulantes em razão à sua habilidade promotora do crescimento de vegetais, operando no biocontrole, competente para eliminar a maior parte dos microrganismos patogênicos dos vegetais, possuindo estirpes úteis das espécies *B. amyloliquefaciens*, *B. cereus*, *B. licheniformis*, *B. megaterium*, *B. pumilus*, *B. subtilis*, *B. thuringiensis* e *B. velezensis*, as quais estão incluídas nos preparos comerciais e disseminadas como inoculantes em diversos mercados (Etesami *et al.*, 2023). Desse

modo, é imprescindível que a rizosfera dos vegetais seja capaz de selecionar essas bactérias para virtualmente aperfeiçoar o desenvolvimento, a proteção e a produção das culturas (Araújo *et al.*, 2023).

#### 2.4.3 Gênero *Paenibacillus*

A família Paenibacillaceae compreende 16 gêneros e dentro dela o gênero *Paenibacillus* é o mais variado, que abarca 277 espécies conhecidas. Esse gênero é adaptado a diversos locais, mas uma grande variedade de espécies relevantes está distribuída nos solos, constantemente associadas ao sistema radicular dos vegetais (Ribeiro *et al.*, 2022). Espécies desse gênero produzem endósporos, possuindo formato de bastonete, aeróbias ou facultativamente anaeróbicas, com propriedades gram-positivas, gram-negativas ou gram-variáveis (Cho *et al.*, 2020).

O nome *Paenibacillus* é proveniente do advérbio latino *paene*, que quer dizer quase; quase um Bacilo, onde no ano de 1997, uma reforma sugerida relatou *Paenibacillus* como apresentando seguimentos de 16S rDNA com mais de 89,6% de similaridade com o *Bacillus*, estando móvel através de flagelos peritríquios, ademais, partilham os atributos principais conferidos ao gênero *Bacillus* (Grady *et al.*, 2016).

*Paenibacillus* foi descoberto e está expandindo ligeiramente, pois diversas bactérias ligadas a esse gênero evidenciaram ser relevantes para a agronomia (PHAM *et al.*, 2017). Em relação a isso, algumas espécies desse gênero têm distintas características benéficas como a produção de fitormônios e antibióticos, solubilização de nutrientes e fixação biológica de nitrogênio, além do mais, tem a habilidade de sintetizar enzimas modificadoras da lignocelulose e pode ser analisado como uma ótima opção para a fabricação de biocombustíveis (Fallahzadeh-Mamaghani *et al.*, 2021).

É importante citar a espécie *Paenibacillus polymyxa*, pois estirpes dessa espécie podem sintetizar metabólitos secundários notadamente múltiplos para ultrapassar problemas e tem se apresentado próspero na intervenção de uma multiplicidade de adversidades das indústrias alimentícias, agrônômicas e farmacêuticas, ponderado para secretar uma diversidade de conteúdos bioativos benéficos, contendo polimixinas antibióticas, fusaricidinas e polipeptídeos,

portanto, uma opção favorável para incrementar a fertilidade do solo e biocontrole agrícola (Daud *et al.*, 2019).

#### 2.4.4 Gênero *Azospirillum*

O gênero *Azospirillum* faz parte da família Rhodospirillaceae, que é formada especialmente por gêneros aquáticos, entretanto, esse gênero, é composto especialmente por microrganismos terrestres que coevoluíram com os vegetais vasculares (Rodrigues *et al.*, 2022). As espécies desse gênero estão largamente disseminadas, principalmente em solos de climas tropicais, subtropicais e temperadas e no sistema radicular de cereais, onde a maior parte dos indivíduos do gênero *Azospirillum* são bactérias gram-negativas, em formato de bastonete ou espiral e não produzem esporos (Wu *et al.*, 2021). Ademais, as estirpes desse gênero associadas aos vegetais são de grande importância, pois atuam como um probiótico, aperfeiçoando o bem-estar de seus hospedeiros (Maroniche *et al.*, 2017).

Incluso no grupo de BPCPs, o gênero *Azospirillum* é um dos mais analisados e empregados para fabricação de inoculantes no mundo, devido a sua habilidade de fixar o nitrogênio presente no ar e influenciar o crescimento e o desenvolvimento vegetal. Várias espécies plantas submetidas à inoculação com essas bactérias tem sido estudadas, em experimentos conduzidos tanto em estufa como em campo (Santos *et al.*, 2022).

Esse gênero é um dos grupos que tem a habilidade de se agregar com cerca de 113 espécies de plantas, disseminadas em 35 famílias botânicas, abarcando 14 espécies de gramíneas (Pereg *et al.*, 2016), sendo vendido como inoculante em vários lugares, como Argentina, México, Índia, Itália, França e Brasil (Bashan; De-Bashan, 2010). Além disso, no Brasil as estirpes de *Azospirillum brasilense* (AbV5+AbV6) são as mais usadas para fabricação de inoculantes comerciais, onde o mesmo é produzido em turfa ou em forma líquida (Lima-Tenório *et al.*, 2023). Desse modo, os feedbacks benéficos consistentes tornam as bactérias desse gênero um biofertilizante vastamente empregado, o que pode auxiliar a reduzir a utilização de adubos químicos (Asiloglu *et al.*, 2020).

## 2.5 Adubação nitrogenada na palma forrageira

O nitrogênio (N) é um nutriente requerido em grande quantidade pelos vegetais, por ser fundamental no metabolismo, bem como na composição de ácidos nucleicos, fitohormônios, clorofila, proteínas e coenzimas, e sua aplicação em cultivos agrícolas é um dos principais fomentadores de produtividade (Hawkesford *et al.*, 2023). No entanto, em razão das ações pedogênicas, os solos do semiárido do Nordeste apresentam pequenos teores de matéria orgânica e, por conseguinte, pequena disponibilidade de nitrogênio para os vegetais (Cunha *et al.*, 2012). Assim, em solos dessa região geralmente são aplicadas elevadas doses de N para alcançar altas produtividades das lavouras.

A palma forrageira responde de forma positiva à fertilização mineral, independentemente da cultivar empregada, onde seus resultados estão relacionados com aumento da área foliar e de matéria seca, com representações positivas no desenvolvimento vegetal e produtividade, sendo observadas respostas semelhantes em plantios adensados e com fertilização orgânica agregadas com fertilizantes químicos, tendo como elementos mais retirados pela cultura o N, P, K e Ca (Magalhães, 2021).

A palma forrageira pode alcançar elevadas produtividades de massa forrageira por unidade de área, chegando a alcançar 600 toneladas de massa verde, o que explica o requerimento de elevadas doses de fertilizantes, especialmente os nitrogenados (Dubeux Junior *et al.*, 2010). De acordo com Prado e Leal (2006), a deficiência de N na palma forrageira pode resultar em menor número de cladódios, área foliar reduzida, além da redução da altura e do diâmetro. Desta forma, O N é um elemento relevante para a produtividade das culturas de interesse agrônomo, porém um fator restritivo em cultivos com véis mais sustentáveis, e como consequência, os adubos nitrogenados são comumente utilizados para incrementar a produtividade das culturas (Zhu *et al.*, 2023).

Cunha *et al.* (2012), ao avaliarem três doses de N (100, 200 e 300 kg ha<sup>-1</sup>) e um controle (sem fertilização nitrogenada), em estudo com a cultivar doce miúda, não constataram diferenças significativas da fertilização com N para a maioria dos atributos morfológicos. Entretanto, foi observado efeito linear e positivo no número

de cladódios, com números que alteravam de 27,7 a 36,1 cladódios, para falta de fertilização e para a dose de 300 kg ha<sup>-1</sup> de N, de forma respectiva. Leite *et al.* (2018b) ao analisar a cultivar doce miúda aos 730 dias posteriormente ao plantio em forma de sequeiro, observou que com o incremento das doses de N até 600 kg ha<sup>-1</sup> não amplia a maioria dos atributos morfológicos e nem a produtividade de matéria seca da mesma.

Lima *et al.* (2020) para determinar a área de cladódio e o fator de correção de cultivares de palma forrageira, por distintos artifícios, sob fertirrigação nitrogenada em região semiárida, usaram duas lâminas de irrigação (100 e 25% da ET<sub>0</sub>), duas doses de N (0 e 600 kg ha<sup>-1</sup> de N) e três cultivares de palma (orelha de elefante mexicana, IPA-sertânia e doce miúda). Os autores verificaram que a lâmina de irrigação de 100% da ET<sub>0</sub> agregada à dosagem de N de 600 kg ha<sup>-1</sup> possibilitou as máximas áreas de cladódios dessas cultivares.

Costa (2018), ao analisar as cultivares baiana e orelha de elefante mexicana, observo que os maiores teores de massa seca (MS), com valores de 15,44 e 12,01%, foram adquiridos com as doses de 425 e 350 kg ha<sup>-1</sup> de N, respectivamente, constituindo aumentos de 47 e 51% em analogia aos teores de 8,22 e 5,88% de MS adquiridos na dose de 0 kg ha<sup>-1</sup> de N.

Conforme Silva (2017), o incremento da lâmina de irrigação destacou, significativamente, a massa verde de cladódios da cultivar orelha de elefante nas seguintes dosagens de 0; 150; 300; 450 e 600 kg de N ha<sup>-1</sup>, constituindo o máximo resultado adquirido na lâmina de 125% da ET<sub>0</sub>, representando de 2705,97; 2761,19; 3119,82; 3773,59 e 4036, 16 g de massa verde, respectivamente. Desse modo, a irrigação associada com a adubação nitrogenada é de grande relevância para o cultivo da palma forrageira em região semiárida.

Avaliando a produtividade de três cultivares de palma forrageira aos 360 dias após o plantio, foi observado que os mesmos apresentaram efeito quadrático, sendo a maior produtividade adquirida com 284,5; 309,2 e 226,2 kg ha<sup>-1</sup> de N utilizado via fertirrigação, representando uma produtividade de 567; 432 e 303,8 t ha<sup>-1</sup>, de forma respectiva, para a orelha de elefante, baiana e doce miúda (Borges, 2018). Portanto, a aplicação desse nutriente no plantio da palma forrageira é uma relevante tática para que essa cultura mostre todo o seu potencial produtivo.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Origem das estirpes e obtenção dos inoculantes

Para a realização do estudo foram utilizadas duas estirpes de *Bacillus subtilis* (IPACC29 e IPACC26) e duas estirpes de *Paenibacillus* sp. (IPACC55 e IPACC38), as quais foram obtidas de tecidos (desinfetados superficialmente) de cana-de-açúcar e identificadas por Antunes *et al.* (2017). As estirpes foram selecionadas em função da sua capacidade de atuar em diferentes processos biológicos (produção de ácido indol-3-acético e fixação de N<sub>2</sub> em vida livre), além de promover o crescimento do milho e sorgo em condições de casa de vegetação (Aquino *et al.*, 2019; 2021) e campo (Aquino *et al.*, 2022).

Antecedendo a instalação do experimento, as estirpes foram reativadas e verificadas quanto a pureza em meio Agar Triptona de Soja (TSA) a 25%. Para o preparo dos inoculantes, as quatro estirpes foram crescidas, individualmente, em frascos Erlenmeyers contendo 50 mL de meio líquido (TSB – Caldo Triptona de Soja) e incubadas em agitador rotatório tipo shaker (110 rpm) por 72 h, até turvação do meio de cultura.

Para determinação da densidade da população de bactérias fixadoras de nitrogênio de vida livre previamente existente no solo, foram realizados experimentos de diluições seriadas em meio de cultura semissólido NFB (Döbereiner *et al.*, 1995). Inicialmente, 10 gramas de solo foram diluídas em 90 mL de solução salina (0,85%) estéril e agitados (125 rpm) por 30 minutos. Posteriormente, foram realizadas diluições seriadas decimais ( $10^{-2}$  a  $10^{-7}$ ), com cinco repetições, para inoculação de alíquotas de 0,1 mL de cada diluição em frascos contendo 10 mL do meio de cultura. O número mais provável (NMP) foi estimado de acordo com a presença e ausência de crescimento nas diferentes diluições, utilizando-se a tabela de McCrady, conforme descrito por Döbereiner *et al.* (1995). O resultado do NMP foi de 300 unidades formadoras de colônias (UFC) por grama de solo.

### 3.2 Localização, instalação e condução dos experimentos e delineamento experimental

Foram realizados dois experimentos em paralelo, um para cada cultivar de palma forrageira (baiana e doce miúda), os quais foram instalados em ambiente protegido, no período de maio a novembro de 2022, na Universidade Federal do Piauí (UFPI), Campus Professora Cinobelina Elvas (CPCE), no município de Bom Jesus, estado do Piauí. Além das quatro estirpes de BPCPs mencionadas anteriormente, utilizou-se um inoculante líquido comercial contendo estirpes de *Azospirillum brasilense* (AbV5+AbV6), que foi empregado como referência por apresentar eficiência na promoção do crescimento vegetal em diferentes culturas (Hungria *et al.*, 2010; 2016; Fukami *et al.*, 2016).

Os dois experimentos foram conduzidos em delineamento experimental em blocos casualizados, em esquema fatorial duplo ( $6 \times 3$ ), com quatro repetições. O primeiro fator foi constituído por seis tratamentos de inoculação (quatro estirpes de BPCPs mencionadas, um inoculante comercial e um controle sem inoculação) e o segundo fator foram três doses de nitrogênio (0, 50 e 100% da dose recomendada para aplicação na cultura).

Amostras representativas de uma classe de solo da região semiárida foram coletadas, na camada de 0-20 cm, na fazenda da UFPI ( $8^{\circ}22'30.51''S$  e  $43^{\circ}51'6.76''O$ ) e usadas como substrato de cultivo em vasos de plásticos, adicionando-se 9 kg por vaso. Esse solo apresentou as seguintes características químicas e de textura: pH= 5,4; P= 14 mg dm<sup>-3</sup>; Ca= 1,10 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Mg= 0,19 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; K= 0,21 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Al= 0,00 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; H+Al= 1,50 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; SB= 1,50 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; CTC= 3,01 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Cu= 0,06 mg dm<sup>-3</sup>; Mn= 25,50 mg dm<sup>-3</sup>; Fe= 38,73 mg dm<sup>-3</sup>; Zn= 0,04 mg dm<sup>-3</sup>; V= 50%; m= 0,0%; M.O= 5,60 g kg<sup>-1</sup>; areia= 848 g kg<sup>-1</sup>; silte= 48 g kg<sup>-1</sup> e argila= 104 g kg<sup>-1</sup>.

O solo foi corrigido, aumentando a saturação por bases a 70% com calcário de PRNT de 81,03%, e a adubação nitrogenada foi realizada com aplicação de 100 e 200 kg de N ha<sup>-1</sup> (nas doses de 50 e 100%, respectivamente) na forma de ureia, de acordo com a recomendação para cultura, segundo Edvan e Carneiro (2019). A adubação com fósforo foi feita com aplicação de 25 kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> ha<sup>-1</sup> (usando a fonte superfosfato simples), com base na disponibilidade do elemento na análise química

do solo e recomendação para cultura (Edvan; Carneiro, 2019). As adubações com zinco e cobre foram realizadas de acordo com a recomendação de Malavolta *et al.* (1989) para experimentos em vasos com solo, aplicando-se 5 e 1,5 mg dm<sup>-3</sup>, usando como fonte o ZnSO<sub>4</sub>7H<sub>2</sub>O e CuSO<sub>4</sub>5H<sub>2</sub>O, respectivamente. A irrigação foi efetuada através da pesagem dos vasos elevando a umidade a 60%.

Os cladódios de cada cultivar foram coletados e armazenados, passando pelo período de cura de 15 dias. Após isso, foi feito o plantio, utilizando um cladódio por vaso. Para os tratamentos inoculados, foi aplicado 1,0 mL na base do cladódio do meio TSB contendo cada estirpe de BPCPs, nos respectivos tratamentos. Para o tratamento com inoculante comercial líquido também foi aplicado 1,0 mL por cladódio. Já para o controle sem inoculação, foi adicionado 1,0 mL do meio TSB autoclavado, sem crescimento bacteriano. Durante a condução dos experimentos, foram registrados valores de temperatura do ar máxima (variando de 40.1 a 47.3 °C) e mínima (25.4 a 31 °C) e umidade do ar máxima (variando de 42 a 81%) e mínima (10 a 33%) em ambiente protegido.

### **3.3 Avaliação de parâmetros morfométricos e bioquímicos, produção de biomassa e acúmulo de nitrogênio**

Ao final dos seis meses de cultivo foram realizadas fotografias representativas dos tratamentos em cada cultivar de palma forrageira, onde foi escolhida uma planta por tratamento que fosse visualmente mais parecida com todas as outras do mesmo tratamento (Figura 2). Posteriormente, foram avaliadas quanto à morfometria, onde foram medidas a altura de planta (AP), número (NCP), largura (LCP), comprimento (CCP) e espessura (ECP) de cladódios primários e número (NCS), largura (LCS), comprimento (CCS) e espessura (ECS) dos secundários. Para quantificar a altura e largura da planta foi utilizada uma fita métrica graduada (em cm), com realização da medida na vertical, da base da planta até o ponto mais alto (altura), na horizontal, de um ponto a outro do cladódio que apresentasse maior envergadura (largura) e vertical do cladódio de um ponto a outro (comprimento), enquanto a espessura foi aferida usando um paquímetro digital medido (em mm).

A massa fresca (MFC) e seca (MSC) dos cladódios e massa fresca (MFR) e seca (MSR) das raízes e massa seca total (MST), comprimento das raízes (CR) e a área de cladódios primários (ACP), secundários (ACS) e matriz (AM) foram feitos após as coletas de ambas as cultivares. Inicialmente foi feita a pesagem em gramas (g) para avaliação da massa fresca e, posteriormente, o material foi seco em estufa a 65 °C para avaliação da massa seca. O CR foi mesurado usando uma fita métrica graduada (em cm) e a ACP, ACS e AM foi realizado no medidor de área foliar LI-3100C.

A extração e atividade da enzima nitrato redutase das raízes (NR) foi realizada *in vivo*, onde foi coletado em torno de 300 mg das raízes e transferido o material para tubos de ensaio e adicionado o meio de incubação, em seguida foi fechado e coberto com papel alumínio. Posteriormente, foi dado vácuo por 2 minutos e esse processo se repetiu mais uma vez, após isso foi colocado em banho-maria a 30 °C, por 30 minutos. Ao passo que esperava a reação enzimática proceder, foi pipetado nos tubos de ensaio o tampão fosfato, o extrato de incubação, sulfanilamida 1,0% e o NNEDA 0,02% e em seguida foram deixados em repouso por 15 minutos, após isso foi feito a leitura em espectrofotômetro a 540 nm (Coombs; Hall, 1987; Snell; Snell, 1949).

A mensuração dos teores de nitrato dos cladódios ( $\text{NO}_3\text{-C}$ ) e raízes ( $\text{NO}_3\text{-R}$ ) foram realizadas utilizando 60 mg do pó dos tecidos das plantas liofilizadas em 1,5 mL de água deionizada, onde ficou no banho-maria a 75° por 1 hora. Após isso foi para centrífuga a 3000 rpm a 16° por 10 minutos e, em seguida, foi coletado sobrenadante. Posteriormente, foram adicionados nos tubos o extrato, o ácido salicílico 5% e solução de NaOH 2N e agitados, deixando os mesmos em repouso até alcançarem a temperatura ambiente. Após isso, procederam-se as leituras em espectrofotômetro a 410 nm (Cataldo *et al.*, 1975). A determinação do amônio dos cladódios ( $\text{NH}_4\text{-C}$ ) e raízes ( $\text{NH}_4\text{-R}$ ) foi feita usando o mesmo extrato para o nitrato em ambas as partes das plantas. Foi colocado nos tubos de ensaio o extrato, uma solução A (mistura de fenol e nitroprussiato de sódio) e uma solução B (mistura de NaOH e água sanitária), em seguida foi colocado os tubos em banho-maria a 37 °C, por 20 minutos, depois desse tempo foi deixado em repouso por 45 minutos e após isso, foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 625 nm (Weatherburn, 1967).

Para determinação dos carboidratos solúveis dos cladódios (CSC) foi usado 20 mg do pó dos tecidos das plantas liofilizados em 2 mL de álcool a 80%, onde

ficou no banho-maria a 75° por 1 hora. Posteriormente foi para a centrífuga a 3000 g a 4° por 10 minutos e após isso foi coletado o sobrenadante. Esse processo se repetiu por mais 2 vezes, sendo o tempo no banho-maria reduzido para 30 minutos. Após isso, adicionou-se aos tubos o extrato, o fenol a 5% e ácido sulfúrico concentrado e posteriormente foi feita a leitura em espectrofotômetro a 490 nm (Dubois *et al.*, 1956). A concentração de N-aminossolúveis dos cladódios (NaminoC) e raízes (NaminoR) foi realizada utilizando o mesmo extrato feito para os carboidratos solúveis. Foi colocado o extrato em tubos de ensaio, o tampão citrato 0,2 M, cianeto de potássio (KCN) e ninhidrina 5%, em seguida, agitados e colocados em banho-maria a 93 °C, por 20 minutos. Após esse tempo, foi interrompida a reação colocando os tubos em banho de gelo. Posteriormente, adicionou-se aos tubos o etanol 60% e assim procedeu-se a leitura em espectrofotômetro a 570 nm (Yemm; Cocking, 1955).

Para a determinação das proteínas solúveis dos cladódios (PSC) e raízes (PSR) foram utilizadas 20 mg do pó liofilizado dos tecidos das plantas. Primeiramente, foi realizado a extração das proteínas adicionado 0,1 mL de tampão fosfato pH 7,0 a 50mM e macerado o material por um minuto, depois foi adicionado mais 0,1 mL do tampão e macerado por mais um minuto. Em seguida os extratos foram mantidos em uma caixa com gelo em torno de 1 hora. Após esse tempo, foi centrifugado a 3000 g por 10 minutos a 4 °C e coletado sobrenadante. Posteriormente adicionou-se o extrato diluído e o reagente Bradford e em seguida foram agitados, após 15 minutos foram realizadas as leituras em espectrofotômetro a 595 nm (Bradford, 1976).

A determinação do teor de N nos cladódios (TNC) e nas raízes (TNR) foi realizada a partir dos valores de proteínas solúveis dos tecidos das plantas, onde foi dividido o teor de proteína solúvel das amostras pelo fator 6,25 e a partir disso foi encontrado o teor de N das amostras, conforme Baethgen e Alley (1989). O acúmulo de N dos cladódios (ANC) e das raízes (ANR) foi calculado multiplicando-se a concentração de N pela respectiva massa seca dos cladódios e raízes.

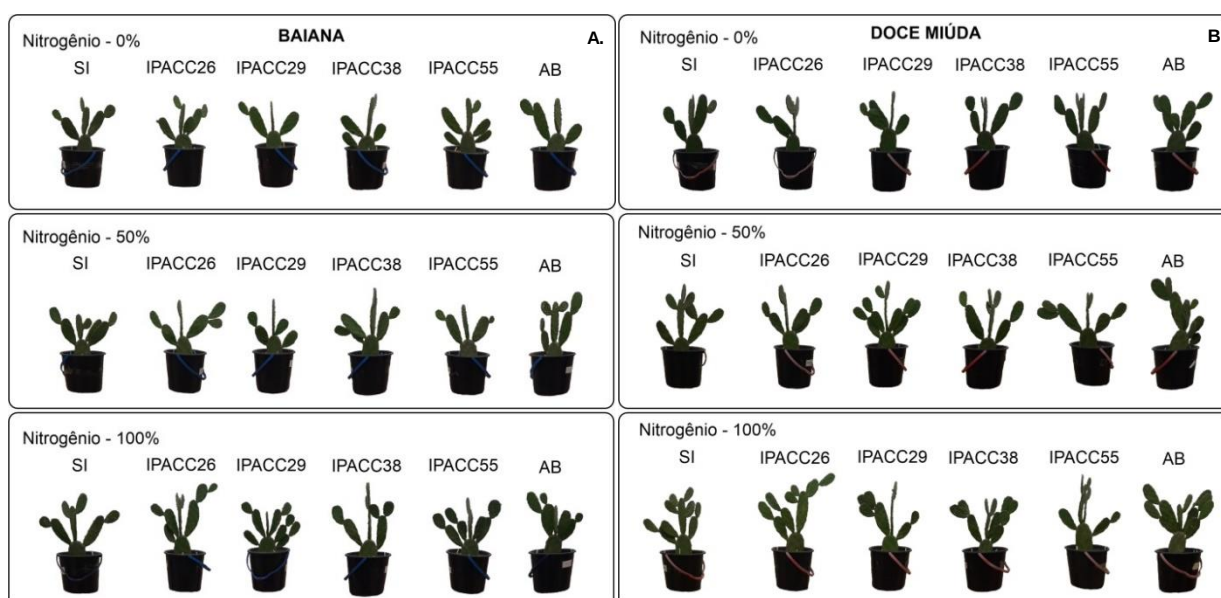
### 3.4 Análise estatística dos dados

Os dados foram avaliados quanto à normalidade pelo teste Shapiro-Wilk e a homogeneidade das variâncias. Verificada a normalidade, os dados foram submetidos à análise de variância ( $p > 0,05$ ), empregando-se o programa de análise estatística Sisvar 5.6 (Ferreira, 2019). As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade e os gráficos foram plotados usando SigmaPlot (versão 14.0). Para as variáveis TNC, ANC, ANR, NR,  $\text{NO}_3\text{-R}$  e NaminoC da cultivar baiana e MFR, TNC, ANC, ANR, NaminoC e PSC da cultivar doce miúda, os dados foram transformados pela raiz quadrada de  $(y+0,5)$ .

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Aspectos visuais das plantas e parâmetros morfométricos

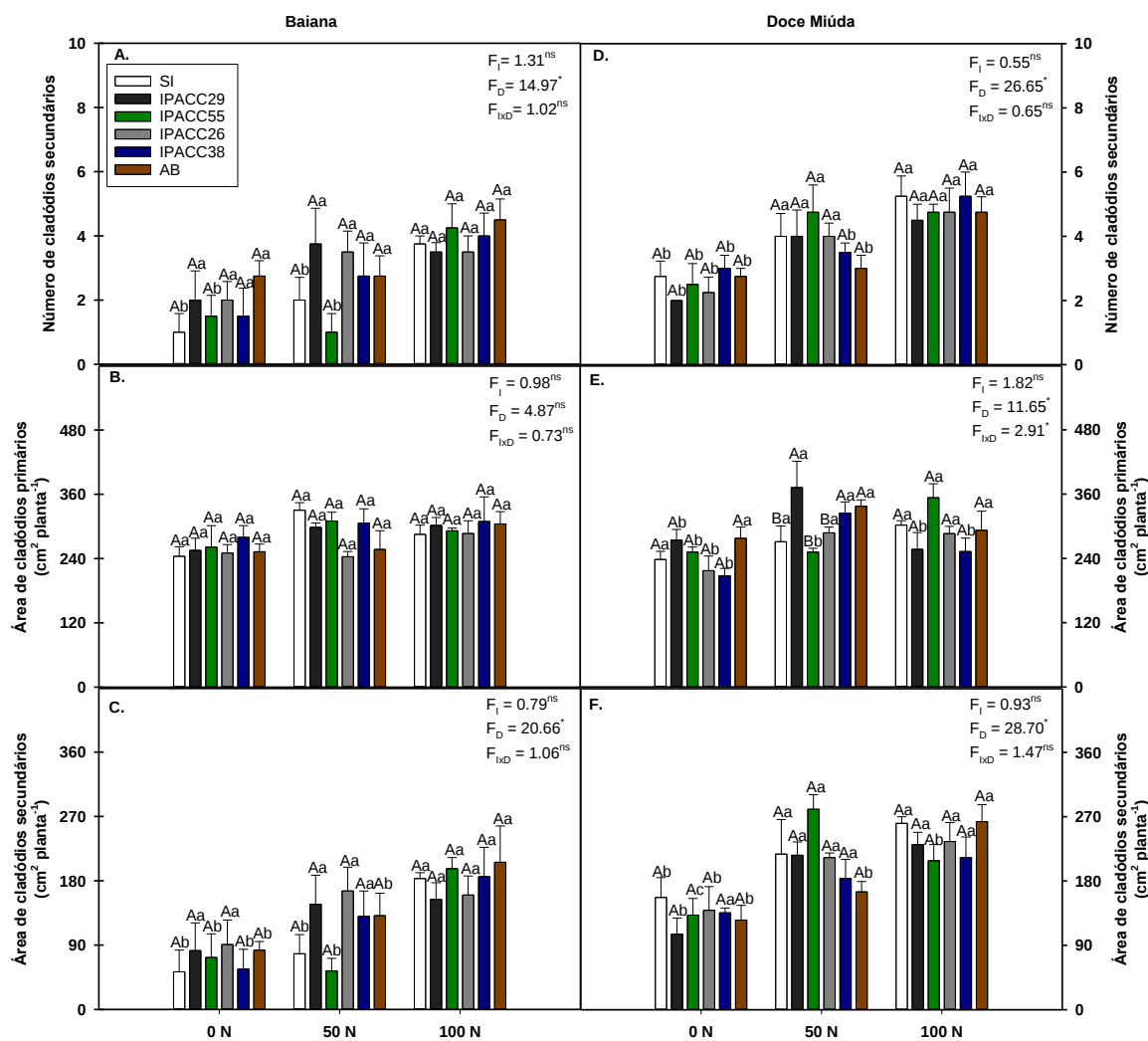
Ao avaliar os aspectos visuais das plantas com aplicação dos diferentes tratamentos, evidencia-se que o crescimento e desenvolvimento da palma forrageira foram mais afetados pelas doses de nitrogênio, enquanto os efeitos dos tratamentos de inoculação foram mais tênues em ambas as cultivares (Figura 1A e B).



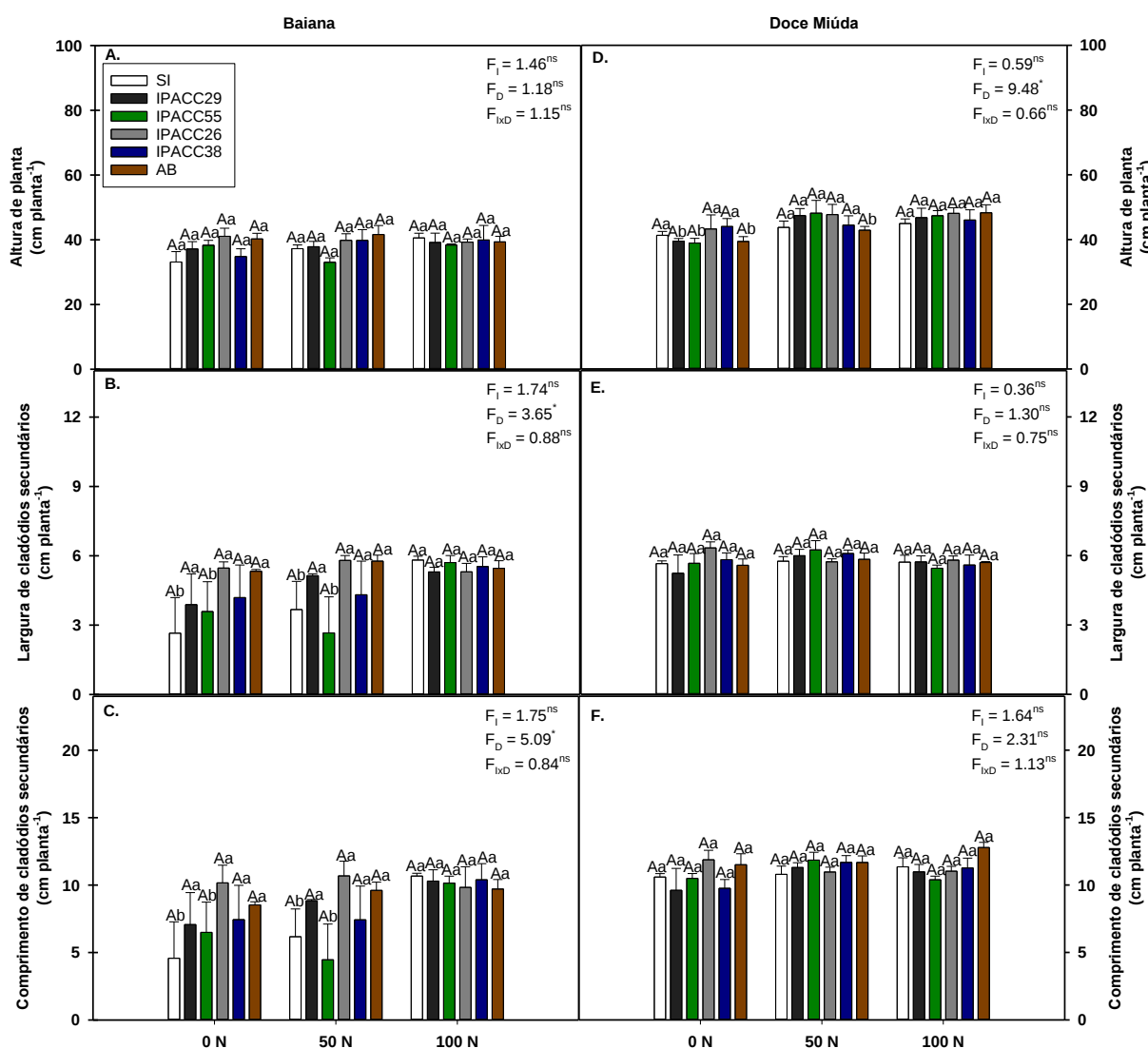
**Figura 1** - Aparência fenotípica de plantas representativas das cultivares baiana (A) e doce miúda (B) de palma forrageira (*Nopalea cochenillifera* Salm Dyck), ao final dos seis meses de cultivo sob inoculação com *Bacillus subtilis* (IPACC29 e IPACC26), *Paenibacillus* sp. (IPACC55 e IPACC38), *Azospirillum brasilense* (AB) e o controle sem inoculação (SI) e três doses de nitrogênio.

Não foi observada interação e nem efeito isolado dos fatores avaliados para as variáveis NCP, LCP, CCP, ECP, ECS, CR e AM de ambas as cultivares (Tabelas S1; S2; S3 e S4). Para a cultivar baiana, houve apenas efeito isolado das doses de N para o NCS, LCS, CCS e ACS (Tabela S1), onde a dose de 100% de N foi superior às demais para os tratamentos SI e IPACC55 (Figura 2A e C; 3B e C). Para a cultivar doce miúda também teve efeito isolado das doses de N para NCS e ACS, além da AP (Tabela S3). Para maioria dos tratamentos de inoculação, as doses

correspondentes a 50 e 100% de N foram estatisticamente iguais entre si e superiores a de 0% (Figura 2D e F; 3D). A única variável morfométrica com interação significativa entre os fatores foi a ACP para essa mesma cultivar (Tabela S3), em que os tratamentos com IPACC29, IPACC38 e AB se sobressaíram na dose de 50% de N em relação às demais inoculações e o controle SI, com valores de 372,28; 324,60 e 337,34  $\text{cm}^2 \text{ planta}^{-1}$ , respectivamente (Figura 2E).



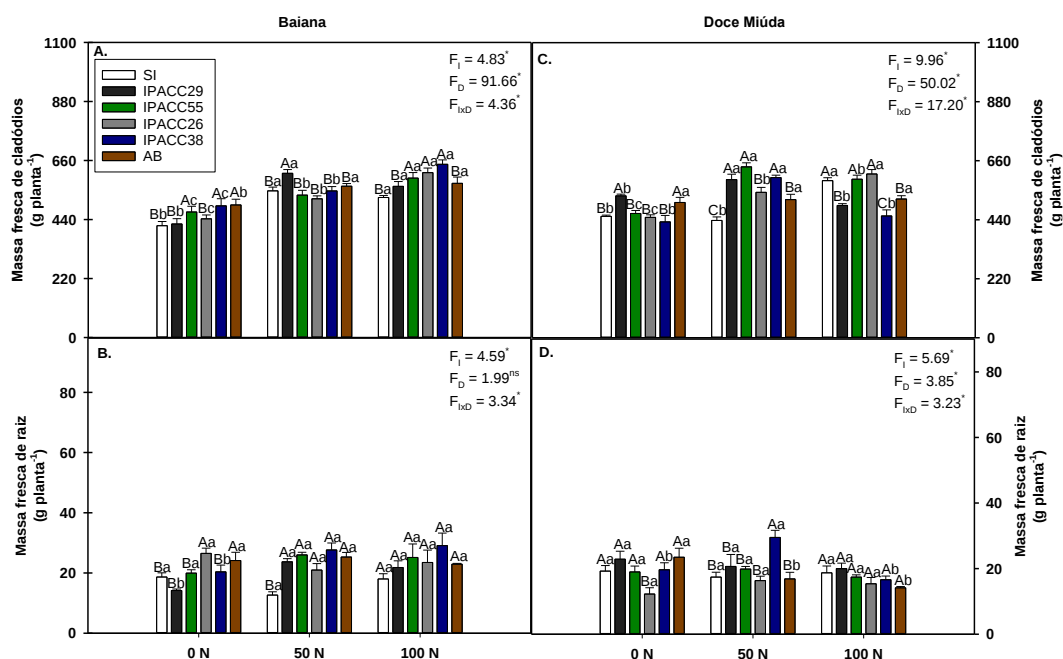
**Figura 2** - Número de cladódios secundários (A, D), área de cladódios primários (B, E) e secundários (C, F) de cultivares de palma forrageira inoculadas com *Bacillus subtilis* (IPACC29 e IPACC26), *Paenibacillus* sp. (IPACC55 e IPACC38), *Azospirillum brasilense* (AB) e o controle sem inoculação (SI) sob doses de nitrogênio. As médias seguidas das mesmas letras minúsculas ou maiúsculas não diferem significativamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância. Letras maiúsculas diferentes indica diferença entre as inoculações dentro da mesma dose de N; letras minúsculas distintas indica diferença entre as doses de N dentro do mesmo tratamento de inoculação. Valores de F da Anova: \* = significativo a 5% de probabilidade; <sup>ns</sup> = não significativo.



**Figura 3** - Altura de planta (A, D), largura (B, E) e comprimento (C, F) de cladódios secundários de cultivares de palma forrageira inoculadas com *Bacillus subtilis* (IPACC29 e IPACC26), *Paenibacillus* sp. (IPACC55 e IPACC38), *Azospirillum brasilense* (AB) e o controle sem inoculação (SI) sob doses de nitrogênio. As médias seguidas das mesmas letras minúsculas ou maiúsculas não diferem significativamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância. Letras maiúsculas diferentes indica diferença entre as inoculações dentro da mesma dose de N; letras minúsculas distintas indica diferença entre as doses de N dentro do mesmo tratamento de inoculação. Valores de F da Anova: \* = significativo a 5% de probabilidade; <sup>ns</sup> = não significativo.

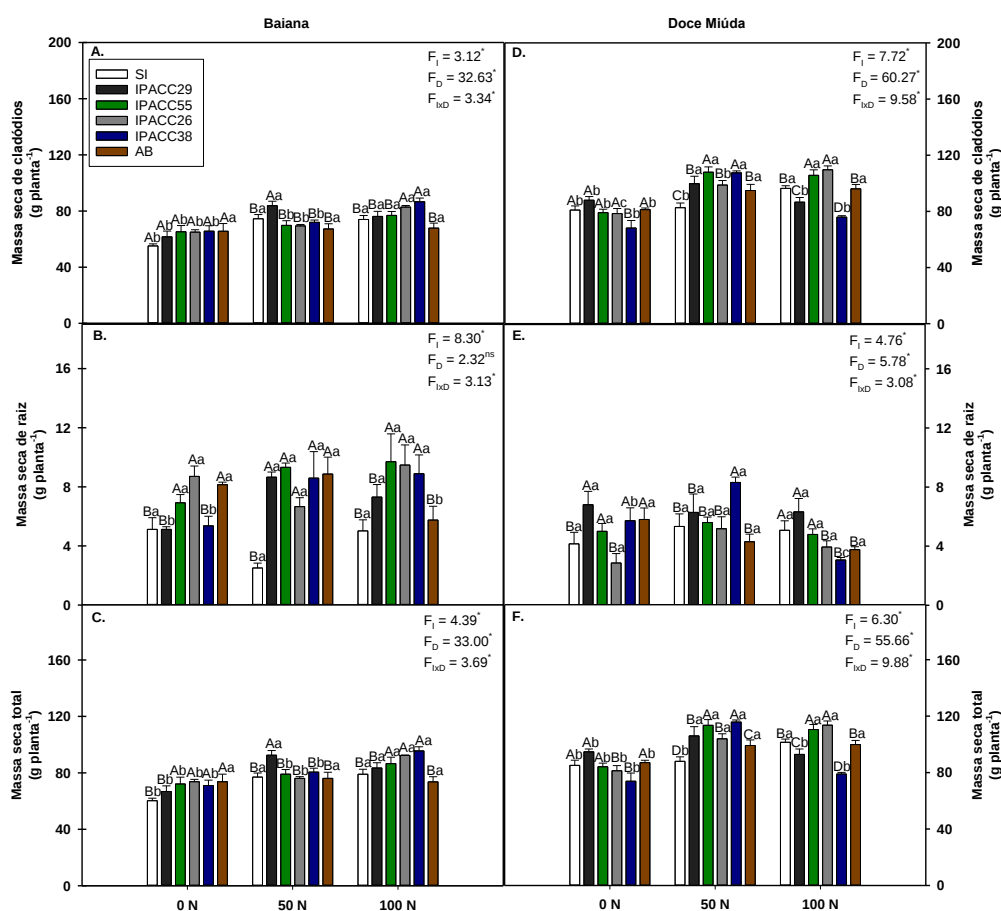
## 4.2 Produção de biomassa

Foi encontrada interação significativa entre os fatores para MFC, MFR, MSC, MSR e MST em ambas as cultivares (Tabelas S2 e S4). De maneira geral, a cultivar baiana apresentou melhores respostas as inoculações do que a cultivar doce miúda em relação aos parâmetros de produção de biomassa (Figuras 4 e 5). Para a cultivar baiana, na dose de 0% de N, as inoculações com IPACC55, IPACC26, IPACC38 e AB promoveram médias de MFC e MST significativamente superiores aos demais tratamentos, exceto para IPACC26 em relação à MFC (Figura 4A e 5C). Já na dose de 50%, a IPACC29 foi superior aos demais tratamentos para MFC, MSC e MST, com valores de 612,19; 83,85 e 92,50 g planta<sup>-1</sup>, respectivamente (Figura 4A; 5A e C). Já os tratamentos IPACC26 e IPACC38 foram superiores aos demais tratamentos na MSC na dose de 100% de N (Figura 5A).



**Figura 4** - Massa fresca de cladódios (A, C) e massa fresca de raiz (B, D) de cultivares de palma forrageira inoculadas com *Bacillus subtilis* (IPACC29 e IPACC26), *Paenibacillus* sp. (IPACC55 e IPACC38), *Azospirillum brasilense* (AB) e o controle sem inoculação (SI) sob doses de nitrogênio. As médias seguidas das mesmas letras minúsculas ou maiúsculas não diferem significativamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância. Letras maiúsculas diferentes indica diferença entre as inoculações dentro da mesma dose de N; letras minúsculas distintas indica diferença entre as doses de N dentro do mesmo tratamento de inoculação. Valores de F da Anova: \* = significativo a 5% de probabilidade; <sup>ns</sup> = não significativo.

Para MFR da cultivar baiana as inoculações com IPACC26 e AB se sobressaíram do restante na dose de 0% de N, com valores de 26,49 e 24,12 g planta<sup>-1</sup>, respectivamente (Figura 4B). Esses mesmos tratamentos, além da inoculação com IPACC55, também resultaram em médias de MSR superiores aos demais tratamentos na dose de 0% de N (Figura 5B). Já na dose de 50% de N, todas as inoculações foram superiores ao controle SI para MFR e MSR (Figura 4B e 5B), enquanto na dose de 100% de N não houve diferença entre os tratamentos para MFR e as inoculações com IPACC55, IPACC26 e IPACC38 se destacaram dos demais tratamentos para MSR (Figura 4B e 5B).

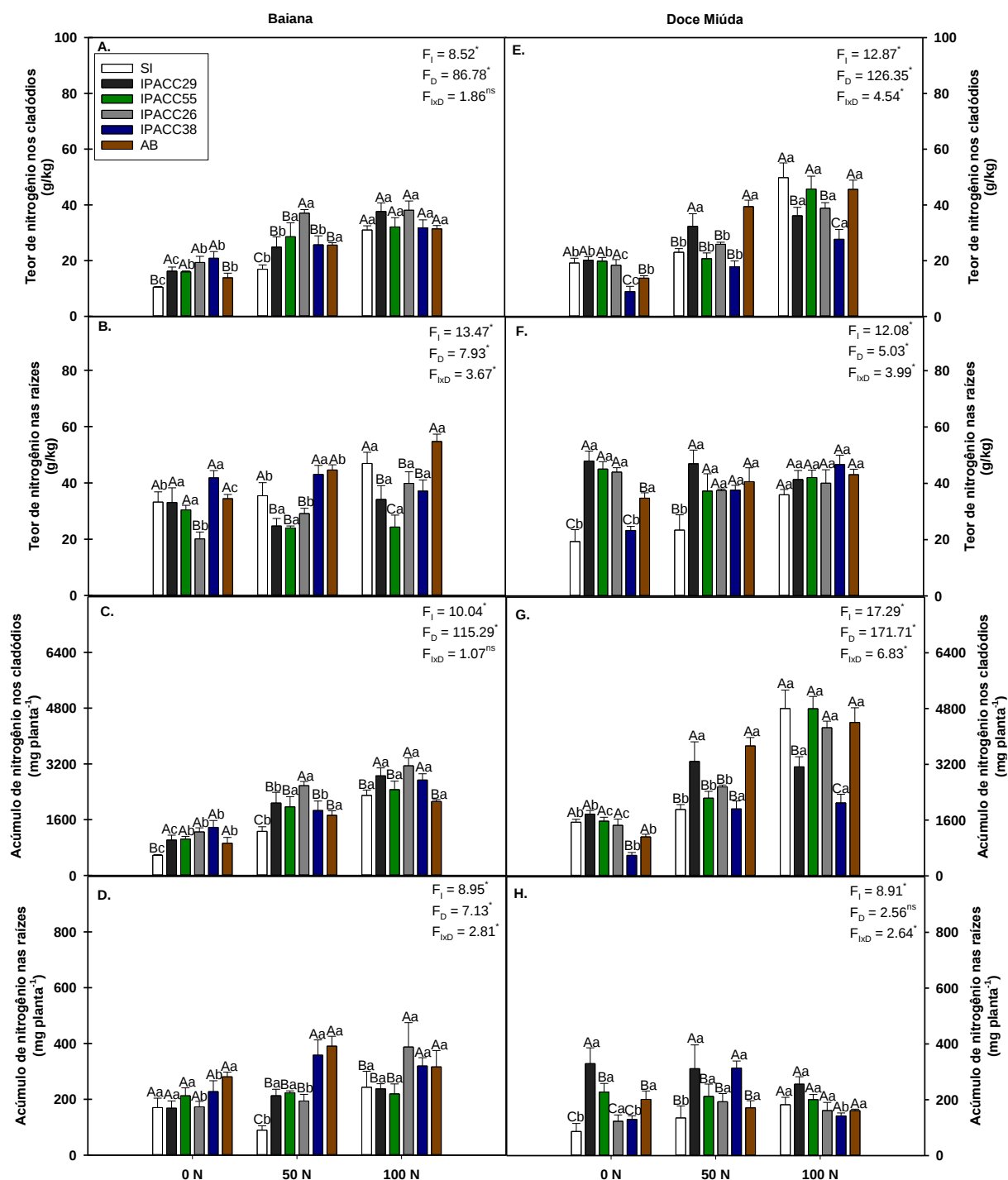


**Figura 5** - Massa seca de cladódios (A, D) massa seca de raiz (B, E) e massa seca total (C, F) de cultivares de palma forrageira inoculadas com *Bacillus subtilis* (IPACC29 e IPACC26), *Paenibacillus* sp. (IPACC55 e IPACC38), *Azospirillum brasilense* (AB) e o controle sem inoculação (SI) sob doses de nitrogênio. As médias seguidas das mesmas letras minúsculas ou maiúsculas não diferem significativamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância. Letras maiúsculas diferentes indica diferença entre as inoculações dentro da mesma dose de N; letras minúsculas distintas indica diferença entre as doses de N dentro do mesmo tratamento de inoculação. Valores de F da Anova: \* = significativo a 5% de probabilidade; <sup>ns</sup> = não significativo.

Para a cultivar doce miúda, não houve respostas positivas das inoculações para MFR, MSC e MST na dose de 0% de N e para MFC, MFR, MSR na dose de 100% de N (Figura 4C e D, 5D, E e F). Já na dose de 50%, a inoculação com a IPACC38 foi superior a todos os outros tratamentos para MFR e MSR (Figura 4D e 5E) e as inoculações com IPACC55 e IPACC38 se sobressaíram dos demais tratamentos nas variáveis MSC e MST (Figura 5D e F). Para MFC, além desses dois tratamentos, a IPACC29 também se destacou na dose de 50% (Figura 4C). Os tratamentos IPACC55 e IPACC26 foram superiores aos demais tratamentos para MSC e MST na dose de 100% de N (Figura 5D e F).

#### 4.3 Teor e acúmulo de nitrogênio nos cladódios e raízes

Foi encontrada interação significativa entre os fatores para as variáveis TNR e ANR e efeito isolado de ambos os fatores para TNC e ANC da cultivar baiana (Tabela S2), enquanto na cultivar doce miúda houve interação significativa entre os fatores para todas essas variáveis (Tabela S4). Quanto ao TNC e ANC da cultivar baiana, nas doses de 0 e 50% de N, todas as inoculações foram superiores ao controle SI, exceto para AB em relação ao TNC na dose de 0% de N (Figura 6A e C). Já para o TNR, não foram verificadas respostas positivas as inoculações em nenhuma das doses de N (Figura 6B) e para o ANR apenas na dose de 0% de N não houve respostas positivas as inoculações (Figura 6D). A estirpe IPACC26 foi superior aos demais tratamentos para o TNC e ANC, com valores de 37,04 g/kg e 2575,19 mg planta<sup>-1</sup>, respectivamente, na dose de 0% de N (Figura 6A e C). Todas as inoculações foram superiores ao controle SI para ANR, na dose de 50% de N (Figura 6D). Já na dose de 100%, a IPACC29, IPACC26 e IPACC38 se sobressaíram dos demais tratamentos para ANC (Figura 6C) e as inoculações com IPACC26, IPACC38 e AB se destacaram dos demais tratamentos para ANR com valores 387,54; 319,66 e 316,21 mg planta<sup>-1</sup>, respectivamente (Figura 6D).



**Figura 6** - Teor de nitrogênio nos cladódios (A, E) e nas raízes (B, F) e acúmulo de nitrogênio nos cladódios (C, G) e nas raízes (D, H) de cultivares de palma forrageira inoculadas com *Bacillus subtilis* (IPACC29 e IPACC26), *Paenibacillus* sp. (IPACC55 e IPACC38), *Azospirillum brasilense* (AB) e o controle sem inoculação (SI) sob doses de nitrogênio. As médias seguidas das mesmas letras minúsculas ou maiúsculas não diferem significativamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância. Letras maiúsculas diferentes indica diferença entre as inoculações dentro da mesma dose de N; letras minúsculas distintas indica diferença entre as doses de N dentro do mesmo tratamento de inoculação. Valores de F da Anova: \* = significativo a 5% de probabilidade; <sup>ns</sup> = não significativo.

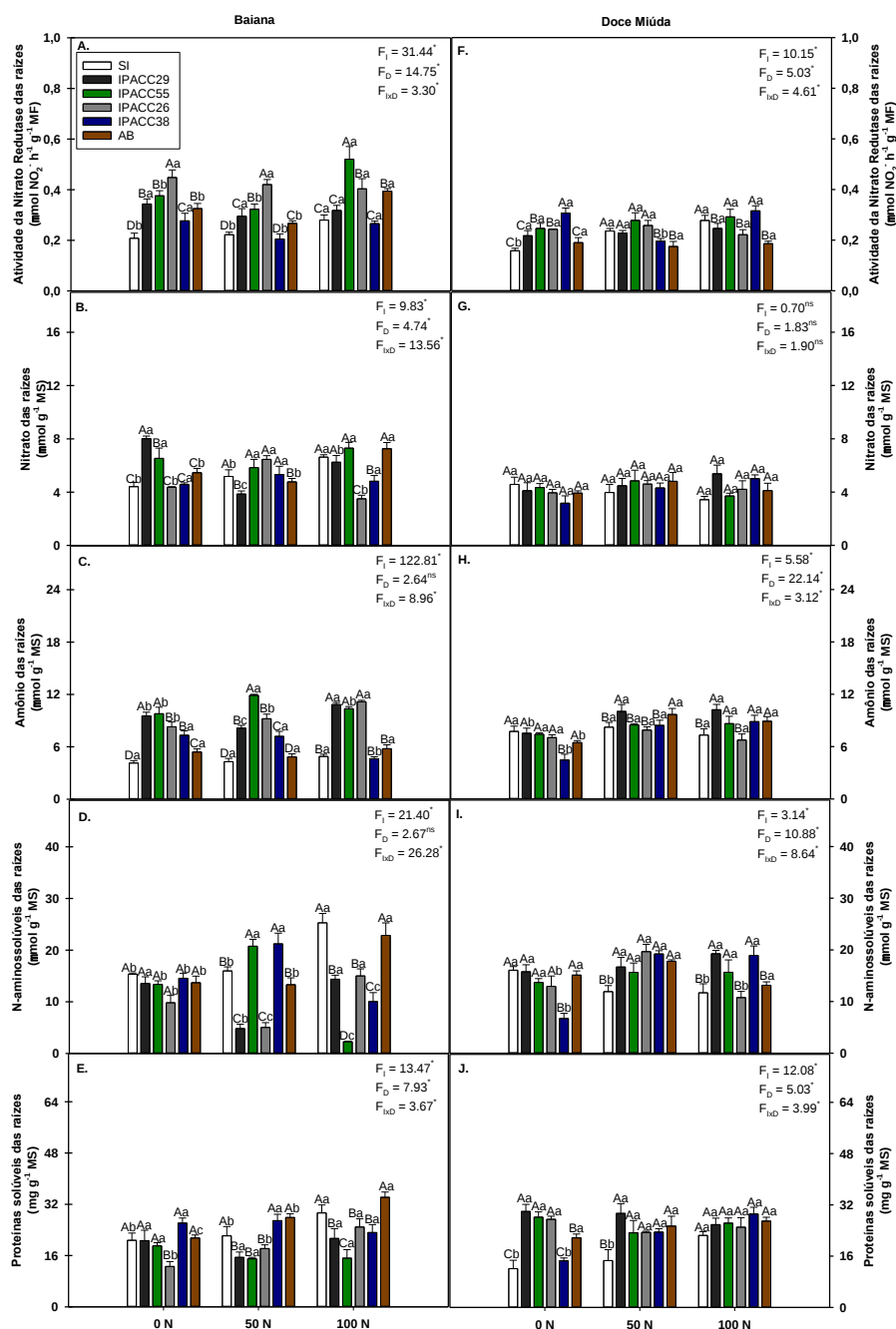
Quanto a cultivar doce miúda, não foram verificadas respostas positivas as inoculações para as variáveis TNC e ANC, nas doses de 0% e 100% de N (Figura 6E e G) e para TNR e ANR na dose de 100% de N (Figura 6F e H). Na dose de 0% de N, todas as inoculações, exceto com a estirpe IPACC38, aumentaram o TNR e as inoculações com IPACC29, IPACC38 e AB promoveram aumentos do ANR, com destaque para a IPACC29 que promoveu média superior aos demais tratamentos (Figura 6F e H). Na dose de 50% de N, duas inoculações (IPACC29 e AB) destacaram-se dos demais tratamentos para TNC e ANC (Figura 6E e G), todas as inoculações foram superiores ao controle para TNR e as inoculações com IPACC29 e IPACC38 se destacaram em relação ao ANR (Figura 6F e H).

#### 4.4 Parâmetros bioquímicos

Foi encontrada interação significativa entre os fatores para todas as variáveis bioquímicas das raízes de ambas as cultivares, exceto para o  $\text{NO}_3^- \text{R}$  da cultivar doce miúda que não apresentou efeito significativo (Tabela S5; S6). Para a cultivar baiana, todas as inoculações, com destaque para a IPACC26, aumentaram a atividade da NR nas doses de 0 e 50% de N, exceto a estirpe IPACC38 na dose de 50% (Figura 7A). Na dose de 100%, as inoculações com IPACC55, IPACC26 e AB apresentaram as maiores médias para a NR com valores de 0,52; 0,40 e 0,39  $\mu\text{mol NO}_2^- \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ MF}$ , de forma respectiva. Para o  $\text{NO}_3^- \text{R}$  houve respostas positivas a inoculação somente na dose de 0% de N, onde as estirpes IPACC29 e IPACC55 se sobressaíram dos demais tratamentos com médias de 8,01 e 6,53  $\mu\text{mol g}^{-1} \text{ MS}$ , respectivamente (Figura 7B).

Já para o  $\text{NH}_4^+ \text{R}$  da cultivar baiana houve respostas semelhantes as observadas para NR, onde a todas as inoculações aumentaram as concentrações relação ao controle SI nas doses de 0 e 50% de N, exceto AB na dose de 50% (Figura 7C). A IPACC55 destacou-se das demais estirpes com valor de  $\text{NH}_4^+ \text{R}$  de 11,89  $\mu\text{mol g}^{-1} \text{ MS}$  na dose de 50%. Essa mesma estirpe, juntamente com IPACC29 e IPACC26, também aumentou as concentrações de  $\text{NH}_4^+ \text{R}$  na dose de 100% de N. Em relação a NaminoR houve aumento das concentrações apenas em resposta as inoculações com IPACC55 e IPACC38 na dose de 50% de N (Figura 7D), enquanto

para PSR não foram verificadas respostas positivas as inoculações em nenhuma das doses de N em relação ao controle (SI) (Figura 7E)



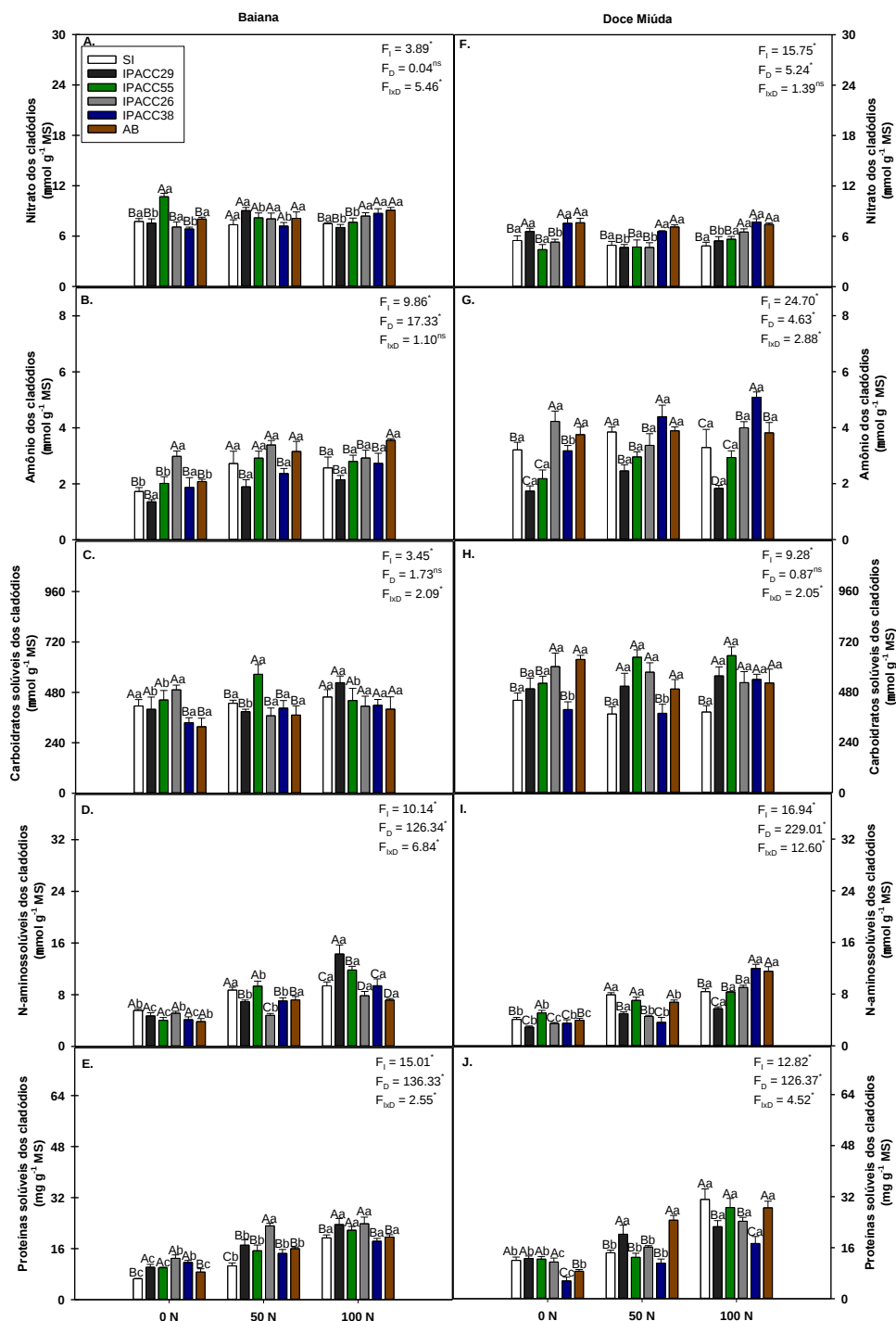
**Figura 7** - Nitrat redutase (A, F), nitrato (B, G), amônio livre (C, H), n-aminossolúvel (D, I) e proteínas solúveis (E, J) das raízes de cultivares de palma forrageira inoculadas com *Bacillus subtilis* (IPACC29 e IPACC26), *Paenibacillus* sp. (IPACC55 e IPACC38), *Azospirillum brasilense* (AB) e o controle sem inoculação (SI) sob doses de nitrogênio. As médias seguidas das mesmas letras minúsculas ou maiúsculas não diferem significativamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância. Letras maiúsculas diferentes indica diferença entre as inoculações dentro da mesma dose de N; letras minúsculas distintas indica diferença entre as doses de N dentro do mesmo tratamento de inoculação. Valores de F da Anova: \* = significativo a 5% de probabilidade; <sup>ns</sup> = não significativo.

De modo geral na cultivar doce miúda houve uma resposta diferenciada em relação a cultivar baiana sobre a regulação dos parâmetros bioquímicos avaliados nas raízes. Para atividade da NR na cultivar doce miúda houveram respostas positivas a inoculações somente na dose de 0%, onde as estirpes IPACC55, IPACC26 e IPACC38 apresentaram as maiores médias, com destaque para IPACC38 com média de  $0,30 \mu\text{mol NO}_2^- \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ MF}$  (Figura 7F). Para  $\text{NH}_4^+\text{R}$  e NaminoR foram observadas repostas parecidas, havendo respostas a inoculações somente nas doses de 50 e 100% de N (Figura 7H e I). Na dose de 50% de N, as estirpes IPACC29 e AB foram superiores aos demais tratamentos para  $\text{NH}_4^+\text{R}$  (Figura 7H) e todas as inoculações aumentaram NaminoR em relação ao controle SI (Figura 7I). Já na dose de 100%, as estirpes IPACC29, IPACC55, IPACC38 e AB promoveram médias de  $\text{NH}_4^+\text{R}$  e NaminoR significativamente superiores aos demais tratamentos, exceto para AB em relação à NaminoR (Figura 7H e I). Em relação à PSR, todas as inoculações foram superiores ao controle SI nas doses de 0 e 50% de N, exceto a estirpe IPACC38 na dose de 0%, enquanto na dose de 100% não houve diferenças entre os tratamentos (Figura 7J).

Foi encontrada interação significativa para as todas as variáveis bioquímicas dos cladódios, exceto  $\text{NH}_4^+\text{C}$  que teve apenas efeito isolado de ambos os fatores na cultivar baiana, enquanto na cultivar doce miúda, houve interação significativa para todas as variáveis, exceto  $\text{NO}_3^-\text{C}$ , que apresentou efeito isolado de ambos os fatores (Tabela S5; S6). Para a cultivar baiana, houve aumento das concentrações de  $\text{NO}_3^-\text{C}$  e  $\text{NH}_4^+\text{C}$  em relação ao controle (SI) nas doses 0 e 100% (Figura 8A e B). Na dose de 0%, a estirpe IPACC55 foi superior aos demais tratamentos para  $\text{NO}_3^-\text{C}$  com média de  $10,69 \mu\text{mol g}^{-1} \text{ MS}$ , já para  $\text{NH}_4^+\text{C}$  a estirpe com maior destaque foi a IPACC26. Na dose de 100%, as estirpes IPACC26, IPACC38 e AB se sobressaíram dos demais para o  $\text{NO}_3^-\text{C}$  e somente o AB foi superior para  $\text{NH}_4^+\text{C}$ . Já para CSC foi observado aumento do teor em relação ao controle (SI) apenas na dose de 50% de N no tratamento inoculado com a estirpe IPACC55, com valor de  $566,41 \mu\text{mol g}^{-1} \text{ MS}$  (Figura 8C). Para NaminoC, as estirpes IPACC29 e IPACC55 e IPACC26 exibiram maiores médias em relação aos demais tratamentos na dose de 100%, enquanto para as demais doses não houve respostas positivas as inoculações (Figura 8D). Em relação a PSC todas as inoculações foram superiores ao controle (SI) nas doses de 0 e 50%, exceto AB na dose de 0% (Figura 8E), com destaque para IPACC26, na

dose de 50%, com média de 23,15 mg g<sup>-1</sup> MS (Figura 8E). Na dose de 100%, as estirpes IPACC29, IPACC55 e IPACC26 exibiram maiores médias de PSC.

Na cultivar doce miúda, houve aumentos das concentrações para NO<sub>3</sub><sup>-</sup>C e CSC em relação ao controle (SI) nas três doses de N (Figura 8F e H). Na dose de 0% de N, as inoculações com IPACC29, IPACC38 e AB exibiram maiores médias para o NO<sub>3</sub><sup>-</sup>C, enquanto para CSC as estirpes com maior destaque foram IPACC26 e AB. Na dose de 50% de N, as inoculações com IPACC38 e AB se sobressaíram sobre os demais para o NO<sub>3</sub><sup>-</sup>C com média de 6,58 e 7,11 µmol g<sup>-1</sup> MS, de forma respectiva, já para CSC, todas as inoculações, exceto a estirpe IPACC38, foram superiores ao controle (SI) (Figura 8F e H). Para NH<sub>4</sub><sup>+</sup>C e NaminoC, os aumentos das concentrações em relação ao controle (SI) foram obtidos nas doses de 0 e 100% (Figura 8G e I). Na dose de 0%, as estirpes IPACC26 e AB foram superiores aos demais tratamentos em relação ao NH<sub>4</sub><sup>+</sup>C e IPACC55 foi que a proporcionou maior média par NaminoC. Na dose de 100%, as estirpes IPACC26, IPACC38 e AB apresentaram as maiores médias em relação aos demais tratamentos para NH<sub>4</sub><sup>+</sup>C e NaminoC, exceto IPACC26 para NaminoC. Para PSC houve resposta positiva a inoculação apenas na dose de 50 % (Figura 8J), onde IPACC29 e AB destacaram-se das demais inoculações, com valores de 20,22 e 24,62 mg g<sup>-1</sup> MS, respectivamente.



**Figura 8** - Nitrato (A, F), amônia livre (B, G), carboidratos solúveis (C, H), n-aminossolúvel (D, I) e proteínas solúveis (E, J) dos cladódios de cultivares de palma forrageira inoculadas com *Bacillus subtilis* (IPACC29 e IPACC26), *Paenibacillus* sp. (IPACC55 e IPACC38), *Azospirillum brasilense* (AB) e o controle sem inoculação (SI) sob doses de nitrogênio. As médias seguidas das mesmas letras minúsculas ou maiúsculas não diferem significativamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância. Letras maiúsculas diferentes indica diferença entre as inoculações dentro da mesma dose de N; letras minúsculas distintas indica diferença entre as doses de N dentro do mesmo tratamento de inoculação. Valores de F da Anova: \* = significativo a 5% de probabilidade; <sup>ns</sup> = não significativo.

## 5 DISCUSSÃO

Nesse estudo, foram testadas duas estirpes de *Bacillus subtilis* (IPACC29 e IPACC26) e duas estirpes de *Paenibacillus* sp. (IPACC55 e IPACC38), um inoculante líquido comercial contendo estirpes de *Azospirillum brasilense* (AbV5+AbV6) associado a três doses de N (0, 50 e 100% da dose recomendada para aplicação na cultura) em duas cultivares de palma forrageira (baiana e doce miúda). De acordo com a hipótese, as bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCPs) foram eficientes em favorecer o crescimento e o metabolismo do nitrogênio de cultivares de palma forrageira (*Nopalea cochenillifera*) em solo de região semiárida. A inoculação com BPCPs é uma importante estratégia tecnológica sustentável para contribuir com a nutrição, desenvolvimento e produtividade dessa forrageira, além de reduzir o uso de fertilizantes nitrogenados.

As estirpes de *Bacillus* e *Paenibacillus* selecionadas para esse estudo foram caracterizadas previamente quanto a sua capacidade de atuar na produção de ácido indol-3-acético e fixação de N<sub>2</sub> em vida livre (Aquino *et al.*, 2019; 2021). Embora essas estirpes tenham sido isoladas de cana-de-açúcar, sua eficiência na promoção do crescimento vegetal já foi comprovada em experimentos conduzidos com milho e sorgo em condições de casa de vegetação (Aquino *et al.*, 2019; 2021) e campo (Aquino *et al.*, 2022). As estirpes de *Azospirillum* do inoculante comercial também já foram caracterizadas quanto à atuação em diferentes processos (HUNGRIA *et al.*, 2010) e promoção do crescimento de diferentes culturas (Hungria *et al.*, 2010; 2016; Fukami *et al.*, 2016).

As inoculações com estirpes de BPCPs aqui testadas não influenciaram os parâmetros morfométricos de ambas as cultivares de palma forrageira, exceto para a ACP na cultivar doce miúda (Figura 2E). Por outro lado, as doses de N influenciaram alguns desses parâmetros tanto na cultivar baiana (NCS, LCS, CCS e ACS), quanto na cultivar doce miúda (AP, NCS e ACS) (Figuras 2 e 3). Para o NCS e ACS de ambas as cultivares e AP da cultivar doce miúda, as doses correspondentes a 50 e 100% de N proporcionaram incrementos dos cladódios e altura de plantas quando comparado à dose de 0% (Figuras 2 e 3). Além disso, a dose de 100% de N aumentou a LCS e o CCS da cultivar baiana. Embora alguns atributos morfométricos sejam mais influenciados por fatores ambientais ou controlados geneticamente (Liu

*et al.*, 2023b), aqui foi observado efeito positivo da fertilização nitrogenada sobre esses atributos. Além de ser constituinte da molécula de clorofila, aminoácidos e proteínas, o N amplia a assimilação e o emprego de alguns nutrientes, ao passo que estimula o desenvolvimento e crescimento vegetal, e em decorrência, está entrelaçado em quase todos os processos metabólicos da planta (Subedi *et al.*, 2023; Liu *et al.*, 2023c). Com isso, a fertilização com esse nutriente possibilita a emissão de novos cladódios e aumento da área foliar, altura de plantas, largura e comprimento de cladódios.

Em geral, todas as BPCPs aumentaram o crescimento das cultivares de palma forrageira, entretanto há diferenças entre as BPCPs nas respostas dos vegetais tanto na presença como na ausência de N. Quando as plantas foram cultivadas na dose de 50% de N, evidenciou-se o potencial da estirpe IPACC29 no aumento da massa fresca (MFC) e seca (MSC) de cladódios e massa seca total (MST) da cultivar baiana (Figuras 4 e 5). Por outro lado, a estirpe IPACC38 esteve entre os melhores tratamentos aplicados na cultivar doce miúda para MFC, MSC e MST e destacou-se das demais inoculações para MFR e MSR (Figuras 4 e 5). As BPCPs usadas no nosso estudo produzem o ácido indol-3-acético (AIA), um fitohormônio que age dentro das células das plantas, atuando na divisão e diferenciação celular e na regulação de genes, aperfeiçoando a arquitetura do sistema radicular, instigando o desenvolvimento das raízes e o número de pelos radiculares, atribuindo ao vegetal, maior competência de assimilação de água e nutrientes do solo, com isso proporcionando o crescimento das plantas e acúmulo de biomassa (Khan *et al.*, 2023; Wang *et al.*, 2022b; Zuluaga *et al.*, 2021).

Apesar das respostas diferenciadas, dependendo da dose de N e/ou da cultivar, todas as inoculações proporcionaram melhoria da nutrição nitrogenada da palma forrageira (Figura 6). O aumento do teor e/ou acúmulo de N dos cladódios e nas raízes das plantas inoculadas pode estar ligado ao incremento de quantidades expressivas de nitrogênio simbiótico em relação com as plantas de controle (SI). Esta melhoria na nutrição procede de um maior abastecimento de N por meio da FBN, bem como da entrada de N mineral. Desse modo, quando há uma grande assimilação desse nutriente, ocorre incremento na produção de clorofila, amplia a taxa fotossintética e, por conseguinte incrementa a produção de fotoassimilados (Lobato-Ureche *et al.*, 2023). Nosso estudo demonstra a eficiência das estirpes na FBN e/ou na ampliação da absorção desse elemento, especialmente em condições

de falta ou baixa disponibilidade de N, conforme observado também em estudo prévio (Aquino *et al.*, 2021). Entre as estirpes avaliadas, na dose de 50% de N, merece destaque a estirpe IPACC29, a qual esteve entre os melhores tratamentos para todos os parâmetros de N da cultivar doce miúda, enquanto a IPACC26 foi a mais eficiente em relação ao TNC e ANC da cultivar baiana (Figura 6). Estudos prévios apontaram que a inoculação com a estirpe IPACC26 resultou em aumento no acúmulo de N em milho e sorgo (Aquino *et al.*, 2019).

De maneira geral, as inoculações com BPCPs proporcionaram uma regulação diferenciada no metabolismo do nitrogênio nas raízes e cladódios de ambas as cultivares, nas diferentes doses de N (Figura 7 e 8). Na cultivar baiana, por exemplo, houve aumento da atividade da NR nas raízes em resposta a inoculação em todas as doses de N, enquanto na cultivar doce miúda houve aumento da atividade da NR de tratamentos inoculados somente na dose 0%, mostrando claramente uma regulação diferenciada entre essas cultivares (Figura 7). Observa-se que, na cultivar baiana, as maiores concentração de nitrato e amônio nas raízes, na dose 0% de N, foi associado com a maior atividade da NR para algumas inoculações (IPACC29 e IPACC55). Já na cultivar doce miúda, na dose de 0%, embora algumas inoculações tenham aumentado a atividade da NR, não houve associação com os maiores teores de nitrato e amônio, mas resultou nos maiores teores de proteínas com as inoculações das estirpes (IPACC55 e IPACC26).

A enzima nitrato redutase atua na etapa inicial do processo de assimilação do N, sendo responsável pela conversão do nitrato a nitrito, o qual será convertido a amônia, pela ação da enzima nitrito redutase, e, posteriormente, a amônia será fixada, via glutamato sintase/glutamina sintase (GS/GOGAT), a esqueletos carbônicos para formação de compostos orgânicos (aminoácidos, proteínas etc.). Desse modo, uma alta atividade dessa enzima pode apontar uma alta taxa de absorção de N no decorrer do período (Dos Santos *et al.*, 2017). Geralmente os vegetais que têm maior preferência por absorver o N na forma de nitrato apresentam atividades da nitrato redutase mais altas, entretanto, vegetais que tem maior preferência por amônio tem atividades mais reduzidas dessa enzima, principalmente no sistema radicular (Fu *et al.*, 2020). No nosso estudo, verificou-se que a cultivar baiana parece apresentar uma maior preferência por nitrato que a cultivar doce miúda, resultando na maior atividade do nitrato redutase em suas raízes.

Para os parâmetros bioquímicos nos cladódios, de modo geral, houve uma menor variação das respostas entre as cultivares comparado as respostas observadas para as raízes. Por exemplo, o teor de nitrato e amônio nos cladódios foi aumentado em respostas a inoculações em ambas cultivares na dose de 0 e 100% de N (Figura 8). Para a cultivar baiana, a estirpe IPACC55 foi a mais eficiente em aumentar o teor de nitrato nos cladódios e uma das estirpes que se destacou também no teor de nitrato na raiz na dose de 0% (Figuras 7 e 8). Para a cultivar doce miúda, observou-se efeito positivo das inoculações com IPACC38 e AB em todas as doses de N. O nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) é bastante móvel e com facilidade fígado por vegetais e microrganismos e as BPCPs podem favorecer a absorção de  $\text{NO}_3^-$ -N pelos vegetais para satisfazer às exigências de desenvolvimento (JU *et al.*, 2022). Entretanto, o baixo acúmulo de  $\text{NO}_3^-$  observados em alguns tratamentos neste estudo pode estar relacionado ao incremento da atividade da enzima nitrato redutase, que reduz o nitrato a nitrito no citosol, diminuindo assim sua disponibilidade (Oliveira *et al.*, 2023).

De modo geral, as inoculações com BPCPs regularam de maneira diferenciada os teores de amônio nas raízes e cladódios, principalmente na cultivar baiana, onde nas raízes observou-se aumentos das concentrações em todas as doses de N na maioria dos tratamentos inoculados, enquanto nos cladódios apenas as inoculações com IPACC26 e AB aumentaram os teores de amônio nas doses de 0 e 100% de N, respectivamente (Figura 7 e 8). Verificou-se ainda, que as inoculações com IPACC26 e AB também foram as mais eficientes em aumentar os teores de amônio nos cladódios da cultivar doce miúda na dose de 0% de N. BPCPs podem expelir amônio em ambientes intracelular do sistema radicular, incrementando, por conseguinte a acessibilidade desse íon nas raízes (Machado *et al.*, 1998). Por outro lado, maiores teores de amônio nos tratamentos inoculados podem estar associados a maiores taxas de fixação de  $\text{N}_2$  e/ou maior atividade da via de absorção de amônio (Carvalho *et al.*, 2014).

O aumento das concentrações de N-aminossolúveis nas raízes ou cladódios em resposta a algumas inoculações nas duas cultivares nas doses de 50 e 100% de N (Figura 7 e 8) indica que a ausência de N mineral pode refletir em uma redução da maior parte dos aminoácidos, conforme relatado em diversas espécies de vegetais (Collado-González *et al.*, 2023). Entretanto, observou-se que a estirpe IPACC55 promoveu incrementos do teor de NaminoC da cultivar doce miúda na dose de 0%,

indicando a eficiência dessa estirpe na fixação de N<sub>2</sub> e acumulação de N-aminossolúveis em ambientes sem N mineral. Em ambas as cultivares, a estirpe IPACC55 também mostrou potencial para aumentar os teores de N-aminossolúveis nas raízes (Figuras 7).

A cultivar doce miúda se mostrou mais responsiva a inoculação com BPCPs que a cultivar baiana em relação aos carboidratos solúveis nos cladódios (Figura 8). Para a cultivar baiana, a única estirpe que teve influência positiva em incrementar o teor de carboidratos solúveis foi IPACC55, e apenas na dose de 50% de N, enquanto para a doce miúda, houve respostas positivas a inoculações em todas as doses de N, onde, a IPACC26 esteve entre os melhores tratamentos nas diferentes dose. A IPACC55, IPACC29 e AB também foram eficientes em aumentar os teores de carboidratos solúveis da cultivar doce miúda nas doses de 50 e 100% de N. A regulação do acúmulo de carboidratos pode ser consequência de uma cadeia formadora de adaptações metabólicas influenciadas pelo fator inoculação, induzindo a um maior desenvolvimento e produtividade dos vegetais (Rocha *et al.*, 2023).

Foi observada uma grande variação na regulação dos teores de proteína solúvel nas raízes e cladódios dependendo da cultivar de palma forrageira nos diferentes tratamentos de inoculação e doses de N (Figura 7 e 8). Na cultivar baiana, não foram observadas respostas positivas as inoculações para o aumento dos teores de proteínas nas raízes em nenhuma dose de N, enquanto nos cladódios observou-se que as estirpes IPACC26, IPACC29 e IPACC55 foram eficientes no incremento dos teores de proteínas em todas as doses. Para a cultivar doce miúda, verificou-se aumento dos teores de proteínas em respostas a inoculações somente nas doses 0 e 50% de N nas raízes e na dose de 50% nos cladódios, sendo a estirpe IPACC29 e AB eficientes em incrementar os teores de proteínas solúveis tanto nas raízes como nos cladódios.

Proteínas e açúcares são solutos orgânicos que não perturbam no metabolismo das células ainda que em grandes teores, entretanto ajustam a regulação osmótica da solução no citoplasma e vacúolo (Karimi; Noori, 2022). Além disso, o aumento dos teores de proteínas nas forragens é importante para a melhoria da nutrição animal, pois a palma forrageira possui baixo teor de proteína bruta (Macêdo *et al.*, 2020). Assim, o aumento de proteínas resultaria em um maior ganho no desempenho animal.

Embora a palma forrageira seja considerada uma espécie rústica adaptada às regiões semiáridas, a implementação de práticas agrícolas modernas pode aumentar sua produção de biomassa e melhorar sua nutrição e metabolismo de forma sustentável, de acordo com os resultados do presente estudo. As diferentes respostas das duas cultivares de palma forrageira à inoculação de BPCPs observadas neste estudo indica que o genótipo do vegetal desempenha um papel significativo na colonização e desempenho desses microrganismos, o que pode estar ligado à associação rizosfera/bactéria. Os efeitos benéficos desses microrganismos têm sido muito pesquisados; todavia, sua influência mútua com distintos genótipos de palma forrageira ainda precisa ser mais estudada, como também as causas que afetam esta interação, especialmente em regiões semiáridas, onde a palma forrageira é adaptada e representa excelente recurso forrageiro. Estudos futuros são imprescindíveis visando à seleção de estirpes que possam contribuir para seu crescimento e nutrição.

## 6 CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou claramente o potencial de bactérias promotoras de crescimento de plantas dos gêneros *Azospirillum*, *Bacillus* e *Paenibacillus* associadas a diferentes níveis de nitrogênio em influenciar de forma positiva o crescimento e metabolismo de cultivares de palma forrageira em região semiárida. As estirpes IPACC26, IPACC29 e IPACC55 apresentam potencial para serem usados como inoculantes na cultura da palma forrageira. Futuros estudos são necessários para validar a eficiência dessas bactérias na promoção do crescimento e metabolismo das cultivares de palma forrageira em diferentes condições de campo, visando o manejo sustentável dessa cultura.

## REFERÊNCIAS

- AGOSTINI-COSTA, T. S. Genetic and environment effects on bioactive compounds of *Opuntia* cacti – A review. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 109, p. 104514, 2022.
- AHEMAD, M.; KIBRET, M. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. **Journal of King Saud University Science**, v. 26, n.1, p. 1-20, 2014.
- AHEMAD, M.; ISHFAQ, M.; ALI, G. Genetic engineering for enhanced biological nitrogen fixation in cereal crops. **Trends in Biotechnology**, v. 41, p. 473-475, 2023.
- ALBUQUERQUE, F. M. S.; ALMEIDA, W. A.; FERREIRA, E. C. B.; NASCIMENTO, D. V.; NOVA, I. C. V.; CRUZ, G. S.; TEIXEIRA, A. A. C.; TEIXEIRA, V. W.; PAIVA, P. M. G.; NAPOLEÃO, T. H.; BARROS, R.; PONTUAL, E. V. *Opuntia ficus-indica* cladode extract is a phagostimulant agent that impairs the morphophysiology of midgut of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) caterpillars. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 26, n. 4, p. 102154, 2023.
- ANTUNES, J. E. L.; LYRA, M. C. C. P.; OLLERO, F. J.; FREITAS, A. D. S.; OLIVEIRA, L. M. S.; ARAÚJO, A. S. F.; FIGUEIREDO, M. V. B. Diversity of plant growthpromoting bacteria associated with sugarcane. **Genetics and Molecular Research**, v. 16, n. 2, gmr16029662, 2017.
- AQUINO, J. P. A.; ANTUNES, J. E. L.; BONIFÁCIO, A.; ROCHA, S. M. B.; AMORIM, M. R.; NETO, F. A.; ARAUJO, A. S. F. Plant growth-promoting bacteria improve growth and nitrogen metabolism in maize and sorghum. **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, v. 33, p. 249-260, 2021.
- AQUINO, J. P. A.; JUNIOR, F. B. M.; ANTUNES, J. E. L.; FIGUEIREDO, M. V. B.; NETO, F. A.; ARAUJO, A. S. F. Plant growth-promoting endophytic bacteria on maize and sorghum. **Pesquisa Agropecuaria Tropical**, v. 49, p. e56241, 2019.
- AQUINO, J. P. A.; NETO, V. P. C.; ANDRADE, M. R. S.; OLIVEIRA, L. M. S.; ANTUNES, J. E. L.; FREITAS, A. D. S.; NETO, F. A.; ARAUJO, A. S. F. Plant growth-promoting bacteria increase the yield of green maize and sweet sorghum. **Journal of Plant Nutrition**, v. 46, n. 1, p. 58-68, 2022.
- ARAÚJO, A. S. F.; COSTA, R. M.; COSTA, M. K. L.; AVIZ, R. O.; ROCHA, S. M. B.; MELO, V. M. M.; OLIVEIRA, F. A. S.; LOPES, A. C. A.; ALCANTARA NETO, F.; MEDEIROS, E. V.; COSTA, E. M.; MENDES, L. W.; PEREIRA, A. P. A. The process of domestication shapes the plant growth-promoting bacteria community in the rhizosphere of lima bean (*Phaseolus lunatus*). **Rhizosphere**, v. 28, p. 100810, 2023.
- ARFAOUI, A.; ADAM, L. R.; BEZZAHOU, A.; DAAYF, F. Isolation and identification of cultivated bacteria associated with soybeans and their biocontrol activity against *Phytophthora sojae*. **BioControl**, v. 63, p. 607-617, 2018.

ASILOGLU, R.; SHIROISHI, K.; SUZUKI, K.; TURGAY, O. C.; MURASE, J.; HARADA, N. Protist-enhanced survival of a plant growth promoting rhizobacteria, *Azospirillum* sp. B510, and the growth of rice (*Oryza sativa* L.) plants. **Applied Soil Ecology**, v. 154, p. 103599, 2020.

BAETHGEN, W. E.; ALLEY, M. M. A manual colorimetric procedure for measuring ammonium nitrogen in soil and plant Kjeldahl digest. **Community Soil Science and Plant Anals**, v. 20, p. 961-969, 1989.

BARBOSA, M. L.; SILVA, T. G. F.; ZOLNIER, S.; SILVA, S. M. S.; STEIDLE NETO, A. J. The influence of cladode morphology on the canopy formation of forage cactus plants. **Revista Caatinga**, v. 31, p. 180-190, 2018.

BASHAN, Y.; DE-BASHAN, L. E. How the Plant Growth-Promoting Bacterium *Azospirillum* Promotes Plant Growth—A Critical Assessment. In: SPARKS, D. L. (ed.). **Advances in Agronomy**, p. 77-136, 2010.

BECERRA, M.; LIZARAZO, L. M.; ROJAS, H. A.; PRIETO, G. A.; MARTINEZ, J. J. Biotransformation of 5-hydroxymethylfurfural and furfural with bacteria of *bacillus* genus. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 39, p. 102281, 2022.

BHATTACHARYYA, P. N.; JHA, D. K. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 28, n. 4, p. 1327–1350, 2011.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein using the principle of protein dye-binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248–254, 1976.

BORGES, V. E. **Fertirrigação nitrogenada de palma forrageira resistente a cochonilha do carmin**. 2018. 69 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Tecnologia e Recursos Naturais, Campina Grande, Paraíba, 2018.

CAMPOS, A. R. F.; SILVA, A. J. P.; LIER, Q. J. V.; NASCIMENTO, F. A. L.; FERNANDES, R. D. M.; ALMEIDA, J. N.; PAZ, V. P. S. Yield and morphology of forage cactus cultivars under drip irrigation management based on soil water matric potential thresholds. **Journal of Arid Environments**, v. 193, p. 104564, 2021.

CARDOSO, D. B.; CARVALHO, F. F. R.; MEDEIROS, G. R.; GUIM, A.; CABRAL, A. N. D.; VÉRAS, R. M. L.; SANTOS, K. C.; DANTAS, L. C. N.; NASCIMENTO, A. G. O. Levels of inclusion of spineless cactus (*Nopalea cochenillifera* Salm Dyck) in the diet of lambs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 247, p. 23-31, 2019.

CARVALHO, A. A.; SILVA, T. G. F.; SOUZA, L. S. B.; MOURA, M. S. B.; ARAUJO, G. G. L.; TOLÊDO, M. P. S. Soil moisture in forage cactus plantations with improvement practices for their resilience. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 21, p. 481-487, 2017.

CARVALHO, T. L. G.; BALSEMÃO-PIRES, E.; SARAIVA, R. M.; FERREIRA, P. C. G.; HEMERLY, A. S. Nitrogen signalling in plant interactions with associative and endophytic diazotrophic bacteria. **Journal of Experimental Botany**, v. 65, n. 19, p. 5631–5642, 2014.

CATALDO, J. M.; HAROOM, M.; SCHRADER, L. E.; YOUNGS, V. L. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue. **Communication Soil Science and Plant Analysis**, v.6, n.1, p.1- 80, 1975.

CHIACCHIO, F. P. B.; MESQUITA, A. S.; SANTOS, J. R. **Palma forrageira: uma oportunidade econômica ainda desperdiçada para o Semiárido baiano**. 2006. Disponível em: [http://www.seagri.ba.gov.br/sites/default/files/socioeconomia03\\_v7n3.pdf](http://www.seagri.ba.gov.br/sites/default/files/socioeconomia03_v7n3.pdf). Acesso em: 24 nov. 2021.

CHO, G.; KIM, D. R.; JEON, C. W.; KWAK, Y. S. Draft genome sequence data of *Paenibacillus Polymyxa* strain TH2H2, isolated from a tomato flower in Korea. **Data in Brief**, v. 31, p. 105824, 2020.

COLLADO-GONZÁLEZ, J.; PIÑERO, M. C.; OTALORA, G.; LOPEZ-MARÍN, J.; DEL AMOR, F. M. Plant growth-promoting bacteria as affected by N availability as a suitable strategy to enhance the nutritional composition of lamb's lettuce affected by global warming. **Food Chemistry**, v. 426, p. 136559, 2023.

COOMBS, J.; HALL, D.O. **Técnicas de bioprodutividade e fotossíntese**. Fortaleza: Edições UFC, 1987. 292 p.

COSTA, E. M.; LIMA, W.; OLIVEIRA-LONGATTI, S. M.; SOUZA, F. M. Phosphate-solubilising bacteria enhance *Oryza sativa* growth and nutrient accumulation in an oxisol fertilized with rock phosphate. **Ecological Engineering**, v. 83, p. 380-385, 2015.

COSTA, P. S. **Composição bromatológica de variedades de palma forrageira fertirrigadas com nitrogênio no semiárido brasileiro**. 2018. 36 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Patos, Paraíba, 2018.

CUNHA, D. N. F. V.; GOMES, E. S.; MARTUSCELLO, J. A.; AMORIM, P. L.; SILVA, R. C.; FERREIRA, P. S. Morfometria e acúmulo de biomassa em palma forrageira sob doses de nitrogênio. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 13, p. 1156-1165, 2012.

DAUD, N. S.; DIN, A. R. J. M.; ROSLI, M. A.; AZAM, Z. M.; OTHMAN, N. Z.; SARMIDI, M. R. *Paenibacillus polymyxa* bioactive compounds for agricultural and biotechnological applications. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 18, p. 101092, 2019.

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

DOS SANTOS, S. G.; RIBEIRO, F. S.; FONSECA, C. S.; PEREIRA, W.; SANTOS, L. A.; REIS, V. M. Development and nitrate reductase activity of sugarcane inoculated with fie diazotrophic strains. **Archives of Microbiology**, v. 199, n. 6, p. 863-873, 2017.

DUBEUX JÚNIOR, J. C.; ARAÚJO FILHO, J. T.; SANTOS, M. V. F.; LIRA, M. A.; SANTOS, D. C.; PESSOA, R. A. S. Adubação mineral no crescimento e composição mineral da palma forrageira –Clone IPA-201. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v: 5, n. 1, p. 129-135, 2010.

DUBEUX JÚNIOR, J. C. B.; SANTOS, M. V. F.; CUNHA, M. V.; SANTOS, D. C.; SOUZA, R. T. A.; MELLO, A. C. L.; SOUZA, T. C. Cactus (*Opuntia* and *Nopalea*) nutritive value: A review. **Animal Feed Science and Technology**, v. 275, p. 114890, 2021.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, p. 350-356, 1956.

DYNARSKI, K. A.; HOULTON, B. Z. Nutrient limitation of terrestrial free-living nitrogen fixation. **New Phytologist**, v. 217, p. 1050-1061, 2018.

EDVAN, R. L.; CARNEIRO, M. S. S. **Palma forrageira: cultivo e uso na alimentação animal**. Curitiba: Appris, 2019. 93 p.

EDVAN, R. L.; MOTA, R. R. M.; DIAS-SILVA, T. P.; NASCIMENTO, R. R.; SOUSA, S. V.; SILVA, A. L.; ARAÚJO, M. J.; ARAÚJO, J. S. Resilience of cactus pear genotypes in a tropical semi-arid region subject to climatic cultivation restriction. **Scientific Reports**, v. 10, p. 10040, 2020.

EMMANUEL, O. C.; BABALOLA, O. O. Productivity and quality of horticultural crops through co-inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth promoting bacteria. **Microbiological Research**, v. 239, p. 126569, 2020.

ETESAMI, H. Root nodules of legumes: A suitable ecological niche for isolating non-rhizobial bacteria with biotechnological potential in agriculture. **Current Research in Biotechnology**, v. 4, p. 78-86, 2022.

ETESAMI, H.; JEONG, B. R.; GLICK, B. R. Biocontrol of plant diseases by *Bacillus* spp. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 126, p. 102048, 2023.

FALLAHZADEH-MAMAGHANI, V.; GOLCHIN, S.; SHIRZAD, A.; MOHAMMADI, H.; MOHAMADIVAND, F. Characterization of *Paenibacillus polymixa* N179 as a robust and multifunctional biocontrol agent. **Biological Control**, v. 154, p. 104505, 2021.

FERNANDES, J. M. M. **Uso da palma forrageira associada a fibra na dieta de cabras lactantes**. 2014. 27 f. TCC (Zootecnista) - Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Zootecnia, Areia, Paraíba, 2014.

FERREIRA, D. F. SISVAR: a computer analysis system to fixed effects split plot type

259 designs. **Revista Brasileira de Biometria**, v. 37, p. 529-535, 2019.

FUKAMI, J.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S.; HUNGRIA, M. Accessing inoculation methods of maize and wheat with *Azospirillum brasilense*. **AMB Express**, v. 6, p. 1-13, 2016.

FUKAMI, J.; OLLERO, F. J.; MEGÍAS, M.; HUNGRIA, M. Phytohormones and induction of plant-stress tolerance and defense genes by seed and foliar inoculation with *Azospirillum brasilense* cells and metabolites promote maize growth. **AMB Express**, v. 7, p. 1-13, 2017.

FU, Y. F.; ZHANG, Z. W.; YANG, X. Y.; WANG, C. Q.; LAN, T.; TANG, X. Y.; CHEN, G. D.; ZENG, J.; YUAN, S. Nitrate reductase is a key enzyme responsible for nitrogen-regulated auxin accumulation in *Arabidopsis* roots. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 532, n. 4, p. 633-639, 2020.

GALVÃO JÚNIOR, J. G. B.; SILVA, J. B. A.; MORAIS, J. H. G.; LIMA, R. N. Palma forrageira na alimentação de ruminantes: cultivo e utilização. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 8, n. 2, p. 78-85, 2014.

GOIS, G. C.; SILVA, F. C. S.; RIBEIRO, W. S. Descrição morfológica, origem, domesticação, dispersão da palma forrageira e sua introdução no Brasil. *In*: KIRON (ed.). **A Palma e sua importância no nordeste brasileiro**, Brasília-DF, 2013. p. 9-79. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/310461277\\_CAPITULO\\_I\\_Descricao\\_morfologica\\_origem\\_Domesticacao\\_Dispersao\\_Da\\_palma\\_forrageira\\_e\\_sua\\_introducao\\_no\\_Brasil](https://www.researchgate.net/publication/310461277_CAPITULO_I_Descricao_morfologica_origem_Domesticacao_Dispersao_Da_palma_forrageira_e_sua_introducao_no_Brasil). Acesso em: 18 out. 2023.

GRADY, E. N.; MACDONALD, J.; LIU, L.; RICHMAN, A.; YUAN, Z. C. Current knowledge and perspectives of *Paenibacillus*: a review. **Microbial cell factories**, v. 15, p. 1-18, 2016.

GRAY, E.J.; SMITH, D.L. Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant–bacterium signaling processes. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 37, p. 395-412, 2005.

GUO, B.; FENG, Y.; MA, C.; ZHANG, J.; SONG, X.; WANG, M.; SHENG, D.; FENG, W.; JIAO, N. Suitability of different multivariate analysis methods for monitoring leaf N accumulation in winter wheat using in situ hyperspectral data. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 198, p. 107115, 2022.

HAWKESFORD, M. J.; CAKMAK, I.; COSKUN, D.; DE KOK, L. J.; LAMBERS, H.; SCHJOERRING, J. K.; WHITE, P. J. Functions of macronutrients. *In*: RENGEL, Z.; CAKMAK, I.; WHITE, P. J (ed.). **Marschner's Mineral Nutrition of Plants (Fourth Edition)**, Academic Press, 2023. p. 201-281. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780128197738000198>. Acesso em: 28 out. 2023.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; SOUZA, E. M.; PEDROSA, F. O. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant Soil**, v. 331, p. 413-425, 2010.

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 & Environment**, v. 221, p. 125-131, 2016.

ISAAMI, W.; MAHMOUDI, M.; ZOUGARI, B.; HAJLAOUI, M. R.; NAGEZ, K.; LAAMOURI, A.; AMMARI, Y. Phytochemical characterization and bioactivities of different fruit parts of Tunisian barbary fig (*Opuntia ficus-indica*). **Scientia Horticulturae**, v. 323, p. 112516, 2024.

JU, W.; DUAN, C.; LIU, L.; JIN, X.; BRAVO-RUISECO, G.; MEI, Y.; FANG, L. Reduction of Cu and nitrate leaching risk associated with EDDS-enhanced phytoextraction process by exogenous inoculation of plant growth promoting rhizobacteria. **Chemosphere**, v. 287, p. 132288, 2022.

KHAN, M. M. A.; QUASAR, N.; AFREEN, R. Nanotized form of indole acetic acid improve biochemical activities, the ultrastructure of glandular trichomes and essential oil production in *Ocimum tenuiflorum* L. **Industrial Crops and Products**, v. 193, p. 116117, 2023.

KARIMI, R.; NOORI, A. *Streptomyces rimosus* rhizobacteria and *Glomus mosseae* mycorrhizal fungus inoculation alleviate salinity stress in grapevine through morphophysiological changes and nutritional balance. **Scientia Horticulturae**, v. 305, p. 111433, 2022.

LEITE, M. L. M. V.; SILVA, D. S.; ANDRADE, A. P.; PEREIRA, W. E.; RAMOS, J. P. F. Caracterização da produção de palma forrageira no cariri paraibano. **Revista Caatinga**, v. 27, p. 192-200, 2014.

LEITE, J. R. A.; SALES, E. C. J.; MONÇÃO, F. P.; GUIMARÃES, A. S.; RIGUEIRA, J. P. S.; GOMES, V. M. *Nopalea cactus* pear fertilized with nitrogen: morphometric, productive and nutritional characteristics. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 40, p. e38325, 2018b.

LEITE, T. S.; LEITE, M. S.; TORRES, S. B. Palma forrageira: situação atual e perspectivas para o cultivo na região semiárida do Ceará, Brasil. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 21, n. 2, p. 77-83, 2018a.

LI, Y.; NARAYANAN, M.; SHI, X.; CHEN, X.; LI, Z.; MA, Y. Biofilms formation in plant growth-promoting bacteria for alleviating agro-environmental stress. **Science of The Total Environment**, v. 907, p. 167774, 2024.

LIANG, M.; WU, Y.; ZHAO, Q.; JIANG, Y.; SUN, W.; LIU, G.; MA, L.; XUE, S. Secondary vegetation succession on the Loess Plateau altered the interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and nitrogen-fixing bacteria. **Forest Ecology and Management**, v. 15, p. 120744, 2023.

LIMA, A. S.; DA SILVA, P. F.; DE MATOS, R. M.; BONOU, S. I.; DANTAS NETO, J. Determinação da área de cladódios e fator de correção da palma forrageira sob fertirrigação nitrogenada. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada**, v. 14, p. 3803, 2020.

LIMA, G. F. C.; SILVA, J. G. M.; AGUIAR, E. M.; TELES, M. M. **Reservas forrageiras estratégicas para a pecuária familiar no semiárido: palma, fenos e silagem**. Natal: EMPARN, 2010. 53p.

LIMA-TENÓRIO, M. K.; FURMAM-CHEROBIM, F.; KARAS, P. R.; HYEDA, D.; TAKAHASHI, W. Y.; PINTO JUNIOR, A. S.; GALVÃO, C. W.; TENÓRIO-NETO, E. T.; ETTO, R. M. *Azospirillum brasilense* AbV5/6 encapsulation in dual-crosslinked beads based on cationic starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 308, p. 120631, 2023.

LIU, Y.; CHEN, Y.; REN, X.; LI, Y.; ZHANG, Y.; ZHANG, H.; HAN, H.; CHEN, Z. Plant growth-promoting bacteria modulate gene expression and induce antioxidant tolerance to alleviate synergistic toxicity from combined microplastic and Cd pollution in sorghum. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 264, p. 115439, 2023a.

LIU, Z.; GAO, J.; ZHAO, S.; SHA, Y.; HAO, Z.; KE, L.; HUANG, Y.; CHEN, F.; YUAN, L.; MI, G. High responsiveness to nitrogen supply in modern maize cultivars is contributed to gibberellin-dependent leaf elongation. **Environmental and Experimental Botany**, v. 210, p. 105339, 2023c.

LIU, Z.; GAO, J.; ZHAO, S.; SHA, Y.; HUANG, Y.; HAO, Z.; KE, L.; CHEN, F.; YUAN, L.; MI, G. Nitrogen responsiveness of leaf growth, radiation use efficiency and grain yield of maize (*Zea mays* L.) in Northeast China. **Field Crops Research**, v. 291, p. 108806, 2023b.

LOBATO-URECHE, M. A.; PÉREZ-RODRIGUEZ, M. M.; MALOVINI, E.; PICCOLI, P. N.; MONASTERIO, R. P.; COHEN, A. C. Native plant growth promoting rhizobacteria improve the growth of pepper seedlings and modify the phenolic compounds profile. **Rhizosphere**, v. 28, p. 100800, 2023.

LOPES, K. B. A.; CARPENTIERI-PIPOLO, V.; ORO, T. H.; PAGLIOSA, E. S.; DEGRASSI, G. Culturable endophytic bacterial communities associated with field-grown soybean. **Journal of Applied Microbiology**, v. 120, p. 740-755, 2016.

MACÊDO, A. J. S.; CÉSAR NETO, J. M.; OLIVEIRA, L. B.; EDVAN, R. L.; SANTOS, E. M. A cultura da palma, origem, introdução, expansão, utilidades e perspectivas futuras: Revisão de Literatura. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, p. 62967-62987, 2020.

MACHADO, A. T.; SODEK, L.; DOBEREINER, J.; REIS, V. M. Efeito da adubação nitrogenada e da inoculação com bactérias diazotróficas no comportamento bioquímico da cultivar de milho nitroflint. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 33, n. 6, p. 961-970, 1998.

MAGALHÃES, R. M. F. **Estratégias de adubação potássica e nitrogenada no cultivo de palma forrageira em área de cerrado**. 2021. Tese (Doutorado em Zootecnia Tropical) - Universidade Federal do Piauí, Teresina, Piauí, 2021.

Disponível em:

[https://sucupira.capes.gov.br/sucupira/public/consultas/coleta/trabalhoConclusao/viewTrabalhoConclusao.jsf?popup=true&id\\_trabalho=10769987](https://sucupira.capes.gov.br/sucupira/public/consultas/coleta/trabalhoConclusao/viewTrabalhoConclusao.jsf?popup=true&id_trabalho=10769987). Acesso em: 30 out. 2023.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional de plantas: princípios e aplicações**. Piracicaba: Potafós, 1989. 208 p.

MARONICHE, G. A.; GARCÍA, J. E.; SALCEDO, F.; CREUS, C. M. Molecular identification of *Azospirillum* spp.: Limitations of 16S rRNA and qualities of rpoD as genetic markers. **Microbiological Research**, v. 195, p. 1-10, 2017.

MARQUES, O. F. C.; GOMES, L. S. P.; MOURTHÉ, M. H. F.; BRAZ, T. G. S.; PIRES NETO, O. S. Palma forrageira: cultivo e utilização na alimentação de bovinos. **Caderno de Ciências Agrárias**, v. 9, p. 75-93, 2017.

MARTÍNEZ-VIVEROS, O.; JORQUERA, M. A.; CROWLEY, D. E.; GAJARDO, G.; MORA, M. L. Mechanisms and practical considerations involved in plant growth promotion by rhizobacteria. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 10, n. 3, p. 293–319, 2010.

MASOOD, S.; ZHAO, X. Q.; SHEN, R. F.; *Bacillus pumilus* promotes the growth and nitrogen uptake of tomato plants under nitrogen fertilization. **Scientia Horticulturae**, v. 272, p. 109581, 2020.

MEDEIROS, A. S.; CESÁRIO, F. V.; MAIA, S. M. F. Long-term impact of conventional management on soil carbon and nitrogen stocks in the semi-arid region of Brazil: A meta-analysis. **Journal of Arid Environments**, v. 218, p. 105052, 2023.

MILJAKOVIĆ, D.; MARINKOVIĆ, J.; BALEŠEVIĆ-TUBIĆ, S. The Significance of *Bacillus* spp. in Disease Suppression and Growth Promotion of Field and Vegetable Crops. **Microorganisms**, v. 8, p. 1037, 2020.

MOREIRA, F. M. S.; DA SILVA, K.; NÓBREGA, R. S. A.; CARVALHO, F. 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**. Lavras: UFLA, 2006. 729 p.

MUS, F.; WU, H. H. Symbiotic nitrogen fixation. In: GOSS, M. J.; OLIVER, M. (ed.). **Encyclopedia of Soils in the Environment (Second Edition)**, Academic Press, 2023. p. 270-282. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez17.periodicos.capes.gov.br/science/article/abs/pii/B9780128229743000562>. Acesso em: 08 jan. 2024.

NECCHI, R. M. M. **Farmacobotânica, atividade antiinflamatória e parâmetros bioquímicos de *Nopalea cochenillifera* (L.) Salm-dick (cactaceae)**. 2011. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil, 2011. Disponível em: <https://repositorio.ufsm.br/handle/1/5901>. Acesso em: 01 dez. 2023.

OLIVEIRA, F. T.; SOUTO, J. S.; DA SILVA, R. P.; DE ANDRADE FILHO, F. C.; PEREIRA JÚNIOR, E. B. Palma forrageira: adaptação e importância para os ecossistemas áridos e semiáridos. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 5, p. 27-37, 2010.

OLIVEIRA, T. J. S. S.; OLIVEIRA, C. E. S.; JALAL, A.; GATO, I. M. B.; RAUF, K.; MOREIRA, V. A.; LIMA, B. H.; SCHENAIDE VITÓRIA, L.; GIOLO, V. M.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M. Inoculation reduces nitrate accumulation and increases growth and nutrient accumulation in hydroponic arugula. **Scientia Horticulturae**, v. 320, p. 112213, 2023.

OLIVEIRA-LONGATTI, S. M.; MARRA, L. M.; SOARES, B. L.; BOMFETI, C. A.; SILVA, K.; FERREIRA, P. A. A.; MOREIRA, F. M. S. Bacteria isolated from soils of the western Amazon and from rehabilitated bauxite-mining areas have potential as plant growth promoters. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 30, p. 1239-1250, 2014.

OZFIDAN-KONAKCI, C.; ARIKAN, B.; ALP-TURGUT, F. N.; BALCI, M.; UYSAL, A.; YILDIZTUGAY, E. Halotolerant plant growth-promoting bacteria, *Bacillus pumilus*, modulates water status, chlorophyll fluorescence kinetics and antioxidant balance in salt and/or arsenic-exposed wheat. **Environmental Research**, v. 231, p. 116089, 2023.

PARAVAR, A.; PIRI, R.; BALOUCHI, H.; MA, Y. Microbial seed coating: An attractive tool for sustainable agriculture. **Biotechnology Reports**, v. 37, p. e00781, 2023.

PATHANIA, P.; GULATI, D.; SETIA, H.; BHATIA, R. Characterization and performance evaluation of plant growth promoting bacteria in tomato rhizosphere. **South African Journal of Botany**, v. 161, p. 388-394, 2023.

PATOWARY, R.; DEKA, H. *Paenibacillus*. In: AMARESAN, N.; KUMAR, M. S.; ANNAPURNA, K.; KUMAR, K.; SANKARANARAYANAN, A (ed.). **Beneficial Microbes in Agro-Ecology: Bacteria and Fungi**, Academic Press, 2020. p. 339-361. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780128234143000174>. Acesso em: 20 set. 2023.

PAULINO, J. R. L. **Palma forrageira na alimentação de ruminantes no semiárido-revisão**. 2013. TCC (Zootecnista) - Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Zootecnia, Areia, Paraíba, 2013. Disponível em: <https://repositorio.ufpb.br/jspui/bitstream/123456789/532/1/JRLP11072014-MZ218.pdf>. Acesso em: 22 out. 2023.

PEREG, L.; DE-BASHAN, L. E.; BASHAN, Y. Assessment of affinity and specificity of *Azospirillum* for plants. **Plant and soil**, v. 399, p. 389-414, 2016.

PEREIRA, P. C.; SILVA, T. G. F.; ZOLNIER, S.; DE MORAIS, J. E. F.; SANTOS, D. C. Morfogênese da palma forrageira irrigada por gotejamento. **Revista Caatinga**, v. 28, p. 184-195, 2015.

PHAM, T. P. T.; ALOU, M. T.; TRAORE, S. I.; BRAH, S.; DIALLO, B. A.; DIALLO, A.; SOKHNA, C.; BAPTISTE, E.; LEVASSEUR, A.; FOURNIER, P. E.; CADORET, F.; RAOULT, D. Noncontiguous finished genome sequences and descriptions of '*Paenibacillus bouchesdurhonensis*,' '*Paenibacillus rubinfantis*,' '*Paenibacillus senegalimassiliensis*' and '*Paenibacillus tuaregi*' identified by culturomics. **New Microbes and New Infections**, v. 20, p. 1-13, 2017.

PURI, A.; PADDA, K. P.; CHANWAY, C. P. *In vitro* and *in vivo* analyses of plant-growth-promoting potential of bacteria naturally associated with spruce trees growing on nutrient-poor soils. **Applied Soil Ecology**, v. 149, p. 103538, 2020.

PRADO, R. M.; LEAL, R. M. Desordens nutricionais por deficiência em girassol variedade Catissol-01. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 36, p. 187-193, 2006.

QIAN, J.; WANG, Y.; HU, Z.; SHI, T.; WANG, Y.; YE, C.; HUANG, H. *Bacillus* sp. as a microbial cell factory: Advancements and future prospects. **Biotechnology Advances**, v. 69, p. 108278, 2023.

RAMAKRISHNA, W.; YADAV, R.; LI, K. Plant growth promoting bacteria in agriculture: Two sides of a coin. **Applied Soil Ecology**, v. 138, p. 10-18, 2019.

RIBEIRO, I. D. A.; BACH, E.; PASSAGLIA, L. M. P. Alternative nitrogenase of *Paenibacillus sonchi* genomovar Riograndensis: An insight in the origin of Fe-nitrogenase in the Paenibacillaceae family. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 177, p. 107624, 2022.

ROCHA, J. E. S. **Palma forrageira no Nordeste do Brasil: o estado da arte**. Sobral: Embrapa Caprinos e Ovinos, 2012. 40 p.

ROCHA, L. B.; COSTA, E. M.; RIBEIRO, A. C. M. S.; SANTOS, J. F.; MIRANDA, R. S.; SANTOS, A. S.; PAULA-MARINHO, S. O.; FONSECA, B. S. F.; MOREIRA, F. M. S. Brazilian Semiarid *Bradyrhizobium* Strains Increase Nitrogen Accumulation and Modulate Physiological Parameters to Enable Superior Grain Production in Soybean Genotypes. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, p. 1-6, 2023.

ROCHA, S. S.; LONDE, L. C. N.; PIMENTA, S.; CARDOSO, M. M.; GONÇALVES, N. P.; GOMES, W. S.; CALAES, J. G. Congruence between morphological and molecular markers for genetic diversity analysis applied to forage palm genotypes propagated via bioreactors. **Industrial Crops and Products**, v. 147, p. 112230, 2020.

RODRIGUES, G. L.; MATTEOLI, F. P.; GAZARA, R. K.; RODRIGUES, P. S. L.; SANTOS, S. T.; ALVES, A. F.; PEDROSA-SILVA, F.; OLIVEIRA-PINHEIRO, I.;

CANEDO-ALVARENGA, D.; OLIVARES, F. L.; VENANCIO, T. M. Characterization of cellular, biochemical and genomic features of the diazotrophic plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* sp. UENF-412522, a novel member of the *Azospirillum* genus. **Microbiological Research**, v. 254, p. 126896, 2022.

RORIZ, M.; PEREIRA, S. I. A.; CASTRO, P. M. L.; CARVALHO, S. M. P.; VASCONCELOS, M. W. Impact of soybean-associated plant growth-promoting bacteria on plant growth modulation under alkaline soil conditions. **Heliyon**, v. 9, p. e14620, 2023.

SANTOS, M. P.; MARTÍNEZ, S. J.; YARTE, M. E.; CARLETTI, S. M.; LARRABURU, E. E. Effect of *Azospirillum brasilense* on the in vitro germination of *Eustoma grandiflorum* (Raf.) Schinn. (Gentianaceae). **Scientia Horticulturae**, v. 299, p. 111041, 2022.

SENAR- Serviço Nacional de Aprendizagem Rural. **Palma forrageira: cultivo da palma forrageira no semiárido brasileiro**. Brasília: SENAR, 2018. 52 p. Disponível em: <https://www.cnabrazil.org.br/assets/arquivos/159-PALMA-FORRAGEIRA.pdf>. Acesso em: 04 nov. 2023.

SILVA, C. C. F.; SANTOS, L. C. Palma Forrageira (*Opuntia Ficus- Indica* Mill) como alternativa na alimentação de ruminantes. **Revista Eletrônica de Veterinária**, v. 7, n. 10, p. 1-13, 2006.

SILVA, J. L. B.; MOURA, G. B. A.; SILVA, M. V.; LOPES, P. M. O.; GUEDES, R. V. S.; SILVA, E. F. F.; ORTIZ, P. F. S.; RODRIGUES, J. A. M. Changes in the water resources, soil use and spatial dynamics of Caatinga vegetation cover over semiarid region of the Brazilian Northeast. **Remote Sensing Applications: Society and Environment**, v. 20, p. 100372, 2020.

SILVA, J. N.; MENDES, L. W.; ANTUNES, J. E. L.; MELO, V. M. M.; OLIVEIRA, F. A. S.; LOPES, A. C. A.; SILVA, V. B.; PEREIRA, A. P. A.; VALENTE, S. E. S.; ARAÚJO, A. S. F. Diversity, structure, and composition of plant growth-promoting bacteria in soil from Brazilian Cerrado. **Rhizosphere**, v. 20, p. 100435, 2021a.

SILVA, P. F. **Crescimento e produtividade de palma forrageira sob diferentes lâminas de irrigação e adubação nitrogenada**. 2017. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Tecnologia e Recursos Naturais, Campina Grande, Paraíba, 2017. Disponível em: <http://dspace.sti.ufcg.edu.br:8080/xmlui/handle/riufcg/615>. Acesso em: 18 out. 2023.

SILVA, T. G. F.; QUEIROZ, M. G.; ZOLNIER, S.; SOUZA, L. S. B.; SOUZA, C. A. A.; MOURA, M. S. B.; ARAÚJO, G. C. L.; STEIDLE NETO, A. J.; SANTOS, T. S.; MELO, A. L.; CRUZ NETO, J. F.; SILVA, M. J.; ALVES, H. K. M. N. Soil properties and microclimate of two predominant landscapes in the Brazilian semiarid region: Comparison between a seasonally dry tropical forest and a deforested área. **Soil and Tillage Research**, v. 207, p. 104852, 2021b.

SILVA, T. G. F.; ARAÚJO PRIMO, J. T.; DE MORAIS, J. E. F.; DINIZ, W. J. S.; SOUZA, C. A. A.; SILVA, M. C. Crescimento e produtividade de clones de palma

forrageira no semiárido e relações com variáveis meteorológicas. **Revista Caatinga**, v. 28, p. 10-18, 2015.

SMERCINA, D. N.; EVANS, S. E.; FRIESEN, M. L.; TIEMANN, L. K. To fix or not to fix: controls on free-living nitrogen fixation in the rhizosphere. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 85, n. 6, p. e02546-18, 2019.

SNELL, F.D.; SNELL, C.T. **Colotimetric methods of analysis**. N.Y., London: Van Nostrand, 1949.

SOLOUKI, H.; KAFI, M.; NABATI, J.; AHMADI, M. J.; NEZAMI, A.; AHMADY, R. S. Seed biopriming and plant growth-promoting bacteria improve nutrient absorption and dry matter production of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) plants. **South African Journal of Botany**, v. 162, p. 296-303, 2023.

SUBEDI, P.; BHATTARAI, P.; LAMICHHANE, B.; KHANAL, A.; SHRESTHA, J. Effect of different levels of nitrogen and charcoal on growth and yield traits of chili (*Capsicum annuum* L.). **Heliyon**, v. 9, p. e13353, 2023.

SUDENE. **Superintendência do Desenvolvimento do Nordeste**. 2017. Disponível em: <http://antigo.sudene.gov.br/delimitacao-do-semiarido>. Acesso em: 24 nov. 2021.

SUN, Y.; QIAO, Z.; ZUO, X.; LI, M.; KANG, Y.; LI, W.; YANG, C.; REN, G.; JIANG, D.; LIU, C. Endophytic fungus-suspension cell co-culture: A new strategy for more rapid and sustainable screening of plant beneficial microorganisms. **Industrial Crops and Products**, v. 205, p. 117523, 2023.

TEMESGEN, D.; MALUK, M.; JAMES, E. K.; IANNETTA, P. P. M.; ASSEFA, F. The functional characterisation of soybean (*Glycine max* L.) rhizospheric bacteria indigenous to Ethiopian soils. **African journal of agricultural research**, v. 14, p. 1659-1673, 2019.

VOLTOLINI, T. V.; OLIVEIRA, A. R. de; SALVIANO, A. M.; MOURA, M. S. B. de; ARAUJO, G. G. L. de. **Sistema de Produção de Palma-Forageira para o Estado da Paraíba**. Embrapa semiárido: versão eletrônica, 2022. p. 1-70. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1142333>. Acesso em: 28 nov. 2023.

WANG, H.; WANG, X. Q.; ZENG, Z. ; YU, H.; HUANG, W. Photosynthesis under fluctuating light in the CAM plant *Vanilla planifolia*. **Plant Science**, v. 317, p. 111207, 2022a.

WANG, J.; QU, F.; LIANG, J.; YANG, M.; HU, X. *Bacillus velezensis* SX13 promoted cucumber growth and production by accelerating the absorption of nutrients and increasing plant photosynthetic metabolism. **Scientia Horticulturae**, v. 301, p. 111151, 2022b.

WANG, J.; ZHAO, Q.; ZHONG, Y.; JI, S.; CHEN, G.; HE, Q.; WU, Y.; BING, H. Biological nitrogen fixation in barren soils of a high-vanadium region: Roles of carbon and vanadium. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 186, p. 109163, 2023.

WEATHERBURN, M. W. Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. **Analytical Chemistry**, v. 39, p. 971-974, 1967.

WEI, X.; MORENO-HAGELSIEB, G.; GLICK, B. R.; DOXEY, A. C. Comparative analysis of adenylate isopentenyl transferase genes in plant growth-promoting bacteria and plant pathogenic bacteria. **Heliyon**, v. 9, p. e13955, 2023.

WU, D.; ZHANG, X. J.; LIU, H. C.; ZHOU, Y. G.; WU, X. L.; NIE, Y.; KANG, Y. Q.; CAI, M. *Azospirillum oleiclasticum* sp. nov, a nitrogen-fixing and heavy oil degrading bacterium isolated from an oil production mixture of Yumen Oilfield. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 44, p. 126171, 2021.

YEMM, E. W.; COCKING, E. C. The determination of amino-acids with ninhydrin. **Analyst**, v. 80, p. 209-213, 1955.

ZHANG, Y.; XU, Q.; WANG, G.; SHI, K. Mixed *Enterobacter* and *Klebsiella* bacteria enhance soybean biological nitrogen fixation ability when combined with rhizobia inoculation. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 184, p. 109100, 2023.

ZHU, X.; ROS, G. H.; XU, M.; CAI, Z.; SUN, N.; DUAN, Y.; DE VRIES, W. Long-term impacts of mineral and organic fertilizer inputs on nitrogen use efficiency for different cropping systems and site conditions in Southern China. **European Journal of Agronomy**, v. 146, p. 126797, 2023.

ZUBERER, D. A. Biological dinitrogen (N<sub>2</sub>) fixation: introduction and nonsymbiotic. In: GENTRY, T. J.; FUHRMANN, J. J.; ZUBERER, D. A (ed.). **Principles and Applications of Soil Microbiology (Third Edition)**, Elsevier, 2021. p. 423-453.

Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780128202029000162>.

Acesso em: 30 set. 2023.

ZULUAGA, M. Y. A.; MILANI, K. M. L.; MIRAS-MORENO, B.; LUCINI, L.; VALENTINUZZI, F.; MIMMO, T.; PII, Y.; CESCO, S.; RODRIGUES, E. P.; OLIVEIRA, A. L. M. Inoculation with plant growth-promoting bacteria alters the rhizosphere functioning of tomato plants. **Applied Soil Ecology**, v. 158, p. 103784, 2021.

## ANEXOS

**Tabela S1** - Análise de variância para as variáveis de altura de plantas (AP), número de cladódios primários (NCP), largura de cladódios primários (LCP), comprimento de cladódios primários (CCP), espessura de cladódios primários (ECP), área de cladódios primários (ACP), número de cladódios secundários (NCS), largura de cladódios secundários (LCS), comprimento de cladódios secundários (CCS), espessura de cladódios secundários (ECS), área de cladódios secundários (ACS) e área da matriz (AM) da cultivar baiana.

| FV             | GL | AP                 | NCP                | LCP                | CCP                | ECP                | ACP                | NCS                | LCS                | CCS                | ECS                | ACS                | AM                 |
|----------------|----|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Bloco          | 3  | 1,92 <sup>ns</sup> | 0,64 <sup>ns</sup> | 0,63 <sup>ns</sup> | 1,13 <sup>ns</sup> | 2,79*              | 0,39 <sup>ns</sup> | 1,95 <sup>ns</sup> | 1,76 <sup>ns</sup> | 2,25 <sup>ns</sup> | 1,14 <sup>ns</sup> | 3,39*              | 1,21 <sup>ns</sup> |
| Inoculação (I) | 5  | 1,46 <sup>ns</sup> | 1,42 <sup>ns</sup> | 0,76 <sup>ns</sup> | 1,26 <sup>ns</sup> | 1,14 <sup>ns</sup> | 0,98 <sup>ns</sup> | 1,31 <sup>ns</sup> | 1,74 <sup>ns</sup> | 1,75 <sup>ns</sup> | 1,66 <sup>ns</sup> | 0,79 <sup>ns</sup> | 1,88 <sup>ns</sup> |
| Dose de N (D)  | 2  | 1,18 <sup>ns</sup> | 2,36 <sup>ns</sup> | 0,32 <sup>ns</sup> | 0,06 <sup>ns</sup> | 0,40 <sup>ns</sup> | 4,87 <sup>ns</sup> | 14,97*             | 3,65*              | 5,09*              | 1,95 <sup>ns</sup> | 20,66*             | 0,97 <sup>ns</sup> |
| I x D          | 10 | 1,15 <sup>ns</sup> | 0,79 <sup>ns</sup> | 1,08 <sup>ns</sup> | 0,77 <sup>ns</sup> | 0,70 <sup>ns</sup> | 0,73 <sup>ns</sup> | 1,02 <sup>ns</sup> | 0,88 <sup>ns</sup> | 0,84 <sup>ns</sup> | 1,13 <sup>ns</sup> | 1,06 <sup>ns</sup> | 0,95 <sup>ns</sup> |
| Erro           | 51 |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |
| Total          | 71 |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |
| CV (%)         |    | 11,72              | 30,22              | 8,99               | 16,73              | 14,24              | 16,74              | 48,80              | 37,17              | 38,23              | 39,05              | 47,16              | 57,38              |

\*= significativo a 5% de probabilidade; <sup>ns</sup> = não significativo

**Tabela S2** - Análise de variância para as variáveis de massa fresca de cladódios (MFC), massa fresca de raiz (MFR), massa seca de cladódios (MSC), massa seca de raiz (MSR), massa seca total (MST), comprimento de raiz (CR), teor de nitrogênio nos cladódios (TNC) e raízes (TNR) e acúmulo de nitrogênio nos cladódios (ANC) e raízes (ANR) da cultivar baiana.

| FV             | GL | MFC                | MFR                | MSC                | MSR                | MST                | CR                 | TNC                | ANC                | TNR                | ANR                |
|----------------|----|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Bloco          | 3  | 1,50 <sup>ns</sup> | 0,57 <sup>ns</sup> | 1,61 <sup>ns</sup> | 0,95 <sup>ns</sup> | 1,93 <sup>ns</sup> | 0,52 <sup>ns</sup> | 1,07 <sup>ns</sup> | 0,60 <sup>ns</sup> | 0,39 <sup>ns</sup> | 0,37 <sup>ns</sup> |
| Inoculação (I) | 5  | 4,83*              | 4,59*              | 3,12*              | 8,30*              | 4,39*              | 1,58 <sup>ns</sup> | 8,52*              | 10,04*             | 13,47*             | 8,95*              |
| Dose de N (D)  | 2  | 91,66*             | 1,99 <sup>ns</sup> | 32,63*             | 2,32 <sup>ns</sup> | 33,00*             | 1,03 <sup>ns</sup> | 86,78*             | 115,29*            | 7,93*              | 7,13*              |
| I x D          | 10 | 4,36*              | 3,34*              | 3,34*              | 3,13*              | 3,69*              | 1,20 <sup>ns</sup> | 1,86 <sup>ns</sup> | 1,07 <sup>ns</sup> | 3,67*              | 2,81*              |
| Erro           | 51 |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |
| Total          | 71 |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |
| CV (%)         |    | 6,50               | 32,78              | 8,83               | 26,32              | 8,61               | 23,09              | 9,46               | 10,49              | 19,40              | 15,10              |

\*= significativo a 5% de probabilidade; <sup>ns</sup> = não significativo.

**Tabela S3** - Análise de variância para as variáveis de altura de plantas (AP), número de cladódios primários (NCP), largura de cladódios primários (LCP), comprimento de cladódios primários (CCP), espessura de cladódios primários (ECP), área de cladódios primários (ACP), número de cladódios secundários (NCS), largura de cladódios secundários (LCS), comprimento de cladódios secundários (CCS), espessura de cladódios secundários (ECS), área de cladódios secundários (ACS) e área da matriz (AM) de palma forrageira da cultivar doce miúda.

| FV             | GL | AP                 | NCP                | LCP                | CCP                | ECP                | ACP                | NCS                | LCS                | CCS                | ECS                | ACS                | AM                 |
|----------------|----|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Bloco          | 3  | 0,75 <sup>ns</sup> | 0,89 <sup>ns</sup> | 2,04 <sup>ns</sup> | 0,58 <sup>ns</sup> | 2,90*              | 1,02 <sup>ns</sup> | 0,76 <sup>ns</sup> | 1,31 <sup>ns</sup> | 0,72 <sup>ns</sup> | 1,44 <sup>ns</sup> | 0,19 <sup>ns</sup> | 0,24 <sup>ns</sup> |
| Inoculação (I) | 5  | 0,59 <sup>ns</sup> | 1,64 <sup>ns</sup> | 0,17 <sup>ns</sup> | 1,57 <sup>ns</sup> | 1,43 <sup>ns</sup> | 1,82 <sup>ns</sup> | 0,55 <sup>ns</sup> | 0,36 <sup>ns</sup> | 1,64 <sup>ns</sup> | 1,97 <sup>ns</sup> | 0,93 <sup>ns</sup> | 0,75 <sup>ns</sup> |
| Dose de N (D)  | 2  | 9,48*              | 0,01 <sup>ns</sup> | 0,89 <sup>ns</sup> | 1,30 <sup>ns</sup> | 0,02 <sup>ns</sup> | 11,65*             | 26,65*             | 1,30 <sup>ns</sup> | 2,31 <sup>ns</sup> | 0,04 <sup>ns</sup> | 28,70*             | 0,39 <sup>ns</sup> |
| I x D          | 10 | 0,66 <sup>ns</sup> | 1,55 <sup>ns</sup> | 0,56 <sup>ns</sup> | 1,21 <sup>ns</sup> | 0,68 <sup>ns</sup> | 2,91*              | 0,65 <sup>ns</sup> | 0,75 <sup>ns</sup> | 1,13 <sup>ns</sup> | 0,64 <sup>ns</sup> | 1,47 <sup>ns</sup> | 0,64 <sup>ns</sup> |
| Erro           | 51 |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |
| Total          | 71 |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |
| CV (%)         |    | 11,01              | 27,46              | 10,32              | 15,64              | 14,95              | 16,69              | 29,51              | 10,95              | 11,70              | 14,36              | 25,49              | 62,76              |

\*= significativo a 5% de probabilidade; <sup>ns</sup> = não significativo.

**Tabela S4** - Análise de variância para as variáveis de massa fresca de cladódios (MFC), massa fresca de raiz (MFR), massa seca de cladódios (MSC), massa seca de raiz (MSR), massa seca total (MST), comprimento de raiz (CR), teor de nitrogênio nos cladódios (TNC) e raízes (TNR) e acúmulo de nitrogênio nos cladódios (ANC) e raízes (ANR) da cultivar doce miúda.

| FV             | GL | MFC                | MFR                | MSC                | MSR                | MST                | CR                 | TNC                | ANC                | TNR    | ANR                |
|----------------|----|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------|--------------------|
| Bloco          | 3  | 0,78 <sup>ns</sup> | 1,73 <sup>ns</sup> | 1,81 <sup>ns</sup> | 1,26 <sup>ns</sup> | 2,03 <sup>ns</sup> | 0,29 <sup>ns</sup> | 0,61 <sup>ns</sup> | 1,60 <sup>ns</sup> | 3,46*  | 3,53*              |
| Inoculação (I) | 5  | 9,96*              | 5,69*              | 7,72*              | 4,76*              | 6,30*              | 3,21 <sup>ns</sup> | 12,87*             | 17,29*             | 12,08* | 8,91*              |
| Dose de N (D)  | 2  | 50,02*             | 3,85*              | 60,27*             | 5,78*              | 55,66*             | 2,05 <sup>ns</sup> | 126,35*            | 171,71*            | 5,03*  | 2,56 <sup>ns</sup> |
| I x D          | 10 | 17,20*             | 3,23*              | 9,58*              | 3,08*              | 9,88*              | 0,46 <sup>ns</sup> | 4,54*              | 6,83*              | 3,99*  | 2,64*              |
| Erro           | 51 |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |        |                    |
| Total          | 71 |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |        |                    |
| CV (%)         |    | 5,86               | 9,80               | 7,12               | 26,79              | 7,14               | 26,96              | 9,50               | 9,77               | 17,27  | 16,95              |

\*= significativo a 5% de probabilidade; <sup>ns</sup> = não significativo.

**Tabela S5** - Análise de variância para as variáveis de atividade de nitrato redutase das raízes (NR), nitrato dos cladódios ( $\text{NO}_3^- \text{C}$ ) e raízes ( $\text{NO}_3^- \text{R}$ ), amônio dos cladódios ( $\text{NH}_4^+ \text{C}$ ) e raízes ( $\text{NH}_4^+ \text{R}$ ), carboidratos solúveis dos cladódios (CSC), n-aminossolúveis dos cladódios (NaminoC) e raízes (NaminoR) e proteínas solúveis dos cladódios (PSC) e raízes (PSR) da cultivar baiana.

| FV             | GL | NR                 | $\text{NO}_3^- \text{C}$ | $\text{NO}_3^- \text{R}$ | $\text{NH}_4^+ \text{C}$ | $\text{NH}_4^+ \text{R}$ | CSC                | NaminoC            | NaminoR            | PSC                | PSR                |
|----------------|----|--------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Bloco          | 3  | 0,21 <sup>ns</sup> | 2,89*                    | 3,29*                    | 1,02 <sup>ns</sup>       | 0,95 <sup>ns</sup>       | 1,07 <sup>ns</sup> | 0,09 <sup>ns</sup> | 1,24 <sup>ns</sup> | 1,01 <sup>ns</sup> | 0,39 <sup>ns</sup> |
| Inoculação (I) | 5  | 31,44*             | 3,89*                    | 9,83*                    | 9,86*                    | 122,81*                  | 3,45*              | 10,14*             | 21,40*             | 15,01*             | 13,47*             |
| Dose de N (D)  | 2  | 14,75*             | 0,04 <sup>ns</sup>       | 4,74*                    | 17,33*                   | 2,64 <sup>ns</sup>       | 1,73 <sup>ns</sup> | 126,34*            | 2,67 <sup>ns</sup> | 136,33*            | 7,93*              |
| I x D          | 10 | 3,30*              | 5,46*                    | 13,56*                   | 1,10 <sup>ns</sup>       | 8,96*                    | 2,09*              | 6,84*              | 26,28*             | 2,55*              | 3,67*              |
| Erro           | 51 |                    |                          |                          |                          |                          |                    |                    |                    |                    |                    |
| Total          | 71 |                    |                          |                          |                          |                          |                    |                    |                    |                    |                    |
| CV (%)         |    | 5,86               | 11,23                    | 6,23                     | 20,54                    | 10,59                    | 18,73              | 7,69               | 18,83              | 14,80              | 19,40              |

\*= significativo a 5% de probabilidade; <sup>ns</sup> = não significativo.

**Tabela S6** - Análise de variância para as variáveis de atividade de nitrato redutase das raízes (NR), nitrato dos cladódios ( $\text{NO}_3^- \text{C}$ ) e raízes ( $\text{NO}_3^- \text{R}$ ), amônio dos cladódios ( $\text{NH}_4^+ \text{C}$ ) e raízes ( $\text{NH}_4^+ \text{R}$ ), carboidratos solúveis dos cladódios (CSC), n-aminossolúveis dos cladódios (NaminoC) e raízes (NaminoR) e proteínas solúveis dos cladódios (PSC) e raízes (PSR) da cultivar doce miúda.

| FV             | GL | NR                 | $\text{NO}_3^- \text{C}$ | $\text{NO}_3^- \text{R}$ | $\text{NH}_4^+ \text{C}$ | $\text{NH}_4^+ \text{R}$ | CSC                | NaminoC            | NaminoR | PSC                | PSR    |
|----------------|----|--------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------|--------------------|---------|--------------------|--------|
| Bloco          | 3  | 1,26 <sup>ns</sup> | 0,10 <sup>ns</sup>       | 5,09*                    | 2,41 <sup>ns</sup>       | 2,33 <sup>ns</sup>       | 0,22 <sup>ns</sup> | 1,09 <sup>ns</sup> | 3,49*   | 0,61 <sup>ns</sup> | 3,46*  |
| Inoculação (I) | 5  | 10,15*             | 15,75*                   | 0,70 <sup>ns</sup>       | 24,70*                   | 5,58*                    | 9,28*              | 16,94*             | 3,14*   | 12,82*             | 12,08* |
| Dose de N (D)  | 2  | 5,03*              | 5,24*                    | 1,83 <sup>ns</sup>       | 4,63*                    | 22,14*                   | 0,87 <sup>ns</sup> | 229,01*            | 10,88*  | 126,37*            | 5,03*  |
| I x D          | 10 | 4,61*              | 1,39 <sup>ns</sup>       | 1,90 <sup>ns</sup>       | 2,88*                    | 3,12*                    | 2,05*              | 12,60*             | 8,64*   | 4,52*              | 3,99*  |
| Erro           | 51 |                    |                          |                          |                          |                          |                    |                    |         |                    |        |
| Total          | 71 |                    |                          |                          |                          |                          |                    |                    |         |                    |        |
| CV (%)         |    | 15,32              | 15,93                    | 20,94                    | 17,40                    | 14,10                    | 17,56              | 6,51               | 17,01   | 9,39               | 17,27  |

\*= significativo a 5% de probabilidade; <sup>ns</sup> = não significativo.