



**CAPIM MARANDU INOCULADO COM *Azospirillum brasilense* E
CULTIVADO COM NITROGÊNIO SOB SOMBREAMENTO**

RÔMULO SPÓSITO DAS VIRGENS

2020



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

Área de concentração: Produção de Ruminantes

**CAPIM MARANDU INOCULADO COM *Azospirillum brasilense* E
CULTIVADO COM NITROGÊNIO SOB SOMBREAMENTO**

Autor: Rômulo Spósito das Virgens
Orientadora: Daniela Deitos Fries

ITAPETINGA
BAHIA – BRASIL
Agosto de 2020

RÔMULO SPÓSITO DAS VIRGENS

**CAPIM MARANDU INOCULADO COM *Azospirillum brasilense* E
CULTIVADO COM NITROGÊNIO SOB SOMBREAMENTO**

Tese apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Daniela Deitos Fries
Co-Orientadores: Prof. Dr. Daniel Lucas Santos Dias
Prof. Dr. Fábio Andrade Teixeira

ITAPETINGA
BAHIA – BRASIL
Agosto de 2020

633.2 Virgens, Rômulo Spósito das.
V81c Capim Marandu inoculado com *Azospirillum brasilense* e cultivado com nitrogênio sob sombreamento. / Rômulo Spósito das Virgens. – Itapetinga-BA: UESB, 2020.
69f.

Tese apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Sob a orientação da Prof^ª. D.Sc. Daniela Deitos Fries e coorientação do Prof. D.Sc. Daniel Lucas Santos Dias e Prof. D.Sc. Fabio Andrade Teixeira.

1. Capim marandu - Tolerância a sombra. 2. Capim marandu – Anatomia - Crescimento. 3. *Brachiaria brizantha*. I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - Programa de Pós-Graduação de Doutorado em Zootecnia, *Campus* de Itapetinga. II. Fries, Daniela Deitos. III. Dias, Daniel Lucas Santos. IV. Teixeira, Fabio Andrade. V. Título.

CDD(21): 633.2

Catálogo na Fonte:

Adalice Gustavo da Silva – CRB 535-5ª Região
Bibliotecária – UESB – Campus de Itapetinga-BA

Índice Sistemático para desdobramentos por Assunto:

1. Capim marandu - Sombreamento artificial
2. Capim marandu - Nutrição
3. Bactéria diazotrófica - *Azospirillum brasilense*

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA – UESB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA
Área de Concentração em Produção de Ruminantes

Campus de Itapetinga -BA

DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

Título: “Capim Marandu inoculado com *Azospirillum brasilense* e cultivado com nitrogênio sob sombreamento”.

Autor (a): Rômulo Spósito das Virgens

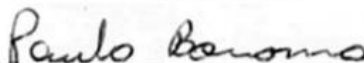
Orientador (a): Prof^a. Dr^a. Daniela Deitos Fries

Co-Orientador (a): Prof. Dr. Daniel Lucas Santos Dias
Prof. Dr. Fábio Andrade Teixeira

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: PRODUÇÃO DE RUMINANTES, pela Banca Examinadora:



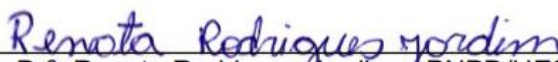
Prof^a. Dr^a. Daniela Deitos Fries - UESB
Orientadora



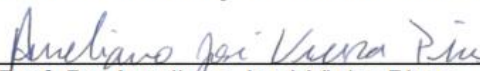
Prof. Dr. Paulo Bonomo - UESB



Prof. Dr. Daniel Lucas Santos Dias – UEFS



Dr^a. Renata Rodrigues Jardim – PNP/UESB



Prof. Dr. Aureliano José Vieira Pires – UESB

Data de realização: 18 de agosto de 2020.

*Luz do sol
Que a folha traga e traduz
Em verde novo
Em folha, em graça, em vida, em força, em luz.*

Caetano Veloso

A alegria não chega apenas no encontro do achado, mas faz parte do processo da busca. E ensinar e aprender não pode dar-se fora da procura, fora da boniteza e da alegria.

Paulo Freire

A sabedoria é a subordinação do saber ao interesse humano e não ao próprio interesse do saber pelo saber e muito menos a interesses parciais ou de certos grupos humanos.

Anísio Teixeira

Aos

meus filhos Davi e Antonella, que em nome de toda a nova geração a ciência possa inspirá-los.

DEDICO

AGRADECIMENTO

Aos meus Pais pelo amor e apoio incondicional.

À família pelo carinho e incentivo.

À Renata Spósito pelo companheirismo de todas as horas.

À orientadora Daniela Deitos Fries pela credibilidade, apoio e ensinamentos.

Aos colegas do LAFIEP pela ajuda constante, em especial aos amigos Adriane, Natan e Angel que participaram ativamente do desenvolvimento do trabalho.

Ao professor Daniel Lucas pelo incentivo e apoio.

À Escola Pública que promoveu toda a minha formação acadêmica.

Ao Instituto Federal de Ciência e Tecnologia Baiano pelo apoio, em especial aos colegas Cristiano e Taline da Coordenação da Unidade Educativa de Campo e as discentes Renata, Dominique e Ênila que colaboram com a execução do experimento.

À Reinaldo Alves de Assunção Júnior pelo incentivo, apoio e colaboração.

À Deus pela inspiração, oportunidade e experiência moral e intelectual adquirida.

BIOGRAFIA

Rômulo Spósito das Virgens, filho de Roosevelt Spósito das Virgens e Ednalva Spósito das Virgens, nasceu em 13 de setembro de 1982. Em 2002, ingressou na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB, onde, em janeiro de 2009, obteve o título de Engenheiro Agrônomo. Em março de 2010, iniciou o Programa de Mestrado em Zootecnia, área de Concentração em Produção de Ruminantes, da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, obtendo o título em março de 2012. Ingressou em março de 2016, no Programa de Doutorado em Zootecnia, área de Concentração em Produção de Ruminantes, da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB. Em 18 de agosto de 2020 submeteu-se à banca de defesa da presente Tese.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS.....	viii
LISTA DE TABELAS.....	x
LISTA DE QUADROS.....	xii
RESUMO.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
I – REFERENCIAL TEÓRICO.....	1
1.1 Introdução.....	1
1.2 Sistemas Silvipastoris.....	2
1.3 Nitrogênio e pastagem.....	4
1.4 Bactérias diazotróficas.....	6
1.5 <i>Azospirillum brasilense</i>	7
1.6 Proteínas vegetais.....	9
1.7 Referências.....	11
II - OBJETIVOS.....	17
2.1 Objetivos geral.....	17
2.2 Objetivos específicos.....	17
III - MATERIAL E MÉTODOS.....	18
3.1 Características gerais.....	18
3.2 Instalação do experimento e delineamento experimental.....	19
3.3 Avaliações.....	20
3.3.1 Umidade do solo.....	20
3.3.2 Condutância estomática.....	20
3.3.3 Avaliações bioquímicas.....	21

3.3.3.1 Carboidratos.....	21
3.3.3.2 Fracionamento de proteína.....	21
3.3.3.3 Prolina.....	21
3.3.4 Índice Spad.....	22
3.3.5 Estimativa do acúmulo diário de forragem.....	22
3.3.6 Produção de massa seca.....	22
3.3.7 Índice de área foliar.....	23
3.3.8 Avaliações anatômicas.....	23
3.3.9 Análises bromatológicas.....	24
3.4 Análise estatística.....	25
IV - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
4.1 Respostas fisiológicas e avaliações bioquímicas do capim Marandu submetido a fontes de nitrogênio e níveis de sombreamento.....	26
4.2 Estimativa do acúmulo diário de forragem, produção e índice de área foliar do capim Marandu submetido a fontes de nitrogênio e níveis de sombreamento.....	41
4.3 Aspectos anatômicos e nutricionais do capim Marandu submetido a fontes de nitrogênio e níveis de sombreamento.....	49
V- CONCLUSÕES.....	64
VI- REFERÊNCIAS.....	65

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Temperatura máxima, mínima, média e precipitação na área experimental no período entre 01 dezembro 2018 a 28 de fevereiro de 2019.....	18
Figura 2. Secção transversal da folha do capim Marandu.....	24
Figura 3. Secção paradérmica da folha do capim Marandu.....	24
Figura 4. Proporção da massa seca em relação a massa fresca (%) na folha do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento.....	26
Figura 5. Umidade do solo (%) em função de diferentes níveis de sombreamento.....	27
Figura 6. Condutância estomática ($\text{mmol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) na folha do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento.....	27
Figura 7. Temperatura do limbo foliar ($^{\circ}\text{C}$) do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento.....	28
Figura 8. Capim Marandu no início do período experimental em função de diferentes fontes de nitrogênio e níveis de sombreamento (pleno sol (A), 30% (B), 50% (C) e 70% (D)).....	29
Figura 9. Capim Marandu no final do período experimental em função de diferentes fontes de nitrogênio e níveis de sombreamento (pleno sol (A), 30% (B), 50% (C) e 70% (D)).....	29
Figura 10. Clorofila Spad na folha do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento e fontes de nitrogênio: sem nitrogênio (Sem N), <i>Azospirillum brasilense</i> (Azo) e 100 Kg de N.ha^{-1} (Ureia).....	30
Figura 11. Teores de açúcares solúveis totais (AST) na folha e no pseudocolmo (mg.g^{-1} de MS) do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento e fontes de nitrogênio: sem nitrogênio (Sem N), <i>Azospirillum brasilense</i> (Azo) e 100 Kg de N.ha^{-1} (Ureia).....	32
Figura 12. Teores de amido no pseudocolmo (mg.g^{-1} de MS) do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento e fontes de nitrogênio: sem nitrogênio (Sem N), <i>Azospirillum brasilense</i> (Azo) e 100 Kg de N.ha^{-1} (Ureia).....	33

Figura 13. Teores de prolina na folha (mg.g^{-1} de MS) do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento.....	35
Figura 14. Teores de albumina, globulina, prolamina, glutelina e proteína total (mg.g^{-1} de MS) na folha do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento e fontes de nitrogênio: sem nitrogênio (Sem N), <i>Azospirillum brasilense</i> (Azo) e 100 Kg de N.ha^{-1} (Ureia).....	37
Figura 15. Produção diária de folhas e produção total diária do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento e fontes de nitrogênio: sem nitrogênio (Sem N), <i>Azospirillum brasilense</i> (Azo) e 100 Kg de N.ha^{-1} (Ureia).....	41
Figura 16. Produção diária de pseudocolmo do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento.....	42
Figura 17. Massa seca do limbo foliar (MSLF), do pseudocolmo (MSPc) e da parte aérea (MSPA) em ton.ha^{-1} do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento.....	44
Figura 18. Massa seca do material morto (MSMM) em ton.ha^{-1} do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento e fontes de nitrogênio: sem nitrogênio (Sem N), <i>Azospirillum brasilense</i> (Azo) e 100 Kg de N.ha^{-1} (Ureia).....	46
Figura 19. Índice de área foliar (IAF) do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento e fontes de nitrogênio: sem nitrogênio (Sem N), <i>Azospirillum brasilense</i> (Azo) e 100 Kg de N.ha^{-1} (Ureia).....	47
Figura 20. Densidade estomática nas faces adaxial e abaxial ($\text{n}^{\circ}/\text{mm}^2$) e diâmetro polar (μm) na face adaxial da folha do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento e fontes de nitrogênio: sem nitrogênio (Sem N), <i>Azospirillum brasilense</i> (Azo) e 100 Kg de N.ha^{-1} (Ureia).....	50
Figura 21. Diâmetro polar abaxial e equatorial adaxial (μm) na folha do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento.....	51
Figura 22. Razão diâmetro polar/diâmetro equatorial (μm) das faces adaxial e abaxial na folha do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento.....	52
Figura 23. Fibra em detergente neutro (FDN), ácido (FDA) e lignina (% na MS) de folhas do capim Marandu em função de níveis de sombreamento.....	59
Figura 24. Fração A e B1 + B2 (% da PB) de folhas do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento e fontes de nitrogênio: sem nitrogênio (Sem N), <i>Azospirillum brasilense</i> (Azo) e 100 Kg de N.ha^{-1} (Ureia).....	61

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Clorofila Spad na folha do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento e fontes de nitrogênio: sem nitrogênio (Sem N), <i>Azospirillum brasilense</i> (Azo) e 100 Kg de N.ha ⁻¹ (Ureia).....	31
Tabela 2. Teores de açúcares solúveis totais (AST) na folha e no pseudocolmo, e amido no pseudocolmo (mg.g ⁻¹ de MS) do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento e fontes de nitrogênio: sem nitrogênio (Sem N), <i>Azospirillum brasilense</i> (Azo) e 100 Kg de N.ha ⁻¹ (Ureia).....	34
Tabela 3. Teores de albumina, globulina, prolamina, glutelina e proteína total (mg.g ⁻¹ de MS) na folha do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento e fontes de nitrogênio: sem nitrogênio (Sem N), <i>Azospirillum brasilense</i> (Azo) e 100 Kg de N.ha ⁻¹ (Ureia).....	39
Tabela 4. Produção diária de folhas e produção total diária do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento e fontes de nitrogênio: sem nitrogênio (Sem N), <i>Azospirillum brasilense</i> (Azo) e 100 Kg de N.ha ⁻¹ (Ureia).....	43
Tabela 5. Massa seca do limbo foliar (MSLF), da parte aérea (MSPA) e do pseudocolmo (MSPc) em ton.ha ⁻¹ do capim Marandu em função de fontes de nitrogênio: sem nitrogênio (Sem N), <i>Azospirillum brasilense</i> (Azo) e 100 Kg de N.ha ⁻¹ (Ureia).....	45
Tabela 6. Massa seca do material morto (MSMM) em ton.ha ⁻¹ do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento e fontes de nitrogênio: sem nitrogênio (Sem N), <i>Azospirillum brasilense</i> (Azo) e 100 Kg de N.ha ⁻¹ (Ureia).....	47
Tabela 7. Índice de área foliar (IAF) do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento e fontes de nitrogênio: sem nitrogênio (Sem N), <i>Azospirillum brasilense</i> (Azo) e 100 Kg de N.ha ⁻¹ (Ureia).....	48
Tabela 8. Densidade estomática nas faces adaxial e abaxial (n°/mm ²) e diâmetro polar na face adaxial (µm) da folha do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento e fontes de nitrogênio: sem nitrogênio (Sem N), <i>Azospirillum brasilense</i> (Azo) e 100 Kg de N.ha ⁻¹ (Ureia).....	53
Tabela 9. Diâmetro (µm) polar (DP) e equatorial (DE) da face abaxial e equatorial da face adaxial na folha do capim Marandu em função das fontes de nitrogênio: sem nitrogênio (Sem N), <i>Azospirillum brasilense</i> (Azo) e 100 Kg de N.ha ⁻¹ (Ureia).....	54

Tabela 10. Razão diâmetro polar/diâmetro equatorial (μm) das faces adaxial e abaxial na folha do capim Marandu em função das fontes de nitrogênio: sem nitrogênio (Sem N), <i>Azospirillum brasilense</i> (Azo) e 100 Kg de $\text{N}\cdot\text{ha}^{-1}$ (Ureia).....	55
Tabela 11. Correlação entre a condutância estomática e características anatômicas da lâmina foliar do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento e fontes de nitrogênio.....	56
Tabela 12. Espessura da nervura central (ENC), do limbo foliar (ELF), do feixe vascular (EFV) e das células da bainha parenquimática do feixe vascular (EBPF) em μm do capim Marandu em função das fontes de nitrogênio: sem nitrogênio (Sem N), <i>Azospirillum brasilense</i> (Azo) e 100 Kg de $\text{N}\cdot\text{ha}^{-1}$ (Ureia).....	57
Tabela 13. Correlação entre as espessuras (μm) das células da bainha parenquimática do feixe vascular e as frações químicas da lâmina foliar do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento e fontes de nitrogênio.....	58
Tabela 14. Proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), ácido (FDA) e lignina (% na MS) de folhas do capim Marandu em função das fontes de nitrogênio: sem nitrogênio (Sem N), <i>Azospirillum brasilense</i> (Azo) e 100 Kg de $\text{N}\cdot\text{ha}^{-1}$ (Ureia).....	60
Tabela 15. Fração A e B1 + B2 (% da PB) de folhas do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento e fontes de nitrogênio: sem nitrogênio (Sem N), <i>Azospirillum brasilense</i> (Azo) e 100 Kg de $\text{N}\cdot\text{ha}^{-1}$ (Ureia).....	62
Tabela 16. Fração B3 e C (% da PB) de folhas do capim Marandu em função de diferentes fontes de nitrogênio: sem nitrogênio (Sem N), <i>Azospirillum brasilense</i> (Azo) e 100 Kg de $\text{N}\cdot\text{ha}^{-1}$ (Ureia).....	63

LISTA DE QUADROS

	Página
Quadro 1. Análise física do solo da área experimental.....	19
Quadro 2. Análise química do solo da área experimental.....	19

RESUMO

VIRGENS, Rômulo Spósito das. **Capim Marandu inoculado com *Azospirillum brasilense* e cultivado com nitrogênio sob sombreamento**. Itapetinga, BA: UESB, 2020. 69p. Tese. (Doutorado em Zootecnia, Área de Concentração em Produção de Ruminantes) *.

Objetivou-se avaliar o efeito de diferentes níveis de sombreamento artificial sobre as características fisiológicas, produtivas, anatômicas, nutritivas e de crescimento do capim *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, inoculado com *Azospirillum brasilense* ou adubado com ureia. O experimento foi conduzido no IFBAIANO, entre janeiro e fevereiro de 2019, em pastagem de 1,15 hectares. Foi delineado um esquema de parcelas subdivididas, sendo quatro níveis de sombreamento artificial utilizando sombrite (pleno sol, 30, 50 e 70%) e três fontes de nitrogênio (sem nitrogênio, inoculado com *A. brasilense* e adubado com 100 Kg de N.ha⁻¹), disposto em um DBC com quatro repetições, totalizando 16 parcelas com três subparcelas cada. Os dados de umidade do solo e condutância estomática foram crescentes em função dos níveis de sombreamento, já a temperatura, proporção massa seca/fresca, teores de prolina e açúcares solúveis totais do limbo foliar decresceram sob as mesmas condições, indicando o estresse hídrico ao final do período experimental nas parcelas ao pleno sol e no sombreamento aos 30%. Ocorre aumento linear das concentrações de clorofila (Spad) em função dos níveis de sombra, independente da fonte de nitrogênio, bem como da produção diária de folhas, produção total diária, massa seca do limbo foliar, massa seca do pseudocolmo e massa seca da parte aérea. *A. brasilense* e ureia provocam redução das concentrações dos açúcares solúveis totais na folha nos diferentes níveis de sombra. O Marandu tratado com ureia sob 30 e 50% de sombra apresenta resultados positivos na melhoria dos processos de síntese dos compostos contidos nas frações albumina, globulina, prolamina, glutelina e na proteína total do limbo foliar. A densidade estomática do limbo foliar demonstra tendência ao decréscimo em função dos níveis de sombra. Já o diâmetro polar dos estômatos cresceu em função do maior sombreamento, com exceção do capim submetido à inoculação com *A. brasilense* na face adaxial. Aos 30% de sombra ocorre crescimento da espessura das células da bainha parenquimática do feixe vascular na folha sob os tratamentos ureia e *A. brasilense*. FDN, FDA e lignina crescem linearmente em função dos níveis de sombra e a adubação com ureia favorece o aumento da proteína bruta. A inoculação com *A. brasilense* beneficia o maior teor da fração “A” (% da PB) ao pleno sol e da fração “B1 + B2” aos 30% de sombra. Além disso, contribui para a redução das concentrações da fração “B3”. O Marandu demonstra plasticidade fenotípica quando submetido a diferentes níveis de sombreamento. As fontes de nitrogênio ureia e *A. brasilense* contribuem com o crescimento e desenvolvimento da gramínea ao pleno sol, bem como na mitigação dos impactos causados com a redução da irradiância no sombreamento 30 e 50%.

Palavras-chave: anatomia, bactéria diazotrófica, *Brachiaria brizantha*, crescimento, nutrição, tolerância a sombra.

* Orientadora: Daniela Deitos Fries, Dr^a. UESB e Co-orientadores: Fábio Andrade Teixeira, Dr. UESB e Daniel Lucas Santos Dias, Dr. UEFS.

ABSTRACT

VIRGENS, Rômulo Spósito das. Marandu grass inoculated with *Azospirillum brasilense* and cultivated with nitrogen under shade. Itapetinga, BA: UESB, 2020. 69p. Thesis. (DS in Zootechnics, Ruminant Production Concentration Area) *.

The objective was to evaluate the effect of different levels of artificial shading on the physiological, productive, anatomical, nutritional and growth characteristics of *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, inoculated with *Azospirillum brasilense* or fertilized with urea. The experiment was conducted at IFBAIANO, between January and February 2019, on 1.15 hectares of pasture. A split plot scheme was designed, with four levels of artificial shading using sombrite (full sun, 30, 50 and 70%) and three nitrogen sources (without nitrogen, inoculated with *A. brasilense* and fertilized with 100 kg of N.ha⁻¹), arranged in a DBC with four replications, totaling 16 plots with three subplots each. The data of soil moisture and stomatal conductance were increased due to the shading levels, since the temperature, proportion dry / fresh mass, levels of proline and total soluble sugars of the leaf blade decreased under the same conditions, indicating the water stress at the end of the experimental period in the plots under full sun and in the shading at 30%. There is a linear increase in chlorophyll concentrations (Spad) in function of the shade levels, regardless of the nitrogen source, as well as the daily production of leaves, total daily production, dry mass of the leaf blade, dry mass of the pseudostem and dry mass of the part aerial. *A. brasilense* and urea cause a reduction of the concentrations of total soluble sugars in the leaf at different levels of shade. Marandu treated with urea under 30 and 50% of shade shows positive results in the improving of the synthesis processes of the compounds contained in the albumin, globulin, prolamine, glutelin and total leaf limb protein fractions. The stomatal density of the leaf blade shows a tendency to decrease due to the shadow levels. The polar diameter of the stomata increased due to the greater shading, with the exception of grass subjected to inoculation with *A. brasilense* on the adaxial side. At 30% there is an increase of the thickness of the parenchymatic sheath cells of the vascular bundle on the leaf under the treatments urea and *A. brasilense*. FDN, FDA and lignin grow linearly as a function of shade levels and urea fertilization favors the increase in crude protein. Inoculation with *A. brasilense* benefits the highest content of the "A" fraction (% of CP) in full sun and the "B1 + B2" fraction at 30% shade. In addition, it contributes to the reduction of "B3" fraction concentrations. The Marandu shows phenotypic plasticity when subjected to different levels of shading. The sources of nitrogen urea and *A. brasilense* contribute to the growth and development of the grass in full sun, as well as in mitigating the impacts caused by the reduction of irradiance in shading 30 and 50%.

Keywords: anatomy, diazotrophic bacteria, *Brachiaria brizantha*, growth, nutrition, shade tolerance.

* Advisor: Daniela Deitos Fries, Dr^a. UESB and Co-supervisors: Fábio Andrade Teixeira, Dr. UESB and Daniel Lucas Santos Dias, Dr. UEFS.

I - REFERENCIAL TEÓRICO

1.1 Introdução

O Brasil se destaca como um dos principais países produtores de bovinos no mundo, sendo que a maioria deste plantel é produzido em áreas de pasto a pleno sol. Forrageiras tropicais são a principal fonte de alimento para os ruminantes (FARIA et al., 2018), porém, a degradação de pastagem tem se tornado um problema frequente em regiões produtoras (DIAS-FILHO, 2011), e boa parte destas áreas, devido ao manejo inadequado, são degradadas após o seu estabelecimento (PACIULLO et al., 2014). Isso implica em uma paulatina redução na biomassa da forragem, do conteúdo e digestibilidade da proteína bruta e consumo de matéria seca, indicando a necessidade de promover pesquisas que visem o equilíbrio entre a produção agrícola e a preservação ambiental (PACIULLO et al., 2014; SCHMIDT et al., 2017).

O sistema silvipastoril (SSP) é uma ferramenta que otimiza a bovinocultura através da combinação entre os componentes pecuário e florestal, visando incrementar a produtividade pelo manejo integrado dos recursos naturais. A implantação de sistemas silvipastoris, além de contribuir com a fertilidade do solo, auxilia na manutenção da umidade, propicia conforto térmico para os animais (PACIULLO et al., 2011) e contribui para melhoria da qualidade nutricional da pastagem (LOPES et al. 2017).

A integração de árvores com a atividade pastoril pode trazer benefícios ambientais e econômicos, contudo o sombreamento provocado pelo componente arbóreo afeta o desenvolvimento das plantas forrageiras. Neste sentido, a utilização do sombreamento artificial para investigar a tolerância de forrageiras, em função dos níveis de sombra, é uma alternativa para avaliar o comportamento plantas e possibilitar a recomendação de áreas de pastagens integradas com árvores.

A adubação nitrogenada é outro aspecto fundamental no estabelecimento das plantas forrageiras, pois o nitrogênio é o composto que mais se destaca entre os nutrientes limitantes na produção de pastagens, sendo essencial na síntese de proteínas e pigmentos dos tecidos vegetais (FREITAS et al. 2019).

Segundo Hungria et al. (2016) a utilização de bactérias diazotróficas, como por exemplo *Azospirillum brasilense*, é outra alternativa promissora para a recuperação de pastagens e aumento da produtividade da forragem. Estas bactérias beneficiam as plantas pela capacidade de incorporação de nitrogênio atmosférico no solo, via fixação biológica e, além disso, podem estimular a produção de fitormônios (FREITAS et al., 2019).

Estudos que investiguem a influência da adubação nitrogenada, o efeito da inoculação com *A. brasilense* na produtividade e qualidade do capim, bem como sua tolerância ao sombreamento, fornecem informações relevantes sobre o impacto dessas alternativas no cultivo de gramíneas e subsidia adoção de estratégias sustentáveis na recuperação e manejo de pastagens.

Neste sentido, este trabalho visou analisar o desempenho do *Brachiaria brizantha* cv. Marandu em função de diferentes fontes de nitrogênio e níveis de sombreamento.

1.2 Sistemas Silvopastoris

Nos últimos anos, vêm aumentando o interesse por estudos que apontam os Sistemas Silvopastoris (SSp) como alternativa para produção de bovinos a pasto. De acordo Paciuлло et al. (2011) os SSp podem diversificar a renda do produtor, promover o conforto térmico dos animais, melhorar a qualidade da forragem e a produção animal, além de conservar a biodiversidade e aumentar o sequestro de carbono.

Os SSp se caracterizam pela interação entre árvores, forrageiras e animais em uma mesma área (LOPES et al., 2017), e apresentam viabilidade técnica e econômica para bovinocultura a pasto (CASTRO et al., 2009), promovendo benefícios para os componentes do ecossistema: clima, solo, microrganismos, plantas forrageiras e animais (RIBASKI et al., 2005).

Alterações morfofisiológicas são observadas em plantas forrageiras cultivadas sob sombreamento (PACIULLO et al., 2008). Os vegetais possuem diferentes mecanismos que lhes permitem sobreviver e, com frequência, desenvolver-se nos ambientes complexos. Esses mecanismos são denominados de Adaptação e Aclimação ou Plasticidade Fenotípica, sendo a adaptação caracterizada por mudanças genéticas na população inteira, que foram fixadas por seleção natural durante muitas gerações. Já na aclimação ou plasticidade fenotípica, os indivíduos vegetais podem também responder às mudanças ambientais, alterando diretamente sua fisiologia ou morfologia para que possam sobreviver ao novo ambiente. Essas respostas não exigem nova modificação

genética (TAIZ & ZEIGER, 2013). Os elementos abióticos que influenciam o crescimento e desenvolvimento dos vegetais são os elementos minerais na solução do solo, luz, água e temperatura.

Os SSp podem contribuir para melhoria da qualidade e produção das pastagens. Com relação a qualidade, considerando o meio ambiente e às condições edafoclimáticas, o valor nutritivo das forrageiras é definido de acordo a sua composição química e digestibilidade e depende de fatores físicos e estruturais inerentes a planta (LOPES et al., 2017). Trabalho desenvolvido por Gobbi et al. (2011) corrobora com esta afirmativa, onde os autores observaram em *B. decumbens* redução linear da área ocupada pelos feixes vasculares, em função dos níveis crescentes de sombra. A diminuição de fibras gera menor produção de massa seca e pode alterar níveis de digestibilidade em ruminantes (RIBEIRO JUNIOR et al.; 2014). Faria et al. (2018) destaca a influência do sombreamento natural na qualidade da forragem, em especial no aumento do teor de proteína bruta.

Respostas positivas do efeito do sombreamento no teor proteico também foi observado por Paciullo et al. (2009) ao investigar as características produtivas e nutricionais do pasto em sistema agrossilvipastoril. Paciullo et al. (2007) demonstraram que em Sistemas Silvipastoris compostos por espécies do gênero *Brachiaria*, manejados adequadamente e sob sombreamento moderado (25 a 35% da radiação fotossinteticamente ativa (RFA), as produções de forragem podem ser próximas ou maiores do que em cultivos a pleno sol. Entretanto, Castro et al. (2009) destacam que a diminuição severa da RFA, com o sombreamento intenso, leva a redução das taxas fotossintéticas e consequente perdas na produção de forragem.

Paciullo et al. (2007), em trabalho que objetivou avaliar aspectos morfofisiológicos e o valor nutritivo de *B. decumbens*, sombreado por leguminosas arbóreas *Acacia mangium*, *A. angustissima*, *Mimosa artemisiana* e a arbustiva *Leucaena leucocephala* x *L. diversifolia*, além do *Eucalyptus grandis* comparado ao sol pleno, concluiu que sob sombreamento intenso houve redução dos valores de massa de forragem, densidade de perfilhos e índice de área foliar da gramínea, e que essas características não apresentaram alterações em sombreamento moderado. Ainda de acordo com este trabalho, foi possível verificar alterações morfológicas em *B. decumbens*, que possibilita elevar a interceptação da radiação fotossinteticamente ativa.

Martuscello et al. (2009) conduziram uma avaliação da produção e outras variáveis agronômicas de *B. decumbens* cv. Basilisk e *B. brizantha* cvs. Marandu e Xaraés

sob sombreamento artificial, visando seleção para utilização em condições naturais sob sombra de árvores e arbustos, e conclui que o capim braquiária é tolerante ao sombreamento moderado, pois a produtividade deste aumenta aos 50% de sombreamento. Já Paciullo et al. (2007) infere que sistema silvipastoril com leguminosas proporciona o aumento de proteína bruta e redução de fibra em detergente neutro, e eleva a digestibilidade in vitro da matéria seca da *B. decumbens*.

Algumas plantas expostas à variação ambiental (temperatura, pluviosidade, radiação, entre outros.) demonstram plasticidade fenotípica, expressa através de alterações bioquímicas, fisiológicas e morfológicas (DA SILVA NETO et al., 2015). Fatores ambientais modificados pelo sombreamento, influencia a qualidade da forragem, pois a digestibilidade da matéria seca e o teor de nutrientes dependem da composição morfológica, anatômica e química da planta (LIN et al., 2001).

O estudo das variáveis ambientais permite entender os processos envolvidos nas alterações da planta, os ganhos na produção e qualidade da forragem, bem como subsidiar trabalhos que propõem a melhoria do arranjo arbóreo e manejo dos SSp. Paciullo et al. (2008) relatam a importância de pesquisas que abordam aspectos relacionados ao efeito do sombreamento no crescimento da planta, buscando conhecer as respostas ecofisiológicas e a morfogênese de gramíneas forrageiras.

Uma alternativa para avaliar as respostas de gramíneas submetidas a diferentes níveis de luminosidade é a utilização do sombreamento artificial, que possibilita analisar a tolerância das forrageiras, visando sua utilização em sistemas silvipastoris (ANDRADE et al., 2015).

1.3 Nitrogênio e pastagem

O nitrogênio encontrado no solo, na sua maioria, está na forma orgânica ou como parte de organismos vivos. Os microorganismos presentes no solo modificam os compostos nitrogenados em amônia e nitrato. Essas moléculas são absorvidas em grandes quantidades e por isso necessitam de reposição por adução química ou orgânica (SCHEFER et al., 2016).

SILVA et al. (2013) apontam que para a melhoria da produtividade vegetal é necessário o aporte adequado de nutrientes em quantidade e proporção. Dentre os diversos nutrientes exigidos no processo de fertilização, o nitrogênio é o mais relevante, pois o processo de mineralização da matéria orgânica não é suficiente para atender as

necessidades das gramíneas com capacidade de produção (FAGUNDES et al., 2006). Além disso, o nitrogênio participa da formação de diferentes componentes celulares dos vegetais, tais como aminoácidos, clorofila e ácidos nucleicos (TAIZ et al., 2017).

O nitrogênio é o nutriente que mais está relacionado com a produtividade e qualidade das pastagens (GALINDO, et al., 2018), sendo a adubação nitrogenada de fundamental importância na recuperação e manejo de pastagens (SILVA et al., 2013). A utilização de nitrogênio na adubação de gramíneas é indispensável, pois interfere nas características estruturais do capim influenciando a produção animal por área e a disponibilidade de forragem (PARREIRA et al., 2015), devido ao aumento no número de perfilho, na produção de folhas e expansão do sistema radicular (GALINDO et al., 2018).

Os solos das regiões tropicais geralmente apresentam deficiência de nitrogênio e, conseqüentemente, influencia a redução da produção devido ao prejuízo da síntese de proteínas e pigmentos dos tecidos vegetais relacionados à fotossíntese (LOPES et al., 2013; SKONIESKI et al., 2017).

O processo de degradação dos solos, no cenário mundial, chega a 33%, com perda de produtividade e fertilidade (FAO, 2015). A degradação das pastagens brasileiras já atinge pelos menos 50% das áreas de pasto, necessitando de algum tipo de intervenção imediata (DIAS-FILHO, 2014; MACEDO et al., 2014).

A exploração extrativista e atividades agropecuárias intensivas tem acarretado o aumento das áreas de pastagens degradadas e afetado as características e qualidade do solo, sendo necessário a utilização de técnicas de manejo sustentáveis (COSTA et al., 2010; TERRA et al., 2019). Costa et al. (2010) apontam que devido à falta de adubação, a fertilidade do solo tem sido severamente prejudicada, e está entre os fatores que provocam a degradação das pastagens cultivadas, ressaltando a importância da adubação.

O incremento do nitrogênio no manejo nutricional do solo tem ocorrido majoritariamente via adubação química com o uso de compostos nitrogenados solúveis, onde metade do que é aplicado pode ser perdido por lixiviação e volatilização (REPKE et al., 2013). Os fertilizantes possuem um custo relevante para o produtor (VENDRAMINI et al., 2013), bem como para o meio ambiente, utilizando cerca de 1,2% de todo o consumo mundial de energia, sendo que, destes, 92,5% são usados para a produção dos fertilizantes nitrogenados (FRANCO & NETO, 2007).

Os adubos nitrogenados no Brasil, com elevados preços, representam 75% dos custos dos fertilizantes utilizados (LOPES & LIMA, 2015), onerando a produção animal baseada no pasto (AGUIRRE et al., 2018; LOPES & LIMA 2015), e estimulando a busca

de alternativas que visam minimizar os custos econômicos, bem como ambientais, sem que haja redução nas taxas de produtividade (GUIMARÃES et al., 2011).

A recuperação das pastagens requer um bom manejo do solo, garantindo a nutrição apropriada das plantas. Investir na fertilidade do solo é uma alternativa para retomar a capacidade produtiva do pasto em degradação, a utilização de adubação nitrogenada, por exemplo, contribui para o aumento da produção de forragem, principalmente para a recuperação de pastagens (SILVA et al., 2013). Para melhoria da produtividade é necessário o aporte adequado de nutrientes em quantidade e proporção, particularmente do nitrogênio, que é fundamental no aumento da biomassa (COSTA, et al., 2010; SILVA et al., 2013).

O aumento da produção de matéria seca da parte aérea e das raízes do capim, em resposta a adubação com macro e micro nutrientes, incluindo o nitrogênio, foi observado por Soares Filho et al. (1993), avaliando o efeito de diferentes tratamentos de fertilização e manejo na recuperação de pastagens degradadas de *Brachiaria decumbens*. Costa et al. (2010) verificaram que a adubação nitrogenada no capim Marandu levou ao aumento da produção de massa seca, redução nos teores de fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido. Já Bonfim-da-Silva & Monteiro (2006), analisando *Brachiaria*, verificou que as doses de nitrogênio influenciaram a produção de massa seca das lâminas foliares, dos colmos e bainhas.

1.4 Bactérias Diazotróficas

Uma alternativa a adubação química nitrogenada que vem sendo estudada é a utilização de bactérias capazes de fixar N₂ atmosférico, denominadas diazotróficas (ANDRADE et al., 2010). Estes microrganismos também podem ser caracterizados como bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP) devido às diversas formas em que elas contribuem com o crescimento e desenvolvimento vegetal.

As BPCP podem promover o crescimento das plantas fixando biologicamente o nitrogênio, mas também estimulando o crescimento radicular e desenvolvimento de raízes laterais e adventícias com melhoria na absorção e aproveitamento de água e nutrientes disponíveis no solo com a produção e ou indução da síntese de fitohormônios, tais como auxinas, giberelinas, citocininas. Além disso, podem contribuir no controle biológico de patógenos, produção de fosfatase, visando fosfatos insolúveis na rizosfera e melhoria nos mecanismos de tolerância a seca. O incremento nos mecanismos de

tolerância a seca refere-se ao ajuste osmótico durante o estresse, fechamento estomático, aumento de compostos fotossintéticos e fotoprotetores e a diminuição nos níveis de malondialdeído (agente citotóxico/produto da peroxidação lipídica) que é usado como indicador da produção de radicais livres. (COHEN et al., 2015; HUNGRIA et al., 2010; LOPES & LIMA 2015; VASSILEV et al., 2006). De acordo Araújo et al. (2012) os gêneros *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azospirillum* e o *Rhizobium* se destacam entre os estudos mais recentes.

As bactérias diazotróficas trazem benefícios às plantas devido a incorporação de nitrogênio atmosférico no solo, via fixação biológica (FREITAS et al. 2019). A fixação biológica de nitrogênio é o processo no qual o N_2 é reduzido a NH_4^+ , sendo conduzido por microrganismos procarióticos. Esses organismos fixadores incluem bactérias livres que vivem no solo; algas verde-azuladas que vivem na superfície da água ou no solo; algas verde-azuladas em associação simbióticas com fungos nos líquens ou com pequenas pteridófitas; e bactérias que vivem em associação ou simbiose com raízes, especialmente, de leguminosas (LOPES & LIMA, 2015). O estabelecimento da simbiose permite que N_2 fixado em NH_3 pela bactéria seja disponibilizado para a planta e que o gás carbônico (CO_2) fixado em carboidratos por meio da fotossíntese pelas plantas seja utilizado pelas bactérias (ANDRADE et al., 2010).

Além disso, BPCP também se associam com gramíneas (TAIZ et al., 2017), como por exemplo, bactérias de vida livre. Esses microrganismos podem ser classificados em anaeróbicos, aeróbicos e facultativos. Neste último grupo, as bactérias crescem tanto na presença como na ausência de oxigênio, mas a fixação de nitrogênio parece realizar-se sob condições anaeróbicas (LOPES & LIMA, 2015).

1.5 *Azospirillum brasilense*

Um exemplo de bactéria gram-negativa de vida livre utilizada em pesquisas de interesse agrônomo com gramíneas é o *Azospirillum brasilense*, que tem se mostrado promissora para o desenvolvimento destas plantas (NOVAKOWISKI et al., 2011; DARTORA et al., 2013). Andrade et al. (2016) afirmam que *A. brasilense* se destaca como BPCP devido a alguns aspectos positivos ao desenvolvimento vegetal, tais como, bactéria endofítica, ou seja, penetra nas raízes das plantas; apresenta antagonismo a agentes patogênicos; produz fitormônios; e ocorre em todos os tipos de solo e clima.

Repke et al. (2013) consideram que a versatilidade do metabolismo de carbono e nitrogênio destes microrganismos lhe confere competitividade no processo de colonização, se configurando como uma opção para reduzir o uso de fertilizantes nitrogenados (AGUIRRE et al., 2018), levando em conta que as bactérias podem contribuir com parte do nitrogênio necessário para o desenvolvimento da planta através de fixação biológica. Guimarães et al. (2016) relata que a associação entre *A. brasilense* e o capim Marandu favorece a nutrição nitrogenada da planta.

A utilização de *A. brasilense* pode ser considerado eficiente em solos com teor de matéria orgânica abaixo de 3,0, pois em áreas com elevada ciclagem de nutrientes, a fixação biológica de nitrogênio é pouco estimulada, sendo a interação das bactérias com o genótipo da planta, fatores abióticos e competitividade com os demais microrganismos do solo, aspectos fundamentais para esse processo (BERGAMASCHI, 2007; KANEKO et al., 2015). Outro fator que pode interferir na eficiência da inoculação é a disponibilidade adequada de nutrientes no solo, que não favorece a associação da bactéria com as gramíneas (HANISCH et al., 2017).

A inoculação com *Azospirillum* contribui para melhor crescimento vegetativo, maior acúmulo de matéria seca e raiz, além de minimizar os efeitos do estresse hídrico (PEDREIRA et al., 2017). A excreção de hormônios vegetais pelas bactérias, principalmente o ácido indolacético, beneficia o crescimento de plantas, bem como melhora a capacidade absorção de nutrientes e água (HUNGRIA et al., 2010; OKON & ITZIGSOHN, 1995).

A. brasilense tem demonstrado facilidade de se associar com gramíneas do gênero *Brachiaria*, conforme estudos de Hungria et al. (2016) e Okumura et al. (2013). Além disso, está relacionado com o aumento da produtividade e qualidade da forragem, sendo que quando é associado com adubação nitrogenada eleva a produção da gramínea (FREITAS et al., 2019). Pesquisas com *Brachiaria* realizados por Hungria et al. (2016), evidenciou que a inoculação com *A. brasilense* provocou o aumento da biomassa.

Hanisch et al. (2017) destacam que a maioria das pesquisas com inoculação de *A. brasilense* estão voltadas para cultura de milho e trigo, e ressaltam que há escassez de informações sobre o efeito dessa associação na disponibilidade e composição química da forragem.

1.6 Proteínas vegetais

As proteínas são polímeros de alto peso molecular, formadas por aminoácidos ligados entre si por ligações peptídicas. Nas plantas, as biomoléculas estão relacionadas com processos fisiológicos e metabólicos e a disponibilidade e a absorção de nitrogênio são fatores que influenciam sua concentração (TAIZ et al., 2017).

De acordo com Da silva & Silva (2009), as funções nos vegetais são atribuídas ao transporte de moléculas e formação de estruturas celulares, além de atuar como sinalizadores e reguladores de processos metabólicos essenciais para a sobrevivência e desenvolvimento da planta.

Nas plantas forrageiras, as proteínas são classificadas utilizando a velocidade de degradação ruminal para avaliar a qualidade nutricional do capim. Essa classificação utiliza o sistema de Cornell – CNCPS (Cornell Net Carbohydrate and Protein System) e divide as proteínas em cinco frações (A, B1, B2, B3 e C) para determinação das taxas de degradação no rúmen (SNIFFEN ET AL., 1992).

Para o fracionamento proteico que visa avaliar a qualidade nutricional do capim, a fração B (proteína verdadeira) é subdividida em fração rapidamente solúvel no rumem (fração B1), taxa de degradação intermediária (fração B2) e as proteínas associadas a parede celular com taxa de degradação lenta (fração B3) (SNIFFEN et al., 1992). A fração “A” é constituída pelo nitrogênio não protéico, aminoácidos livres e peptídeos e possui alta digestibilidade no rúmen. Já a fração “B” é representada pelas proteínas, sendo a “B1” de rápida degradação e a “B2” de degradação intermediária no rúmen (LEAL et al., 2017; RECH et al. 2010; SNIFFEN et al., 1992).

Outro aspecto considerado para classificar proteínas vegetais é a solubilidade, que avalia a mobilização dessas moléculas para os processos de germinação e desenvolvimento da planta (FOX et al., 2004; OSBORNE, 1924; SNIFFEN et al., 1992).

Osborne (1924) aponta que a essa classificação refere-se a capacidade de solubilidade de determinados grupos de proteínas em diferentes soluções (água, soluções salinas, etanol e soluções básicas), sendo distribuídas entre os seguintes grupos: as albuminas (solúveis em água) as globulinas (solúveis em soluções salinas), as prolaminas (solúveis em água e etanol 60 a 80%) e glutelina (solúveis em soluções diluídas de ácidos e bases).

As proteínas com função enzimática estão, em sua maioria, agrupadas entre as albuminas. As globulinas compreendem as proteínas de armazenamento no sentido

restrito e as prolaminas as proteínas de armazenamento verdadeiras. Já as proteínas estruturais ou de armazenamento que podem ter funções metabólicas são classificadas como glutelinas.

Sniffen et al. (1992), considerando o fracionamento proteico que avalia a qualidade nutricional, a fração B1 é formada por albuminas e globulinas, a fração B2 pela maioria das albuminas e globulinas e a fração B3 é composta por proteína ligada à parede celular sendo definidas como prolaminas e extensinas.

Diante da importância das proteínas vegetais nos processos metabólicos e na sobrevivência da planta, são escassos os trabalhos sobre esses compostos em capim. Portanto, pesquisas voltadas para estudo de proteína solúveis em plantas forrageiras, são indispensáveis, principalmente relacionando com o fracionamento e classificação das proteínas em função valor nutricional. Essas pesquisas podem colaborar para a compreensão da relação dessas proteínas com o desenvolvimento das gramíneas.

1.7 Referências

ANDRADE, W.R.; ALVES, D.D.; ROCHA, H.C.M. Características morfológicas e produtivas do capim-buffel submetido ao sombreamento artificial. In: FÓRUM DE ENSINO, PESQUISA, EXTENSÃO E GESTÃO, 9., 2015, Montes Claros. Anais... Montes Claros: FEPEG, 2015.

ANDRADE, A.T.; CONDÉ, A.B.T.; COSTA, R.L.; POMELA, A.W.V.; SOARES, A.L.S.; MARTINS, F.A.D.; LIMA, W.T.; OLIVEIRA, C.B. Produtividade de milho em função da redução do nitrogênio e da utilização de *Azospirillum brasilense*. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.15, n.2, p. 229-239, 2016.

ANDRADE, C.M.S.; ASSIS, G.M.L.; SALES, F.L.; Estilosantes Campo Grande: **Leguminosa Forrageira Recomendada para Solos Arenosos do Acre**. Rio Branco-AC: EMBRAPA ACRE, 2010.

AGUIRRE, P.F.; OLIVOC, J.; RODRIGUES, P.F.; FALK, D.R.; ADAMS, C.B.; SCHIAFINO, H.P. Forage yield of Coast cross-1 pastures inoculated with *Azospirillum brasilense*. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v.40, 2018.

BERGAMASCHI, C.; QUADROS, P.D.; ROESCH, L.F.W.; CAMARGO, F.A.O. Ocorrência de bactérias diazotróficas associadas a cultivares de sorgo forrageiro. **Ciência Rural**, v. 37, p. 727-733, 2007.

BONFIM-DA-SILVA, E.M.; MONTEIRO, F.A. Nitrogênio e enxofre em características produtivas do capim-braquiária proveniente de área de pastagem em degradação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.1289-1297, 2006.

CASTRO, C.R.T.; PACIULLO, D.S.C; GOMIDE, C.A.M.; MÜLLER, M.D.; Nascimento Jr, E.R. **Características agronômicas, massa de forragem e valor nutritivo de *Brachiaria decumbens* em sistema silvipastoril**. Juiz de fora-MG: EMBRAPA GADO DE LEITE, 2009.

COHEN, A.C., BOTTINI, R., PONTIN, M., *Azospirillum brasilense* ameliorates the response of *Arabidopsis thaliana* to drought mainly via enhancement of ABA levels. **Physiologia Plantarum**, v.153, p. 79–90, 2015.

COSTA, K.A.P.; FAQUIN, V.; OLIVEIRA, IP. Doses e fontes de nitrogênio na recuperação de pastagens do capim-marandu. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, p.192-199, 2010.

DA SILVA, J. J. R. F; SILVA, J. A. L. D-aminoácidos em biologia – mais do que se julga. **Química Nova**, v 32, p. 554-561, 2009.

DA SILVA NETO, S. P. et al. Spatial variation and area definition of nutrient extraction by Marandu grass biomass. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, p. 3383–3398, 2015.

DARTORA, J.; GUIMARÃES, V.F.; MARINE, D. SANDER, G. Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* na

cultura do milho, **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.17, p.1023–1029, 2013.

DIAS-FILHO, M. B. **Degradação de pastagens: processos, causas e estratégias de recuperação**. 4. ed. Belém, PA: MBDF, 2011.

DIAS-FILHO, M.B. **Diagnóstico das pastagens no Brasil**. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental; 2014.

FAGUNDES, J.L.; FONSECA, D.M.; MORAIS, R.V. Avaliação das características estruturais do capim-braquiária em pastagens adubadas com nitrogênio nas quatro estações do ano. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.30-37, 2006.

FAO. **Status of the world's soil resources (SWSR): main report**. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), 2015.

FARIA, B.M.; MORENZ, M.J.F.; PACIULLO, D.S.C.; LOPES, F.C.F.; GOMIDE, C.A.M. Growth and bromatological characteristics of *Brachiaria decumbens* and *Brachiaria ruziziensis* under shading and nitrogen. **Revista Ciência Agronômica**, v. 49, p. 529-536, 2018.

FOX, D.G.; TEDESCHI, L.O.; TYLUTKI, T.P. et al. The Cornell net carbohydrate and protein model for evaluating ruminant nutrition. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 112, p. 29-78, 2004.

FRANCO, J.A.M.; NETO, A.S. Produção de fertilizantes nitrogenados e suprimento de matéria-prima. In: YAMADA, T.; STIPP, S.R.; VITTI, G.C. **Nitrogênio e Enxofre na Agricultura Brasileira**. Piracicaba, SP: Editora IPNI, 2007.

FREITAS, P.V.D.X.; TOMAZELLO, D.A.; SILVA-NETO, C.M. Produção de gramíneas forrageiras inoculadas com *Azospirillum brasilense* associada à adubação nitrogenada. **Revista Científica Rural**, v.21, p.31-32, 2019.

GALINDO, F.S.; BUZETTI, S.; TEIXEIRA FILHO, M.C.M.; DUPAS, E. CARVALHO, F.C. Manejo da adubação nitrogenada no capim-mombaça em função de fontes e doses de nitrogênio. **Revista de Ciências Agrárias**, v.41, p. 900-913, 2018.

GOBBI, K. F. et al. Área Foliar Específica E Anatomia Foliar Quantitativa Do Capim-Braquiária E Do Amendoim-Forageiro Submetidos a Sombreamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n. 7, p. 1436–1444, 2011.

GUIMARÃES, S.L.; BONFIM-SILVA, E.M.; KROTH, B.B.; MOREIRA, J.C.F.M.; REZENDE, D. Crescimento e desenvolvimento inicial de *Brachiaria decumbens* inoculada com *Azospirillum* spp. **Enciclopédia Biosfera**, v.7, p.286-295, 2011.

GUIMARAES, S.L.; DOS SANTOS, C.S.; BONFIM-SILVA, A.E.M. Nutritional characteristics of marandu grass (*Brachiaria brizantha* cv. marandu) subjected to inoculation with associative diazotrophic bacteria, **African Journal of Microbiology Research**, v.10, p. 873-882, 2016.

HANISCH, A.L.; BALBINOT JR, A.A.; VOGT, G.A. Desempenho produtivo de *Urochloa brizantha* cv. Marandu em função da inoculação com *Azospirillum* e doses de nitrogênio. *Revista Agro@mbiente On-line*, v. 11, p. 200-208, 2017.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J., SOUZA, E. M. E PEDROSA, F. O. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. *Plant and Soil*, v. 331, 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 and Environment*, v.221, p.125-131, 2016.

KANEKO, F.H.; SABUNDJIAN. M.T.; ARF, O.; FERREIRA, J.P., DOUGLAS DE CASTILHO GITTI, D. C.; LEAL, A.J.F. Análise econômica do milho em função da inoculação com *Azospirillum*, fontes e doses de N em Cerrado de baixa altitude. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, v. 14, p. 23-37, 2015.

LEAL, D.M.; FRANÇA, A.F.S.; OLIVEIRA, L.G.; CORREA, D.S.; ARNHOLD, E.; FERREIRA, R.N.; BASTOS, D.C.; BRUNES, L.C. Fracionamento de carboidratos e proteínas da *Brachiaria* híbrida 'Mulato II' sob adubação nitrogenada e regime de cortes. *Archivos de Zootecnia*, v.66, p. 181-188. 2017.

LIN, C.H.; MCGRAW, M.L.; GEORGE, M.F.; GARRET, H.E. Nutritive quality and morphological development under partial shade of some forage species with agroforestry potential. *Agroforestry Systems*, v.53, p.269-281, 2001.

LOPES, M. N.; CÂNDIDO, J. D.; POMPEU, R. C. F. F.; SILVA, R. G.; LOPES, J. W. B.; FERNANDES, F. R. B.; LACERDA, C. F.; BEZERRA, F. M. L. Fluxo de biomassa em capim-massai durante o estabelecimento e rebrotação com e sem adubação nitrogenada. *Revista Ceres*, Viçosa, v.60, p.363-371, 2013.

LOPES, N.F.; LIMA, M.G.S. **Fisiologia da Produção**. Viçosa, MG: Ed.UFV, 2015.

LOPES, C.M.; PACIULLO, D.S.C.; ARAÚJO, S.A.C.; MORENZ, M.J.F.; GOMIDE, C.A.M.; MAURÍCIO, R.M.; BRAZ, T.G.S. Plant morphology and herbage accumulation of signal grass with or without fertilization, under different light regimes. *Ciência Rural*, v.47, p. 1-7, 2017.

MACEDO, M.C.M.; ZIMMER, A.H.; KICHEL, A.N.; ALMEIDA, R.G.; ARAUJO, A.R. Degradação de pastagens, alternativas de recuperação e renovação, e formas de mitigação. In: ENCONTRO DE ADUBAÇÃO DE PASTAGENS DA SCOT CONSULTORIA - TEC - FÉRTIL, 1., 2013, Ribeirão Preto, SP. *Anais... Bebedouro: Scot Consultoria*, p. 158-181, 2014.

MARTUSCELLO, J.A.; JANK, L.; GONTIJO NETO, M.M.; LAURA, V.A.; DA CUNHA, D.N.F.V. Produção de gramíneas do gênero *Brachiaria* sob níveis de sombreamento. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.38, p.1183-1190, 2009.

NOVAKOWISKI, J.H.; SANDINI, I.E.; FALBO, M.K.; MORAES, A.; NOVAKOWISKI, J.; CHENG, N.C. Efeito residual da adubação nitrogenada e

inoculação de *Azospirillum brasilense* na cultura do milho. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, p. 1687-1698, 2011.

OSBORNE, T. B. **The vegetable proteins**. 2.ed. London: Longmans Green and company, p.154, 1924.

OKON, Y.; ITZIGSOHN, R. The development of *Azospirillum* as a commercial inoculant for improving crop yield. **Biotechnology Advances**, v. 13, p. 415-424, 1995.

OKUMURA, R.S.; MARIANO, D.C.; DALLACORT, R.; ALBUQUERQUE, A.N.; LOBATO, A.K.S.; GUEDES, E.M.S.; OLIVEIRA NETO, C.F.; CONCEIÇÃO, H.E.O.; ALVES, G.R. *Azospirillum*: A new and efficient alternative to biological nitrogen fixation in grasses. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, v.11, p. 1142-1146, 2013.

PACIULLO, D.S.C.; CARVALHO, C.A.B. de; AROEIRA, L.J.M.; MORENZ, M.J.F.; LOPES, F.C.F.; ROSSIELLO, R.O.P. Morfofisiologia e valor nutritivo do capim-braquiária sob sombreamento natural e a sol pleno. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, p.573-579, 2007.

PACIULLO, D.S.C.; CAMPOS, N.R.; GOMIDE, C.A.M. Crescimento de capim-braquiária influenciado pelo grau de sombreamento e pela estação do ano. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, p.917-923, 2008.

PACIULLO, D. S. C. et al. Características do pasto e desempenho de novilhas em sistema silvipastoril e pastagem de braquiária em monocultivo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, p. 1528–1535, 2009.

PACIULLO, D. S. C.; GOMIDE, C. A. M.; CASTRO, C. R. T.; FERNANDES, P. B.; MÜLLER, M. D.; PIRES, M. F. A.; FERNANDES, E. N.; XAVIER, D. F. Características produtivas e nutricionais do pasto em sistema agrossilvipastoril, conforme a distância das árvores. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.46, p. 1176–1183, 2011.

PACIULLO, D.S.C.; PIRES, M.F.A.; AROEIRA, L.J.M.; MORENZI, M.J.F.; MAURÍCIO, R.M.; GOMIDE, C.A.M.; SILVEIRA, S.R. Sward characteristics and performance of dairy cows in organic grass–legume pastures shaded by tropical trees. **Animal**, v.8, p. 1264–1271, 2014.

PARREIRA, L. H. M.; MARTINS, M. E. P.; RIBEIRO, M. M.; SENA-JÚNIOR J. M. efeito da bactéria *Azospirillum brasilense* na adubação química e orgânica em pastagens constituídas de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. **Enciclopédia Biosfera**, v.11, p. 838-850, 2015.

PEDREIRA, B.C.; BARBOSA, P.L.; PEREIRA, L.E.T. Tiller density and tillering on *Brachiaria brizantha* cv. Marandu pastures inoculated with *Azospirillum brasilense*. **Arquivos Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.69, 2017.

RECH, C.L.S; RECH, J.L.; PIRES, A.J.V. **Manual prático de análises de alimentos para animais de interesse zootécnico**. Vitória da Conquista-BA: Edições UESB,2010.

REPKE, R.A; CRUZ, J.S.; DA SILVA, C.J.; FIGUEIREDO, P.G.; BICUDO, S.J. Eficiência da *Azospirillum brasilense* combinada com doses de nitrogênio no

desenvolvimento de plantas de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.12, p. 214-226, 2013.

RIBASKI, J.; DEDECEK, R.A.; MATTEI, V.; FLORES, C.A.; VARGAS, A.F.C.; RIBASKI, S.A.G. **Sistemas Silvopastoris: Estratégias para o Desenvolvimento Rural Sustentável para a Metade Sul do Estado do Rio Grande do Sul**. Colombo: Embrapa Florestas, 2005.

RIBEIRO JÚNIOR, N. G.; ARIANO, A. P. R.; SANTOS, M. A.; GERVAZIO, W.; SILVA, I. V. Comparação morfoanatômica do caule e folha de *Panicum maximum* (jacq.) cv Mombaça em dois sistemas de pastagens. **Enciclopédia Biosfera**, v.10, n.18; p. 936, 2014.

SCHEFER, A.; CIPRIANI, K.; CERICATO, A.; SORDI, A.; LAJÚS, C. R. Eficiência técnica e econômica da cultura da soja submetida à aplicação de fertilizantes nitrogenados em semeadura e cobertura. **Revista Scientia Agraria**, Curitiba v.17, p.14-20. 2016.

SCHMIDT, D.; CARON, B.O.; PILAU, J.; NARDINO, M.; ELLI, E.F. Morfoanatomia foliar de azevém no sub-bosque de espécies arbóreas em sistemas agroflorestais. **Revista Ceres**, v. 64, p. 368-375, 2017.

SILVA, D.R.G.; COSTA, K.A.P.; FAQUIN, V.; OLIVEIRA, I.P.O.; BERNARDES, T.F. Doses e fontes de nitrogênio na recuperação das características estruturais e produtivas do capim-marandu. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 44, p. 184-191, 2013.

SKONIESKI, F. R.; VIÉGAS, J.; MARTIN, T. W.; NORNBORG, J. L.; MEINERZ, G. R.; TONIN, T. J.; BERNHARD, P.; FRATA, M. T. Effect of seed inoculation with *Azospirillum brasilense* and nitrogen fertilization rates on maize plant yield and silage quality. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.46, p.722-730, 2017.

SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; VAN SOEST, P.J. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v.70, p.3562-3577, 1992.

SOARES FILHO, C.; MONTEIRO, F.A.; CORSI, M. Recuperação de pastagens degradadas de *Braquiária decumbens*. 1.Efeito de diferentes tratamentos de fertilização e manejo. **Revista Pasturas Tropicales**, v.14, p. 2-6, 1992.

TAIZ, L.; ZEIGER, E; MOLLER, I.M.; MURPHY, A. **Fisiologia Vegetal**. 6^oed.; Porto Alegre: Artmed; 2017.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**; 5ed.; Porto Alegre: Artmed; 2013.

TERRA, A.B.C.; FLORENTINO, L.A.; REZENDE, A.V.; SILVA, N.C. Leguminosas forrageiras na recuperação de pastagens no Brasil Forage legumes in pasture recovery in Brazil. **Revista de Ciências Agrárias**, v.42, p. 305-313, 2019.

VASSILEV, N.; VASSILEVA, M.; NIKOLAEVA, I. Simultaneous P-solubilizing and biocontrol activity of microorganisms: potentials and future trends. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.71, p.137-144, 2006.

VENDRAMINI, J.M.B.; DUBEUX JR, J.C.B.; SILVEIRA, M.L.; SILVA, H.M.S. O papel da leguminosa na ciclagem de nitrogênio em pastos consorciados. In: SIMPÓSIO DE FORRAGICULTURA E PASTAGEM: A FORRAGICULTURA E AS SUAS RELAÇÕES COM O SOLO, O AMBIENTE E O ANIMAL, 9., 2013, Lavras. **Anais...**Lavras: UFLA, p. 51-62, 2013.

II – OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar o efeito de diferentes níveis de sombreamento artificial sobre as características fisiológicas, produtivas, anatômicas, nutritivas e de crescimento do capim *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, inoculado com *Azospirillum brasilense* ou adubado com ureia.

2.2 Objetivos Específicos

- ✓ Verificar alterações fisiológicas e bioquímicas do capim Marandu em resposta aos diferentes níveis de sombreamento artificial e inoculação com *Azospirillum brasilense* ou adubação com nitrogênio, por meio das análises de carboidratos, fracionamento de proteínas e prolina;
- ✓ Estimar a produção de massa seca e avaliar o crescimento do capim Marandu submetido a diferentes níveis de sombreamento e inoculação com *Azospirillum brasilense* ou adubação com nitrogênio;
- ✓ Verificar alterações anatômicas no limbo foliar do capim Marandu em resposta aos diferentes níveis de sombreamento artificial e inoculação com *Azospirillum brasilense* ou adubação com nitrogênio;
- ✓ Avaliar a qualidade nutricional do capim Marandu em resposta aos diferentes níveis de sombreamento artificial e inoculação com *Azospirillum brasilense* ou adubação com nitrogênio, por meio das análises bromatológicas.

III - MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Características gerais

O experimento foi conduzido no ano de 2019, no Instituto Federal Baiano – IFBaiano, Campus Itapetinga, no município de Itapetinga – Ba. As análises anatômicas, fisiológicas e bioquímicas foram realizadas no Laboratório de Anatomia e Fisiologia Ecológica de Plantas - LAFIEP, e as análises bromatológicas no Laboratório de Forragicultura e Pastagem, ambos localizados no Campus Juvino Oliveira da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB) em Itapetinga –Ba.

Os dados meteorológicos (precipitação pluviométrica e temperatura máxima, mínima e média) do período experimental foram pesquisados na página do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), captados pela Estação Meteorológica Automática do INMET, localizada no campus do IFBaiano de Itapetinga - Ba, sendo esta, a mais próxima da unidade experimental (Figura 1).

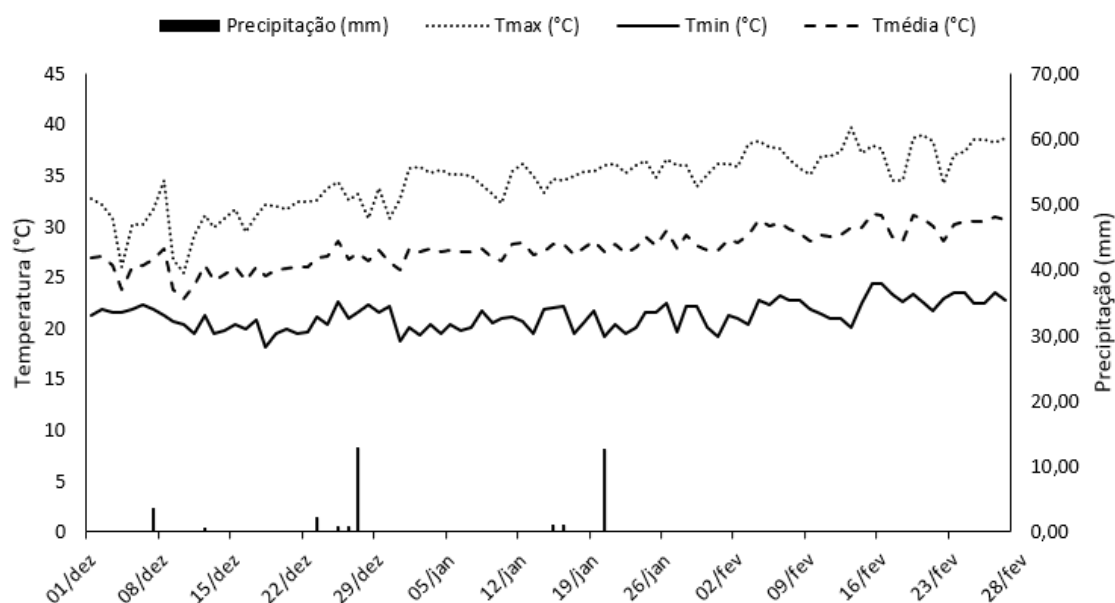


Figura 1. Temperatura máxima, mínima, média e precipitação na área experimental no período entre 01 dezembro 2018 a 28 de fevereiro de 2019.

Fonte: INMET (2020)

As atividades iniciais de cultivo e manejo agrônômico na área experimental ocorreram entre os meses de maio a setembro de 2018. A amostra de solo foi coletada na camada de 0-20 cm de profundidade, sendo o mesmo encaminhado para o Departamento de Engenharia Agrícola e Solos da UESB, campus de Vitória da Conquista - Ba para realização das análises físicas e químicas, que se encontram descritas no Quadro 1 e 2.

Quadro 1. Análise física do solo da área experimental.

Frações da amostra total (%)			Composição Granulométrica (tfsa g/Kg)				Classe Textural
Calh. 200-20 mm	Casc. 20-2 mm	Terra fina < 2 mm	Areia grossa 2- 0,20 mm	Areia fina 0,20-0,05 mm	Silte 0,05-0,002 mm	Argila < 0,002 mm	
0	0	100	155	400	175	270	Franco Argilo Arenosa

Fonte: Laboratório de Física de solos da UESB.

Quadro 2. Análise química do solo da área experimental.

pH	mg/dm ³	cmolc/dm ³ de solo								%	* g/dm ³	
H ₂ O	P	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H ⁺	S.B. ¹	T ²	T ³	V ⁴	M ⁵	M.O. ⁶
5,7	6	0,26	3,9	2,9	0,1	2,7	7,1	7,2	9,9	72	1	19

¹Soma de bases. ²CTC efetiva. ³CTC pH 7. ⁴Saturação por bases. ⁵Saturação por Al³⁺. ⁶Matéria orgânica.
Fonte: Laboratório de Química de solos da UESB.

Para cálculo de correção da acidez do solo e adubação foi considerado o médio nível tecnológico e a recomendação de Ribeiro et al. (1999). Não foi realizada calagem devido a saturação por bases do solo ser de 72% (Quadro 2). Para a adubação com potássio foi utilizado 33,3 kg.ha⁻¹ cloreto de potássio (20,0 kg.ha⁻¹ de K₂O) e para a adubação fosfatada aplicou-se 388,9 kg.ha⁻¹ de Super Simples (70 Kg.ha⁻¹ de P₂O₅). No plantio utilizou-se 5 kg.ha⁻¹ de sementes puras e viáveis, com 95% de pureza e 60% de germinação.

3.2 Instalação do experimento e delineamento experimental

A instalação do experimento ocorreu em outubro e novembro de 2018 e a coleta de dados realizada em um período compreendido entre 22 de janeiro a 19 de fevereiro de 2019, em uma pastagem de 1,15 hectares, constituída pelo capim *Brachiaria brizantha* cv. Marandu.

O experimento foi conduzido em um esquema de parcelas subdivididas, sendo quatro níveis de sombreamento artificial utilizando sombrite (pleno sol, 30, 50 e 70%) e três fontes de nitrogênio (sem nitrogênio, inoculado com *Azospirillum brasilense* e

adubado com 100 Kg de N.ha⁻¹), disposto em um delineamento em blocos casualizados (DBC) com quatro repetições, totalizando 16 parcelas com três subparcelas cada. Foram delimitadas parcelas experimentais de 9m² (3 x 3m), instaladas no campo com um espaçamento entre as subparcelas de um metro, e os sombrites montados a 1,80 metros do solo.

No início do período experimental, dia 22 de janeiro de 2019, foi realizado dentro das parcelas um corte de uniformização do pasto a 15 cm do solo, e aplicação dos tratamentos “fontes de nitrogênios”. Aplicou-se 100 Kg de N.ha⁻¹ via ureia e para inoculação do *A. brasilense* utilizou-se 300 ml.ha⁻¹ do produto comercial AZO TOTAL.

Devido à estiagem que ocorreu no período experimental (Figura 1) o capim dentro das parcelas experimentais foi irrigado com duas lâminas de 6 mm de coluna d’água cada, favorecendo a aplicação do *A. brasilense* e da ureia.

3.3 Avaliações

3.3.1 Umidade do solo

A determinação da umidade do solo foi realizada com o auxílio de sonda, três coletas simples por parcela experimental, correspondente aos níveis de sombreamento. Posteriormente essas amostras foram homogeneizadas e acondicionadas em sacos de papel e levados a estufa de circulação de ar forçada a 65°C por 72 horas, para futura pesagem em balança de precisão. A umidade do solo foi calculada a partir da razão solo seco/úmido.

3.3.2 Condutância estomática

A determinação do movimento estomático foi realizada em campo, no terço médio de três folhas completamente expandidas por parcela, que foram escolhidas aleatoriamente, no período compreendido entre 10 e 11 horas da manhã, por meio da utilização de um porômetro.

3.3.3 Análises Bioquímicas

3.3.3.1 Carboidratos

Os carboidratos foram quantificados e extraídos conforme metodologia adaptada de Fries et al. (2007). Açúcares solúveis totais e amido foram quantificados pelo método da Antrona (DISCHE, 1962).

3.3.3.2 Fracionamento de proteína

- Fração 1 (Albuminas) - extração com água destilada:

Foi pesado 0,5 g da amostra seca e macerado juntamente com o extrator: água destilada (volume do extrator 4ml), após foi incubado a 35 C°, por 30 minutos, sob agitação constante. Posteriormente a amostra foi centrifugada a 1200 g, por 20 minutos, e coleta do sobrenadante. Em seguida, o pellet foi ressuspensão com mais 3 ml de água destilada e centrifugado novamente para posterior coleta do sobrenadante, somando o com o anterior. Esta última etapa foi repetida mais uma vez.

- Fração 2 (Globulinas) - extração com NaCl 1%:

Ressuspender o pellet com 4 ml de NaCl 1% repetindo os mesmos processos descritos na fração 1.

- Fração 3 (Prolaminas) - extração com etanol 80%:

O mesmo processo da fração 2, porém substituindo o extrator (Etanol 80%).

- Fração 4 (Glutelinas) - extração com NaOH 100 mM.

O mesmo processo da fração 2, porém substituindo o extrator (Etanol NaOH 100 mM).

A quantificação foi realizada pelo método de Bradford (BRADFORD, 1976).

3.3.3.3 Prolina

A prolina foi determinada por meio da homogeneização de 100 mg de massa seca de folhas com 5 ml de ácido sulfosalicílico 3%, sendo mantido sob agitação constante, à temperatura ambiente, durante 60 minutos. Em seguida, as amostras foram filtradas em papel filtro e feita a quantificação segundo Bates et al. (1973).

3.3.4 Índice Spad

Para determinação do Índice Spad (clorofilas) foi utilizado no campo o aparelho Spad 502 Plus sempre as 10 horas da manhã. Foram realizadas leituras no terço médio de três folhas, completamente expandidas, escolhidas aleatoriamente dentro de cada parcela.

3.3.5 Estimativa do acúmulo diário de forragem

Para a estimativa do acúmulo diário de forragem, determinou-se a produção diária de folha, produção diária de pseudocolmo e a produção total diária. Após o corte de uniformização, foram marcados aleatoriamente 5 (cinco) perfilhos com fitas coloridas em cada parcela. No último dia do período experimental (28 dias) os perfilhos marcados foram cortados ao nível do solo e acondicionados em caixa térmica. Em seguida, realizou-se a medição das lâminas foliares e pseudocolmos e a secagem em estufa de ventilação forçada de ar a 65°C por 72hs. Posteriormente, o material foi pesado, sendo a massa de cada componente dividida pelo seu respectivo comprimento total, gerando um fator de conversão (mg.cm^{-1}) que transformou as leituras lineares da folha e do pseudocolmo expressas em cm/perfilho.dia , em $\text{mg.perfilho}^{-1}.\text{dia}^{-1}$. Para conversão da massa seca de forragem da folha e do pseudocolmo em $\text{kg.ha}^{-1}.\text{dia}^{-1}$ multiplicou-se pela densidade populacional de perfilhos em cada unidade experimental, resultando em produção diária de folhas e pseudocolmo, e a soma destes parâmetros em produção total diária da forragem. A densidade populacional foi calculada a partir da contagem dos perfilhos vivos encontrados em dois quadrados de $0,25\text{m}^2$, que foram lançados aleatoriamente na parcela.

3.3.6 Produção de massa seca

Ao final do período de avaliação de 28 dias foi realizado um corte para determinação da massa seca. O corte foi realizado com o auxílio de um quadrado de área de 1 m^2 ($1 \times 1\text{ m}$), régua graduada e tesoura de poda obedecendo à altura de corte de 15 cm do nível do solo. Para retirar o efeito de bordadura, o quadrado foi lançado duas vezes na área útil de cada parcela, totalizando uma área amostrada de 2 m^2 , deixando 0,50 metros em cada lado como bordadura. Logo após o corte, todo o material foi identificado e levado para o Laboratório de Anatomia e Fisiologia Ecológica de Plantas (LAFIEP),

sendo pesado para a posterior determinação da produção de massa seca da forragem. Para estimativa dos parâmetros massa seca do limbo foliar, massa seca do pseudocolmo, massa seca da parte aérea e massa seca do material morto, foi realizado o fracionamento das plantas em lâminas foliares verdes, colmos verdes (colmo + pseudocolmo) e material morto. Para determinação da pré-secagem, o material dissecado foi pesado fresco e após pré-secagem em estufa de circulação de ar forçada a 55°C por 72 horas, sendo, posteriormente, moído em moinho de facas, a 1 mm, para utilização nas análises bromatológicas e bioquímicas.

3.3.7 Índice de área foliar

Para determinação do índice de área foliar (IAF) utilizou-se o aparelho Ceptômetro modelo LP – 80. Realizou-se as coletas da radiação fotossinteticamente ativa (RFA), entre as 11:00 e 13horas, evitando dias nebulosos, fazendo três leituras acima e três abaixo do dossel. A média das leituras foi considerado o IAF.

3.3.8 Avaliações anatômicas

Para as avaliações anatômicas, foram coletadas 3 plantas por parcela, as quais foram fixadas e conservados em álcool 70%. As secções transversais e paradérmica foram obtidas à mão livre, por meio de lâminas de aço, na porção mediana da segunda folha, completamente expandida de cada perfilho. O preparo das lâminas foi realizado de acordo com Bukatsch (1972). Foram obtidas imagens digitalizadas das secções, por meio de uma câmera fotográfica acoplada a um microscópio Olympus BX41. As imagens foram analisadas por meio do software “ImajeJ”. Nas imagens de secção transversal das lâminas foliares, foram avaliadas a espessura da nervura central, espessura do feixe vascular central, espessura das células da bainha parenquimática do feixe vascular e espessura do limbo foliar (Figura 2). Nas imagens de secção paradérmica das lâminas foliares foram avaliadas a densidade estomática, diâmetro polar, diâmetro equatorial e razão diâmetro polar/equatorial (Figura 3).

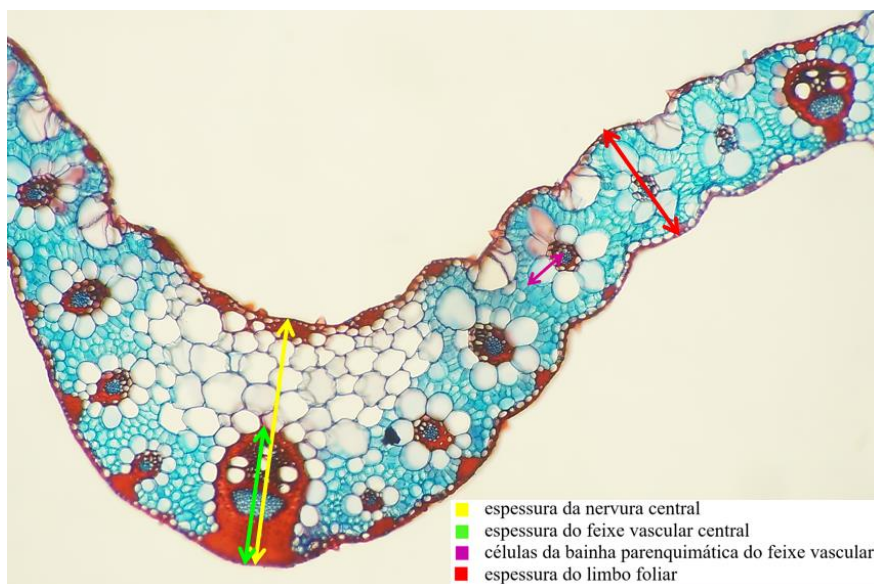


Figura 2. Secção transversal da folha do capim Marandu.

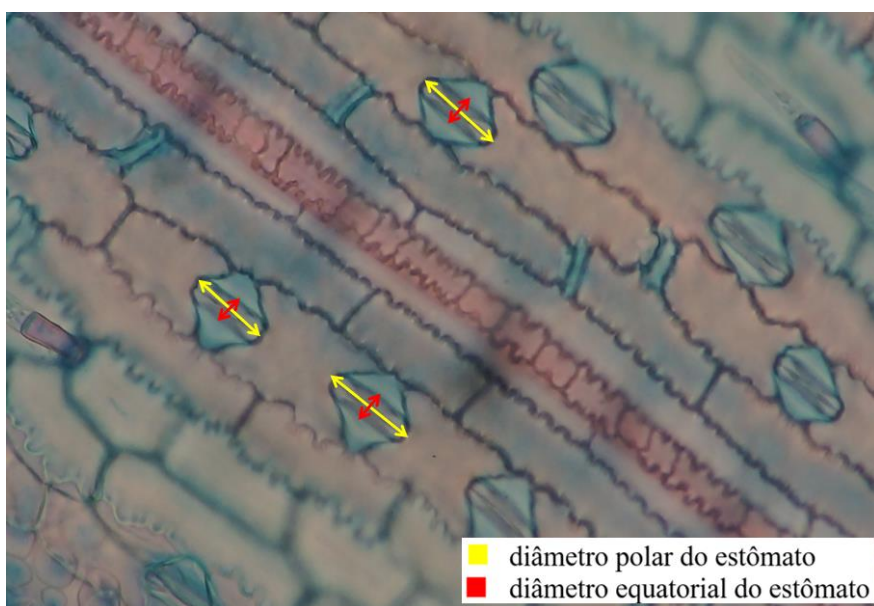


Figura 3. Secção paradérmica da folha do capim Marandu.

3.3.9 Análises bromatológicas

Todo o material moído a 1 mm foi submetido às análises de matéria seca definitiva (MS), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), lignina, compostos nitrogenados insolúveis em detergente neutro (NIDN) e ácido (NIDA) na folha conforme descrito por Detmann et al. (2012).

O teor de nitrogênio não-proteico (fração A) na folha foi determinado como a diferença entre o percentual do nitrogênio total na amostra e o valor de nitrogênio proteico

contido no resíduo após o tratamento com ácido tricloroacético (TCA) conforme descrito por Detmann et al. (2012). A fração B1+B2 foi obtida pela diferença entre o nitrogênio insolúvel em ácido tricloroacético (TCA) e o NIDN. A fração B3 da proteína foi obtida pela diferença entre NIDN e NIDA. E a fração C formada pelo NIDA.

As frações proteicas foram estimadas da seguinte maneira: Fração A = $N_t - N_r$
Frações B1+B2 = $N_r - N_{IDN}$; Fração B3 = $N_{IDN} - N_{IDA}$; Fração C = N_{IDA} .

Onde:

N_t = teor de nitrogênio total da amostra; N_r = teor de nitrogênio insolúvel após o tratamento com solução de TCA.

3.4 Análise Estatística

Os resultados foram submetidos a análise de variância, considerando como fonte de variação os níveis de sombreamento, as fontes de nitrogênio e a interação entre ambos, testado a 5% de probabilidade. A interação foi desdobrada, ou não, de acordo com a significância, e o efeito do sombreamento foi avaliado por análise de regressão, e as fontes de nitrogênio foram comparadas pelo teste de Tukey.

IV - RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Respostas fisiológicas e avaliações bioquímicas do capim Marandu submetido a fontes de nitrogênio e níveis de sombreamento.

A interação não foi significativa para a proporção da massa seca em relação a massa fresca (%) do limbo foliar do capim Marandu em função das fontes de nitrogênio e níveis de sombra (NS). Quando avaliados de forma independente, não foi constatada diferença significativa entre as fontes de nitrogênio, porém foi observado um comportamento linear decrescente com o aumento dos níveis de sombreamento (Figura 4), com redução da proporção massa seca/fresca. Isso pode ser explicado pelo aumento linear da umidade do solo em função dos níveis crescentes de sombreamento (Figura 5), apesar do baixo índice pluviométrico, durante o período experimental (Figura 01). Considerando a média do período, a umidade do solo aumentou em relação ao pleno sol, apresentando teores médios de umidade no solo de 22,3; 26,2 e 31,8% para 30, 50 e 70% de sombreamento, respectivamente.

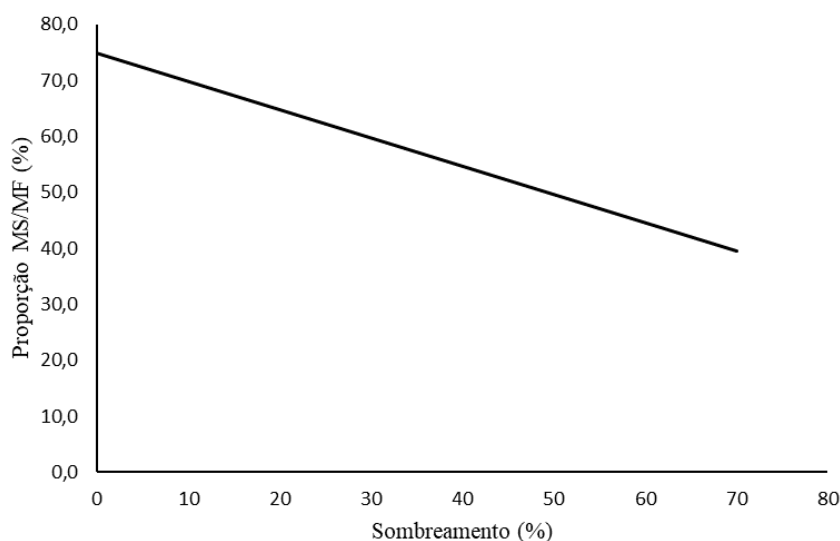


Figura 4. Proporção da massa seca em relação a massa fresca (%) na folha do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento.

*Significativo a $\alpha=0,05$ pelo teste F. Equação de regressão: $\hat{Y} = 74,9841 - 0,5055x$ ($R^2 = 0,9110$).

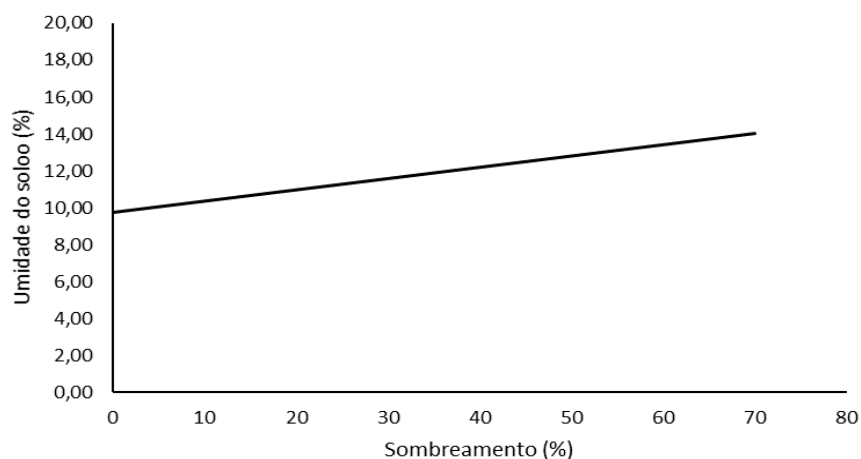


Figura 5. Umidade do solo (%) em função de diferentes níveis de sombreamento.
*Significativo a $\alpha=0,05$ pelo teste F. Equação de regressão: $\hat{Y} = 9,7251 + 0,0614x$
($R^2 = 0,9576$).

Observou-se que para a condutância estomática a interação não foi significativa entre as fontes de nitrogênio e os níveis de sombreamento. As fontes de nitrogênio não influenciaram a condutância estomática, contudo, houve efeito significativo em função do sombreamento, ajustando-se ao modelo linear crescente (Figura 6).

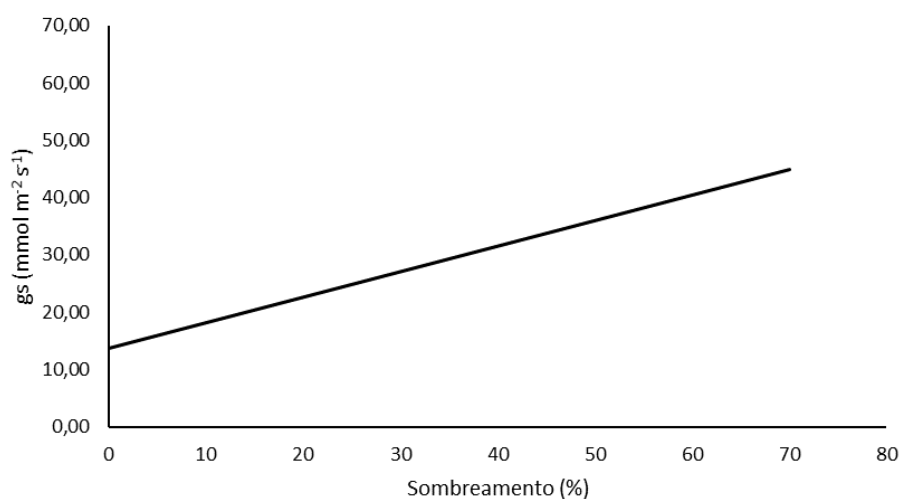


Figura 6. Condutância estomática (mmol.m⁻².s⁻¹) na folha do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento.
*Significativo a $\alpha=0,05$ pelo teste F. Equação de regressão: $\hat{Y} = 13,6841 + 0,4458x$ ($R^2 = 0,5506$).

Para a temperatura do limbo foliar a interação não foi significativa entre as fontes de nitrogênio e os níveis de sombreamento. A equação que melhor se ajustou para a temperatura do limbo foliar em função dos níveis de sombreamento foi a linear decrescente (Figura 7).

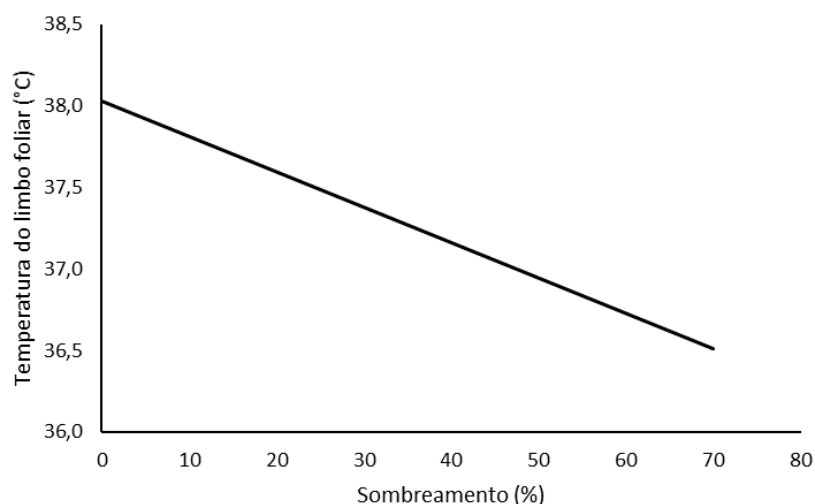


Figura 7. Temperatura do limbo foliar (°C) do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento.

*Significativo a $\alpha=0,05$ pelo teste F. Equação de regressão: $\hat{Y} = 38,0270 - 0,0217x$ ($R^2 = 0,7430$).

Esses resultados, quando avaliados em conjunto com os dados da proporção massa seca em relação a massa fresca do limbo foliar (Figura 4) e umidade do solo (Figura 5), e precipitação do período experimental (Figura 1), indicam que ocorreu estresse hídrico nas unidades experimentais submetidas ao pleno sol, e em menor grau no capim cultivado à 30% de sombreamento. As figuras 8 e 9 ilustram a diferença entre os tratamentos no início e no final do período experimental.

Com a menor umidade do solo as plantas fecham os estômatos visando conter a perda de água por transpiração, levando à redução da condutância estomática e, em consequência, à captura de CO_2 (BERGONCI & PEREIRA, 2002; Mc DERMIT, 1990). Transpirando menos a planta não consegue diminuir a temperatura do limbo foliar, conforme pode ser observado na figura 3 B.

Esses dados revelam uma combinação de diferentes estresses abióticos, seca e calor, que pode mudar as respostas fisiológicas das plantas quando comparado com os efeitos destes estresses isolados. Esta interação seca e calor tem como principal consequência, dentre outras, a elevação da temperatura do limbo foliar de 2 a 5°C, devido ao fechamento estomático (TAIZ et al., 2017).

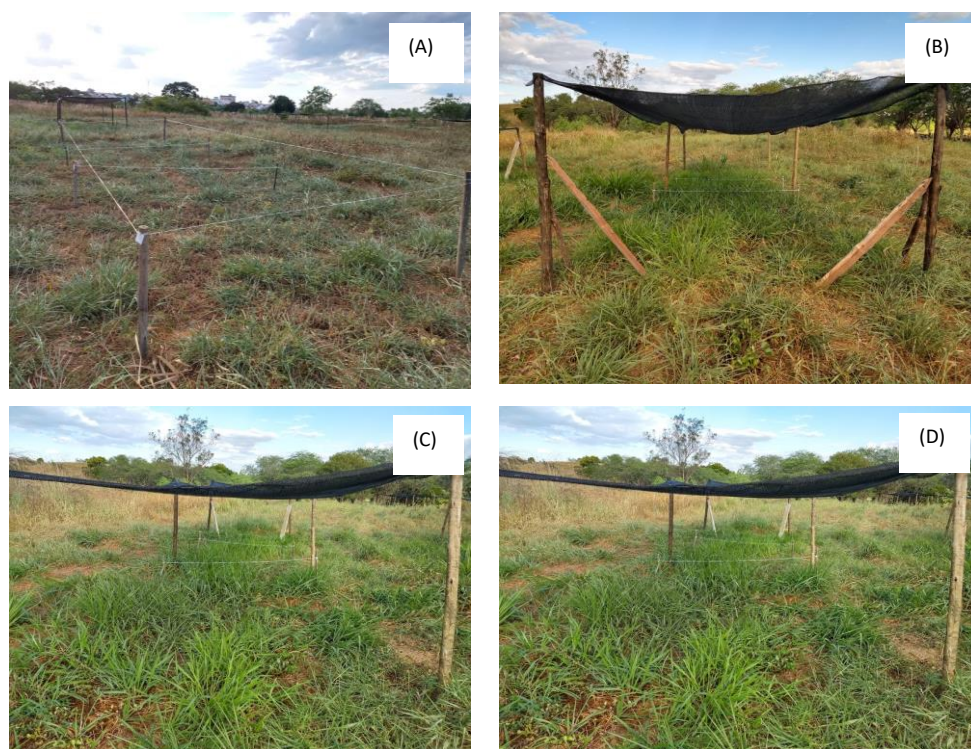


Figura 8. Capim Marandu no início do período experimental em função de diferentes fontes de nitrogênio e níveis de sombreamento (pleno sol (A), 30% (B), 50% (C) e 70% (D) de sombreamento).

Fotos: Autoria própria (21 de janeiro de 2019).

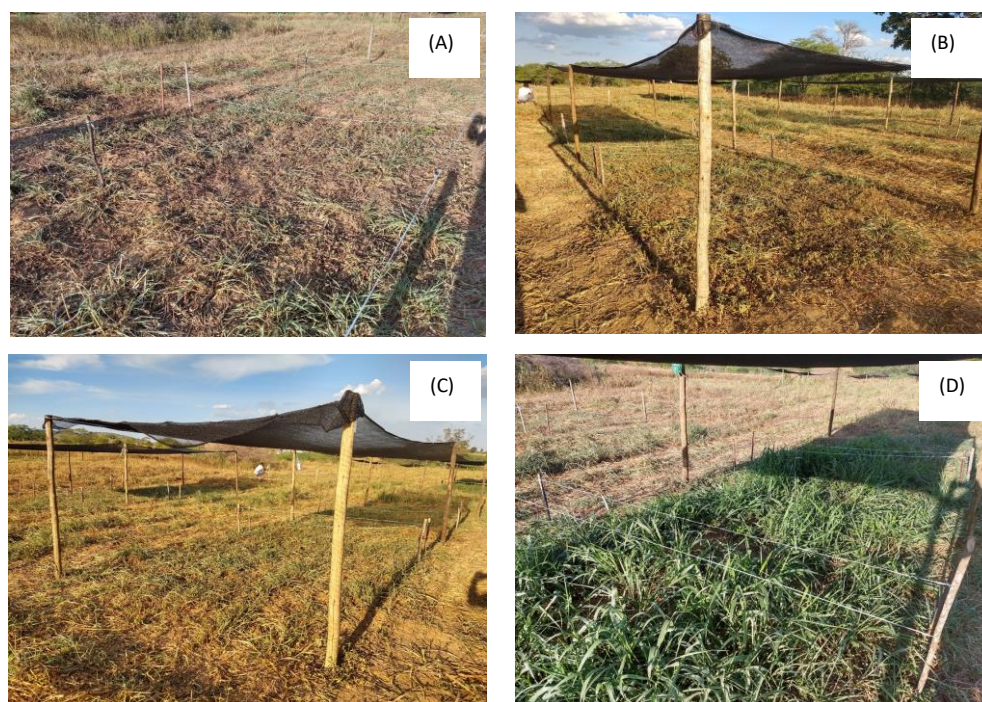


Figura 9. Capim Marandu no final do período experimental em função de diferentes fontes de nitrogênio e níveis de sombreamento (pleno sol (A), 30% (B), 50% (C) e 70% (D) de sombreamento).

Fotos: Autoria própria (13 de fevereiro de 2019).

Os teores de clorofila Spad na folha revelaram interação significativa entre as fontes de nitrogênio e os níveis de sombreamento. A equação de regressão linear crescente foi a que melhor se ajustou para os resultados do Spad, considerando as fontes de nitrogênio em função dos níveis de sombreamento (Figura 10).

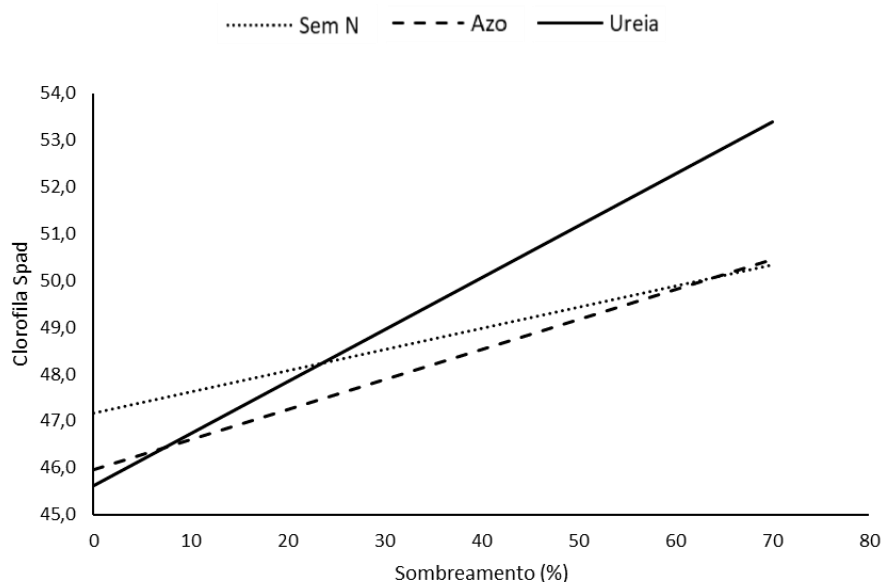


Figura 10. Clorofila Spad na folha do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento e fontes de nitrogênio: sem nitrogênio (Sem N), *Azospirillum brasilense* (Azo) e 100 Kg de N.ha⁻¹ (Ureia).

*Significativo a $\alpha=0,05$ pelo teste F. Equações de regressão: \hat{Y} Sem N = 47,1600 + 0,0453x ($R^2 = 0,8611$); \hat{Y} Azo = 45,9650 + 0,0640x ($R^2 = 0,7868$); \hat{Y} Ureia = 45,6170 + 0,1110x ($R^2 = 0,7457$).

O crescimento da clorofila Spad também foi evidenciado por Ramos et al. (2018) sob condição de sombreamento ao estudar *Brachiaria decumbens* em diferentes sistemas e estações. Resultados semelhantes foram verificados por Martuscello et al. (2009), quando avaliaram o índice Spad em gramíneas do gênero *Brachiaria* sob níveis de sombreamento.

Em resposta a incidência da radiação fotossinteticamente ativa, as folhas alteram sua morfologia e composição (STREIT et al., 2005), e sob maior sombreamento tendem a aumentar a quantidade de pigmentos fotossintéticos, como forma de compensar a perda de irradiância. Vários autores relatam que as plantas, quando submetidas a estresses abióticos, como a redução da radiação solar, realizam modificações morfológicas e bioquímicas em um processo de aclimação, em resposta ao ambiente que estão submetidas (TAIZ et al., 2017; DIAS-FILHO, 2015; GOBBI et al, 2011).

Analisando a clorofila Spad, em cada fonte de nitrogênio nos diferentes níveis de sombreamento, observa-se que apenas aos 50% o tratamento com ureia foi superior aos demais tratamentos fontes de nitrogênio (Tabela 1).

Tabela 1. Clorofila Spad na folha do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento e fontes de nitrogênio: sem nitrogênio (Sem N), *Azospirillum brasilense* (Azo) e 100 Kg de N.ha⁻¹ (Ureia).

FN	Sombra (%)				Médias
	0	30	50	70	
Sem N	47,58 a	47,99 a	49,02 b	50,84 a	48,86
Azo	46,03 a	48,49 a	47,74 b	51,20 a	48,36
Ureia	46,12 a	46,85 a	53,59 a	52,55 a	49,78
Médias	46,58	47,78	50,12	51,53	49,00
C.V. (%)	Sombra	6,08			
	FN	5,07			

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si, a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. FN = fontes de nitrogênio. CV (%) = coeficiente de variação.

O aumento da clorofila promovido pela ureia, sugere a importante contribuição do nitrogênio na formação desta molécula. O trabalho de Galindo et al. (2018), que investigaram o efeito de fontes e doses de nitrogênio no capim Mombaça, também demonstraram o aumento do teor de clorofila em função da disponibilidade de nitrogênio. Rocha & Costa (2018) verificaram um resultado linear no teor de clorofila (Spad) no desempenho do capim Paiaguás sob diferentes doses de adubação nitrogenada. Estes autores justificam que a oferta crescente de nitrogênio pode contribuir para um maior número de moléculas de clorofila e melhor eficiência fotossintética.

Os teores de açúcares solúveis totais (AST) na folha e no pseudocolmo, além do teor de amido no pseudocolmo apresentaram interação significativa entre as fontes de nitrogênio e os níveis de sombreamento (Figura 11 e 12). As curvas de regressão que melhor se ajustaram para os AST presentes na folha foram quadráticas, com os pontos de máxima concentração aos 10,4; 8,0 e 16,3% de sombreamento para as fontes de nitrogênio sem nitrogênio, *A. brasilense* e ureia, respectivamente (Figura 11 A).

Avaliando os AST contidos no pseudocolmo não foi observada diferença significativa para o tratamento sem nitrogênio em função dos diferentes níveis de sombreamento (YN0 = 121,1), porém, houve um ajuste linear decrescente para a fonte de nitrogênio *A. brasilense* e quadrático para ureia, com ponto de máxima em 24,5% de sombreamento (Figura 11B).

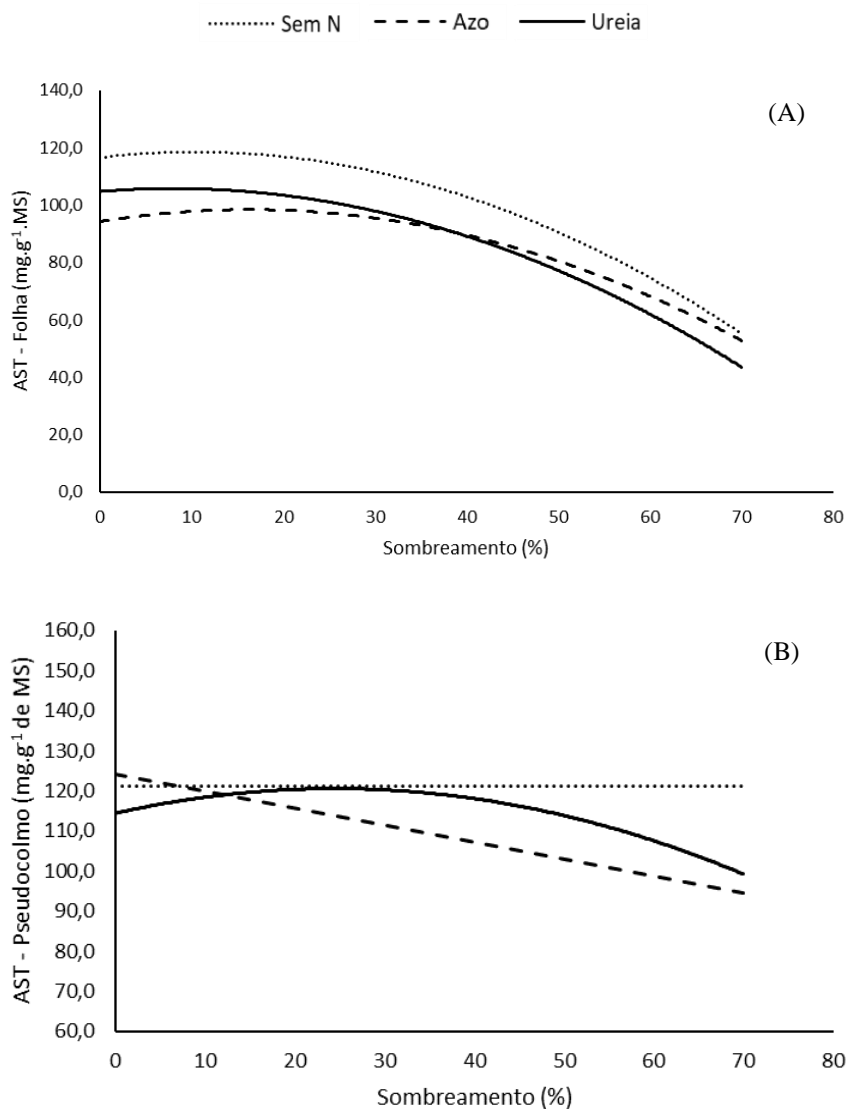


Figura 11. Teores de açúcares solúveis totais (AST) na folha e no pseudocolmo (mg.g^{-1} de MS) do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento e fontes de nitrogênio: sem nitrogênio (Sem N), *Azospirillum brasilense* (Azo) e 100 Kg de N.ha^{-1} (Ureia).

*Significativo a $\alpha=0,05$ pelo teste F. Equações de regressão:

AST - Folha: \hat{Y} Sem N = $116,6500 + 0,3702x - 0,0178x^2$ ($R^2 = 0,9814$); \hat{Y} Azo = $104,7500 + 0,2586x - 0,0162x^2$ ($R^2 = 0,9208$); \hat{Y} Ureia = $94,2510 + 0,5163x - 0,0158x^2$ ($R^2 = 0,9845$).

AST - Pseudocolmo: \hat{Y} Sem N = 121,0700; \hat{Y} Azo = $124,1300 - 0,4243x$ ($R^2 = 0,8648$); \hat{Y} Ureia = $114,3900 + 0,5037x - 0,0103x^2$ ($R^2 = 0,8792$).

Para o amido no pseudocolmo, todos os tratamentos fontes de nitrogênio em função dos maiores níveis de sombreamento, tiveram as curvas de regressão melhor ajustadas para linear decrescente (Figura 12).

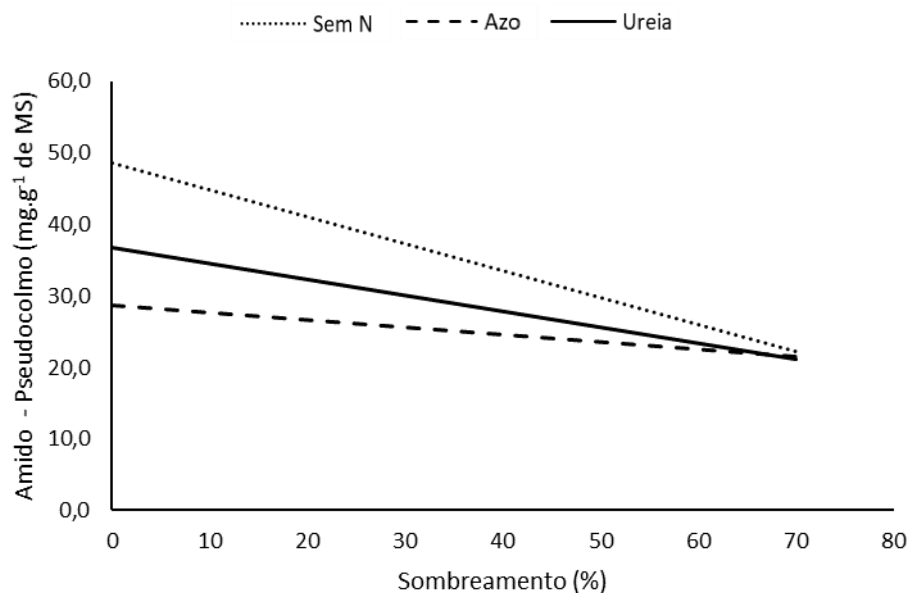


Figura 12. Teores de amido no pseudocolmo (mg.g⁻¹ de MS) do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento e fontes de nitrogênio: sem nitrogênio (Sem N), *Azospirillum brasilense* (Azo) e 100 Kg de N.ha⁻¹ (Ureia).

*Significativo a $\alpha=0,05$ pelo teste F. Equações de regressão: \hat{Y} Sem N = $48,625 - 0,3757x$ ($R^2 = 0,7710$); \hat{Y} Azo = $28,603 - 0,1011x$ ($R^2 = 0,6943$); \hat{Y} Ureia = $36,757 - 0,2226x$ ($R^2 = 0,6051$).

A tendência de redução dos AST na folha e no pseudocolmo e do amido no pseudocolmo sob sombreamento mais intenso (Figura 11 e 12), pode ter ocorrido em função da planta aumentar a produção de massa, uma vez que, esses carboidratos fornecem energia para o processo respiratório, esqueleto de carbono para síntese das demais moléculas e fazem parte do componente estrutural das plantas (KERBAUY, 2012).

Houve reduções dos AST na folha entre o capim ao pleno sol e 70% de sombreamento de 54,5, 45,4 e 62,2% para os tratamentos sem nitrogênio, *A. brasilense* e ureia, respectivamente. Considerando o amido no pseudocolmo, a redução foi 53,1, 28,4 e 41,4% para sem nitrogênio, *A. brasilense* e ureia, respectivamente. Já para o AST no pseudocolmo houve redução apenas para os tratamentos *A. brasilense* e ureia, com 26,8 e 15,2%, respectivamente.

Observou-se que os tratamentos fontes de nitrogênio (*A. brasilense* e ureia) se destacaram na redução das concentrações dos AST na folha nos diferentes níveis de sombra, no pseudocolmo aos 30% e no amido ao pleno sol (Tabela 2). Este dado pode ser explicado pela disponibilidade de nitrogênio que permitiu as plantas priorizarem os processos metabólicos de produção e armazenamento de compostos nitrogenados

essenciais ao seu desenvolvimento, como aminoácidos e proteínas, reduzindo a atividade de produção e armazenamento de carboidratos.

Esse processo ocorre de forma complexa, pois a disponibilidade do nitrogênio pode limitar, mas também contribuir para o metabolismo dos carboidratos nas plantas. Além disso, a energia e os esqueletos de carbono para a inclusão do nitrogênio são oriundos do metabolismo do carbono, e a produção de novos tecidos é controlada pelo suprimento de nitrogênio (LOPES & LIMA, 2015). Calvazara et al. (2018), por exemplo, obtiveram resultado positivo para açúcares solúveis totais sob limitação de nitrogênio e inoculado pelo *A. brasilense*.

Tabela 2. Teores de açúcares solúveis totais (AST) na folha e no pseudocolmo, e amido no pseudocolmo (mg.g^{-1} de MS) do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento e fontes de nitrogênio: sem nitrogênio (Sem N), *Azospirillum brasilense* (Azo) e 100 Kg de N.ha⁻¹ (Ureia).

FN	Sombra (%)				Médias
	0	30	50	70	
Açúcares solúveis totais - folha (mg.g^{-1} de MS)					
Sem N	117,58 a	107,66 a	95,51 a	53,55 a	93,58
Azo	94,85 b	92,87 b	83,69 b	51,77 a	80,80
Ureia	106,70 a	89,43 b	87,49 ab	39,97 b	80,90
Médias	106,38	96,66	88,90	48,43	85,09
C.V. (%)	Sombra	7,59			
	FN	7,59			
Açúcares solúveis totais - pseudocolmo (mg.g^{-1} de MS)					
Sem N	101,87 a	147,42 a	124,43 a	110,56 a	121,07
Azo	123,96 a	108,14 b	110,05 a	90,73 a	108,22
Ureia	115,20 a	116,73 b	118,07 a	97,72 a	111,93
Médias	113,67	124,09	117,52	99,67	113,74
C.V. (%)	Sombra	15,84			
	FN	14,19			
Amido - pseudocolmo (mg.g^{-1} de MS)					
Sem N	53,27 a	28,37 a	31,55 a	24,96 a	34,54
Azo	27,24 c	26,93 a	25,59 a	19,49 a	24,81
Ureia	40,99 b	22,33 a	26,30 a	24,02 a	28,41
Médias	40,50	25,88	27,81	22,82	29,25
C.V. (%)	Sombra	15,85			
	FN	14,86			

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si, a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. FN = fontes de nitrogênio. CV (%) = coeficiente de variação.

Para os teores de prolina, a interação não foi significativa em relação as fontes de nitrogênio e os níveis de sombreamento (Figura 13). Quando se avaliou o efeito dos tratamentos individualmente para a prolina, observou-se, em função dos níveis de sombreamento, o ajuste de uma regressão quadrática, com a máxima concentração do aminoácido de 30,1 mg.g⁻¹ de MS em 19,6% de sombreamento.

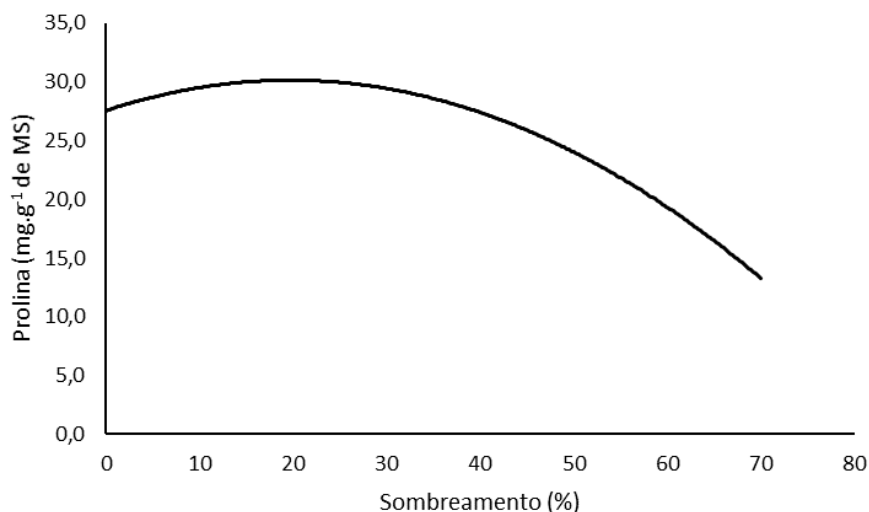


Figura 13. Teores de prolina na folha (mg.g⁻¹ de MS) do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento.

*Significativo a $\alpha=0,05$ pelo teste F. Equações de regressão: $\hat{Y} = 27,5577 + 0,2626x - 0,0067x^2$ ($R^2 = 0,9471$).

Como esperado, a prolina na folha revelou maior concentração no sombreamento pouco intenso (19,6%) e os AST das folhas apresentaram altos teores ao pleno sol e no sombreamento de 30% (Tabela 2), com comportamento semelhante entre as curvas que explicam esses parâmetros (Figura 11 A e Figura 13). Isto provavelmente ocorreu devido ao estresse hídrico ao qual as plantas estavam submetidas nessas áreas, levando ao ajustamento osmótico através do aumento destes compostos, considerados como solutos compatíveis.

O acúmulo no vacúolo ou no citosol de solutos compatíveis (prolina, glicina betaína, trealose, sacarose, poliaminas, manitol, pinitol, entre outros) contribui para a manutenção do equilíbrio hídrico, a preservação da integridade de proteínas, enzimas e membranas celulares. Para conservação do equilíbrio hídrico, as plantas diminuem o potencial hídrico das células foliares com a manutenção da turgescência celular, por meio do aumento da pressão osmótica no interior das células. Esse processo garante a continuidade da absorção de água e sustentação da pressão de turgor das células

(MONTEIRO et al., 2014), visando o melhor aproveitamento da água no solo sob condições de déficit hídrico. A capacidade da prolina de contribuir com a redução do potencial hídrico pode ser explicada devido a sua solubilidade (162g/100 ml) ser muito mais elevada que a dos demais aminoácidos proteicos (<1 a 25 g/100 ml) (KERBAUY, 2012).

Já nas áreas com o sombreamento mais intenso e maior teor de umidade do solo, a concentração de prolina, como esperado, reduziu gradativamente (Figura 13). Esses resultados corroboram com Neves et al. (2012), que observaram aumento dos teores de prolina em plantas de milho em resposta à deficiência hídrica.

A prolina, além de ser considerada um soluto compatível, provavelmente possui a capacidade de proteger as plantas de subprodutos tóxicos formados durante o estresse hídrico (função osmoprotetora). Outro aspecto relevante, refere-se ao aproveitamento da prolina como fonte de carbono e nitrogênio para a célula, após o período de escassez de água (TAIZ et al., 2017).

Avaliando a prolina (mg.g^{-1} de MS) em função das fontes de nitrogênio, observou-se que os tratamentos *A. brasilense* (24,1) e ureia (24,3) não diferiram entre si, porém foram superiores ao sem nitrogênio (22,4). Possivelmente isto ocorreu porque a prolina, assim como os demais aminoácidos, tem o nitrogênio como elemento fundamental para sua síntese. Esse resultado também demonstra a contribuição da fonte de nitrogênio *A. brasilense* e da atuação desta bactéria diazotrófica na FBN atmosférico e fornecimento deste elemento a planta, e conseqüente melhoria dos seus processos metabólicos.

Os teores de albumina, globulina, prolamina, glutelina e proteína total na folha apresentaram interação significativa entre as fontes de nitrogênio e os níveis de sombreamento (Figura 14). As equações das curvas referente aos teores de albumina e proteína total na folha sob os tratamentos sem nitrogênio e *A. brasilense*, em função dos diferentes níveis de sombreamento, se ajustaram para o efeito linear decrescente, enquanto que, para o tratamento com ureia, em ambas as frações, as equações se ajustaram para o efeito quadrático com os pontos de máxima de 6,7 e 14,4 mg.g^{-1} de MS em 17,6 e 12,7% de sombreamento para albumina e proteína total, respectivamente (Figura 14 A e E).

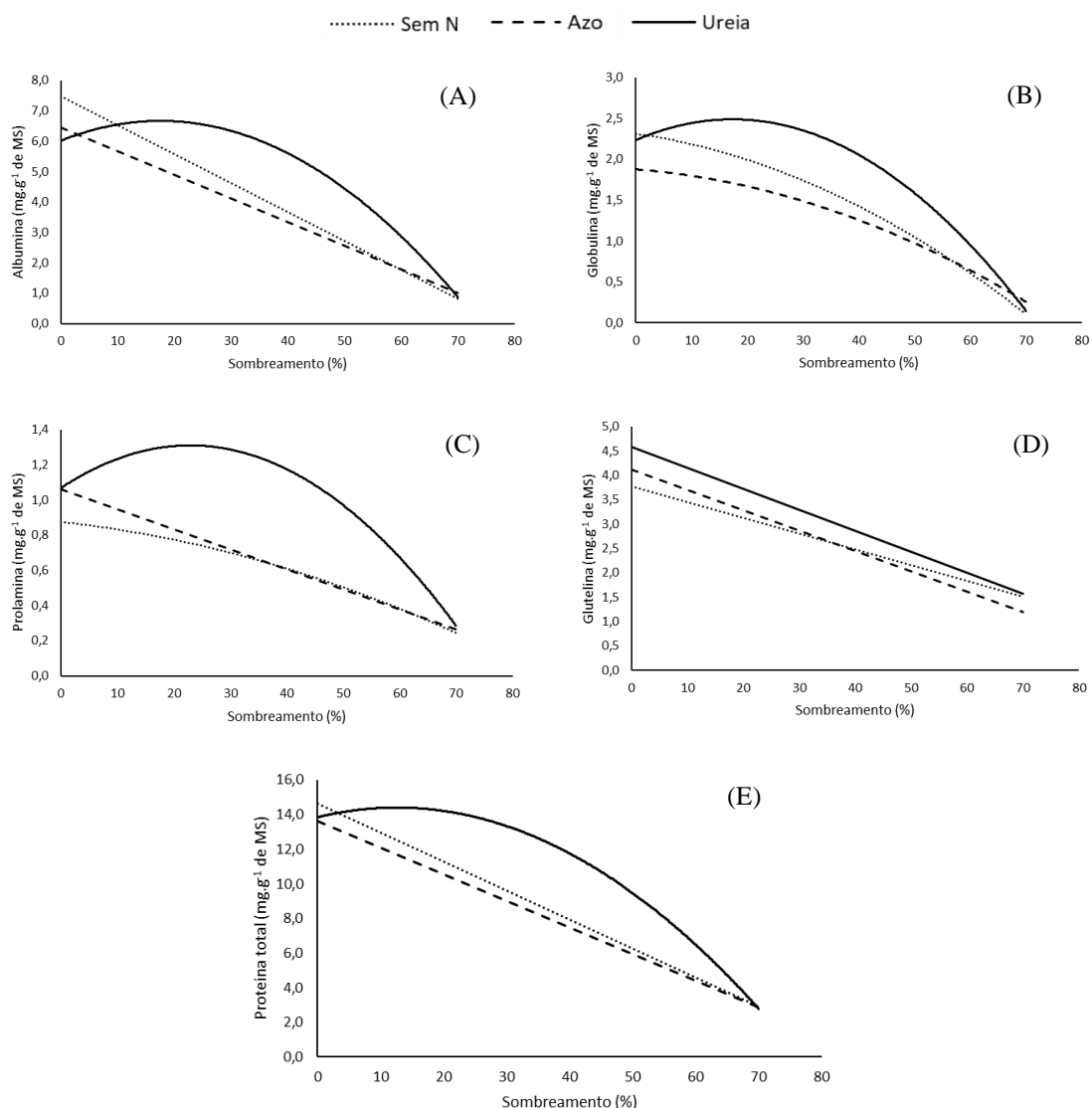


Figura 14. Teores de albumina, globulina, prolamina, glutelina e proteína total (mg.g⁻¹ de MS) na folha do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento e fontes de nitrogênio: sem nitrogênio (Sem N), *Azospirillum brasilense* (Azo) e 100 Kg de N.ha⁻¹ (Ureia).

*Significativo a $\alpha=0,05$ pelo teste F. Equações de regressão:

Albumina: \hat{Y} Sem N = $7,4818 - 0,0951x$ ($R^2 = 0,9999$); \hat{Y} Azo = $6,4539 - 0,0777x$ ($R^2 = 0,9477$); \hat{Y} Ureia = $6,0170 + 0,0740x - 0,0021x^2$ ($R^2 = 0,9992$).

Globulina: \hat{Y} Sem N = $2,3110 - 0,0096x - 0,0003x^2$ ($R^2 = 0,9638$); \hat{Y} Azo = $1,8763 - 0,0053x - 0,0003x^2$ ($R^2 = 0,9915$); \hat{Y} Ureia = $2,2341 + 0,0293x - 0,0008x^2$ ($R^2 = 0,9822$).

Prolamina: \hat{Y} Sem N = $0,8756 - 0,0035x - 8E-05x^2$ ($R^2 = 0,9722$); \hat{Y} Azo = $1,063 - 0,0114x$ ($R^2 = 0,9593$); \hat{Y} Ureia = $1,0680 + 0,0212x - 0,0005x^2$ ($R^2 = 0,9988$).

Glutelina: \hat{Y} Sem N = $3,7801 - 0,0325x$ ($R^2 = 0,9307$); \hat{Y} Azo = $4,1171 - 0,0418x$ ($R^2 = 0,9385$); \hat{Y} Ureia = $4,5764 - 0,0430x$ ($R^2 = 0,9715$).

Proteína total: \hat{Y} Sem N = $14,6450 - 0,1676x$ ($R^2 = 0,9985$); \hat{Y} Azo = $13,6380 - 0,1537x$ ($R^2 = 0,9770$); \hat{Y} Ureia = $13,8410 + 0,0889x - 0,0035x^2$ ($R^2 = 0,9990$).

As curvas referentes a fração globulina para todos os tratamentos fonte de nitrogênio, em função dos níveis de sombreamento, ajustaram para o efeito quadrático, com os respectivos pontos de máxima concentração e sombra: sem nitrogênio 2,1 mg.g⁻¹

de MS em 16%; *A. brasilense* 1,8 mg.g⁻¹ de MS em 8,8% e ureia de 2,5 mg.g⁻¹ de MS em 18,3% (Figura 14 B). O resultado positivo, considerando o tratamento com ureia sob baixos níveis de sombra, conforme descrito anteriormente, pode ser explicado pela combinação do aumento da disponibilidade de nitrogênio e a maior quantidade de luz, beneficiando a síntese dos aminoácidos e proteínas. A disponibilidade de nitrogênio influencia positivamente esse processo, pois com exceção dos macronutrientes orgânicos C, O e H, o nitrogênio é o elemento mineral mais requisitado para a formação destes compostos.

Foi observado efeito linear decrescente para o teor de prolamina da gramínea inoculada com *A. brasilense* em função do aumento do sombreamento. Para os tratamentos sem nitrogênio e ureia o modelo quadrático foi o que melhor se ajustou, com os respectivos pontos de máxima concentração e sombra: sem nitrogênio 0,8 mg.g⁻¹ de MS em 35% e ureia de 1,3 mg.g⁻¹ de MS em 19,3% (Figura 14 C). Já para a fração glutelina, submetida a todas as fontes de nitrogênio em função dos níveis de sombreamento, as equações se ajustaram para o efeito linear decrescente (Figura 14 D).

As reduções nos teores das frações e da proteína total, sob todos os tratamentos fonte de nitrogênio em função dos níveis de sombreamento crescente, provavelmente ocorreram devido a utilização do nitrogênio para aumentar a produção de massa.

Sob o sombreamento intenso, apesar da maior umidade no solo (Figura 5), ocorreu drástica redução nos teores de todas as frações de proteína e da proteína total para as fontes de nitrogênio em relação ao 50% de sombreamento (Tabela 3). Considerando as concentrações médias das frações e da proteína total, resultantes das fontes de nitrogênio, as reduções nos níveis de sombreamento de 50 para 70% foram 77,2; 77,9; 61,2; 36,4 e 63,4%, respectivamente, para albumina, globulina, prolamina, glutelina e proteína total. Além disso, não há diferença significativa para as concentrações resultantes de todas as frações e da proteína total quando comparado os resultados em cada fonte de nitrogênio e aos de 70% de sombreamento (Tabela 3).

Analisando os resultados de todas as frações e da proteína total, submetidas ao sombreamento moderado (30 a 50% de sombra) para todas as fontes de nitrogênio, é possível inferir que a ureia se destaca (Tabela 3). A diferença positiva em porcentagem das concentrações de todas as frações e da proteína total oriundas do tratamento com ureia, em relação aos tratamentos sem nitrogênio e *A. brasilense* foram, respectivamente, 32,0 e 30% para albumina; 29,6 e 37,2% para globulina; 46,9 e 45,1% para prolamina; 16,0 e 21,8% para glutelina e 29,0 e 30,7% para proteína total.

Tabela 3. Teores de albumina, globulina, prolamina, glutelina e proteína total (mg.g⁻¹ de MS) na folha do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento e fontes de nitrogênio: sem nitrogênio (Sem N), *Azospirillum brasilense* (Azo) e 100 Kg de N.ha⁻¹ (Ureia).

FN	Sombra (%)				Médias
	0	30	50	70	
Albumina (mg.g⁻¹ de MS)					
Sem N	7,50 a	4,59 b	2,74 b	0,84 a	3,92
Azo	6,01 b	4,82 b	2,74 b	0,60 a	3,54
Ureia	6,03 b	6,26 a	4,54 a	0,83 a	4,42
Médias	6,51	5,22	3,34	0,76	3,96
C.V. (%)	Sombra	14,25			
	FN	12,28			
Globulina (mg.g⁻¹ de MS)					
Sem N	2,27 a	1,94 b	0,81 b	0,19 a	1,30
Azo	1,86 b	1,56 c	0,89 b	0,29 a	1,15
Ureia	2,20 ab	2,50 a	1,41 a	0,21 a	1,58
Médias	2,11	2,00	1,04	0,23	1,34
C.V. (%)	Sombra	9,35			
	FN	15,35			
Prolamina (mg.g⁻¹ de MS)					
Sem N	0,86 b	0,75 b	0,45 c	0,26 a	0,58
Azo	1,08 a	0,65 c	0,58 b	0,23 a	0,63
Ureia	1,07 a	1,27 a	0,99 a	0,28 a	0,90
Médias	1,00	0,89	0,67	0,26	0,71
C.V. (%)	Sombra	5,14			
	FN	7,79			
Glutelina (mg.g⁻¹ de MS)					
Sem N	3,88 b	2,48 b	2,46 a	1,43 a	2,56
Azo	4,15 ab	3,03 ab	1,57 b	1,45 a	2,55
Ureia	4,57 a	3,14 a	2,74 a	1,41 a	2,96
Médias	4,20	2,88	2,25	1,43	2,69
C.V. (%)	Sombra	13,52			
	FN	11,80			
Proteína total (mg.g⁻¹ de MS)					
Sem N	14,51 a	9,75 b	6,46 b	2,72 a	8,36
Azo	13,10 b	10,06 b	5,78 b	2,56 a	7,87
Ureia	13,88 ab	13,17 a	9,68 a	2,72 a	9,86
Médias	13,83	10,99	7,30	2,67	8,70
C.V. (%)	Sombra	7,31			
	FN	7,25			

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si, a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. FN = fontes de nitrogênio. CV (%) = coeficiente de variação.

Para o fracionamento proteico que visa avaliar a qualidade nutricional do capim, a fração B (proteína verdadeira) é caracterizada de acordo a velocidade de degradação ruminal, sendo subdividida em fração rapidamente solúvel no rúmen (fração B1: albumina e globulina), taxa de degradação intermediária (fração B2: maioria das

albuminas e glutelinas) e as proteínas associadas a parede celular com taxa de degradação lenta (fração B3: prolaminas, extensinas e proteínas desnaturadas) (SNIFFEN et al., 1992). Comparando essa caracterização com os dados obtidos é possível inferir que o capim tratado com ureia sob 30 e 50% de sombra apresentaram resultados positivos, tanto na melhoria dos processos de síntese dos compostos contidos nas frações albumina, globulina, prolamina, glutelina e na proteína total no limbo foliar, como aumentando a produção e também a qualidade nutricional do capim Marandu.

4.2 Estimativa do acúmulo diário de forragem, produção e índice de área foliar do capim Marandu submetido a fontes de nitrogênio e níveis de sombreamento.

A produção diária de folhas e produção total diária do capim Marandu apresentaram interação significativa entre as fontes de nitrogênio e os níveis de sombreamento. Para ambos, quando avaliadas as respostas aos níveis de sombreamento em função das fontes de nitrogênio, foi possível um ajuste linear crescente (Figura 15) para todos os tratamentos.

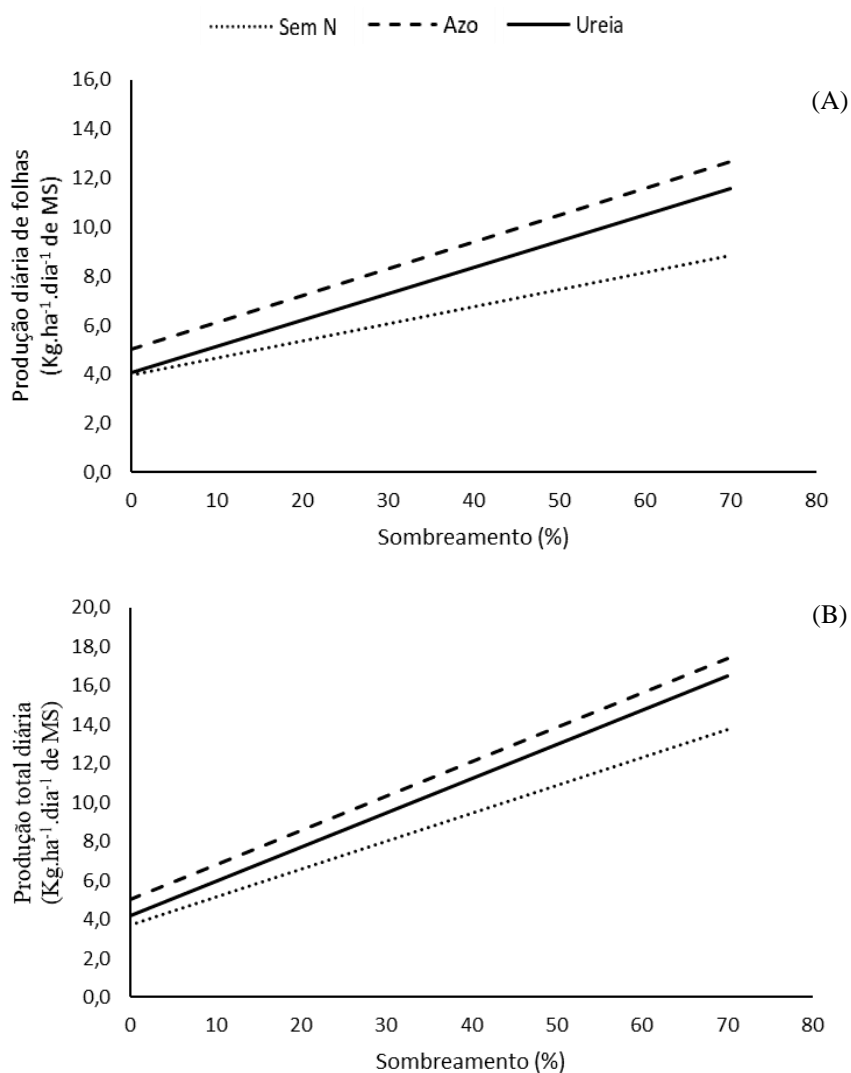


Figura 15. Produção diária de folhas e produção total diária do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento e fontes de nitrogênio: sem nitrogênio (Sem N), *Azospirillum brasilense* (Azo) e 100 Kg de N.ha⁻¹ (Ureia).

*Significativo a $\alpha=0,05$ pelo teste F. Equações de regressão:

Produção diária de folhas: \hat{Y} Sem N = $3,9810 + 0,0697x$ ($R^2 = 0,8062$); \hat{Y} Azo = $5,0301 + 0,1092x$ ($R^2 = 0,5726$); \hat{Y} Ureia = $4,0553 + 0,1077x$ ($R^2 = 0,9140$).

Produção diária total: \hat{Y} Sem N = $3,7256 + 0,1430x$ ($R^2 = 0,7894$); \hat{Y} Azo = $5,0309 + 0,1768x$ ($R^2 = 0,7163$); \hat{Y} Ureia = $4,2102 + 0,1759x$ ($R^2 = 0,8534$).

Não foi observado interação significativa para a produção diária do pseudocolmo, no entanto, quando se avalia os dados em função dos níveis de sombreamento, foi possível ajustar uma curva quadrática com ponto de mínima de 0,2 kg.ha⁻¹.dia⁻¹ em 19,8% de sombreamento (Figura 16).

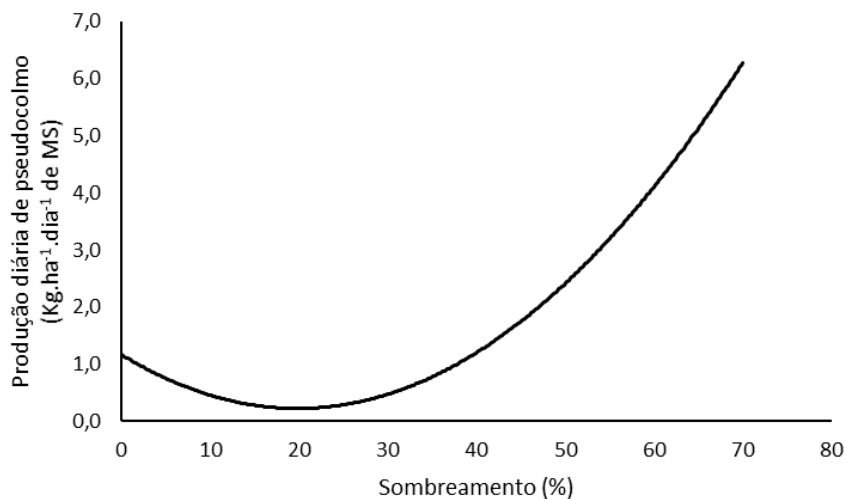


Figura 16. Produção diária de pseudocolmo do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento.

*Significativo a $\alpha=0,05$ pelo teste F. Equações de regressão: $\hat{Y} = 1,1695 - 0,0952x + 0,0024x^2$ ($R^2 = 0,9707$).

Porém, quando se desdobra a interação e avalia os dados em relação as fontes de nitrogênio e em função dos níveis de sombreamento, é possível observar que aos 50% as produções diárias de folhas e produção total diária são maiores sob os tratamentos com fontes de nitrogênio. Além disso, a produção diária de folhas do capim submetido ao tratamento com *A. brasilense*, aos 50% de sombreamento, também diferiu positivamente das plantas em presença de ureia (Tabela 4). A produção diária do pseudocolmo não diferiu entre as fontes de nitrogênio.

O capim tratado pela *A. brasilense* pode ter aumentado a produção diária de folhas e total diária aos 50% de sombra, tanto pelo resultado da maior disponibilidade de nitrogênio aportado a partir da fixação biológica de nitrogênio, quanto também pela possibilidade de aumento da concentração de fitohormônios como a auxina. A auxina é um dos principais hormônios vegetais produzido e disponibilizado pelo *A. brasilense*, estimulando o crescimento radicular e da parte aérea (LEITE et al 2019; TAIZ et al, 2017).

Tabela 4. Produção diária de folhas e produção total diária do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento e fontes de nitrogênio: sem nitrogênio (Sem N), *Azospirillum brasilense* (Azo) e 100 Kg de N.ha⁻¹ (Ureia).

FN	Sombra (%)				Médias
	0	30	50	70	
Produção diária de folhas (Kg.ha⁻¹.dia⁻¹)					
Sem N	4,14 a	6,53 a	6,00 c	9,71 a	6,59
Azo	5,15 a	6,13 a	14,43 a	10,79 a	9,12
Ureia	4,27 a	6,27 a	10,71 b	11,12 a	8,09
Médias	4,52	6,31	10,38	10,54	7,94
C.V. (%)	Sombra	22,93			
	FN	19,81			
Produção total diária (Kg.ha⁻¹.dia⁻¹)					
Sem N	5,22 a	6,53 a	8,62 b	15,99 a	9,09
Azo	6,40 a	6,13 a	17,48 a	16,64 a	11,66
Ureia	5,77 a	6,27 a	13,99 a	17,20 a	10,81
Médias	5,80	6,31	13,36	16,61	10,52
C.V. (%)	Sombra	20,38			
	FN	20,62			

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si, a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. FN = fontes de nitrogênio. CV (%) = coeficiente de variação.

A interação não foi significativa para a massa seca do limbo foliar, massa seca do pseudocolmo e massa seca da parte aérea do capim Marandu em função das fontes de nitrogênio e níveis de sombreamento. Quando avaliado os resultados dos tratamentos de forma independente, a equação de regressão que melhor se ajustou para as variáveis descritas anteriormente em função dos níveis de sombreamento foi a linear crescente (Figura 17).

Gomide et al. (2019) afirmam que o sombreamento acima de 40 a 50% pode prejudicar o crescimento e a produção de forragem em sistemas agrossilvipastoris ou silvipastoris, e que abaixo desta faixa pode-se obter produções semelhantes às do pleno sol. O estudo de Reis et al. (2013), que investigaram o capim Marandu sob diferentes percentuais de sombreamento e doses de nitrogênio, corrobora com essa afirmação, demonstrando o efeito linear da produção de massa seca em função sombreamento, onde um aumento de 20% no sombreamento reduz em 10% a produção.

Lopes et al. (2017) com avaliações executadas no período chuvoso em um pasto de *B. decumbens*, sem e com adubação, e sob diferentes níveis de sombreamento em um sistema silvipastoril, observaram que em resposta aos fertilizantes e apenas na condição de pleno sol e sombreamento moderado (redução de 20% da RFA) ocorreram aumentos da massa de forragem e da densidade volumétrica.

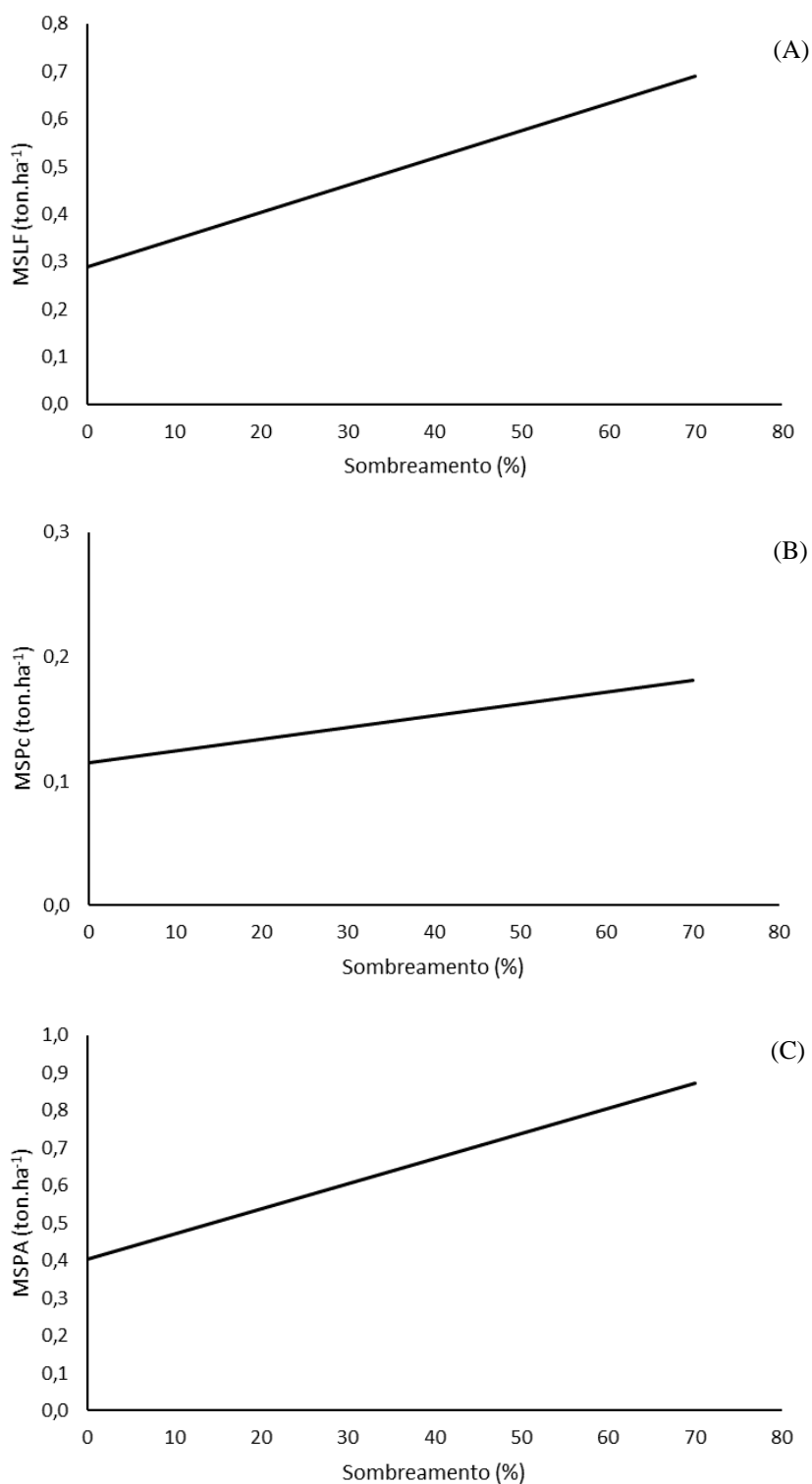


Figura 17. Massa seca do limbo foliar (MSLF), do pseudocolmo (MSPc) e da parte aérea (MSPA) em ton.ha⁻¹ do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento.

*Significativo a $\alpha=0,05$ pelo teste F. Equações de regressão:

MSLF: $\hat{Y} = 0,2886 + 0,0058x$ ($R^2 = 0,9933$).

MSPc: $\hat{Y} = 0,1151 + 0,0009x$ ($R^2 = 0,7702$)

MSPA: $\hat{Y} = 0,4037 + 0,0067x$ ($R^2 = 0,9788$)

Entretanto, os resultados deste trabalho demonstram resposta crescente da produção diária de folha, da produção total diária (Figura 15) e produção diária do pseudocolmo (Figura 16), bem como da massa seca do limbo foliar, do pseudocolmo e da parte aérea da gramínea (Figura 17) em função dos níveis de sombreamento. Este aumento pode ser explicado pela maior disponibilidade hídrica do solo, também em função da ampliação dos níveis de sombreamento (Figuras 4, 5 e 6), compensando o déficit hídrico que ocorreu durante o período experimental.

Além disso, algumas espécies possuem melhor adaptação fenotípica a condição de sombreamento, como por exemplo, os capins Marandu e Massai, que de acordo Andrade et al. (2004), obtiveram melhor desempenho entre as gramíneas, aliando boa tolerância ao sombreamento e alta capacidade produtiva.

As fontes de nitrogênio *A. brasilense* e ureia se destacaram em relação aos parâmetros massa seca do limbo foliar, do pseudocolmo e da parte aérea do capim Marandu (Tabela 5). Esse aumento da produção em função das fontes de nitrogênio provavelmente ocorreu devido a importância do nitrogênio para formação da estrutura e metabolismo vegetal, fundamental para o crescimento e desenvolvimento das plantas cultivadas (LOPES & LIMA, 2015).

Tabela 5. Massa seca do limbo foliar (MSLF), da parte aérea (MSPA) e do pseudocolmo (MSPc) em ton. ha⁻¹ do capim Marandu em função de fontes de nitrogênio: sem nitrogênio (Sem N), *Azospirillum brasilense* (Azo) e 100 Kg de N.ha⁻¹ (Ureia).

FN	MSLF (ton ha ⁻¹)	MSPc (ton ha ⁻¹)	MSPA (ton ha ⁻¹)
Sem N	0,43 b	0,11 b	0,54 b
Azo	0,48 ab	0,16 a	0,64 b
Ureia	0,60 a	0,18 a	0,78 a
Médias	0,50	0,15	0,65
C.V. (%)	27,05	20,07	21,78

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si, a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. FN = fontes de nitrogênio. CV (%) = coeficiente de variação.

O aumento estimado da produção em função da inoculação com *A. brasilense* denota a importante contribuição que essa bactéria pode dar às pastagens formadas com *Brachiaria*. Leite et al. (2019) obtiveram respostas positivas na produção de pastagem composta pelo capim Marandu e inoculada com *A. brasilense* associado com adubo nitrogenado. Já Hungria et al. (2016) observaram aumentos médios na biomassa, respectivamente, para *B. brizantha* e *B. ruziziensis*, de 4,6 e 4,7% em resposta à presença de fertilizante nitrogenado isolado e 24,7 e 23,3% submetido ao tratamento com fertilizante nitrogenado em combinação com a inoculação por *Azospirillum*. Este

resultado corrobora com o de Aguirre et al. (2018), que, ao avaliar a produção de forragem de pastos de Coastcross inoculados com *A. brasilense*, fertilizados com diferentes doses de nitrogênio e submetidos ao regime de cortes, inferiram que a inoculação proporcionou um aumento no rendimento de forragem das pastagens sem adubação nitrogenada.

A massa seca do material morto apresentou interação significativa entre as fontes de nitrogênio e os níveis de sombreamento, sendo que para os dados do capim submetido a todos os tratamentos o modelo de regressão que melhor se ajustou foi linear negativo (Figura 18).

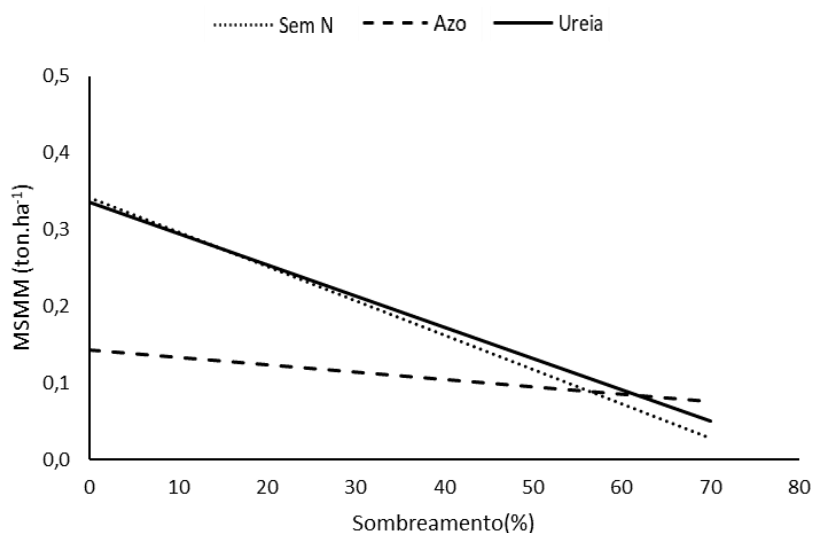


Figura 18. Massa seca do material morto (MSMM) em ton.ha⁻¹ do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento e fontes de nitrogênio: sem nitrogênio (Sem N), *Azospirillum brasilense* (Azo) e 100 Kg de N.ha⁻¹ (Ureia).
*Significativo a $\alpha=0,05$ pelo teste F. Equações de regressão: \hat{Y} Sem N = $0,3429 - 0,0045x$ ($R^2 = 0,7981$); \hat{Y} Azo = $0,1436 - 0,001x$ ($R^2 = 0,9915$); \hat{Y} Ureia = $0,3359 - 0,0041x$ ($R^2 = 0,8252$).

Desdobrando a interação para a variável massa seca do material morto e considerando as fontes de nitrogênio em função da sombra, foi possível observar diferença significativa apenas nas plantas submetidas ao pleno sol, onde os resultados do capim sem e com a introdução de nitrogênio não diferiram entre si e foram superiores ao *A. brasilense* (Tabela 6), respectivamente, em 65 e 63%. Este resultado demonstra o efeito positivo na gramínea estudada sob tratamento *A. brasilense* ao pleno sol, indicando a menor senescência das folhas sob esta condição em comparação com os tratamentos com ureia e sem nitrogênio, considerando que as produções diárias de folhas e produção total diária não diferem entre si, sob as mesmas condições experimentais (Tabela 4).

Tabela 6. Massa seca do material morto (MSMM) em ton.ha⁻¹ do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento e fontes de nitrogênio: sem nitrogênio (Sem N), *Azospirillum brasilense* (Azo) e 100 Kg de N.ha⁻¹ (Ureia).

FN	Sombra (%)				Médias
	0	30	50	70	
	MSMM (ton ha ⁻¹)				
Sem N	0,40 a	0,12 a	0,11 a	0,07 a	0,17
Azo	0,14 b	0,12 a	0,09 a	0,08 a	0,11
Ureia	0,38 a	0,15 a	0,10 a	0,10 a	0,18
Médias	0,31	0,13	0,10	0,08	0,15
C.V. (%)	Sombra	39,83			
	FN	43,74			

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si, a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. FN = fontes de nitrogênio. CV (%) = coeficiente de variação.

Os resultados para o índice de área foliar (IAF) apresentaram interação significativa entre as fontes de nitrogênio e os níveis de sombreamento. Avaliando as respostas do IAF em relação as fontes de nitrogênio e em função dos níveis de sombreamento, foi possível ajustar curvas quadráticas (Figura 19), com os pontos de mínima em 22,3; 25,5 e 22,7% de sombreamento, respectivamente, para as plantas cultivadas sem nitrogênio, com *A. brasilense* e ureia.

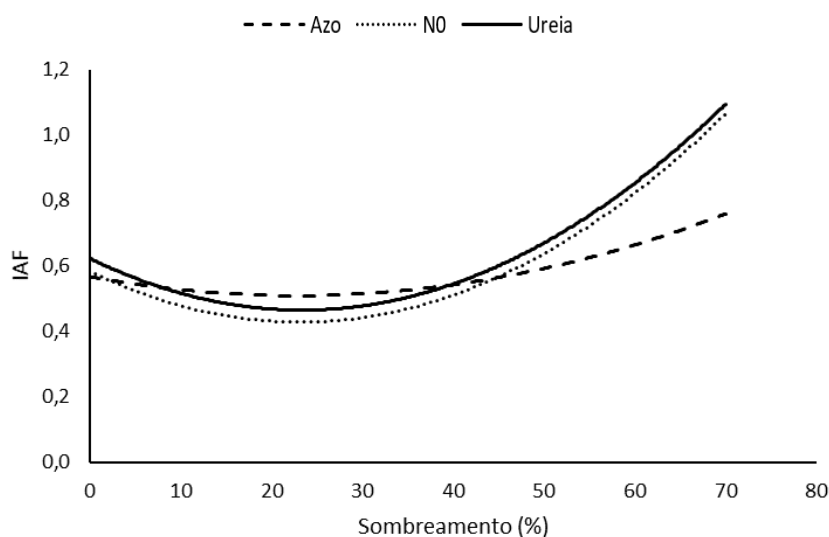


Figura 19. Índice de área foliar (IAF) do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento e fontes de nitrogênio: sem nitrogênio (Sem N), *Azospirillum brasilense* (Azo) e 100 Kg de N.ha⁻¹ (Ureia).

*Significativo a $\alpha=0,05$ pelo teste F. Equações de regressão: \hat{Y} Sem N = $0,5839 - 0,0134x + 0,0003x^2$ ($R^2 = 0,9969$); \hat{Y} Azo = $0,5677 - 0,0051x + 0,0001x^2$ ($R^2 = 0,6535$); \hat{Y} Ureia = $0,6237 - 0,0136x + 0,0003x^2$ ($R^2 = 0,9966$).

Os dados do IAF, desdobrados nos tratamentos fontes de nitrogênio em relação aos níveis de sombreamento, não diferiram entre si ao pleno sol, e aos 30% de

sombreamento as respostas oriundas do tratamento *A. brasilense* são maiores que as do capim sem nitrogênio, porém o tratamento com ureia não difere de ambos. Já aos 50 e 70% de sombreamento, o IAF em função da inoculação com *A. brasilense*, é menor do que no tratamento sem nitrogênio e ureia, que não diferem entre si (Tabela 7).

Tabela 7. Índice de área foliar (IAF) do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento e fontes de nitrogênio: sem nitrogênio (Sem N), *Azospirillum brasilense* (Azo) e 100 Kg de N.ha⁻¹ (Ureia).

FN	Sombra (%)				Médias
	0	30	50	70	
	IAF				
Sem N	0,59 a	0,43 b	0,66 a	1,06 a	0,68
Azo	0,55 a	0,60 a	0,50 b	0,79 b	0,61
Ureia	0,62 a	0,49 ab	0,65 a	1,10 a	0,72
Médias	0,59	0,51	0,60	0,98	0,67
C.V. (%)	Sombra	12,96			
	FN	11,18			

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si, a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. FN = fontes de nitrogênio. CV (%) = coeficiente de variação.

O menor IAF sob o pleno sol pode ser explicado devido a combinação dos estresses térmico e hídrico das plantas submetidas a estas condições (Figura 4, 5 e 6), prejudicando a turgescência da planta, os processos fotossintéticos e respiratórios, e por sua vez a expansão foliar, sendo este um mecanismo de defesa da planta para evitar a perda de água. Porém, o aumento do IAF sobre o sombreamento mais intenso pode ter ocorrido devido a uma melhor disponibilidade hídrica no solo, bem como maior comprimento/largura do limbo foliar a partir de uma resposta adaptativa (plasticidade fenotípica) do capim a condição mais restritiva de luz incidente. Bosi et al. (2014), trabalhando com sistema silvipastoril em diferentes ciclos e distâncias dos renques, e seus respectivos sombreamentos, inferiram que nos ciclos onde não houve déficit hídrico, com sombreamento menos intenso, também ocorreu crescimento na altura das plantas, produção e IAF. Porém, quando ocorreu a deficiência hídrica e redução da temperatura estes parâmetros não foram mais influenciados pelos níveis de sombreamento. Reis et al. (2013) avaliando o capim Marandu em diferentes níveis de sombreamento e doses de nitrogênio, observou que com o sombreamento crescente a tendência do IAF foi reduzir, porém ainda próximo ao cinco, valor considerado ideal pelos autores supracitados. Segundo Paciullo et al. (2007), o sombreamento mais intenso reduz a densidade populacional de perfilhos que, conseqüentemente, provoca diminuição do IAF.

4.3 Aspectos anatômicos e nutricionais do capim Marandu submetido a fontes de nitrogênio e níveis de sombreamento.

A interação foi significativa entre as fontes de nitrogênio e os níveis de sombreamento para as densidades estomáticas adaxial e abaxial, bem como para o diâmetro polar adaxial da folha do capim Marandu. Para a densidade estomática adaxial, o modelo que melhor se ajustou aos dados oriundos das fontes de nitrogênio foi o quadrático, com redução em relação ao pleno sol de 58,2 (n°/mm^2) com 48,8% de sombreamento para *A. brasilense* e aumento de 6,5 (n°/mm^2) com 28,7% de sombreamento para ureia (Figura 20 A). Ainda considerando a densidade estomática adaxial, não se verificou efeito significativo entre o tratamento sem nitrogênio em função dos níveis de sombreamento, com valor médio de 121,8 (n°/mm^2). Já a densidade estomática abaxial ajustou-se ao modelo linear decrescente para os tratamentos sem nitrogênio, *A. brasilense* e ureia, com redução de 109,0; 69,7 e 27,5 (n°/mm^2), respectivamente, em função do sombreamento (Figura 20 B).

Os dados de densidade estomática do Marandu, tanto na face adaxial quanto na abaxial da folha, demonstram uma tendência ao decréscimo em função dos níveis de sombreamento. Isso pode ter ocorrido devido a redução da incidência de luminosidade e da capacidade fotossintética das folhas, uma vez que, a quantidade de estômatos/ mm^2 está ligada a necessidade de difusão de gases na folha pela fotossíntese (GOBBI, et al., 2011). Estes resultados corroboram com os de Gobbi et al. (2011), que avaliando as características anatômicas foliares da braquiária (*Brachiaria decumbens* cv. Basilisk) e do amendoim-forrageiro (*Arachis pintoi* cv. Amarillo) em resposta a níveis de sombreamento artificial (0, 50 e 70%), também constataram redução da densidade estomática em função do maior sombreamento.

Em relação ao diâmetro polar adaxial, o modelo ajustou-se de forma linear crescente, com aumento de 10,7 e 6,4 μm para os tratamentos sem nitrogênio e ureia, respectivamente em função sombreamento (Figura 20 C). Para o *A. brasilense*, o modelo ajustou-se de forma quadrática, com aumento em relação ao pleno sol de 5,0 μm no ponto máximo de 37,3% de sombreamento.

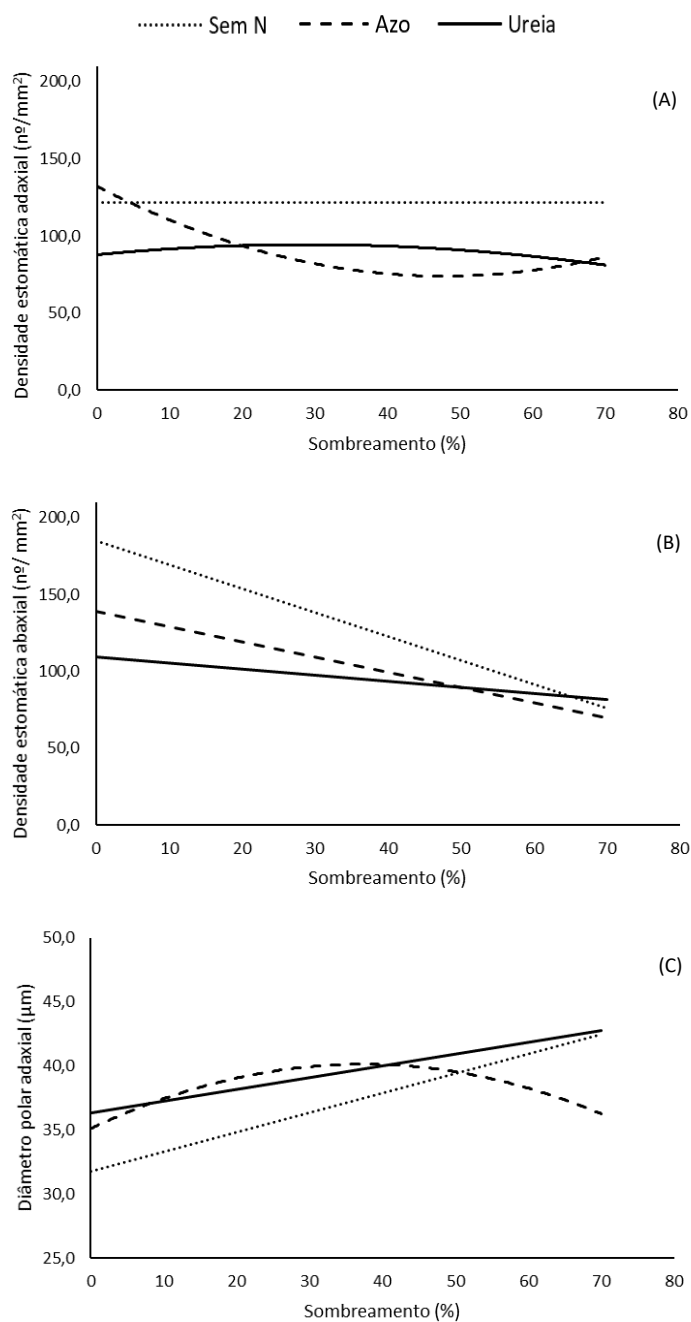


Figura 20. Densidade estomática nas faces adaxial e abaxial ($\text{n}^\circ/\text{mm}^2$) e diâmetro polar (μm) na face adaxial da folha do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento e fontes de nitrogênio: sem nitrogênio (Sem N), *Azospirillum brasilense* (Azo) e $100 \text{ Kg de N}\cdot\text{ha}^{-1}$ (Ureia).

*Significativo a $\alpha=0,05$ pelo teste F. Equações de regressão:

Densidade estomática adaxial (A): \hat{Y} Sem N = $121,8000$; \hat{Y} Azo = $132,2600 - 2,4370x + 0,0255x^2$ ($R^2 = 0,9720$); \hat{Y} Ureia = $87,9010 + 0,4540x - 0,0079x^2$ ($R^2 = 0,6520$).

Densidade estomática abaxial (B): \hat{Y} Sem N = $184,8600 - 1,5565x$ ($R^2 = 0,8521$); \hat{Y} Azo = $139,1900 - 0,9955x$ ($R^2 = 0,6756$); \hat{Y} Ureia = $109,3100 - 0,3930x + 0,0016x^2$ ($R^2 = 0,6478$).

Diâmetro polar adaxial (C): \hat{Y} Sem N = $31,8250 + 0,1525x$ ($R^2 = 0,6798$); \hat{Y} Azo = $35,1370 + 0,2689x - 0,0036x^2$ ($R^2 = 0,6231$); \hat{Y} Ureia = $36,3820 + 0,0916x$ ($R^2 = 0,5001$).

A interação não foi significativa para o diâmetro polar abaxial e equatorial adaxial do limbo foliar do capim-marandu em função das fontes de nitrogênio e níveis de sombra. Quando avaliados de forma independente, foi observado comportamento linear crescente do diâmetro polar abaxial com aumento de 7,7 μm com o sombreamento (Figura 21 A). Para o diâmetro equatorial adaxial, o modelo ajustou-se de forma quadrática com aumento em relação ao pleno sol de 0,6 μm com 29,7% de sombreamento (Figura 21 B).

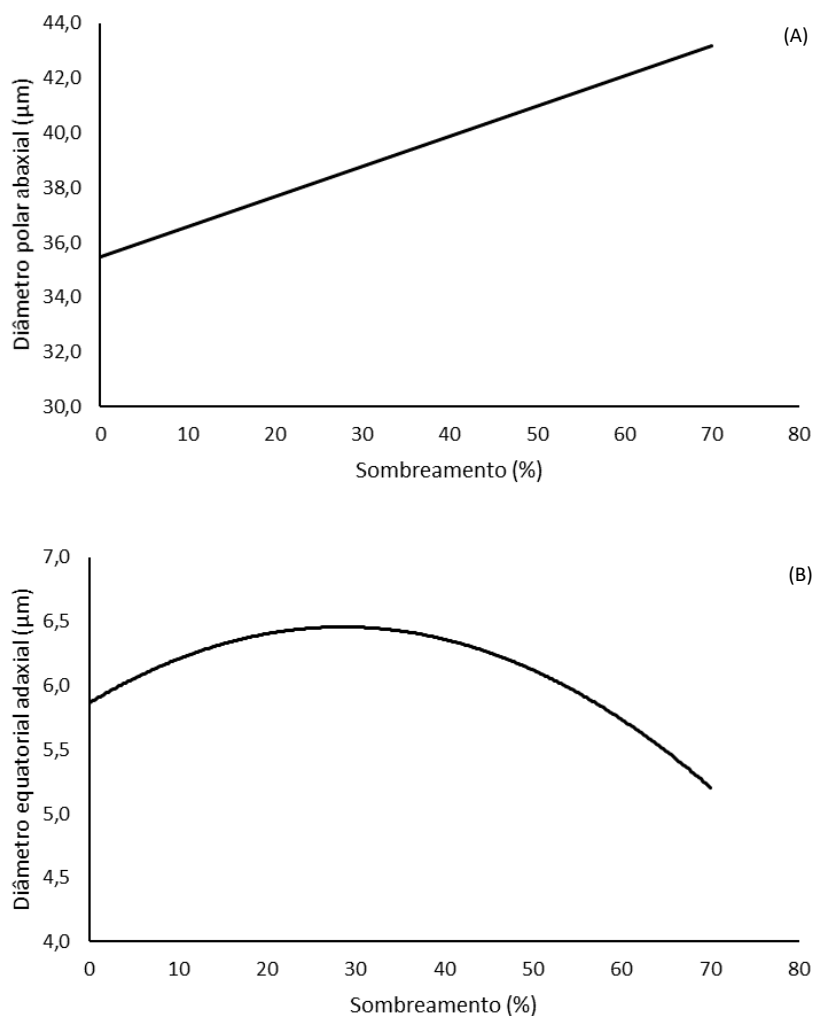


Figura 21. Diâmetro polar abaxial e equatorial adaxial (μm) na folha do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento.

*Significativo a $\alpha=0,05$ pelo teste F. Equações de regressão:

Diâmetro polar abaxial: $\hat{Y} = 35,4675 + 0,1105x$ ($R^2 = 0,9402$).

Diâmetro equatorial adaxial: $\hat{Y} = 5,8638 + 0,0416x - 0,0007x^2$ ($R^2 = 0,9831$).

Não houve interação significativa para o diâmetro equatorial na face abaxial do limbo foliar da gramínea, e avaliando o efeito dos níveis de sombreamento sobre este

parâmetro, não se verificou efeito significativo entre todos os tratamentos, com valor médio de 6,0 μm .

Em sentido oposto aos dados de densidade, o diâmetro polar dos estômatos, em ambas as faces do limbo foliar, cresceu em função do maior sombreamento, com exceção do capim submetido à inoculação com *A. brasilense* na face adaxial que reduziu sob sombreamento mais intenso (Figura 20 C).

Para a razão diâmetro polar/equatorial das faces adaxial e abaxial da folha do capim-marandu em função dos níveis de sombra, a interação não foi significativa. Quando avaliados de forma independente, foi observado em ambos os parâmetros, comportamento linear crescente com aumento de 1,8 e 1,6 μm com o sombreamento (Figura 22 A e B).

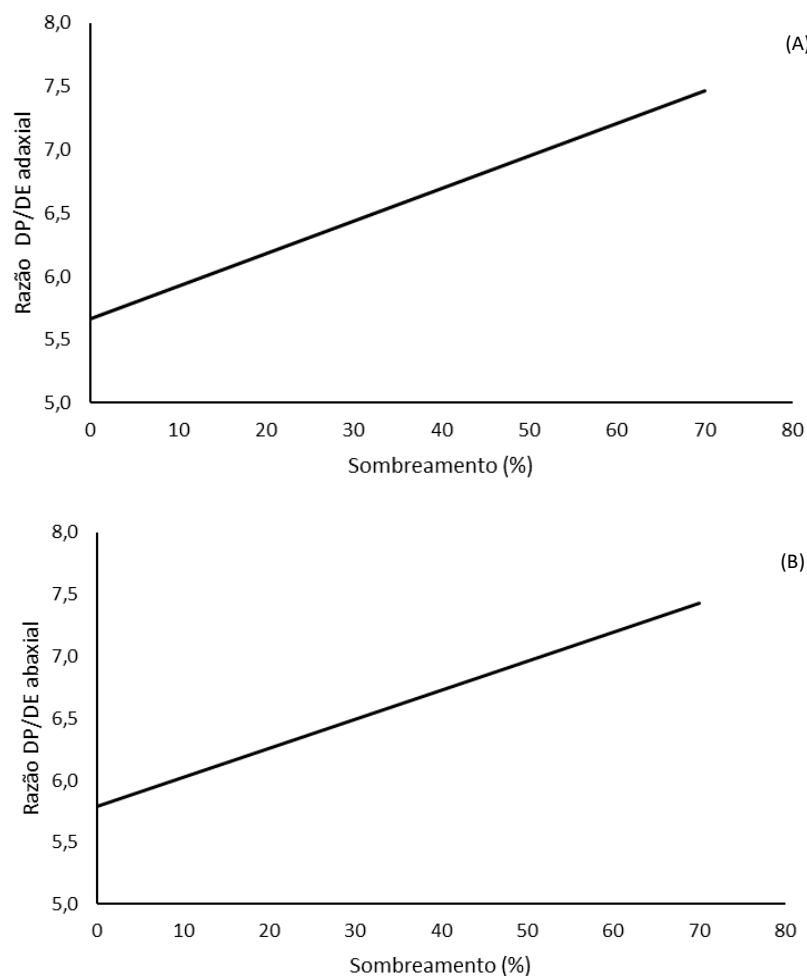


Figura 22. Razão diâmetro polar/diâmetro equatorial (μm) das faces adaxial e abaxial na folha do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento.

*Significativo a $\alpha=0,05$ pelo teste F. Equações de regressão:

Razão DP/DE adaxial: $\hat{Y} = 5,6635 + 0,0258x$ ($R^2 = 0,8361$).

Razão DP/DE abaxial: $\hat{Y} = 5,7929 + 0,0234x$ ($R^2 = 0,8435$).

O aumento da densidade estomática no capim ao pleno sol e sob condição de estresse hídrico (Figuras 4, 5 e 6), bem como maior diâmetro polar e razão diâmetro polar/equatorial em função do sombreamento crescente, evidencia a plasticidade fenotípica do capim Marandu. Segundo Castro et al. (2009) e Medeiros et al. (2011), sob maior irradiância, o aumento da densidade estomática possibilita maior captação de CO₂ atmosférico, com redução da transpiração, melhorando a eficiência fotossintética. Já o aumento da razão diâmetro polar/equatorial resulta em mudança no formato do estômato, tornando-o mais elíptico. Castro et al. (2009) e Khan et al. (2003) afirmam que essa característica anatômica sugere maior funcionalidade dos estômatos devido menor abertura estomática, e conseqüentemente, redução na transpiração.

Os resultados das fontes de nitrogênio em função do sombreamento demonstraram que a densidade estomática na face adaxial da folha do capim Marandu diferiu apenas nos tratamentos ao pleno sol e a 30% de interceptação luminosa (Tabela 8).

Tabela 8. Densidade estomática nas faces adaxial e abaxial (n°/mm²) e diâmetro polar na face adaxial (µm) da folha do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento e fontes de nitrogênio: sem nitrogênio (Sem N), *Azospirillum brasilense* (Azo) e 100 Kg de N.ha⁻¹ (Ureia).

FN	Sombra (%)				Médias
	0	30	50	70	
Densidade estomática adaxial (n°/ mm²)					
Sem N	204,76 a	123,81 a	73,81 a	84,82 a	121,80
Azo	133,33 b	77,38 b	79,76 a	84,52 a	93,75
Ureia	86,90 c	98,81 ab	85,71 a	83,04 a	88,62
Médias	141,67	100,00	79,76	84,13	101,39
C.V. (%)	Sombra	21,05			
	FN	14,33			
Densidade estomática abaxial (n°/ mm²)					
Sem N	198,81 a	122,62 a	89,29 a	95,24 a	126,49
Azo	155,95 a	80,95 b	87,50 a	83,04 a	101,86
Ureia	102,38 b	107,14 ab	94,64 a	74,11 a	94,57
Médias	152,38	103,57	90,48	84,13	107,64
C.V. (%)	Sombra	17,60			
	FN	15,48			
Diâmetro polar adaxial (µm)					
Sem N	30,01 b	37,71 a	43,18 a	39,28 b	37,54
Azo	34,69 a	41,93 a	37,20 b	37,13 b	37,74
Ureia	36,13 a	41,45 a	37,20 b	44,48 a	39,82
Médias	33,61	40,36	39,19	40,30	38,37
C.V. (%)	Sombra	8,74			
	FN	7,08			

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si, a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. FN = fontes de nitrogênio. CV (%) = coeficiente de variação.

Ao pleno sol, a densidade estomática do capim sem adição de nitrogênio, foi superior ao resultado do tratamento com *A. brasilense*, e ambos foram maiores do que os dados apresentados em função da adição de ureia. Aos 30% de sombra, a densidade estomática também foi superior no capim sem adição de nitrogênio em relação ao inoculado com *A. brasilense*, e o tratado com a ureia não diferiu de ambos.

Na face abaxial da folha da gramínea, submetida ao pleno sol, a densidade estomática dos tratamentos sem adubação com nitrogênio e inoculada pelo *A. brasilense* não diferiram entre si, porém foram superiores a ureia (Tabela 8). Na gramínea sombreada a 30%, os dados observados seguiram o mesmo padrão da densidade estomática na face adaxial da folha.

Avaliando o diâmetro polar dos estômatos da face adaxial da folha do capim, observou-se que ao pleno sol os tratamentos fontes de nitrogênio *A. brasilense* e ureia não diferiram entre si e foram superiores ao sem nitrogênio (Tabela 8).

Considerando o efeito isolado do diâmetro polar e equatorial dos estômatos da face abaxial e o diâmetro equatorial da face adaxial na folha do capim Marandu, verificou-se que os resultados dos tratamentos submetidos às fontes de nitrogênio *A. brasilense* e ureia foram superiores aos sem nitrogênio (Tabela 9). Esse resultado corrobora com os observados por Medeiros et al. (2011), onde a adição de nitrogênio levou ao aumento linear do diâmetro polar estomático da *B. brizantha* cv. Marandu em função de doses de nitrogênio na idade de 65 dias.

O capim inoculado pelo *A. brasilense* se destacou nos parâmetros diâmetro polar da face abaxial e diâmetro equatorial da face adaxial da folha (Tabela 9), demonstrando que na gramínea a bactéria contribuiu, assim como a ureia, para aumentar o diâmetro polar dos estômatos na folha.

Tabela 9. Diâmetro (μm) polar (DP) e equatorial (DE) da face abaxial e equatorial da face adaxial na folha do capim Marandu em função das fontes de nitrogênio: sem nitrogênio (Sem N), *Azospirillum brasilense* (Azo) e 100 Kg de N.ha⁻¹ (Ureia).

FN	DP abaxial (μm)	DE abaxial (μm)	DE adaxial (μm)
Sem N	38,02 c	5,91 b	5,59 c
Azo	41,31 a	6,05 a	6,16 a
Ureia	39,50 b	6,08 a	5,99 b
Médias	39,61	6,01	5,91
C.V. (%)	10,89	8,75	12,84

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si, a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. FN = fontes de nitrogênio. CV (%) = coeficiente de variação.

Considerando a razão diâmetro polar/equatorial na face adaxial da folha do capim Marandu, em função das fontes de nitrogênio, o tratamento inoculado pelo *A. brasilense* foi inferior à ureia e ao sem nitrogênio, que não diferiram entre si. Porém, na face abaxial ocorreu o oposto, onde a razão diâmetro polar/diâmetro equatorial da folha do capim inoculado pela bactéria foi superior aos demais (Tabela 10).

Tabela 10. Razão diâmetro polar/diâmetro equatorial (μm) das faces adaxial e abaxial na folha do capim Marandu em função das fontes de nitrogênio: sem nitrogênio (Sem N), *Azospirillum brasilense* (Azo) e 100 Kg de N.ha⁻¹ (Ureia).

FN	DP/DE adaxial	DP/DE abaxial
Sem N	6,82 a	6,43 b
Azo	6,31 b	6,96 a
Ureia	6,75 a	6,61 b
Médias	6,63	6,67
C.V. (%)	13,61	14,78

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si, a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. FN = fontes de nitrogênio. CV (%) = coeficiente de variação.

O aumento da densidade estomática é observado em condições crescentes de intensidade luminosa e menor disponibilidade hídrica, possibilitando maior condutância de gases (BATISTA et al, 2010; CASTRO et al., 2009). Entretanto, analisando as características estomáticas das folhas do capim Marandu, foi possível constatar que nas plantas submetidas ao pleno sol e adubadas com ureia a densidade estomática foi menor e o diâmetro polar na face adaxial maior.

Os dados do tratamento com ureia, permite inferir que a gramínea com maior aporte de nitrogênio, e sob condição de déficit hídrico (Figuras 4, 5 e 6), consegue manter eficiência no uso da água, sem a necessidade de aumentar o número de estômatos, devido a menor abertura estomática, o que pode ser justificado pelo aumento do diâmetro polar. O aumento do diâmetro polar está diretamente relacionado com a maior funcionalidade dos estômatos, pois tornam-se mais elípticos, permitindo a captação de CO₂ com redução da transpiração (CASTRO et al., 2009; SOUZA et al., 2010).

Avaliando a correlação linear da condutância estomática com características anatômicas do capim-marandu, observou-se correlação negativa entre a densidade estomática abaxial e adaxial, e positiva com o diâmetro polar abaxial e adaxial e da razão entre eles, em ambas as faces do limbo foliar da gramínea submetida ao tratamento com ureia (Tabela 11). Esses resultados confirmam a hipótese de melhora na funcionalidade dos estômatos, com o aumento do diâmetro polar, pois revelaram que, quanto menor a quantidade de estômatos, maior a condutância. Outros dados que também contribuem

com essa hipótese é o de índice de área foliar (Figura 19), produção diária de folha e produção total diária de folhas no capim ao pleno sol (Figura 15), que não diferiram significativamente entre todos os tratamentos estudados, mesmo com a menor densidade estomática no capim com aporte de ureia.

Tabela 11. Correlação entre a condutância estomática e características anatômicas da lâmina foliar do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento e fontes de nitrogênio.

Características Anatômicas	Fonte de Nitrogênio			Níveis de sombra (%)			
	Sem N	Azo	Ureia	0	30	50	70
Densidade Estom. Abaxial	-0,36	-0,33	-0,66*	-0,44	-0,44	0,75*	-0,45
Densidade Estom. Adaxial	-0,36	-0,23	-0,44**	-0,54**	-0,21	0,24	-0,18
Diâmetro Polar Abaxial	0,21	0,12	0,64*	0,15	0,57*	-0,56**	-0,26
Diâmetro Polar Adaxial	0,14	0,02	0,62*	0,12	0,04	-0,26	0,47
Diâmetro Equatorial Abaxial	-0,16	-0,41	-0,34	0,60*	0,35	-0,05	-0,08
Diâmetro Equatorial Adaxial	-0,36	-0,36	-0,25	0,23	0,25	-0,09	0,18
Razão DP/DE Abaxial	0,43**	0,34	0,60*	-0,17	0,10	-0,33	-0,07
Razão DP/DE Adaxial	0,62*	0,43**	0,53*	-0,24	-0,27	-0,11	0,09

Sem N - sem nitrogênio, Azo - *Azospirillum brasilense*, Ureia - 100 Kg de N.ha⁻¹.

*(P<0,05). **(P<0,10).

A interação não foi significativa para a espessura da nervura central, do limbo foliar, do feixe vascular e das células da bainha parenquimática do feixe vascular da folha do capim Marandu em função das fontes de nitrogênio e níveis de sombra. Quando avaliado o efeito dos tratamentos em função apenas dos níveis de sombreamento também não foi observado diferença significativa. Já Gobbi et al. (2011) constataram que no capim braquiária, no segundo e terceiro corte, houve redução na área ocupada pelos feixes vasculares em função do sombreamento crescente.

Analisando a espessura da nervura central do limbo foliar da gramínea em função apenas das fontes de nitrogênio, foi possível notar que o tratamento inoculado pelo *A. brasilense* foi inferior a ureia e ao sem nitrogênio, que não diferiram entre si. Porém, a espessura do limbo foliar do capim inoculado pela bactéria foi superior ao tratado pela ureia e o sem nitrogênio (Tabela 12). De acordo Batista et al. (2010) o crescimento da nervura central provavelmente ocorre em função de um maior fluxo de fotossintatos e água na planta, podendo levar a maior turgidez das células foliares, beneficiando o metabolismo celular. O menor desenvolvimento da nervura central do capim Marandu, em função do tratamento com *A. brasilense*, pode ter sido compensado pela maior espessura do limbo foliar para manter o metabolismo celular.

Tabela 12. Espessura da nervura central (ENC), do limbo foliar (ELF), do feixe vascular (EFV) e das células da bainha parenquimática do feixe vascular (EBPF) em μm do capim Marandu em função das fontes de nitrogênio: sem nitrogênio (Sem N), *Azospirillum brasilense* (Azo) e 100 Kg de $\text{N}\cdot\text{ha}^{-1}$ (Ureia).

FN	ENC	ELF	EFV	EBPF
Sem N	477,66 a	245,13 b	234,85 b	42,78 b
Azo	400,04 b	258,98 a	231,28 b	44,18 a
Ureia	476,37 a	242,03 b	246,63 a	43,88 a
Médias	451,36	248,71	237,59	43,61
C.V. (%)	17,72	15,91	14,65	10,45

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si, a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. FN = fontes de nitrogênio. CV (%) = coeficiente de variação.

Quando avaliada a espessura do feixe vascular, em função das fontes de nitrogênio, observa-se que o capim adubado com ureia foi superior aos demais tratamentos, e estes não diferiram entre si (Tabela 12).

A adubação nitrogenada proporciona aumento da área foliar, resultando em maiores espessuras do feixe vascular (VASCONCELOS, 2016). Folhas bem supridas em nitrogênio são mais eficientes na captação da energia solar, têm maior capacidade de assimilar CO_2 e sintetizar proteínas e carboidratos (MARSCHNER, 1995), levando a necessidade de aumentar a capacidade de translocação de fotoassimilados, uma vez que, os tecidos vasculares estão diretamente relacionados com a translocação de fotoassimilados das folhas para os órgãos dreno (CASTRO et al., 2009).

A espessura das células da bainha parenquimática do feixe vascular na folha do capim Marandu foi maior no capim submetido aos tratamentos *A. brasilense* e ureia do que no tratamento sem nitrogênio (Tabela 12), revelando que essas fontes de nitrogênio contribuíram positivamente com a eficiência fotossintética da planta.

Essa melhoria da eficiência fotossintética com o aumento da espessura das células da bainha parenquimática do feixe vascular só é possível ocorrer em plantas C4. Nesse grupo de plantas a bainha parenquimática do feixe, que envolvem os feixes vasculares, é composta por células especializadas, ricas em cloroplastos e caracterizadas pela anatomia Kranz. Esse tipo de anatomia possibilita a concentração de CO_2 nas células da bainha vascular em quase 10 vezes mais que da atmosfera externa, ocorrendo a partir de um ciclo de carboxilação e descarboxilação entre as células fotossintéticas do mesófilo e da bainha parenquimática do feixe, onde acumula CO_2 nos arredores da rubisco no cloroplasto. (BASSO & BARBERO, 2015; KERBAUY, 2012; TAIZ et al., 2017).

Outro aspecto relevante relacionado ao aumento da espessura das células da bainha dos feixes vasculares é a sua correlação com a digestibilidade. Segundo, Queiroz et al, (2000) as proporções de bainha parenquimática dos feixes relacionam-se

negativamente com a digestibilidade e positivamente com o teor de parede celular. Akin (1989) considera que a taxa de extensão da digestão de tecidos para a bainha parenquimática dos feixes é lenta e parcial. Contudo, a correlação linear foi baixa entre as células da bainha parenquimática dos feixes e as frações químicas como fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e lignina (Tabela 13).

Tabela 13. Correlação entre as espessuras (μm) das células da bainha parenquimática do feixe vascular e as frações químicas da lâmina foliar do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento e fontes de nitrogênio.

Fração Química	Fonte de Nitrogênio			Níveis de sombra (%)			
	Sem N	Azo	Ureia	0	30	50	70
FDN	0,11	-0,22	0,19	0,21	0,34	-0,63*	0,27
FDA	0,02	-0,09	0,40	0,45	0,10	-0,37	0,38
Lignina	-0,06	-0,12	0,29	0,18	0,07	-0,27	0,14
PB	0,02	-0,13	-0,13	-0,05	0,11	-0,13	-0,11
Fração A	-0,10	-0,38	-0,12	-0,20	-0,31	0,29	-0,31
Fração B1 + B2	0,14	0,27	0,08	0,34	0,20	-0,23	0,24
Fração B3	-0,16	0,15	0,03	-0,47	0,16	0,05	0,26
Fração C	-0,40	0,39	0,27	0,24	-0,03	-0,07	0,47

Sem N - sem nitrogênio, Azo - *Azospirillum brasilense*, Ureia - 100 Kg de N.ha⁻¹.

*(P<0,05).

A partir dos resultados pode-se inferir que o aumento da espessura das células da bainha dos feixes vasculares na folha do capim Marandu, sob os tratamentos ureia e *A. brasilense*, não prejudicou a digestibilidade.

Para FDN, FDA, lignina e proteína bruta (PB) (% na MS) de folhas do capim Marandu a interação não foi significativa em função das fontes de nitrogênio e níveis de sombreamento. Quando avaliados de forma independente, não foi constatada diferença significativa para PB, em relação aos diferentes níveis de sombreamento (Figura 23).

As equações referentes a FDN, FDA e lignina ajustaram-se ao modelo linear crescente, com aumento de 3,83, 4,65 e 0,88%, respectivamente em função do sombreamento (Figura 23). Resultado semelhante também foi observado em um trabalho conduzido por Faria et al. (2018), intitulado características bromatológicas e de crescimento de *B. decumbens* e *B. ruziziensis* sob sombreamento e nitrogênio, onde teores de FDN também cresceram em função do aumento nos níveis de sombra. Paciullo et al. (2011) afirmam que, com o aumento do sombreamento e do estágio fenológico, as plantas tendem ao estiolamento e com isso ampliam o seu teor de fibra.

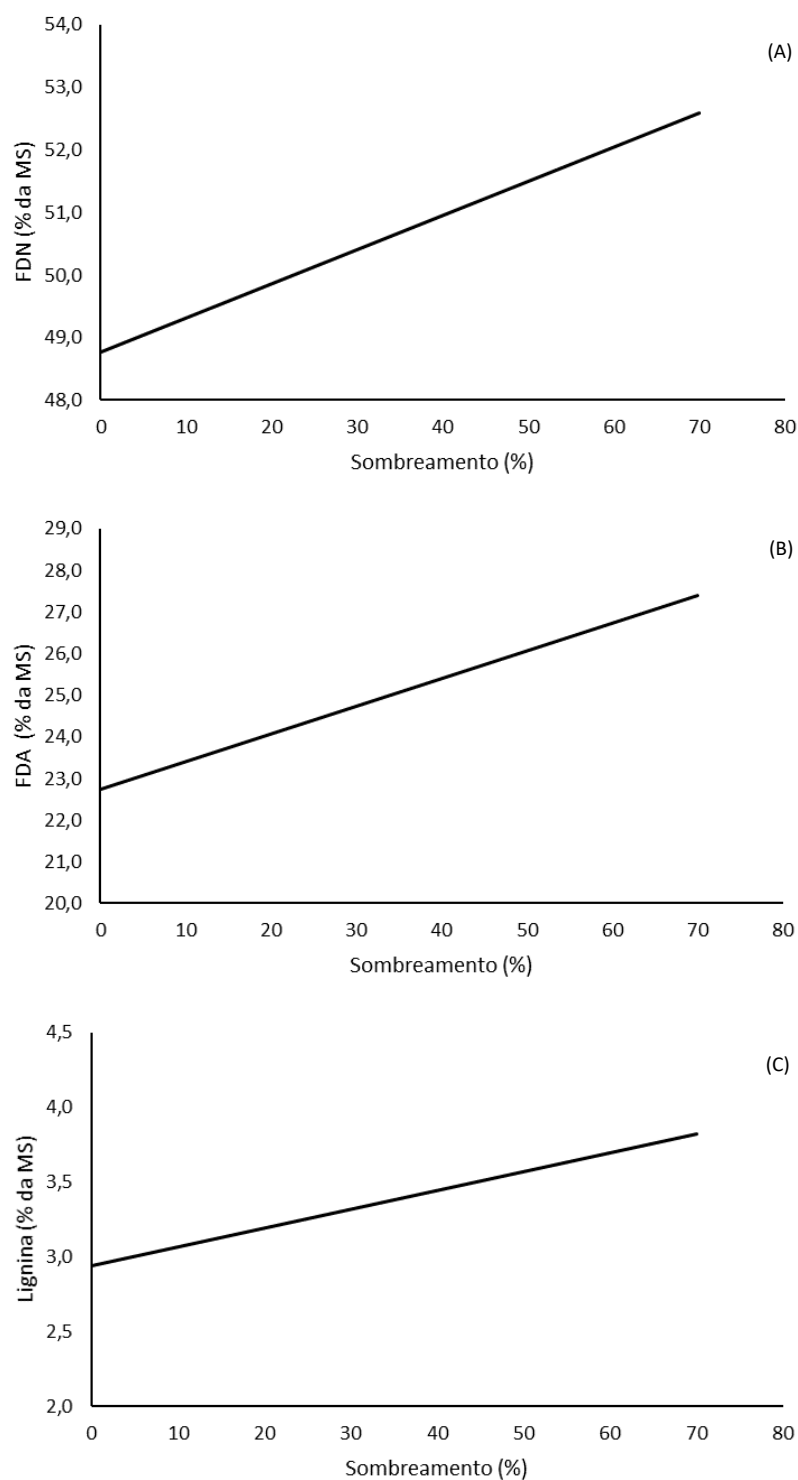


Figura 23. Fibra em detergente neutro (FDN), ácido (FDA) e lignina (% na MS) de folhas do capim Marandu em função de níveis de sombreamento.

*Significativo a $\alpha=0,05$ pelo teste F. Equações de regressão:

FDN: $\hat{Y} = 48,7686 + 0,0547x$ ($R^2 = 0,6502$);

FDA: $\hat{Y} = 22,7530 + 0,0664x$ ($R^2 = 0,8956$);

Lignina: $\hat{Y} = 2,9411 + 0,0126x$ ($R^2 = 0,9220$).

Não foi constatado diferença significativa para FDN, FDA e lignina das folhas da gramínea, em função das fontes de nitrogênio *A. brasilense*, ureia e sem nitrogênio,

(Tabela 14). Resultado semelhante foi obtido por Hanisch et al. (2017) ao investigar o desempenho do Marandu sob doses de nitrogênio, com presença ou ausência de inoculação com *A. brasilense*, verificando que as condições dos tratamentos utilizadas não influenciaram os teores de FDN.

Tabela 14. Proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), ácido (FDA) e lignina (% na MS) de folhas do capim Marandu em função das fontes de nitrogênio: sem nitrogênio (Sem N), *Azospirillum brasilense* (Azo) e 100 Kg de N.ha⁻¹ (Ureia).

FN	PB	FDN	FDA	Lignina
Sem N	16,22 b	51,00 a	25,38 a	3,30 a
Azo	16,28 b	50,27 a	25,05 a	3,35 a
Ureia	17,37 a	51,19 a	25,29 a	3,59 a
Médias	16,62	50,82	25,24	3,41
C.V. (%)	7,28	5,80	9,72	16,66

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si, a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. FN = fontes de nitrogênio. CV (%) = coeficiente de variação.

A PB do capim adubado com ureia foi superior aos demais tratamentos (Tabela 14). De acordo com Leal et al. (2017) e Bernardi et al. (2018) a adubação nitrogenada pode favorecer maiores teores de PB na matéria seca. Costa et al. (2010) e Faria et al. (2018), também obtiveram maiores concentrações de PB em função da adubação nitrogenada.

As frações “A” e “B1 + B2” (% da PB) na folha do Marandu apresentaram interação significativa entre as fontes de nitrogênio *A. brasilense*, ureia e sem nitrogênio, e os níveis de sombreamento. As equações das curvas referentes a fração “A”, em resposta a todas as fontes de nitrogênio e em função dos diferentes níveis de sombreamento se ajustaram para o efeito quadrático. Os pontos de máxima, considerando os níveis de sombra, foram 35,6% para capim sem nitrogênio e 20,0% para o adubado com ureia, com aumento em relação ao pleno sol de 12,8 e 2,7%, respectivamente. Para o capim inoculado com *A. brasilense* o modelo ajustou-se de forma quadrática com o ponto de mínima em 38,0% de sombra e redução em relação ao pleno sol de 11,97% (Figura 24 A).

A equação quadrática decrescente foi a que melhor se ajustou para os dados da fração “B1 + B2” referente aos tratamentos sem nitrogênio e ureia, com redução em relação ao pleno sol de 14,65 e 2,40% com 37,0 e 19,4% de sombra, respectivamente. Para o tratamento com *A. brasilense*, o modelo também se ajustou-se de forma quadrática, porém crescente, com aumento em relação ao pleno sol de 17,75% com 35,0% de sombreamento (Figura 24 B).

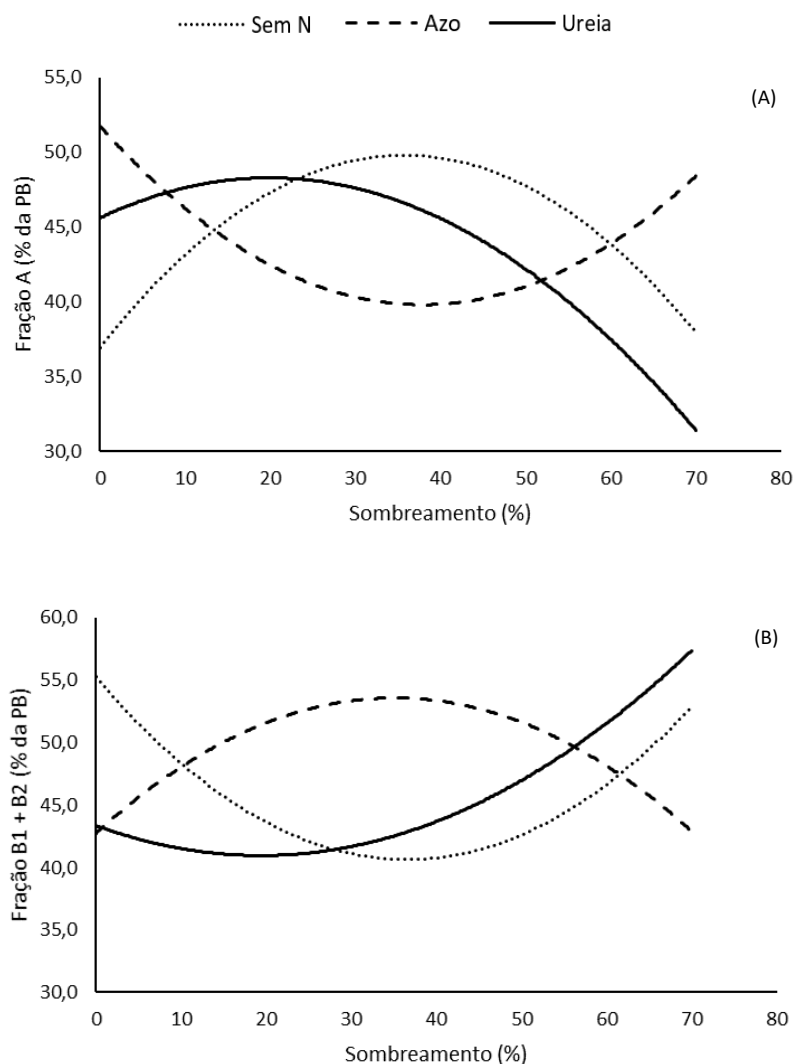


Figura 24. Fração A e B1 + B2 (% da PB) de folhas do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento e fontes de nitrogênio: sem nitrogênio (Sem N), *Azospirillum brasilense* (Azo) e 100 Kg de N.ha⁻¹ (Ureia).

*Significativo a $\alpha=0,05$ pelo teste F. Equações de regressão:

Fração A (A): \hat{Y} Sem N = $36,9810 + 0,7187x - 0,0101x^2$ ($R^2 = 0,9995$); \hat{Y} Azo = $51,7500 - 0,6305x + 0,0083x^2$ ($R^2 = 0,9742$); \hat{Y} Ureia = $45,6320 + 0,2678x - 0,0067x^2$ ($R^2 = 0,9611$).

Fração B1 + B2 (B): \hat{Y} Sem N = $55,2420 - 0,7993x + 0,0109x^2$ ($R^2 = 0,9967$); \hat{Y} Azo = $42,7760 + 0,6152x - 0,0088x^2$ ($R^2 = 0,9738$); \hat{Y} Ureia = $43,3540 - 0,2478x + 0,0064x^2$ ($R^2 = 0,9356$).

Ao analisar os dados em função da inoculação com *A. brasilense*, foi possível observar que o ponto de mínima percentagem da fração “A” ocorre aos 38,0% de sombreamento, enquanto que o ponto de máxima da fração “B1 + B2” está aos 35,0% de sombreamento, demonstrando que nesta faixa de sombra ocorre uma rápida conversão dos aminoácidos que compõe a fração “A” em proteína citoplasmática da fração “B”. A fração “A” é constituída pelo nitrogênio não proteico, aminoácidos livres e peptídeos e possui alta digestibilidade no rúmen. Já a fração “B” é representada pelas proteínas, sendo

a “B1” de rápida degradação e a “B2” de degradação intermediária no rúmen (LEAL et al., 2017; RECH et al. 2010; SNIFFEN et al., 1992).

Observando os resultados das fontes de nitrogênio em cada nível de sombreamento, verificou-se que ao pleno sol a fração “A” do capim submetido ao *A. brasilense* e à ureia foram superiores aos dados do tratamento sem nitrogênio. Sendo que esta fração do capim submetido *A. brasilense* apresentou um teor mais elevado (51,97%) na PB (Tabela 15).

Tabela 15. Fração A e B1 + B2 (% da PB) de folhas do capim Marandu em função de diferentes níveis de sombreamento e fontes de nitrogênio: sem nitrogênio (Sem N), *Azospirillum brasilense* (Azo) e 100 Kg de N.ha⁻¹ (Ureia).

FN	Sombra (%)				Médias
	0	30	50	70	
	Fração A				
Sem N	36,95 c	49,64 a	47,58 a	38,06 b	43,05
Azo	51,97 a	39,36 b	42,20 ab	48,01 a	45,39
Ureia	45,28 b	49,15 a	40,38 b	32,11 b	41,73
Médias	44,73	46,05	43,39	39,39	43,39
C.V. (%)	Sombra	8,08			
	FN	8,72			
	Fração B1 + B2				
Sem N	55,14 a	41,54 b	42,10 b	53,07 a	47,96
Azo	42,55 b	54,32 a	50,47 a	43,33 b	47,67
Ureia	43,80 b	39,73 b	49,32 a	56,55 a	47,35
Médias	47,17	45,20	47,30	50,98	47,66
C.V. (%)	Sombra	8,51			
	FN	8,83			

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si, a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. FN = fontes de nitrogênio. CV (%) = coeficiente de variação.

Leal et al. (2017) também obtiveram altas proporções de fração “A” com média de 42,11% (PB), estudando *Brachiaria* híbrida Mulato II submetida a diferentes doses de nitrogênio e altura de corte. Já Oliveira et al. (2020) constataram que as espécies *Panicum maximum*, *Andropogon gayanus* e *Urochloa humidicola*, no tratamento sem irrigação, apresentaram as respectivas proporções da fração “A”: 34,1%, 33,1% e 33,6%.

A fração “B1 + B2” do capim inoculado pelo *A. brasilense* aos 30% de sombra se destacou como superior às demais fontes de nitrogênio, e aos 50% foi maior que a oriunda do tratamento sem nitrogênio e não diferiu da ureia (Tabela 15). Estes resultados demonstraram que a inoculação da bactéria beneficia o aumento do teor da fração “B1 + B2” do capim Marandu sob sombreamento moderado.

Para as frações “B3” e “C” a interação não foi significativa em função das fontes de nitrogênio e níveis de sombreamento. Os resultados da fração “B3” das folhas do capim Marandu, em função apenas das fontes de nitrogênio, diferiram entre si, com a ureia apresentando uma proporção na PB de 8,27%, seguido do tratamento sem nitrogênio com 6,34% e do *A. brasilense* com 4,64% (Tabela 16).

Tabela 16. Fração B3 e C (% da PB) de folhas do capim Marandu em função de diferentes fontes de nitrogênio: sem nitrogênio (Sem N), *Azospirillum brasilense* (Azo) e 100 Kg de N.ha⁻¹ (Ureia).

FN	Fração B3	Fração C
Sem N	6,34 b	2,64 a
Azo	4,64 c	2,31 a
Ureia	8,27 a	2,65 a
Médias	6,42	2,53
C.V. (%)	27,00	25,54

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si, a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. FN = fontes de nitrogênio. CV (%) = coeficiente de variação.

Os menores valores de “B3” foram observados no tratamento com a bactéria, evidenciando que o *A. brasilense* beneficia a qualidade nutricional do capim, pois de acordo Velásquez et al. (2010) esta fração é constituída por proteínas associadas a parede celular e apresenta lenta degradação no rúmen.

Já os dados referentes a fração “C” não diferiram entre todos os tratamentos estudados (Tabela 16). Isso provavelmente ocorreu em função do corte ter sido realizado aos 28 dias, evitando a maior lignificação da planta. Segundo Rech et al. (2010) a fração “C” é composta por nitrogênio complexado na FDA.

V – CONCLUSÕES

O sombreamento aumenta os parâmetros de produção da folha e pseudocolmo do capim Marandu, bem como as concentrações de clorofila, carboidratos fibrosos e lignina na folha, e reduz os teores dos açúcares solúveis totais e amido.

De maneira geral, as frações proteicas são reduzidas em função do sombreamento, entretanto, o tratamento com ureia, sob 30 e 50% de sombreamento, promove maior acúmulo das proteínas totais na folha, bem como de suas frações (albumina, globulina, prolamina e glutelina).

O sombreamento reduz a densidade estomática da face abaxial da folha e aumenta a razão diâmetro polar/diâmetro equatorial (DP/DE) de ambas as faces. A presença da adubação nitrogenada promove uma correlação negativa da condutância estomática com a densidade estomática e positiva com a razão DP/DE.

A baixa correlação entre a espessura das células da bainha parenquimática do feixe vascular e a fibra em detergente ácido e lignina da lâmina foliar demonstra que o aumento da espessura das células da bainha na folha do capim Marandu, sob os tratamentos ureia e *A. brasilense*, não prejudica a digestibilidade. A fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido e lignina aumentam em função dos níveis de sombra e a adubação com ureia favorece o aumento da proteína bruta no capim Marandu.

O capim inoculado pelo *A. brasilense* beneficia o aumento do teor da fração “A” ao pleno sol e da fração “B1 + B2” aos 30% de sombra. Além disso, essa bactéria contribui para a redução das concentrações da fração “B3”, evidenciando a melhora na qualidade nutricional do Marandu.

O capim Marandu demonstra plasticidade fenotípica quando submetido a diferentes níveis de sombreamento. As fontes de nitrogênio ureia e *A. brasilense* contribuem com o crescimento e desenvolvimento da gramínea ao pleno sol, bem como na mitigação dos impactos causados com a redução da irradiância no sombreamento 30 e 50%.

VI - REFERÊNCIAS

- ANDRADE, C.M.S.; VALENTIM, J.F.; CARNEIRO, J.C., VAZ, F.A. Crescimento de gramíneas e leguminosas forrageiras tropicais sob sombreamento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, p. 263-270, 2004.
- AGUIRRE, P.F.; OLIVOC.J.; RODRIGUES, P.F.; FALK, D.R.; ADAMS, C.B.; SCHIAFINO, H.P. Forage yield of Coast cross-1 pastures inoculated with *Azospirillum brasilense*. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v.40, p. 1-8, 2018.
- AKIN, D.E. Histological and physical factors affecting digestibility of forages. **Agronomy Journal**, v.81, p.17-25, 1989.
- BASSO, K.C.; BARBERO, L.M. Anatomia foliar de forrageiras e a sua relação com o valor nutritivo. **Veterinária Notícias**, v.21, p. 1-10, 2015.
- BATES, L.S. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Short Communication. **Plant and Soil**, v.39, p.205-207, 1973.
- BATISTA, L.A.; GUIMARÃES, R.J. PEREIRA, F.J.; CARVALHO, G.R.; CASTRO, E.M. Anatomia foliar e potencial hídrico na tolerância de cultivares de café ao estresse hídrico. **Revista Ciência Agronômica**, v.41, p. 475-481, 2010.
- BERGONCI, J.I.B.; PEREIRA, P.G. Comportamento do potencial da água na folha e da condutância estomática do milho em função da fração de água disponível no solo. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, v. 10, p. 229-235, 2002.
- BERNARDI, A.; SILVA, A.W.L.; BARETTA, D. Estudo metanalítico da resposta de gramíneas perenes de verão à adubação nitrogenada. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.70, p.545-553, 2018.
- BOSI, C.; PEZZOPANE, J.R.M.; SENTELHAS, P.C.; SANTOS, P.M.; NICODEMO, M.L.F. Produtividade e características biométricas do capim-braquiária em sistema silvipastoril. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.49, p.449-456, 2014.
- BRADFORD, J.M. A rapid and sensitive method for quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p. 248-254, 1976.
- BUKATSCH, F. Bermerkungen zur Doppelfärbung Astrablau-Safranin. **Mikrokosmos**, v.61, 1972.
- CALZAVARA, A.K.; PAIVA, P.H.G.; GABRIEL, L.C.; OLIVEIRA, A.L.M.; MILANI, K.; OLIVEIRA, H.C.; BIANCHINI, E.; PIMENTA, J.A.; DE OLIVEIRA, M.C.N.; DIAS-PEREIRA, J.; STOLF-MOREIRA, R. Associative bacteria influence

maize (*Zeamays L.*) growth, physiology and root anatomy under different nitrogen levels. **Plant Biology**, v.20, p. 70-878, 2018.

CASTRO, E. M.; PEREIRA, F. J.; PAIVA, R. **Histologia vegetal**: estrutura e função de órgãos vegetativos. Lavras: UFLA, 2009.

COSTA, K.A.P.; FAQUIN, V.; OLIVEIRA, IP. Doses e fontes de nitrogênio na recuperação de pastagens do capim-marandu. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, p.192-199, 2010.

DETMANN, E. SOUZA, M.A.; VALADARES FILHO, S.C.; QUEIROZ, A.C.; BERCHIELLI, T.T.; SALIBA, E.O.S.; CABRAL, L.S.; PINA, D.S.; LADEIRA, M.M.; AZEVADO, J.A.G. **Métodos para análise de alimentos**. Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Ciência Animal. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2012.

DIAS-FILHO, M. B. **Degradação de pastagens: processos, causas e estratégias de recuperação**. 4. ed. Belém, PA: MBDF, 2011.

DISCHE, Z. General color reactions. In: WHISTLER, R. L.; WOLFRAM, M. L. **Carbohydrate chemistry**. New York: Academic Press, p.477-520, 1962.

FARIA, B.M.; MORENZ, M.J.F.; PACIULLO, D.S.C.; LOPES, F.C.F.; GOMIDE, C.A.M. Growth and bromatological characteristics of *Brachiaria decumbens* and *Brachiaria ruziziensis* under shading and nitrogen. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 49, p. 529-536, 2018.

FRIES, D.D.; ALVES, J.D.; DELÚ FILHO, N.; MAGALHÃES, P.C.; GOULART, P.F.P.; MAGALHÃES, M.M. Crescimento de plântulas do milho saracura e atividade de α -amilase e invertases associados ao aumento da tolerância ao alagamento exercido pelo cálcio exógeno. **Bragantia**, v.66, p.1-9, 2007.

GALINDO, F.S.; BUZETTI, S.; TEIXEIRA FILHO, M.C.M.; DUPAS, E. CARVALHO, F.C. Manejo da adubação nitrogenada no capim-mombaça em função de fontes e doses de nitrogênio. **Revista de Ciências Agrárias**, v.41, p. 900-913, 2018.

GOBBI, K. F. et al. Área Foliar Específica E Anatomia Foliar Quantitativa Do Capim-Braquíria E Do Amendoim-Forageiro Submetidos a Sombreamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n. 7, p. 1436–1444, 2011.

GOMIDE, C.A.M.; PACIULLO, D.S.C; MORENZ, M.J.F.; COSTA, I.A.; LANZONI, C.L. Productive and morphophysiological responses of *Panicum maximum* Jacq. cv. BRS Zuri to timing and doses of nitrogen application and defoliation intensity. **Grassland Science**, v.65, p. 93-100, 2019.

HANISCH, A.L.; BALBINOT JR, A.A.; VOGT, G.A. Desempenho produtivo de *Urochloa brizantha* cv. Marandu em função da inoculação com *Azospirillum* e doses de nitrogênio. **Revista Agro@mbiente On-line**, v. 11, p. 200-208, 2017.

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 there clamation of degraded pastures in the tropics. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v.221, p. 125–131, 2016.

KHAN, S. V.; KOZAI, T.; NGUYEN, O. T.; KUBOTA, C.; DHAWAN, V. Growth and water relations of *Paulownia fortunei* under photomixotrophic and photoautotrophic conditions. **Biologia Plantarum**, v. 46, p. 161-166, 2003.

KERBAUY, G.B. **Fisiologia vegetal**. 2 ed. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2012.

LEAL, D.M.; FRANÇA, A.F.S.; OLIVEIRA, L.G.; CORREA, D.S.; ARNHOLD, E.; FERREIRA, R.N.; BASTOS, D.C.; BRUNES, L.C. Fracionamento de carboidratos e proteínas da *Brachiaria* híbrida 'Mulato II' sob adubação nitrogenada e regime de cortes. **Archivos de Zootecnia**, v.66, p. 181-188. 2017.

LEITE, R.C.; SANTOS, J.G.D.; SANTOS, E.L.; ALVESA, C.R.C.R.; HUNGRIA, M.; LEITE, R.C.; SANTOS, A.C. Productivity in crease, reduction of nitrogen fertiliser use and drought-stress mitigation by inoculation of *Marandu grass* (*Urochloa brizantha*) with *Azospirillum brasilense*. **Crop & Pasture Science**, v.70, p. 61-67, 2019.

LOPES, C.M.; PACIULLO, D.S.C.; ARAÚJO, S.A.C.; MORENZ, M.J.F.; GOMIDE, C.A.M.; MAURÍCIO, R.M.; BRAZ, T.G.S. Plant morphology and herbage accumulation of signal grass with or without fertilization, under different light regimes. **Ciência Rural**, v.47, p. 1-7, 2017.

LOPES, N.F.; LIMA, M.G.S. **Fisiologia da Produção**. Viçosa, MG: Ed.UFV, 2015.

MARSCHNER, H. Mineral nutrition of higher plants. San Diego: **Academic Press**, 1995.

MARTINS, J.R.; ALVARENGA, A.A.; CASTRO, E.M.; DA SILVA, A.P.O.; ALVES, E. Teores de pigmentos fotossintéticos e estrutura de cloroplastos de Alfavaca-cravo cultivadas sob malhas coloridas. **Ciências. Rural**, v.40, 2010.

MARTUSCELLO, J.A.; JANK, L.; GONTIJO NETO, M.M.; LAURA, V.A.; DA CUNHA, D.N.F.V. Produção de gramíneas do gênero *Brachiaria* sob níveis de sombreamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.1183-1190, 2009.

Mc DERMID, D.K. Sources of error in the estimation of stomatal conductance and transpiration from porometer data. **Hort Science**, v. 25, p. 1538-48, 1990.

MEDEIROS, L.T. PINTO, J.C.; CASTRO, E.M.; REZENDE, A.V.; LIMA, C.A. Nitrogênio e as características anatômicas, bromatológicas e agrônômicas de cultivares de *Brachiaria brizantha*. **Ciência e Agrotecnologia**, v.35, p. 598-605, 2011.

MONTEIRO, J.G.; CRUZ, F.J.R.; NARDIN, M.B.; SANTOS, D.M.M.S. Crescimento e conteúdo de prolina em plântulas de gandu submetidas a estresse osmótico e à putrescina exógena. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.49, p. 18-25, 2014.

NEVES, M.G.; DA SILVA, J.N.; SILVA, J.L.S.; DE SOUZA, L.C.; SIQUEIRA, J.A.M.; OLIVEIRA, L.M.; BARBOSA, R.R.N.; CONCEIÇÃO, A.G.C.; DE OLIVEIRA NETO, C. F. Teores de prolina, aminoácidos e proteínas solúveis totais em resposta a deficiência hídrica e concentrações de silício em plantas de milho. IN: XXIX CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 2012. Águas de Lindóia, 2012.

OLIVEIRA, V.S.; MORAIS, J.A.S.; FAGUNDES, J.L.; SANTANA, J.C.S.; MUNIZ, E.V.; VALENÇA, L.R. Fracionamento de proteína e carboidratos segundo CNCPS de

cinco forrageiras irrigadas ou não durante a seca. **Research, Society and Development**, v.9, 2020.

PACIULLO, D.S.C.; CARVALHO, C.A.B. de; AROEIRA, L.J.M.; MORENZ, M.J.F.; LOPES, F.C.F.; ROSSIELLO, R.O.P. Morfofisiologia e valor nutritivo do capim-braquiária sob sombreamento natural e a sol pleno. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, p.573-579, 2007.

PACIULLO, D. S. C.; GOMIDE, C. A. M.; CASTRO, C. R. T.; FERNANDES, P. B.; MÜLLER, M. D.; PIRES, M. F. A.; FERNANDES, E. N.; XAVIER, D. F. Características produtivas e nutricionais do pasto em sistema agrossilvipastoril, conforme a distância das árvores. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.46, p. 1176–1183, 2011.

QUEIROZ, D.S; GOMIDE, J.A., MARIA, J. Avaliação da Folha e do Colmo de Topo e Base de Perfilhos de Três Gramíneas Forrageiras. 2. Anatomia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, p. 61-68, 2000.

RAMOS, L.M.; REIS, F.O.; CATUNDA, P.H.A.; SOUSA, E.H.S.; TORRES NETTO, A. A ecofisiologia de *Brachiaria decumbens* em diferentes sistemas de manejo. **Revista de Ciências Agrárias**, v.41, p. 783-788, 2018.

RECH, C.L.S; RECH, J.L.; PIRES, A.J.V. **Manual prático de análises de alimentos para animais de interesse zootécnico**. Vitória da Conquista-BA: Edições UESB,2010.

REIS, G.L.; LANA, A.M.Q.; EMERENCIANO NETO, J.V.; LEMOS FILHO, J.P. BORGES, I.; LONGO, R.M. Produção e composição bromatológica do capim-marandu, sob diferentes percentuais de sombreamento e doses de nitrogênio. **Bioscience Journal**, v.29, p. 1606-1615, 2013.

ROCHA, A.F.S.; COSTA, R.R.G.F. Desempenho de *Urochloa brizantha* cv Paiaguás inoculada com *Azospirillum brasilense* e diferentes doses nitrogênio. *Global Science and Technology*, v.11, p.177-186, 2018.

SOUZA, T.C.; MAGALHÃES, P.C.; PEREIRA, F. J. Leaf plasticity in successive selection cycles of 'Saracura' maize in response to periodic soilflooding. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.45, p.16-24, 2010.

SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; VAN SOEST, P.J. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v.70, p.3562-3577, 1992.

STREIT, N.M.; CANTERLE, L.P.; CANTO, M.W.; HECKTHEUER, L.H.H. As clorofilas. **Ciência Rural** [online], v.35, p.748-755, 2005.

TAIZ, L.; ZEIGER, E; MOLLER, I.M.; MURPHY, A. **Fisiologia Vegetal**. 6^oed.; Porto Alegre: Artmed; 2017.

VASCONCELOS, M.R.M. **Características fitotécnicas e anatômicas de plântulas micropropagadas de *Tillandsia bulbosa* Hook**. 2016. 45 p. Dissertação (Pós-Graduação em Agricultura e Biodiversidade) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão.

VELÁSQUEZ P.A.T.; BERCHIELLI, T.T.; REIS, R.A. Composição química, fracionamento de carboidratos e proteínas e digestibilidade *in vitro* de forrageiras tropicais em diferentes idades de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39. p.1206-1213, 2010.